

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН
«Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и биотехнологии»
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Селективного питательного агара для выделения и учета дрожжевых и плесневых грибов с хлорамфениколом сухого (АГАР САБУРО С ХЛОРАМФЕНИКОЛОМ)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Селективный питательный агар для выделения и учета дрожжевых и плесневых грибов с хлорамфениколом сухой (агар Сабуро с хлорамфениколом)» предназначен для выделения и подсчета общего числа дрожжевых и плесневых грибов в продуктах питания и других объектах при санитарно-бактериологических исследованиях. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Агар Сабуро с хлорамфениколом представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного порошка светло-желтого цвета.

Агар Сабуро с хлорамфениколом выпускается в полиэтиленовых банках по 250 или по 100 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста дрожжевых и плесневых грибов. Высокая концентрация глюкозы и низкий уровень рН делают эту среду селективной для грибов. Левомицитина натрия сукцинат (хлорамфеникол) ингибирует рост подавляющего большинства сопутствующих бактерий, способствуя выделению патогенных грибов при анализе образцов, сильно контаминированных сопутствующей микрофлорой. Данный антибиотик выбран из-за его термоустойчивости и широкого спектра действия.

2.2. СОСТАВ

Агар Сабуро с хлорамфениколом представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	10,0
Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой)	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный	2,0
D-глюкоза	40,0
Левомецетина натрия сукцинат (хлорамфеникол).....	0,1
Агар бактериологический	10,0±3,0

pH от 5,7 до 6,3

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 агара Сабуро с хлорамфениколом 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

Чувствительность: Агар Сабуро с хлорамфениколом обеспечивает на всех засеянных чашках Петри рост тест-штамма *Candida albicans* NCTC 885-653 через (45±3) ч инкубации при температуре (25±1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10⁻⁵ в виде гладких, выпуклых колоний белого цвета с ровным краем диаметром 2,0-3,0 мм.

Ингибирующие свойства. Агар Сабуро с хлорамфениколом полностью подавляет рост тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и *Enterobacter cloacae* A-186 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10⁻³ через (45±3) ч инкубации при температуре (25±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 25 ± 1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- 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

Объекты исследований – пищевые продукты, корма для животных и др.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 10444.12-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов», ГОСТ Р 54354-2011. «Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа», ГОСТ ISO/TS 11133-2014 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Приготовление агара Сабуро с хлорамфениколом.

Навеску агара Сабуро с хлорамфениколом в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в емкости и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охлаждают до температуры 50-45 °С, разливают в стерильные чашки Петри, после застывания подсушивают в течение (40 ± 5) мин и используют для поверхностного метода посева. Для глубинного метода посева агар Сабуро с хлорамфениколом стерилизуют во флаконах.

Готовая питательная среда прозрачная, желто-коричневого цвета. Допускается легкая опалесценция. Агар Сабуро с хлорамфениколом пригоден к использованию в течение 7 сут. при хранении в условиях холодильника.

7.2. Материал, подготовленный согласно соответствующим документам по п. 6 исследуют в зависимости от выбранного метода посева.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально после инкубации посевов по наличию и характеру роста. Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с нормативной документацией.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии агара Сабуро с хлорамфениколом, 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 агара Сабуро с хлорамфениколом 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 $(126 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

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

Агар Сабуро с хлорамфениколом необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 $^\circ\text{C}$ и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 $^\circ\text{C}$, избегая попадания влаги.

Агар Сабуро с хлорамфениколом транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 $^\circ\text{C}$ не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие агара Сабуро с хлорамфениколом заявленным в ТУ 9385-255-78095326-2016 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 «Селективного питательного агара для выделения и учета дрожжевых и плесневых грибов сухого (агар Сабуро с хлорамфениколом)», 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.