

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Питательной среды для родовой дифференциации энтеробактерий сухой (Малонатный агар)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для родовой дифференциации энтеробактерий сухая (Малонатный агар)», далее по тексту – Малонатный агар, предназначен для родовой дифференциации энтеробактерий по тесту утилизации малоната натрия.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Малонатный агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного порошка светло-желтого цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Малонатный агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает рост микроорганизмов, одновременно утилизирующих в качестве источника азота и углерода – малонат натрия и хлорид аммония. Защелачивание среды, забуференной фосфатами калия и натрия, при росте микроорганизмов, утилизирующих малонат натрия приводит к изменению цвета индикатора бромтимолового синего из зеленого в синий. Хлорид натрия обеспечивает оптимальное осмотическое давление.

Рост микроорганизмов, не утилизирующих малонат натрия, наблюдается без изменения цвета среды.

2.2. Состав

Состав, г/л:

Натрий малоновокислый одноводный	3,0
Аммоний хлористый	2,0
Калий фосфорнокислый однозамещенный	0,4
Натрий фосфорнокислый двузамещенный б/вод	0,6
Бромтимоловый синий	0,05
Натрий хлористый	2,0
Агар бактериологический	8,0±2,0
рН от 6,6 до 7,0	

Определение рН 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 сухой среды Малонатный агар 100 мл дистиллированной воды, настаивания с периодическим перемешиванием в течение 1 ч при температуре 18 - 25 °С и последующего фильтрования через бумажный фильтр. Величина рН, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению рН готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после кипячения и стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность: Малонатный агар обеспечивает во всех засеянных пробирках, при посеве штрихом по скошенной поверхности среды по одной бактериологической петле диаметром 2 мм, рост тест-штаммов через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С. *Klebsiella pneumoniae sub. pneumoniae* 418, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048/NCTC 10006 с изменением цвета среды из зеленого в синий, тест-штамы *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Providencia alcalifaciens* NCTC 1068-50 - без изменения цвета среды.

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 $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- 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 ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований – микробные изоляты энтеробактерий, выделенные при проведении санитарно-бактериологических исследований.

Объекты исследований – клинические изоляты.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями». МУК 4.2.992-00 «Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки *E. coli* O157:H7». Острые кишечные диарейные инфекции. Указания по диагностике, лечению и профилактике в Вооруженных Силах Российской Федерации. М. 2019г, МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред»

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление Малонатного агара.

Навеску Малонатного агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Среду разливают в пробирки по 5 мл и стерилизуют автоклавированием при температуре 121°C в течение 20 мин. При охлаждении сред усаживают без столбика.

Готовый Малонатный агар прозрачный, светло-желтого цвета.

Контроль специфической активности среды допускается осуществлять в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. После соответствующей подготовки (по п.6) исследуемый материал по одной бактериологической петле диаметром 2 мм засевают в три пробирки с Малонатным агаром, нанося материал штрихом на скошенную поверхность среды. По одной пробирке со средой оставляют незасеянной (контроль).

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально учитывают рост и проявление биохимических признаков (изменение цвета среды).

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Малонатного 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 отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например - сжиганием.

Уничтожение Малонатного агара после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре (126±1) °С.

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

Малонатный агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку со средой хранят при температуре от 2 до 30 °С до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги.

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

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в случае повреждения упаковки использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие Малонатного агара заявленным в ТУ 20.59.52-350-78095326-2021 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортирования.

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

По всем вопросам, касающимся качества «Питательная среда для родовой дифференциации энтеробактерий сухая (Малонатный агар)», 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.