

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

**«Питательной среды для селективного накопления сальмонелл сухой
(Основа среды Мюллер-Кауфмана)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для селективного накопления сальмонелл сухая (Основа среды Мюллер-Кауфмана)» после внесения в неё раствора Люголя, предназначена для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов, объектов окружающей среды и других образцов, предположительно контаминированных сальмонеллами, с целью селективного накопления сальмонелл. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Основа среды Мюллер-Кауфмана представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного порошка кремового цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Основа среды Мюллер-Кауфмана выпускается в полиэтиленовых банках по 250 или 100 г.

Раствор Люголя в комплект поставки не входит.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста и накопления сальмонелл из исследуемых образцов различной степени биологического загрязнения. Селективные свойства среды в отношении ряда сопутствующих микроорганизмов основаны на ингибирующем действии желчи, бриллиантового зеленого и тетратионата натрия, который образуется в среде из тиосульфата натрия при добавлении йода.

2.2. Состав

Основа среды Мюллер-Кауфмана представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

– Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	7,0
– Пептон мясной	5,0
– Натрий хлористый	4,5
– Дрожжевой экстракт	2,5
– Бриллиантовый зеленый	0,01
– Желчь крупного рогатого скота очищенная сухая	5,0
– Кальций углекислый	25,0
– Натрия тиосульфат безводный	27,0

pH от 7,6 до 7,8

Определение pH проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» в растворе, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухой Основы среды Мюллер-Кауфмана 100 мл дистиллированной воды, перемешивания 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 кипячения. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после кипячения среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность. Специфическая активность определяется после внесения в Основу среды раствора Люголя. Готовая среда в пробирках непрозрачная сине-зеленого цвета с белым преципитатом. Среду необходимо использовать в день приготовления.

Основа среды Мюллер-Кауфмана с внесенным раствором Люголя, обеспечивает во всех засеянных пробирках при посеве в 9 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через (24 ± 3) ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ рост каждого тест-штамма *Salmonella enteritidis* 11272 и *Salmonella typhimurium* 79. Наличие роста подтверждается высевом на ГРМ-агар или на среду аналогичного назначения.

Показатель эффективности не менее 10 (отношение среднего числа колоний, выросших на чашках с ГРМ-агаром, либо на среде аналогичного назначения, после обогащения в течение 24 ч в основе среды Мюллер-Кауфмана с внесенным раствором Люголя, к среднему числу колоний, выросших до обогащения).

Ингибирующие свойства. При посеве в основу среды Мюллер-Кауфмана с внесенным раствором Люголя по 1,0 мл микробной взвеси тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 из

разведения 10^{-5} через (24 ± 3) ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ рост отсутствует во всех засеянных пробирках. На ГРМ-агаре - наличие роста *E. coli* ATCC 25922.

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
- Электрическая плитка «Мечта» мощностью 2 кВт
- 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
- Раствор Люголя

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований - пищевые продукты, объекты окружающей среды и другие, предположительно контаминированных сальмонеллами.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579-2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*», МУК 4.2.577-96 «Методы микробиологического контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов», МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды», ГОСТ ISO 11133-2016 «Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят специалисты бактериологических лабораторий, изучивших настоящую Инструкцию.

7.1 Приготовление Основы среды Мюллер-Кауфмана

76,0 г сухой Основы среды Мюллер-Кауфмана тщательно размешать в 1 л воды дистиллированной, кипятить в течение 2 мин. **Не автоклавировать!** Охладить, непосредственно перед использованием асептически добавить 20,0 мл раствора Люголя (20,0 г йода и 25,0 г калия йодида растворить в 100 мл дистиллированной воды). Перед розливом среду тщательно перемешать для равномерного распределения частиц углекислого кальция и разлить по 9 мл в стерильные пробирки.

Готовая среда в пробирках непрозрачная сине-зеленого цвета с белым преципитатом.

Среду необходимо использовать в день приготовления.

7.2. После соответствующей подготовки (по п.6) исследуемый материал внести в Основу среды Мюллер-Кауфмана, с добавленным раствором Люголя, и инкубировать при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч. После культивирования провести высев на дифференциально-диагностические питательные среды для выделения сальмонелл.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят на дифференциально-диагностических питательных средах, визуально наблюдая наличие характерного роста сальмонелл. Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с МУ 4.2.2723-10.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Основы среды Мюллер-Кауфмана 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 Основы среды Мюллер-Кауфмана с внесенным раствором Люголя, после проведения биологического исследования осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как 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

Основу среды Мюллер-Кауфмана 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 при температуре от 2 до 30 °С до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги.

Основу среды Мюллер-Кауфмана 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 случае повреждения упаковки использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие Основы среды Мюллер-Кауфмана заявленным в ТУ 20.59.52-273-78095326-2017 требованиям и функциональным характеристикам 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 «Питательной среды для селективного накопления сальмонелл сухой (Основа среды Мюллер-Кауфмана)», 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.