

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению изделия
ЦИТРАТНЫЙ АГАР КРИСТЕНСЕНА

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Цитратный агар Кристенсена», далее по тексту – питательная среда, предназначена для дифференциации энтеробактерий по признаку утилизации цитрата натрия. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Питательная среда представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка розового цвета.

Питательная среда выпускается в полиэтиленовых банках по 100 и 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста микроорганизмов, утилизирующих цитрат натрия. Принцип метода – визуальное обнаружение изменения цвета скошенной части питательной среды с желтого на розовый (утилизация цитрата натрия). При росте микроорганизмов, не утилизирующих цитрат натрия, цвет среды не изменяется.

2.2. Состав

Состав питательной среды, г/л:

- | | |
|--------------------------------|-----|
| – Натрий цитрат 2-водный | 3,0 |
| – Дрожжевой экстракт | 0,2 |

– D-глюкоза	0,2
– Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,0
– Цистеина гидрохлорид	0,1
– Феноловый красный	0,012
– Натрий хлористый	5,0
– Агар бактериологический	10,0±2,0

pH от 6,4 до 6,9

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 питательной среды 100 мл дистиллированной воды. 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. Питательная среда должна обеспечивать рост тест-штаммов во всех засеянных пробирках при посеве бактериологической петлей диаметром 2 мм в течение 24-72 ч инкубации при температуре (37±1) °С. Рост каждого тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* Ewing (O₁₂₄K₇₂) 227, *Providencia alcalifaciens* 1068-50 наблюдается в виде изменения цвета скошенной части среды с желтого на розовый (утилизация цитрата натрия).

Тест-штамм *Shigella sonnei* «S form», не утилизирующий цитрат натрия, не изменяет цвет среды.

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
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ISO 21567: 2004 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных - Горизонтальный метод обнаружения *Shigella* spp.», МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1 Приготовление питательной среды.

Навеску питательной среды в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. После охлаждения до температуры 40-45°С питательную среду в асептических условиях разливают по 7 мл в стерильные стеклянные пробирки и скашивают.

Готовая питательная среда прозрачная 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, вносят в каждую из двух пробирок, содержащих по 7 мл питательной среды. Поверхность скошенной части среды необходимо инокулировать небольшой дозой чистой культуры. Посевы инкубируют в течение 24-72 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Присутствие в посевном материале энтеробактерий, утилизирующих цитрат натрия, определяется визуально по изменению цвета скошенной части среды с желтого на розовый. Цвет среды, оставшийся без изменения после инкубации, указывает на рост или отсутствие роста микроорганизмов, не утилизирующих цитрат натрия.

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

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

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

Серии питательной среды, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 как отходы, принадлежащие к классу «А», любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение питательной среды после проведения биологического контроля осуществляется по СП 1.3.2322-08 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 ИЗДЕЛИЯ

Питательную среду необходимо хранить на складе в герметично закрытой банке 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.

Питательную среду транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре 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 изделия «Цитратный агар Кристенсена», заявленным в ТУ 20.59.52-346-78095326-2021 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 «Цитратный агар Кристенсена», получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-10, факс 36-01-20.