

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной  
микробиологии и биотехнологии»

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению**

**«Питательной среды для селективного выделения и идентификации листерий сухой  
(ПАЛКАМ-агар)»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

«Питательная среда для селективного выделения и идентификации листерий сухая (ПАЛКАМ-агар)» предназначена для санитарно-бактериологических исследований пищевых продуктов и других объектов с целью селективного выделения и идентификации видов *Listeria*. Не является медицинским изделием.

### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА**

Выпускается комплектом – 1 банка с ПАЛКАМ-агаром и 4 флакона с селективной добавкой (СД).

ПАЛКАМ-агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного порошка розового цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

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

ПАЛКАМ-агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, СД во флаконах по 0,035 г.

#### **2.1. Принцип действия**

Выделение листерий основано на их способности гидролизовать эскулин с образованием эскулетина, который в присутствии ионов железа образует серо-зеленый комплекс с почернением среды вокруг колоний. Высокая селективность среды достигается за счет включения в состав полимиксина, акрифлавина, цефтазидима и хлорида лития.

## 2.2. СОСТАВ

ПАЛКАМ-агар представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки (ПГРМ сухой) и/или Панкреатический гидролизат казеина (ПГК сухой) .....	16,0
Пептон мясной .....	7,0
Дрожжевой экстракт .....	3,0
Крахмал растворимый .....	1,0
Натрий хлористый .....	5,0
Д(-) Маннит .....	10,0
Железо (III) лимонноаммиачное зеленое или железо лимонноаммиачное коричневое .....	0,5
Эскулин .....	0,8
Д-глюкоза .....	0,5
Литий хлористый .....	10,0
Феноловый красный, индикатор .....	0,08
Агар бактериологический .....	10,0±3,0

Состав СД, г/л

Полимиксина-В-сульфат .....	0,01
Цефтазидим .....	0,02
Акрифлавина гидрохлорид .....	0,005

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность: ПАЛКАМ-агар с СД должен обеспечивать на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-6}$  не позднее 48 ч инкубации при температуре  $(37\pm 1)$  °С рост тест-штаммов *Listeria monocytogenes* 766 и *Listeria ivanovi* в виде круглых колоний, серо-зеленого цвета, с образованием вокруг колоний черной зоны, *L. monocytogenes* 766 диаметром 1,4-1,8 мм, *L. ivanovi* - 1,2-1,4 мм.

Ингибирующие свойства. ПАЛКАМ-агар с СД должен полностью подавлять рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (NCTC 775) и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-4}$  через 48 ч инкубации при температуре  $(37\pm 1)$  °С.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

В состав среды входит литий хлористый и антибиотики, которые могут вызывать раздражение органов дыхания и рук. Во время работы необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук.

На этикетке указано «Осторожно!», «Содержит хлорид лития» и знак «!».

На коробке с СД предупредительная надпись «Осторожно!» и знак «!».

## **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- Термостат обеспечивающий температуру  $37 \pm 1$  °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ**

Объекты исследований - продукты питания, экологические образцы и др.

Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с ГОСТ 32031-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*, ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 2», МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах», ГОСТ ISO/TS 11133-2014 (часть I) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории», МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и другими нормативными документами.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

Исследование проводят в условиях санитарно-бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Приготовление ПАЛКАМ-агара с СД.

Навеску ПАЛКАМ-агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 3 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в емкости и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Содержимое флакона с селективной добавкой растворяют в 10 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают и вносят в стерильный, охлажденный до температуры 50-55 °С ПАЛКАМ-агар из расчета 10 мл на 1 л среды.

Готовая среда в чашках прозрачная красно-коричневого цвета. Допускается небольшая опалесценция.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 14 суток при температуре хранения 2-8 °С.

7.2. Исследуемый материал, подготовленный согласно соответствующим документам, засевают соответственно на чашки Петри с ПАЛКАМ-агаром и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют до 48 ч при температуре (37±1)°С.

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

Учет результатов проводят визуально после инкубации посевов по наличию и характеру роста. ПАЛКАМ-агар подавляет рост эшерихий, энтерококков и стафилококков.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с нормативной документацией.

## **9. УТИЛИЗАЦИЯ**

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

Уничтожение ПАЛКАМ-агара после проведения биологического контроля осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре (126±1) °С.

Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

## **10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ**

ПАЛКАМ-агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги. СД хранят при температуре 2-8 °С.

ПАЛКАМ-агар транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. СД – не менее срока годности среды. Комплект с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие ПАЛКАМ-агара заявленным в ТУ 9385-236-78095326-2016 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По всем вопросам, касающимся качества «Питательной среды для селективного выделения и идентификации листерий сухой (ПАЛКАМ-агар)», получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.