

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН

Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 200 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований

«Питательная среда для выделения сальмонелл сухая»

(Висмут-сульфит-ГРМ агар)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Висмут-сульфит-ГРМ агар предназначен для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью выделения сальмонелл из исследуемого материала.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Висмут-сульфит-ГРМ агар представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета, получаемый смешиванием сухих компонентов.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Свежеприготовленная среда, благодаря бриллиантовой зелени и висмуту лимоннокислому, входящих в состав среды, обладает сильным ингибирующим эффектом в отношении сопутствующей микрофлоры.

Дифференцирующее действие среды основано на том, что образуемый бактериями из сульфата железа сероводород, вызывает почернение индикатора – цитрата висмута – вследствие перехода его в сульфид висмута, вещество черного цвета. Поэтому бактерии, образующие сероводород, формируют черные или черные с коричневым или темно-зеленым оттен-

ком колонии, обладающие часто металлическим блеском. Среда под колониями, при этом, окрашена в черный цвет.

2.2. СОСТАВ

Висмут-сульфит-ГРМ агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки.....	24,0
Экстракт пекарных дрожжей	1,0
Натрия хлорид	2,0
Д-глюкоза	4,5
Натрия гидрофосфат	2,0
Натрия сульфит	4,0
Висмут лимоннокислый	1,7
Железо (II) сернокислое 7-водное	0,6
Бриллиантовый зеленый	0,010-0,015
Натрий углекислый	0,4-0,7
Агар микробиологический	11,0±3,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Висмут-сульфит-ГРМ агар обеспечивает на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов сальмонелл и их четкую дифференциацию от кишечной палочки не позднее 48 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. На среде отсутствует рост стафилококков, некоторых клебсиелл, подавляется роение протей и частично рост эшерихий.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.2.731-99 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и гельминтами».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37\pm 1^\circ\text{C}$
- 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 ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление среды Висмут-сульфит-ГРМ агара.

Порошок в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии, тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, кипятят при постоянном перемешивании в течение 3 мин до полного расплавления агара. Охлаждают до температуры 45-50 °С, взбалтывают, разливают в нестерильные чашки Петри слоем 4-5 мм и оставляют на рабочем столе с открытыми крышками для застывания и подсушивания среды в течение 90-100 мин при температуре 18-25 °С. Готовая среда в чашках непрозрачная зелено-желтого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 3 суток при температуре хранения от 2 до 25 °С (хранить в защищенном от света месте).

7.2. Взятие, посев инфицированного материала и учет результатов производят в соответствии с «Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г) и приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

7.3. Исследуемый материал тонким слоем распределить шпателем по поверхности чашек Петри с Висмут-сульфит-ГРМ агаром (при необходимости сделать разведения). Инкубировать при температуре (37±1) °С в течение 24-48 ч.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 24-48 ч инкубации при температуре (37±1) °С. Сальмонеллы, продуцирующие сероводород, на Висмут-сульфит-ГРМ агаре обра-

зуют круглые или полиморфные, черные или черные с коричневым или темно-зеленым оттенком колонии, обладающие часто металлическим блеском, и окрашиванием среды под колониями в черный цвет; сальмонеллы, не продуцирующие сероводород, образуют круглые зеленые или темно-зеленые колонии. Колонии эшерихий круглые, зеленовато-коричневые.

Для получения достоверных результатов посева образцов производить не менее, чем в трех повторностях.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Висмут-сульфит-ГРМ агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 3 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества Висмут-сульфит-ГРМ агара в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.