

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

Государственный научный центр

прикладной микробиологии и биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

**«Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая
(Среда Кода)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (Среда Кода)» далее по тексту - среда Кода, предназначена для выделения энтеробактерий и их идентификации по способности ферментировать лактозу при санитарном обследовании пищевых продуктов и объектов внешней среды. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Среда Кода представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка серовато-желтого цвета.

Среда Кода выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста, идентификации энтеробактерий по признаку ферментации лактозы, а также ингибиции отдельных видов микроорганизмов. Утилизация лактозы колиформными бактериями сопровождается образованием кислоты с изменением цвета среды из зеленого в желтый в присутствии индикатора бромтимолового синего.

2.2. Состав

Состав среды Кода, г/л:

Натрий додецилсульфат	0,5
Пептон сухой ферментативный	7,5

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	7,5
Д-лактоза.....	10,0
Натрий хлористый	6,0
Бромтимоловый синий	0,05
Натрий углекислый	0,3±0,05

pH от 7,3 до 7,7

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 среды Кода 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 кипячением.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность. Питательная среда обеспечивает во всех засеянных пробирках визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма при посеве по 0,5 мл микробной взвеси в 5 мл среды: *Escherichia coli* 675, *Escherichia coli* Ewing (O₁₂₄K₇₂) 227, *Enterobacter aerogenes* 10006, *Klebsiella pneumoniae* 3534/51, *Citrobacter freundii* 101/57, *Serratia marcescens* 1, *Shigella flexneri* 1a 8516 из разведения 10⁻⁶ через 44-48 ч инкубации при температуре (37±1) °C (для *E. coli* 675 и *E. aerogenes* 10006 через 20-24 ч).

Рост тест-штаммов *E. coli* 675, *E. aerogenes* 10006, *K. pneumoniae* 3534/51, *C. freundii* 101/57 и *S. marcescens* 1 наблюдается в виде помутнения и изменения цвета среды из зеленого в желтый.

Рост тест-штаммов *E. coli* Ewing (O₁₂₄K₇₂) 227 и *S. flexneri* 1a 8516 - в виде помутнения без изменения исходного цвета среды.

Ингибирующие свойства. Среда Кода полностью подавляет рост тест-штаммов *Proteus vulgaris* HX 19 222 и *Staphylococcus aureus* Wood-46 во всех пробирках при посеве по 0,5 мл микробной взвеси из разведения 10⁻¹ через 44-48 ч инкубации при температуре (37±1) °C.

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 ± 1 °C
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Объекты исследований - пищевые продукты, смывы и другие объекты.

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МР 2.3.2.2327-08 «Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)», ГОСТ Р 54354-2011 Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа, МУ 2657-82 «Методические указания по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами» (Дата актуализации: 01.01.2019), МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1 Приготовление среды Кода.

32,0 г питательной среды размешивают в 1 л дистиллированной воды. Кипятят 1-2 мин и разливают по 5 мл в стерильные пробирки. **Не автоклавировать!**

Готовая среда прозрачная зеленого цвета. Готовую среду можно использовать в течение 7 сут. после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

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

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Присутствие в посевном материале лактозоположительных энтеробактерий определяется визуально по помутнению и изменению цвета среды Кода из зеленого в желтый. Помутнение среды без изменения цвета указывает на рост микроорганизмов, не разлагающих лактозу.

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

Для получения достоверных результатов посева образцов производить не менее, чем в двух повторностях.

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

Серии среды Кода, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СП 1.3.2322-08 как отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение среды Кода после проведения биологического контроля осуществляется по СП 1.3.2322-08 как отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре (126 ± 1) °С.

Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Среду Кода необходимо хранить на складе в герметично закрытой банке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. 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.

Среду Кода 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 «Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (Среда Кода)», заявленным в ТУ 20.59.52-343-78095326-2021 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 «Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (Среда Кода)», получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-10, факс 36-01-20.