

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН
Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для контроля микробной загрязненности
(для выращивания грибов)
«Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)».**

НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)» предназначена для выращивания и подсчета общего числа дрожжевых и плесневых грибов при контроле микробной загрязненности нестерильных лекарственных средств, а также при проведении исследований в санитарной и клинической микробиологии. «Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)» представляет собой мелкодисперсный гигроскопичный порошок светло-желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение общего числа дрожжевых и плесневых грибов осуществляется микробиологическим методом.

Принцип метода – визуальное обнаружение колоний в результате роста культур, выделенных из исследуемых образцов.

СОСТАВ

«Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)» представляет собой смесь сухих компонентов из расчета г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки (ПГРМ)	10,0
Панкреатический гидролизат казеина (ПГК)	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрия фосфат однозамещенный	2,0
Глюкоза	40,0

Агар микробиологический 10,0±3,0

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

«Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)» должна обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-штамма *Candida albicans* NCTC 885-653 через (45±3) ч инкубации при температуре (23±2) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10⁻⁵.

Питательная среда с ингибитором роста бактерий должна полностью подавлять рост тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P (FDA 209-P) и *Enterobacter cloacae* ГИСК А-186 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10⁻³ через (45±3) ч инкубации при температуре (23±2) °С. В качестве ингибитора рекомендуем применять 2 %-ный раствор теллурита калия (5,0 мл на 1 л готовой среды) или антибиотики (ГФ XI, вып. 2, с. 200).

ОБРАЗЦЫ

Нестерильные лекарственные средства, объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения питательной среды - класс 1.

Обеззараживание и утилизацию использованной «Питательной среды № 2 ГРМ (Сабуро)» и проб проводят путем автоклавирования с соблюдением СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Утилизацию серий «Питательной среды № 2 ГРМ» с истекшим сроком годности проводить любым способом, предотвращающим повторное использование по назначению, например, сжиганием.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 33±2 °С
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1, 2 и 10 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные

- Спиртовка
- Вода дистиллированная
- Масло вазелиновое стерильное
- Колбы
- Воронки стеклянные

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

Приготовление «Питательной среды № 2 ГРМ (Сабуро)».

Питательную среду 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 в стерильные колбы и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охлаждают до температуры 45-50 °С, разливают по (20±5) мл в стерильные чашки Петри и, после застывания, подсушивают в течение (40±5) мин.

Готовая среда прозрачная, коричневого цвета. Готовую среду можно использовать в течение 14 дней при условии хранения в холодильнике.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Методика качественного определения общего числа дрожжевых и плесневых грибов изложена в ГосФармакопее СССР XI, вып. 2, стр. 197, 200.

УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 48 ч инкубации, визуально отмечая наличие роста дрожжевых и плесневых грибов в виде гладких, выпуклых, белого цвета, в виде полусферы колоний с ровным краем, диаметром 2,0-3,0 мм.

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

«Питательную среду № 2 ГРМ (Сабуро)» необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности - 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит. В течение срока годности и начала использования «Питательной среды № 2 ГРМ (Сабуро)» гарантируется соответствие требуемым параметрам при соблюдении условий хранения (влажность, температура, с плотно закрытой крышкой).

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

По вопросам, касающимся качества «Питательной среды № 2 ГРМ (Сабуро)» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.