



**РЕБЕССА™**

Только для микробиологического контроля

Селективная среда для подсчета β-D-глюкуронидаза-положительных *Escherichia coli* и энтеробактерий (не *E. coli*) в продуктах питания



Сертификат № AES 10/06 – 01/08  
**Метод: базовая среда РЕБЕССА™ или РЕБЕССА™ + EB (подсчет *E.coli*)**  
**АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА**  
 Подтверждено сертификатом AFNOR  
<http://nf-validation.afnor.org/en>  
 Для продуктов питания человека и животных  
 Дата окончания срока действия документа NF VALIDATION  
 указана в самом сертификате



Сертификат № AES 10/06 – 01/08  
**Метод РЕБЕССА™ + EB (подсчет энтеробактерий)**  
**АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА**  
 Подтверждено сертификатом AFNOR  
<http://nf-validation.afnor.org/en>  
 Для продуктов питания человека и животных  
 Дата окончания срока действия документа NF VALIDATION  
 указана в самом сертификате

**КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ**

Хромогенная среда РЕБЕССА™ разработана для прямого подсчета (без подтверждающих тестов) в продуктах, предназначенных для потребления человеком и животными, следующих бактерий:

- β-D-глюкуронидаза-положительных *E. coli*,
- β-D-глюкуронидаза-положительных *E. coli* и энтеробактерий (1,2)

**ПРИНЦИП**

Подсчет *E. coli* проводится путем выявления под действием β-D-глюкуронидазы окрашивания колоний в синий цвет с синим ореолом или без него.

Для выявления других энтеробактерий (не *E. coli*) нужно внести в основу среды РЕБЕССА™ специальную добавку, которая окрашивает колонии в розовый или красный цвет.

**СОСТАВ НАБОРА**

<b>Готовая к использованию среда</b>	
<b>AEB520020</b> :	упаковка из 20 чашек 90 мм
<b>AEB620027</b> :	упаковка из 6 флаконов по 200 мл
<b>РЕБЕ*</b>	
<b>Добавка РЕБЕССА™ EB</b>	
<b>AEB184135</b> <sup>(i)</sup> :	1 флакон НК (необходимое количество) для 1,2 л
<b>AEB184135/10</b> <sup>(i)</sup> :	10 флаконов НК для 1,2 л каждый
<b>Сухая среда РЕБЕССА™ (Основа)</b>	
<b>AEB150022</b> :	500 г

(\*) : напечатано на упаковке

**СОСТАВ**

Расчетная формула ( в граммах на литр очищенной воды)  
 Количественный/качественный состав среды может быть модифицирован для достижения необходимых функциональных характеристик.

Пептоны и экстракты.....	18,00
Селективные компоненты.....	5,25
Хромогенный субстрат.....	0,25
Агар.....	14,00
Смесь селективных компонентов и хромогенных субстратов <sup>a</sup>	

pH 7,3

a : СМЕСЬ в чашках РЕБЕССА™ + EB или после внесения добавки РЕБЕССА™ EB (AEB184135 или AEB184135/10)

(i) Реагенты, содержащие субстанцию в данной концентрации, считаются опасными: Ванкомицин (<4%).

**СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО: ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

H317

P261 / P280 / P302 + P352 / P333 + P313

**Обозначение опасности:**

H317 : При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию.

**Меры предосторожности:**

P261 : Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/аэрозолей.

P280 : Использовать перчатки, защитную одежду и средства для защиты глаз/лица.

P302+P352 : ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.

P333+P313 : При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.

Дополнительную информацию см. в паспорте безопасности материала (MSDS).

**НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР****Материалы**

- Инкубатор
- Водяная баня
- Кипящая водяная баня
- Автоклав
- Стерильные или асептические чашки Петри
- Флаконы устойчивые к автоклавированию

**Реактивы**

- Забуференная пептонная вода (например, кат.№ 42043)
- Пептонно-солевой бульон (например, кат.№ AEB111499 – AEB611498)

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- Только для микробиологического контроля.
- Только для профессионального использования.
- Набор содержит продукты животного происхождения. Сертификат о происхождении и/или санитарном состоянии животных полностью не гарантирует отсутствия возбудителей трансмиссивных заболеваний. По этой причине рекомендуется считать эти продукты потенциально инфекционными и при обращении с ними соблюдать обычные меры предосторожности и технику безопасности (не принимать внутрь и не вдыхать).

- Все образцы, культуры микроорганизмов и инокулированные чашки следует считать инфекционными и требуют обращения с ними должным образом. На протяжении всей процедуры исследования необходимо соблюдать правила асептики и обычные меры предосторожности при обращении с исследуемой группой бактерий. См. «CLSI® M29-A, Защита персонала лаборатории от инфицирования в процессе работы», утвержденное руководство — действующая версия. Дополнительную информацию о мерах предосторожности при обращении см. в документе «Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях — Центр контроля и профилактики заболеваний (CDC)/Национальные институты здравоохранения (NIH) — последнее издание» или действующих нормативах в стране использования.
- Не следует использовать питательную среду как производственный материал или источник компонентов.
- Не используйте реактивы после истечения срока их годности
- Не используйте реактивы, если упаковка повреждена.
- Не используйте контаминированные чашки или чашки, содержащие конденсат.
- Не используйте флаконы/пробирки, в которых имеются признаки бактериальной контаминации
- При вскрытии флакона убедитесь в целостности предохранительной упаковки.
- Не используйте сухие среды, если они не однородные (содержат комки).
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

- Храните чашки/флаконы в оригинальной упаковке при 2–8°C до окончания срока годности.
- Храните флаконы с сухой средой при 1–30°C до окончания срока годности в сухом месте.
- Чашки, приготовленные из сухой среды или из готового к использованию агара во флаконах могут храниться 15 дней при 2–8°C.
- Флаконы с основой среды REBECCA™, приготовленные из сухой среды могут храниться 1 месяц при 2–8°C.
- После регидратации добавку REBECCA™ EB можно хранить 24 часа при 2–8°C или 7 дней в условиях заморозки (аликвоты). Добавку нельзя подвергать более чем одному циклу заморозки и разморозки.
- Методы хранения чашек после инкубации описаны в стандарте EN ISO 7218.
- AEB184135 – AEB184135/10 – AEB520020: Беречь от света

#### ОБРАЗЦЫ

При сборе и подготовке образцов следуйте рекомендациям действующих стандартов.

#### ПОДГОТОВКА

- **Сухая среда:**

Суспендируйте 45 г сухой среды в 1,2 л очищенной воды. Доведите до кипения при постоянном перемешивании до полного расплавления агара. Автоклавируйте при 121°C в течение 15 минут. Охладите до 44–47°C. Асептически внесите добавку REBECCA™ EB (например, AEB184135), разбавленную в 6 мл стерильного раствора воды/этанола (1:1). Гомогенизируйте, после чего разлейте в стерильные чашки Петри.

- **Готовые к использованию флаконы:**

Восстановите флаконы с основой среды REBECCA при температуре 100°C до полного разжижения. Охладите до 44–47°C.

**Вариант применения № 1:** подсчет β-D-глюкуронидаза-положительных *E. coli*: никаких добавок не требуется.

**Вариант применения № 2:** одновременный подсчет β-D-глюкуронидаза-положительных *E. coli* и энтеробактерий (добавка REBECCA™ EB):

Внесите в добавку 6 мл раствора воды/этанола (1:1) и встряхивайте до полного растворения. Внесите по 1 мл добавки в каждый флакон (200мл) с основой среды. Осторожно перемешайте.

#### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ (см. также приложения I, II и III)

Независимо от целей использования питательной среды REBECCA™ на практике могут применяться различные методы. Во всех случаях следует использовать одну чашку на одно разведение:

- а) **Метод глубинного посева:**

1 мл образца или его десятикратных разведений в один слой, приблизительно в 15 мл питательной среды (в чашки диаметром 90 мм).

- б) **Поверхностный посев:**

- нанесение 0,1 мл образца и/или его десятикратных разбавлений (при необходимости).

*Для повышения точности подсчета можно внести 1 мл образца в 3 чашки Ø 90 мм или в 1 чашку Ø 140 мм (см. стандарт EN ISO 7218 (3));*

- автоматическое распределение с использованием спирали (до 200 мкл). (Не входящий в пределы сертификации NF VALIDATION).

Инкубируйте чашки в течение 24 часов ± 2 часа при 37°C ± 1°C.

Во всех случаях следует учитывать только чашки, содержащие менее 150 типичных колоний. См. схему подсчета и интерпретации результатов (приложение 1)

**Примечание:** Для метода глубинного посева при подозрении на сильное загрязнение матрикса микроорганизмами, распространяющимися по поверхности слоя агара, можно облегчить учет, нанеся двойной слой (приблизительно 5 мл) этой же питательной среды, выдержанной на водяной бане при температуре 44–47°C.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

После инкубации *E.coli* образуют синие колонии, с ореолом или без него. Энтеробактерии (не *E.coli*) образуют розовые или красные колонии.

Во всех случаях сохраняйте чашки, содержащие менее 150 типичных колоний. Методика подсчета и интерпретация результатов описаны в приложении 1. Расчеты и представление результатов приведены в стандарте EN ISO 7218.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- После восстановления в добавке REBECCA™ EB может образоваться небольшой осадок, что не сказывается на ее свойствах.

- После расплавления основы среды REBECCA™ (без добавок), перед использованием, ее можно держать на водяной бане в течение 7 часов при температуре 44–47°C. Их можно также подвергать двум циклам плавления

- В идеальном случае, добавку в основу среды следует вносить непосредственно перед розливом в чашки, однако можно хранить готовую среду (основа среды + добавка) до 2 часов при 44–47°C. Среда REBECCA™ с добавкой не следует подвергать процедуре плавления.

- Несколько β-D-глюкуронидаза-отрицательных штаммов *E. coli*, например *E.coli* O157, образуют колонии, не типичные для β-D-глюкуронидаза-положительных бактерий *E. coli*.

- Некоторые штаммы, отличные от *E. coli*, содержат фермент β-D-глюкуронидазу и поэтому могут образовывать колонии, окрашивающиеся в синий цвет. Пример, *Salmonella*...

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

REBECCA™ разработана и внедрена согласно строгим требованиям качества.

Результаты исследований каждой партии приведены в сертификате контроля качества партии, доступном в технической библиотеке (Technical Library) на корпоративном сайте ([www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)).

**УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ**

Неиспользованные опасные реактивы должны быть утилизированы в соответствии с процедурами для опасных химических отходов.

Неиспользованные неопасные реагенты могут считаться неопасными отходами и утилизироваться соответствующим образом.

Все использованные реактивы, а также любые другие контаминированные расходные материалы следует утилизировать в соответствии с процедурами по утилизации инфекционных или потенциально инфекционных материалов.

Каждая лаборатория обязана обращаться с полученными отходами и стоками в соответствии с их типом и степенью опасности, а также обрабатывать и утилизировать их в соответствии с установленными правилами и нормами

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. NF ISO 16649-2 : Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of b-glucuronidase-positive Escherichia coli – Part 2: Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl b-D-glucuronatede. (2001).
2. NF ISO 21528-2 : Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count method (2004).
3. EN ISO 7218 : Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations

**ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ**

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Произведено
	Температурный диапазон
	Использовать до
	Номер партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для <n> тестов
	Не допускать воздействия света
	Сертификат контроля качества – Партия соответствует действующему протоколу контроля качества
	Беречь от влаги
	Дата изготовления

**ИСТОРИЯ ПЕРЕСМОТРОВ**Категории типов изменений

Н/П

Корректурa

Технические изменения

Административные

изменения

**Примечание:**

Не применимо (первое издание)

Исправление ошибок в документации

Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации

Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя

*Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.*

Дата выпуска	Номер версии	Тип изменений	Обзор изменений
2015/05	620027D	Административные изменения	Создание таблицы история пересмотров.
		Технические изменения	Состав набора, состав
2015/05	620027E	Технические изменения	Состав набора, ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Для получения технической консультации и поддержки просьба обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации:

ООО «биоМерье Рус»

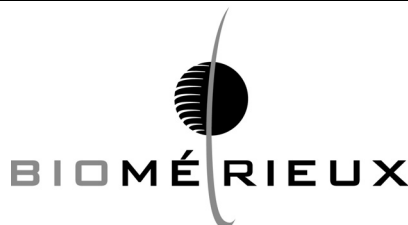
Адрес: Россия, 115230, Москва, 1-ый Нагатинский проезд, д. 10, стр. 1


Тел./факс: +7 (495) 221 10 79

Телефон горячей линии: 8 (800) 250 10 79

e-mail: [ml-ru-office@biomerieux.com](mailto:ml-ru-office@biomerieux.com)веб-сайт: [www.biomerieux-russia.com](http://www.biomerieux-russia.com)

BIOMERIEUX, голубой логотип и REBECCA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. CLSI является товарным знаком, принадлежащим Институту клинических и лабораторных стандартов. Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.



 **bioMérieux SA**  
376 Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON  
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)

## Руководство по проведению исследования и интерпретации результатов

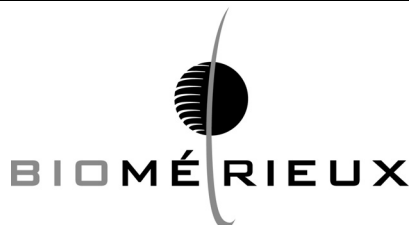


АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ  
АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

	<p>Подсчет <math>\beta</math>-D-глюкуронидаза- положительных <i>E. coli</i> Сертификат n°: AES 10/06-01/08</p>	<p>Одновременный подсчет <math>\beta</math>-D- глюкуронидаза- положительных <i>E.coli</i> и энтеробактерий (не <i>E.coli</i>) Сертификат N° AES 10/06-01/08 Сертификат AES 10/07-01/08</p>
<b>ОСНОВА СРЕДЫ</b>	<b>Основа среды REBECCA™</b>	<b>Основа среды REBECCA™ *</b>
<b>ДОБАВКА К ОСНОВЕ СРЕДЫ REBECCA™</b>	Отсутствует	Добавка REBECCA™ EB*
<b>ПОСЕВ</b>	См. листок технических данных	См. листок технических данных
<b>ИНКУБАЦИЯ</b>	24 часа $\pm$ 2 часа при 37°C $\pm$ 1°C	24 часа $\pm$ 2 часа при 37°C $\pm$ 1°C
<b>ИНТЕРПРЕТАЦИЯ</b>	<p><i>E. coli</i> <math>\beta</math>-D-глюкуронидаза - положительные: колонии синего цвета, с ореолом или без него</p>	<p><i>E. coli</i> <math>\beta</math>-D-глюкуронидаза - положительные: колонии синего цвета, с ореолом или без него</p> <p>Энтеробактерии (не <i>E. coli</i> <math>\beta</math>-D- глюкуронидаза-положительные): розовые или красные колонии</p>
<b>ПОДСЧЕТ</b> (Метод подсчета: см. стандарт EN ISO 7218)	<p><i>E. coli</i> <math>\beta</math>-D-глюкуронидаза - положительные = <math>\Sigma</math> синих колоний</p>	<p><i>E. coli</i> <math>\beta</math>-D-глюкуронидаза - положительные = <math>\Sigma</math> синих колоний</p> <p>Энтеробактерии = <math>\Sigma</math> синих колоний + <math>\Sigma</math> розовых или красных колоний</p>

\* Основа среды REBECCA + добавка EB существует в готовых для использования чашках для подсчета поверхностным методом (см. листок технических данных).

BIOMERIEUX, голубой логотип и REBECCA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. CLSI является товарным знаком, принадлежащим Институту клинических и лабораторных стандартов. Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.



**bioMérieux SA**  
376 Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON  
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)

**Подсчет**  
**β-D-глюкуронидаза-положительных *Escherichia coli***  
**Методы с использованием основы среды REBECCA™ или**  
**REBECCA™ + EB**

Разведение

X г или X мл образца + 9 X мл забуференной пептонной воды или пептонно-солевого бульона  
 либо следуйте стандарту EN ISO 6887 для специфической подготовки  
 При необходимости выполните последовательные разведения



МЕТОД ПОВЕРХНОСТНОГО ПОСЕВА

Распределение **0,1 мл\*** в 1 чашку с  
**основой среды REBECCA™ (AEB620027 – 6**  
**флаконов по 200 мл) или REBECCA™ + EB**  
**(AEB520020 – 20 чашек диаметром 90 мм)**  
 предварительно высушенные в термостате

Для повышения точности можно нанести 1 мл\*  
 образца на 3 чашки диаметром 90 мм (см стандарт EN  
 ISO 7218)

**Инкубация 24 ± 2 часа при 37°C**



МЕТОД ГЛУБИННОГО ПОСЕВА

Посейте **1 мл\*** на **1 чашку Петри**  
 Добавьте около 15 мл  
 основы среды **REBECCA™ (AEB620027 – 6**  
**флаконов по 200 мл) или REBECCA™+ EB**  
**(AEB620027 – 6 флаконов по 200 мл + AEB184135 –**  
**добавка на 1,2л),** охлажденной до 44–47°C.

При необходимости нанесите двойной слой (5 мл).

**Инкубация 24 ± 2 часа при 37°C**



Подсчитайте типичные колонии β-D-глюкуронидаза-положительных *E. coli*:  
 колонии синего цвета, с ореолом или без него

Сохраните чашки, содержащие менее 150 характерных колоний.

**При подсчете и представлении полученных результатов пользуйтесь стандартом EN ISO 7218.**

\* : При необходимости повторите этот этап с последовательными разведениями



Сертификат № AES 10/06 – 01/08

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА

<http://nf-validation.afnor.org/en>



BIOMERIEUX, голубой логотип и REBECCA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. CLSI является товарным знаком, принадлежащим Институту клинических и лабораторных стандартов. Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.



**bioMérieux SA**  
 376 Chemin de l'Orme  
 69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON  
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)

## Подсчет энтеробактерий

### Метод REBECCA™ + EB

#### Разведение

**X г или X мл образца + 9 X мл забуференной пептонной воды или пептонно-солевого бульона**  
либо следуйте стандарту EN ISO 6887 для специфической подготовки  
При необходимости выполните последовательные разведения



#### МЕТОД ПОВЕРХНОСТНОГО ПОСЕВА

Нанесение **0,1 мл\*** на **1 чашку со средой REBECCA™ + EB (AEB520020 – 20 чашек Ø 90 мм)**, предварительно высушенные в термостате  
Для повышения точности можно внести 1 мл\* образца в 3 чашки диаметром 90 мм (см стандарт EN ISO 7218)

**Инкубация 24 ± 2 часа при 37°C**

#### МЕТОД ГЛУБИННОГО ПОСЕВА

Посейте **1 мл\*** на **1 чашку Петри**  
Добавьте приблизительно 15 мл среды **REBECCA™ + EB (AEB620027 – 6 флаконов по 200 мл + AEB184135 – добавка для 1,2 л)**, охлажденной до 44- 47°C.  
При необходимости нанесите двойной слой (5 мл)

**Инкубация 24 ± 2 часа при 37°C**



Подсчитайте типичные колонии *Enterobacteriaceae*:  
синие колонии, с ореолом или без него ( $\beta$ -D-глюкуронидаза-положительные *E.coli*)  
и  
розовые или красные колонии (*Enterobacteriaceae* кроме  $\beta$ -D-глюкуронидаза-положительных *E.coli*).

Сохраните чашки, содержащие менее 150 характерных колоний.

**При подсчете и представлении полученных результатов пользуйтесь стандартом EN ISO 7218.**

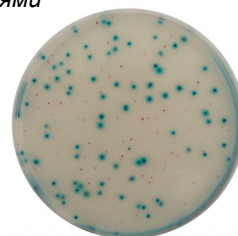
\* : При необходимости повторите этот этап с последовательными разведениями



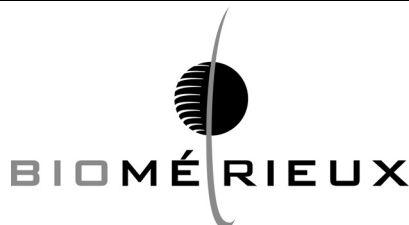
Сертификат № AES 10/06 – 01/08

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА

<http://nf-validation.afnor.org/en>



BIOMERIEUX, голубой логотип и REBECCA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. CLSI является товарным знаком, принадлежащим Институту клинических и лабораторных стандартов. Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.



**bioMérieux SA**  
376 Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON  
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)