



ИНСТРУКЦИЯ

По применению набора реагентов

Готовая питательная среда

Шоколадный агар с факторами роста

НАЗНАЧЕНИЕ

Шоколадный агар с добавлением смеси ростовых факторов предназначен для выделения и культивирования прихотливых микроорганизмов, принадлежащих к родам *Neisseria*, *Haemophilus* и *Streptococcus (S. pneumoniae)*.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Шоколадный агар используется для выделения и культивирования широкого спектра микроорганизмов со сложными характеристиками роста и для определения гемолитических реакций.

Сердечная вытяжка и мясной пептон – источники питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Хлорид натрия поддерживает осмотический баланс. Дефибринированная кровь является дополнительным фактором роста для требовательных микроорганизмов и служит основой для выявления гемолитических реакций. Дефибринированная баранья кровь позволяет культивировать виды рода *Thermophilus* и дает наилучшие результаты в работе со *стрептококками* группы А.

Используя стандартные методы культивирования, получить изолированные колонии из исследуемых образцов. Инкубировать при $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 24–48 часов. Так как многие патогены при первичном выделении нуждаются в углекислом газе, чашки можно инкубировать в атмосфере с 5–10% CO_2 .

СОСТАВ НАБОРА

Готовая к использованию среда

Ч0801 упаковка 20 или 100 чашек Петри (90 мм)

Ф0801 упаковка 6 флаконов по 200мл

СОСТАВ СРЕДЫ

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Сердечная вытяжка	10,0	Мясной пептон	10,0
Хлорид натрия	5,0	Бактериологический агар	15,0
Кровь (баранья)	50,0		

Конечная величина pH $7,3 \pm 0,2$ при 25°C

Смесь с факторами роста (Расчетный состав, мг/л после добавления 1 мл смеси к 100 мл среды):

Витамин B12	0.1	L-глутамин	100
Аденин	10	Гуанина гидрохлорид	0.3
Парааминобензойная кислота	0.13	L- цистин	11
Дифосфопиридиннуклеотид (окисленный)	2.5	Кокарбоксилаза	1.04
Железа нитрат	0.2	Тиамин гидрохлорид	0.03
Цистеина гидрохлорид	259		

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 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

- Генераторы атмосферы + контейнер для инкубации (или анаэростат).
- Термостат.
- Водяная баня.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Среда предназначена для работы с любыми типами образцов.

Посев производится непосредственно на поверхность агара.

Соблюдайте правила транспортировки и хранения образцов.

Среду можно также использовать для посева и выделения чистых культур.

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 в соответствующей атмосфере, при необходимости используйте газогенераторы (анаэростат).
4. Инкубируйте в перевернутом положении (вверх дном) при 37°C. Время инкубации зависит от типа образца и целей исследования. Как правило, учет результата производится через 24-48 часов. При необходимости инкубацию следует продлить.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- По окончании инкубации оцените бактериальный рост.
- Для идентификации микроорганизма пользуйтесь биохимическими и/или иммунологическими методами.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Альфа-гемолиз: изменение цвета среды на зеленоватый.
- Бета-гемолиз: образование чистых зон вокруг колоний.
- Гамма-гемолиз: без изменений.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды с 5% дефибринированной бараньей кровью на тестовых культурах после инкубации при температуре 35±2°C и наблюдались через 24–48 часов.

Микроорганизмы	Рост	Гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Хороший	–
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший	Бета
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Хороший	–
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший	Альфа
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший	Бета

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Некоторые штаммы, имеющие специфические ростовые потребности, могут не образовать колоний на данной среде.
- Данная среда может быть использована в сочетании с другой селективной средой, в зависимости от типа образца и целей исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование шоколадного агара с факторами роста проводили при 37°C на 38 бактериальных штаммах (*N. gonorrhoeae*, *N.meningitidis*, *Haemophilus*, *Streptococcus pneumoniae*, другие грамположительные и грамотрицательные бактерии) и 2 дрожжевых (*Candida* и *Saccharomyces*).

Питательные свойства:

Все штаммы образовали колонии за 24 часа, кроме одного штамма *Haemophilus equigenitalis*, который образовал колонии за 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.

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