

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

Государственный научный центр

прикладной микробиологии и биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА С ТРИПТОФАНОМ СУХАЯ

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда с триптофаном сухая», далее по тексту – среда с триптофаном, предназначена для обнаружения *Escherichia coli* и других колиформных микроорганизмов на основании продуцирования индола. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

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

Выпускается в полиэтиленовых банках по 100 и 250 г.

2.1. Принцип действия

Панкреатический гидролизат рыбной муки и пептон являются источниками азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот, необходимых для роста микроорганизмов. Хлорид натрия является источником электролитов, необходимых для транспортного осмотического баланса. Среда не содержит ферментируемые углеводы, благодаря чему возможен успешный синтез триптофаназы и, следовательно, индола. Продуцирование индола зависит исключительно от роста бактерий, продуцирующих ферменты триптофаназы, окисляющие триптофан, основную аминокислоту, в результате чего образуется индол.

2.2. Состав

Состав питательной среды, г/л:

- | | |
|--|------|
| – Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой ПС (ПГРМ сухой ПС) | |
| и/или пептон сухой ферментативный для бактериологических целей | 10,0 |
| – L-триптофан | 1,0 |

- Натрий хлористый 5,0
 - Натрий углекислый 0-0,3
- pH от 6,9 до 7,3

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 питательной 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. Питательная среда обеспечивает во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 3912/41 (055:K59), *Enterobacter aerogenes* 10006 и *Salmonella abony* 103/39 при посеве бактериологической петлей через 18-24 ч инкубации при температурах $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ и $(44\pm 0,5)^\circ\text{C}$. При росте кишечной палочки образуется индол, который определяется по появлению окрашивания от розового до ярко-красного после внесения в пробирки с культурами реактива Ковача или Эрлиха.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостаты, обеспечивающие температуру $36\pm 1^\circ\text{C}$ и $44\pm 0,5^\circ\text{C}$
- 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 МУК 4.2.1884-04 Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов, ГОСТ 32011-2013 (ISO 16654:2001) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения *Escherichia coli* O157», 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 питательной среды.

16,0 г питательной среды тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, доводят до кипения и кипятят в течение 1 минуты до полного растворения. Разливают в пробирки по 5 мл, закрывают пробками и стерилизуют автоклавированием при 121 °С в течение 15 мин.

Готовая питательная среда янтарного цвета, слегка опалесцирует.

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, бактериологической петлей вносят в каждую из трех пробирок, содержащих по 5,0 мл бульона с триптофаном. Посевы инкубируют в течение 18-24 ч инкубации при температурах (36±1)°С и (44±0,5) °С. В каждую пробирку с культурой вносят 0,5 мл реактива Ковача или Эрлиха и слегка встряхивают.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наличие индола определяют визуально по появлению окрашивания от розового до ярко-красного.

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 питательной среды, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 как отходы, принадлежащие к классу «А», любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение питательной среды 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 с триптофаном 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 с триптофаном 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 с триптофаном сухая», заявленным в ТУ 20.59.52-365-78095326-2022 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 с триптофаном сухая», 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.