

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Питательная среда для дифференциации энтеробактерий сухая (Ацетатный агар)»

для санитарно-бактериологических исследований

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для дифференциации энтеробактерий сухая (Ацетатный агар)» предназначена для дифференциации энтеробактерий по их способности утилизировать ацетат натрия в качестве единственного источника углерода при санитарно-бактериологических исследованиях, далее по тексту - Ацетатный агар.

Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Ацетатный агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г или по 100 г.

Ацетатный агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка светло-желтого цвета.

2.1. Принцип действия

Питательная среда позволяет дифференцировать микроорганизмы по способности утилизировать ацетат натрия. Большинство штаммов *Escherichia coli* и близкородственных микроорганизмов утилизируют ацетат натрия в качестве единственного источника углерода в течение 24-48 ч. Микроорганизмы, утилизирующие ацетат натрия, изменяют цвет среды с зеленого на синий; не утилизирующие ацетат натрия не растут или растут очень медленно и, соответственно, не меняют цвет среды.

2.2. Состав

Состав Ацетатного агара, г/л:

– Натрий хлористый	4,0
– Магний серноокислый	0,2
– Калий фосфорнокислый однозамещенный	0,85
– Аммоний хлористый	0,8
– Натрий фосфорнокислый двузамещенный	1,0

- Натрий уксуснокислый 2,0
- Бромтимоловый синий 0,06
- Агар бактериологический 8,0±2,0

pH от 6,6 до 7,0

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 Ацетатного агара 100 мл дистиллированной воды, настаивания в течение 1 ч при температуре 18-25 °С и последующего фильтрования.

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

Специфическая активность: Ацетатный агар обеспечивает при посеве культуры по одной бактериологической петле диаметром 2 мм не позднее 48 ч инкубации при температуре (37±1) °С во всех засеянных пробирках рост каждого тест-штамма *Escherichia coli* 3912/41 (055: K59), *Klebsiella pneumoniae* 3534/51 и *Escherichia coli* O124 Ewing 227 с изменением цвета среды из зеленого в синий. Рост тест-штамма *Shigella sonnei* «S form», не способного утилизировать ацетат натрия, отсутствует.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – 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 вместимостью – 10 мл
- 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 выделенных микроорганизмов. Идентификацию исследуемого материала проводят по способности бактерий утилизировать ацетат натрия.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1 Приготовление Ацетатного агара.

Навеску питательной среды в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии, указанной на этикетке, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин до полного расплавления агара, разливают по 5 мл в стеклянные пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. После охлаждения среду скашивают без столбика.

Готовая питательная среда прозрачная зеленого цвета. Допускается легкая опалесценция.

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 действующим документам, засевают, нанося материал штрихом на скошенную поверхность соответственно в две пробирки с Ацетатным агаром.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально после инкубации посевов по изменению цвета среды.

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

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Серии Ацетатного 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.

Уничтожение Ацетатного 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.

Уничтожение упаковок (полиэтиленовых банок) после полного израсходования содержимого следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации или осуществляется предприятиями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Ацетатный 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.

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

Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие изделия «Питательная среда для дифференциации энтеробактерий сухая (Ацетатный агар)», заявленным в ТУ 20.59.52-310-78095326-2019 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 «Питательная среда для дифференциации энтеробактерий сухая (Ацетатный агар)», получения консультации и поддержки 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.