

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Питательная среда для определения лизиндекарбоксилазы сухая (Среда с лизином)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для определения лизиндекарбоксилазы сухая (Среда с лизином)», далее по тексту - среда с лизином, предназначена для идентификации энтеробактерий по наличию у них фермента лизиндекарбоксилазы. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Среда с лизином выпускается в полиэтиленовых банках по 100 и 250 г.

Среда с лизином представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка светло-желтого цвета.

2.1. Принцип действия

Среду для определения лизиндекарбоксилазы используют при обнаружении и дифференциации энтеробактерий от других микроорганизмов по декарбоксилированию лизина.

Принцип метода – визуальное обнаружение изменения цвета питательной среды за счет наличия фермента лизиндекарбоксилазы у культур, выделенных из исследуемых образцов.

Бактерии, декарбоксилирующие лизин с образованием кадаверина, обнаруживаются по наличию зеленого или сине-зеленого цвета среды. При отсутствии декарбоксилазной активности выделенных культур, цвет среды меняется на желтый (ферментация глюкозы).

2.2. Состав

Состав среды с лизином, г/л:

– Дрожжевой экстракт	3,0
– L-лизин гидрохлорид	6,0
– D-глюкоза	1,0
– Бромтимоловый синий	0,04
pH от 6,5 до 6,8	

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 с лизином 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. Питательная среда обеспечивает во всех засеянных пробирках при посеве по одной бактериологической петле диаметром 2 мм в течение 24-48 ч инкубации при температуре (37±1) °C рост каждого тест-штамма *Shigella sonnei* «S form», *Klebsiella pneumoniae* 418, *Proteus vulgaris* HX 19 222, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* 65, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi* A-225 со следующими биохимическими характеристиками:

- рост *S. sonnei* «S form», *P. vulgaris* HX 19 222, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi* A-225 в виде диффузного помутнения среды с изменением цвета среды с зеленого на желтый;
- рост *K. pneumoniae* 418, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* 65 в виде диффузного помутнения среды с изменением цвета среды с зеленого на синий или сине-зеленый (утилизация лизина).

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 - микробные изоляты энтеробактерий, выделенные при проведении санитарно-бактериологических исследований.

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 32010-2013 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Shigella*», МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями», МУК 4.2.762-99 «Методы микробиологического контроля готовых изделий с кремом», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и других нормативных документов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1 Приготовление среды с лизином

10,0 г среды тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, стерилизуют автоклавированием при температуре 115 °С в течение 15 мин, разливают в асептических условиях по 5 мл в стерильные стеклянные пробирки по ГОСТ 25336-82.

Готовая питательная 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 Выделенный материал, подготовленный согласно действующим документам, вносят по полной бактериологической петле культуры каждого штамма в каждую из двух пробирок, содержащих по 5 мл среды с лизином. Через 24-48 ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально определяют наличие роста тест-штаммов.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально после инкубации посевов по изменению цвета среды. 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 с лизином, 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 с лизином 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 $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$.

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 с лизином необходимо хранить в герметично закрытой банке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 $^\circ\text{C}$. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 $^\circ\text{C}$, избегая попадания влаги.

Среду с лизином транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 $^\circ\text{C}$ 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 определения лизиндекарбоксилазы сухая (Среда с лизином)», заявленным в ТУ 20.59.52-327-78095326-2020 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 определения лизиндекарбоксилазы сухая (Среда с лизином)», 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.