

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от 30 июля 2008 г. № 5794-П/08
Федеральное государственное учреждение науки
"Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии"
переименовано в
Федеральное бюджетное учреждение науки
"Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии"
№ 05.11.19.017.02.06.11

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН ФБЧН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии
Дятлов
2008 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 придает ей селективные свойства.

Дифференцирующая способность среды основана на изменении pH 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

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление среды Левина-ГРМ.

Порошок в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной сериальной 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.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 18-20 ч инкубации при температуре (37±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.

α-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±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±1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10⁷, и рост тест-штамма *Staphylococcus aureus* 209-P (ATCC 6538-P) через 48 ч инкубации при температуре (37±1) °С при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры тест-штамма из разведения 10⁵.

Дифференцирующие свойства среды. Питательная среда должна обеспечивать четкую 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 10⁶ (в соотношении 1:1) через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.2.731-99 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и гельминтами».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37±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

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Среду Левина-ГРМ необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

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

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 Оболонск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора
по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

«СОГЛАСОВАНО»

