

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления
регистрации и медицинских
исследований
АО «НПО «Микроген»

А.Е. Ершов
« 06 » « 06 » 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов Питательная среда для выделения сальмонелл сухая
(Висмут-сульфит агар)

Регистрационное удостоверение № _____

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-сульфит агар) предназначен для выделения сальмонелл из исследуемого материала. Изделие для диагностики ин витро. Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип метода – визуальное обнаружение сальмонелл, выросших на питательной среде при посеве исследуемых образцов.

2.2. Состав набора.

Набор реагентов Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-сульфит агар) представляет собой смесь сухих компонентов из расчета г/л:

Панкреатический гидролизат кильки	27,1
Агар микробиологический	12,4±2,5
Экстракт кормовых дрожжей	0,64
Д (+)-глюкоза	4,5
Висмут лимоннокислый	1,7
Натрия сульфит безводный	2,55
Соль Мора	1,15
Динатрий фосфат обезвоженный	2,55
Бриллиантовый зеленый	0,016
Сода кальцинированная	0,6
Натрия хлорид	2,5

Набор реагентов «Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-сульфит агар)» выпускается в полиэтиленовых банках по 150, 200, 250 г а также по 200 г в пакетах их трехслойной ламинированной бумаги с инструкцией по применению, паспорт (в комплекте поставки). Ремонту и обслуживанию не подлежит.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1. Чувствительность среды, скорость роста и стабильность основных биологических свойств микроорганизмов. «Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-

сульфит агар)» должна обеспечивать рост тест-штаммов *Salmonella typhi* Н 901 ГДР/ГИСК, *Salmonella typhimurium* 79, *Salmonella london* 3496, *Salmonella paratyphi* А 225, *Salmonella gallinarum* 665 и *Salmonella typhi* «bismuth» на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл разбавленной стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида в соотношении 1:1 микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} не позднее 48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Тест-штаммы *S. typhi* Н 901 ГДР/ГИСК, *S. typhimurium* 79 и *S. london* 3496 образуют черные круглые диаметром 1,5-3,0 мм колонии с блестящей зоной вокруг них; среда под колониями окрашивается в черный цвет.

S. paratyphi А 225 образует зеленые круглые с темным центром колонии диаметром 1,0-2,5 мм; *S. gallinarum* 665 - зеленые круглые колонии диаметром 0,8-1,2 мм; *S. typhi* «bismuth» - полиморфные черные колонии диаметром 1,0-2,0 мм с окрашиванием среды под ними в черный цвет.

3.2. Дифференцирующие свойства среды. Питательная среда должна обеспечивать на всех засеянных чашках четкую дифференциацию по характеру роста тест-штамма *S. typhimurium* 79 от *E. coli* 3912/41 (O55:K59) при посеве по 0,1 мл микробной смеси указанных штаммов через 44-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Тест-штамм *E. coli* 3912/41 (O55:K59) образует зеленовато-коричневые колонии диаметром 0,5-1,5 мм без окрашивания среды в отличие от черных колоний *S. typhimurium* 79 с блестящей зоной вокруг них и окрашиванием среды под колониями в черный цвет.

3.3. Показатель ингибиции. Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-сульфит агар) должна полностью подавлять на всех засеянных чашках рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* Wood-46 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-1} , *Klebsiella rhinoscleromatis* NCTC 5046 из разведения 10^{-5} через 44-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. При посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} тест-штамма *Proteus vulgaris* HX 19 через 44-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на всех засеянных чашках должно быть подавлено роение (рост *P. vulgaris* HX 19 в виде зеленовато-коричневых колоний диаметром 2,5-3,5 мм). Рост тест-штамма *E. coli* 3912/41 (O55:K59) на среде должен подавляться не менее чем в 100 раз по отношению к числу колоний на питательном агаре при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} .

***Примечание:** при отсутствии роста *E. coli* 3912/41 (O55:K59) из разведения 10^{-4} используют данные, полученные при посеве штамма из разведения 10^{-3} .

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения изделия – класс 1.

При работе необходимо соблюдать правила техники безопасности в соответствии с ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»; СП 1.3.2518-09 «Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»; СП 1.3.2885-11 «Дополнения и изменения № 2 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Соблюдение «Правил устройства, техники безопасности производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.).

Утилизация изделий, пришедших в негодность, с истекшим сроком годности и изделий после контакта с биологическими образцами осуществляется в соответствии с

требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- Автоклав;
- Пробирки стеклянные (ГОСТ 25336-82);
- Чашки Петри (ГОСТ 23932-90);
- Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);
- Спиртовка (ГОСТ 25336-82);
- 0,9 % раствор натрия хлорида (ГОСТ 4233-77);
- Пипетки (ГОСТ 29227-91);
- Воронка (ГОСТ 25336-82);

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка питательной среды.

Висмут-сульфит агар, в количестве, указанном на этикетке, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят при перемешивании до полного расплавления агара 5 мин, охлаждают до температуры $45-50^\circ\text{C}$, взбалтывают, разливают в нестерильные чашки Петри слоем 4-5 мм, оставляют их открытыми в течение 80-100 мин при температуре $18-25^\circ\text{C}$ для застывания и подсушивания среды. Три чашки со средой выдерживают при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 44-48 ч (контроль на стерильность). Готовая среда в чашках непрозрачная, зеленого цвета.

7.2. Посев исследуемого материала проводить согласно «Методическим указаниям по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» (М., 1984 г) и приказом Минздрава СССР от 22.04.85 № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрацию результатов анализа проводят визуально, по наличию роста колоний.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов производят согласно «Методическим указаниям по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» (М., 1984 г).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.

Набор реагентов «Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (Висмут-сульфит агар)» необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25°C .

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25°C всеми видами крытого транспорта.

Срок годности – 3 года со дня изготовления. Набор реагентов с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения медицинского изделия в течение срока годности с обязательным указанием серии и даты изготовления следует направлять в адрес Акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»): Россия, 115088, г. Москва, ул. 1-я Дубровская, д. 15, строение 2, тел. (495) 710-37-87, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 367915, Республика Дагестан, г. Махачкала, п. Новый Кяхулай, ул. Декоративная, д. 89, строение 1, тел. (8722) 55-82-32.

*Взамен инструкции утвержденной 14.08.2018 г.