

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Питательной среды для накопления сальмонелл сухой (Селенитовый бульон)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для накопления сальмонелл сухая (Селенитовый бульон)» предназначена для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов, объектов окружающей среды и других материалов с целью селективного накопления сальмонелл и последующим высевом на дифференциально-диагностические среды. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Селенитовый бульон представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Селенитовый бульон выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для накопления сальмонелл. Бактерии восстанавливают гидроселенит натрия, образуя щелочь. Повышение pH уменьшает токсичность гидроселенита натрия, что способствует росту сопутствующей микрофлоры. Ферментация лактозы лактозоположительными микроорганизмами приводит к образованию кислоты, которая снижает pH, тем самым обеспечивая селективные свойства среды. Фосфатный буфер поддерживает требуемый pH и дополнительно стабилизирует токсичность гидроселенита натрия.

2.2. Состав

Селенитовый бульон представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Пептон мясной или пептон сухой ферментативный	4,0
Натрий фосфорнокислый двузамещенный	3,0
Калий фосфорнокислый однозамещенный	7,0
Альфа-Д-Лактоза, 1-водная	4,0
Натрий гидроселенит (без теллура)	4,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: Селенитовый бульон должен обеспечивать во всех засеянных пробирках при посеве в 9 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 6 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ накопление каждого тест-штамма *Salmonella enteritidis* 11272 и *Salmonella typhimurium* 79 в виде сливного роста бесцветных колоний, регистрируемого высевом на агар Эндо-ГРМ.

Показатель эффективности должен быть не менее 10 (отношение среднего числа колоний *S. enteritidis* 11272 и *S. typhimurium* 79, выросших на чашках с агаром Эндо-ГРМ, либо на среде аналогичного назначения, после обогащения в течение 6 ч в Селенитовом бульоне, к среднему числу колоний, выросших до обогащения).

Показатель ингибиции должен быть не менее 3 (отношение среднего числа колоний *Escherichia coli* ATCC 25922, выросших на чашках с агаром Эндо-ГРМ, либо на среде аналогичного назначения, до обогащения в Селенитовом бульоне, к среднему числу колоний, выросших после обогащения в течение 6 ч).

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».

В состав среды входит гидроселенит натрия – реактив токсичен, может вызывать раздражение органов дыхания и кожи, обладает тератогенностью. Во время работы необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук. При попадании на кожу промыть большим количеством воды!

На этикетке указаны предупредительные надписи: «Для санитарно-бактериологических исследований», «Осторожно!», «Содержит гидроселенит натрия» и знак «!».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37 ± 1 °C
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- 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, объекты окружающей среды и др.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579-2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*», МУК 4.2.577-96 «Методы микробиологического контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов», МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды», ГОСТ ISO/TS 11133-2014 (часть I) «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 селенитового бульона.

22,0 г сухого Селенитового бульона тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, нагревают до температуры (55 ± 5) °C. **Не кипятят, не стерилизуют!** Разливают по 9,0 мл в стерильные стеклянные пробирки.

Готовая питательная среда в пробирках прозрачная светло-желтого цвета. Допускается легкая опалесценция. Готовую среду можно использовать в течение 7 дней после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °C.

7.2. Исследуемый материал вносят в Селенитовый бульон согласно соответствующим документам и инкубируют 6ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ с последующим высевом на дифференциально-диагностические питательные среды (агар Эндо, XLD –агар и др.)

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят на дифференциально-диагностических питательных средах после предварительного накопления в Селенитовом бульоне, визуально наблюдая наличие характерного роста сальмонелл. Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с МУ 4.2.2723-10.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Селенитового бульона, 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 Селенитового бульона 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

Селенитовый бульон необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°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°C , избегая попадания влаги.

Селенитовый бульон транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40°C не более 7 суток.

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

Изготовитель гарантирует соответствие Селенитового бульона заявленным в ТУ 9385-238-78095326-2016 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 «Питательной среды для накопления сальмонелл сухой (Селенитовый бульон)», 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.