

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии
_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Питательная среда для дифференциации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина сухая (Фенилаланин-агар)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для дифференциации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина сухая (Фенилаланин-агар)», далее по тексту Фенилаланин-агар, предназначена для дифференциации энтеробактерий по их способности дезаминировать фенилаланин при проведении санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов и объектов окружающей среды. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Фенилаланин-агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

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

Фенилаланин-агар используется для дифференциации *Proteus spp.*, *Providencia spp.* и *Morganella spp.* от других энтеробактерий по признаку дезаминирования фенилаланина до фенилпировиноградной кислоты в результате ферментативной активности протеев. Образование фенилпировиноградной кислоты можно определить по характерному зеленоватому цвету среды, вступающей в реакцию с железом.

2.2. Состав

Состав Фенилаланин-агара, г/л:

– Дрожжевой экстракт	3,0
– Натрий хлористый	4,5
– DL-фенилаланин	1,8
– Натрий фосфорнокислый 2-замещенный	0,1

- Натрий углекислый..... 0,2±0,1
- Агар бактериологический 8,0±2,0

pH от 6,8 до 7,3

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 Фенилаланин-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. Питательная среда обеспечивает во всех засеянных пробирках рост каждого тест-штамма *Proteus vulgaris* НХ 19222, *Proteus mirabilis* 3177, *Proteus alcalifaciens* NCTC 1068-50, *Escherichia coli* 3912/41 (055:K59), при посеве по одной бактериологической петле диаметром 2 мм не позднее 48 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

Нанесение 4-5 капель 10% водного раствора железа (III) хлорида на культуры микроорганизмов *P. vulgaris* НХ 19 222, *P. mirabilis* 3177, *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50 дезаминирующих фенилаланин, изменяет цвет поверхности среды и конденсата на дне пробирки со светло-желтого на зеленый; культура микроорганизма *E. coli* 3912/41 (055:K59), не дезаминирующая фенилаланин, не изменяет цвета среды и конденсата.

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
- Железо (III) хлорид

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Объекты исследований - пищевые продукты, смывы, вода открытых водоемов, корма для животных и другие объекты.

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 28560-90 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*», МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и других нормативных документов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1 Приготовление Фенилаланин-агара

Навеску питательной среды в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии, указанной на этикетке, тщательно размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить в течение 2 мин до полного расплавления агара, разлить по 5 мл в стеклянные пробирки и стерилизовать автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. После охлаждения до температуры 40-45°С, среду скашивают без столбика.

Готовая питательная среда прозрачная светло - желтого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 сут. после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2 Выделенный материал, подготовленный согласно действующим документам, засевают штрихом на скошенную поверхность в пробирки с Фенилаланин-агаром. После инкубации при температуре (37±1) °С в каждую пробирку с выросшей культурой вносят 4-5 капель 10% водного раствора железистого хлорида (10,0 г железистого хлорида растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Реактив должен быть прозрачным. Раствор хранят при температуре 4-6 °С без доступа света не более 5-7 суток).

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально после инкубации посевов по изменению цвета среды при нанесении на поверхность 4-5 капель 10% водного раствора железа (III) хлорида.

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

Серии Фенилаланин-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 Фенилаланин-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

Фенилаланин-агар необходимо хранить 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.

Фенилаланин-агар 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 «Питательная среда для дифференциации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина сухая (Фенилаланин-агар)», заявленным в ТУ 20.59.52-298-78095326-2018 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 «Питательная среда для дифференциации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина сухая (Фенилаланин-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.