

Федеральное бюджетное учреждение науки  
Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

ОКП 938550

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН ГНЦ ПМБ

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА  
ДЛЯ НЕСЕЛЕКТИВНОГО НАКОПЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ СУХАЯ  
(Забуференная пептонная вода)

для санитарно-бактериологических исследований

Технические условия  
ТУ 9385-237-78095326-2016  
Вводятся впервые

Срок действия с « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ине. № подл.	Подпись и дата
Взамен ине. №	Ине. № дубл.
Подпись и дата	Подпись и дата

Настоящие технические условия распространяются на «Питательную среду для неселективного накопления бактерий сухую (Забуференная пептонная вода)», далее по тексту – питательная среда.

Питательная среда предназначена для предварительного неселективного накопления бактерий и репарации сублетально угнетенных клеток, в частности патогенных энтеробактерий.

Питательная среда представляет собой мелкодисперсный порошок кремового цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен.

Состав, г/л:

- Пептон мясной (Meat Peptone кат. № 1600 «Pronadisa» Conda, Испания) или пептон мясной аналогичного качества другой фирмы-производителя ..... 10,0
- Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой) по ТУ 9229-240-78095326-2016 ..... 10,0
- Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773-76 ..... 3,5
- Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198-75 ..... 1,5
- Натрий хлористый по ГОСТ 4233-77 или ГОСТ Р 51574-2000 ..... 5,0

Область применения – санитарная микробиология.

Пример обозначения «Питательной среды для неселективного накопления бактерий сухой (Забуференная пептонная вода)» при ее заказе и в документации другого изделия: Забуференная пептонная вода по ТУ 9385-237-78095326-2016, код ОКП 938550.

## 1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Питательная среда должна соответствовать требованиям настоящих технических условий.

1.2. Питательная среда должна изготавливаться по промышленному регламенту.

1.3. По физико-химическим и биологическим показателям питательная среда должна соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Име. № дубль.	Подпись и дата												
	Име. № дубль.												
Име. № подл.	Взамен име. №												
	Подпись и дата												
					ТУ 9385-237-78095326-2016								
					Изм. Лист № докум. Подпись Дата								
					Марчихина								
					Шолохова								
					Полосенко								
					Ажермачева								
					Шепелин								
					Попова								
					Питательная среда для неселективного накопления бактерий сухая (Забуференная пептонная вода) Технические условия.			Литера		Лист		Листов	
								А		2		12	
					ФБУН ГНЦ ПМБ								

Таблица 1 – Физико-химические и биологические показатели (специфическая активность) питательной среды

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Метод испытания
Внешний вид	Мелкодисперсный порошок кремового цвета	п. 4.1
Растворимость	30,0 г питательной среды должны растворяться при перемешивании в 1 л дистиллированной воды и кипячении в течение 2 мин.	п. 4.2
Прозрачность и цветность раствора	Раствор питательной среды после стерилизации должен быть прозрачным светло-желтого цвета.	п. 4.3
рН	От 6,8 до 7,2	п. 4.4
Потеря в массе при высушивании, %	Не более 7,0	п. 4.5
Хлориды (в пересчете на натрия хлорид), %	От 16,0 до 24,0	п. 4.6
Специфическая активность	Питательная среда должна обеспечивать во всех засеянных пробирках при посеве в 9 мл среды по 1,0 мл микробной взвеси из разведения $10^{-7}$ через (18±2) ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Salmonella enteritidis</i> 11272 и <i>Salmonella typhimurium</i> 79 в виде диффузного помутнения среды.	п. 4.7

1.4. Упаковка. Питательную среду расфасовывают по 250 г в банки вместимостью 600 мл по ТУ 2297-213-78095326-2014 «Банка с крышкой с контролем вскрытия полиэтиленовая для фасовки питательных сред» производства ФБУН ГНЦ ПМБ.

Банки должны быть уложены в ящики из картона или другого материала, обеспечивающего сохранность от несанкционированного вскрытия.

Масса брутто должна быть не более 8 кг.

В каждый ящик вкладывают инструкцию по применению, паспорт качества и упаковочный лист.

1.5. Маркировка. Маркировка выполняется печатным способом или светокопированием. На потребительскую тару (банки) должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или самоклеящейся бумаги белого цвета с сине-зеленой полосой. На этикетке должно быть указано: наименование и адрес предприятия-изготовителя, товарный знак сине-зеленого цвета, телефон/факс, полное и сокращенное название изделия, состав,

Подпись и дата
Инв. № дубл.
Взамен инв. №
Подпись и дата
Инв. № подл.

					ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата		3

способ приготовления, масса в граммах, номер серии, дата изготовления, срок годности, условия хранения, номер технических условий, предупредительная надпись «Для санитарно-бактериологических исследований».

Графическое оформление маркировки транспортной тары по ГОСТ 14192-96. На транспортную тару должны быть нанесены надписи с указанием наименования и адреса предприятия-изготовителя, товарного знака, полного и сокращенного названия изделия, условия транспортирования и хранения, количество банок, срок годности, предупредительный знак «Беречь от влаги».

## 2. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

2.1. Производственные процессы должны осуществляться в соответствии с ГОСТ 12.3.002-2014, а производственное оборудование соответствовать ГОСТ 12.2.003-91.

2.2. Средства защиты работающих – по ГОСТ 12.4.011-89.

2.3. Производство питательной среды не требует специальных мер безопасности, так как её компоненты безопасны и не обладают токсическим воздействием.

2.4. Меры предосторожности при контроле специфической активности – соблюдение правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Уничтожение питательной среды 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±2) °С.

2.5. Утилизация серий питательной среды, не прошедших контроль, и серий с истекшим сроком годности производится по СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы.

## 3. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

3.1. Правила приемки, методы отбора проб согласно требованиям регламента.

3.2. Каждая серия питательной среды должна быть принята отделом биологического и технологического контроля (ОБТК) предприятия-изготовителя.

ОБТК предприятия-изготовителя контролирует соответствие физико-химических и биологических показателей требованиям, указанным в настоящих технических условиях.

Подпись и дата
Инв. № дубл.
Взамен инв. №
Подпись и дата
Инв. № подл.

					ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист
						4
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата		

3.3. Под серией следует понимать количество питательной среды, одновременно изготовленного в течение одного производственного цикла, оформленного одним номером и паспортом качества, в котором должно быть указано:

- полное и сокращённое наименование предприятия изготовителя;
- полное и сокращенное название изделия;
- обозначение настоящих технических условий;
- номер серии, дата изготовления, срок годности;
- результаты контроля по всем показателям;
- условия хранения и транспортирования;
- заключение и печать ОБТК, подпись ответственного лица.

3.4. При неудовлетворительных результатах контроля, хотя бы по одному из показателей, проводят повторный контроль по всем показателям на удвоенном количестве проб, взятых из той же серии. Результаты повторного контроля распространяют на всю серию. При неудовлетворительных результатах повторного контроля серию бракуют.

3.5. При передаче на склад готовой продукции контролер ОБТК вскрывает ящики выборочно, от каждой серии не менее 5 ящиков, контролирует расфасованную продукцию на целостность упаковки, правильность фасовки изделия, этикетировки банок, комплектацию (наличие инструкции по применению, паспорта, упаковочного листа и др.).

3.6. Два образца (две банки) с питательной средой закладывают на хранение в музей арбитражных образцов.

Отобранные образцы хранят в течение всего гарантийного срока годности плюс еще 6 месяцев. Переконтроль проводят в случае поступления рекламаций по каждой конкретной серии питательной среды.

#### 4. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ

Контроль проводится в соответствии с требованиями настоящих технических условий, МУК 4.2.2316-08 и ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014.

4.1. Определение внешнего вида. Определение проводят визуально при естественном освещении.

4.2. Определение растворимости. 30,0 г питательной среды растворяют при перемешивании в 1 л дистиллированной воды по ГОСТ 6709-72 и кипятят в течение 2 мин. Определение проводят визуально.

Подпись и дата
Инв. № дубл.
Взамен инв. №
Подпись и дата
Инв. № подл.

					ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист
						5
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата		

4.3. Определение прозрачности и цветности раствора. Определение проводят визуально в растворе (см. п. 4.2.) после стерилизации.

#### 4.4. Определение рН в растворе

Определение проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в растворе, приготовленном путем добавления к 2,0 г сухой питательной среды 100 мл дистиллированной воды.

#### 4.5. Определение потери в массе при высушивании

Стеклянные бюксы доводят до постоянной массы при температуре 100-105 °С. Около 0,15-0,20 г сухой питательной среды (точная навеска) помещают в бюксы и сушат в сушильном шкафу при температуре (100±2) °С в течение 2 ч. Бюксы с закрытыми крышками выдерживают в эксикаторе в присутствии кальция хлорида безводного в течение 30-40 мин до полного охлаждения и взвешивают. Расчет массовой доли влаги проводят по разности масс до и после высушивания по формуле

$$X = \frac{(A - D) \times 100}{B}, \quad (1)$$

где X – массовая доля влаги, %;

A – вес бюкса с навеской до высушивания, г;

D – вес бюкса с навеской после высушивания, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

B – масса навески, г.

#### 4.7. Определение хлоридов (в пересчете на натрия хлорид)

Определение проводят аргентометрическим методом. Метод основан на определении ионов хлора после окисления белков калия перманганатом в кислой среде в присутствии серебра нитрата, избыток которого оттитровывают раствором аммония роданида.

Для определения используют раствор, приготовленный путем добавления к 1,0 г сухой питательной среды 100 мл дистиллированной воды, и последующего фильтрования.

Методика определения. 0,5 мл приготовленного фильтрата вносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 5 мл раствора серебра нитрата концентрации 0,01 моль/л и 1,0 мл концентрированной азотной кислоты, осторожно нагревают с использованием асбестовой сетки до кипения. К испытуемому раствору прибавляют по каплям насыщенный раствор калия перманганата до бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение 5 мин. Затем прибавляют сухую безводную глюкозу (около 10 мг) до исчезновения окраски. По мере охлаждения раствора избыток ионов серебра титруют раствором аммония роданида концентрации (0,01 моль/л) до образования розового окрашивания (индикатор –

Инв. № подл.	Подпись и дата				ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист	
						6	
		Инв. № дубл.	Подпись и дата				
		Взамен инв. №		Изм.		Лист	№ докум.

железо-аммонийные квасцы), определяя объем, пошедший на титрование.

Содержание натрия хлорида вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(A - B) \times K \times 0,000585 \times 100}{C}, \quad (3)$$

где А – количество раствора аммония роданида концентрации 0,01 моль/л, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

В – количество раствора аммония роданида концентрации 0,01 моль/л, израсходованного на титрование испытуемого раствора, мл;

К – поправка к титру раствора аммония роданида;

0,000585 – количество натрия хлорида, соответствующее 1 мл раствора аммония роданида концентрации 0,01 моль/л, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

С – навеска сухой питательной среды, содержащаяся в 0,5 мл приготовленного раствора (С = 0,005 г), г.

#### 4.8. Определение специфической активности.

##### 4.8.1. Приготовление питательной среды.

30,0 г сухой питательной среды тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, разливают по 9 мл в стеклянные пробирки по ГОСТ 25336-82 и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Готовая среда прозрачная светло-желтого цвета.

Контроль специфической активности питательной среды допускается осуществлять в течение 7 суток после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

##### 4.8.2. Подготовка тест-штаммов для контроля питательной среды.

Тест-штаммы *E. coli* ATCC 25922, *S. enteritidis* 11272 и *S. typhimurium* 79 получают из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Используемые для контроля среды тест-штаммы должны соответствовать паспортным данным.

Тест-штаммы хранят при температуре 2-8 °С в лиофилизированном состоянии на среде Романова по МУК 4.2.2316-08 или на ГРМ-агаре (ПУ № ФСР 2007/00001).

Пересевы культур со среды хранения на среду выращивания и вновь на среду хранения проводят через каждые 3 месяца, но не более четырех раз.


					ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата		7

### I пассаж

Лиофилизированные культуры каждого тест-штамма из ампул или со среды хранения высевают в пробирки с ГРМ-бульоном (РУ № ФСР 2007/00002), либо на среду аналогичного назначения и на чашки Петри по ТУ 64-2-19-79 с ГРМ-агаром, либо на среду аналогичного назначения. Посевы инкубируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 18-20 ч.

Выросшие на указанных средах культуры тест-штаммов проверяют визуально на чистоту роста и отсутствие диссоциации.

### II пассаж

Культуру каждого тест-штамма пересевают в две пробирки и чашку Петри с питательным агаром (в случае отсутствия роста на питательном агаре используют культуру, выросшую в бульоне) и инкубируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 18-20 ч. Выросшие культуры проверяют визуально на чистоту роста и используют для контроля.

Готовят стандартную взвесь культуры каждого тест-штамма, соответствующую 10 единицам по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 П, соответствующего года выпуска (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ), с использованием стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Полученные взвеси культур десятикратными разведениями (4,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида с 0,5 мл микробной взвеси) доводят до разведения  $10^{-7}$ .

В процессе разведения перенос взвеси в следующую пробирку производят новой стерильной пипеткой вместимостью 1 мл 2 класса точности по ГОСТ 29227-91.

#### 4.8.3. Посев и учет результатов.

По 1,0 мл микробной взвеси каждого тест-штамма *S. enteritidis* 11272 и *S. typhimurium* 79 и *E. coli* ATCC 25922 из разведения  $10^{-7}$  вносят соответственно в две пробирки с 9,0 мл среды. Одну пробирку оставляют незасеянной (контроль). Через  $(18\pm 2)$  ч инкубации при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  визуально определяют наличие роста по помутнению среды.

## 5. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

5.1. Питательную среду транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортировать при температуре от минус 18 до плюс  $40^\circ\text{C}$  не более 7 суток.

Име. № подл.	Подпись и дата	Взамен име. №	Име. № дубл.	Подпись и дата	ТУ 9385-237-78095326-2016				Лист
									8
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата					

5.2. Питательную среду хранят в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги при температуре от 2 до 30 °С.

## 6. УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

6.1. Питательную среду применяют в соответствии с инструкцией по применению.

## 7. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

7.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие качества «Питательной среды для неселективного накопления бактерий сухой (Забуференная пептонная вода)» требованиям настоящих технических условий при соблюдении потребителем условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими техническими условиями.

7.2. Срок годности – 2 года со дня изготовления.

Инв. № подл.	Подпись и дата				Лист				
	Инв. № дубл.								
	Взамен инв. №								
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата	ТУ 9385-237-78095326-2016				
						Подпись и дата			
						Инв. № дубл.			
					9				

**ПЕРЕЧЕНЬ**  
 нормативно-технических документов, на которые даны ссылки  
 в настоящих технических условиях

ТУ 9229-240-78095326-2016	Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК) сухой. Технические условия.
ГОСТ 4198-75	Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия.
ГОСТ 4233-77 ГОСТ Р 51574-2000	Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия. Соль поваренная пищевая. Технические условия.
ГОСТ 11773-76	Реактивы Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия.
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная. Технические условия.
ТУ 9398-020-78095326-2006 РУ № ФСР 2007/00001	Набор реагентов для бактериологических исследований «Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар)»
ТУ 9398-021-78095326-2006 РУ № ФСР 2007/00002	Набор реагентов для бактериологических исследований «Питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон)»
МУК 4.2.2316-08	Методы контроля бактериологических питательных сред
ГОСТ ISO 11133-1-2014	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.
СП 1.3.2322-08	Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней.
ГОСТ 25336-82	Посуда и оборудование лабораторные, стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.
ГОСТ 29227-91	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.
ТУ 64-2-19-79	Чашки с крышками (Петри) пластмассовые лабораторные однократного применения.
ГОСТ 14192-96	Маркировка грузов.
ГОСТ 7625-86	Бумага этикеточная. Технические условия.
ТУ 2297-213-78095326-2014	Банка с крышкой с контролем вскрытия полиэтиленовая для фасовки питательных сред. Технические условия.
ГОСТ Р 51760-2011	Тара потребительская полимерная. Технические условия.
СанПиН 2.1.7.2790-10	Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами.
ГОСТ 12.2.003-91	ССБТ. Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
ГОСТ 12.3.002-75	Система стандартов безопасности труда. Процессы производственные. Общие требования безопасности.
ГОСТ 12.3.002-2014	ССБТ. Процессы производственные. Общие требования безопасности.

Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата	Изм. № подл.	Взамен ивн. №	Ивн. № дубл.	Подпись и дата

ТУ 9385-237-78095326-2016

Лист  
10

**ПЕРЕЧЕНЬ**  
 оборудования и средств измерения, необходимых для контроля продукции

Наименование оборудования	Характеристика оборудования
рН метр	HANNA HI 8314 с адаптером, Германия
Весы аналитические электронные	PV 214 110 г/0,1 мг, США
Термостат	ТС-1/80 СПУ, Россия Диапазон измерений: 5-60 °С
Автоклав ВК-75	Рабочее давление пара в водопаровой и стерилизационной камерах не более 2,2 кг/см <sup>2</sup>
Сушильный шкаф	СМ 50/250-1000-ШС Минимальная стабилизируемая температура – 50 °С. Максимальная стабилизируемая температура – 250 °С. Точность поддержания температуры в контрольной точке в установленном режиме – ±5 °С. Неравномерность температуры по объему в установившемся тепловом режиме – не более 5 °С. Режим работы долговременный.
Холодильник бытовой	STINOL, Россия, общий объем 225 дм <sup>3</sup>
Бокс микробиологической безопасности	БМБ-II-«Ламинар-С»-1,5(221.150) (LAMSYSTEMS), класс II тип А2, Россия

Примечание – допускается применение оборудования другого типа, не уступающего по техническим характеристикам рекомендуемому оборудованию.

Име. № подл.	
Подпись и дата	
Взамен име. №	
Име. № дубл.	
Подпись и дата	

					ТУ 9385-237-78095326-2016	Лист
Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата		11

