

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению**

**«Селективного бульона для обогащения листерий сухого (Бульон UVM)»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

«Селективный бульон для обогащения листерий сухой (Бульон UVM)» предназначен для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов, объектов внешней среды и др. объектов с целью селективного обогащения листерий. Не является медицинским изделием.

### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА**

Выпускается комплектом – Бульон UVM (1 банка) и 5 флаконов с селективной добавкой (СД).

Бульон UVM представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

СД представляет собой мелкодисперсный порошок красного цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Бульон UVM выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, СД во флаконах по 0,013 г.

#### **2.1. Принцип действия**

Высокое содержание питательных веществ и большая буферная емкость среды создают оптимальные условия для роста листерий. Ингибиторы подавляют рост сопутствующей микрофлоры при селективном культивировании *Listeria*.

Бульон UVM-I используется в качестве селективной среды первичного обогащения. Селективные свойства UVM-I обеспечиваются наличием в среде налидиксовой кислоты и акрифлавина.

Бульон UVM-II используется в качестве селективной среды вторичного обогащения. Селективная добавка к UVM-II дополнительно содержит акрифлавин. Двухэтапный накопительный метод используется при анализе образцов сильно загрязненных сопутствующей микрофлорой. После накопления листерий в Бульонах UVM, производят высев на селективный агар (ПАЛ, ПАЛКАМ агар и др.).

## 2.2. Состав

Бульона UVM представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой) .....	10,0
Пептон мясной .....	5,0
Дрожжевой экстракт .....	5,0
Натрий хлористый	20,0
.....	
Натрий фосфорнокислый двузамещённый .....	4,8
Калий фосфорнокислый однозамещённый .....	1,35
Эскулин .....	1,0
Налидиксовая кислота .....	0,02
Акрифлавина гидрохлорид .....	0,012
Натрий углекислый .....	0,1 - 0,3
Состав СД, г/л	
Акрифлавина гидрохлорид .....	0,013

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: Бульон UVM должен обеспечивать во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Listeria monocytogenes* 766 и *Listeria ivanovi* при посеве по 0,1 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения  $10^{-6}$  не позднее 48 ч инкубации при температуре  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$  в виде помутнения среды.

Ингибирующие свойства. Бульон UVM должен полностью подавлять во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* NCTC 8035 и *Staphy-*

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P при посеве по 0,1 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения  $10^{-4}$  через 48 ч инкубации при температуре  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

#### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». На этикетке коробки с СД должен быть знак «!». Во время работы необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук.

#### **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Термостат обеспечивающий температуру  $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

#### **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ**

Объекты исследований - пищевые продукты и объекты внешней среды и др.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*», ГОСТ ISO/TS 11133-2014 (часть I) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории», 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 бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Приготовление Бульона UVM-I. 47,4 г сухого Бульона UVM тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый

фильтр, разливают по 10 мл в стеклянные пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Приготовление Бульона UVM-II с селективной добавкой. Содержимое флакона с селективной добавкой растворяют в 5 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают и вносят в стерильный, охлажденный до температуры 50-55 °С Бульон UVM из расчета 5,0 мл на 1 л среды.

Готовая питательная среда прозрачная желтого цвета. Бульон UVM пригоден к использованию в течение 7 сут. при хранении в условиях холодильника.

7.2. Анализируемую пробу вносят в селективную среду первичного обогащения Бульон UVM, исходя из соотношения образца и питательной среды по требованиям соответствующих документов. Посевной материал, полученный после первичного обогащения в Бульоне UVM, пересевают в пробирки, содержащие по 10 см<sup>3</sup> среды обогащения Бульон UVM II

Инкубируют в течение 48 ч при температуре (30±1)°С.

Из пробирок с посевами после культивирования проводят пересев на поверхность плотной селективной среды для выделения листерий (ПАЛ, ПАЛКАМ-агар и др.)

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

Учет результатов в Бульоне UVM проводят визуально, учитывая наличие роста в виде помутнения среды. Бульон UVM подавляет рост эшерихий, бацилл и стафилококков.

## **9. УТИЛИЗАЦИЯ**

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

Уничтожение Бульона UVM после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как 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**

Бульон UVM необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С и относительной влажности не более 60 %. 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. СД хранят при температуре 2-8 °С.

Бульон UVM 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. СД – не менее срока годности среды. Комплект с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие Бульона UVM заявленным в ТУ 9385-244-78095326-2016 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 «Селективного бульона для обогащения листерий сухого (Бульон UVM)», получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.