

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для приготовления среды Хью-Лейфсона
(Микро-ХЬЮ-ЛЕЙФСОН-НИЦФ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда Хью-Лейфсона предназначена для определения типа ферментации углевода (глюкозы) в аэробных и анаэробных условиях.

Принцип действия. Метод основан на способности грамотрицательных микроорганизмов давать разные реакции в среде с углеводами на воздухе и под слоем вазелинового масла в бескислородной среде. «Ферментирующие» микроорганизмы продуцируют кислоту в тех и других условиях. «Окисляющие» образуют кислоту только в открытой среде, а под слоем масла растут слабо, не изменяя цвет среды. Другие микроорганизмы не вызывают изменения среды под маслом и дают щелочную реакцию открытой среды.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Комплект поставки:

- набор реагентов (компоненты набора в соответствии с Таблицей 1) в коробке из картона;
- инструкция по применению;
- паспорт.

Таблица 1.

Компонент/ реагент	Описание	Состав
Сухая питательная основа	Мелкодисперсный порошок желтого цвета	1 флакон 10 г
Бромтимоловый синий	Кристаллический порошок темно-зеленого цвета	1 флакон 50 мг
Глюкоза	Белый кристаллический порошок	1 флакон 20 г

Набор рассчитан на приготовление 1000 мл среды Хью-Лейфсона.

3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ

Расходные материалы и общелабораторное оборудование, не поставляемые с изделием, но обязательные к применению с изделием:

- вода дистиллированная;
- колбы или цилиндры мерные 2 класса точности, вместимостью 0-1000 мл;
- газовая или электрическая плита;
- иономер потенциометрический (рН-метр), диапазон измерения 0...12 ед. рН;
- растворы для корректировки рН (0,1N раствор NaOH и 0,1N раствор HCl);
- мерная пипетка или дозатор на 0-10 мл;
- бактериологические пробирки с ватно-марлевыми пробками;
- стерилизатор паровой (автоклав);
- стерильная бактериологическая петля платиновая или одноразовая пластиковая диаметром 2 мм;
- спиртовая или газовая горелка;
- термостат суховоздушный с диапазоном стабилизируемых температур (10...50 °C) ±0,5 °C;
- стерильное вазелиновое масло;
- холодильник бытовой.

Порядок приготовления питательной основы среды.

1. 50 мг порошка бромтимолового синего растворить в 5 мл дистиллированной воды;
2. Сухую питательную основу растворить в 1 л дистиллированной воды, прокипятить 1–3 мин до полного растворения агара.
3. Установить рН раствора в интервале 7,1-7,2, добавляя по каплям 0,1N раствор NaOH или 0,1N раствор HCl.
4. К раствору питательной основы добавить 3 мл водного раствора бромтимолового синего, приготовленного по п.1, тщательно перемешать.
5. Раствор питательной основы разлить по 5 мл в бактериологические пробирки. Пробирки закрыть ватно-марлевыми пробками.
6. Стерилизовать автоклавированием в течение 15 минут при 121±1°C (1 атм).
Готовая основа среды после стерилизации прозрачная, зеленого цвета.

Порядок приготовления раствора глюкозы.

1. 20 г глюкозы растворить в 200 мл дистиллированной воды.
2. Стерилизовать автоклавированием в течение 15 минут при $121\pm 1^\circ\text{C}$ (1 атм).

Порядок приготовления готовой среды.

Соблюдая правила асептики, добавить в каждую пробирку с готовой расплавленной питательной основой по 0,5 мл стерильного раствора глюкозы, аккуратно встряхнуть для равномерного перемешивания. Дать среде застыть в вертикальном положении (столбиком).

Все остатки раствора глюкозы и раствора бромтимолового синего не подлежат использованию для других целей, включая другие наборы, и подлежат утилизации.

4. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ

Анализируемые образцы.

Для посева использовать только чистые бактериальные культуры на плотной неселективной питательной среде, инкубированные при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 16–18 ч, полученные на этапах селективного выделения и предварительной дифференциации из отсеков колоний с агаризованных сред выделения.

Посев и инкубация.

В 2 пробирки с готовой средой Хью-Лейфсона произвести посев уколом в столбик агара.

Одну из засеянных пробирок залить 1 мл стерильного вазелинового масла.

Посевы инкубировать 18–24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

Учет результатов.

Учет результатов проводят визуально.

При положительной реакции (разложение глюкозы) происходит пожелтение среды.

«Ферментирующие» микроорганизмы продуцируют кислоту в аэробных и анаэробных условиях (пожелтение всего столбика среды).

«Окисляющие» микроорганизмы образуют кислоту только в открытой среде (пожелтение верхнего слоя среды), а под слоем масла растут слабо, не изменяя цвет среды.

Другие микроорганизмы не вызывают изменения среды под маслом и дают щелочную реакцию открытой среды.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

При использовании набора реагентов необходимо соблюдать правила асептики.

Набор реагентов в используемых концентрациях является нетоксичными.

При работе с изделием следует соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрилабораторной инструкцией по технике безопасности.

Пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты.

Не принимать пищу, не пить и не курить в лабораторных помещениях.

После работы с пробами и реактивами тщательно обработать руки и открытые участки кожи согласно внутрилабораторным санитарным инструкциям.

6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор реагентов необходимо хранить в герметично закрытой упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25°C .

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

Готовую среду в пробирках следует хранить в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8°C .

7. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов в герметичной упаковке производителя – 1 год.

Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Готовую среду в пробирках можно использовать в течение 10 суток при условии хранения при температуре от 2 до 8°C .

8. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов для приготовления среды Хью-Лейфсона (Микро-ХЬЮ-ЛЕЙФСОН-НИЦФ) требованиям ТУ 9385-136-39484474-2011 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в настоящей Инструкции по применению.

Для получения достоверных 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