

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН

Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 200 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

**питательной среды для выделения и культивирования холерного вибриона сухой
(Щелочной агар)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Щелочной агар предназначен для бактериологических исследований в клинической и санитарной микробиологии с целью культивирования холерного вибриона и выделения его из инфицированного материала.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Щелочной агар представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный порошок светло-желтого цвета, получаемый смешиванием сухих компонентов.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста холерного вибриона за 12 ч инкубации, при этом щелочность и входящий в состав метабисульфит натрия в значительной степени подавляют рост сопутствующей микрофлоры.

2.2. Состав

Щелочной агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	22,0
Дрожжевой экстракт	0,5

Д-глюкоза	0,4
Натрий фосфорнокислый двузамещенный	1,3
Натрий хлористый	12,3
Натрия метабисульфит	1,0
Натрий углекислый	2,5±0,5
Агар микробиологический	10,0±3,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Щелочной агар обеспечивает рост холерных вибрионов через 12 ч инкубации при температуре (37±1) °С в виде гладких, полупрозрачных с голубоватым оттенком в проходящем свете колоний, диаметром не менее 1,0 мм.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение правил СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», 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
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Флаконы вместимостью 500 мл
- Пипетки стеклянные на 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление Щелочного агара.

Порошок в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают во флаконы и стерилизуют автоклавированием в течение 20 мин при температуре (121 ± 1) °С.

Готовую среду можно хранить в течение 10-14 сут при температуре 2-8 °С в защищенном от света месте.

Перед употреблением среду расплавить, охладить до температуры 45-50 °С, разлить в чашки Петри.

Контроль питательной среды проводится по МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза», М., 2007.

7.2. Взятие, посев исследуемого материала производят в соответствии с МУ 4.2.1097-02 «Лабораторная диагностика холеры», МУК 4.2.1793-03 «Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых паразитическими и другими патогенными для человека вибрионами».

7.3. Исследуемый образец засевают на три чашки Петри с питательной средой, равномерно распределяют по поверхности агара методом покачивания чашек или с помощью стерильного шпателя.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 12 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С визуально просматривают посеvy. Холерные вибрионы на Щелочном агаре образуют гладкие, полупрозрачные с голубоватым оттенком в проходящем свете колонии, диаметром не менее 1,0 мм.

Для получения достоверных результатов посеvy образцов производить не менее, чем в трех повторностях.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Щелочной агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 3 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества Щелочного агара в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.