

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 идентификации коринебактерий по тесту расщепления цистина сухой (среда Пизу)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда Пизу предназначена для бактериологических исследований в клинической микробиологии с целью идентификации коринебактерий по тесту расщепления цистина.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Среда Пизу представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает питательные потребности для роста коринебактерий и возможности идентификации их по тесту расщепления цистина ферментом цистиназой. Окрашивание среды в черно-коричневый цвет обусловлено образованием сернистого висмута после взаимодействия компонента среды – цитрата висмута с сероводородом, появившимся после расщепления L-цистина цистиназой возбудителя дифтерии.

2.2. СОСТАВ

Среда Пизу представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина	40,0
Дрожжевой экстракт	1,5

Д-мальтоза	3,5
Натрия хлорид	5,0
Висмут лимоннокислый	1,7
L-цистин	0,2
8-оксихинолин сернокислый (хинозол)	0,001
Натрия карбонат	1,0±0,4
Агар микробиологический	3,5±1,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Среда Пизу должна обеспечивать рост каждого из тест-штаммов *Corynebacterium diphtheriae mitis nontoxigenic* 203 АГ, *Corynebacterium diphtheriae gravis* 75, *Corynebacterium xerosis* 1911, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* «Соколов» при посеве уколом в столбик среды бактериологической петлей диаметром 2 мм через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С во всех пробирках. Рост тест-штаммов *C. diphtheriae mitis nontoxigenic* 203 АГ, *C. diphtheriae gravis* 75 - с почернением среды по ходу укола и с образованием «облачка» черно-коричневого цвета в глубине столбика; рост тест-штаммов *C. xerosis* 1911 и *C. pseudodiphtheriticum* «Соколов» - без изменения цвета среды. При росте тест-штамма *C. xerosis* 1911 возможно появление темного пятна на поверхности среды.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.2.731-99 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и гельминтами».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37±1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежевыделенные культуры микроорганизмов из объектов исследований.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление среды Пизу.

Порошок в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 3 мин до полного расплавления агара. Среду не стерилизуют! Среду разливают при постоянном перемешивании по 4 мл в стерильные пробирки, соблюдая правила асептики. Готовая среда светло-желтого цвета. Допускается осадок на дне пробирки и небольшая опалесценция.

Готовую среду можно использовать в течение 10 дней при условии хранения ее при температуре 2-8 °С.

7.2. Взятие, посев инфицированного материала и учет результатов производят в соответствии с МУ 4.2.698-98 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции», приказом Минздрава СССР от 02.04.86 № 450 «О мерах по предупреждению заболеваемости дифтерией».

7.3. Свежевыделенные культуры микроорганизмов из объектов исследований засевают уколом бактериологической петлей в столбик среды и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-20 ч.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 18-20ч инкубации проводят учет результатов. Почернение среды по ходу укола и образование «облачка» черно-коричневого цвета в глубине столбика указывает на наличие фермента цистиназы (положительная реакция). При отрицательной реакции цвет среды не меняется (при росте некоторых коринебактерий может образовываться темное пятно на поверхности среды).

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Среду Пизу 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 среды Пизу 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.