

УТВЕРЖДАЮ

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

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

**«Питательная среда для биохимической идентификации микроорганизмов сухая
(Среда Гисса)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для биохимической идентификации микроорганизмов сухая (Среда Гисса)», далее по тексту – среда Гисса, предназначена для идентификации микроорганизмов, выделенных из пищевых продуктов, объектов окружающей среды при санитарно-бактериологических исследованиях по тесту ферментации одного из углеводов (лактоза, глюкоза, сахароза, мальтоза, ксилоза, рамноза, арабиноза, манноза, фруктоза, галактоза, раффиноза) или одного из многоатомных спиртов (маннит, сорбит, мезо-инозит, дульцит). Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Среду Гисса выпускают в виде отдельных 15 препаратов, в состав каждого из которых входит один из углеводов (лактоза, глюкоза, сахароза, мальтоза, ксилоза, рамноза, арабиноза, манноза, фруктоза, галактоза, раффиноза) или один из многоатомных спиртов (маннит, сорбит, мезо-инозит, дульцит).

Среда Гисса, содержащая один из углеводов или многоатомных спиртов, представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г или по 100 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста и идентификации микроорганизмов по биохимическим свойствам.

При ферментации одного из углеводов или многоатомного спирта происходит закисление среды с изменением цвета среды из сине-зеленого до желто-зеленого или желтого, а также газообразование в виде пузырьков в столбике среды или на ее поверхности. Отрицательная реакция при росте микроорганизмов не сопровождается изменением цвета среды и газообразованием.

2.2. Состав

Состав среды Гисса, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	6,0
Натрия хлорид	3,5
Натрия фосфат двузамещенный	0,2
Бромтимоловый синий	0,04
Агар бактериологический	3,5±0,5

pH от 7,2 до 7,6

Концентрация каждого из используемых углеводов: (лактоза, глюкоза, сахароза, мальтоза, ксилоза, рамноза, арабиноза, манноза, фруктоза, галактоза, раффиноза) или одного из многоатомных спиртов (маннит, сорбит, мезо-инозит, дульцит) составляет – 3,5 г.

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 среды Гисса 100 мл дистиллированной воды настаивания в течение 1 ч при температуре 18-25 °С и последующего фильтрования. 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 кипячения среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность. Питательная среда обеспечивает рост и проявление биохимических свойств тест-штаммов *Shigella flexneri 1a 8516*, *Escherichia coli 3912/41 (055:K59)*, *Shigella dysenteriae I 1362*, *Proteus vulgaris HX 19 222*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae 3534/51 NCTC 9176*, *Salmonella typhi 65* и *Staphylococcus aureus «Вуотко»* при посеве в пробирки по одной бактериологической петле из разведения, соответствующего 10 единицам по стан-

дартному образцу мутности ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска, через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С (Таблица 1).

Таблица 1 - Биохимические признаки

	Результаты роста тест-штаммов						
	Shigella flexneri 1a 8516	Shigella dysenteriae I 1362	Salmonella typhi 65	Escherichia coli 3912/41 (055:K59)	Proteus vulgaris HX 19 222	Klebsiella pneumoniae 3534/51	Staphylococcus aureus «Виотко»
Глюкоза	К	К	К	КГ	КГ	КГ	К
Лактоза	-	-	-	КГ	-	КГ ^{*)}	К
Сахароза	-	-	-	-	КГ	КГ	К
Мальтоза	К	К ^{*)}	К	КГ	КГ	КГ	К
Ксилоза	-	-	К	КГ	К	КГ	-
Рамноза	-	-	-	КГ	-	КГ	-
Арабиноза	-	-	-	КГ	-	КГ	-
Манноза	К	К	К	КГ	-	КГ	К
Фруктоза	К	К	К	КГ	-	КГ	К
Галактоза	К	К	К	КГ	КГ	КГ	-
Раффиноза	-	-	-	-	-	КГ	-
Маннит	К	-	К	КГ	-	КГ	К
Сорбит	-	-	К	КГ	-	КГ	-
Инозитол	-	-	-	-	-	КГ	-
Дульцит	-	-	-	-	-	КГ	-

Примечание:

К – кислотообразование (изменение цвета среды с сине-зеленого на желто-зеленый или желтый);

Г – образование газа (наличие пузырьков в глубине среды или на ее поверхности);

«-» – отсутствие проявления признаков;

*) – возможна слабая реакция

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.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 32064-2013 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae*», ГОСТ Р 54755-2011 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Pseudomonas aeruginosa*», ГОСТ 32010-2013 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Shigella*», ГОСТ 31659—2012 (ISO 6579:2002) «Продукты пищевые» ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579-2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*», ГОСТ Р 51921-2002 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории специалистами, изучившими настоящую Инструкцию.

7.1. Приготовление Среды Гисса

Навеску питательной среды в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размещать в 1 л дистиллированной воды, кипятить 3 мин до полного расплавления агара, профильтровать через ватно-марлевый фильтр, разлить по 4 мл в стерильные пробирки, стерилизовать автоклавированием при температуре 112 °С в течение 20 мин.

Готовая среда сине-зеленого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 14 суток при условии хранения ее при температуре 2-8 °С.

7.2. Выделенные и подготовленные для биохимической идентификации микроорганизмы, внести в среды Гисса и инкубировать при температуре (37±1) °С в течение 18-20 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят по истечении времени инкубации. В случае положительной реакции происходит образование кислоты с изменением цвета среды от сине-зеленого до желто-зеленого или желтого, образование газа сопровождается появлением «пузырьков» в глубине среды или на ее поверхности. Отрицательная реакция характеризуется отсутствием проявления характерных признаков утилизации углеводов и многоатомных спиртов.

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии сред Гисса, 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 сред Гисса 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 ИЗДЕЛИЯ

Среду Гисса необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. После вскрытия банку со средой хранят при температуре от 2 до 30 °С до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги.

Среду Гисса транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

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

Изготовитель гарантирует соответствие сред Гисса заявленным в ТУ 20.59.52-299-78095326-2018 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 изделия «Питательная среда для биохимической идентификации микроорганизмов сухая (Среда Гисса)», 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.