

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Питательной среды для идентификации энтеробактерий сухой (Среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным) по ТУ 9385-028-39484474-2012»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда Гисса предназначена для идентификации культур энтеробактерий, выделенных из клинического материала и объектов окружающей среды, по способности ферментировать углеводы или многоатомные спирты.

Принцип действия:

Визуальное обнаружение ферментации углевода или многоатомного спирта по изменению цвета среды при посеве исследуемой культуры энтеробактерий.

Среда Гисса относится к классическим дифференциально-диагностическим средам для идентификации энтеробактерий по тесту ферментации одного из углеводов (так называемый «пестрый ряд»). Среда Гисса содержит индикатор бромкрезоловый пурпурный, который при закислении среды (рН≤5,2) изменяет цвет из фиолетового в желтый.

Агар, входящий в состав среды Гисса, позволяет визуально регистрировать газообразование, обнаруживаемое в виде пузырьков или разрывов в толще среды.

Указания по стерилизации и кратности применения.

Поставляется нестерильным.

Подлежит стерилизации (пар под давлением, автоклав) в процессе приготовления готовой среды согласно данной Инструкции.

Не подлежит повторной стерилизации.

Подлежит однократному (одноразовому) применению после приготовления согласно данной Инструкции.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Комплектность.

Среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным в конкретной модификации, по 100 г или 200 г или 250 г в банках вместимостью 500 мл; инструкция по применению; паспорт качества. Количество банок среды Гисса в конкретной модификации формируется по требованию заказчика.

Состав (г/л):

Пептон ферментативный	8,39 г
Натрия хлорид	4,19 г
Na_2HPO_4	0,92 г
Агар	3,0 г
Бромкрезоловый пурпурный	0,0034 г
Углевод или многоатомный спирт *	3,5 г

^{*}в качестве углевода в состав среды может входит, ксилоза, манноза, рамноза, раффиноза, фруктоза, арабиноза, галактоза; в качестве многоатомного спирта в состав среды может входить сорбит, дульцит, инозит.

Аналитические и диагностические характеристики среды

Среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным представляет собой мелкодисперсный порошок серо-желтого цвета. Гигроскопичный, светочувствительный.

Концентрация водородных ионов в экстракте от 7,2 до 7,6.

Показатели готовой среды

Готовая среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным после кипячения, фильтрования и стерилизации прозрачная, от фиолетового до пурпурного цвета. После застудневания среды в пробирках формируется гель.

Характеристики специфической активности

Рост микроорганизмов, ферментирующих углевод или многоатомный спирт, сопровождается образованием кислоты с изменением цвета среды от фиолетового до желтого, образование газа сопровождается появлением пузырьков в глубине среды или на ее поверхности.

Отрицательная реакция характеризуется отсутствием проявления характерных признаков роста в

среде (цвет среды не изменяется, пузырьки газа отсутствуют).

Углевод или	Тест-штамм					
многоатомный спирт, содержащийся в варианте среды Гисса	E.coli ATCC 25922	S.flexneri 1a 8516	P.vulgaris 247	K.pneumoniae K 7	S.typhi H 901	S.aureus ATCC 25923
ксилоза	Кислота/газ	_	_	Кислота/газ	Кислота	
манноза	Кислота/газ	Кислота/газ	_	Кислота/газ	Кислота/газ	Кислота
рамноза	Кислота/газ	_	_	Кислота/газ	Кислота/газ	
раффиноза	_	_	_	_	Кислота/газ	
фруктоза	Кислота	Кислота	_	Кислота	_	Кислота
арабиноза	Кислота/газ	_	_	Кислота/газ	Кислота/газ	
галактоза	Кислота/газ	Кислота	Кислота/газ	Кислота/газ	Кислота/газ	Кислота
сорбит	Кислота/газ	_	_	Кислота/газ	Кислота/газ	
дульцит	Кислота/газ	_	_		Кислота/газ	
инозит	_	_	_	Кислота/газ	_	

3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ

Оборудование:

- весы лабораторные общего назначения 2 класса точности;
- колбы или цилиндры мерные 2 класса точности, вместимостью 1 л;
- электроплита бытовая;
- стерилизатор паровой;
- иономер потенциометрический (рН-метр), диапазон измерения 0...12 ед. рН;
- холодильник электрический с диапазоном стабилизируемых температур (2-8 $^{\circ}$ C);
- термостат суховоздушный с диапазоном стабилизируемых температур (10...50 °C) ± 0.5 °C;
- горелки газовые или спиртовые;
- пробирки П-2-16-150;
- петля бактериологическая диаметром 2 мм;
- пипетки или дозаторы со стерильными наконечниками;
- вода дистиллированная.

Способ приготовления среды

20 г среды размешивают с в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Фильтруют через бумажный фильтр, разливают по 4-5 мл в стерильные пробирки. Пробирки закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют автоклавированием при температуре 112 0 C в течении 20 мин. В готовом виде среду можно использовать в течении 15 суток при условии хранения при температуре о 2 до 8 0 C.

4. ПОРЯДОК РАБОТЫ С ИЗДЕЛИЕМ

Для посева следует использовать только чистые бактериальные культуры, полученные на этапах селективного выделения из отсевов отдельных колоний с агаризованных сред выделения (например, XLD-агар, агар Эндо, агар Плоскирева, среда Левина, висмут-сульфит-агар, 5% кровяной агар).

Посев на среду Гисса проводят петлей уколом в толщу агарового столбика. Укол в толщу агарового столбика не должен достигать дна, для того, чтобы не нарушать анаэробные условия сбраживания углевода.

Посевы инкубируют в течение 18-24 ч при температуре (37 ± 1) ⁰C.

Учет результатов проводят визуально. Визуально учитывают характер роста микроорганизмов в толще агарового столбика, изменение цвета среды, наличие пузырьков газа или разрывов столбика агара в результате газообразования.

Для постановки диагноза требуется проведение дальнейшей идентификации микроорганизма. Для этого осуществляют пересев на плотные среды, исследуют тинкториальные свойства бактериальных клеток (микроскопия мазков), биохимические и антигенные характеристики.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ.

Среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным в используемых концентрациях является нетоксичной, вредного влияния на организм оператора не оказывает.

При работе с питательной средой следует соблюдать обычные меры предосторожности для лабораторий:

- 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.

При работе с анализируемым материалом необходимо соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрилабораторной инструкцией по технике безопасности, а также СП 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней, «Правилами устройства, техники безопасности производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.)

6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Питательную среду для идентификации энтеробактерий сухую (Среду Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным) 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.

Среду Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным, приготовленную в лаборатории согласно Инструкции, необходимо хранить при температуре от 2 до 8 °C.

7. СРОК ГОДНОСТИ.

Срок годности среды Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным, в герметичной упаковке производителя -2 года со дня изготовления Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Срок годности вскрытой упаковки (банки) -2 года при условии положительного результата периодического внутрилабораторного контроля качества среды.

Срок годности готовой среды Гисса (в пробирках) - 15 суток.

10. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие Питательной среды для идентификации энтеробактерий сухой (Среда Гисса с индикатором бромкрезоловым пурпурным) ТУ 9385-028-39484474-2012 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими техническими условиями.

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

Рекламации на качество в течение срока годности следует направлять в адрес производителя: Общество с ограниченной ответственностью" Научно-исследовательский центр фармакотерапии".

Адрес: 192236, Россия, г. Санкт-Петербург, ул.Белы Куна, 30, лит. А

тел./факс (812) 327 5581, e-mail: nicf@nicf.spb.ru.