

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН «Государственный
научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Питательная среда для селективного выделения псевдомонад сухая
(Цетримидный агар)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для селективного выделения псевдомонад сухая (Цетримидный агар)» предназначена для выделения возбудителя синегнойной инфекции *Pseudomonas aeruginosa* из пищевых продуктов, воды и других объектов при проведении санитарно-бактериологических исследований. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Цетримидный агар представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Цетримидный агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 или 100 г

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста и выделения псевдомонад. Ингибиторы: цетримид и налидиксовая кислота подавляют рост сопутствующей микрофлоры, при этом не влияют на способность псевдомонад к пигментообразованию.

2.2. Состав

Цетримидный агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой).....	10,0
Пептон мясной	10,0
Дрожжевой экстракт	3,0

Натрий хлористый	5,0
Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,0
Калий фосфорнокислый двузамещенный	1,0
Магний сернокислый 7-водный	1,5
Цетримид	0,3
Натрий углекислый	0,2±0,1
Налидиксовая кислота	0,01
Агар бактериологический	10,0±3,0
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 Цетримидного 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: Цетримидный агар обеспечивает визуально обнаруживаемый рост *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 140 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} через 44-48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С в виде колоний от желто-зеленого до зеленого цвета, диаметром от 2,0 до 5,0 мм.

Ингибирующие свойства: Цетримидный агар подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Proteus mirabilis* 3177 из разведения 10^{-3} и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P из разведения 10^{-1} на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси через 44-48 ч инкубации при температуре (37 ± 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 °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 - продукты питания и другие объекты при санитарно-бактериологических исследованиях.

6.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ Р ИСО 13720-2011 «Мясо и мясные продукты. Подсчет количества презумптивных *Pseudomonas* spp.», ГОСТ Р 54755-2011 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Pseudomonas aeruginosa*», МР «Обнаружение и идентификация *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследования проводятся специалистами в условиях санитарно-бактериологической лаборатории, изучившими настоящую Инструкцию.

7.1. Приготовление Цетримидного агара.

Навеску среды Цетримидный агар в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешать в 1 л дистиллированной воды, добавить 10 мл глицерина, кипятить 2 мин до полного расплавления агара, фильтровать через ватно-марлевый фильтр. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охладить до температуры 45-50 °С и разлить в стерильные чашки Петри. После застывания чашки со средой подсушить.

Готовый Цетримидный агар в чашках Петри непрозрачный, светло-желтого 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. 6.2, внести на чашки Петри с Цетримидным агаром и стерильным шпателем распределить взвесь по поверхности среды. Инкубировать при температуре (37 ± 1) °С в течение 44-48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 44-48 ч инкубации посевов при температуре (37 ± 1) °С. Визуально учитывают наличие и характер роста – колонии *P. aeruginosa* от желто-зеленого до зеленого цвета, диаметром от 2,0 до 5,0 мм.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с действующими нормативными документами.

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Цетримидного 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 Цетримидного 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 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

Цетримидный 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.

Цетримидный 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 Цетримидного агара заявленным в ТУ 20.59.52-294-78095326-2018 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 «Питательной среды для селективного выделения псевдомонад сухой (Цетримидный 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.