



ИНСТРУКЦИЯ

По применению набора реагентов

Готовая питательная среда

Агар CLED

НАЗНАЧЕНИЕ

Среда для культивирования *бактерий из мочевых путей*. Ингибирует бурный рост *Proteus*.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Агар CLED – неселективная дифференциальная среда для роста и подсчета микроорганизмов мочевых путей. Отсутствие хлорида натрия ингибирует обильное разрастание колоний *протеев* и способствует росту подавляющего большинства бактерий, вызывающих инфекции мочевых путей, поэтому среда используется для их дифференциации и идентификации. Присутствие бактериальных примесей (таких как *Diphtheroids*, *лактобациллы* и другие микроорганизмы) указывает на неосторожность при работе с образцом мочи.

Мясной экстракт и казеиновый пептон являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот; лактоза – ферментируемый углевод, источник углерода и энергии. L-цистин используется в качестве специальной добавки для роста цистин-зависимых *колиформных бактерий*. Бромтимоловый синий служит индикатором pH, на основе которого происходит дифференциация выделенных штаммов по признаку ферментации лактозы. Организмы, ферментирующие лактозу, понижают уровень pH и изменяют цвет среды с зеленого на желтый.

Возбудители инфекций мочевыводящих путей обычно растут обильно и принадлежат только к одному виду. Наиболее часто выделяется *E. coli*. Посев пробы можно делать методом разведения или посева штрихом на поверхность агара с помощью калиброванной петли. Сосчитать колонии через 24–48 часов инкубации при температуре 35±2°C. Указать количество колоний в 1 мл мочи. Присутствие колоний в количестве 100000 (10⁵)/мл и более свидетельствует о значительной клинической инфекции мочевых путей.

СОСТАВ НАБОРА

Готовая к использованию среда Агар CLED

Ч0821 упаковка 20 или 100 чашек Петри (90 мм)

Ф0821 упаковка 6 флаконов по 200мл

СОСТАВ СРЕДЫ

Расчетный состав, г/л дистиллированной воды.

Лактоза	10,0	Казеиновый пептон	4,0
Желатиновый пептон	4,0	Мясной экстракт	3,0
L-цистин	0,128	Бромтимоловый синий	0,02
Бактериологический агар	15,0		

Конечная величина pH 7,3±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

В чашки вносится моча без предварительной подготовки.
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:

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.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- По окончании инкубации оцените бактериальный рост и внешний вид колоний:
 - Сбраживающие лактозу микроорганизмы: колонии желтого цвета разной степени насыщенности.
 - Не сбраживающие лактозу микроорганизмы: зеленые, голубые или бесцветные колонии.
- Для идентификации пользуйтесь биохимическими и/или иммунологическими методами.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

ХАРАКТЕРИСТИКИ КОЛОНИЙ

- *Staphylococcus aureus*: темно-желтые колонии диаметром 0,75 мм.
- *Proteus*: полупрозрачные, синие, меньше, чем *E. coli*.
- *Escherichia coli*: большие, выпуклые, желтые, матовые, более интенсивного цвета в центре. Желтый агар (штаммы, не ферментирующие лактозу: синие колонии).

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды на тестовых культурах после инкубации при 35±2°C и наблюдались через 24–48 часов.

Микроорганизмы	Рост	Цвет колонии
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Хороший	Светло-желтый – синий
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Хороший	Желтый
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 29905	Хороший (обильный рост ингибирован)	Синий – сине-зеленый
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший	Светло-желтый – *
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Хороший	Светло-желтый – *
* – Без изменений.		

Примечание:

Сотрудники лаборатории несут ответственность за проверку качества среды (частота, количество штаммов, температура культивирования и пр.) в соответствии с целями работы и установленными нормами и правилами.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- При культивировании более 24 часов возможно вторичное подщелачивание среды, что приводит к изменению цвета колоний.
- Некоторые штаммы, имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия культивирования), могут не образовать колоний на данной среде.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследовании использовали 100 нестерильных образцов мочи. Культивирование вели при 37 С°. Все образцы дали рост на среде CLED.

Питательные качества среды:

Из 136 штаммов, выделенных из образцов (энтеробактерии, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, энтерококки, стафилококки, другие грам(+) бактерии и дрожжи), на среде CLED образовали колонии 132 штамма.

Семьдесят восемь штаммов образовали желтые колонии в результате подкисления среды.

Селективные свойства:

Два из 8 штаммов *Proteus* образовали расплывшиеся (незначительно) колонии.

ХРАНЕНИЕ

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

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