ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов «Питательная среда для Bacillus cereus (МБ-MYP-агар) с добавками»

для санитарно-бактериологических исследований

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Питательная среда для Bacillus cereus (МБ-MYP-агар) с добавками» предназначен для выделения и подсчета *Bacillus cereus* из пищевых продуктов и кормов для животных, проб из окружающей среды, отобранных из зоны производства и переработки пищевых продуктов по методу Мосселя. Не является медицинским изделием.

Объекты исследований: пробы пищевых продуктов и кормов, пробы из зоны производства и окружающей среды.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПИСАНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1. Основа селективного агара для Bacillus cereus адаптирована к потребностям в питательных веществах Bacillus cereus и была предложена Мосселем (Mossel et al., 1967) для обнаружения, подсчета и выделения B. cereus из продуктов питания. Bacillus cereus устойчивы к некоторым концентрациям полимиксина, который ингибирует сопутствующую, главным образом, грамотрицательную флору.

Мясной экстракт и пептон являются источниками азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот, необходимых для роста микроорганизмов. Хлорид натрия поддерживает осмотический баланс среды. Маннит – ферментируемый углевод, источник углерода и энергии. *Bacillus cereus* - маннит-негативные микроорганизмы. Наличие в среде маннита позволяет идентифицировать сопутствующую маннит-положительную флору, для которой характерен желтый цвет колоний. Феноловый красный – индикатор pH. Бактериологический агар является отвердителем. Добавка, содержащая сульфат полимиксина B, используется для придания среде селективности, эмульсия яичного желтка добавляется для определения активности лецитиназы. *Bacillus cereus* продуцирует лецитиназы. Нерастворимые продукты распада лецитина, содержащегося в яичном желтке, накапливаются вокруг колоний *Bacillus cereus*, образуя белый осадок.

Эмульсия яичного желтка используется для обогащения различных питательных сред.

Добавка для *Bacillus cereus* содержит полимиксин B, антибиотик, который ингибирует большинство грамотрицательных бактерий. Полимиксины связываются с клеточной мембраной и разрушают ее структуру, делая ее более проницаемой. Этот антибиотик мало влияет на грамположительные бактерии из-за толстой клеточной стенки.

Bacillus cereus устойчив к определенным концентрациям полимиксина, который подавляет сопутствующую флору и эффективен в основном против грамотрицательных организмов. Bacillus cereus продуцирует лецитиназы. Нерастворимые продукты разложения лецитина.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Состав набора	Количество готовой среды	
	Арт МБН21 на 1 л	АртМБН23 на 3л
Набор для бактериологических исследований Питательная среда «MYP-агар для *Bacillus cereus* с добавками»	1 уп.	1 уп.
Добавка для *Bacillus cereus*	2 фл.	6 фл.
Эмульсия яичного желтка	1 фл.	3 фл.
Маркер перманентный М-биокс	1 шт.	1 шт.

Инструкция по применению*.

Паспорт качества.

*Эксплуатационная документация (паспорт качества, инструкция по применению) может быть изготовлена на бумажном носителе (вместе с изделием или отдельно от него) и в форме электронного документа посредством размещения в информационно-телекоммуникационной сети Интернет.

2.3. ИНГРЕДИЕНТЫ

4.1. Основа питательной среды МБ- MYP-агара:
- Бактериологический агар -12,0 г/л
- D-маннит -10,0 г/л
- Мясной экстракт - 1,0 г/л
- Мясной пептон - 10,0 г/л
- Хлорид натрия - 10,0 г/л
- Феноловый красный - 0,025 г/л

4.2. Селективная добавка для выделения и подсчета *Bacillus cereus*
Сульфат полимиксина B - 50000 МЕ/флакон

4.3. Эмульсия яичного желтка во флаконе объемом 125мл.
Яичный желток -100±0,3 мл/л
Стерильная вода - 800 мл/л.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность определяется с использованием тест-штаммов *Bacillus cereus ATCC 11778, Escherichia coli ATCC 25922, Bacillus subtilis ATCC 6633* – 100%. Возможно использование других тест-штаммов специфичных для проверки качества данной среды.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.2. Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид среды не соответствует описанию.

4.3. Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

4.4. Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1. Одноразовая посуда является приемлемой альтернативой многоразовой стеклянной посуде, если отвечает соответствующим требованиям. Используют лабораторное оборудование для микробиологических исследований согласно ГОСТ ISO 7218, в частности следующее:*

- Термостат
- Сушильный шкаф с конвекционной вентиляцией для сушки агаровых пластин.
- Весы лабораторные
- Автоклав
- Цилиндр стеклянный мерный
- Чашки Петри стерильные
- Пипетки или дозаторы со стерильными наконечниками
- Спиртовка
- Петля бактериологическая
- Воронки стеклянные
- Резиновые или латексные перчатки
- Вода дистиллированная
- Средства дезинфекции
- Спирт этиловый 70%
- Контейнеры для жидких и твердых отходов

* использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку или аттестацию.

6. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

6.1. Физико-химический контроль

6.1.1. Основа питательной среды «MYP-агар для Bacillus cereus»
Внешний вид - тонкодисперсный порошок
Цвет сухой среды - розово-кремовый
Цвет готовой среды - розовый
Растворимость - без осадка
Конечный pH (при 25°C) 7,1±0,2

6.1.2. Добавка для *Bacillus cereus*, лиофилизат

6.1.3. Эмульсия яичного желтка
Стерильная эмульсия яичного желтка для приготовления микробиологических сред в соответствии со стандартом ГОСТ ISO 21871-2013 или ГОСТ 10444.8-2013 (ISO 7932:2004).
Цвет – желтый.

6.2. Микробиологический тест

Условия инкубирования: (30±1)°C / 24±2 часа (Продуктивность); 30±1°C / 44±4 часа (Специфичность, Селективность).

Инокулят: Продуктивность количества 100±20 Мин.50 КОЕ; Селективность - 10^4-10^6 КОЕ; Специфичность - 10^3-10^4 КОЕ.

Референсная среда: Триптиказо-соевый агар (TSA).

6.3. Приготовление питательной среды:

6.3.1. Для набора МБН21 на 1 литр готовой среды:

	Сухая основа	Добавка для Bacillus cereus	Эмульсия яичного желтка	Вода
1 литр готовой среды	43 гр.	2 фл.	1 фл.	900 мл.

Содержимое упаковки развести в 900 мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°С. Охладить до 45-50°С и добавить в стерильных условиях 100 мл Эмульсии яичного желтка и 2 флакона селективной Добавки для *Bacillus cereus*.

6.3.2. Для набора МБН23 на 3 литра готовой среды:

	Сухая основа	Добавка для Bacillus cereus	Эмульсия яичного желтка	Вода
1 литр готовой среды	43 гр.	2 фл.	1 фл.	900 мл.
2,0 литра готовой среды	86 гр.	4 фл.	2 фл.	1800 мл.
3,0 литра готовой среды	129 гр.	6 фл.	3 фл.	2700 мл.

Содержимое упаковки развести в дистиллированной воде. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°С. Охладить до 45-50°С и добавить в стерильных условиях Эмульсию яичного желтка селективную Добавку для *Bacillus cereus*.

Готовую среду тщательно перемешать и разлить в чашки Петри. Чашки можно хранить при температуре (3 ± 2) °С до четырех дней. (ГОСТ ISO 21871— 2013).

Микроорганизмы	Рост	Цвет колонии
Bacillus cereus АТСС 11778	Хороший (2) >50%	Розовые колонии с осадочным гало
Escherichia coli АТСС 25922	Ингибируется (0)	
Bacillus subtilis АТСС 6633		Желтые колонии без осадочного гало

6.4. Проведение анализа

Посев и учёт результатов осуществляют в соответствии с методикой бактериологического исследования (ГОСТ ISO 21871-2013 или ГОСТ 10444.8-2013).

Выделение и подсчет *Bacillus cereus из пищевых продуктов по методу Мосселя*:

- В чашку Петри добавить 12-15 мл расплавленного агара и дать ему затвердеть.
- Инокулировать 10 мкл исходной суспензии и/или разведения образца.
- Распределить инокулят по поверхности агара при помощи стерильной петли.
- Засеянные чашки следует инкубировать в перевернутом положении в течение 24–40 часов при 35±2°С.
- Среду можно инокулировать сразу или после обогащения в бульоне.
- После инкубации подсчитывают все колонии, появившиеся на поверхности агара*.
- Каждая лаборатория должна оценивать результаты в соответствии со своими спецификациями. Рассчитайте общее количество микроорганизмов на мл образца, умножив среднее количество колоний на чашку на обратный коэффициент разбавления. Запишите результаты в виде колониеобразующих единиц (КОЕ) на мл или г вместе с временем инкубации и температурой.

*Подсчет презумптивных *B. cereus* проводят по ГОСТ ISO 7218 и ГОСТ 26670.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

7.1. Транспортирование наборов должно проводиться при температуре от +2º до +25ºС любыми видами крытых транспортных средств в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

7.2. Срок транспортировки не должен превышать 14 дней.

7.3. Хранение набора – в сухом месте, в упаковке предприятия-производителя при температуре от +2º до +12ºС – в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

7.4. Срок годности набора - 2 года. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

7.5. Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

8. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

8.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

8.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

8.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

8.4. Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность реагентов, нарушение целостности банки, недостаточные сведения. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым Набор реагентов признан негодным. Вместе с рекламацией направляют образцы данной серии Набора реагентов и протокол с результатами проверки. Рекламацию следует направить на предприятие-производитель.

По вопросам качества Набор реагентов «Питательная среда для Bacillus cereus МБ- МҮР-агар с добавками» по ТУ 20.59.52-004-48129631-2025 просьба обращаться на предприятие-производитель:

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «М-БИОКС» (ООО «М-БИОКС»), 129323, Г.МОСКВА, ВН.ТЕР.Г. МУНИЦИПАЛЬНЫЙ ОКРУГ СВИБЛОВО, ПРОЕЗД РУСАНОВА, Д. 2, СТР. 1, e-mail: info@mbiox.ru, телефон: 8 (800) 201 77 97.