



Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН (КММ)
Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН)

№: СОП-003	Дата создания: 28 июля 2017	Версия №: V 2.00	Дата текущая: 14 октября 2021	Стр. 1 из 4
---------------	--------------------------------	---------------------	----------------------------------	-------------

Стандартная операционная процедура «Выделение новых штаммов бактерий и грибов в Коллекции морских микроорганизмов»

СОП-003

УТВЕРЖДАЮ
И.о. директора ТИБОХ ДВО РАН, к.б.н.
Черников О.В.
2021 г.



Место нахождения документа: Электронная копия: Лаборатория микробиологии, серверный компьютер, диск D, папка «СОПы» Бумажная копия: Лаборатория микробиологии, комната 514, папка «СОПы»		
Документ подготовлен: к.б.н. Куриленко В.В. 14.10.2021	Документ проверен: зав. ЛМБХ, к.м.н. Исаева М.П. 14.10.2021	Документ согласован: чл.-корр., д.б.н. Михайлов В.В. 14.10.2021

Владивосток 2021



№: СОП-003	Дата создания: 28 июля 2017	Версия №: V 2.00	Дата текущая: 14 октября 2021	Стр. 2 из 4
---------------	--------------------------------	---------------------	----------------------------------	-------------

1. ВВЕДЕНИЕ

Стандартная операционная процедура «Выделение новых штаммов бактерий и грибов в Коллекции морских микроорганизмов» - СОП-003 содержит протоколы выделения штаммов микроорганизмов из КММ ТИБОХ ДВО РАН, а также требования к организации и условиям проведения экспериментальных процедур.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Стандартная операционная процедура разработана для стандартизации процессов выделения чистых культур бактерий и грибов из КММ ТИБОХ ДВО РАН.

Данный документ может быть использован сотрудниками лаборатории, выполняющими данную процедуру, а также для обучения нового персонала.

3. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ И ОХРАНА ТРУДА

Следование правилам техники безопасности и санитарного режима на рабочем месте является неукоснительным требованием для соблюдения всем персоналом, допущенным к работе в лаборатории.

В лаборатории имеется комплект инструкций по технике безопасности по каждому виду лабораторных работ. Ответственность за организацию безопасных условий труда в лаборатории возлагается в соответствии с приказом по учреждению на руководителя соответствующего подразделения или специально назначенное ответственное лицо.

Каждый сотрудник получает первичный инструктаж по технике безопасности при приеме на работу или возвращении к данному виду деятельности после длительного перерыва. Повторный плановый инструктаж проводят ежегодно, а внеплановый – при возникновении аварийных ситуаций или по распоряжению администрации учреждения. О прохождении инструктажа и допуске к самостоятельной работе в лаборатории делают отметку под роспись сотрудника в «Журнале проведения инструктажа по технике безопасности».



№: СОП- 003	Дата создания: 28 июля 2017	Версия №: V 2.00	Дата текущая: 14 октября 2021	Стр. 3 из 4
----------------	--------------------------------	---------------------	----------------------------------	-------------

4. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ПЕРСОНАЛА

Сотрудники лаборатории несут персональную ответственность за выполнение ими правил техники безопасности, соблюдение санитарного и противопожарного режимов на рабочем месте.

Сотрудникам лаборатории запрещено без разрешения руководителя подразделения выносить за пределы рабочей зоны исследуемые образцы и рабочую документацию лаборатории.

Сотрудники лаборатории обеспечивают качественное выполнение подготовки образцов к исследованиям, соблюдают правила проведения всех этапов проведения исследования и своевременно предоставляют результаты исследований в соответствии с разработанными условиями (заполнение рабочего журнала, ведение электронной отчетности). Сотрудники лаборатории рационально используют реактивы и расходные материалы, обеспечивают сохранность лабораторного оборудования и лабораторных образцов на всех этапах исследования.

5. ПРОЦЕДУРА

В качестве биологического материала для исследования используются культуры микроорганизмов.

5.1. Общие положения

Работа с культурами микроорганизмов проводится в боксе биологической безопасности во избежание загрязнения помещения и последующей контаминации образцов.

Подготовку бокса проводят до начала работ, обеззараживание – по их окончании в соответствии с правилами санитарного режима в подразделении.

5.2. Выделение новых штаммов микроорганизмов

Выделение новых штаммов в «Коллекции морских микроорганизмов» осуществляется следующим образом.

Выделение чистой культуры микроорганизмов состоит из ряда последовательных процедур:



№: СОП- 003	Дата создания: 28 июля 2017	Версия №: V 2.00	Дата текущая: 14 октября 2021	Стр. 4 из 4
----------------	--------------------------------	---------------------	----------------------------------	-------------

Рассев (из разведений или нет) посевного материала методом Коха на агаризованную среду МА 1226 (иногда другие среды) в чашках Петри.

Выделение культуры из выросших колоний.

Определение чистоты выделенного штамма.

Выделение чистой культуры.

Выделение чистой культуры проводится из отдельной колонии (иногда из отдельной клетки).

Метод выделения чистой культуры из отдельной колонии применим для аэробных и микроаэрофильных и, иногда, для факультативно-анаэробных микроорганизмов, которые растут на плотных средах.

На поверхность застывшей среды наносят каплю посевного материала распределяют её по поверхности плотной среды в чашке Петри шпателем Дригальского. Далее этим же шпателем протирают поверхность среды последовательно по второй, третьей и четвертой чашках (иногда и пятой чашки Петри). Иногда используется метод истощающего штриха. После посева чашки Петри помещают в термостат (обычно при 28 °С). Чашки выдерживают в термостате в течение 3-14 суток в зависимости от скорости роста микроорганизмов. Выросшие изолированные колонии отсевают петлей на поверхность скошенной плотной среды в пробирке или в жидкую среду или на поверхность агаризованной среды в чашке Петри штрихом.

Определение чистоты выделенной культуры осуществляется несколькими способами: визуальным, микроскопическим контролем и высевом на ряд питательных сред и, иногда, молекулярно-биологическими методами.

Выделение культур осуществляется с использованием соответствующего (ламинарные боксы, автоклавы, термостаты и др.) оборудования.