

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной  
микробиологии и биотехнологии»

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

**по применению питательного бульона для выделения листерий сухого (ПБЛ)**

для санитарно-бактериологических исследований

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Питательный бульон для выделения листерий сухой (ПБЛ)», далее по тексту – среда ПБЛ, предназначена для санитарно-бактериологических исследований продуктов питания, объектов внешней среды и других объектов с целью селективного обогащения листерий. Не является медицинским изделием.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Среда ПБЛ выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, селективная добавка (СД) <sup>1</sup> выпускается в стеклянных флаконах по 0,05 г (на одну банку со средой ПБЛ - 5 флаконов с СД).

Среда ПБЛ представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

СД представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок розоватого цвета.

#### 2.1. Принцип действия

Высокое содержание питательных веществ в среде обеспечивает оптимальные условия для роста листерий. Ингибиторы подавляют рост сопутствующей микрофлоры.

Среда ПБЛ-I используется в качестве селективной среды предобогащения. Селективные свойства среды ПБЛ-I обеспечиваются наличием в среде полимиксина, налидиксовой кислоты, акрифлавина и цефтазидима.

---

<sup>1</sup> Возможен выпуск среды ПБЛ без СД по требованию заказчика

Среда ПБЛ-II используется в качестве селективной среды обогащения с удвоенной концентрацией антибиотиков. Двухэтапный накопительный метод используется при анализе образцов сильно загрязненной сопутствующей микрофлорой. После накопления листерий в средах ПБЛ, производят высеивание на селективный агар (ПАЛ, ПАЛКАМ агар и др.).

## 2.2. Состав

Состав среды ПБЛ, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина (ПГК сухой).....	10,0
Пептон мясной .....	15,0
Дрожжевой экстракт.....	2,0
Литий хлористый .....	3,0
Натрий хлористый .....	3,5
Натрий углекислый .....	0,2±0,1

Состав СД, г:

Полимиксина В сульфат .....	0,01
Налидиксовая кислота .....	0,025
Акрифлавин .....	0,01
Цефтазидим .....	0,005

рН от 6,7 до 7,1

Определение рН 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 среды ПБЛ 100 мл дистиллированной воды.

Величина рН, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению рН готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после стерилизации среды.

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Специфическая активность: Среда ПБЛ обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения  $10^{-7}$  (около 10 м.к.) не позднее 48 ч инкубации при температуре 30 °С во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Listeria monocytogenes* 766 и *Listeria ivanovii* в виде помутнения среды, при встряхивании которой наблюдаются муаровые волны.

Ингибирующие свойства: Среда ПБЛ с СД полностью подавляет во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* НХ 19 222 и *Staphylococcus aureus* Wood-46 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения  $10^{-4}$  (10000 м.к.) через 48 ч инкубации при температуре 30 °С.

#### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

При анализе исследуемого материала – 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 30 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Пробирки
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

#### **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Объекты исследований - продукты питания, объекты внешней среды и другие объекты при санитарно-бактериологических исследованиях.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*», ГОСТ ISO 11133-2016 «Микробиология пищевых продуктов кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред», МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

#### **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

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

##### **7.1. Приготовление среды ПБЛ.**

33,5 г среды ПБЛ тщательно размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить в течение 2 мин, профильтровать через ватно-марлевый фильтр, простерилизовать автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин и охладить до температуры 45-50°С.

##### **7.1.1 Приготовление среды ПБЛ с селективной добавкой.**

Содержимое флакона с селективной добавкой растворить в 5 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать и внести в стерильную, охлажденную среду для приготовления:

- среды предобогащения (ПБЛ-I) из расчета 2,2 мл/л и разлить по 225 мл в стерильные емкости.
- среды обогащения (ПБЛ-II) из расчета 4,4 мл/л и разлить по 10 мл в стерильные пробирки.

Готовая среда прозрачная желто-зеленого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 суток при температуре хранения 2-8 °С.

7.2 Исследуемый материал, подготовленный согласно соответствующим документам по п. 6, засеять соответственно в среду ПБЛ с СД и инкубировать при температуре 30 °С не более 48 ч.

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

Учет результатов проводят визуально не позднее 48 ч инкубации посевов при температуре 30 °С. Рост листерий обнаруживается в виде помутнения среды, при встряхивании которой наблюдаются муаровые волны.

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

## **9. УТИЛИЗАЦИЯ**

Серии среды ПБЛ, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение среды ПБЛ 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 (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 ИЗДЕЛИЯ**

Среду ПБЛ необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. СД хранят при температуре от 2 до 8 °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 ПБЛ транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения от 2 до 30 °С. Допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. Средства с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежат.

Изготовитель гарантирует соответствие среды ПБЛ, заявленным в ТУ 20.59.52-289-78095326-2018 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 вопросам, касающимся качества изделия «Питательный бульон для выделения листерий сухой (ПБЛ)» 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.