

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия

«Лактозо-пептонная среда сухая»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Лактозо-пептонная среда сухая» предназначена для предварительного теста на присутствие *E. coli* и колиформных бактерий по признаку ферментации лактозы при санитарно-бактериологическом исследовании питьевой воды, прибрежных вод в местах водопользования населения и других объектов при санитарно-бактериологических исследованиях.

Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

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

Лактозо-пептонная среда выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, не содержащей ингибиторов, обеспечивает питательные потребности для роста *E. coli* и колиформных бактерий. Утилизация лактозы 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, г/л

– Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой и/или пептон сухой ферментативный	10,0
– Д (+)-лактоза, 1-водная	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 Лактозо-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. Лактозо-пептонная обеспечивает во всех засеянных пробирках при посеве по 0,5 мл микробной взвеси из разведения 10^{-7} в 5 мл среды 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, *Proteus vulgaris* HX 19 222 через 18-24 ч инкубации (для *E. aerogenes* 10006 до 48 ч) при температуре $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$:

- в виде помутнения, газообразования (для *E. aerogenes* 10006 характерно слабое газообразование) и изменения цвета среды из зеленого в желтый тест-штаммов *E. coli* 3912/41 (055:K59), *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* 10006;

- в виде помутнения без изменения цвета среды тест-штаммов *E. coli* Ewing (*O*₁₂₄K₇₂) 227 и *P. vulgaris* HX 19 222;

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

при температуре $(43 \pm 1)^\circ \text{C}$:

- в виде помутнения среды, изменения цвета среды из зеленого в желтый и газообразования тест-штаммов *E. coli* 3912/41 (055:K59) и *E. coli* ATCC 25922.

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 °C и (43 ± 1) °C
- 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.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление Лактозо-пептонной среды

20 г сухой смеси размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 1-2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по 5 мл в стерильные пробирки с поплав-

ками и стерилизуют автоклавированием при температуре 110 °С в течение 15 мин. Готовая среда прозрачная зеленого цвета.

Для приготовления концентрированной среды навеску увеличивают в 10 раз, кипятят в течение 1-2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в емкости по 1, 10 мл с поплавками, стерилизуют автоклавированием при температуре 110 °С в течение 15 мин.

Готовая среда имеет кирпично-зеленый цвет. Возможна опалесценция.

Лактозо-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 Лактозо-пептонной средой. Посевы инкубируют в условиях, указанных в нормативно-технической документации, устанавливающей методы анализа соответствующих микроорганизмов.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 24-48 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 Лактозо-пептонной среды, 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 Лактозо-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.

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

Лактозо-пептонную среду 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.

Лактозо-пептонную 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 «Лактозо-пептонная среда сухая» заявленным в ТУ 20.59.52-316-78095326-2019 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 «Лактозо-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.