

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН  
Государственный научный центр прикладной  
микробиологии и биотехнологии  
\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

### **по применению набора реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая» (ЖЕЛЕЗО-ГЛЮКОЗО-ЛАКТОЗНЫЙ АГАР С МОЧЕВИНОЙ)**

#### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая (Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной)» предназначен для первичной идентификации микроорганизмов по их способности утилизировать мочевины, ферментировать лактозу, глюкозу, образовывать газ и сероводород.

#### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА**

Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка светло-желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

##### **2.1. Принцип действия**

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает питательные потребности для роста и проявления биохимических свойств отдельных видов микроорганизмов.

##### **2.2. Состав**

Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой с тиосульфатом натрия .....	20,5
Д-(+) лактоза 1-водная .....	20,0

Д-глюкоза.....	1,0
Натрий фосфорнокислый двузамещенный.....	1,0
Калий фосфорнокислый однозамещенный .....	1,3
Натрий хлористый.....	5,0
Железо (III) цитрат водное или железо (III) лимонно-кислое.....	0,3
Феноловый красный.....	0,05
Мочевина .....	10,0
Натрий углекислый.....	0,01-0,25
Агар микробиологический.....	10,0±3,0

pH от 6,9 до 7,3

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 питательной 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

Специфическая активность. Питательная среда обеспечивает во всех засеянных пробирках рост каждого тест-штамма *Yersinia enterocolitica* 287 II, *Yersinia pseudotuberculosis* III, *Shigella sonnei* «S-form», *Escherichia coli* 3912/41(055:K59), *Citrobacter freundii* 101/57, *Proteus vulgaris* НХ 19 222 при посеве культуры по одной бактериологической петле диаметром 2 мм через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

Утилизацию мочевины учитывают по изменению исходного цвета среды в ярко-малиновый, ферментацию лактозы учитывают по изменению цвета скошенной части среды в желтый, глюкозы – по изменению цвета столбика среды в желтый, газообразование – по появлению пузырьков воздуха или разрыва среды в столбике, образование сероводорода – по почернению среды в столбике.

Рост данных штаммов при визуальном просмотре выглядит следующим образом:

- *Y. enterocolitica* 287 II - столбик среды и скошенная часть ярко-малинового цвета.
- *Y. pseudotuberculosis* III - столбик среды и скошенная часть ярко-малинового цвета.

- *S. sonnei* «S-form» - столбик среды желтого цвета, скошенная часть красно-малинового цвета.
- *E. coli* 3912/41 (055:K59) - столбик и скошенная часть среды желтого цвета, наличие в столбике пузырьков газа.
- *C. freundii* 101/57 - столбик и скошенная часть среды желтого цвета, почернение среды в столбике, наличие в столбике пузырьков газа.
- *P. vulgaris* НХ 19 222 - почернение среды в столбике, скошенная часть ярко-малинового цвета.

#### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

4.1 Потенциальный риск применения питательной среды в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.6.2012 - класс 1.

4.2 Применение питательной среды не требует специальных мер безопасности, так как компоненты, входящие в его состав безопасны и не обладают токсическим воздействием.

4.3 При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.4 При использовании Железо-глюкозо-лактозного агара с мочевиной по назначению и в соответствии с настоящей инструкцией противопоказаний к применению изделия нет.

4.5 Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

#### **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Термостат обеспечивающий температуру 37 и 28 °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
- Воронки стеклянные

#### **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

6.1 Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

6.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с «Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» (Москва, 1984) 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. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

Исследования проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами (например, врач клинической лабораторной диагностики, врач-бактериолог, фельдшер-лаборант, иной специалист, ознакомленный с требованиями настоящей Инструкции по применению.

### **7.1. Приготовление Железо-глюкозо-лактозного агара с мочевиной.**

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, стерилизуют автоклавированием при температуре 110 °С в течение 15 мин. После стерилизации охлажденную до температуры 40-50 °С среду разливают по 7 мл в стерильные пробирки и скашивают, оставляя столбик высотой 25-30 мм.

Готовая среда имеет красный цвет.

Готовую среду можно использовать в течение 3-х сут после её приготовления при условии хранения в темном месте при температуре 18-25 °С или в течение 14 суток при температуре хранения 2-8 °С.

После каждого вскрытия и проведения необходимых анализов банку со средой плотно закрыть и поместить на дальнейшее хранение.

7.2. После соответствующей подготовки по п. 6.2 выделенную культуру засевают в две пробирки с Железо-глюкозо-лактозным агаром с мочевиной, нанося материал сначала штрихом на скошенную поверхность, а затем уколом в столбик среды, не касаясь дна пробирки. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-20 ч.

## **8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Учет результатов проводят визуально через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С по способности микроорганизмов расщеплять мочевины (скошенная часть среды и столбик ярко-малинового цвета), ферментировать лактозу (пожелтение скошенной части среды), глюкозу (пожелтение столбика), образовывать газ (разрыв среды в столбике или

наличие пузырьков) и продуцировать сероводород (почернение среды в столбике). Отрицательная реакция характеризуется отсутствием соответствующих признаков.

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

## **9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ**

Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 1 год. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая (Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной)» 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.