

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 первичной идентификации энтеробактерий сухая»
(Среда Ресселя-ГРМ)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда Ресселя-ГРМ предназначена для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью первичной идентификации энтеробактерий по признаку ферментации лактозы и глюкозы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Среда Ресселя-ГРМ представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета, получаемый смешиванием сухих компонентов.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Среда Ресселя-ГРМ содержит углеводы, которые, разлагаясь с образованием кислоты, вызывают изменение цвета индикатора бромтимолового синего из зеленого в желтый. При подщелачивании индикатор дает синее окрашивание.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Среда Ресселя-ГРМ представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:
Панкреатический гидролизат рыбной муки 12,0

Натрия хлорид	4,0
α -Д-лактоза, 1-водная	13,0
Д-глюкоза.	1,0
Бромтимоловый синий	0,03
Агар микробиологический	7,0 \pm 2,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Среда Ресселя-ГРМ должна обеспечивать во всех засеянных пробирках рост каждого тест-штамма *S. flexneri* 1a 8516, *S. paratyphi* A-225, *E. coli* 339 (055:K59) и *A. faecalis* 415 при посеве по одной бактериологической петле диаметром 2,0 мм микробной взвеси, соответствующей 10 единицам по стандартному образцу мутности (ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска), через 18-20 ч инкубации при температуре (37 \pm 1) °С. При этом рост тест-штамма *S. flexneri* 1a 8516 сопровождается изменением цвета столбика среды в желтый и посинением ее скошенной части; рост *S. paratyphi* A-225 - изменением цвета столбика среды в желтый с образованием газа и посинением скошенной части среды; *E. coli* 339 (055:K59)- изменением цвета всей среды в желтый с образованием газа в столбике; рост *A. faecalis* 415 - изменением цвета всей среды в синий или посинением ее скошенной части.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37 \pm 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 в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследования образцов проводятся по соответствующим Методическим указаниям и ГОСТам.

7.1. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление среды Ресселя-ГРМ

Порошок в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по 6-8 мл в стерильные пробирки и стерилизуют автоклавированием в течение 20 мин при температуре 112 °С. Среду в пробирках скашивают, оставляя столбик высотой 15-20 мм. Готовая среда имеет зеленый цвет.

Стерильную среду можно использовать в течение 3-х недель при условии ее хранения при температуре 2-8 °С или в течение 3 суток при температуре хранения 18-25 °С (хранить пробирки следует в защищенном от света месте).

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С. При росте микроорганизмов, ферментирующих глюкозу, но не ферментирующих лактозу, наблюдается пожелтение столбика среды, цвет скошенной поверхности изменяется в синий. Микроорганизмы, ферментирующие лактозу, изменяют цвет среды в желтый как в столбике, так и в скошенной ее части. Газообразование отмечают по наличию пузырьков газа в толще агара и по его разрывам. При росте микроорганизмов, не ферментирующих углеводы, цвет среды не изменяется, или среда приобретает синий цвет.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Среду Ресселя-ГРМ 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 среды Ресселя-ГРМ 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.