



ИНСТРУКЦИЯ По применению набора реагентов

Готовая питательная среда Агар XLD

НАЗНАЧЕНИЕ

Среда для селективного выделения *Salmonella spp.* из пищевых продуктов

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Агар XLD (ксилозо-лизин-дезоксихолатный агар) готовится в соответствии со стандартом ISO 6579. С помощью агара XLD возможно проведение следующего дифференциально-диагностического теста: утилизация трех ферментируемых углеводов (ксилозы, лактозы и сахарозы) с образованием кислоты, при этом красный цвет среды изменяется на желтый. Тиосульфат натрия является реагентом для взаимодействия с цитратом аммонийного железа – индикатором образования сульфида водорода в щелочных условиях. Лизин добавляется для дифференциации патогенных *сальмонелл*. После утилизации ксилозы, *сальмонеллы* ферментируют лизин посредством лизин-декарбоксилазы с защелачиванием среды подобно *шигеллам* Бактерии, которые декарбоксилируют L-лизин до кадаверина, идентифицируются по наличию пурпурно-красного цвета вокруг колоний в результате повышения pH. Феноловый красный – индикатор pH. Дрожжевой экстракт служит источником витаминов, особенно – группы В. Хлорид натрия является источником необходимых электролитов и поддерживает осмотический баланс. Дезоксихолат натрия – селективный агент, ингибирующий рост грамположительных бактерий. Инокулировать и инкубировать 24±3 часа при 37±1°C.

СОСТАВ НАБОРА

Готовая к использованию среда Агар XLD

Ч0823 упаковка 20 или 100 чашек Петри (90 мм)

Ф0823 упаковка 6 флаконов по 200мл

СОСТАВ СРЕДЫ

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Моногидрат лактозы	7,5	Сахароза	7,5
Тиосульфат натрия	6,8	Хлорид натрия	5,0
L-лизин	5,0	Ксилоза	3,75
Дрожжевой экстракт	3,0	Дезоксихолат натрия	1,0
Цитрат аммонийного железа	0,8		
Феноловый красный	0,08		
Бактериологический агар	13,5		

Конечная величина pH 7,4±0,2 при 25°C

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для диагностики *in vitro*.
- К работе допускается только квалифицированный персонал.
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных, от которых были получены данные материалы, не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных микроорганизмов.
- Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с законодательством и нормативными актами Российской Федерации, соблюдение "Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (Москва, 1981 г.).
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте флаконы и чашки со следами контаминации.
- Перед использованием убедитесь в целостности упаковки и емкости.

- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание анамнестические данные больного, источник выделения микроорганизма, морфологию колоний, данные клеточной микроскопии, а также результаты других проведенных исследований.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Термостат.
- Водяная баня.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Медицинская бактериология:

Посев из образца (кал, жидкий кал, разведение в физ.растворе) производится непосредственно на агар.

Промышленная микробиология:

Данная среда предназначена для контроля качества нестерильных фармацевтических продуктов. Среда описана во многих фармакопеех.

Также, среду можно использовать для определения *Salmonella* в пищевых продуктах после обогащения, в соответствии со стандартами ISO 6579, NF EN 12824, NF V08-052.

Соблюдайте правила транспортировки и хранения образцов.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

При необходимости подготовки чашек со средой:

1. Ослабьте крышку флакона.
2. Расплавьте агар на водяной бане, оснащенной системой безопасности (около 45 минут).
3. Плотно закройте крышку и перемешайте.
4. Оставьте флаконы при комнатной температуре минимум на 15 секунд, затем перенесите в термостатируемую водяную баню, установленную на 45-50°C. Оставьте на бане при этой температуре вплоть до использования.
5. Перемешайте и разлейте по чашкам (18-20 мл на чашку).

Посев и инкубация:

Медицинская бактериология:

1. При разливе среды из флаконов, выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
2. Засейте чашки сразу после получения образцов.
3. Инкубируйте чашки в перевернутом положении (вверх дном) при 37°C. Необходимо правильно выбрать условия культивирования, в соответствии с действующими рекомендациями и стандартами. Как правило, учет результатов производят через 24-48 часов культивирования.

Промышленная микробиология:

Пищевые продукты:

Посев на агар XLD производится после предварительного обогащения в пептонной воде с буфером и обогащения в бульоне Раппапорта-Вассилиадиса или селенит-цистиновом бульоне. Данную среду можно использовать для выделения в сочетании со средой SM ID, модифицированным агаром с бриллиантовой зеленью или агаром Нектоен.

1. Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
2. Засейте чашки обогащенным образцом.
3. Инкубируйте вверх дном при 35-37°C в соответствующей атмосфере. Результат обычно учитывается через 24 – 48 часов инкубации.

Фармацевтические продукты:

Агар XLD рекомендован различными фармакопееми для выделения и определения *Salmonella* в нестерильных фармацевтических продуктах.

1. Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
2. Засейте чашки обогащенным образцом.
3. Инкубируйте вверх дном при 35-37°C в соответствующей атмосфере. Результат обычно учитывается через 18 – 72 часа инкубации.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- По окончании инкубации оцените бактериальный рост и внешний вид колоний:
 - *Salmonella* образует розовые или красные колонии с черным центром или без.
 - *Shigella* образует розовые или красные колонии без черного центра.
- Для идентификации пользуйтесь биохимическими и/или иммунологическими методами.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды на тестовых культурах после инкубации при температуре 37±1°C и наблюдались через 24±3 часа.

Микроорганизмы	Рост	Цвет колонии
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Умеренный	Желтый (осадок)
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Хороший	Светло красный (черный центр)
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Хороший	Красный
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Ингибируется	–

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Наличие кристаллов в агаре допустимо и не влияет на результат.
- Некоторые штаммы *Salmonella arizonae* и *Shigella sonnei*, сбрасывающие лактозу, могут образовывать нехарактерные колонии.
- Энтеробактерии могут образовывать характерные колонии. Для окончательной идентификации следует пользоваться биохимическими и/или иммунологическими методами.
- Некоторые штаммы *Salmonella* и *Shigella*, имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия культивирования), могут не образовать колоний на данной среде.
- В зависимости от типа образца, рекомендуется использовать агар XLD в сочетании с другой средой (SM ID, Hektoen, агар с бриллиантовой зеленью, модифицированный агар с бриллиантовой зеленью) или средой специального назначения (исследование кала: агар Campyloset, Yersinia, Clostridium difficile).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе использовали 112 бактериальных штаммов (*Salmonella*, *Shigella*, другие энтеробактерии и грам(+) бактерии). Культивирование осуществляли при 37°C.

Питательные качества среды:

Все исследованные штаммы *Salmonella* и *Shigella* образовали характерные колонии в течение 24 часов, кроме 4 штаммов *S. sonnei*.

Пятьдесят два штамма прочих энтеробактерий также образовали колонии в течение 24 часов.

Селективные свойства:

Рост 14 из 15 штаммов грам(+) бактерий ингибировался (в течении 48 часов).

ХРАНЕНИЕ

- Флаконы с агаром следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.
 - Чашки с агаром следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить не более 2 недель в целлофановом пакете при 2-8°C.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизируйте отходы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов. Ответственность за утилизацию несут сотрудники лаборатории.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

При соблюдении соответствующих правил и инструкций - в пределах срока годности, указанной на упаковке продукта.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу

192102 Санкт Петербург Волковский пр 6 лит А тел (812)646-68-64