

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Питательный агар для селективного выделения патогенных стафилококков сухой (Маннит-солевой агар)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательный агар для селективного выделения патогенных стафилококков сухой (Маннит-солевой агар)», предназначен для селективного выделения патогенных стафилококков в пищевых продуктах, фармацевтических и косметических продуктах, экологических пробах и др. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Маннит-солевой агар представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета с розовым оттенком, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Маннит-солевой агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 или 100 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды Маннит-солевой агар, обеспечивает питательные потребности для роста и идентификации патогенных стафилококков по признаку ферментации маннита. Рост бактерий, кроме стафилококков, подавляется высокой концентрацией хлорида натрия. Маннит является ферментируемым и дифференцирующим субстратом, а так же источником углерода. Штаммы *Staphylococcus aureus*, вырастающие на этой среде, ферментируют маннит и образуют желтые колонии, окруженные зоной пожелтения среды.

2.2. Состав

Маннит-солевой агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	5,0
Пептон ферментативный	5,0
Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой)	20,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрий хлористый	68,0
D(-) Маннит	10,0
Феноловый красный	0,025
Натрий углекислый	0,2±0,1
Агар бактериологический	10,0±3,0

pH от 7,0 до 7,4

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 Маннит-солевого 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: Маннит-солевой агар обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси на всех засеянных чашках Петри рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P из разведения 10^{-6} через (48±3) ч инкубации при температуре (33±2) °С в виде круглых, выпуклых золотисто-желтого цвета колоний с желтой зоной, диаметром от 1,5 до 2,0 мм.

Ингибирующие свойства: Маннит-солевой агар полностью подавляет рост тест-штаммов *Pseudomonas aeruginosa* 453 и *Escherichia coli* ATCC 25922 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-3} на всех засеянных чашках через (48±3) ч инкубации при температуре (33±2) °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 °С
- 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

6.1. Объекты исследований – пищевые продукты, фармацевтические и косметические продукты, экологические пробы и др.

6.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ Р 54354-2011 «Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа», ГОСТ ISO 11133-2016 «Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред», МУК 4.2.801-99. «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции», ГОСТ 32149-2013 «Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы микробиологического анализа» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление Маннит-солевого агара

Перед приготовлением среды содержимое банки тщательно перемешивают. Навеску Маннит-солевого агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешать в 1 л дистиллированной воды, прокипятить 2 мин до полного расплавления агара, профильтровать через ватно-марлевый фильтр и простерилизовать автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охладить до температуры 45-50 °С, разлить в стерильные чашки Петри и после застывания чашки со средой подсушить.

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. 6.2, внести соответственно на две чашки Петри с Маннит-солевым агаром и стерильным шпателем распределить взвесь по поверхности среды. Инкубировать при температуре (33 ± 2) °С в течение (48 ± 3) ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через (48 ± 3) ч инкубации визуально учитывая наличие и характер роста в виде круглых, выпуклых золотисто-желтого цвета колоний с желтой зоной, диаметром от 1,5 до 2,0 мм.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с нормативной документацией.

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Маннит-солевого 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 Маннит-солевого 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 ± 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 ИЗДЕЛИЯ

Маннит-солевой 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 хра-

нут до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги.

Маннит-солевой агар транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения от 2 до 30 °С, 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 Маннит-солевого агара заявленным в ТУ 9385-256-78095326-2016 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 «Питательный агар для селективного выделения патогенных стафилококков сухой (Маннит-солевой 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.