

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Питательной среды для селективного накопления сальмонелл сухой (Магниева среда)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для селективного накопления сальмонелл сухая (Магниева среда)» 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

Магниева среда представляет собой мелкодисперсный порошок кремового цвета с белыми вкраплениями, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Магниева среда выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста и накопления сальмонелл из исследуемых образцов различной степени биологического загрязнения. Селективные свойства среды основаны на низком значении рН и ингибирующем действии хлористого магния, малахитового зеленого, бриллиантового зеленого в отношении ряда грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов.

2.2. Состав

Магниева среда представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой	4,0
Магний хлористый безводный	15,0
Натрий хлористый	8,0

Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,6
Бриллиантовый зеленый	0,0045
Малахитовый зеленый	0,001
Натрий углекислый	0,1-0,3
pH от 5,0 до 5,4	

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 Магниевой среды 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: Магниева среда обеспечивает во всех засеянных пробирках при посеве в 10 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через (24±3) ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма *Salmonella enteritidis* 11272 и *Salmonella typhimurium* 79 в виде диффузного помутнения среды.

Показатель эффективности должен быть не менее 10 (отношение среднего числа колоний, выросших на чашках с ГРМ-агаром, либо на среде аналогичного назначения, после обогащения в течение 6 ч в Магниева среде, к среднему числу колоний, выросших до обогащения).

Ингибирующие свойства. При посеве в Магниева среду по 1,0 мл микробной взвеси тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 из разведения 10^{-5} через (24±3) ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально обнаруживаемый рост должен отсутствовать во всех засеянных пробирках.

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 37±1°С

- 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 - 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» другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Приготовление Магниевой среды.

29,0 г сухой питательной среды тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, кипятят в течение 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по 10 мл в стеклянные пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 112 °С в течение 20 мин.

Готовая среда в пробирках прозрачная сине-зеленого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. После соответствующей подготовки (по п.6) исследуемый материал вносят в Магниевую среду и инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч. После культивирования проводят высеивание на дифференциально-диагностические питательные среды для выделения сальмонелл.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Магниевой среды, 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 Магниевой среды 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

Магниевую среду 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 при температуре от 2 до 30°C до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги.

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

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в случае повреждения упаковки использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие Магниевой среды заявленным в ТУ 9385-250-78095326-2016 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности 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 селективного накопления сальмонелл сухой (Магниева среда)», 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.