

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований
«Питательная среда для выделения и дифференциации *E.coli* O157:H7
и других энтеробактерий по признаку ферментации сорбита сухая»
(«Сорбитол *E.coli* O157:H7 агар»)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Сорбитол *E.coli* O157:H7 агар» предназначен для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью выделения и дифференциации *E.coli* O157:H7 при диагностике инфекционных заболеваний «in vitro».

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

«Сорбитол *E.coli* O157:H7 агар» представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка сиреневого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает питательные потребности для роста, дифференциации по признаку ферментации сорбита и ингибиции отдельных видов микроорганизмов.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

«Сорбитол *E.coli* O157:H7 агар» представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки (ПГРМ).....	12,0
Дрожжевой экстракт	1,0
Д-сорбит	10,0

Натрия хлорид	3,4
Натрия сульфит безводный	0,8
Натрия фосфат 2-зам.12 водный	0,5
Фуксин основной для микробиологических целей	0,2
Агар микробиологический	10,0±3,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

«Сорбитол E.coli O157:H7 агар» должен обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов: *Escherichia coli* 4 (O157:H7), *Escherichia coli* 3912/41 (055: K59), *Salmonella typhimurium* 79, *Shigella flexneri* 1 а 8516 через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10⁻⁶, разбавленной стерильным 0,9 %-ным раствором натрия хлористого в соотношении 1:1.

Колонии *E. coli* 4 (O157:H7) круглые, полупрозрачные, бесцветные или светло-розовые, диаметром 1,5-2,5 мм;

Колонии *E. coli* 3912/41 (055:K59) круглые, малинового цвета со слабо выраженным металлическим блеском или без него, диаметром 1,5-2,5 мм;

Колонии *S. typhimurium* 79 круглые, малинового цвета, с металлическим блеском, диаметром 1,0-2,0 мм;

Колонии *S. flexneri* 1 а 8516 круглые, полупрозрачные, бесцветные или светло-розовые, диаметром 1,0-1,5 мм.

Дифференцирующие свойства среды. «Сорбитол E.coli O157:H7 агар» должен обеспечивать четкую дифференциацию сорбитотрицательных от сорбитположительных штаммов на всех засеянных чашках при посеве 0,1 мл каждой микробной смеси тест-штаммов *E. coli* 4 (O157:H7) с *E. coli* 3912/41 (055:K59), *E. coli* 4 (O157:H7) с *S. typhimurium* 79 из разведения 10⁻⁶ через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

Показатель ингибиции. «Сорбитол E.coli O157:H7 агар» должен полностью подавлять рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* Wood-46 на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10⁻¹ через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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.).

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37 ± 1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- 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

Исследования образцов проводятся по соответствующим Методическим указаниям и ГОСТам.

7.1. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление «Сорбитол E.coli O157:H7 агара».

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2-3 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, снова доводят до кипения, охлаждают до температуры 45-50 °С, разливают в стерильные чашки Петри слоем 5-6 мм и оставляют для застывания и подсушивания при температуре (37 ± 1) °С в течение 40-60 мин.

Готовая питательная среда в чашках Петри прозрачная, розового цвета. Среду необходимо использовать в день приготовления. Хранить до посева в темноте !

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие соответствующих колоний энтеробактерий на «Сорбитол E.coli O157:H7 агаре», их дифференциацию в результате роста культур, выделенных из исследуемых образцов, регистрируют визуально.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

«Сорбитол E.coli O157:H7 агар» необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года.

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

По вопросам, касающимся качества «Сорбитол E.coli O157:H7 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.