

2.1. Принцип действия

Пептон и панкреатический гидролизат рыбной муки, входящие в состав среды, являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Маннит является ферментируемым и дифференцирующим субстратом, а также источником углерода. Среда обеспечивает селективность в отношении грамположительной и грамотрицательной сопутствующей микрофлоры за счет присутствия в среде желчи крупного рогатого скота, кристаллического фиолетового и полимиксина В сульфата. При росте бактерий, расщепляющих мочевины, наблюдается изменение цвета среды в синий. Отсутствие изменения цвета среды не является показателем отсутствия роста выявляемых бактерий.

2.2. Состав

Состав питательной среды, г/л:

– Панкреатический гидролизат рыбной муки с калием фосфорнокислым 2-замещенным сухой (ПГРМ K_2HPO_4)	10,8
– Желчь очищенная сухая	4,0-6,0 ¹
– Маннит D(-).....	1,0
– Натрий хлористый	5,0
– Бромтимоловый синий	0,04
– Кристаллический фиолетовый	0,002
Добавка ² – мочевины из расчета 5,0 г/л	

Состав СД, г/л:

– Полимиксина В сульфат	0,012
-------------------------------	-------

pH среды 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 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.

¹ Варьирование величины связано с различной ингибиторной способностью желчи

² Мочевина с питательной средой не поставляется

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность³. Питательная среда обеспечивает рост тест-штаммов во всех засеянных пробирках при посеве по 0,5 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} в течение 20-24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С. Рост каждого тест-штамма *Proteus vulgaris* НХ 19 222, *Proteus mirabilis* 3177, *Morganella morganii* ATCC 25830 DSM 30164 наблюдается в виде изменения цвета среды с зеленого на синий (утилизация мочевины).

Тест-штамм *Providencia alcalifaciens* 1068-50, не расщепляющий мочевины, не изменяет цвет среды.

Ингибирующие свойства³. Питательная среда подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* Wood-46 ATCC 10832 при посеве по 0,5 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} во всех засеянных пробирках через 20-24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных 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.

³ Биологические показатели определяют после внесения в питательную среду мочевины и СД

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 28560-90 Продукты пищевые «Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*», МУК 4.2.2316-08 «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.

Приготовление 50 % раствора мочевины

50,0 г мочевины помещают в колбу на 100 мл, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, затем объем раствора доводят до метки. Раствор мочевины стерилизуют с помощью мембранных фильтров Зейтца, текучим паром в течение 30 мин или выдержкой при комнатной температуре в течение 2-3 суток. Раствор мочевины хранят в течение месяца при температуре 2-8 °С.

Содержимое флакона с СД растворяют в 5 мл дистиллированной воды в течение 1 мин.

Навеску питательной среды в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. После охлаждения питательной среды до температуры 40-45°С в асептических условиях вносят стерильный 50 % раствор мочевины из расчета 10 мл/л и содержимое флакона с СД из расчета 5 мл на 1 л питательной среды, разливают по 5 мл в стерильные стеклянные пробирки.

Готовая питательная среда прозрачная зеленого цвета.

Контроль специфической активности среды допускается осуществлять в течение 14 суток после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2 Исследуемый материал, подготовленный согласно действующим документам по п. 6.2, вносят в каждую из двух пробирок, содержащих по 5,0 мл среды и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 20-24 ч.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 среды после проведения биологического контроля осуществляется по СП 3.3686-21 как отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин 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 ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов хранят на складе в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. После вскрытия банку с питательной средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги. Флаконы с СД после вскрытия и приготовления растворов хранению не подлежат.

Набор реагентов 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 набора реагентов 2 года. Набор реагентов с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов для санитарно-бактериологических исследований «Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* сухая», заявленным в ТУ 20.59.52-368-78095326-2021 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 набора реагентов для санитарно-бактериологических исследований «Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* сухая», 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.

Зам. директора
по научно-производственной работе



А.П. Шепелин