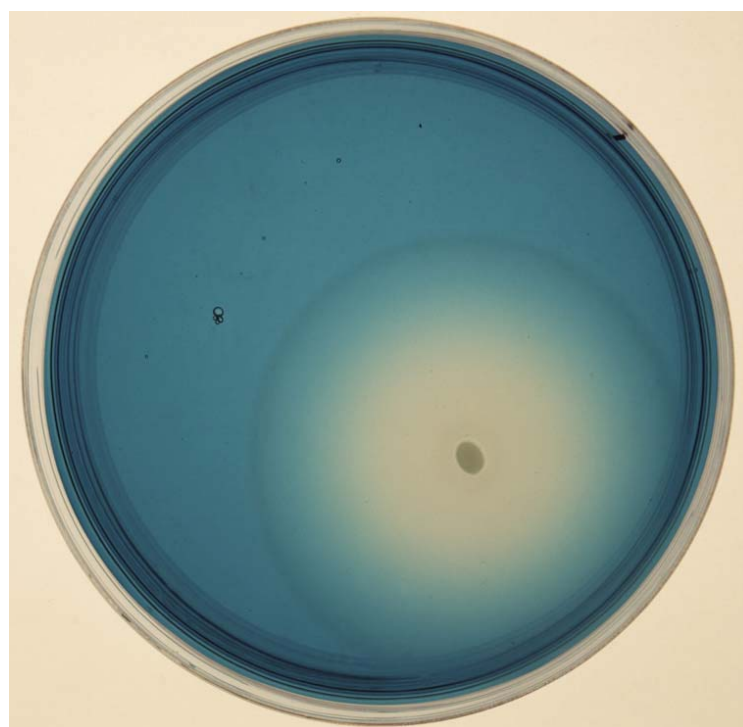


## Информационный бюллетень № 461

### Модифицированный полужидкий агар Раппапорта-Вассилиадиса (ISO) CM1112



Аластейр Томас «OXOID»

Июнь 2008

Перевод компании «СИМАС»

Август 2008

Данный документ на русском языке является собственностью компании «СИМАС».

**Компания «СИМАС» - эксклюзивный дистрибьютор  
компании OXOID.**

**[WWW.SIMAS.RU](http://WWW.SIMAS.RU)**

## РАЗДЕЛ 1: РЕЗЮМЕ

### 1.1 Описание продукта

Модифицированный полужидкий агар Раппапорта-Вассилиадиса (МАРВ) (ISO) используется для избирательного обогащения видов рода *Salmonella* из пищевых продуктов, фекалий животных и образцов из окружающей среды. Эта среда соответствует техническим требованиям к составу и рабочим характеристикам, описанным в ISO 6579: 2002 Приложение D Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных – горизонтальный метод обнаружения видов рода *Salmonella* spp. - обнаружение *Salmonella* spp. в фекалиях животных и образцах из окружающей среды. Для колоний подвижных сальмонелл характерны серо-белые мутные зоны, распространяющиеся от точки посева. Зоны окружены белым ободком с резкой границей.

### 1.2 Ключевые характеристики продукта

Название	МАРВ (ISO)	Новобиоциновая добавка
Источник	CM1112B	SR0181E
Размер/формат упаковки	500 г	10 флаконов
Срок хранения, не менее	2 года	2 года
Условия хранения	2-8°C	2-8°C

## РАЗДЕЛ 2: ОПИСАНИЕ МИКРООРГАНИЗМА

### 2.1 Обзор свойств микроорганизма

К настоящему времени определено более 2500 серотипов сальмонелл. Хотя для человека могут быть патогенны все серотипы, они часто классифицируются по своим животным-хозяевам. Число серотипов, имеющих ограниченное число хозяев (заражают только один или несколько видов животных), невелико; например, к ним относятся *Salmonella Typhi* у приматов, *Salmonella dublin* у крупного рогатого скота, *Salmonella choleraesuis* у свиней. Инфекция человека этими штаммами часто оказывается инвазивной и может угрожать жизни. Однако у большинства серотипов широкий спектр хозяев. Обычно такие штаммы вызывают гастроэнтерит, в основном неосложненный и не требующий лечения, но могущий протекать тяжело у детей, пожилых людей и у больных с пониженным иммунитетом. К этой группе относятся *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*, два самых распространенных серотипа возбудителя сальмонеллеза, передающиеся от животных к людям.

Человек обычно заражается сальмонеллезом при потреблении зараженной пищи животного происхождения (главным образом мяса, птицы, яиц и молока), хотя возможно заражение через многие другие продукты, в том числе фрукты и овощи, загрязненные навозом. Возбудители передаются через пищевую цепь от первичных производителей и попадают на кухни жилых домов и пищевых предприятий. Сальмонеллез представляет собой серьезную проблему здравоохранения и является причиной значительных расходов во многих странах. Очень немногие страны сообщают данные об экономических последствиях этого заболевания.

По оценкам, в США регистрируется 1,4 млн случаев сальмонеллеза, не относящихся к тифу, которые являются причиной 168000 визитов к врачам, 15000 госпитализаций и 580 смертей ежегодно. По оценкам стоимости, каждый случай сальмонеллеза обходится примерно в \$40 при отсутствии осложнений, а при госпитализации или смерти эта цифра может достигать \$4,6 млн. По оценкам, общие расходы, связанные с сальмонеллезом в США, составляют 3 миллиарда \$ ежегодно.

В последние несколько десятилетий наблюдается эволюция специфических серотипов сальмонелл в интенсивном животноводстве, и, вследствие этого, у людей. Самая последняя эпидемия, охватившая многие европейские страны, была вызвана *Salmonella enteritidis*; ее пик пришелся на 1992 г. Наблюдающееся в настоящее время снижение распространенности этого штамма подготавливает почву для повторной вспышки *Salmonella typhimurium* как наиболее важного серотипа в этиологии сальмонеллеза у человека. Другой возможный сценарий — в обозримом будущем во многих странах будут доминировать оба этих штамма с эпидемическим потенциалом.

## 2.2 Текущие методы исследования

Текущие методы выделения сальмонелл из пищевых продуктов основаны на неселективном обогащении, селективном обогащении и последующем посеве на селективные твердые среды.

### ISO

Текущие принятые в Европе методы основаны на ISO 6579:2002 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных – горизонтальный метод обнаружения *Salmonella* spp<sup>2</sup>. Модификация этого метода включает использование MAPB вместо бульона PB при анализе пищевых продуктов, однако этот метод не аттестован Thermo Fisher Microbiology и не является методом ISO. Протокол для ISO6579:2002 Приложение D, анализ фекалий животных и образцов из окружающей среды, можно найти в разделе 3.2

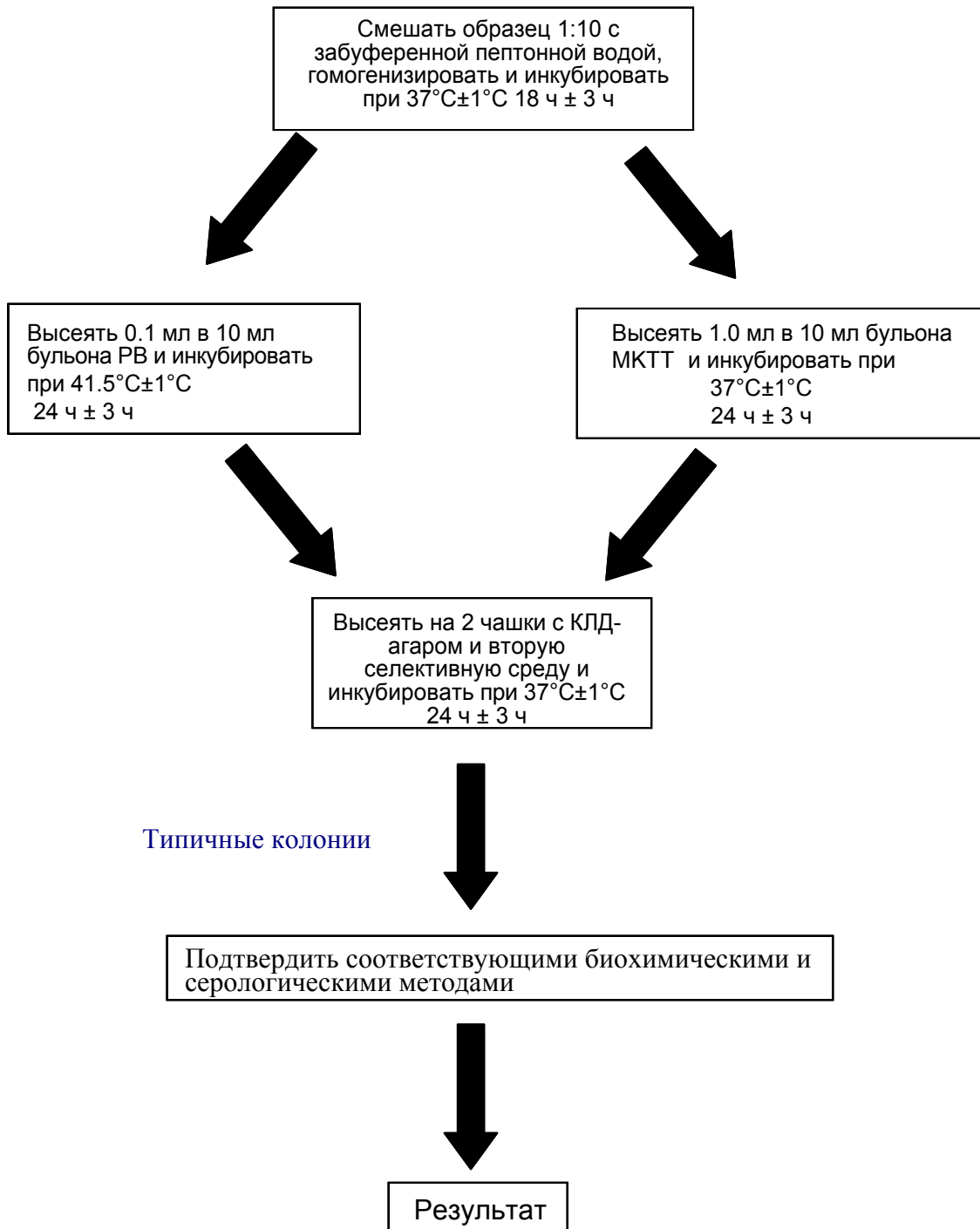
### BAM

Метод US FDA BAM<sup>3</sup> по своему принципу сходен с методом ISO.

Так как среды, температура и время инкубации варьируют в зависимости от типа проб, точный метод см. в соответствующих стандартах.

## Краткое описание метода ISO:

### ISO 6579:2002



### 2.3 Требования

Большинство национальных и международных стандартов безопасности не допускают присутствия видов рода *Salmonella* в любых пищевых продуктах. Например, в требовании Европейской Комиссии No. 2073/2005 к микробиологическим критериям пищевых продуктов<sup>4</sup> указано:

*Пищевые продукты не должны содержать микроорганизмов и токсичных продуктов их обмена в количествах, представляющих недопустимый риск для здоровья человека.*

Пищевые продукты для продажи на протяжении срока хранения не должны содержать сальмонелл в 25 г (или в 10 г для ограниченного числа типов продуктов до 2010 года, в последующем размер пробы будет изменен на 25 г). Это относится ко всем продуктам, употребляющимся в сыром или термообработанном виде, и ко всему пищевому сырью. Исключением является только сырье или продукты, процесс производства или состав которых исключает риск присутствия сальмонелл.

На бойнях и в убойных цехах также необходим регулярный контроль туш на отсутствие сальмонелл. При обнаружении сальмонелл необходимо принять меры по улучшению гигиены убойного цеха и пересмотреть контроль в процессе производства, выяснить происхождение зараженных туш и принять меры по обеспечению безопасности на ферме, откуда закупаются животные.

### 2.4 Информация о рынке

Согласно общепринятому мнению, наиболее значимым источником сальмонеллеза у человека являются животные продукты. *Salmonella* могут передаваться людям через различные продукты, в том числе яйца, мясо, птицу, а также при прямом контакте с животными и местами их содержания.

По данным обзора FoodNet<sup>5</sup>, чаще всего в пищевых продуктах обнаруживаются следующие пять серотипов: *Salmonella typhimurium* (19%), *Salmonella enteritidis* (18%), *Salmonella newport* (10%), *Salmonella heidelberg* (6%) и *Salmonella javiana* (5%).

В 2005 г было проведено 53,5 млн. исследований на сальмонеллы, что составляет 47,5% от общего числа исследований на патогенные микроорганизмы, в том числе конечных продуктов (53.8%), сырья (16.9%), образцов из окружающей среды (16.5%) и проб в процессе производства (12.8%) по всему миру<sup>6</sup>.

Исследование на патогенные микроорганизмы производится как на производстве, так и вне его, с использованием различных методов, в том числе традиционные культуральные методы, иммунологические и молекулярные методы.

В Северной Америке иммунологические и молекулярные методы – наиболее распространенные способы исследования пищевых продуктов на наличие патогенных микроорганизмов.

Традиционные культуральные методы составляют всего 18% от всех исследований на патогенные микроорганизмы в Америке. В противоположность этому, в Европе традиционные культуральные методы составляют более 50% от

общего количества исследований на патогенные микроорганизмы, а в Азии и остальных странах мира – 85%. Иммунологическое исследование на патогенные микроорганизмы в Европе составляет около 45% от общего числа, а молекулярно-биологические методы – около 5%.

## **РАЗДЕЛ 3: ПОДРОБНЫЕ СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ**

### **3.1 Применение**

Подвижность на среде MAPB дает простой и чувствительный метод выделения сальмонелл из пищевых продуктов и проб из окружающей среды. Он включен в ISO 6579:2002 Приложение D<sup>1</sup>, где описано выделение сальмонелл из фекалий животных (птицы, свиней и скота) и проб из окружающей среды, связанных с первичными стадиями производства (например, пыль). В Приложении D среда MAPB заменяет среду Раппопорта-Вассилиадиса, которая все еще используется в методе ISO 6579:2002 для селективного обогащения *Salmonella* в пищевых продуктах<sup>2</sup>.

### **3.2 Протоколы**

Сводное описание методик показано ниже.

#### **3.2.1 Состав**

##### **Модифицированная полужидкая среда Раппопорта-Вассилиадиса (ISO)**

<b>Агар MAPB (ISO) CM1112</b>	г/л
Ферментативный перевар животной и растительной ткани	4.6
Кислотный гидролизат казеина	4.6
Натрия хлорид (NaCl)	7.3
Калия дигидрофосфат (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1.5
Магния хлорид безводный (MgCl <sub>2</sub> )	10.9
Малахитовый зеленый (оксалат)	0.04
Агар	2.7

##### **Новобиоциновая добавка SR0181**

Новобиоцин	0.01
------------	------

pH 5.2 (5.1 - 5.4) при 25°C

#### **3.2.2 Указания**

Суспендируйте 31,6 г основы среды MAPB в 1000 мл дистиллированной воды. Доведите до кипения при постоянном перемешивании.

**НЕ АВТОКЛАВИРУЙТЕ.** Остудите до 50°C и асептически добавьте содержимое одного флакона с новобиоциновой добавкой (SR0181), растворенной согласно инструкции. Хорошо перемешайте и разлейте в стерильные чашки Петри. Это полужидкая среда; не переворачивайте чашки.

#### **3.2.3 Способ применения**

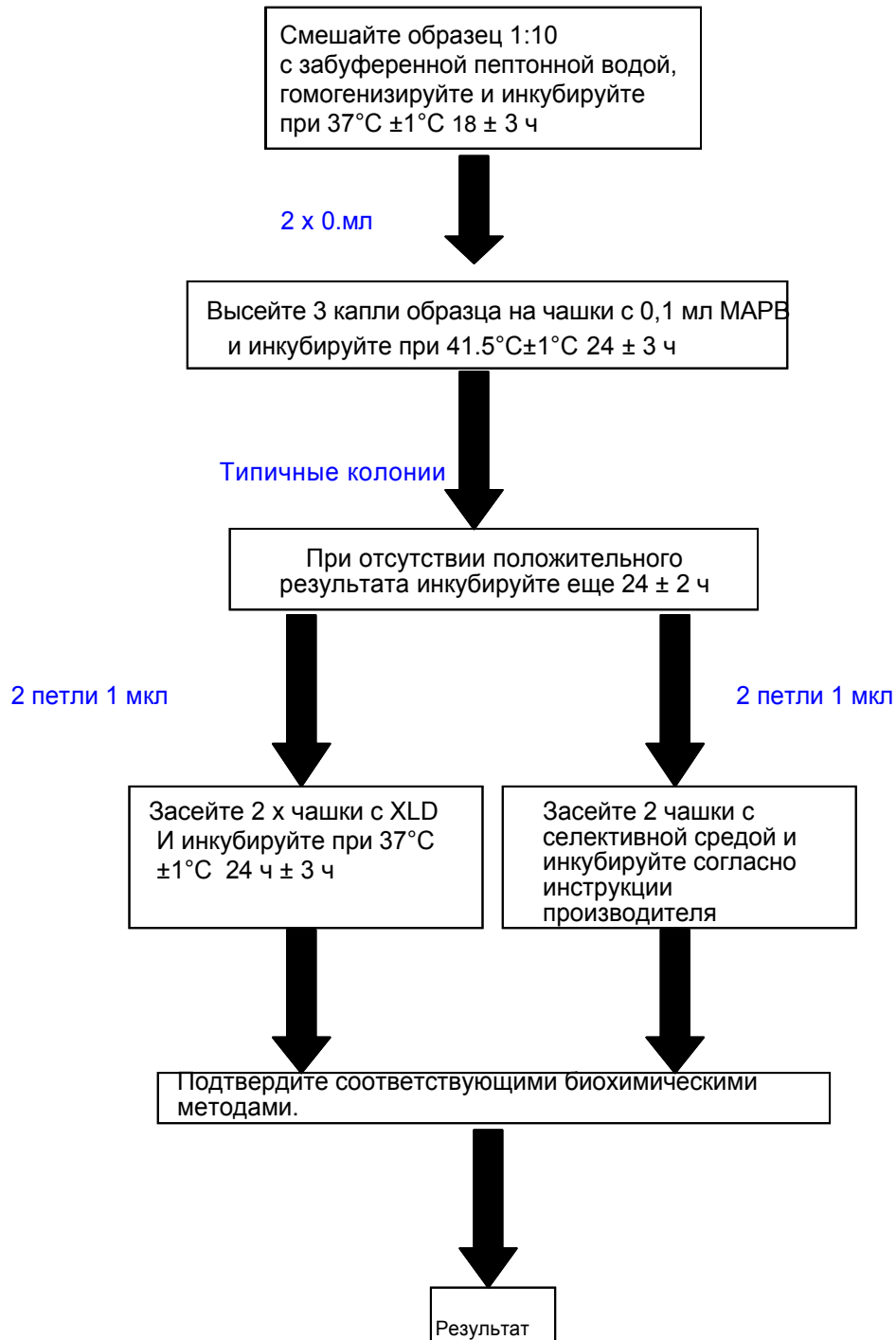
См. 3.2

#### **3.2.4 Внешний вид:**

Сухая среда: Легкий зеленый порошок. Готовая среда: полужидкий гель синего цвета.

## Краткая схема метода ISO:

### ISO 6579:2002 Приложение D (МАРВ)



### 3.2.5 Хранение и стабильность

Храните сухую среду при температуре 10-30°C и используйте до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Храните селективную добавку в темном месте при температуре 2-8°C и используйте до истечения срока хранения на этикетке.

Готовую среду можно хранить до 3 недель при температуре 2-8°C вдали от света.

### 3.2.6 Меры предосторожности

Основа среды очень гидрофобна.

Работайте с сухой средой в защитной маске и перчатках. Подробнее см. в паспорте безопасности материала.

### 3.2.7 Контроль качества

Микроорганизм	Culti-loop® Код заказа	Типичные колонии
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC®14028	C6000L	Колонии соломенного цвета в месте посева, окруженные ободком
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC®13076	C8200L	Колонии соломенного цвета в месте посева, окруженные ободком
<i>Escherichia coli</i> ATCC®8739	C7085L	Рост ограничен или отсутствует
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC®29212	C7030L	Рост ограничен или отсутствует
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853	C7060L	Рост ограничен или отсутствует

### 3.3 Технология

Метод основан на способности сальмонелл к миграции через селективную среду быстрее конкурирующих грамотрицательных подвижных микроорганизмов и образованию желтых непрозрачных зон роста. Новобиоцин и малахитовый зеленый подавляют рост грамположительной микрофлоры.

### 3.4 Рабочие характеристики

МАРВ (ISO) сравнивали с текущим продуктом и продукцией конкурентов по протоколу ISO 6579:2002, приложение D<sup>1</sup>. 47 штаммов *Salmonella* и 23 других штамма высевали на среду и исследовали рост на протяжении 48 часов.

Оригинальный состав описан De Smedt *et al*<sup>7</sup>; согласно этому источнику, МАРВ должен содержать 20 мг/л новобиоцина в качестве селективного компонента; такая концентрация используется в средах производства Merck и Biokaг. Однако в приложении В ISO 6579:2002 указано, что последующие исследования обнаружили подавление роста сальмонелл в обработанных продуктах, поэтому



рекомендуется снизить концентрацию до 10 мг/л. Таким образом, к среде Оксид добавляли новобиоцин в концентрации 10 и 20 мг/л, чтобы установить возможное влияние концентрации на рабочие характеристики среды, а также для сравнения конкурирующих сред.

Название	Компания	Код
МАРВ с 20 г/л новобиоцина	Merck	1.09878.0500
Основа среды МАРВ, модифицированная	Biokar	250.033994.54
МАРВ с 10 мг новобиоцина	Oxoid	CM0910
МАРВ с 20 мг/л новобиоцина	Oxoid	CM0910
МАРВ (ISO) с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	CM1112
МАРВ (ISO) с 20 мг/л новобиоцина	Oxoid	CM1112

### 3.4.1 Соотношение ложноположительных/ложноотрицательных результатов

Ложноположительные результаты

Название	Компания	Число ложноположительных результатов	Штаммы
Основа МАРВ, модифицированная	Merck	3	<i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Citrobacter freundii</i>
Основа МАРВ, модифицированная	Biokar	4	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Citrobacter freundii</i>
МАРВ с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	3	<i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Citrobacter freundii</i>
МАРВ с 20 г/л новобиоцина	Oxoid	2	<i>Citrobacter freundii</i>
МАРВ (ISO) с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	1	<i>Citrobacter freundii</i>
МАРВ (ISO) с 20 мг/л новобиоцина	Oxoid	3	<i>Citrobacter freundii</i>

### Ложноотрицательные результаты

Название	Компания	Число ложно-отрицательных результатов	Штаммы
Основа МАРВ, модифицированная	Merck	4	S. Gallinarum S. Typhimurium S. Dublin
Основа МАРВ, модифицированная	Biokar	1	S. Typhimurium
МАРВ с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	1	S. Typhimurium
МАРВ с 20 г/л новобиоцина	Oxoid	3	S. Typhimurium
МАРВ (ISO) с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	1	S. Gallinarum S. Typhimurium
МАРВ (ISO) с 20 мг/л новобиоцина	Oxoid	2	S. hadar S. Typhimurium

### 3.4.2 Специфичность/чувствительность

Название	Компания	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Основа МАРВ, модифицированная	Merck	92	87
Основа МАРВ, модифицированная	Biokar	98	83
МАРВ с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	98	87
МАРВ с 20 г/л новобиоцина	Oxoid	94	96
МАРВ (ISO) с 10 мг/л новобиоцина	Oxoid	98	96
МАРВ (ISO) с 20 мг/л новобиоцина	Oxoid	96	87

## РАЗДЕЛ 4: КОНКУРИРУЮЩАЯ ПРОДУКЦИЯ

### 4.1 Сводная информация о конкурентах

	Merck	Biokar	Oxoid (ISO)
Код	1.09878.0500	250.033994.54	CM1112
pH*	5.4±0.2	5.2±0.2	5.2±0.2
Концентрация новобиоцина	20 мг/л	20 мг/л	10 мг/л
Чувствительность	92	98	98
Специфичность	87	83	96
Соответствие ISO	Нет	Нет	Да

\* Согласно ISO 6579:2002 приложению D<sup>1</sup> pH среды составляет 5.2 (5.1 - 5.4)

Данные очевидно свидетельствуют, что МАРВ (ISO) от **OXOID** по свойствам превосходит продукцию Merck и Biokar, обладая большей чувствительностью и специфичностью. Кроме того, продукция Оксид соответствует ISO относительно pH и концентрации новобиоцина.

#### Источники

1. ISO 6579:2002 Annex D. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage.
2. ISO 6579:2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
3. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 5. Andrews, W.H. Andrews and Hammack, T.S.
4. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
5. MMWR Surveill Summ. 2006. 55 (10): pp.1-42. Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C.
6. Report-Food Micro (2005) Global review of microbiology testing in the food processing market. Strategic consulting inc. Woodstock, U.S.
7. De Smedt, J.M et al. (1986). *J Food Prot.* 49. pp. 510-514.

Приобрести продукцию **OXOID** и получить квалифицированную консультацию Вы можете у эксклюзивного дистрибьютора – компании **СИМАС**.

117 587 , г. Москва, Варшавское шоссе, д.125, стр.1  
Т.ф (495) 980-29-37, 311-22-09, 319-22-78, 781-21-58  
[info@simas.ru](mailto:info@simas.ru), [www.simas.ru](http://www.simas.ru)