

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

«___» _____ 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Сахарозо-лактозный агар с бриллиантовым зелёным и феноловым красным, сухой (БФЛС-ГРМ агар)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Сахарозо-лактозный агар с бриллиантовым зелёным и феноловым красным, сухой (БФЛС-ГРМ агар)» предназначен для санитарно-бактериологических исследований продуктов питания и других объектов с целью выделения сальмонелл (кроме *S. typhi*). Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

БФЛС-ГРМ агар представляет собой мелкодисперсный порошок от бежевого до розового цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

БФЛС-ГРМ агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 и 100 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста и выделения сальмонелл. Входящие в состав среды бриллиантовый зелёный и малахитовый зелёный ингибируют рост сопутствующей микрофлоры. Сальмонеллы не ферментируют сахарозу и лактозу, поэтому образуют прозрачные, бесцветные или розовые колонии. Другие микроорганизмы, ферментирующие сахарозу и лактозу, образуют желтые, матовые колонии, окруженные желтым ореолом.

2.2. Состав

БФЛС-ГРМ агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки	15,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрий хлористый	3,0
Натрий фосфорнокислый 1-замещенный	0,5
Натрий фосфорнокислый 2-замещенный б/вод.	1,0
α -Д-лактоза, 1-водная	10,0
Сахароза	10,0
Феноловый красный	0,09
Бриллиантовый зеленый	0,005
Малахитовый зеленый	0,005
Натрий углекислый	0,2 $\pm$ 0,1
Агар бактериологический	14,0 $\pm$ 2,0

pH от 6,8 до 7,2

Определение pH проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» в экстракте, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухого БФЛС-ГРМ агара 100 мл дистиллированной воды, настаивания с периодическим перемешиванием в течение 1 ч при температуре 18 - 25 °С и последующего фильтрования через бумажный фильтр.

Величина pH, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению pH готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Специфическая активность: БФЛС-ГРМ агар обеспечивает визуально обнаруживаемый рост *Salmonella abony* IHE 103/39, *Salmonella enteritidis* 11272, *Escherichia coli* ATCC 25922 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} через 20-24 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С.

Дифференцирующие свойства: При посеве по 0,1 мл микробной смеси тест-штаммов *S. enteritidis* 11272 и *E. coli* ATCC 25922 из разведения 10^{-6} на всех засеянных чашках через 20-24 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С наблюдается четкая дифференциация сальмонелл от кишечной палочки.

Ингибирующие свойства: БФЛС-ГРМ агар подавляет рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P из разведения 10^{-4} на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси через 20-24 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37 ± 1 °C
- 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 ПРОБЫ

Объекты исследований - продукты питания, и другие объекты при санитарно-бактериологических исследованиях.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред», МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды», ГОСТ 31659-2012 Межгосударственный стандарт «Продукты пищевые Метод выявления бактерий рода *Salmonella*», ГОСТ Р 52814-2007 (ИСО 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*, ГОСТ ISO 6785-2015 Молоко и молочная продукция. Обнаружение *Salmonella* spp., и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории специалистами, изучившими настоящую Инструкцию.

7.1. Приготовление БФЛС-ГРМ агара

Навеску БФЛС-ГРМ агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Стерилизуют автоклавированием при температуре 121°C в течение 15 мин, охла-

ждают до температуры 45-50 °С и разливают в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки подсушивают.

Готовая питательная среда прозрачная, красного цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. Исследуемый материал, подготовленный согласно соответствующим документам по п. 6, внести соответственно на чашки Петри с БФЛС-ГРМ агаром и стерильным шпателем распределить взвесь по поверхности среды. Инкубировать при температуре $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$ в течение 20-24 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 20-24 инкубации визуально учитывая наличие и характер роста: сальмонеллы - круглые, гладкие, розового цвета, диаметром от 1,5 до 3,0 мм; эшерихии - круглые, гладкие, желтые, с желтой зоной вокруг, диаметром от 1,5 до 3,0 мм.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды».

Для получения достоверных результатов посева образцов производить не менее чем в трех повторностях.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии БФЛС-ГРМ агара, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение БФЛС-ГРМ агара после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре $(126 \pm 1)^\circ \text{C}$.

Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

БФЛС-ГРМ агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги.

БФЛС-ГРМ агар транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие БФЛС-ГРМ агара заявленным в ТУ 20.59.52-284-78095326-2018 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По всем вопросам, касающимся качества изделия «Сахарозо-лактозный агар с бриллиантовым зелёным и феноловым красным, сухой (БФЛС-ГРМ агар)», получения консультации обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.