ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов «Питательная среда «Агар Listeria по Оттавиани и Агости (МБ-ALOA) с добавками»

для санитарно-бактериологических исследований

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Питательная среда «Агар Listeria по Оттавиани и Агости (МБ-ALOA) с добавками», предназначен для выделения и идентификации Listeria monocytogenes 766 и *Listeria innocua ATCC 33090* Не является медицинским изделием.

Объекты исследований: пробы пищевых продуктов, кормов для животных, окружающей среды.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПИСАНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Ферментативные гидролизаты казеина и животной ткани являются источником аминокислот, азота, минеральных солей и витаминов, необходимых для роста микроорганизмов. Глюкоза – источник углерода и энергии. Хлорид натрия необходим для поддержания транспортного и осмотического баланса. Дрожжевой экстракт - источник витаминов, особенно группы В. Пируват натрия является источником энергии для метаболизма и способствует восстановлению поврежденных бактерий. Сульфат магния – источник ионов магния для ферментативных реакций, в том числе репликации ДНК. Глицерофосфат магния - буферный агент.

Селективность среды достигается за счет присутствия хлорида лития, селективной добавки для листерий (цефтазидима, полимиксина В, налидиксовой кислоты, циклогексимида). Бактериологический агар является отвердителем.

Дифференцирующие свойства среды обусловлены использованием двух компонентов. Первый — это субстрат для определения фермента β-глюкозидазы, хромогенный компонент Х-глюкозида, окрашивающего колонии всех видов листерий в синий цвет. Другие микроорганизмы, имеющие этот фермент, например, энтерококки, ингибируются селективными агентами в составе среды.

Второй компонент – это субстрат липазы С, на который воздействует фермент, специфичный для Listeria monocytogenes766. Липаза обуславливает наличие матово-белого ареола вокруг колоний Listeria monocytogenes766, что позволяет дифференцировать колонии Listeria monocytogenes 766 от остальных видов Listeria innocua ATCC 33090

Набор реагентов с добавкой хромогенной липазной и с добавкой хромогенной селективной для листерий при добавлении Бульона полу-Фразер обеспечивает во всех засеянных чашках Петри рост:

Listeria monocytogenes 766 и Listeria innocua ATCC 33090 при посеве 0,1 мл микробной взвеси в Агар Listeria по Оттавиани и Агости (ALOA) при температуре 37 ± 1°С в течение 48±2 при выявлении Listeria monocytogenes 766 и 48 ч при выявлении Listeria innocua ATCC 33090

Показатель ингибиции: Набор реагентов должен полностью подавлять рост тест-штаммов Enterococcus faecalis ATCC 29212, Escherichia coli ATCC 8739 на всех засеянных чашках Петри.

3. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Состав набора	Количество готовой среды	
	Арт МБН11 на 1 л	АртМБН13 на 3л
Основа хромогенного агара для листерий по Оттавиани и Агости (ALOA)	1 уп.	1 уп.
Добавка хромогенная липазная для листерий	2 фл.	6 фл.
Добавка хромогенная селективная для листерий	2 фл.	6 фл.
Маркер перманентный М-биокс	1 шт.	1 шт.

*Эксплуатационная документация (паспорт качества, инструкция по применению) может быть изготовлена на бумажном носителе (вместе с изделием или отдельно от него) и в форме электронного документа посредством размещения в информационно-телекоммуникационной сети Интернет.

4. ИНГРЕДИЕНТЫ

4.1. Основа хромогенного агара для листерий по Оттавиани и Агости (ALOA).

Агар бактериологический -13,5 г/л
Ферментативный гидролизат животной ткани -18,0 г/л
Дрожжевой экстракт - 10,0 г/л
Глюкоза - 2,0 г/л
Глицерофосфат магния - 1,0 г/л
Гидрофосфат натрия - 2,5 г/л
Ферментативный гидролизат казеина - 6,0 г/л
Хлорид натрия - 5,0 г/л
Пируват натрия - 2,0 г/л
Хлорид лития - 10,0 г/л
5-Бром-4-хлор-3-индолил-β-D-глюкопиранозид - 0,05 г/л
Сульфат магния - 0,5 г/л

4.2. Добавка хромогенная селективная для листерий - 3±0,1 г/флакон:

Налидиксовая кислота - 0,010 г/флакон
Цефтазидим - 0,010 г/флакон
Полимиксин В - 38350 МЕ/флакон
Циклогексимид - 0,025 г/флакон

4.3. Добавка хромогенная липазная для листерий

Субстрат липазы С - 24±0,3 мл/флакон.

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность определяется с использованием тест-штаммов Listeria monocytogenes 766, Listeria innocua ATCC 33090, Escherichia coli ATCC 8739, Enterococcus faecalis ATCC 29212 при добавлении Бульона полу-Фразер – 100%. Возможно использование других тест-штаммов специфичных для проверки качества данной среды.

6. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

6.1. Физико-химический контроль

6.1.1. Основа хромогенного агара для листерий по Оттавиани и Агости (ALOA)

Внешний вид - тонкодисперсный порошок
Цвет сухой среды - бежевый
Цвет готовой среды - янтарный, слегка опалесцирует.
Растворимость - без осадка
Конечный pH (при 25°С) 7,2±0,2

6.1.2. Добавка хромогенная липазная для листерий

Цвет - желтый

6.1.3. Добавка хромогенная селективная для листерий

Цвет – белый.

6.2. Микробиологический тест

Условия инкубирования: 37±1°С / 48±4 часов.

Инокулят: Количественная продуктивность - 100±20 КОЕ. Мин.50 КОЕ;

Продуктивность качества - 10^3-10^4 КОЕ; Селективность - 10^4-10^6 КОЕ; Специфичность - 10^3-10^4 КОЕ.

Референсная среда: Триптиказо-соевый агар (TSA).

Микроорганизмы	Рост	Цвет колонии
Listeria monocytogenes 766	Хороший (2) >50%	Сине-зеленые колонии с непрозрачным ареолом
Listeria innocua ATCC 33090	Хороший (2) >50%	Сине-зеленые колонии без непрозрачного ареола
Escherichia coli ATCC 8739	Полное инги-бирование (0)	
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Полное ингибирование (0)	

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

7.1. При работе следует соблюдать Санитарные правила СанПиН 2.1.3684-21 и СанПиН 3.3686-21.

7.2. При использовании Набора реагентов образуются отходы классов А и Б.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

7.3. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

7.4. Не использовать Набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид среды не соответствует описанию.

7.5. Не использовать Набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
7.6. Не использовать Набор реагентов по истечении срока годности.

8. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором требуются следующие оборудование и материалы*:

– Термостат
– Весы лабораторные
– Автоклав
– Цилиндр стеклянный мерный
– Чашки Петри стерильные
– Спиртовка
– Петля бактериологическая
– Воронки стеклянные
– Резиновые или латексные перчатки
– Вода дистиллированная
– Средства дезинфекции
– Спирт этиловый 70%
– Контейнеры для жидких и твердых отходов

*использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку или аттестацию.

9. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ НАБОРА ДЛЯ АНАЛИЗА.

9.1. Приготовление добавок:

9.1.1. Добавка селективная для листерий.

Растворите содержимое каждого флакона добавки селективной для листерий в 6 мл стерильной дистиллированной воды.

9.1.2. Добавка хромогенная липазная для листерий готова к употреблению.

9.2. Приготовление питательной среды:

9.2.1. Для набора МБН11 на 1 литр готовой среды. Содержимое упаковки развести в 1000 мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 10 минут при 115°С. Охладить до 47-50°С и внести в стерильных условиях по 2 флакона добавки хромогенной липазной для листерий и добавки хромогенной селективной для листерий.

9.2.2. Для набора МБН13 на 1 литр готовой среды. Содержимое упаковки развести в 3000 мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 10 минут при 115°С. Охладить до 47-50°С и внести в стерильных условиях по 6 флаконов добавки хромогенной липазной для листерий и добавки хромогенной селективной для листерий

Готовую среду тщательно перемешать и разлить в чашки Петри.

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Выделение и подсчет Listeria monocytogenes 766 и Listeria innocua ATCC 33090:

Выделение:

- 25 г (или 25 мл) образца добавить к 225 мл Бульона полу-Фразер. Гомогенизировать и инкубировать при 30°С в течение 25±1 часов.
- Инокулировать 0,1 мл культуры из Бульона полу-Фразер в 10 мл Бульона Фразер. Инкубировать при 37 ± 1°С в течение 24±2 при выявлении Listeria monocytogenes 766 и 48 ч при выявлении Listeria innocua ATCC 33090
- Обогащенную культуру пересеять на Хромогенный агар для листерий (ALOA), подготовленный в соответствии с данной инструкцией так, чтобы получить хорошо разделенные колонии. Инкубировать в течение 48 ± 2 ч.
- Колонии с характерным для Listeria monocytogenes 766 и Listeria innocua ATCC 33090 ростом пересеять на поверхность плотных неселективных питательных сред и культивировать при температуре (37 ± 1) °С в течение (24 ± 3) ч для дальнейшего подтверждения по тестам идентификации.

Подсчет:

- Подготовить исходную суспензию образца в забуференной буферной пептонной воде или в Бульоне полу-Фразер в соотношении 1:10.
- Инокулировать 0,1 мл образца на поверхность Хромогенного агара для листерий (ALOA). Инкубировать при 37°С в течение 24±2 часов. Инкубировать дополнительно в течение 24 часов, если микробный рост не обнаружен.
- Выбрать колонии, предположительно являющиеся Listeria monocytogenes 766 или Listeria innocua ATCC 33090 и провести подтверждающие тесты.
- Подсчитать количество колоний Listeria monocytogenes 766 или Listeria innocua ATCC 33090.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

11.1. Транспортирование наборов должно проводиться при температуре от +2º до +25ºС любыми видами крытых транспортных средств в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

11.2. Срок транспортировки не должен превышать 14 дней.

11.2. Хранение набора – в сухом месте, в упаковке предприятия-производителя при температуре от +2º до +12ºС – в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

11.3. Срок годности набора - 2 года.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

12.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

12.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

12.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

12.4. Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность реагентов, нарушение целостности упаковки, недостаточные сведения. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым Набор реагентов признан негодным. Вместе с рекламацией направляют образцы данной серии Набора реагентов и протокол с результатами проверки. Рекламацию следует направить на предприятие-производитель.

По вопросам качества Набор реагентов «Питательная среда «Агар Listeria по Оттавиани и Агости (МБ-ALOA) с добавками», по ТУ 20.59.52-003-48129631-2025 просьба обращаться на предприятие-производитель:

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «М-БИОКС» (ООО «М-БИОКС»), 129323, Г.МОСКВА, ВН.ТЕР.Г. МУНИЦИПАЛЬНЫЙ ОКРУГ СВИБЛОВО, ПРОЕЗД РУСАНОВА, Д. 2, СТР. 1, e-mail: info@mbiox.ru, телефон: 8 (800) 201 77 97