

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и
биотехнологии
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 200 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для бактериологических исследований
«Питательная среда для выделения и дифференциации
патогенных энтеробактерий сухая (XLD-АГАР)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

XLD-агар предназначен для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий, в частности, сальмонелл и шигелл при проведении бактериологических исследований в клинической и санитарной микробиологии.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

XLD-агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка оливкового цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Ингибирующие вещества (желчь и дезоксихолат натрия), входящие в состав среды, полностью подавляют рост грамположительной микрофлоры.

Дифференцирующие свойства среды основаны на понижении pH среды в кислую сторону при росте, ферментирующих углеводы бактерий, которые образуют на XLD-агаре беловато-желтые колонии, окруженные желтой зоной. Бактерии, декарбоксилирующие лизин с образованием кадаверина, обнаруживаются по пурпурному окрашиванию среды вокруг колоний вследствие повышения pH среды. Бактерии, продуцирующие в процессе роста на XLD-агаре сероводород, образуют колонии с черным центром. Образование черного центра происходит в процессе химической реакции солей железа, входящих в состав

среды, с сероводородом и образованием в результате реакции сульфида железа черного цвета.

2.2. Состав

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

| | |
|-------------------------------|----------|
| Ксилоза | 3,5 |
| Лизин | 5,0 |
| Д (+)-лактоза, 1-водная | 7,5 |
| Сахароза | 7,5 |
| Натрия хлорид | 5,0 |
| Дрожжевой экстракт..... | 3,0 |
| Желчь очищенная, сухая | 2,5±0,5 |
| Дезоксихолат натрия | 1,5 |
| Натрия тиосульфат | 6,8 |
| Железа аммиачное цитрат | 0,8 |
| Феноловый красный | 0,08 |
| Натрий углекислый | 0,1-0,3 |
| Агар микробиологический | 10,0±3,0 |

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

XLD-агар обеспечивает рост и четкую дифференциацию патогенных энтеробактерий от кишечной палочки через 24-48 ч инкубации при температуре (37±1) °С и полностью подавляет рост стафилококка.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – 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 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической и санитарной микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление XLD-агара.

Среда не подлежит автоклавированию и перегреву.

Препарат в количестве, указанном на этикетке, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, осторожно кипятят при постоянном помешивании не более 2 мин до полного расплавления агара. Охлаждают до температуры 40-45°C, разливают в стерильные чашки Петри слоем 5-6 мм и оставляют для застывания. Перед посевом чашки со средой подсушивают в течение 90-100 мин.

Готовая среда в чашках прозрачная красного цвета.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 2-х суток после её приготовления при условии хранения в темном месте при температуре 18-25 °С.

7.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ Р 52814-2007 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода *Salmonella*», «Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г) и приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

7.3. Исследуемый материал после селективного обогащения в жидкой среде засевают соответственно на две чашки Петри с XLD-агаром и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24-48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 24-48 ч инкубации, отмечая наличие роста и дифференциации патогенных энтеробактерий от эшерихий.

Микроорганизмы, ферментирующие углеводы формируют на XLD-агаре беловато-желтые или желтые колонии, окруженные желтой зоной. Бактерии, декарбоксилирующие лизин с образованием кадаверина, обнаруживаются по пурпурному окрашиванию среды вокруг колоний. Микроорганизмы, образующие сероводород, вызывают почернение колоний.

Колонии шигелл – круглые, блестящие, бледно-розовые или цвета среды, диаметром 1,0-1,5 мм;

Колонии сальмонелл – круглые, блестящие, бесцветные с черным центром или без него, диаметром 1,0-3,0 мм;

Колонии эшерихий – круглые, непрозрачные, желтые, с желтой зоной вокруг, диаметром 1,5-3,0 мм;

Колонии протеев, цитробактеров– слизистые, желтоватого цвета или бесцветные с темным центром, диаметром 1,0-2,5 мм.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

XLD-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 XLD-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.