

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН  
Государственный научный центр  
прикладной микробиологии и  
биотехнологии

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2011 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

### **по применению питательной среды с эозин-метиленовым синим сухой (Среда Левина-ГРМ)**

#### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Среда Левина-ГРМ предназначена для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью выделения и дифференциации патогенных и условно патогенных энтеробактерий, а также для выделения стафилококков.

#### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА**

Среда Левина-ГРМ представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-сиреневого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

##### **2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ**

Наличие в среде эозина и метиленового синего придают ей селективные свойства.

Дифференцирующая способность среды основана на изменении рН среды под действием кислоты, образующейся при ферментации бактериями лактозы. Комплекс индикаторов в кислой зоне окрашивает колонии кислотообразующих бактерий в темно-фиолетовый цвет, некоторые колонии имеют зеленоватый металлический блеск.

##### **2.2. СОСТАВ**

Среда Левина-ГРМ представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки .....	12,0
Дрожжевой экстракт .....	1,0

$\alpha$ -Д-лактоза, 1-водная .....	10,0
Натрия гидрофосфат .....	0,7
Натрия хлорид .....	4,2
Эозин-Н .....	0,4
Метиленовый синий .....	0,065
Агар микробиологический .....	9,0 $\pm$ 3,0

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Среда Левина-ГРМ должна обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов *Shigella flexneri* 1a 8516 и *Escherichia coli* 168/59 (O111:K58) через 18-20 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10<sup>-7</sup>, и рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* 209-Р (АТСС 6538-Р) через 48 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры тест-штамма из разведения 10<sup>-5</sup>.

Дифференцирующие свойства среды. Питательная среда должна обеспечивать чёткую дифференциацию шигелл от эшерихий на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной смеси *S. flexneri* 1a 8516 и *E. coli* 168/59 (O111:K58) из разведения 10<sup>-6</sup> (в соотношении 1:1) через 18- 20 ч инкубации при температуре (37 $\pm$ 1) °С.

### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения питательной среды в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.6.2012 - класс 2 а.

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 $\pm$ 1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- 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 ОБРАЗЦЫ**

Объекты исследований в клинической лабораторной диагностике (кровь, желчь, моча, гной и т.д.).

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

### **7.1. Приготовление среды Левина-ГРМ.**

Порошок в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 3 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют автоклавированием при температуре 110 °С в течение 20 мин. Стерильную среду охлаждают до температуры 45-50 °С, разливают в стерильные чашки Петри слоем 5-6 мм. После застывания среды чашки подсушивают при температуре (37±1)°С в течение 40-60 мин. Готовая среда в чашках Петри прозрачная, от светло-сиреневого до красновато-коричневого цвета.

Стерильную среду можно использовать в течение 3-х дней при условии ее хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. Взятие, посев инфицированного материала и учет результатов производят в соответствии с “Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями” (М., 1984 г) и приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 “Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений”.

7.3. Исследуемый материал стерильным шпателем тщательно втирают по всей поверхности среды. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 46-48 ч.

## **8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Через 18-20 ч инкубации при температуре  $(37\pm 1)$  °С визуально учитывают характер роста культур *S. flexneri* 1a 8516 и *E.coli* 168/59 (O111:K58) и через 46-48 ч характер роста культуры *S.aureus* 209-P (ATCC 6538-P).

Колонии *S.flexneri* 1a 8516 должны быть круглыми, прозрачными, бесцветными или слабо-розовыми, диаметром 1,0-1,5 мм.

Колонии *E.coli* 168/59 (O111:K58) должны быть круглыми, темно-фиолетового цвета с зеленым металлическим блеском (возможно наличие отдельных колоний без металлического блеска), диаметром 1,5-2,0 мм.

Колонии *S. aureus* 209-P (ATCC 6538-P) должны быть круглыми, бесцветными или светло-фиолетовыми с темным центром, диаметром до 1,0 мм.

## **9. УТИЛИЗАЦИЯ**

Утилизация серий среды Левина-ГРМ с истекшим сроком годности производится по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы.

Уничтожение среды Левина-ГРМ после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре  $(133\pm 1)$  °С.

Обращение с медицинскими отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации, осуществляющей медицинскую и (или) фармацевтическую деятельность. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

## **10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ**

Среду Левина-ГРМ необходимо хранить в герметично закрытой упаковке при температуре от 2 до 30 °С и относительной влажности не более 60 %.

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие среды Левина-ГРМ заявленным в ТУ 9398-054-78095326-2008 требованиям и функциональным характеристикам с начала ис-

пользования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества среды Левина-ГРМ в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.