

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению «Питательной среды для селективного определения колиформных бактерий и E.coli сухой (ЕС-бульон)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для селективного определения колиформных бактерий и E.coli сухую (ЕС-бульон)» предназначена санитарно-бактериологических исследований воды, пищевых продуктов и других материалов с целью селективного определения колиформных бактерий при температуре инкубирования (37±1) С, а также E. coli и термотолерантных колиформных бактерий при температуре инкубирования (44±0,5) С. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

ЕС-бульон представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного порошка светло-желтого цвета. Порошок гигроскопичен.

ЕС-бульон выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для накопления колиформных бактерий и E.coli. Соли желчных кислот подавляют рост грамположительных микроорганизмов. Фосфатный буфер поддерживает требуемый рН питательной среды.

2.2. Состав

ЕС-бульон представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:	
Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой)	20,0
Альфа Д (+)-лактоза, 1-водная	5,0
Калий фосфорнокислый двузамещенный	3,5
Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,5

Натрий хлористый	5,0
Желчные соли № 3	1,5

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: ЕС-бульон должен обеспечивать во всех засеянных пробирках при посеве в 9 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-7} через 24-48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С визуально обнаруживаемый рост в виде диффузного помутнения и газообразования каждого из тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 675, *Klebsiella pneumoniae* 418 и рост в виде диффузного помутнения и газообразования через 24-48 ч инкубации при температуре $(44\pm 0,5)$ °С каждого из тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922, *E.coli* 675.

Ингибирующие свойства. ЕС-бульон должен полностью подавлять во всех засеянных пробирках рост тест-штамма *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (NCTC 775) и *Bacillus cereus* NCTC 8035 при посеве в 9,0 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} через 24-48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С.

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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Объекты исследований - пищевые продукты, вода, объекты окружающей среды и др.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии ГОСТ Р 52830-2007 «Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа»,

ГОСТ ISO/TS 11133-2014 (часть I) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Приготовление ЕС-бульона.

36,5 г сухого ЕС-бульона тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, кипятят 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по 9 мл в пробирки с поплавками и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Готовая среда прозрачная светло-желтого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 суток после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. Исследуемый материал после культивирования в жидкой селективной обогатительной среде при обнаружении затемнения, образования хлопьев или вспенивания среды высевает в ЕС бульон. Инкубируют 24-48 ч при температуре (37±1) °С и (44±0,5)°С. Дальнейшую идентификацию проводят согласно соответствующим документам.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально, учитывая наличие роста по диффузному помутнению среды и газообразованию.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии ЕС-бульона, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение ЕС-бульона 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.

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

ЕС-бульон 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.

ЕС-бульон 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 ЕС-бульона заявленным в ТУ 9385-239-78095326-2016 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 «Питательной среды для селективного определения и подсчета колиформных бактерий и E.coli сухой (ЕС-бульон)», 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.