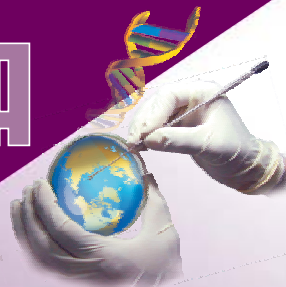


ДИАГНОСТИКА ЛИСТЕРИОЗА



*Полный спектр продукции HiMedia
для выделения, культивирования и
идентификации Listeria из
клинических образцов, сырья для
пищевой промышленности и
продуктов питания*



Listeria monocytogenes



Listeria ivanovii



Listeria seeligeri



Listeria innocua
Listeria grayi
Listeria welshimeri



HIMEDIA[®]
Для Драгоценной Жизни



Среды производства “HiMedia Laboratories Pvt. Ltd” для диагностики листериоза

Среды для обогащения:

Fraser Broth Base Основа бульона Фрейзера	M1327
Fraser Enrichment Broth Base Основа бульона для обогащения листерий	M1083R
Listeria Identification Broth Base (PALCAM) Основа бульона для идентификации листерий (PALCAM)	M1090
Listeria Enrichment Broth, Modified Бульон обогащения для листерий, модифицированный	M888
Listeria Selective Broth Base Основа селективного бульона для листерий	M889
Listeria Enrichment Broth (Twin Pack) Бульон обогащения для листерий (двухкомпонентная среда)	M569
Selective Agar Селективный агар для листерий	M567

Селективные и диагностические среды:

Listeria Identification Agar (PALCAM) Агар для идентификации листерий (PALCAM)	M1064
Listeria Oxford Medium Base Основа Оксфордской среды для листерий	M1145
LPM Agar Base Основа селективного агара LPM для листерий	M1228
McBride Listeria Agar Base Основа агара МакБрайда для листерий	M386
Modified McBride Listeria Agar Base/ Основа агара МакБрайда для листерий модифицированная	M891
Listeria Lecithinase Agar Base Основа лецитиназного агара для листерий	M1457
HiCrome Listeria Agar Base Хромогенный агар для листерий	M1417
L. mono Confirmatory Agar Base Основа диагностического агара для листерий	M1552
L. mono Differential Agar Base Основа дифференциального агара для листерий	M1540
Tryptone Soya Yeast Extract Agar Дрожжевой триптон-соевый агар	M1214

Carbohydrate Consumption Broth Бульон для дифференциации листерий	M1264
Columbia Blood Agar Base Основа колумбийского кровяного агара	M144
Purple Broth Base Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным для листерий	M284D
Listeria Motility Medium Среда для определения подвижности листерий	M1215
Columbia Blood Agar Base Основа колумбийского кровяного агара	M144

Наборы для выделения и идентификации листерий

Listeria Enrichment Kit Набор для первичного и вторичного обогащения листерий (бульон Фрейзера)	K026
Listeria Isolation Kit-I Набор для выделения листерий (Оксфордский агар)	K027
Listeria Isolation Kit-II Набор для выделения листерий (агар ПАЛКАМ)	K030
Listeria Identification Kit Набор для идентификации листерий (лецитиназный агар)	K028
Listeria EPI Kit Набор ОВИ на основе Оксфордского агара (обогащение, выделение, идентификация) для листерий	K029
Listeria EPI Kit Набор ОВИ на основе агара ПАЛКАМ (обогащение, выделение, идентификация) для листерий	K031

Транспортная система для сохранения листерий в клиническом материале:

HiCulture™ Listeria Isolation & Transport swabs Транспортная система для выделения листерий и сохранения в клиническом материале	MS1145
---	--------

Наборы для ускоренной биохимической идентификации и определения подвижности:

HiMotility™ Biochemical Kit for Listeria Species Набор HiMotility™ для биохимической идентификации листерий	KBM003
--	--------



НАБОРЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛИСТЕРИЙ

Компания HiMedia Laboratories Limited, специально для российских потребителей, на основе стандартов ISO 9001 и МУК 4.2.1122-02 разработала наборы питательных сред и добавок для обогащения, выделения и идентификации листерий при проведении санитарно-бактериологических исследований.

Наборы рассчитаны на проведение 50 анализов.

Код	Наименование набора	Состав набора
K026R	Listeria Enrichment Kit Набор для первичного и вторичного обогащения листерий (бульон Фрейзера)	M1327R 400 г (1 уп) Основа бульона Фрейзера модифицированного FD125R 12 флаконов Селективная добавка Фрейзера
K027R	Listeria Isolation Kit-I Набор для выделения листерий (Оксфордский агар)	M1145R 60 г (1 уп) Основа Оксфордской среды для листерий FD172R 2 флакона
K030R	Listeria Isolation Kit-II Набор для выделения листерий (агар ПАЛКАМ)	M1064R 69 г (1 уп) Агар для идентификации листерий (PALCAM) FD061R 2 флакона
K028R	Listeria Identification Kit Набор для идентификации листерий (лецитиназный агар)	M1457R - 54 г (1 уп) Основа лецитиназного агара для листерий FD045R 1 флакон FD065R - 1 флакон
K029R	Listeria EPI Kit Набор ОВИ на основе Оксфордского агара (обогащение, выделение, идентификация) для листерий	Обогащение. См. Набор для обогащения листерий код K026 Выделение. См. Набор для выделения листерий код K027 Идентификация. См. Набор для идентификации листерий код K028 Проведение CAMP-теста, бэта-гемолиз - M144
K031R	Listeria EPI Kit Набор ОВИ на основе агара ПАЛКАМ (обогащение, выделение, идентификация) для листерий	Обогащение. См. Набор для обогащения листерий код K026 Выделение. См. Набор для выделения листерий код K030 Идентификация. См. Набор для идентификации листерий код K028 Проведение CAMP-теста, бэта-гемолиз - M144
	M1552 L. mono Confirmatory Agar Base Основа диагностического агара для листерий FD212 L. mono Selective Supplement I Селективная добавка для листерий I FD213 L. mono Selective Supplement II Селективная добавка для листерий	Набор для приготовления 1 литра среды (На 50 чашки Петри). Среду с добавками рекомендуют для селективного и дифференциального выделения <i>Listeria monocytogenes</i> из клинического материала и пищевых продуктов.
	FD227 L. mono Enrichment Supplement Обогащительная добавка для листерий	Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35-37°C

Срок годности: Сухие питательные среды 5 лет (хранить при температуре не выше 30°C).
Добавки к питательным средам 2 года (хранить при температуре 2-8°C).
Наборов -2 года (хранить при температуре 2-8°C).
Набор для биохимической идентификации листерий -1 год (хранить при температуре 2-8°C).

FDA ПРОТОКОЛ

МАТЕРИАЛ



ОБОГАЩЕНИЕ

Buffered Listeria Enrichment Broth Base M1578

Основа забуференного бульона для обогащения листерий

1. Инкубация без селективных добавок при 30°C в течение 4 часов.



2. Внести селективную добавку для листерий (Listeria Selective Supplement II – FD063I) и инкубировать при 30°C в течение 44 часов.



ВЫДЕЛЕНИЕ



Listeria Oxford Medium Base M1145

Основа Оксфордской среды для листерий

Oxford Listeria Supplement (FD071)

Оксфордская добавка для листерий
(культивирование при 35°C 24-48 часов)

Listeria Identification Agar Base
(PALCAM) M1064

Агар для идентификации листерий
(PALCAM)

Listeria Selective Supplement (FD061)

Селективная добавка для листерий
(культивирование при 35°C 24-48 часов)

LPM Agar Base M1228

Основа селективного агара LPM для листерий

Moxalactam Supplement (FD151)

Добавка с моксилактамом
(культивирование при 30°C 24-48 часов)
На этой среде можно исследовать выросшие колонии по методу Генри.

РЕЗУЛЬТАТ

Отмечают мелкие, серовато-зеленые или оливково-зеленые колонии с черным ореолом, диаметром 0,5-1,0 мм, иногда с черным центром.



ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

Отбирают не менее 5 типичных колоний и пересевают на

Tryptone Soya Yeast Extract Agar M1214

Дрожжевой триптон-соевый агар

Культивируют при 30°C в течение 24-48 часов.

Проводят тестирование выросших культур:

1. Окраска по Граму - Gram Stain Kit K001

Набор для окрашивания по Граму

2. Подвижность культуры - Listeria Motility Medium M1215

Среда для определения подвижности листерий

3. Ферментация углеводов - Carbohydrate Consumption Broth M1264

Бульон для дифференциации листерий

USDA ПРОТОКОЛ

МАТЕРИАЛ

ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Listeria Enrichment Medium Base, UVM, M890A
Основа бульона для обогащения листерий, UVM
Listeria UVM Supplement I, FD136
Добавка для листерий, UVM
Инкубировать при 30°C±2 в течение 22± 2 часов

Высев штрихом на среду:
Listeria Oxford Medium Base M1145
Основа Оксфордской среды для листерий
Oxford Listeria Supplement, FD071
Оксфордская добавка для листерий
Инкубировать при 35°C 24-48 часов

Отмечают мелкие, серовато-зеленые или оливково-зеленые колонии с черным ореолом, диаметром 0,5-1,0 мм, иногда с черным центром.

ВТОРИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Fraser Secondary Enrichment Broth Base M1083R
Основа бульона Фрейзера для вторичного обогащения листерий
Fraser Selective Supplement FD125
Селективная добавка Фрейзера
Инкубировать при 30°C±2 22±2 часа

ВЫДЕЛЕНИЕ

Высев штрихом на среду:
Listeria Oxford Medium Base M1145
Основа Оксфордской среды для листерий
Oxford Listeria Supplement, FD071
Оксфордская добавка для листерий
Инкубировать при 35°C 24-48 часов

РЕЗУЛЬТАТ

Отмечают типичные колонии диаметром 0,5-1,0 мм, окруженные черной зоной.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ

Для того, чтобы получить чистую культуру, не менее 20 колоний посеять штрихом на Columbia Blood Agar Base M144 (Основа колумбийского кровяного агара) с 4% лошадиной крови для выявления в-гемолитической реакции.

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

Проводят тестирование выросших культур:

- | | |
|----------------------------|--|
| 1. Окраска по Граму - | Gram Stain Kit K001 |
| | Набор для окрашивания по Граму |
| 2. Подвижность культуры - | Listeria Motility Medium M1215 |
| | Среда для определения подвижности листерий |
| 3. Ферментация углеводов - | Carbohydrate Consumption Broth M1264 |
| | Бульон для дифференциации листерий |

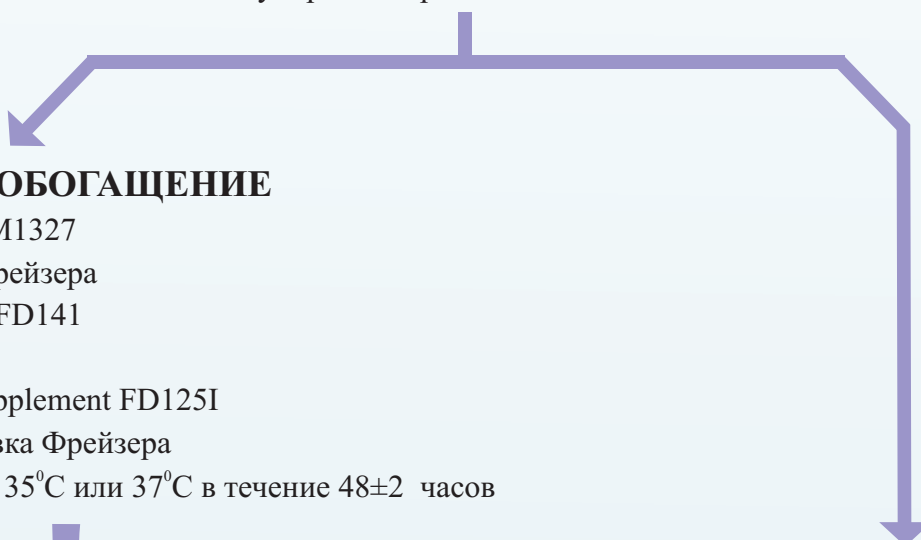
ISO ПРОТОКОЛ

МАТЕРИАЛ



ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Fraser Broth Base M1327
Основа бульона Фрейзера
Fraser Supplement FD141
Добавка Фрейзера
Fraser Selective Supplement FD125I
Селективная добавка Фрейзера
Инкубировать при 30°C в течение 24±2 часов



ВТОРИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Fraser Broth Base M1327
Основа бульона Фрейзера
Fraser Supplement FD141
Добавка Фрейзера
Fraser Selective Supplement FD125I
Селективная добавка Фрейзера
Инкубировать при 35°C или 37°C в течение 48±2 часов

ВЫДЕЛЕНИЕ

Высев штрихом после первичного и вторичного обогачения на среду:

Listeria Oxford Medium Base M1145
Основа Оксфордской среды для листерий
Oxford Listeria Supplement FD071
Оксфордская добавка для листерий
Инкубировать при 35°C в течение 24 часов.



Колонии черного цвета, выросшие через 24 и 48 часов, пересевают штрихом на

Listeria Identification Agar (PALCAM) M1064
Агар для идентификации листерий (PALCAM)
Listeria Selective Supplement FD061
Селективная добавка для листерий

Инкубировать при 30°C, 35°C или 37°C в течение 24-48 часов.



Отмечают колонии зеленого цвета с черным ореолом, выросшие через 24 и 48 часов.

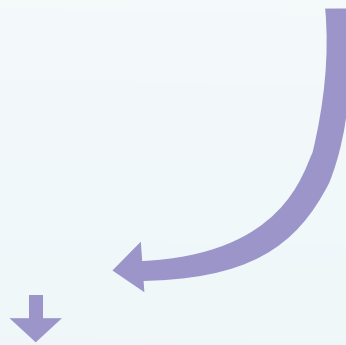


ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ

Отбирают 5 типичных колоний. Если хорошее выделение не доступно, то засевают штрихом одну колонию на среду:

Tryptone Soya Yeast Extract Agar M1214

Дрожжевой триптон-соевый агар



ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

Проводят тестирование выросших культур:

1. Окраска по Граму - Gram Stain Kit K001
Набор для окрашивания по Граму
2. Подвижность культуры - Listeria Motility Medium M1215
Среда для определения подвижности листерий
3. Ферментация углеводов - Carbohydrate Consumption Broth M1264
Бульон для дифференциации листерий
4. Для проведения КАМП – теста и обнаружения β -гемолитической активности используют среду:
Blood Agar Base No.2 M834 supplemented with defibrinated sheep blood
Основа кровяного агара № 2 с бараньей кровью

Применение питательных сред “HiMedia Laboratories Pvt. Ltd” в соответствии с ГОСТ Р 51921 2002 и МУК 4.2.1122-02

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают основные принципы организации контроля и методику проведения лабораторных исследований пищевых продуктов по выявлению в них бактерий *Listeria monocytogenes*.

При контроле пищевых продуктов на загрязненность патогенными микроорганизмами в СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» предусматривается новый микробиологический показатель «*Listeria monocytogenes* не допускаются» в 25 г продуктов массового назначения и в 50–100 г для продуктов детского и специального питания.

Проведение контроля на *Listeria monocytogenes* позволит получить реальную картину ситуации в Российской Федерации, оценить степень загрязненности пищевой продукции и дать оценку эффективности принимаемых мер в целях обеспечения ее безопасности в плане новых и вновь возникающих возбудителей инфекций с пищевым путем передачи для здоровья и жизни человека.

1.2. Методические указания предназначены для применения в лабораториях учреждений государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации, осуществляющих контроль за качеством продовольственного сырья и пищевых продуктов, в т.ч. импортируемых в Российскую Федерацию, гигиеническую оценку и выдачу санитарно-эпидемиологических заключений, а также бактериологическую диагностику заболеваний с пищевым путем передачи; в лабораториях других организаций, аккредитованных в установленном порядке на право проведения контроля безопасности пищевой продукции и продовольственного сырья; в организациях, независимо от форм собственности, осуществляющих производственный контроль продовольственного сырья и пищевых продуктов в процессе промышленного производства и выпуска продукции.

1.3. Методические указания являются обязательными при контроле пищевых продуктов в ходе проведения противоэпидемических мероприятий при возникновении вспышек, а также в порядке осуществления санитарно-эпидемиологического надзора.

1.4. Организация проведения контроля пищевых продуктов на *Listeria monocytogenes*.

Лабораторный контроль за отсутствием *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах, где нормируется этот показатель, проводится:

- в порядке надзора за соблюдением установленных требований в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов в ходе проверок изготовления и оборота пищевой продукции,

оказания услуг в сфере торговли общественного питания;

- при экспертизе продукции и подтверждении соответствия требованиям нормативных документов для целей гигиенической оценки и выдачи санитарно-эпидемиологических заключений;

- при контроле за безопасностью продукции изготовителем (производственный контроль);

- В ходе проведения противоэпидемических мероприятий и при эпидрасследовании заболеваний.

1.5. При проведении контроля безопасности по показателю *Listeria monocytogenes* согласно Положению о государственной санитарно-эпидемиологической службе, утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24 июля 2000 г. №554, должен осуществляться периодический отбор образцов пищевой продукции.

1.5.1. Порядок контроля и кратность исследований должны устанавливаться в соответствии с методическими и инструктивными документами, утвержденными или согласованными в установленном порядке органами государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации, при этом необходимо учитывать специфику производства, степень его эпидзначимости, материально-техническое оснащение и т.п.

Особого внимания должны заслуживать предприятия, вырабатывающие продукты детского питания, детские молочные кухни, пищеблоки детских лечебно-профилактических учреждений, стационаров для онкологических, гематологических больных, домов ребенка, родильных домов, домов престарелых и инвалидов и т.п.

При проведении текущего надзора рекомендуется минимальная периодичность выборочного лабораторного контроля пищевой продукции массового потребления 1 раз в квартал; для детского и диетического питания 2 раза.

1.5.2. При производственном контроле организация и периодичность лабораторных исследований продукции по показателю *Listeria monocytogenes* должна устанавливаться изготовителем продукции в соответствии с действующими санитарными правилами и согласовываться с учреждениями государственной санитарно-эпидемиологической службы по месту расположения предприятия-изготовителя.

1.5.3. Контроль пищевых продуктов по показателю *Listeria monocytogenes* с целью гигиенической оценки для выдачи санитарно-эпидемиологических заключений и подтверждения соответствия установленным требованиям при проведении экспертизы осуществляется в уполномоченных лабораториях центров госсанэпиднадзора или других организаций,

аккредитованных в установленном порядке.

1.6. В пищевых продуктах, предназначенных для непосредственного употребления в пищу, в отношении которых отсутствуют микробиологические нормативы или данные о возможности выделения *Listeria monocytogenes*, контроль *Listeria monocytogenes* не проводится, однако в случае заболеваний людей и/или нарушений в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов образцы таких продуктов должны быть направлены на лабораторное исследование.

1.7. Организация лабораторных исследований на *Listeria monocytogenes*.

Допускается организация лабораторных исследований путем их поэтапного выполнения в лабораториях учреждений госсанэпидслужбы различных уровней. При отсутствии возможности идентификации выделенных культур последние могут быть переданы в лаборатории, располагающие соответствующей материально-технической базой и квалифицированным персоналом, для выдачи окончательного результата.

2. Сущность метода

Методические указания содержат описание метода выявления бактерий *Listeria monocytogenes*, основанного на высеве определенного количества продукции в жидкие селективные среды, инкубировании посевов, выявлении в этих посевах бактерий, способных расти и образовывать типичные колонии на агаризованных дифференциально-диагностических средах. Принадлежность выделенных культур к *Listeria monocytogenes* определяется по биохимическим, морфологическим и другим свойствам.

Метод выявления *L. monocytogenes* в пищевых продуктах основан на применении специальных селективных и дифференциально-диагностических сред. Селективность сред по отношению к сопутствующей микрофлоре обеспечивается включением в их состав хлорида лития, акрифлавина, циклогексимида, налидиксовой кислоты, полимиксина или других антибиотиков. Внесение эскулина и цитрата аммония железа позволяет подтверждать наличие листерий по почернению среды за счет гидролиза эскулина в присутствии ионов Fe⁺. Подтверждающие тесты родовой и видовой идентификации включают окраску по Граму, определение подвижности на агаризованных средах типичных по физиологическим и морфологическим признакам культур, их способности восстанавливать нитраты до нитритов, сбраживать рамнозу, ксилозу и маннит, способности к гидролизу лецитина, а также определение наличия β-гемолиза на кровяном агаре и дифференциацию *L. monocytogenes* от других гемолизирующих листерий в CAMP-тесте с контрольными штаммами *Staphylococcus aureus* и *Rhodococcus equi*.

При необходимости для выявления *L. Monocytogenes* в пищевых продуктах проводится постановка реакции нарастания

титра фага (РНФ).

Предлагаемый метод обнаружения *L. monocytogenes*, гармонизированный с Международным стандартом ISO 11290-1:1996, предусматривает определение наличия или отсутствия *L. monocytogenes* в нормируемой массе продукта в соответствии с нормативами СанПиН 2.3.2.1078-01 “Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов”, выраженными в альтернативной форме и основанными на существующей системе отбора образцов и оценки результатов анализа по двухклассовой системе.

5. Отбор и подготовка проб пищевых продуктов для анализа

5.1. Общие положения по отбору и подготовке проб

Отбор и подготовку проб продукции производят в соответствии с ГОСТ 26669-85 “Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов”, МУК 4.2.577-96 “Методы микробиологического контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов” ГОСТ Р 51446 (ИСО 7218-96), а также в соответствии с действующими ГОСТ и НД на конкретные виды продуктов.

Масса или объем отбираемых проб должны быть достаточными для проведения исследования и минимально вдвое превышать аналитический образец. Из точечных проб составляют навеску массой $25 \pm 0,1$ г (50-100 г для продуктов детского, лечебного и специализированного питания).

От продукции в потребительской таре в мелкой фасовке пробы отбирают в количестве одной или нескольких единиц в зависимости от массы или объема потребительской тары, с тем, чтобы количество было достаточным для проведения анализа.

От продукции в транспортной или потребительской таре больших размеров или неупакованной пробы отбирают из разных мест с различной глубиной, включая поверхность.

Для микробиологических анализов пробы отбирают до взятия проб на физико-химические и органолептические анализы стерильным инструментом в стерильную посуду. При этом от образца отбирают несколько точечных проб из разных мест, которые измельчают и перемешивают, из них составляют навеску 25 г.

Замороженные продукты предварительно размораживают до температуры внутри продукта 0(-1) С; продукты, содержащие жиры (сливочное масло, мороженое) нагревают до температуры 40-45 С и перемешивают.

Отобранные образцы перемешивают и измельчают или доводят до однородной консистенции по ГОСТ 26669, из измельченной суспензии составляют навеску необходимой массы.

При посевах высококислотных или щелочных (с pH 6,0 < или >7,5) жидких и твердых продуктов для предотвращения снижения pH питательных сред на 0,5 и более, pH продукта перед посевом доводят до (7,00,2) по ГОСТ Р 50480.

5.2. Отбор и подготовка проб молока, молочных продуктов, сыров, мороженого

Отбор и подготовку проб продуктов проводят согласно ГОСТ 3622-68 «Молоко и молочные продукты. Отбор и подготовка их к испытанию» и 9225-84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа».

Кисломолочные продукты, сыр, творог, творожные изделия и пастообразные продукты тщательно измельчают с помощью гомогенизаторов перистальтического типа или ножевых и подвергают нейтрализации, масло сливочное и мороженое растапливают до сметанообразной консистенции.

5.3. Отбор и подготовка проб мяса, мясных полуфабрикатов, мяса птицы и птицепродуктов, колбасных изделий и других мясопродуктов.

Отбор и подготовка проб мяса, субпродуктов, мясных полуфабрикатов, колбасных изделий и других мясных продуктов проводят по ГОСТ 21237 «Мясо. Методы бактериологического анализа», ГОСТ 4288 «Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса», ГОСТ 9958, ГОСТ 9792 «Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц».

Массу навески отбирают в соответствии с п. 6.1.

Отбор и подготовку проб мяса птицы, субпродуктов и птичьих полуфабрикатов проводят по ГОСТ Р 50396.0 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям».

5.4. Отбор и подготовка проб плодоовощной продукции

Отбор и подготовку к анализу проб плодоовощной продукции проводят согласно ГОСТ 26668, ГОСТ 26669, ГОСТ 26373 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб», кроме подготовки к анализу проб поверхностно загрязненных и пореобразных продуктов. Для поверхностно загрязненной и быстрозамороженной

плодоовощной продукции подготовку проводят согласно «Инструкции по микробиологическому контролю быстрозамороженной плодоовощной продукции» (МЗ СССР 29.09.89, прил. 1, п. 1.3). Для анализа поверхностно загрязненной продукции готовят суспензию добавлением к навеске массой (100 ±30) г, отобранной из трех единиц тары или фасовки, 0,1%-ного пептонно-солевого раствора в количестве, равном массе навески. При этом 1 см³ полученной суспензии оценивают как 1 г из трех единиц тары или фасовки и готовят объединенную пробу массой в соответствии с п. 6.1.

5.5. Отбор и подготовка проб рыбы, нерыбных объектов промысла и продуктов, вырабатываемых из них

Отбор и подготовку проб проводят согласно «Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных» № 5319-91 от 22.02.91 и ГОСТ 7631-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний».

Отбор проб свежей, охлажденной и мороженой рыбы проводят от 2 точечных образцов, мышечная ткань в которых составляет не менее 25 г по ГОСТ 7631-85. Из каждой точечной пробы стерильным инструментом вырезают спинные мышцы с кожей, перемешивают и отвешивают 25 г, затем измельчают с помощью гомогенизаторов перистальтического типа или ножевых и гомогенизируют в 225 см³ среды накопления.

5.6. Продукты детского, лечебного питания и их компоненты

Отбор и подготовку проб продуктов детского, лечебного питания и их компонентов проводят согласно МУК 4.2.577-96 «Методы микробиологического контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов».

Отобранные пробы продуктов перед исследованием тщательно перемешивают, кисломолочные продукты нейтрализуют (на 10 см³/г исследуемого продукта или его первого разведения для сухих кисломолочных продуктов, напитка или закваски добавляют 1,0 см³ стерильного раствора двууглекислого натрия с массовой концентрацией 100 г/см³. Сыр, творог, творожные изделия и пастообразные продукты тщательно измельчают и нейтрализуют. Топленое масло и молочный жир растапливают при температуре 40-45°C и перемешивают до получения однородной эмульсии.

6. Проведение анализа

6.1. Подготовленную в соответствии с п. 5. навеску исследуемого продукта (гомогената, смыва с поверхности) в количестве 25 г (см³) вносят в одну из сред для первичного обогащения (**M1083R Основа бульона Фрейзера с добавкой: Селективная добавка Фрейзера FD125I**) в количестве 225 см³ (по п.п. 3.3.2.2., 4.2.3.1.). При необходимости анализа других масс продукта их посев проводят в среду также в соотношении 1:9 по объему.

Посевы термостатируют при 37°C в течение (24±2) ч. При росте листерий на средах предобогащения, содержащих эскулин и цитрат железа аммонийного, наблюдается почернение среды за счет гидролиза гликозида эскулина до глюкозы и эскулетина. Эскулетин реагирует с ионами железа, образуя комплекс черного или оливкового цвета. На других средах почернения не отмечается.

6.2. После термостатирования продукта в среде для первичного обогащения (**M1083R – Основа бульона Фрейзера с добавкой: Селективная добавка Фрейзера FD125I**) 0,1 см³ суспензии пересевают в 10 см³ одной из жидких сред для вторичного обогащения (**M1083R – Основа бульона Фрейзера с добавкой: Селективная добавка Фрейзера FD125I**) по п.п. 3.3.2.2., 4.2.3.2. Посевы термостатируют при температуре (37±1)°C в течение 48 ч. В средах с эскулином отмечают почернение как признак возможного присутствия бактерий рода *Listeria*.

Для выделения и идентификации *Listeria monocytogenes* (без проведения указанных ниже исследований) можно использовать хромогенные среды:

1. ***L. mono Differential Agar Base (Основа дифференциального агара для листерий M1540);***
2. ***L. mono Confirmatory Agar Base M1552 (Основа диагностического агара для листерий).***

6.3. Из пробирок после термостатирования, независимо от наличия или отсутствия признаков роста, и в т.ч. почернения, делают пересев по 0,1 см³ на поверхность двух чашек Петри с одной из агаризованных дифференциально-диагностических сред (**M1145 Основа Оксфордской среды для листерий с добавкой: Оксфордская добавка для листерий FD071 или M1064 Агар для идентификации листерий с добавкой: Селективная добавка для листерий FD061**) по п.п. 3.3.2.3., 4.2.4., 4.2.5. Посевной материал растирают стерильным шпателем. Допускается проводить пересев петлей штрихом. Чашки со средами предварительно подсушивают.

Посевы термостатируют при температуре (37 ± 1)°C в течение 24-48 ч.

6.4. Проведение анализа без этапа вторичного обогащения. При посеве продуктов с низким исходным уровнем микробной контаминации и при отсутствии признаков роста в жидкой среде (помутнение, почернение и др.) допускается проводить пересев на чашки с агаризованными дифференциально-диагностическими

средами (**M1145 Основа Оксфордской среды для листерий с добавкой: Оксфордская добавка для листерий FD071 или M1064 Агар для идентификации листерий с добавкой: Селективная добавка для листерий FD061**) сразу после этапа первичного обогащения по п. 6.2.

6.5. При отсутствии роста на чашках с дифференциально-диагностическими средами типа **Оксфордского агара** и **PALCAM-агара** анализ прекращают и дают заключение об отсутствии *L. monocytogenes* в исследованной пробе продукта.

6.6. При обнаружении характерного роста на чашках отбирают 3-5 колоний для их дальнейшего изучения.

На средах типа **PALCAM-агара** через 24 ч инкубирования листерии формируют мелкие, серовато-зеленые или оливково-зеленые колонии с черным ореолом, диаметром 0,5-1,0 мм, иногда с черным центром. Через 48 ч колонии диаметром 1,0-2,0 мм приобретают зеленую окраску с углубленными центрами, окруженными черным ореолом. Кокковая микрофлора (бактерии родов *Staphylococcus*, *Enterococcus*) образуют желтые колонии за счет ферментации маннита.

При появлении сплошного роста листерий производят пересев бактериологической петлей из зон наибольшего почернения среды штрихами на 2-3 чашки Петри с селективной дифференциально-диагностической питательной средой (**Оксфордский или PALCAM-агар**) для получения изолированных колоний. Посевы термостатируют аналогично п. 6.3.

6.7. Отобранные характерные колонии, подозрительные на принадлежность к *Listeria monocytogenes*, пересевают на среду **TSYEA (M1214 Дрожжевой триптон-соевый агар)** по п. 3.3.2.1. или 4.2.2. для получения изолированных колоний, которые подвергают дальнейшему изучению. Посевы термостатируют при температуре 30°C в течение 24 ч.

6.8. Идентификация выделенных культур.

Для определения принадлежности выделенных микроорганизмов к роду *Listeria* полученные на средах культивирования чистые культуры микроскопируют по Граму, определяют наличие у них каталазы, подвижность (**M1215 Среда для определения подвижности листерий**) при двух температурах инкубирования (22°C и 37°C), способность к ферментации маннита (**M1264 Бульон для дифференциации листерий или M284D Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным для листерий**) и ставят реакцию нитрат-редукции (**M439 Нитратный бульон**).



6.8.1. Окраска по Граму. Бактерии рода *Listeria* являются грам-положительными тонкими короткими палочками, спор не образуют.

6.8.2. Каталазную активность культур определяют в соответствии с ГОСТ 30425 по способности каталазы разлагать перекись водорода с выделением пузырьков газа. Реакцию ставят с охлажденной до комнатной температуры суточной культурой на стерильном предметном стекле. Изолированную колонию, взятую с поверхности питательной среды, растирают на стекле и пипеткой наносят каплю 3%-ного раствора перекиси водорода. Если через 30-60 с на стекле появляются пузырьки газа, то считают результаты реакции положительными. Параллельно ставят контрольную пробу.

Бактерии рода *Listeria* являются каталазоположительными.

6.8.3. Подвижность культур определяют посевом уколом в среды (M1215 Среда для определения подвижности листерий) по п. 3.3.2.3. и 4.2.8. и инкубированием при двух температурах (25°C и 37°C) в течение 48-72 ч.

Бактерии рода *Listeria* подвижны при 20-25°C (образуют характерный рост вокруг линии укола, похожий на зонтик) и

неподвижны (или слабоподвижны) при 35-37°C.

6.8.4. Для определения способности сбраживать углеводы культуры пересевают на пестрый ряд в среды Гисса по п.п. 3.3.2.3 (M1264 Бульон для дифференциации листерий или M284D Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным для листерий) или 4.2.9. Посевы термостатируют до 7 дней при 37°C, наличие ферментативной активности в отношении углеводов определяют по изменению окраски сред за счет образования кислоты.

Большинство бактерий рода *Listeria* не утилизируют маннит (за исключением *L.grayi* и *L.grayi subsp. murrayi*).

6.8.5. Постановку реакции нитрат-редукции проводят по ГОСТ 10444.8-88. Бактерии рода *Listeria* не восстанавливают нитраты до нитритов (за исключением *L.grayi* и *L.grayi subsp. murrayi*).

Обнаружение в посевах грамположительных коротких тонких палочек, каталазоположительных, не восстанавливающих нитраты до нитритов, не утилизирующих маннит, подвижных при 25°C и неподвижных при 37°C, указывает на принадлежность выделенных на дифференциально-диагностических средах культур с характерной морфологией к роду *Listeria*.

Для подтверждения принадлежности выделенных листерий к виду *L.monocytogenes* определяют способность к ферментации рамнозы и ксилозы (M1264 Бульон для дифференциации листерий или M284D Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным для листерий), наличие лецитиназной (M1457 Основа лецитиназного агара для листерий) и бета-гемолитической (M144 Основа колумбийского кровяного агара) активности и проводят постановку КАМП-теста (CAMP-test). Дифференцирующие признаки видов рода *Listeria* указаны в табл. 1.

Для видовой дифференциации выделенных культур листерий допускается использовать биохимические тест-системы (HiListeria Identification Kit KB012 и HiMotility Biochemical Kit for Listeria KBM003). При их применении следует руководствоваться рекомендациями изготовителя.

Таблица 1

Признак	<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.ivanovii</i>	<i>L.seeligeri</i>	<i>L.innocua</i>	<i>L.grayi</i>	<i>L.welshimeri</i>
Ферментация:						
Маннита	-	-	-	-	+	--
ксилозы	-	+	+	-	-	+
рамнозы	+	-	-	+/--	+/--	+/--
Бета-гемолиз	+	+	+	-	-	--
КАМП-тест						
Усиление гемолита около штриха:						
<i>Rhodococcus equi</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	+	-	-	-
Лецитиназная активность:	+	+	-	-	-	-

6.8.6. Наличие способности ферментировать рамнозу и ксилозу определяют аналогично п. 6.8.4. Бактерии *L. monocytogenes* утилизируют рамнозу с образованием кислоты и не утилизируют ксилозу.

6.8.7. Бета-гемолитическую активность исследуемых культур определяют по образованию зон просветления за счет растворения эритроцитов вокруг колоний при посеве на поверхность кровяного агара, приготовленного с добавлением стерильной дефибринированной крови барана или кролика. Посевы на кровяном агаре (п.п. 3.3.2.3, 4.2.6) термостатируют при 37°C в течение 24 ч.

Listeria monocytogenes обладают β-гемолитической активностью (образуют узкие четкие зоны просветления вокруг колоний).

6.8.8. Постановку КАМП-теста проводят для дифференциации *L. monocytogenes* от других видов листерий, обладающих гемолитической активностью.

Для проведения теста 2-3-суточные культуры гемолитических штаммов *Staphylococcus aureus* и *Rhodococcus equi* засевают на кровяной агар (М144 Основа колумбийского кровяного агара) с эритроцитами барана двумя параллельными штрихами на расстоянии 5,0-5,5 см, как показано на рис. 1

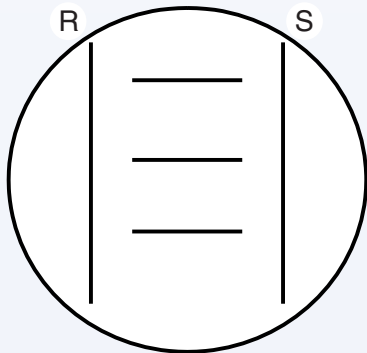


Рис. 1.

S посев *Staphylococcus aureus*; R посев *Rhodococcus equi*.

Между вертикальными штрихами *St. aureus* и *Rh. equi* засевают параллельными штрихами исследуемые культуры листерий на расстоянии друг от друга не менее 1 см и от вертикальных штрихов 0,5 см. В качестве контрольных используют тест-штаммы *L. monocytogenes* и *L. ivanovii*. Инкубацию проводят 24 ч при 37°C. Отмечают форму и размеры зон гемолиза около вертикальных штрихов роста стафилококка и родококка.

Listeria monocytogenes дает расширение зоны гемолиза около штриха *St. aureus* (положительный КАМП-тест) и имеет отсутствие изменений зоны гемолиза рядом со штрихом *Rh. equi* (отрицательный КАМП-тест).

6.8.9. Для определения лецитиназной активности применяют среду М1457 Основа лецитиназного агара для листерий.

6.9. Учет результатов.

Результат оценивают по каждой исследованной пробе отдельно. В образце продукта констатируют присутствие *Listeria monocytogenes*, если при посеве на селективные среды выделены короткие не спорообразующие грамположительные палочки каталазоположительные, подвижные при 25°C и неподвижные при 37°C,

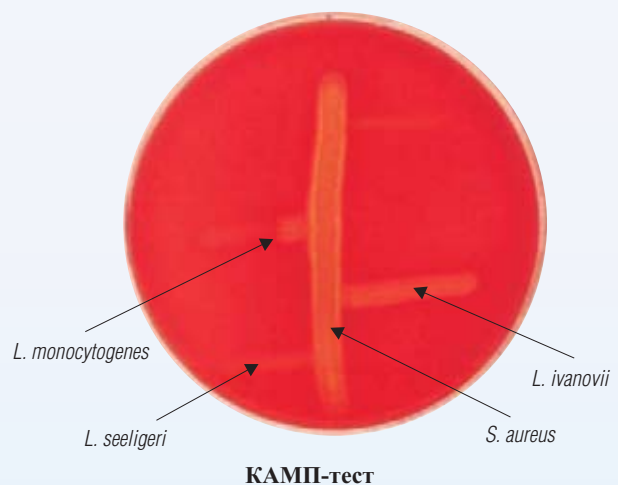
утилизирующие эскулин, сбрасывающие с образованием кислоты рамнозу и не сбрасывающие маннит и ксилозу, не восстанавливающие нитраты до нитритов, обладающие бетагемолитической активностью, дающие положительную реакцию в КАМП-тесте со *Staphylococcus aureus* и отрицательную с *Rhodococcus equi*, проявляющие лецитиназную активность.

Результаты выявления *Listeria monocytogenes* в определенной навеске продукта записывают:

«*Listeria monocytogenes* обнаружены в 25 г (см³) (в 50-100 г для продуктов детского, лечебного и специализированного питания) продукта»

«*Listeria monocytogenes* не обнаружены в 25 г (см³) (в 50-100 г для продуктов детского, лечебного и специального питания) продукта»

Результат оценивают по каждой пробе отдельно.



HiCulture™ Listeria Isolation and Transport Swabs Транспортная система для выделения листерий

MS1145

Рекомендуется для транспортировки, выделения и предварительной идентификации листерий.

Транспортная система для выделения листерий представляет собой пластиковую пробирку со средой для листерий. Среда содержит необходимые питательные вещества для выживания и селективные компоненты для листерий (1). Листерии гидролизуют эскулин до эскулетина и глюкозы. Эскулетин вступает в реакцию с ионами железа, что приводит к почернению среды.

Листерии могут сохраняться в этой среде не менее 48 часов.

Литература:

1. Curtis G.D.W. et al, 1989, Letters in Applied Microbiology., 8:95.

Условия и сроки хранения:

Хранить при температуре ниже +25°C. Срок годности 1 год с даты изготовления.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
3. *Listeria ivanovii* (ATCC 19119)



Fraser Broth Base Основа бульона Фрейзера

M1327

Этот бульон рекомендуется комитетом ISO для первичного и вторичного обогащения, выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах и кормах для животных.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон	5,00
Ферментативный гидролизат казеина	5,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Мясной экстракт	5,00
Натрия хлорид	20,00
Натрия гидрофосфат (x 2 H ₂ O)	12,00
Калия дигидрофосфат	1,35
Эскулин	1,00
Лития хлорид	3,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам

Приготовление:

Размешать 54,92 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть (при необходимости) для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) 15 минут. Остудить до 45-50°C и асептически добавить: для получения 1000 мл среды первичного обогащения - растворенное содержимое 1 флакончика с селективной добавкой Фрейзера (FD125I) и 2 флакончиков с добавкой Фрейзера (FD141); для получения 500 мл среды вторичного обогащения - по одному флакончику каждой добавки. Тщательно перемешать и разлить в стерильную посуду.

Примечание: Хлорид лития ядовит. Избегать контакта и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно обильно промыть ее водой

Принцип и оценка результата:

Данная среда готовится по прописи Fraser и Sperber (1) с небольшой модификацией. Она рекомендована международным комитетом (ISO) для первичного и вторичного обогащения, выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах и кормах для животных (2). Различия состоят лишь в используемых добавках. Пептон, гидролизат казеина, мясной и дрожжевой экстракты используются в качестве источника углерода, азота, витаминов и минеральных веществ, хлорид лития подавляет рост энтерококков. Налидиксовая кислота акрифлавин повышают селективность среды, подавляя рост грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Листерии гидролизуют эскулин до глюкозы и эскулетина, который, реагируя с цитратом аммонийного железа, образует комплексное соединение, окрашивающее среду в темно-коричневый или черный цвет.

Пробы засевают в среду первичного обогащения 25 граммов исследуемого материала в 225 мл среды (с содержимым 1 флакончика добавки FD125I и 2 флакончиков добавки FD141 на 1000 мл среды) и инкубируют 24 ч при 30°C. Затем 0,1 мл культуральной жидкости переносят в среду вторичного обогащения (с содержимым 1 флакончика добавки FD125I и 1 флакончика добавки FD141 на 500 мл среды) и инкубируют 48 ч при 35-37°C. После обогащения культуры высевают на оксфордский агар и/или среду PALCAM для выделения и подсчета листерий.

Контроль качества:

Внешний вид порошка: Гомогенный сыпучий желтый порошок.

Цвет и прозрачность

готовой среды

: Готовая среда имеет желтую окраску, прозрачна. После внесения добавок раствор дает флюоресценцию и может содержать легкий преципитат.

Кислотность среды

: При 25°C водный раствор (5,49% вес/об) имеет pH 7,2 ± 0,2.

Культуральные

свойства

: Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35°C.

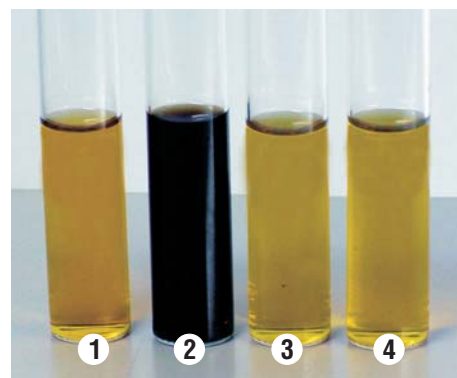
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гидролиз эскулина*
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Хороший или обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19111)	Хороший или обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Хороший или обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19117)	Хороший или обильный	+
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Подавляется	-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	-

Литература:

- Fraser J.A. and Sperber W.H., 1988, Food Protect., 51(10):762.
- International Organisation for Standardization (ISO), 1996, ISO/DIS 11290-1.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C



- Control
- Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
- E. coli* (ATCC 25922)
- E. faecalis* (ATCC 29212)

Fraser Enrichment Broth Base Основа бульона для обогащения листерий

M1083R

Эту среду со специальной добавкой рекомендуют для выделения, культивирования и обогащения *Listeria monocytogenes* из пищевых продуктов и объектов внешней среды.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Протеозопептон	5,00
Гидролизат казеина	5,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Мясной экстракт	5,00
Натрия хлорид	20,00
Лития хлорид	3,00
Натрия гидрофосфат	12,00
Калия дигидрофосфат	1,35
Эскулин	1,00
Железа аммонийного цитрат	0,50

Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 57,85 г порошка в 990 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 45-50°C и асептично добавить растворенное в воде содержимое 1 флакончика с добавкой Фрейзера (FD125I) для первичного обогащения или двух флакончиков с добавкой Фрейзера (FD125I) для вторичного обогащения. Тщательно перемешать и разлить в соответствующую посуду. **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ:** хлорид лития ядовит. Избегать прикосновения и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно смыть большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Эта среда является модификацией бульона, предложенного американскими специалистами (USDA-FSIS). Она базируется на прописи Fraser и Sperber (1) и хорошо зарекомендовала себя при выявлении листерий в пищевых продуктах и пробах из объектов внешней среды (2). Протеозопептон, гидролизат казеина, дрожжевой и мясной экстракты являются источником необходимых питательных веществ для роста листерий. Хлорид лития подавляет рост энтерококков. Все листерии гидролизуют эскулин до эскулетина, который с ионами железа формирует коричнево-черный или черный комплекс. Цитрат аммонийного железа стимулирует рост *Listeria monocytogenes* (3). Этот бульон засевают материалом со среды первичного обогащения. Все обогащенные на бульоне Фрайзера культуры надо отсеивать на плотные среды для подтверждения присутствия листерий.

Контроль качества:

Внешний вид порошка: Гомогенный сыпучий желтый порошок.

Цвет и прозрачность готовой среды

: Готовая среда имеет желтую окраску, прозрачна, с легким преципитатом. После введения добавки среда становится флюоресцентно-желтой окраски и имеет легкий преципитат.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (5,78% вес/об) имеет pH 7,2 ± 0,2.

Культуральные свойства

: Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Эскулин (гидролиз)*
<i>Listeria monocytogenes</i> (19117)	Обильный	+
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Подавляется	-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	-

Примечание: + = почернение среды;

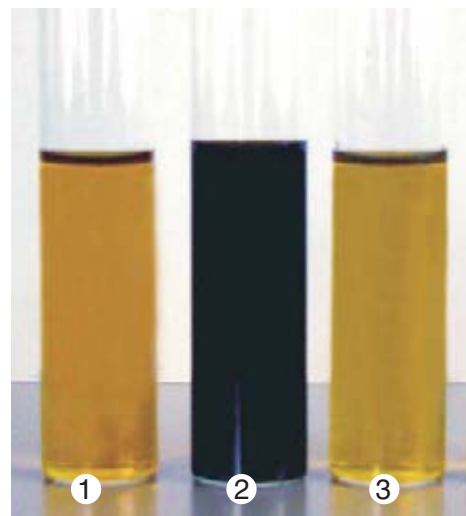
= после выращивания на Селективном агаре для листерий (M567).

Литература:

- Fraser J.A. and Sperber W.H., 1988, Food Protect., 51(10):762.
- McClain D. and Lee W.H., 1988, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71(3):660.
- Cwart R.E. and Foster B.G., 1985, J. Infect Dis., 151:721.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



- Control
- Listeria monocytogenes* (ATCC 19117)
- Escherichia coli* (ATCC 25922)



Listeria Identification Broth Base (PALCAM)

Основа бульона для идентификации листерий (PALCAM)

M1090

Этот бульон со специальной добавкой рекомендуют для селективного обогащения и идентификации видов *Listeria*.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептический перевар животной ткани	23,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Лития хлорид	10,00
Эскулин	0,80
Железа аммонийного цитрат	0,50
D-Маннит	5,00
Лецитин соевый	1,00
Твин-80	2,00
Феноловый красный	0,08

Конечное значение pH (при 25°C) $7,4 \pm 0,2$

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 23,7 г порошка в 500 мл дистиллированной воды. Подогреть (при необходимости) для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 45-50°C и асептично добавить растворенное в воде содержимое 1 флакончика со стерильной селективной добавкой для листерий PALCAM (FD061). Тщательно перемешать и разлить в чашки Петри.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит. Избегать прикосновения и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно смыть большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Идентификационный бульон PALCAM назван по окончательному составу среды, которая содержит полимиксин, акрифлавин, ионы лития, цефтазидим, эскулин и маннит, и предложен Netten и соавт. (1) для селективного обогащения видов *Listeria*.

Дрожжевой экстракт и пептический перевар животной ткани являются источником необходимых питательных веществ для роста. Высокая концентрация хлорида лития и селективная добавка подавляют рост сопутствующей микрофлоры, обеспечивая рост листерий (2). По своим свойствам соевый лецитин заменяет присутствие в среде яичного желтка. После инкубирования посева в бульоне при 30°C в течение 24-48 ч приблизительно 0,1 мл культуры засевают штрихами на селективные агаровые среды для листерий: Селективный агар для листерий PALCAM (M1064) или Оксфордский агар для листерий (M1145). Комбинация маннита и фенолового красного помогает выявить способность листерий к ферментации этого углевода, а эскулин и цитрат аммонийного железа гидролиз эскулина.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий розовый порошок.

Цвет и прозрачность

готовой среды : Готовая среда имеет красную окраску, прозрачна, без какого-либо осадка.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (4,74% вес/об) имеет pH $7,4 \pm 0,2$.

Культуральные свойства

: Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 30°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)

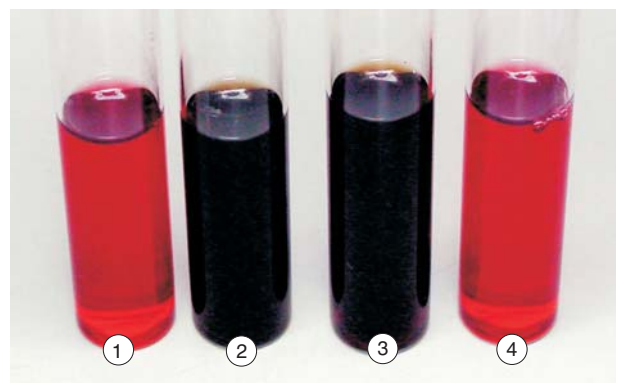
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет среды
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Хороший	Черный
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	—
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Подавляется	—
<i>Micrococcus luteus</i> (10240)	Подавляется	—

Литература:

1. van Netten P., et al, 1989, Int. J. Food. Microbiol., 8:299.
2. Lund A.M., 1991, J. Food Protect., 54:602.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
3. *Listeria ivanovii* (ATCC 19119)
4. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



Listeria Enrichment Broth, Modified

Бульон обогащения для листерий, модифицированный

M888

Эту среду используют для селективного обогащения видов *Listeria*.

Состав**:	
Ингредиенты	грамм/литр
Триптоза	10,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Мясной экстракт	5,00
Натрия хлорид	20,00
Натрия гидрофосфат	9,60
Калия дигидрофосфат	1,35
Эскулин	1,00
Налидиксовая кислота	0,02
Акрифлавина гидрохлорид (Трипафлавин)	0,012

Конечное значение рН (при 25°C) 7,4 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 52,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть (при необходимости) для полного растворения частиц. Разлить в соответствующие емкости. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

Принцип и оценка результата:

Эту среду используют для селективного обогащения видов *Listeria* из молока, молочных и других пищевых продуктов.

Она содержит триптозу, дрожжевой и мясной экстракты, которые являются источником необходимых питательных веществ для роста листерий, в том числе витаминов, аминокислот, микроэлементов. Хлорид натрия поддерживает оптимальное осмотическое давление среды, а фосфаты придают ей буферные свойства. Налидиксовая кислота и акрифлавин подавляют рост грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, соответственно (1, 2, 3), за исключением листерий.

Для обогащения к 25,0 г или 25,0 мл материала добавляют 225 мл среды и, при необходимости, измельчают. Инкубирование ведут при 30°C в течение 7 суток, делая высевы через 1, 2, и 7 дней на селективный агар для листерий.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий светло-желтый порошок.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет желтую окраску, прозрачна или слегка опалесцирует с голубоватым оттенком

Кислотность Среды : При 25°C водный раствор (5,2% вес/об) имеет рН 7,4 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 37°C.

Штаммы микроорганизмов (АТСС)

Listeria monocytogenes (19118)

Staphylococcus aureus (25923)

Рост

Обильный

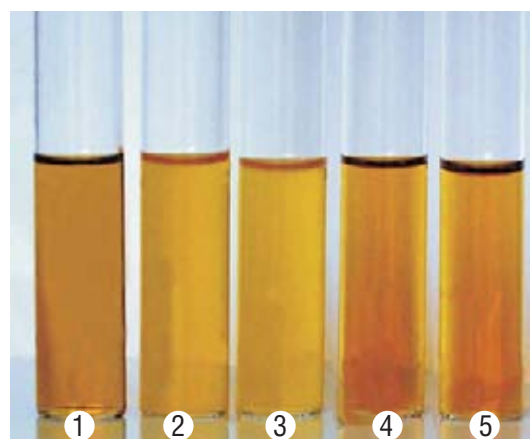
Подавляется

Литература:

1. Lovette J., Francis D.W. and Hunt J.M., 1987, J. Food Prot., 50:188
2. Lee W.K. and McClain D., 1986, Appl. Environ. Microbiol., 52:1215
3. McClain D. and Lee W.H., 1988, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71:660.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19118)
3. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
4. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
5. *Escherichia coli* (ATCC 25922)



Listeria Selective Broth Base Основа селективного бульона для листерий

M889

Эту среду с добавлением селективных веществ рекомендуют для селективного выделения и культивирования *Listeria monocytogenes*.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Гидролизат казеина	17,00
Папаиновый перевар соевой муки	3,00
Дрожжевой экстракт	6,00
Натрия хлорид	5,00
Калия гидрофосфат	2,50
Глюкоза	2,50

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 36,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до комнатной температуры и асептично добавить растворенное в воде содержимое 1 пузырька с Селективной добавкой для листерий II (FD163) или (по желанию) 2 пузырьков с Селективной добавкой для листерий I (FD163I). Перед розливом тщательно перемешать

Принцип и оценка результата:

Эту среду предложили Lovett и соавт. (1) для селективного обогащения видов *Listeria* из молока, молочных и других пищевых продуктов. Она рекомендована международным комитетом (2) с небольшой модификацией, касающейся селективной добавки (FD163I).

Гидролизат казеина, папаиновый перевар соевой муки и дрожжевой экстракт являются источником необходимых питательных веществ для роста бактерий. Глюкоза является источником энергии. Вносимые добавки придают среде селективные свойства. Циклогексимид подавляет рост сапрофитных грибов. Налидиксовая кислота и акрифлавин подавляют рост, соответственно, грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов (3, 4). Для обогащения к 25,0 г или 25,0 мл материала добавляют 225 мл среды и, при необходимости, измельчают. Инкубирование ведут при 30°C до 7 суток. Agello и соавт. (5) показали, что указанный период инкубирования подходит для более эффективного выделения поврежденных внешними факторами листерий из молока и молочных продуктов. Через 1, 2 и 7 дней инкубирования материал высевают на селективный агар для листерий.

Listeria monocytogenes является высокопатогенным микроорганизмом и требует особо осторожного обращения.

Контроль качества

- Внешний вид порошка** : Гомогенный сыпучий желтый порошок.
- Цвет и прозрачность готовой среды** : Готовая среда имеет желтую флуоресцирующую окраску, прозрачна, без какого-либо осадка.
- Кислотность среды** : При 25°C водный раствор (3,6% вес/об) имеет pH 7,3 ± 0,2.
- Культуральные свойства** : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 30°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)

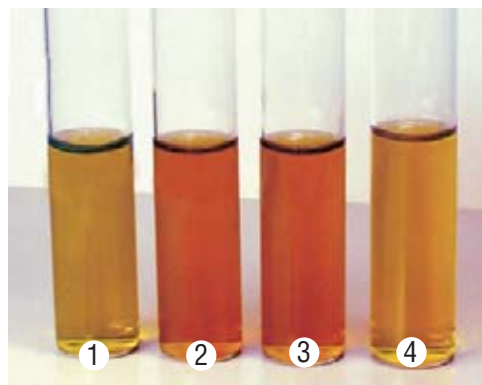
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Обильный
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный
<i>Listeria monocytogenes</i> (19111)	Обильный
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Отсутствует или слабый
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется
<i>Candida albicans</i> (10231)	Подавляется

Литература:

1. Lovette J., Francis D.W. and Hunt J.M., 1987, J. Food Protection, 50:188.
2. International Organization for Standardization (ISO), 1993, 10560 Ind. Technical Corrigendum Cor. 1:1994.
3. Lee W.K. and McClain D., 1986, Appl. Environ. Microbiol., 52:1215.
4. McClain D. and Lee W.H., 1988, J. Assoc. off. Anal. Chem., 71:660.
5. Agello G., Hayes P. and Fuley J., 1986, Abstracts of the Annual Meeting, ASM, Washington, D.C.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...+8°C.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
3. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19118)
4. *Escherichia coli* (ATCC 25922)



Listeria Enrichment Broth / Selective Agar (Twin Pack) Бульон обогащения для листерий / Селективный агар для листерий (двухкомпонентные среды)

M569/
M567

Эти среды используют для культивирования и селективного обогащения видов *Listeria* из клинического материала.

Состав**:

	M569	M567
Ингредиенты	грамм/литр	грамм/литр
Часть А:		
Гидролизат казеина	10,00	10,00
Пептический перевар животной ткани	10,00	10,00
Глюкоза	1,00	1,00
Натрия хлорид	5,00	5,00
Тиамин дихлорид	0,005	0,005
Акрифлавина гидрохлорид (Трипафлавин)	0,01	0,01
Налидиксовая кислота	-	0,04
Агар-агар	-	13,00
Часть В:		
Калия роданид	37,50	37,50

Конечное значение pH (при 25°C) 7,4 ± 0,2

**Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 26,0 г порошка части А (M569) или 39,0 г порошка части А (M567) и 37,5 г порошка части В в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

Принцип и оценка результата:

Эти среды предложены Feindt (1) для культивирования и выделения видов *Listeria* из клинического и другого материала. Obiger и Schonberg (2) показали преимущества этих сред при выделении листерий из смешанных культур.

Гидролизат казеина и пептический перевар животной ткани являются источником необходимых питательных веществ для роста листерий. Тиамин (витамин группы В) стимулирует рост листерий. Роданид и налидиксовая кислота подавляют рост грамотрицательных бактерий (3, 4). Как показал Bockemuhl (5), комбинация селективных веществ и акридиновых красителей подавляет рост энтерококков. Для выделения листерий Ralovich (6), Kampelmacher и Van Noorle Jansen (7) рекомендовали применять комбинацию акрифлавина гидрохлорида и налидиксовой кислоты. Бульон обогащения для листерий можно улучшить, добавив в него, помимо налидиксовой кислоты, колимицин (8). Контаминированные образцы засевают в Бульон обогащения для листерий непосредственно или проводят холодное обогащение (9) в Триптозном бульоне (M179), после чего культуры отсевают на Селективный агар для листерий. Гемолиз можно проверить путем высева на Кровяной агар (M073).

Контроль качества:

Внешний вид порошка : **Часть А:**
Гомогенный сыпучий желтый порошок.

Часть В:
Гомогенный сыпучий белый порошок.

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,3%-ному агаровому гелю (M567).

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет желтую окраску, прозрачна или слегка опалесцирует, если в пробирках или чашках Петри формируется гель.

Кислотность среды : При 25°C водные растворы M567 (3,9% вес/об части А + 3,75% вес/об части В) и M569 (2,6% вес/об части А + 3,75% вес/об части В) имеют pH 7,4 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 48 ч при 37°C (при возможности, в условиях атмосферы, содержащей 10% углекислого газа).

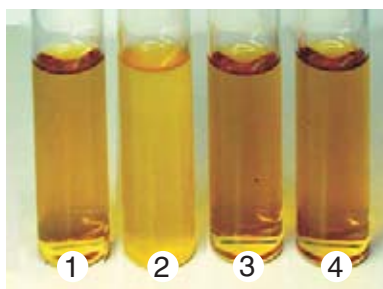
Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Отсутствует или слабый
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется

Литература:

1. Feindt E., 1972, Inaug. Diss., Wurzburg.
2. Obiger G. and Schonberg A., 1973, Fleischwirtschaft, 10:1450.
3. Lebnert C., 1964, Arch. Exp. Vet. Med., 18:891 and 1247.
4. Beerens H. and Tahon-Castel M.M., 1966, Ann. Inst. Pasteur, 111:90.
5. Bockemuhl J., Seeliger H.P.R. and Kathke R., 1971, J. Med. Microbiol. Imm. 157:84.
6. Ralovich B., et al, 1971, Zbl. Bakt. I.Orig., 216:88.
7. Kampelmacher E.H. and Van Noorle-Jansen L.M., 1972, Zbl. Bakt. J. Orig., 221:139.
8. Le Guilloux M., 1980, Bull. Soc. Vet. Prat. de France, 64:45.
9. Grey M.L. et al, 1948, J. Bact., 55:471.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре +2...8°C. Использовать до даты, указанной на этикетке.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112)
3. *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)
4. *Escherichia coli* (ATCC 25922)

Listeria Identification Agar (PALCAM) Агар для идентификации листерий (PALCAM)

M1064

Агар для идентификации листерий (ПАЛКАМ) с добавкой FD061 используют для селективного выделения и идентификации видов *Listeria*.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептический перевар животной ткани	23,00
Крахмал	1,00
Натрия хлорид	5,00
D-Маннит	10,00
Железа аммонийного цитрат	0,50
Эскулин	0,80
АГлюкоза	0,50
Лития хлорид	15,00
Феноловый красный	0,08
Агар-агар	13,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,0 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 34,5 г порошка в 500 мл дистиллированной воды. Прокипятить до полного растворения среды. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и асептически внести растворенное в воде содержимое 1 флаконов с селективной добавкой (PALCAM) для листерий (FD061). Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит. Избегать прикосновения и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно смыть большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Агар для идентификации листерий (PALCAM agar), также известный как Полимиксин (Polymyxin) Акрифлавин (Acriflavine) Литий (Lithium-chloride) Цефтазидим (Ceftazidime) Эскулин (Esculin) Маннит (Mannitol) агар, был предложен Van Netten с соавт. (1). Рекомендуется для выделения листерий из пищевых продуктов. Среда является высоко селективной ввиду наличия в ней хлорида лития, цефтазидима, полимиксина В и акрифлавина. PALCAM агар - дифференциально-диагностическая среда, в которой используются 2 индикаторные системы: с эскулином и маннитом.

Listeria monocytogenes гидролизует эскулин на эскулетин и глюкозу. Реагируя с цитратом железа, эскулетин образует коричнево-черный комплекс, что приводит к потемнению среды вокруг колоний. Листерии не ферментируют маннит, поэтому сбрасывающие маннит энтерококки и стафилококки формируют цветные колонии (от красного до желтого). Микроаэрофильные условия ограничивают рост аэробов, подобных представителям родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Введение в состав среды яичного желтка (2,5%) способствует восстановлению поврежденных клеток (2). Добавление среды с кровью поверх PALCAM агара позволяет дифференцировать и подсчитать количество гемолитических листерий (3).

В зависимости от типа анализируемой пробы перед высевом на PALCAM агар должно быть проведено обогащение в том или ином бульоне для селективного обогащения.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий светло-розовый порошок.

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,3% агаровому гелю.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет красную окраску, прозрачна, со слегка опалесцирующей поверхностью.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (6,9 % вес/об) имеет pH 7,0 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 48 ч при 35 °C.

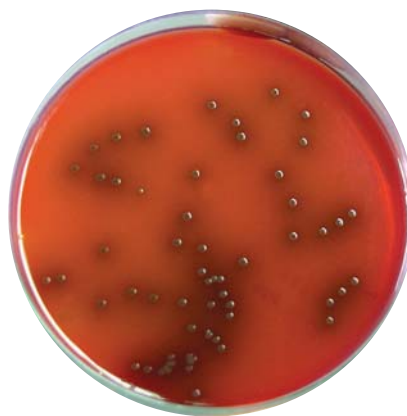
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Характеристика колоний
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Обильный	серо-зеленые с темным центром и темным ореолом
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Слабый	желтые с желтым ореолом
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Слабый	серые с коричнево-зеленым ореолом

Литература:

1. Van Netten P. et al, 1989, Int. J. Food. Microbiol. 8(4):299.
2. int Veld P.H. and de Boer E., 1991, Int. J. Food. Microbiol. 13:295.
3. Van Nettren P., van Gaal B. and Mossel D.A.A., 1991, Lett. Appl. Microbiol., 12:20.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C



Listeria monocytogenes (19112)

Listeria Oxford Medium Base Основа Оксфордской среды для листерий

M1145

Этот бульон со специальной добавкой рекомендуют для селективного выделения видов *Listeria* из патологического материала.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон специальный	23,00
Лития хлорид	15,00
Натрия хлорид	5,00
Крахмал кукурузный	1,00
Эскулин	1,00
Железа аммонийного цитрат	0,50
Агар-агар	10,00

Конечное значение pH (при 25°C) $7,0 \pm 0,2$

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 27.75 г порошка в 500 мл дистиллированной воды. Прокипятить до полного растворения среды. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и асептически добавить растворенное в 50%-м этаноле содержимое флакона с селективной добавкой для выделения листерий (FD172). Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит. Избегать прикосновения и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно смыть большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Данная среда основана на прописи, предложенной Curtis и соавт. (1) для выделения *Listeria monocytogenes* из клинических образцов и образцов пищевых продуктов.

Хлорид лития и антибиотики подавляют рост грамотрицательной микрофлоры и подавляющей части грамположительной флоры (отдельные штаммы *Staphylococcus* образуют эскулинолитические колонии). *Listeria monocytogenes* гидролизует эскулин на эскулетин и глюкозу. Реагируя с цитратом железа, эскулетин образует коричнево-черный комплекс, что приводит к потемнению среды вокруг колоний.

Методика выделения листерий зависит от вида исследуемого материала (2). Для всех образцов рекомендуется селективное и холодное обогащение (3, 4). Фекалии и другие биоматериалы гомогенизируют в 0,1% пептонной воде (M028) и 0,1 мл полученной взвеси высевает на Оксфордский агар или в бульон для селективного обогащения листерий, инкубируют при 30°C в течение 7 дней, после чего высевает на селективную среду.

Для образцов пищевых продуктов и проб из внешней среды обычно используют селективное обогащение.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий темно-желтый порошок.

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,0 % агаровому гелю.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет темно-янтарную окраску, с голубым отблеском.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (5,55 % вес/об) имеет pH $7,0 \pm 0,2$.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 48 ч при 35 °C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гидролиз эскулина
<i>Listeria monocytogenes</i> (19117)	Обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19111)	Обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Хороший	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Подавляется	-
<i>Enterococcus hirae</i> (10541)	Подавляется	-
<i>Bacillus subtilis</i> (6633)	Подавляется	-

Литература:

1. Curtis G.D.W. et al, 1980, Letters in Appl. Microbiol., 8:95.
2. Van Netten P. et al, 1989, Int. J. Food. Microbiol. 6:187.
3. Hayes P.S., et al, 1986, Appl. Environ. Microbiol., 51:438.
4. Garayzabal J.F. et al 1986, Can. J. Microbiol., 32:149.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...+8°C.



Listeria monocytogenes (19118)

LPM Agar Base

Основа селективного агара LPM для листерий

M1228

Агар LPM (с литием, фенолэтанолом и моксиалактамом) рекомендуют для выделения и культивирования *Listeria monocytogenes* из молочных и других пищевых продуктов.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Гидролизат казеина	5,00
Пептический перевар животной ткани	5,00
Мясной экстракт	3,00
Глициновый ангидрид	10,00
Лития хлорид	5,00
Натрия хлорид	5,00
Фенолэтанол	2,50
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) $7,3 \pm 0,2$

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 50,5 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 12 мин. Остудить до 50°C и асептично добавить стерилизованный фильтрованием раствор моксиалактама (до конечной концентрации 20 мкг/мл). Тщательно перемешать и разлить в чашки Петри.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит. Избегать прикосновения и вдыхания паров. При попадании на кожу немедленно смыть большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Этот агар является модификацией среды, разработанной Lee и McClain (1). Эта среда рекомендована специалистами АРНА (2, 3) для выделения *Listeria monocytogenes*.

Гидролизат казеина, мясной экстракт и пептический перевар животной ткани являются источником необходимых питательных веществ для роста. Глициновый ангидрид, хлорид лития и фенолэтанол подавляют рост грамположительных кокков и грамотрицательных палочек. Моксиалактам подавляет рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая стафилококки, протей и псевдомонады. При косопроходящем освещении колонии *Listeria monocytogenes* выглядят радужными голубовато-зелеными (4, 5).

Контроль качества:

- Внешний вид порошка** : Гомогенный сыпучий светло-желтый порошок.
- Плотность готовой Среды** : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5%-ному агаровому гелю.
- Цвет и прозрачность готовой среды** : Готовая среда имеет светло-желтую окраску, прозрачна или слегка опалесцирует, если в чашках Петри формируется гель.
- Кислотность среды** : При 25°C водный раствор (5,05% вес/об) имеет pH $7,3 \pm 0,2$.
- Культуральные свойства** : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)

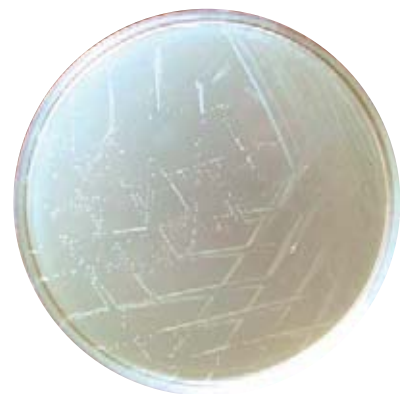
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Хороший или обильный
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	Подавляется
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется

Литература:

- Lee and McClain, 1986, Appl. Environ. Microbiol., 52:1215.
- Vanderzant C. and Splittstoesser D. (Eds.), 1992, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd ed., APHA, Washington, D.C.
- Marshall R.T. (Ed.), 1992, Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16th ed., APHA, Washington D.C.
- Bearns and Girard, 1959, Am. J. Med. Technol., 25:120.
- Bortelossi, Schtech and Albritton, 1985, Manual of Clinical Microbiology, Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (Eds.), 4th ed., ASM, Washington, D.C.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Listeria monocytogenes (19112)



McBride Listeria Agar Base / Modified McBride Listeria Agar Base Основа агара МакБрайда для листерий / Основа агара МакБрайда для листерий модифицированная

M386/
M891

Этот агар используют для селективного выделения и культивирования *Listeria monocytogenes* из клинического материала, от персонала пищевых объектов и др.

Состав**:

Ингредиенты	M386	M891
	грамм/литр	грамм/литр
Гидролизат казеина	–	5,00
Пептический перевар животной ткани	–	5,00
Триптоза	10,00	–
Мясной экстракт	3,00	3,00
Натрия хлорид	5,00	5,00
Глициновый ангидрид	10,00	10,00
Лития хлорид	0,50	0,50
Фенилэтанол	2,50	2,50
Агар-агар	15,00	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 46,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до температуры ниже 50°C и перед застыванием асептично добавить в среду M386 стерильную дефибрированную кровь (до конечной концентрации 5% об/об) и в обе среды растворенное в воде содержимое 1 флакончика специальной добавки для листерий (FD171). Тщательно перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

Предупреждение: Хлорид лития ядовит, поэтому следует избегать вдыхания порошка и попадания их на кожу. В случае контакта с кожей рекомендуется немедленно промыть большим количеством воды для удаления остатков среды.

Принцип и оценка результата:

Этот агар готовится по прописи McBride и Girard (1) и используется для селективного выделения *Listeria monocytogenes* от персонала пищевых объектов (2) и из клинического материала (3).

Гидролизат казеина, триптоза, мясной экстракт, пептический перевар животной ткани, мясной экстракт служат источником углерода, азота, минеральных веществ, витаминов В, микроэлементов и других важных факторов роста листерий. Фенилэтилалкоголь избирательно подавляет синтез ДНК, оказывая бактериостатическое действие на грамотрицательные бактерии (4). Глицин подавляет рост некоторых бактерий, включая *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis*. Хлорид лития также обладает антимикробной активностью.

Определение *Listeria monocytogenes* существенно улучшается при использовании одно- или двухэтапного обогащения материала на жидкой среде. В соответствии с одноэтапным методом (5), инфицированный материал засевают непосредственно на Обогажительный бульон для листерий. По двухэтапному методу (6) вначале материал засевают в Триптозный бульон (M177) и инкубируют в холодильнике при 4°C в течение нескольких недель для холодного обогащения (листерии могут размножаться при

низких температурах). Затем инокулируют Обогажительный бульон для листерий и, далее, делают высевы на селективный агар, например, модифицированный агар МакБрайда. Подозрительные на листерии колонии отбирают при косопроходящем (45°) освещении. Колонии листерий плотные белые или радужно-белые, имеют вид битого стекла. Мелкие колонии имеют голубоватый оттенок. Колонии других микроорганизмов желтовато-оранжевые. Их можно затем отделить при посеве штрихами на Триптон-соевом агаре с дрожжевым экстрактом. Агар МакБрайда можно использовать в качестве основной среды (с добавлением крови или без нее).

Контроль качества:

Внешний вид

порошка : Гомогенный сыпучий желтый порошок.

Плотность готовой

среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5%-ному агаровому гелю.

Цвет и прозрачность

готовой среды : Среда имеет светло-янтарную окраску, прозрачна или слегка опалесцирует, если в чашках Петри формируется гель.

Кислотность среды : При 25°C водные растворы (4,6% вес/об) имеют pH 7,3 ± 0,2.

Культуральные

свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35°C в анаэробных условиях.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост*	Рост**
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Хороший или обильный	Хороший или обильный
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Отсутствует или слабый	Отсутствует или слабый
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	Отсутствует или слабый	Отсутствует или слабый
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Отсутствует или слабый	Отсутствует или слабый

Примечания: * = с добавлением FD171 (200 мкг/мл циклогексимида)
** = с добавлением крови (до конечной концентрации 5% об/об)

Литература:

- McBride M.E. and Girard K.F., 1960, J. Lab. Clin. Med., 55:153.
- Vanderzant C. and Splittstoesser D. (Eds.), 1992, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd ed., APHA, Washington, D.C.
- Finegold S.M., Martin W.J. and Scott E.G., 1978, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th ed., The C.V. Mosby Company, St Louis.
- Dowell, Hill and Altemeier, 1964, J. Bact., 88:1811.
- Lovett J. and Hitchins A., 1989, Bacteriological Analytical Manual, 6th ed., Supplement, Sept. 1987, (Second printing, 1989):29.01.
- McClain D. and Lec. W., 1989, Lab. Comm No. 57, Revised, May 24, 1989, U.S. Dept. of Agric., FSIS, Microbiol. Div., Beltsville, MD.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

Tryptone Soya Yeast Extract Agar Дрожжевой триптон-соевый агар

M1214

Эта среда рекомендована для обнаружения листерий при тестировании колоний по Генри (ISO 10560: 1993).

Состав**:

Ингредиенты	M1214 грамм/литр
Гидролизат казеина	17,00
Папаиновый перевар соевой муки	3,00
Натрия хлорид	5,00
Калия гидрофосфат	2,50
Глюкоза	2,50
Дрожжевой экстракт	6,00
Агар-агар	15,00

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 51,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

Принцип и оценка результата:

Среда готовится в соответствии с прописью, рекомендованной АРНА (1) для выделения и культивирования *Listeria monocytogenes* из пищевых продуктов. Специалисты комитета ISO (2) рекомендовали эти среды для обнаружения листерий, а также для культивирования и хранения многих гетеротрофных микроорганизмов (3).

Гидролизат казеина и папаиновый перевар соевой муки являются источником аминокислот и других питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов. Глюкоза служит источником энергии. Фосфат придает среде буферные свойства. Дрожжевой экстракт является богатым источником витаминов группы В.

Согласно рекомендациям американских специалистов (4), для выделения *Listeria monocytogenes* из молочных продуктов исследуемый материал засевают в среду обогащения и инкубируют при 30°C в течение 24-48 ч. Затем культуру засевают штрихами на Модифицированный листериозный агар МакБрайда (M891) с циклогексимидом или Агар LPM (M1228) с последующим инкубированием при 35°C в течение 48 ч. Подозрительные на листерии колонии отбирают в косопроходящем (45°) свете, после чего их рассеивают на Дрожжевом триптон-соевом агаре. Колонии листерий выглядят плотными белыми или радужно-белыми, напоминая битое стекло. Колонии других микроорганизмов желтоватые или оранжевые.

Контроль качества:

- Внешний вид порошка** : Гомогенный сыпучий желтый Порошок.
- Плотность готовой среды** : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5%-ному агаровому Гелю.
- Цвет и прозрачность готовой среды** : Готовая среда имеет желтый цвет, прозрачна, если чашках Петри формируется гель.
- Кислотность среды** : При 25°C водный раствор (5,1% вес/об) имеет pH 7,3 ± 0,2.
- Культуральные свойства** : Ростовые характеристики референс-Штаммов через 24-48 ч при 30°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)

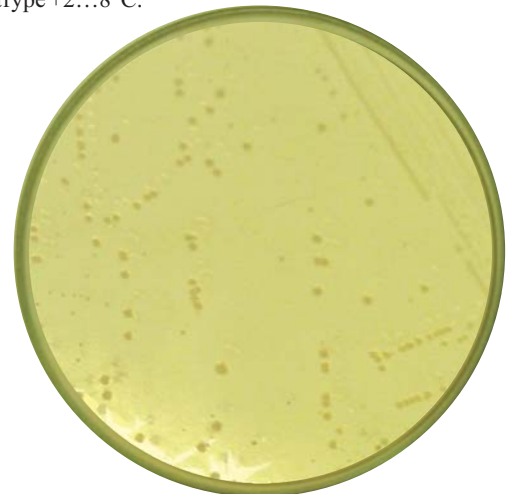
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Listeria monocytogenes</i> (19111)	Хороший или обильный
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Хороший или обильный

Литература:

- Vanderzant C. and Splittstoessor D. (Eds.), 1992, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd ed., APHA, Washington D.C.
- International Organization for Standardization (ISO), 1993, Draft, ISO/DIS 10560.
- Atlas R. M. 1993, Handbook of Microbiological Media, CRC Press, Inc., Boca Raton.
- Bacteriological Analytical Manual, 1989, 6th ed. Supplement, Sept. 1987 (Second printing 1989):29.01.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Listeria monocytogenes (19118)

Carbohydrate Consumption Broth Бульон для дифференциации листерий

M1264

Бульон используют для культивирования и дифференциации видов *Listeria*.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Протеозопептон	10,00
Натрия хлорид	5,00
Мясной экстракт	1,00
Бромкрезоловый пурпурный	0,10

Конечное значение pH (при 25°C) $6,8 \pm 0,2$

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам

Приготовление:

Внести 16,1 г порошка в 990 мл дистиллированной воды. Подогреть (при необходимости) для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Асептично добавить 10 мл стерильного рабочего раствора углевода (до конечной концентрации 0,5%). Тщательно перемешать и разлить в стерильные пробирки для тестирования.

Принцип и оценка результата:

Эту среду используют для культивирования и дифференциации видов *Listeria* (1). Концентрация индикатора в ней несколько отличается от той, которая рекомендована FDA (2) или ISO (3). Листерии дифференцируют по ферментации глюкозы, дульцита, рафинозы, рамнозы и салицина.

Пептон и мясной экстракт дают соединения углерода и азота, включая важнейшие аминокислоты, витамины и микроэлементы для роста бактерий. Бромкрезоловый пурпурный является индикатором pH, который в кислой среде становится желтым.

Контроль качества:

Внешний вид порошка: Гомогенный сыпучий бежевый порошок.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет лиловую окраску, прозрачна, без какого-либо преципитата.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (1,61% вес/об) имеет pH $6,8 \pm 0,2$.

Культуральные свойства

: Ростовые характеристики штаммов через 18-48 ч при 35-57°C.

Штаммы	Рост	Среда без углеводов (кислота/газ)	Среда с 1% рамнозы (Кислота/газ)
Микроорганизмов			
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	Обильный	-/-	+/-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	-/-	+/+
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	-/-	-/-

Литература:

1. Atlas R.M., Handbook of Microbiological Media, 1993, CRC Press, Boca Raton.
2. Bacteriological Analytical Manual, 1995, 8th ed., Published by AOAC International, USA.
3. International Organisation for Standardization (ISO), 1993, Draft ISO/DIS 10560.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



1. *Listeria monocytogenes* (ATCC 19118)
2. Control

Listeria Motility Medium

Среда для определения подвижности листерий

M1215

Полужидкая среда, рекомендованная Комитетом ISO для изучения подвижности бактерий *Listeria monocytogenes*.

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Ферментативный гидролизат казеина	20,00
Пептон	6,10
Агар-агар	3,50

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 29,6 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить до полного растворения среды. Разлить по пробиркам и стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить пробирки со средой в вертикальном положении

Принцип и оценка результата:

Состав среды для определения подвижности листерий подобран в соответствии с рекомендацией Комитета Международной организации по стандартизации (1).

Для определения подвижности засевают уколом 2 пробирки со столбиками среды. Одну пробирку инкубируют при комнатной температуре (25°C), а другую при 35°C. Подвижность лучше проявляется при комнатной температуре (2).

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий светло-желтый порошок.

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 0,35 % агаровому гелю.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет светло-желтую окраску, с легкой опалесценцией.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (2,96 % вес/об) имеет pH 7,3 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при комнатной температуре.

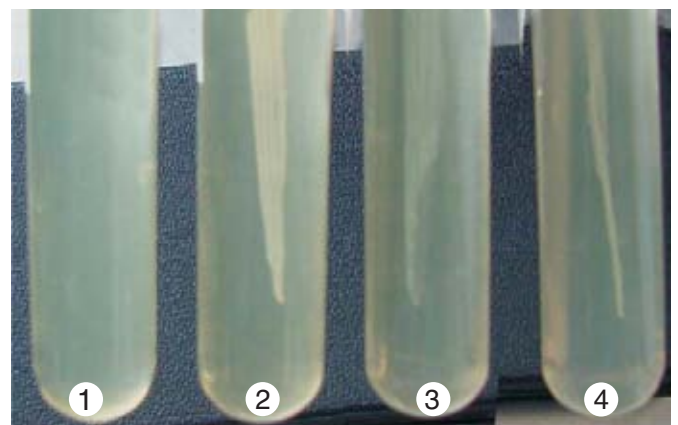
Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Подвижность
<i>Listeria monocytogenes</i> (19111)	Обильный	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный	+

Литература:

1. Int. Org. For Standard. (ISO), 1993, Draft ISO/DIS 10560.
2. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 1986, 7th ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



1. Control
2. *Listeria monocytogenes* (19111)
3. *Listeria monocytogenes* (19112)
4. *Staphylococcus aureus* (25923)

Listeria Lecithinase Agar Base

Основа лецитиназного агара для листерий

M1457

Эту среду используют для идентификации *Listeria monocytogenes* по лецитиназной активности в присутствии активированного угля

Состав**:	
Ингредиенты	грамм/литр
Настой мозга телянка (порошок)	12,50
Настой говяжьего сердца (порошок)	5,00
Протеозопептон	10,00
Глюкоза	2,00
Натрия хлорид	5,00
Натрия гидрофосфат	2,50
Уголь активированный	2,00
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:
Размешать 54,0 г порошка в 950 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и асептично добавить 50 мл концентрированной эмульсии яичного желтка (FD045). При необходимости селективность среды можно повысить, асептично внося в нее добавку Фрейзера (FD065). Тщательно перемешать и разлить по 15-18 мл среды в стерильные чашки Петри.

Принцип и оценка результата:
Лецитиназный агар используют для идентификации *Listeria monocytogenes* по лецитиназной активности. Идентификация этих микроорганизмов в клиническом материале часто затруднена ввиду отсутствия морфологических или биохимических особенностей *Listeria monocytogenes*. Вместе с тем, в присутствии яичного желтка (FD045) и активированного угля у этих микроорганизмов проявляется специфическая лецитиназная активность. Активированный уголь обеспечивает черный фон, на котором легко выявляется прозрачная зона вокруг лецитиназоположительных колоний. Этот феномен не обнаруживается у листерий других видов и прочих бактерий. Появление прозрачной зоны обусловлено присутствием в среде эмульсии яичного желтка (FD045). Если в среду внесена добавка Фрейзера (FD065), налидиксовая кислота и акрифлавин подавляют рост грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, соответственно (1, 2, 3), но не влияют на рост *Listeria* spp. Эта среда содержит настой мозга телянка и говяжьего сердца, протеозопептон, которые являются источником важнейших углерод- и азотсодержащих питательных веществ: витаминов, аминокислот, микроэлементов. Фосфаты обеспечивают буферные свойства среды, а хлорид натрия придает ей изотоничность.

Контроль качества:

- Внешний вид порошка** : Гомогенный сыпучий серый порошок.
- Плотность готовой среды** : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5%-ному агаровому гелю.
- Цвет и прозрачность готовой среды** : Готовая среда имеет черную окраску, непрозрачна, если в чашках Петри формируется гель.
- Кислотность среды** : При 25°C водный раствор (5,4% вес/об) имеет pH 7,2 ± 0,2.
- Культуральные свойства** : Ростовые характеристики референс-штаммов через 48-72 ч при 37°C на среде после добавления эмульсии яичного желтка (FD045) и добавки Фрейзера (FD065).

ОШтаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Лецитиназа
<i>L. Grayi</i>	Обильный	-
<i>L. innocua</i> (33090)	Обильный	-
<i>L. ivanovii</i> (19119)	Обильный	+
<i>L. monocytogenes</i> (19112)	Обильный	+
<i>L. Seeligeri</i>	Обильный	-
<i>L. welshmeri</i> (8149)	Обильный	-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	-

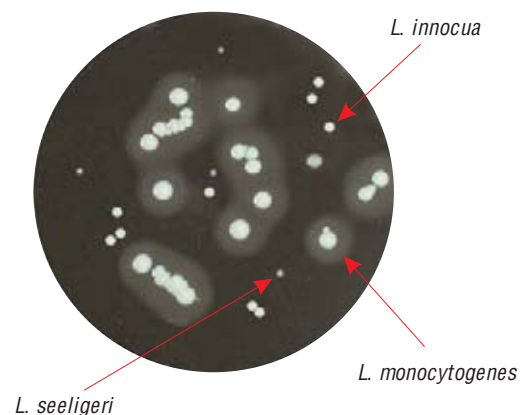
Примечание: + = положительный результат (непрозрачная зона вокруг колонии).

Литература:

1. Lovette J., Francis D.W. and Hunt J.M. (1987), J. Food Prot., 50:188.
2. Lee W.K. and McClain D. (1986), Appl. Environ. Microbiol., 52:1215.
3. McClain D. and Lee W.H. (1988) J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71:660.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.





L. mono Differential Agar Base

Основа дифференциального агара для листерий

M1540

Этот агар специалисты международного комитета ISO рекомендуют для селективного выделения и идентификации *Listeria monocytogenes* (1).

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептический перевар животной ткани	18,00
Ферментативный гидролизат казеина	6,00
Дрожжевой экстракт	10,00
Натрия пируват	2,00
Глюкоза	2,00
Магния глицерофосфат	1,00
Магния сульфат	0,50
Натрия хлорид	5,00
Лития хлорид	10,00
Натрия гидрофосфат (безводный)	2,50
Хромогенный субстрат	0,05
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 36,0 г порошка в 460 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 45-50 °C и асептически добавить содержимое 1 флакончика с обогатительной добавкой L.mono (FD214), растворенное содержимое 1 флакончика с селективной добавкой L.mono I (FD212) и содержимое 1 флакончика с селективной добавкой L.mono II (FD213). Тщательно перемешать и разлить по 15-18 мл среды в стерильные чашки Петри.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит, поэтому рекомендуется избегать контакта с ним и вдыхания его паров; при попадании на кожу надо немедленно смыть реактив большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Этот агар основан на прописи Ottoviani и Agosti (2, 3) для селективного выделения и идентификации *Listeria monocytogenes* из пищевых продуктов и кормов для животных; он принят и одобрен комитетом ISO. Мясной пептон, гидролизат казеина, пируват натрия и дрожжевой экстракт являются источниками азотистых питательных веществ и витаминов, необходимых для роста микроорганизмов. Глюкоза является ферментируемым субстратом. Хлорид натрия поддерживает оптимальное осмотическое давление, а фосфат придает среде буферные свойства. Хлорид лития и входящие в состав добавок FD212 и FD213 селективные компоненты подавляют рост сопутствующей микрофлоры, обеспечивая рост листерий. Последние в результате гидролиза хромогенного субстрата образуют зеленые колонии. Дифференциация *Listeria monocytogenes* от других листерий основана на выявлении активности фосфатидилинозит-специфичной фосфолипазы С активности (PIPLC). Фермент фосфолипаза С гидролизует очищенный субстрат (FD214), добавляемый в среду. В результате этого вокруг колоний *Listeria monocytogenes* формируется зона помутнения среды.

Контроль качества:

Внешний вид порошка: Гомогенный сыпучий светло-бежевый порошок.

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5% агаровому гелю.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет светло-янтарную окраску, опалесцирует, когда в чашках Петри формируется гель.

Кислотность среды : При 25°C водный раствор (7,2% вес/об) имеет pH 7,2 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35-37°C (с инкубацией после внесения селективных добавок L.mono - FD212 и FD213, а также обогатительной добавки L.mono FD214).

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний	Фосфолипазная активность*
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный	Зеленовато-голубой	+
<i>Listeria innocua</i> (33090)	Обильный	Зеленовато-голубой	-
<i>Listeria ivanovii</i> (19119)	Обильный	Зеленовато-голубой	+
<i>Listeria grayi</i>	Обильный	Зеленовато-голубой	-
<i>Listeria seeligeri</i>	Обильный	Зеленовато-голубой	-
<i>Listeria welshimeri</i>	Обильный	Зеленовато-голубой	-

Примечание:*

О наличии фосфатидилинозитфосфолипазной активности свидетельствует непрозрачная зона вокруг колоний.

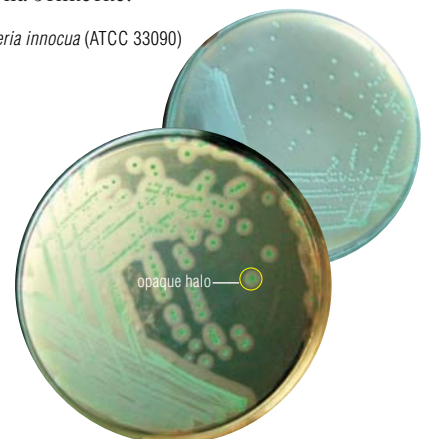
Литература:

1. Draft Amendment ISO 11290-2:1996/DAM 1.
2. Ottaviani F., Ottaviani M., and Agosti M. (1997 a), Industrie Alimentari 36, 1-3.
3. Ottaviani F., Ottaviani M., and Agosti M. (1997 b), Quimper Froid Symposium Proceedings p. 6, A.D.R.I.A. Quimper, France, 16-18 June 1997.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре +2...8°C. Использовать до даты, указанной на этикетке.

Listeria innocua (ATCC 33090)



Listeria monocytogenes (ATCC 19112)



L. mono Confirmatory Agar Base

Основа диагностического агара для листерий

M1552

Этот агар специалисты рекомендуют для селективного и дифференциального выделения *Listeria monocytogenes* из клинического материала и пищевых продуктов

Состав**:

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон специальный	30,00
Дрожжевой экстракт	6,00
Натрия хлорид	5,00
Лития хлорид	10,00
Натрия гидрофосфат (безводный)	2,50
Индикатор В.С.	8,60
А-Метил-D-маннозид	3,00
Агар-агар	12,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 38,5 г порошка в 470 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 45-50 °C и асептически добавить содержимое 1 флакончика с обогатительной добавкой L.mono II (FD227), растворенное содержимое 1 флакончика с селективной добавкой L.mono I (FD212) и содержимое 1 флакончика с селективной добавкой L.mono II (FD213). Тщательно перемешать и разлить по **15-18 мл среды** в стерильные чашки Петри.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: хлорид лития ядовит, поэтому рекомендуется избегать контакта с ним и вдыхания его паров; при попадании на кожу надо немедленно смыть реактив большим количеством воды.

Принцип и оценка результата:

Listeria monocytogenes - это грамположительные бактерии, передаваемые с пищей и способные вызвать у беременных женщин серьезную инфекцию (которая может привести к аборт, мертворождению, врожденному листериозу, менингиту), а у взрослых людей и подростков - бактериемии. Дифференциация *Listeria monocytogenes* от других листерий основана на выявлении активности фосфатидилинозит-специфичной фосфолипазы С активности (PIPLC) и ферментации α-метил-D-маннозида. Фермент фосфолипаза С является важным ферментом вирулентности и встречается только у листерий видов *Listeria monocytogenes* и *Listeria ivanovii*. Этот фермент гидролизует очищенный субстрат (FD227), добавляемый в среду. В результате этого вокруг колоний листерий формируется зона помутнения среды. Дифференциация колоний *Listeria monocytogenes* и *Listeria ivanovii* при этом основана на утилизации α-метил-D-маннозида. *Listeria monocytogenes* ферментирует этот субстрат, формируя желтый ореол вокруг колоний, который отсутствует вокруг колоний *Listeria ivanovii*.

Специальный пептон и дрожжевой экстракт являются источниками азотистых питательных веществ и витаминов, необходимых для роста микроорганизмов. α-Метил-D-маннозид является ферментируемым субстратом. Хлорид лития и входящие в состав добавок FD212 и FD213 селективные компоненты подавляют рост сопутствующей микрофлоры, обеспечивая рост листерий. Хлорид натрия поддерживает оптимальное осмотическое давление, а фосфат придает среде буферные свойства.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий лиловый порошок.

Плотность готовой

среды

: Образуется среда, соответствующая по плотности 1,2% агаровому гелю.

Цвет и прозрачность

готовой среды

: Готовая среда имеет лиловую окраску, опалесцирует, когда в чашках Петри формируется гель

Кислотность среды

: При 25°C водный раствор (7,7% вес/об) имеет pH 7,2 ± 0,2.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний	Фосфолипазная активность*
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Обильный	Желтый	+
<i>Listeria ivanovii</i> (19119)	Обильный	Сетло-лиловый	+
<i>Listeria innocua</i> (33090)	Обильный	Желтый	-
<i>Listeria grayi</i> (19120)	Обильный	Желтый	-
<i>Listeria seeligeri</i>	Обильный	Сетло-лиловый	-
<i>Listeria welshimeri</i>	Обильный	Желтый	-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Подавляется	-	-
<i>Candida albicans</i> (10231)	Подавляется	-	-

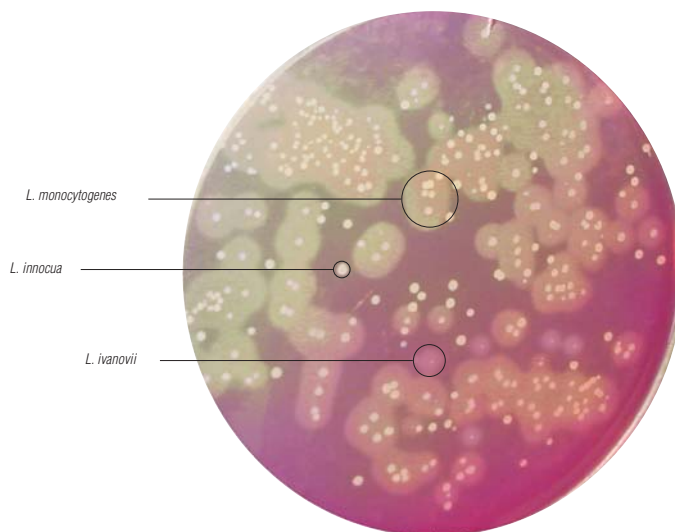
Примечание: * о наличии фосфатидилинозитфосфолипазной активности свидетельствует непрозрачная зона вокруг колоний.

Литература:

- Ottaviani F., Ottaviani M., and Agosti M. (1997 a), *Industrie Alimentari* 36, 1-3.
- Ottaviani F., Ottaviani M., and Agosti M. (1997 b), *Quimper Froid Symposium Proceedings* 6, A.D.R.I.A. Quimper, France, 16-18 June 1997.
- Murray et al, (1999), *Manual of Clinical microbiology*, 7th Edition, pg : 347.

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже 30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке.



Mix culture of L. mono, L. ivanovii, L. innocua

Purple Broth Base Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным

M284D

Эта среда рекомендуется для приготовления сред с углеводами с целью изучения их ферментации при дифференциации чистых культур энтеробактерий и других микроорганизмов

Состав**:	
Ингредиенты	грамм/литр
Протеозопептон	10,00
Мясной экстракт	1,00
Натрия хлорид	5,00
Бромкрезоловый пурпурный	0,02

Конечное значение pH (при 25°C) $6,8 \pm 0,2$

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 16,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Добавить 5-10 г тестируемого углевода. Разлить в пробирки. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. В другом варианте готовят и стерилизуют 900 мл питательной основы и затем к ней добавляют 100 мл стерилизованного отдельно 5-10%-ного раствора того или иного углевода.

Принцип и оценка результата:

Эта среда первоначально разработана Vera (1), затем в ее состав ввели мясной экстракт (2). Она рекомендована американскими специалистами для изучения ферментации сахаров (3). Основа M284D рекомендована международным комитетом (4) для определения ферментации углеводов у *Listeria monocytogenes*. Мясной экстракт, протеозопептон или специальный пептон обеспечивают присутствие в среде необходимых азотистых питательных веществ. Хлорид натрия обеспечивает оптимальное осмотическое давление. Бромкрезоловый пурпурный является индикатором pH, который в кислой среде (при ферментации углевода) становится желтым. Об образовании газа судят по пузырькам в поплавах.

Бульон засевают 18-24-часовой культурой и инкубируют 24-72 ч (при необходимости до 30 суток) при $35 \pm 2^\circ\text{C}$ в аэробных или анаэробных условиях (в зависимости от тестируемой культуры). Для предотвращения обратных реакций рекомендуется (5) вносить углеводы в концентрации 1% (кроме глюкозы). Если автоклавирется среда с углеводом, необходимо избегать перегрева, чтобы он не разрушился.

Контроль качества:

Внешний вид порошка : Гомогенный сыпучий зеленовато-желтый порошок.

Цвет и прозрачность готовой среды : Готовая среда имеет пурпурную окраску.

Кислотность среды : При 25°C водные растворы (1,6% вес/об) имеют pH $6,8 \pm 0,2$.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Без углеводов		С 1% глюкозы	
		К	Г	К	Г
<i>Neisseria meningitidis</i> (13090)	Хороший или обильный	-	-	+	-
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	-	-	+	-
<i>Listeria monocytogenes</i> * (19112)	Обильный	-	-	+	-

Примечания: К = кислота (желтый цвет)

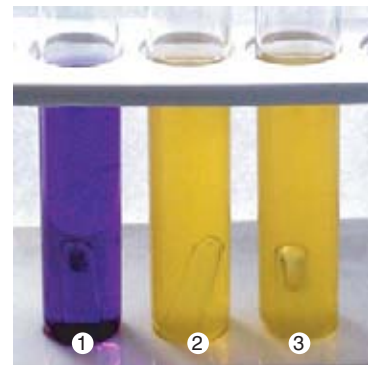
* = ферментационный метаболизм

Литература:

- Vera H.D., 1950, Am. J. Public Health, 40:1267.
- Finegold and Baron, 1986, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 7th ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.
- Bacteriological Analytical Manual, 1995, 8th ed., FDA, AOAC International, USA.
- International Organization for Standardization (ISO), 1995, Draft ISO/DIS 13720.
- MacFaddin J., 1985, Media for Isolation-Cultivation-Identification -Maintenance of Medical Bacteria, Vol. I Williams and Wilkins, Baltimore

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



- Control
- Listeria monocytogenes* (19112)
- Escherichia coli* (25922)

Columbia Blood Agar Base Основа колумбийского кровяного агара

M144

Эта среда используется в качестве эффективной основы для приготовления кровяного, шоколадного агаров, различных селективных и дифференциальных сред а также для постановки КАМП-теста.

Состав**:

Ингредиенты	M144 грамм/литр
Пептон (специальный)	23,00
Крахмал кукурузный	1,00
Натрия хлорид	5,00
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

** Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам.

Приготовление:

Размешать 44,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 40-50°C и асептично внести указанные ниже термочувствительные ингредиенты.

Для приготовления *кровяного* агара: стерильную дефибрированную кровь барана (до 5% об/об).

Для приготовления *шоколадного* агара: стерильную дефибрированную кровь барана (до 10% об/об), прогреть при 80°C в течение 10 мин при постоянном помешивании.

Среду можно сделать селективной путем добавления к стерильной основе различных антимикробных веществ (специальных добавок).

Для культивирования *бруцелл*: добавить в 500 мл расплавленной стерильной основы растворенное в воде содержащее 1 пузырька с селективной добавкой для бруцелл (FD161).

Для культивирования *кампилобактеров*: добавить в 500 мл расплавленной стерильной основы растворенное в воде содержащее 1 пузырька с одной из селективных добавок для кампилобактеров (FD006, FD165, FD008, FD090 или FD106) и 1 пузырька с ростовой добавкой для кампилобактеров (FD009).

Для культивирования *гарднерелл*: добавить в 500 мл расплавленной стерильной основы растворенное в воде содержащее 1 пузырька с селективной добавкой для гарднерелл (FD056).

Для культивирования *стрептококков*: добавить в 500 мл расплавленной стерильной основы растворенное в воде содержащее 1 пузырька со стрептококковой добавкой (FD030 или FD031).

Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

Принцип и оценка результата:

Эту среду разработали Ellner и соавт.(1). Присутствие специального пептона обеспечивает быстрый и обильный рост на ней даже прихотливых микроорганизмов. Кроме того, на ней вырастают типичные колонии, лучше проявляется пигментообразование и более четкие гемолитические реакции. Колумбийский агар используют для приготовления кровяных и селективных сред с различными сочетаниями антибиотиков.

Кукурузный крахмал служит источником энергии и одновременно нейтрализует токсические метаболиты. Баранья кровь позволяет оценить способность микробов к гемолизу и обеспечивает их геминем (X фактором), который необходим для роста многих бактерий. Вместе с тем в среде нет фактора V (никотинамидадениндинуклеотида), поэтому *Haemophilus influenzae*, имеющие потребность в обоих факторах (X и V), на этой среде расти не будут. Ввиду относительно высокого содержания

углеводных компонентов бета-гемолитические стрептококки могут давать на этой среде зеленоватые зоны гемолиза, которые можно ошибочно принять за альфа-гемолиз. В этой связи для подтверждения требуется проведение дополнительных тестов.

Контроль качества:

Внешний вид порошка: Гомогенный сыпучий светло-желтый порошок

Плотность готовой среды : Образуется среда, соответствующая по плотности 1,5%-ному агаровому гелю.

Цвет и прозрачность готовой среды : Основа среды имеет янтарную окраску, прозрачна или слегка опалесцирует при затвердевании. После добавления к основе стерильной дефибрированной крови (до 5% об/об) среда имеет вишнево-красный цвет и опалесцирует, если в чашках Петри формируется гель.

Кислотность среды : При 25°C водные растворы (4,4% вес/об) имеет pH 7,3 ± 0,2.

Культуральные свойства : Ростовые характеристики референс-штаммов через 40-48 ч при 35-37°C.

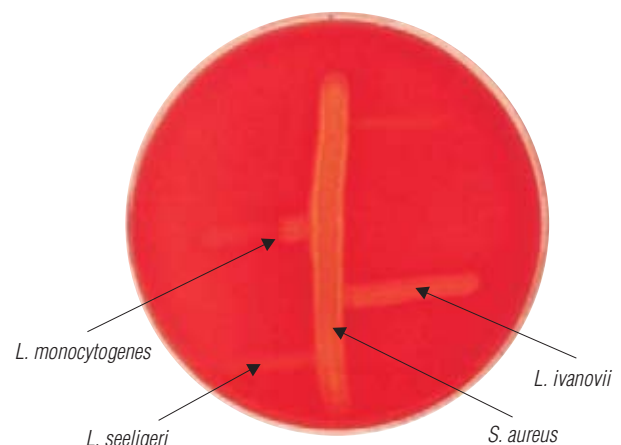
Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> (13090)	Обильный	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	Бета или гамма
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Обильный	Гамма
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6303)	Обильный	Альфа
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	Обильный	Бета

Литература:

1. Ellner, Stoessel, Drakeford and Vasi, 1966, Am. J. Clin. Pathol., 45:502

Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



КАМП-тест

Стерильные селективные и ростовые добавки Selective Supplements and Sterile Enrichments

Listeria Selective Supplement (PALCAM) Селективная добавка для листерий (PALCAM)

FD061

Антимикробная добавка рекомендуется для селективного выделения и идентификации *Listeria monocytogenes*

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Полимиксин В	50000 ЕД
Цефтазидим	10,00 мг
Акрифлавина	2,50 мг
Гидрохлорид	

Применение:

Растворить содержимое флакона в 5 мл стерильной дистиллированной воды и асептически добавить в 500 мл стерильной, расплавленной среды **Основа агара для идентификации листерий (M1064)** или **Основа бульона для идентификации листерий (M1090)**. Хорошо перемешать и разлить.

Listeria Selective Supplement II Селективная добавка для листерий II

FD063

Эта антибактериальная добавка рекомендуется для селективного выделения и культивирования *Listeria*.

Состав: (1 флакон на 1000 мл готовой среды)

Акрифлавина гидрохлорид	15,00 мг
Налидиксовая кислота	40,00 мг
Циклогексимид	50,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 5 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 1000 мл стерильной среды **Основа селективного бульона для листерий (M889)** **Основа селективного агара для листерий (M1474)**. Перемешать и разлить.

Listeria Selective Supplement II Селективная добавка для листерий II

FD063I

Эта антибактериальная добавка рекомендована **Комитетом ISO** для селективного культивирования *Listeria*.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Акрифлавина гидрохлорид	5,00 мг
Налидиксовая кислота	20,00 мг
Циклогексимид	25,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 5 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 1000 мл стерильной среды **Основа селективного бульона для листерий (M889)** **Основа селективного агара для листерий (M1474)**. Перемешать и разлить

Fraser Enrichment Supplement Обогащающая добавка Фрезера

FD065

Антибактериальная добавка рекомендуется для селективного выделения и культивирования *Listeria monocytogenes* из продуктов питания и других образцов.

Состав: (1 флакон на 1000 мл готовой среды)

Акрифлавина гидрохлорид	25,00 мг
Налидиксовая кислота	40,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 990 мл стерильной среды **Основа бульона Фрезера для вторичного обогащения листерий (M1083)** или **Основа лецитиназного агара для листерий (1457)**. Перемешать и разлить по пробиркам.

McBride Listeria Supplement Добавка Мак-Брайда для листерий

FD070

Эта антибактериальная добавка рекомендуется для селективного выделения и культивирования *Listeria*.

Состав: (1 флакон на 1000 мл готовой среды)

Циклогексимид	200,00 мг
---------------	-----------

Применение:

Растворить содержимое флакона в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 990 мл стерильной среды **Основа агара Мак-Брайда для листерий (M386)** или Модифицированная **Основа агара Мак-Брайда для листерий (M891)** и стерильную дефибрированную кровь до 5% (об/об). Перемешать и разлить по чашкам Петри.

Oxford Listeria Supplement Оксфордская добавка для листерий

FD071

Эта антибактериальная добавка рекомендуется для селективного выделения и культивирования *Listeria*.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Циклогексимид	200,00 мг
Колистин сульфат	10,00 мг
Акрифлавина гидрохлорид	2,50 мг
Цефотетан	1,00 мг
Фосфомицин	5,00 мг

Применение:

Растворить содержимое одного флакона в 5 мл 50% этанола. Энергично размешать до полного растворения и асептически добавить к 500 мл среды **Основа Оксфордской среды для листерий (M1145)**. Перемешать и разлить по чашкам Петри.

Fraser Selective Supplement Селективная добавка Фрезера

FD125

Рекомендована для селективного выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах, кормах для животных и т.д.

Состав: (1 флакон на 1000 мл готовой среды)

Акрифлавина гидрохлорид	25,00 мг
Налидиксовая кислота	20,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 990 мл стерильной среды **Основа бульона Фрезера для вторичного обогащения (M1083)**. Перемешать и разлить по пробиркам или флаконам.

Fraser Selective Supplement Селективная добавка Фрезера

FD125I

Рекомендована **Комитетом ISO** для селективного выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах, кормах для животных и т.д.

Состав: (1 флакон на 500/1000 мл готовой среды)

Акрифлавина гидрохлорид	12,50 мг
Налидиксовая кислота	10,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Перемешать и асептически добавить к 1000 мл стерильной среды **Основа бульона Фрезера (M1327)** или **Основа бульона Фрезера для обогащения листерий (M1083R)** для первичного обогащения или в 500 мл среды **Основа бульона Фрезера (M1327)** или **Основа бульона Фрезера для обогащения листерий (M1083R)** для вторичного обогащения. Перемешать и разлить по пробиркам или флаконам.

Fraser Supplement Добавка Фрезера

FD141

Рекомендована для селективного выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах, кормах для животных и т.д.

Состав: (1 флакон на 500/1000 мл готовой среды)

Железа аммонийного цитрат 250,00 мг

Применение:

Растворить содержимое флакона в 1-2 мл стерильной дистиллированной воды и перемешать. Для первичного обогащения добавить 1 флакона на 1000 мл стерильной среды **Основа бульона Фрезера (M1327)** или 1 флакон в 500 мл среды для вторичного обогащения. Размещать и разлить.

Moxalactam Supplement Добавка с моксалактамом

FD151

Эта антибактериальная добавка рекомендуется для селективного выделения и культивирования *Listeria monocytogenes*.

Состав: (1 флакон на 1000 мл готовой среды)

Моксалактам 20,00 мг

Применение:

Растворить содержимое одного флакона в 10 мл стерильной дистиллированной или деионизованной воды. Хорошо перемешать и добавить к 1000 мл **Основы агар LPM (M1228)**

Listeria Moxalactam Supplement Моксалактамовая добавка для листерий

FD126

Рекомендуется для селективного выделения *Listeria monocytogenes* из смешанных культур.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Моксалактам 7,5 мг

Колистина сульфат 5,0 мг

Применение:

Асептически растворить в 2 мл стерильной дистиллированной воды, избегая пенообразования, и добавить к 500 мл стерильной расплавленной среды **Основа Оксфордской среды для листерий (M1145)**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

Listeria UVM Supplement I Добавка для листерий UVM I

FD136

Рекомендуется для селективного культивирования листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Акрифлавин 6,00 мг

Налидиксовая кислота 10,00 мг

Применение:

Асептически растворить в 2 мл стерильной дистиллированной воды, избегая пенообразования, и добавить к 500 мл стерильной расплавленной **Среды обогащения для листерий (Среда UVM) (M890A)**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

Listeria UVM Supplement II

Добавка для листерий UVM II

FD137

Рекомендуется для селективного культивирования листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Акрифлавин	12,50 мг
Налидиксовая кислота	10,00 мг

Применение

Асептически растворить в 2 мл стерильной дистиллированной воды, избегая пенообразования, и добавить к 500 мл стерильной расплавленной **Среды обогащения для листерий (Среда UVM) (M890A)**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

HiCrome Listeria Selective Supplement

Селективная добавка для быстрого и прямого выделения и идентификации листерий

FD181

Рекомендуется для быстрого и прямого выделения и идентификации листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Цефтазидим	2,90 мг
Амфотерицин В	2,50 мг

Применение:

Асептически растворить в 5 мл стерильной дистиллированной воды и добавить к 500 мл стерильной расплавленной среды **Основа хромогенного агара для листерий (M1417)**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

L. mono Selective Supplement I

Селективная добавка L.mono I

FD212

Рекомендуется комитетом ISO для выделения листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Полимиксин В сульфат	38,35 IU
----------------------	----------

Применение:

Асептически растворить в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Хорошо перемешать и добавить к 460 мл стерильной расплавленной среды **Основа дифференциального агара для листерий (M1540)** вместе с добавками **FD214** и **FD213**; или добавить к 470 мл стерильной расплавленной среды **Основа диагностического агара для листерий** вместе с добавками **FD213** и **FD227**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

L. mono Selective Supplement II

Селективная добавка L.mono II

FD213

Рекомендуется комитетом ISO для выделения листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

Цефтазидим	10,00 мг
Амфотерицин В	5,00 мг
Налидиксовая кислота, натриевая соль	10,00 мг

Применение:

Асептически растворить в 2 мл 0,2 N NaOH, добавив затем 3 мл стерильной дистиллированной воды. Хорошо перемешать и добавить к 460 мл стерильной расплавленной среды **Основа дифференциального агара для листерий (M1540)** вместе с добавками **FD214** и **FD212**; или добавить к 470 мл стерильной расплавленной среды **Основа диагностического агара для листерий (M1552)** вместе с добавками **FD212** и **FD227**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

L. mono Enrichment Supplement I Обогащительная добавка L.mono I

FD214

Рекомендуется комитетом ISO для селективной дифференциации *Listeria monocytogenes* от других листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

L- фосфатидилинозитол	1,0 г
Дистиллированная вода	25,0 мл

Применение:

Нагреть содержимое 1 флакона до комнатной температуры. Асептически добавить к 460 мл стерильной расплавленной среды **Основа дифференциального агара для листерий (M1540)** вместе с добавками **FD212 и FD213**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

L. mono Enrichment Supplement II Обогащительная добавка L.mono II

FD227

Рекомендуется комитетом ISO для селективной дифференциации *Listeria monocytogenes* от других листерий.

Состав: (1 флакон на 500 мл готовой среды)

L- фосфатидилинозитол	0,5 г
Дистиллированная вода	15,0 мл

Применение:

Нагреть содержимое 1 флакона до комнатной температуры. Асептически добавить к 470 мл стерильной расплавленной среды **Основа диагностического агара для листерий (M1552)** вместе с добавками **FD212 и FD213**. Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

KBM003 HiMotility™ Biochemical Kit for *Listeria* Species

Í ááí ð HiMotility™ äëÿ àèí òèì è-âñèí é èääí òèòèèàòèè èèñòàðèé





KBM003 HiMotility™ Biochemical Kit for *Listeria* Species

Í àáí ð HiMotility™ äëÿ áèì òèì è÷ãñêî é èääá òèòèèàöèè èèñòãðèè

Введение

Листерии широко распространены в природе и часто обнаруживаются в разнообразных пищевых продуктах. Листерииоз человека встречается в виде спорадических заболеваний или вспышек и имеет уровень летальности от 20 до 30%. *Listeria monocytogenes* является возбудителем первичного менингита, энцефалита, септицемии, а у беременных - причиной аборт, преждевременных или поздних родов. KBM003 можно использовать для скрининга проб пищевых продуктов и соответствующего клинического материала, а также контроля лабораторных штаммов (их перечень приводится в таблице с дифференциальными свойствами листерий, см. выше).

Принцип

Каждый набор KBM003 является стандартизованной колориметрической тест-системой для идентификации листерий по подвижности, ферментации углеводов и другим признакам. Результаты тестов учитывают после инкубирования засеянной тест-системы по сдвигу pH и утилизации субстрата, что проявляется видимым изменением цвета среды непосредственно или после добавления соответствующих реактивов.

Состав набора

1. Материалы для идентификации 10 культур.
2. 10 стрипов KBM003.
3. Инструкция по использованию набора.
4. Интерпретационная таблица и бланки.
5. Таблица биохимических профилей листерий.
6. Сульфаниловая к-та, 0.8% (R015)
7. N,N-Диметил-1-нафтиламин (R009)
8. Реактив Баррита А (R029)
9. Реактив Баррита В (R030)
10. Метилловый красный (I007)

Условия и срок хранения

Хранить при 2...8°C. Срок годности - 12 месяцев.

Инструкции по применению

Приготовление инокулюма:

Набор KBM003 нельзя использовать для прямого посева исследуемого материала (клинических проб или суспензий пищевых продуктов), его применяют для тестирования только чистых культур бактерий. Снимите изолированную колонию с агара ПАЛКАМ (M1064) или триптозного агара (M538) с добавлением крови или без нее и засейте бактерии в 5 мл бульона с сердечно-мозговым настоем (M210). Инкубируйте посев при 37°C в течение 6-8 ч или до появления необходимой мутности (не менее 10 ед..при длине волны 620 нм). **ВНИМАНИЕ:** При использовании менее мутного бульона может быть получен ложноотрицательный результат.

Методика посева:

- Асептически вскрыть набор. Удалить защитную фольгу с лунок.
- Взяв полную петлю инокулюма, засейте уколom 1-ю лунку. НЕ ЗАСЕВАЙТЕ ВТОРУЮ ЛУНКУ!
- Таким же количеством инокулюма засейте каждую оставшуюся лунку стрипа (кроме 2-й), прокалывая среду до дна.

Инкубирование:

24-48 ч при 20-26°C.

Учет и интерпретация результата

- Результаты интерпретируют в соответствии с данными таблицы 2. Реактивы в 3-ю, 4-ю, 5-ю и 6-ю лунки вносят после окончания периода инкубирования (24-48 ч).

Подвижность + гидролиз эскулина (1-я и 2-я лунки):

- Подвижность наблюдается в виде распространения роста из 1-й лунки во вторую, что сопровождается почернением среды.
- Гидролиз эскулина проявляется почернением среды в 1-й лунке, а в случае подвижных бактерий - и во 2-й лунке.

Каталаза (3-я лунка):

- Взять полную петлю микробной массы с поверхности 3-й лунки и поместить ее в небольшую чистую пробирку с 3%-м раствором перекиси водорода.
- Положительным результатом является образование пузырьков газа на поверхности петли, отрицательным результатом - отсутствие пузырьков.

ВНИМАНИЕ: Раствор H₂O₂ должен быть свежеприготовленным.

Восстановление нитрата (4-я лунка):

- Добавить в лунку 1-2 капли сульфаниловой к-ты (R015) и 1-2 капли нафтиламина (R009).
- Немедленное развитие розово-красного окрашивания свидетельствует о положительной реакции.
- При отрицательной реакции цвет не изменяется.

Тест Фогеса-Проскауэра (5-я лунка):

- Добавить в лунку 3-4 капли реактива Баррита А (R029) и 1 каплю реактива Баррита В (R030).
- При положительном результате в течение 10 мин развивается розово-красное окрашивание.
- Светло-медное окрашивание или отсутствие изменения цвета расценивают как отрицательный результат.

Тест с метиловым красным (6-я лунка):

- Внести 1-2 капли раствора метилового красного (I007).
- При положительном результате среда остается красной.
- Желтое окрашивание или обесцвечивание свидетельствуют об отрицательном результате.

Ферментация углеводов (лунки 7-12):

- При положительном результате цвет меняется с красного на желтый (закисление среды).
- При отрицательном результате цвет среды остается красным.

Общие указания

1. Перед использованием извлеченные из холодильника реактивы необходимо выдержать при комнатной температуре.
2. Некоторые микроорганизмы дают замедленную ферментацию углеводов, поэтому реакцию оценивают как и дополнительно инкубируют стрип в течение 24 ч. Если через 72 ч отмечается оранжевый цвет, реакцию считают отрицательной.
3. Иногда вследствие мутации, применения неадекватных питательных сред для выделения и хранения культуры дают атипичные реакции.
4. Биохимические профили, представленные ниже, взяты из официальных литературных источников и результатов лабораторного тестирования.



ДИАГНОСТИКА ЛИСТЕРИОЗА

Питательные
среды на службе
человечеству



Представительство в РФ, Странах СНГ и Балтии.
Почтовый адрес: 124498, Москва, а/я 130
Офис: 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 13 а, стр. 3.
Тел/Факс: (495) 940-33-96/ 940-33-97/ 940-33-98, 940-33-12/ 940-33-13/ 940-33-14
Тел. для справок +7 (095) 536-43-00.
E-mail: himedia@orc.ru

HiMedia Laboratories Pvt. Limited

A-406, Bhaveshwar Plaza, LBS Marg, Mumbai - 400 086, India. Fax : 00-91-22-4095 1920/1921, 2500 5764, 2500 2286 Phone : 4095 1919, 2500 0970, 2500 3747, 2500 1607
Email : Info@himedialabs.com Website : www.himedialabs.com

Наш сайт: www.himedialabs.ru