

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению питательной среды для обнаружения и выделения
колиформных бактерий и кишечных патогенов сухой
(Агар МакКонки-ГРМ)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Агар МакКонки-ГРМ предназначен для обнаружения, выделения и подсчета колиформных бактерий и *E. coli* при санитарно-бактериологических исследованиях.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Агар МакКонки-ГРМ представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелко-дисперсного гигроскопичного порошка светло-желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Дифференцирующие свойства среды основаны на изменении pH в кислую сторону при росте лактозоферментирующих бактерий, которые образуют на агаре МакКонки-ГРМ колонии от розового до красного цвета (индикатор нейтральный красный).

Ингибирующие вещества (желчные соли, кристаллический фиолетовый), входящие в состав среды, значительно подавляют рост грамположительной микрофлоры.

2.2. Состав

Агар МакКонки-ГРМ представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки	10,0
Пептон сухой ферментативный	10,0
Дрожжевой экстракт	1,0
α -Д-лактоза, 1-водная	10,0
Натрий хлористый	5,0

Желчь крупного рогатого скота очищенная сухая.....	5,0-7,0
Кристаллический фиолетовый	0,001 ^{*)}
Нейтральный красный	0,05
Агар микробиологический	11,0±3,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар МакКонки-ГРМ обеспечивает на всех засеянных чашках Петри через 18-20 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella flexneri* 1a 8516, *Salmonella typhimurium* 79, *Proteus mirabilis* 3177, *Enterococcus faecalis* 775 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} .

Питательная среда обеспечивает четкую дифференциацию *S. typhimurium* 79 от *E. coli* 3912/41 (O55:K59) на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси смеси тест-штаммов через 18-20 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

Питательная среда подавляет^{**)} рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* 209 Р на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-5} через 18-20 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Допускается наличие роста в виде отдельных точечных колоний.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – 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°C
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные
- Пробирки стеклянные
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная

^{*)} Возможен выпуск без кристаллического фиолетового (по просьбе заказчика)

^{**)} Подавляет при наличии в составе среды кристаллического фиолетового

- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление питательной среды.

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, кипятят в течение 3 мин, стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Охлаждают до температуры 40-45°С, разливают в стерильные чашки Петри слоем 5-6 мм. Перед посевом чашки со средой подсушивают в течение (40±5) мин.

Готовая среда в чашках прозрачная коричневатого-красного цвета.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 10 суток при температуре хранения 2-8 °С, и в течение 2 суток при температуре хранения 18-25 °С (хранить чашки следует в темном месте).

7.2. Взятие и посев материала осуществляют в соответствии с «Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» (М., 1984 г), приказом Минздрава СССР № 535 от 22.04.85 г «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

7.3. Исследуемый материал засевают соответственно на две чашки Петри с агаром МакКонки-ГРМ и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. 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, отмечая наличие характерного роста лактозоферментирующих бактерий, образующих на среде колонии от розового до красного цвета в отличие от не ферментирующих лактозу микроорганизмов, которые образуют бесцветные или бледно-розовые колонии. Рост грамположительной микрофлоры значительно подавлен.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

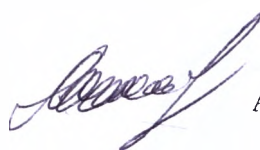
Агар МакКонки-ГРМ необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества агара МакКонки-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.

Зам. директора
по научно-производственной работе



А.П. Шепелин

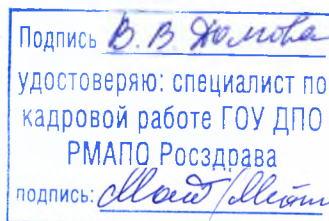
«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой КЛД ГОУ ДПО «РМАПО»

д.м.н., профессор

В.В. Долгов

2009 г.



Пронумерован . пронумеровано,
скреплено подписью и печатью

4 (готовые)

листов. Подпись

8. 07

