

IBISA®

Только для микробиологического контроля

Селективная среда для обнаружения *Salmonella* spp

AES 10/11 – 07/11

МЕТОД IBISA®

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ МЕТОД АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА

Сертификат AFNOR

<http://nf-validation.afnor.org>

Для продуктов питания, кормов животных, а также проб окружающей среды, исключая образцы первичной продукции.

Дата окончания срока действия документа NF VALIDATION указана в самом сертификате

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Среда IBISA® используется для выявления *Salmonella* spp в продуктах питания человека, кормах для животных, а также в пробах окружающей среды предприятий по производству продуктов питания.

ПРИНЦИП

Принцип IBISA® состоит в использовании смеси хромогенных субстратов (с эстеразной активностью), специфически расщепляемых сальмонеллой, с одновременным измерением активности β-глюкозидазы, позволяющим отличить представителей *Salmonella* от других энтеробактерий. После инкубации сальмонеллы образует очень характерные колонии зеленого цвета, в то время как рост других микроорганизмов подавляется либо приводит к формированию бесцветных или пурпурных колоний. Агар IBISA® позволяет обнаруживать подвижные и неподвижные сальмонеллы, а также лактозоположительные сальмонеллы, включая серовары такие как Typhi и Paratyphi. Особый состав IBISA® придает агару характерный желтый цвет. Благодаря этой особенности контраст цветов возрастает и лучше видны результаты посева на чашках; а также происходит специфическое замедление роста других микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae.

СОСТАВ НАБОРА**Готовая к использованию среда**

AEB520060 : упаковка из 20 чашек 90 мм

AEB520059 : упаковка из 120 чашек 90 мм

AEB180045 : Специальная добавка IBISA® (ISS)
100 мл для 40 x 25г образцов**СОСТАВ****Расчетная формула.**

Состав данной среды можно изменить и/или дополнить в соответствии с требуемыми рабочими характеристиками:

Специальная смесь пептонов	14,00г
Хлорид натрия	5,00г
Селективные реагенты	4,00г
Хромогенная смесь ^а	2,30г
Агар	18,00г
Дистиллированная вода	1000 мл
pH 7,2	

Расчетная формула. Специальная добавка (СД) IBISA® в граммах на литр

Состав данной среды можно изменить и/или дополнить в соответствии с требуемыми рабочими характеристиками:

Селективная смесь	3,60
Красящее вещество	1,40

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Инкубатор

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Забуференная пептонная вода + СД IBISA® (Ref. : AEB910343/4 или Ref. : AEB910345/2)
- SALSA™ (Ref. : AEB125980 или Ref. : AEB526760)
- Латекс *Salmonella* spp latex kit (Ref. : MGNF42)

ВОЗМОЖНЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Забуференная пептонная вода (например : Ref : AEB910505/2)
- Оксидазные полоски (например : Ref. : MGNMID61G)
- IBILoop (Ref. : AESDL0430)
- Упаковка STEPPER (Ref. : SCO411500)
- Шприцы 500-5000 µl (Ref. : SCO3165009)

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для микробиологического контроля.
- Только для профессионального использования.
- Набор содержит продукты животного происхождения. Сертификат о происхождении и/или санитарном состоянии животных полностью не гарантирует отсутствия возбудителей трансмиссивных заболеваний. По этой причине рекомендуется считать эти продукты потенциально инфекционными и при обращении с ними соблюдать обычные меры предосторожности и технику безопасности (не принимать внутрь и не вдыхать).
- Все образцы, культуры микроорганизмов и инокулированные чашки следует считать инфекционными и требуют обращения с ними должным образом. На протяжении всей процедуры исследования необходимо соблюдать правила асептики и обычные меры предосторожности при обращении с исследуемой группой бактерий. См. «CLSI® M29-A, Защита персонала лаборатории от инфицирования в процессе работы», утвержденное руководство — действующая версия. Дополнительную информацию о мерах предосторожности при обращении см. в документе «Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях — Центр контроля и профилактики заболеваний (CDC)/Национальные институты здравоохранения (NIH) — последнее издание» или действующих нормативах в стране использования.

- Не следует использовать питательную среду как производственный материал или источник компонентов.
- Не используйте реактивы после истечения срока их годности.
- Не используйте реактивы, если упаковка повреждена.
- Не используйте контаминированные чашки или чашки, содержащие конденсат.
- Не используйте флаконы/пробирки, в которых имеются признаки бактериальной контаминации.
- При вскрытии флакона убедитесь в целостности предохранительной упаковки.
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.

ХРАНЕНИЕ

- Храните чашки/флаконы в предназначенном для них контейнере при температуре 2-8°C до истечения срока годности.
- Беречь от света

ОБРАЗЦЫ

Следуйте рекомендациям действующих стандартов при выполнении отбора и предварительной подготовки образцов.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ (также см. Приложение 1)

Метод IBISA® (продукты питания и корма для животных, пробы окружающей среды)

• Подготовка образцов

Разведите X г образца в 9X мл забуференной пептонной воды либо используйте другой растворитель в соответствии с образцом (например: какао, кислые продукты питания..., см. конкретные стандарты).

Гомогенизируйте суспензию с использованием перистальтического блендера.

Добавьте к подготовленному образцу специальные добавки (СД)¹ IBISA®. Например, к раствору навески массой 25 г в 225 мл забуференной пептонной воды необходимо добавить 2,5 мл ± 0,25 мл СД IBISA®. Гомогенизируйте суспензию вручную.

Появление типичного голубого окрашивания позволяет валидизировать данный шаг. Для оптимизации процесса рекомендуется использовать пипетку Stepper, позволяющую выполнить простое, последовательное и воспроизводимое распределение добавки.

¹СД IBISA® также можно внести непосредственно в забуференную пептонную воду перед разведением.

• Обогащение:

Инкубируйте образцы при температуре 41,5°C ± 1°C от 16 до 20 часов. После инкубации можно хранить обогащенный бульон в течение 72 часов при температуре 2–8 °C до пересева на чашки с IBISA®.

• Инокуляция и инкубация:

Из обогащенного бульона возьмите 10 мкл, посейте классическим методом штриха на агар IBISA® и инкубируйте при температуре 37°C ± 1°C в течение 24 ч ± 3 ч.

Для упрощения процедуры рекомендуется использовать IBILoop со стерильными петлями.

После инкубации чашки с агаром IBISA® можно держать на холоде (72 ч максимум) до считывания результатов и возможного подтверждения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На питательной среде IBISA® сальмонеллы образуют очень характерные зеленые колонии.

С целью валидации согласно Национальному формуляру (NF) все предположительно положительные результаты должны быть подтверждены (от 1 до 5 колоний, если с первой колонией получен отрицательный результат, идентифицируйте остальные 4 колонии) одним из следующих методов:

- из колоний, выделенных на чашках IBISA®, с применением классических тестов, описанных в стандартах CEN или ISO (включая этап очистки);

- с применением нуклеиновых проб в соответствии со стандартом ISO 7218, из выделенных колоний (с этапом очистки или без нее), как, например, в методе AdiaFood® *Salmonella*;

- оксидазным тестом на одной характерной колонии, выделенной на IBISA®. При отрицательном оксидазном тесте выполните латекс-тест на сальмонеллы *Salmonella* spp latex kit (MGNF42). Положительная реакция агглютинации подтверждает наличие сальмонелл;

- оксидазным тестом на одной характерной колонии, выделенной на IBISA®. Если оксидазный тест отрицательный, выполните изоляцию на агаре SALSA™ и инкубируйте 24 ч ± 2 ч при 37°C ± 1°C.

В случае противоречивых результатов (предположительно положительные на питательной среде IBISA®, не подтвержденные выбранным методом валидации в частности латексом), лаборатория должна выполнить достаточный объем исследований для обеспечения валидности результата.

ОГРАНИЧЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- соответствие стандарту GLP (Good Laboratory Practice), например см. действующую версию стандарта ISO 7218.
- В соответствии с отметкой о валидации согласно Национальному формуляру, были протестированы только образцы массой до 25 г.
- СД IBISA® вносят пропорционально массе образца (см. раздел «Процедура»). При добавлении СД IBISA® допускается погрешность ± 10%.
- После добавления СД IBISA® к образцу, перемешанному перистальтическим блендером, повторно выполнять такое перемешивание не имеет смысла. Достаточно обычной гомогенизации вручную.
- После вскрытия флакон с СД IBISA® необходимо хранить на холоде. Его можно хранить до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Сальмонелла дает отрицательный результат при выполнении оксидазного теста. В связи с этим при получении зеленых колоний на среде IBISA® с положительным оксидазным тестом дальнейшие подтверждающие тесты не требуются. Такие результаты при исследовании по методу IBISA® будут считаться отрицательными.
- Некоторые штаммы с положительным оксидазным тестом, например *Pseudomonas*, могут иметь характерный вид на среде IBISA®. Оксидазный тест позволяет легко отличить такие штаммы от представителей *Salmonella*.

- Забуференная пептонная вода с СД IBISA® непригодна для приготовления исходной суспензии для количественного определения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

IBISA® разработана и внедрена согласно строгим требованиям качества.

Результаты исследований, полученные при тестировании штаммов при контроле за бактериологической активностью, приведены в сертификате качества для каждой партии, доступном на нашем сайте (www.biomerieux.com).

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Неиспользованные реагенты могут считаться не опасными и утилизироваться соответствующим образом.

Утилизируйте использованные реактивы, а также загрязненные материалы, в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Сотрудники лаборатории несут ответственность за утилизацию отходов в соответствии с типом и классом опасности, согласно действующим нормам и положениям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ISO 6579 (2002): Microbiologie des aliments: Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp
2. NF EN ISO 7218 (2007) et /A1 (2013): Microbiologie des aliments – Exigences générales et recommandations. – Amendement 1

ИСТОРИЯ ПЕРЕСМОТРОВ

Изменение категорий типа

Н/П

Корректурa

Технические изменения

Административные изменения

Примечание:

Не применимо (первое издание)

Исправление ошибок в документации

Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации

Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя

Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Содержимого достаточно для <n> тестов
	Беречь от света
	Сертификат контроля качества – Партия соответствует действующему протоколу контроля качества

Дата выпуска	Номер раздела	Тип изменений	Обзор изменений
2015/06	520060E	Административные изменения	Создание таблицы история пересмотров.
		Технические изменения	Комплект ИНСТРУКЦИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТЫ Таблица символов и обозначений

BIOMERIEUX, голубой логотип, SALSA и IBISA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации торговыми марками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. Другие названия и торговые марки являются собственностью соответствующих владельцев. CLSI является торговой маркой, принадлежащей Институту клинических лабораторных стандартов.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

Метод IBISA® : для обнаружения *Salmonella*

Д 0 :
Предварительное
обогащение



$X^{(1)}$ г или $X^{(1)}$ мл исследуемого образца
+ 9 X мл забуференной пептонной воды (ЗПВ)
(например 25 г образца + 225 мл ЗПВ)

+
Добавьте СД IBISA®
(например : 2.5 мл ± 0.25 мл для 225мл ЗПВ)
Типичное голубое окрашивание бульона
позволяет валидировать данный шаг



(1) : В рамках валидации согласно
национальному формуляру (NF)
образцы массой более 25 г или мл не
исследовали

↓
Инкубируйте 16 - 20 часов при t° (41,5 ± 1)°C

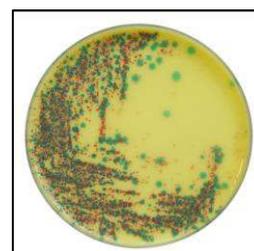
Д 1 :
Изоляция

↓
Наберите 10 мкл обогащенной жидкой
среды и посейте классическим методом
штриха на чашку с агаром IBISA®

↓
Инкубируйте (24 ± 3) часа при температуре (37 ± 1)°C

Д 2 :
Обнаружение

Наблюдение за средой на предмет типичных колоний



Колонии
пурпурного
цвета



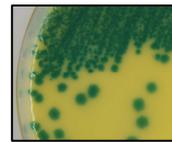
Наличие энтеробактерий, отличных от *Salmonella* :

➔ Отсутствие *Salmonella* в образце

Колонии розового
или пурпурного
цвета



Колонии
зеленого цвета



Наличие типичных колоний

➔ Предположительное наличие *Salmonella*

➤ Подтверждение

В рамках валидации NF требуют подтверждения все предположительно позитивные результаты, полученные альтернативным методом обнаружения возбудителей



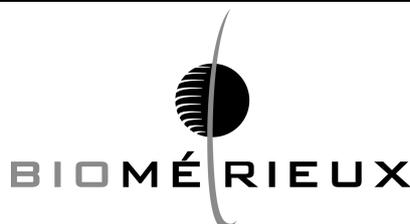
AES 10/11 – 07/11
МЕТОД IBISA®

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ МЕТОД АГРОПРОМЫШЛЕННОГО АНАЛИЗА

Сертификат AFNOR

<http://nf-validation.afnor.org>

BIOMERIEUX, голубой логотип, SALSA и IBISA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации торговыми марками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. Другие названия и торговые марки являются собственностью соответствующих владельцев. CLSI является торговой маркой, принадлежащей Институту клинических лабораторных стандартов.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 R.C.S LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

IBISA® : для обнаружения *Salmonella* Подтверждение предположительно положительного результата

1 – КЛАССИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ

Из колоний выделенных на агаре IBISA®, с применением классических тестов, описанных в стандартах CEN или ISO (включая этап очистки).

2 – НУКЛЕИНОВЫЕ ПРОБЫ

С применением нуклеиновых проб по стандарту ISO 7218, из выделенных колоний (с этапом очистки или без нее), как, например, в методе ADIAFOOD *Salmonella*.

3 – Короткий протокол подтверждения IBISA®

Оксидазный тест на одной характерной колонии, выделенной на IBISA®. При отрицательном оксидазном тесте выполните латекс-тест на сальмонеллы.



Отрицательная оксидазная реакция и положительный латекс-тест подтверждают наличие сальмонелл в образце.

4 – Протокол подтверждения IBISA® за 24 часа

Выполните оксидазный тест на одной характерной колонии, выделенной на IBISA®. Если оксидазный тест отрицательный, выполните изоляцию на агаре SALSA™ и инкубируйте 24ч ± 2ч при 37°C ± 1°C.

Отрицательная оксидазная реакция и типичный профиль SALSA™ подтверждают наличие сальмонелл в образце.



BIOMERIEUX, голубой логотип, SALSA и IBISA являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации торговыми марками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний. Другие названия и торговые марки являются собственностью соответствующих владельцев. CLSI является торговой маркой, принадлежащей Институту клинических лабораторных стандартов.