

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН
«Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия
«Глюкозо-пептонная среда сухая»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Глюкозо-пептонная среда сухая» предназначена для обнаружения бактерий группы кишечной палочки по признаку ферментации глюкозы при санитарно-бактериологическом исследовании питьевой воды, минеральных вод, прибрежных вод в местах водопользования населения и других объектов.

Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Глюкозо-пептонная среда представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Глюкозо-пептонная среда выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г или по 100 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, не содержащей ингибиторов, обеспечивает питательные потребности для роста бактерий группы кишечной палочки. Утилизация глюкозы бактериями группы кишечной палочки сопровождается образованием кислоты и газа, которые регистрируются наличием пузырьков газа в поплавках и изменением цвета среды из зеленого в желтый в присутствии индикатора бромтимолового синего.

2.2. Состав

Состав среды, г/л

- | | |
|--|-----------|
| – Панкреатический гидролизат рыбной муки и/или пептон сухой ферментативный | 10,0 |
| – Д-глюкоза | 5,0 |
| – Натрий хлористый | 5,0 |
| – Натрий углекислый | 0,05-0,25 |
| – Бромтимоловый синий | 0,06 |

pH от 6,8 до 7,2

Определение pH проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» в растворе, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухой Глюкозо-пептонной среды 100 мл дистиллированной воды. Величина pH, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению pH готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность. Глюкозо-пептонная среда должна обеспечивать при посеве по 0,5 мл микробной взвеси из разведения 10^{-7} в 5 мл среды во всех засеянных пробирках визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма: *Escherichia coli* 3912/41 (055:K59), *Escherichia coli* Ewing (*O*₁₂₄K₇₂) 227, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* 10006, *Pseudomonas aeruginosa* 27/99 и *Proteus vulgaris* HX 19 222 через 18-24 ч инкубации (для *E. aerogenes* 10006 до 48 ч) при температуре (37±1) °C.

Рост тест-штаммов *E. coli* 3912/41 (055:K59), *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* Ewing (*O*₁₂₄K₇₂) 227, *E. aerogenes* 10006 и *P. vulgaris* HX 19 222 - в виде помутнения, газообразования и изменения цвета среды из зеленого в желтый.

Рост тест-штамма *P. aeruginosa* 27/99 - в виде помутнения с изменением цвета среды в сине-зеленый.

При температуре (43±1) °C рост тест-штаммов *E. coli* 3912/41 (055:K59) и *E. coli* ATCC 25922 - в виде помутнения среды, изменения цвета среды из зеленого в желтый и газообразования.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала необходимо 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 ± 1 °С и (43 ± 1) °С.
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- 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 ПРОБЫ

6.1 Объекты исследований - питьевая вода, прибрежные воды в местах водопользования населения, минеральная вода и другие объекты.

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 18963-73 «Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа», МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» (с Изменением N 1), МУК 4.2.2959-11 «Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения», МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов) и другими нормативными документами и других нормативных документов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории специалистами, изучившими настоящую Инструкцию.

7.1. Приготовление Глюкозо-пептонной среды

20,0 г сухой питательной среды размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить в течение 1-2 мин, фильтровать через ватно-марлевый фильтр, разлить по 5 мл в стерильные про-

бирки с поплавками и стерилизовать автоклавированием при температуре 110 °С в течение 15 мин. Готовая среда прозрачная зеленого цвета.

Для приготовления концентрированной среды навеску увеличить в 10 раз, кипятить в течение 1-2 мин, фильтровать через ватно-марлевый фильтр, разлить в емкости по 1, 10 мл с поплавками, стерилизовать автоклавированием при температуре 110 °С в течение 15 мин.

Готовая среда имеет кирпично-зеленый цвет. Возможна опалесценция.

Глюкозо-пептонная среда пригодна к использованию в течение в течение 10 сут при условии ее хранения при температуре 2-8°С.

7.2. Исследуемый материал, подготовленный согласно соответствующим документам по п. 6.2, засевают в емкости с Глюкозо-пептонной средой. Посевы инкубируют в условиях, указанных в нормативно-технической документации, устанавливающей методы анализа соответствующих микроорганизмов.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 18-24 ч инкубации посевов при температурах (37±1) °С и (43±1) °С визуально учитывают наличие и характер роста.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с нормативной документацией.

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

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии Глюкозо-пептонной среды, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, подлежат *уничтожению* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование.

Уничтожение Глюкозо-пептонной среды после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре (126±1) °С.

Уничтожение упаковок (полиэтиленовых банок) после полного израсходования содержимого следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации или осуществляется предприятиями, имеющими соответ-

ствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Глюкозо-петонную среду сухую необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги.

Глюкозо-петонную среду транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие изделия «Глюкозо-пептонная среда сухая» заявленным в ТУ 20.59.52-317-78095326-2019 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

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

По всем вопросам, касающимся качества изделия «Глюкозо-пептонная среда сухая», для получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.