

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Питательной среды для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, (среды Вильсона-Блера агаризованной).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, (среда Вильсона-Блера агаризованная) предназначена для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

2.1. Принцип метода.

Принцип метода – визуальное обнаружение бактерий, выросших на питательной среде при посеве исследуемых образцов и первичная дифференциация по признаку сульфитредуцирования.

2.2. Состав.

Набор для приготовления среды состоит из агаризованной питательной основы, 20 % раствора натрия сернистокислого и 8% раствора железа хлорида.

Основа среды представляет собой непрозрачный гель коричневого цвета из расчета г/л:

Гидролизат мяса ферментативный	25,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Глюкоза	20,0 г
Агар микробиологический	(13,5±1,5) г
Вода дистиллированная	до 1 л

20% раствор натрия сернистокислого представляет собой прозрачную жидкость из расчета г/л.:

Натрий сернистокислый	200,0 г
Вода дистиллированная	до 1000 мл

8% раствор железа хлорида представляет собой прозрачную жидкость коричневого цвета из расчета г/л:

Железа (III) хлорид	80,0 г
Вода дистиллированная	до 1000 мл

2.3. Форма выпуска.

2.3.1. Питательная основа выпускается по 200 мл в стеклянных бутылках, герметично закрытых резиновыми пробками и завальцованных алюминиевыми колпачками.

2.3.2. 20% раствор натрия сернистокислого выпускается по 20 мл в стеклянных бутылках, герметично закрытых резиновыми пробками и завальцованных алюминиевыми колпачками.

2.3.3. 8% раствор железа хлорида выпускается по 2 мл в стеклянных (пенициллиновых) флаконах, герметично закрытых резиновыми пробками и завальцованных алюминиевыми колпачками.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность (показатели чувствительности, скорости роста и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов).

Среда должна обеспечивать во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Clostridium septicum* 59 и *Clostridium sporogenes* 17, сопровождаемый почернением столбика среды и возможным разрывом агара образующимися газами при посеве по 1,0 мл микробной взвеси из разведений 10^{-5} и 10^{-6} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

Рост тест-штамма *Salmonella typhi* Н 901 ГДР/ГИСК сопровождается почернением столбика среды при посеве 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

3.2. Показатель дифференциации.

Рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Shigella flexneri* 1a 8516 не сопровождается почернением столбика среды при посеве 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} через 24 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Соблюдение «Правил устройства, техники безопасности производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.).

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру (37±1) °С
- Баня водяная
- Пробирки стеклянные стерильные
- Петля бактериологическая
- Пипетки стеклянные или дозатор со стерильными наконечниками

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты (клинический материал, пищевые продукты, пищевое сырье и объекты внешней среды) исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка питательной среды для использования.

Работа должна быть проведена с соблюдением правил асептики.

Перед использованием с флакона с основой среды снимают алюминиевый колпачок, заменяют резиновую пробку флакона на стерильную ватно-марлевую и выдерживают на кипящей водяной бане до полного расплавления студня, не допуская закипания. В охлажденную до 80 °С питательную основу (200 мл) добавляют 20 мл 20 % раствора натрия сернистоокислого и 2 мл 8 % раствора железа хлорида. Среду тщательно перемешивают и разливают в стерильные пробирки по 7 мл. Пробирки закрывают стерильными ватно-марлевыми пробками. Готовая среда коричневого цвета. Готовую среду Вильсона-Блера используют немедленно. Готовая к применению среда хранению не подлежит.

7.2. Посев клинического материала проводят по 1 мл суспензии в теплую среду при 50-55 °С либо в среду комнатной температуры уколом в столбик.

Инкубацию проводят при температуре (37±1) °С в течение 18-24 часов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрацию результатов роста бактерий проводят визуально. При росте облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, а также бактерий рода *Salmonella* наблюдается почернение столбика питательной среды различной интенсивности. При росте аэробных бактерий, не способных восстанавливать сернистоокислый натрий, наблюдается диффузный рост без почернения столбика среды. Вследствие ферментации некоторыми штаммами клостридий глюкозы возможен разрыв столбика агара образующимися газами.

Для дальнейшей идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* из зоны почернения питательной среды делают мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют в иммерсионной системе. На присутствие бактерий рода *Clostridium* указывает наличие в мазке грамположительных палочек с закругленными концами, располагающихся одиночно, попарно, в виде цепочек, с возможным включением спор. На присутствие бактерий рода *Salmonella* указывает наличие в мазке грамотрицательных палочек с закругленными концами.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Питательную среду для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, (среду Вильсона-Блера агаризованную), необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С.

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытого транспорта.

Срок годности агаризованной питательной основы и добавок – 9 месяцев. Агаризованная питательная основа и добавки с истекшим сроком годности использованию не подлежат.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества продукции, следует обращаться в ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии» по адресу:

192236, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Белы Куна, д. 30, лит. А тел./факс: (812) 327 5581,

e-mail: nicf@nicf.spb.ru