

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН

Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению питательной среды для выявления и подсчета
сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях
(Железосульфитный агар)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Железосульфитный агар предназначен для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов, воды, почвы с целью выявления сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях. *Не является медицинским изделием!*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Железосульфитный агар представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета. Выпускается в 3-х модификациях.

Железосульфитный агар расфасован в полиэтиленовые банки по 250 г или по 100 г.

2.1. Принцип действия

Железосульфитный агар содержит панкреатический гидролизат казеина в качестве источника углерода, азота, минералов. Дрожжевой экстракт является источником витаминов группы В, которые стимулируют рост бактерий. Железа цитрат и натрия сульфит являются индикаторами продукции сероводорода. Клостридии восстанавливают сульфит до сульфида, который вступает в реакцию с ионами железа, образуя черный осадок сульфида железа.

2.2. Состав

Железосульфитный агар 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	
Мод. 1	1,5
Мод. 2	7,0±1,0
Мод. 3	17,5±2,5

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Железосульфитный агар обеспечивает рост каждого из тест-штаммов:

Железосульфитный агар	Тест-штаммы	Условия роста	Характеристика роста
Мод. 1, 2	<i>Clostridia perfringens</i> ATCC 13124	В пробирках (37±1) °C 24 ч	Колонии черного цвета в столбике среды или диффузное почернение среды
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		Колонии белого цвета на поверхности и в столбике среды
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27/99		Колонии белого цвета на поверхности среды
Мод. 3	<i>Clostridia perfringens</i> ATCC 13124	На чашках Петри (37±1) °C 24 ч Анаэробные условия	Колонии R-формы черного цвета или белого с черным центром и частичное почернение среды
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		Слабый рост в виде мелких колоний белого цвета или отсутствие роста
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27/99		Слабый рост в виде мелких колоний белого цвета или отсутствие роста

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру (37±1) °C или (44±1) °C
- Анаэростат
- 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

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА, РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

6.1. Приготовление железосульфитного агара.

Мод. 1, 2.

Сухую смесь в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, активно перемешивая (не допуская пригорания), разливают по 10 мл в пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Готовая среда имеет желто-зеленый цвет. Возможна незначительная опалесценция. Допускается коричневый осадок на дне пробирки. Готовые питательные среды хранят не более 7 суток при комнатной температуре в темном месте или при температуре 2-8 °С.

Перед использованием среду необходимо регенерировать путем нагревания на кипящей водяной бане в течение 15 мин.

Мод. 3.

Сухую смесь в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, активно перемешивая (не допуская пригорания), стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин и разливают в чашки Петри и пробирки.

Готовые питательные среды хранят не более 7 суток при комнатной температуре в темном месте или при температуре 2-8 °С.

6.2. Взятие, посев и учет результатов осуществляют в соответствии с требованиями нормативных документов:

ГОСТ 29185 (ISO 15213:2003) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях»;

МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»;

МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды».

6.3. Исследуемый материал засевают в середину столбика незастывшей среды, разлитой в пробирки, аккуратно перемешивая, и инкубируют в соответствующих условиях. Посев среды, разлитой в чашки Петри, производят поверхностным или глубинным способом. При поверхностном способе засеянные чашки инкубируют в анаэробных условиях.

6.4 Учет результатов проводят визуально.

Почернение среды или появление черных колоний указывает на наличие сульфитредуцирующих клостридий в исследуемом образце. Следует учитывать, что некоторые представители рода *Salmonella* растут на среде аналогичным образом, но погибают в процессе предварительного прогрева исследуемых образцов.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

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

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

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