

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению питательной среды

«Питательная среда для обнаружения и подсчета энтерококков сухая (среда Сланец-Бартли)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательная среда для обнаружения и подсчета энтерококков сухая (среда Сланец-Бартли)», далее по тексту - среда Сланец-Бартли, предназначена для бактериологических исследований с целью первичного обнаружения и подсчета количества энтерококков в воде, сточных водах, в пищевых продуктах и других образцах, предположительно содержащих энтерококки. Не является медицинским изделием.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Среда Сланец-Бартли представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный порошок от желтого до розового цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Среда Сланец-Бартли расфасована по 100 и 250 г в полиэтиленовые банки.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды Сланец-Бартли, обеспечивает питательные потребности энтерококков, что позволяет произвести процедуру их обнаружения в исследуемых образцах. Ферментативный гидролизат рыбной муки, дрожжевой экстракт служат источником азотистых питательных веществ, витаминов группы В, микроэлементов и других веществ, необходимых для роста энтерококков. 2,3,5 – Трифененилтетразолия хлорид (ТТХ), входящий в состав среды, восстанавливается бактериями *E. faecalis* до нерастворимого формазана, который откладывается в клеточной стенке и в результате чего колонии *E. faecalis* окрашиваются в бордовый цвет, а колонии *E. faecium* остаются без окраски или приобретают слегка розовый цвет. Селективные свойства среде придает азид натрия, который в значительной степени подавляет рост грамотрицательных микроорганизмов.

2.2. Состав

Среда Сланец-Бартли представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

– Панкреатический гидролизат рыбной муки с твином сухой	10,5
– Дрожжевой экстракт	5,0
– D-глюкоза	2,0
– Калий фосфорнокислый однозамещенный	2,0
– Натрий углекислый	1,0±0,5
– Натрия азид	0,5
– 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид	0,1
– Агар бактериологический	10,0 ±2,0

pH от 7,1 до 7,3

Определение pH проводят потенциметрическим методом с применением стеклянного электрода в экстракте, приготовленном путем измельчения геля готовой среды из одной чашки Петри, настаивания его в 20 мл дистиллированной воды в течение 1 ч при температуре 18-25 °С и последующего фильтрования.

Величина pH, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению pH готовой среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность Среда Сланец-Бартли обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Enterococcus faecium* 19434 из разведения 10^{-6} через 48 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в виде:

- колонии *E. faecalis* ATCC 19433 - гладкие, круглые, бордовые, блестящие, диаметром не менее 1 мм;
- колонии *E. faecium* ATCC 19434 – гладкие, круглые, от белого до светло розового цвета диаметром не менее 1,5 мм.

3.2. Ингибирующие свойства Среда Сланец-Бартли полностью подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-3} через 48 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 При анализе исследуемых образцов необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.2 Производство питательной среды требует специальных мер безопасности, так как содержит в своем составе азид натрия, обладающий токсическим воздействием. В процессе приготовления среды необходимо использовать спецодежду, перчатки, средства защиты органов дыхания, глаз и лица.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37 °С;
- Весы лабораторные 2 класса точности;
- Автоклав;
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 мл, 2 мл, 5 мл;
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл;
- Чашки Петри;
- Вода дистиллированная;
- Колбы;
- Воронки стеклянные.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Объекты исследований - питьевая вода, вода из естественных водоемов, вода из систем водоснабжения, вода из плавательных бассейнов, аквапарков и других объектов, вероятно загрязненных фекальными энтерококками, в пищевых продуктах и других образцах, предположительно содержащих энтерококки.

6.2. Взятие, посев исследуемого материала, учет и регистрацию результатов проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 7899-2-2018. «Качество воды Обнаружение и подсчет кишечных энтерококков часть 2. Метод мембранной фильтрации»; МУК 4.2.1884-04. «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»; ГОСТ ISO 6887-1 2017 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований».

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами (например, врач-бактериолог, врач - медицинский микробиолог, врач-

лаборант, иной специалист, ознакомленный с требованиями настоящей Инструкции по применению).

7.1. Приготовление среды Сланец-Бартли.

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, доводят до кипения и кипятят при постоянном перемешивании в течение 1 мин, охлаждают до температуры 45-50 °С и разливают в стерильные чашки Петри слоем 3-4 мм. **Среда не подлежит автоклавированию!**

Готовая питательная среда прозрачная розового цвета. Допускается наличие красных вкраплений.

Готовую среду можно использовать в течение 10 суток при температуре хранения 2-8 °С и в течение 3 суток при температуре хранения 18-25 °С (хранить чашки следует в темном месте).

7.2 Исследуемый материал, подготовленный согласно соответствующим документам по п. 6.2, засевают на три чашки Петри со средой Сланец-Бартли и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Посевы инкубируют в условиях, указанных в нормативно-технической документации, устанавливающей методы анализа соответствующих микроорганизмов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Присутствие в посевном материале энтерококков определяется визуально через 48 ч инкубации при температуре (37±1)°С.

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

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

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

Серии среды Сланец-Бартли, 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» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение среды Сланец-Бартли 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.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Среду Сланец-Бартли хранят в герметично закрытой упаковке производителя на складе, 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 Сланец-Бартли 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 «Питательной среды для обнаружения и подсчета энтерококков сухой (среда Сланец-Бартли)» заявленным в ТУ 20.59.52-349-78095326-2021 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 «Питательной среды для обнаружения и подсчета энтерококков сухой (среда Сланец-Бартли)», для получения консультации 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.