

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН

Государственный научный центр
прикладной микробиологии и

биотехнологии



И.А. Дятлов

2006 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению питательной среды для выявления и подсчета
сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях
(среда Вильсона–Блера)
по ТУ 20.59.52-326-78095326-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда Вильсона–Блера предназначена для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов, воды, почвы с целью выявления сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях. *Не является медицинским изделием!*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Среда Вильсона–Блера представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.

Среда Вильсона–Блера расфасована в полиэтиленовые банки по 100 г или по 250 г.

2.1. Принцип действия

Среда Вильсона–Блера содержит панкреатический гидролизат казеина в качестве источника углерода, азота, минералов. Дрожжевой экстракт является источником витаминов группы В, которые стимулируют рост бактерий. Сульфитредуцирующие бактерии, включая некоторые виды клостридий, восстанавливают сульфит до сульфида, который вступает в реакцию с ионами железа, образуя черный осадок сульфида железа.

2.2. Состав

Среда Вильсона–Блера представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина	15,0
Дрожжевой экстракт	10,0
Железа цитрат	1,0

Натрия сульфит	0,5
Агар микробиологический.....	(11,0±1,5)

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Среда Вильсона–Блера обеспечивает через 18-24 ч инкубирования при температуре (37±1) °С при посеве 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10⁻⁶ рост каждого из тест-штаммов:

Clostridia perfringens ATCC 13124 в виде шарообразных колоний черного цвета в столбике среды;

E. coli ATCC 25922 в виде колоний белого цвета на поверхности и в столбике среды;

P. aeruginosa 27/99 в виде колоний белого цвета на поверхности среды.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру (37±1) °С или (44±1) °С
- Анаэроустат
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные на 1 и 2,5 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 200 и 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Пищевые продукты и другие тестируемые материалы при проведении санитарно-эпидемиологических исследований.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление среды Вильсона–Блера.

Навеску питательной среды в количестве, указанной на этикетке, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, активно перемешивая (не допуская пригорания), разливают по 10 мл в пробирки по ГОСТ 25336-82 и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Готовая среда имеет цвет от светло-желтого до желто-зеленого. Возможна незначительная опалесценция. Допускается осадок коричневого цвета на дне пробирки.

Готовую питательную среду хранят не более 7 суток при комнатной температуре в темном месте или при температуре 2-8 °С.

7.2. Отбор проб, подготовку их для исследования, посев и учет результатов осуществляют согласно требованиям соответствующих нормативных документов: МУ 1446-76 Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы (с Изменениями); Методические указания по санитарно-микробиологическому анализу лечебных грязей (утв. Заместителем главного государственного санитарного врача СССР 11 сентября 1989 г. N 143-9/316-17); Методические рекомендации «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы методы микробиологического контроля почвы» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 24.12.2004 № ФЦ/4022); ГОСТ 10444.9-88 «Продукты пищевые. Метод определения *Clostridium perfringens*»; ГОСТ 7702.2.6-2015 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий»; ГОСТ 7702.2.0-2016 «Продукты убоя птицы, полуфабрикаты из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям» и др.

Посев исследуемых образцов осуществляют в расплавленную и охлажденную до 50-55 °С питательную среду или уколом в столбик в среду комнатной температуры.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально.

Почернение среды или появление черных колоний указывает на наличие сульфитредуцирующих бактерий в исследуемом образце. Для подтверждения принадлежности выделенных сульфитредуцирующих бактерий к роду *Clostridium* проводят дополнительные исследования в соответствии с требованиями нормативных документов.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии среды Вильсона–Блера пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» – эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например сжиганием.

Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Среду Вильсона–Блера необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги.

Среду Вильсона–Блера транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения от 2 до 30 °С, допускается транспортирование от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в случае повреждения упаковки использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие среды Вильсона–Блера заявленным в ТУ 20.59.52-326-78095326-2020 требованиям и функциональным характеристикам в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортирования.

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

По вопросам, касающимся качества среды Вильсона–Блера в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.