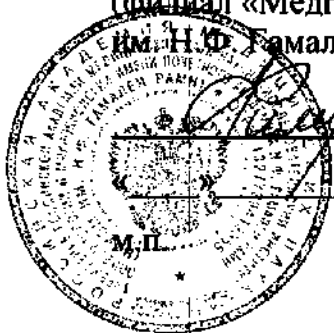


УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 200__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН
(филиал «Медгамал» НИИЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи РАМН)



А.Л.Гинцбург

200__ г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Набора реагентов для производства бактериологических
питательных сред «Гидролизата Хоттингера».**

Гидролизат Хоттингера предназначен для приготовления питательных сред согласно их рецептуре.

Гидролизат Хоттингера представляет собой прозрачную жидкость с наличием белого хлопьевидного осадка (тирозина).

Состав:

Мясо говяжье (ГОСТ 7269-79)	667 г
Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72)	до 1 л
Панкреатин (ФС 42-3647-98)	30 г
Хлороформ (ТУ 2631-066-44493179-01)	38 г

Перед использованием перемешать содержимое бутылки круговыми движениями, снять с бутылки алюминиевый колпачок и резиновую пробку и слить гидролизат вместе с белым хлопьевидным осадком (тирозином) в емкость для приготовления питательных сред, оставив хлороформ на дне бутылки.

Гидролизат расфасован по 400, по 300 и по 200 мл в стеклянные бутылки.

Транспортирование. При температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248 – 03.



ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

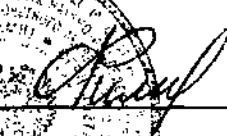
Сазонов Ю.С.

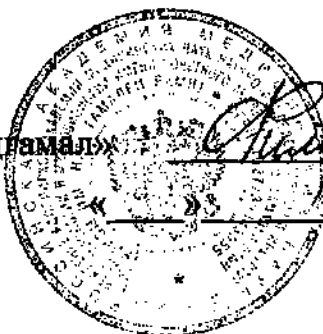
Хранение. В герметично закрытой упаковке в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248 – 03.

Срок годности набора - 6 месяцев.

Производитель: НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН (филиал «Медгамал» НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН); Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.18; тел. (499)193-30-50, (499)190-44-59; факс (499)190-66-71.

Рекламации на качество набора направлять в Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича по адресу: 121002, г. Москва, Сивцев-Вражек, д.41, тел. 241-39-22 и в адрес производителя.

Заместитель директора филиала «Медгамал»  Филиппова Н.Е.
НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН _____ 200__ г.



«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической

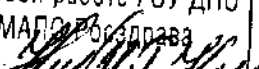
Лабораторной диагностики ГОУ ДПО

«РМАПО Росздрава»



Д.м.н., профессор Долгов В.В.

_____ 200__ г.

Подпись 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись 



ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

Сазонов Ю.С.

СПЕЦИФИКАЦИЯ

Гидролизат Хоттингера

Государственное учреждение НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН
(филиал «Медгамал» ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН)

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	Визуальный	Прозрачная жидкость коричневого цвета с белым хлопьевидным осадком (тирозином). На дне прозрачная маслянистая жидкость (хлороформ)
Прозрачность	Визуальный	Прозрачная жидкость с белым хлопьевидным осадком (тирозином)
Цветность	Визуальный	Жидкость коричневого цвета с белым хлопьевидным осадком (тирозином)
pH	Потенциометрический, ФС 42-3874-99	От 6,0 до 8,0
Аминный азот	Формольного титрования, ФС 42-3874-99	От 0,4 до 0,9 %
Сухой остаток	«Методические указания по применению физико-химических методов контроля питательных сред», М., 1977	От 7 до 13 %
Стерильность	Визуальный	Должен быть стерильным после выдерживания в течение 44-48 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и последующих 14 суток при температуре $20-25^\circ\text{C}$.
Специфическая активность (чувствительность)	Микробиологический	Гидролизат Хоттингера в составе агара Хоттингера должен обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-культуры



8386-07...

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

САЗОНОВ Ю.С.

1	2	3
среды, скорость роста и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов)		штаммов <i>Shigella flexneri</i> 1a 8516 и <i>Shigella sonnei</i> «S form» в виде бесцветных, прозрачных, выпуклых, круглых колоний, диаметром 1,0-2,0 мм и 1,5-2,5 мм соответственно при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} через 18-20 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$; тест-штаммов <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27/99 и <i>Serratia marcescens</i> 1 с образованием сине-зеленого и оранжево-красного пигментов соответственно через 18-20 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ для <i>P. aeruginosa</i> 27/99 и $(22 \pm 2) ^\circ\text{C}$ - для <i>S. marcescens</i> 1 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси, соответствующей 10 единицам по стандартному образцу мутности (ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска)
Вещества вносимые в препарат		Консервант хлороформ (ТУ 2631-001-29483781-2004) в количестве 30 мл на 1 л гидролизата
Упаковка		По 400 мл, по 300 мл или по 200 мл в стеклянных бутылках вместимостью 450 или 250 мл соответственно, в ящики из гофрированного картона по 8, 15, 20 или 32 шт. с инструкцией по применению и упаковочным листом
Маркировка		В соответствии с ФСП
Транспортирование		При температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ в соответствии с СП 3.3.2.1248-03.



8886-07...

1	2	3
Хранение		В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248-03.
Срок годности		6 месяцев



8886-07...

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

САЗОНОВ Ю.С.

Описание. Прозрачная жидкость коричневого цвета с белым хлопьевидным осадком (тирозином). На дне прозрачная маслянистая жидкость (хлороформ (ТУ 2631-001-29483781-2004)). Определение проводят визуально.

Прозрачность. Прозрачная жидкость с белым хлопьевидным осадком (тирозином). Определение проводят визуально.

Цветность. Жидкость коричневого цвета с белым хлопьевидным осадком (тирозином). Определение проводят визуально.

pH. От 6,0 до 8,0. Определение проводят потенциометрически (ФС 42-3874-99).

Аминный азот. От 0,4 до 0,9 %. Определение проводят методом формольного титрования (ФС 42-3874-99, с. 14). Для определения используют 1 мл препарата.

Сухой остаток. От 7 до 13 %. Определение проводят в соответствии с «Методическими указаниями по применению физико-химических методов контроля питательных сред», М., 1977 г, с.13.

Стерильность. Препарат должен быть стерильным. Определение проводят путем визуального просмотра каждой бутылки с гидролизатом в количестве 2 % от серии, но не менее 10 шт. после выдерживания в течение 44-48 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и последующих 14 сут при температуре 20-25 $^\circ\text{C}$.

Специфическая активность (чувствительность среды, скорость роста и стабильность основных биологических свойств микроорганизмов).

Гидролизат Хоттингера в составе агара Хоттингера должен обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов *Shigella flexneri* 1a 8516 и *Shigella sonnei* «S form» в виде бесцветных, прозрачных, выпуклых, круглых колоний, диаметром 1,0-2,0 мм и 1,5-2,5 мм соответственно при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} через 18-20 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$; тест-штаммов *Pseudomonas aeruginosa* 27/99 и *Serratia marcescens* 1 с образованием сине-зеленого и оранжево-



8386-07

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

САЗОНОВ Ю.С.

красного пигментов соответственно через 18-20 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ для *P. aeruginosa* 27/99 и $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ - для *S. marcescens* 1 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси, соответствующей 10 единицам по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска.

Определение показателей чувствительности гидролизата Хоттингера в составе агара Хоттингера, скорости роста и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов:

1. Приготовление агара Хоттингера из гидролизата Хоттингера.

Перед использованием перемешать содержимое бутылки круговыми движениями, снять с бутылки алюминиевый колпачок и резиновую пробку и слить гидролизат вместе с белым хлопьевидным осадком (тирозином) в емкость для приготовления питательных сред, оставив хлороформ на дне бутылки. Для получения агара Хоттингера смешать:

Гидролизат Хоттингера	(190-340) мл *
Натрия хлорид (ГОСТ 4233-77)	5 г
Агар микробиологический (ГОСТ 17206-96)	$(15,0 \pm 3,0)$ г **
Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72)	до 1 л

* Из расчета содержания сухого остатка $(24,0 \pm 1,0)$ г

** Варьирование величины связано с различной прочностью геля агара

Установить pH смеси 7,7-7,9. Смесь довести до кипения, кипятить 25 мин и затем автоклавировать при температуре 100°C 30 мин для формирования осадка, который фильтровать через ватно-марлевый фильтр. Осветленный агар Хоттингера разлить по бутылкам, завальцевать и стерилизовать при температуре 121°C 15 мин.

2. Подготовка агара Хоттингера к контролю.

Работа должна быть проведена с соблюдением правил асептики.

Перед использованием снимают алюминиевый колпачок с бутылки, закрывают резиновую пробку на стерильную ватно-марлевую. Выдерживают бутылку



8886-0711

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

Сазонов Ю.С.

ку с агаром Хоттингера в кипящей водяной бане до полного расплавления студня, охлаждают до температуры 45-50 °С и разливают в стерильные чашки Петри (ГОСТ 25336-82 Е или ТУ 64-2-19-79) слоем 4-5 мм. После застывания агара, чашки подсушивают закрытыми, вверх дном при температуре (37±1) °С в течение 20-24 ч. В таком виде агар Хоттингера можно использовать в течение 10 сут при температуре хранения 2-8 °С.

3. Подготовка тест-штаммов для контроля среды. Тест-штаммы *S. flexneri* la 8516 (№ депозита 232412), *S. sonnei* «S form» (№ депозита 233169), *P. aeruginosa* 27/99 (№ депозита 190087) и *S. marcescens* 1 (№ депозита 220001) получают из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора. Используемые для контроля тест-штаммы должны быть типичными по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам.

Тест-штаммы хранят при температуре 2-8 °С в лиофилизированном состоянии, на среде Романова (МУК 4.1/4.2.588-96) или на питательной среде хранения:

Примечание. Состав среды хранения

Питательный бульон сухой (СПБ) (ФС 42-0504-5806-04)	15,0 г
Агар микробиологический (ГОСТ 17206-96)	3,0 г
Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72)	1 л
pH 7,2±0,2	

Пересевы со среды хранения на среду выращивания и вновь на среду хранения проводят через каждые 3 месяца, но не более четырех раз.

I пассаж.

Ллиофилизированные культуры каждого тест-штамма *S. flexneri* la 8516, *S. sonnei* «S form», *P. aeruginosa* 27/99 и *S. marcescens* 1 из ампулы или культуры со среды хранения высевают в пробирку (ГОСТ 25336-82 Е) с питательным бульоном СПБ, в пробирку и на чашку Петри с питательным агаром (ФС 42-0504-5807-04). Посевы инкубируют в течение 18-20 ч при температуре



8886-07...

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

Сазонов Ю.С.

(37 ± 1) °C, *S. marcescens* 1 при (22 ± 2) °C.

Выросшую на питательной среде культуру каждого тест-штамма проверяют визуально на чистоту роста и отсутствие диссоциации («Методические рекомендации к контролю питательных сред по биологическим показателям», М., 1980).

II пассаж.

Культуру каждого тест-штамма пересевают в две пробирки и чашку Петри с питательным агаром СПА (в случае отсутствия роста на питательном агаре используют культуру, выросшую в бульоне) и инкубируют в течение 18-20 ч при температуре (37 ± 1) °C, *S. marcescens* 1 при (22 ± 2) °C.

Выросшие культуры проверяют визуально на чистоту роста и используют для контроля.

Готовят взвесь культуры каждого тест-штамма, соответствующую 10 единицам по стандартному образцу мутности (ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска), с использованием стерильного 0,9 %-ного раствора натрия хлорида. Полученные взвеси культур *S. flexneri* 1a 8516 и *S. sonnei* «S form» последовательными десятикратными разведениями (4,5 мл 0,9 %-ного раствора натрия хлорида с 0,5 мл микробной взвеси) доводят до разведения 10^{-6} . В процессе разведения перенос взвеси в следующую пробирку производят с заменой стерильной пипетки вместимостью 1 мл (ГОСТ 29227-91) (2-ой класс точности).

4. Посев и учет результатов.

По 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма высевают на 2 чашки Петри с агаром Хоттингера: *S. flexneri* 1a 8516 и *S. sonnei* «S form» из разведения 10^{-6} , *P. aeruginosa* 27/99 и *S. marcescens* 1 из суспензии, соответствующей 10 единицам стандарта мутности (ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска), и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности агара Хоттингера.



8386-07...

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

Сазонов Ю.С.

Учет результатов производят визуально по характеру роста и образованию пигмента через 18-20 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ для тест-штаммов *S. flexneri* 1a 8516, *S. sonnei* «S form», *P. aeruginosa* и при $(22\pm 1)^\circ\text{C}$ – для *S. marcescens*.

Вещества вносимые в препарат. Консервант хлороформ (ТУ 2631-001-29483781-2004) в количестве 30 мл на 1 л гидролизата.

Упаковка. По 400 мл, 300 мл или по 200 мл в стеклянных бутылках (ГОСТ 10782-85) вместимостью 450 или 250 мл соответственно.

На каждую бутылку должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной (ГОСТ 7625-86).

Бутылки герметично закрывают резиновыми пробками (ТУ 38.106618-95), завальцовывают алюминиевыми колпачками К-5 (ГОСТ Р 51314-99).

Бутылки укладывают вертикально по 8, 15, 20 или 32 шт. в ящики из гофрированного картона (ГОСТ 13841-95) с решетками (ГОСТ 9142-90), или в коробки из картона коробочного (ТУ 5471-071-04777004-96) марки А, или в ящики деревянные посылочные (ГОСТ 9396-88 или ОСТ 45.39-86).

В каждый ящик (коробку) вкладывают инструкцию по применению и упаковочный лист, содержание которого должно соответствовать РД 42-28-36-90.

Маркировка. На этикетке бутылки должно быть указано: наименование и адрес предприятия-изготовителя, телефон/факс, название субстанции, лекарственная форма, состав, объем в миллилитрах, условия хранения, способ применения, предупредительные надписи «Хранить в недоступном для детей месте», «Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений», номер лицензии, срок действия лицензии, регистрационный номер, номер серии, дата изготовления, срок годности, «Стерильно».

Графическое оформление маркировки бутылок должно соответствовать РД 42-1100/1440-99-113.



8886 ~ 07..

Маркировка транспортной тары (ГОСТ 14192-96). На ящике (коробке) должна быть предупредительная надпись «БИОПРЕПАРАТЫ!» и нанесены манипуляционные знаки «ХРУПКОЕ. ОСТОРОЖНО», «ВЕРХ», «ОГРАНИЧЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ».

Транспортирование. При температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248 – 03.

Хранение. В герметично закрытой упаковке, в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248 – 03.

Срок годности 6 месяцев.

Назначение. Субстанция-раствор, используемая в качестве основы для приготовления питательных сред для выделения, культивирования и идентификации различных микроорганизмов.

Примечание: Реактивы, титрованные растворы, индикаторы, приведенные в настоящей ФСП, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи XI издания вып. 2.

Директор Государственного учреждения
НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН
(филиал «Медгамал» ГУ НИИЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи РАМН)

А.Л.Гинцбург

200__ г.

СОГЛАСОВАНО:

Директор ФГУН ГИСК
им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора
Руководитель НОК МИВ

Н.В. Медуницын

« 4 » 07 2007 г.

Главный ученый секретарь
Фармакопейного Государственного
комитета
Директор ИСКЛС

В.Л. Багирова

« 15 » 10 2007 г.



8886-07...

ИНЖЕНЕР ПО КАЧЕСТВУ

САЗОНОВ Ю.С.