

МОНГОЛ УЛСЫН СТАНДАРТ

Ангилалтын код: 07.100.30

Хүнсний микробиологи. <i>Listeria monocytogenes</i> ба <i>Listeria</i> spp. илрүүлэх, тоолох ерөнхий арга. 1-р хэсэг: Илрүүлэх арга	MNS ISO 11290-1:2020
Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> and of <i>Listeria</i> spp. —Part 1: Detection method	ISO 11290-1:2017-ын оронд

Стандарт, хэмжил зүйн газрын даргын ... оны дугаар сарын ... -ны өдрийн ... дугаар тушаалаар батлав.

Энэхүү стандарт нь улсын бүртгэлд бүртгэсэн өдрөөс эхлэн хүчинтэй.

АНХААРУУЛГА—Лабораторийн ажилтны эрүүл мэндийг хамгаалахын тулд, *L.monocytogenes* ба *Listeria* spp. илрүүлэх шинжилгээг зөвхөн чадварлаг микробиологчийн хяналтанд, зохих ёсоор тоногдсон лабораторид явуулах ба өсгөвөрлөсөн бүх материалыг устгахдаа маш анхааралтай ажиллана. Энэ стандартыг хэрэглэж буй хүмүүс лабораторийн энгийн практик ажлыг мэддэг байх шаардлагатай. Энэ стандарт нь аюулгүй ажиллагааны бүх асуудлыг шийдвэрлэхгүй боловч түүнийг заасан тохиолдолд зааварчилгааг дагаж мөрдөнө. Аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн зохих дадлыг тогтоох, үндэсний хууль тогтоомжийг дагаж мөрдөх зэрэг нь стандарт хэрэглэгчийн үүрэг юм. Ялангуяа *L. monocytogenes*-ийг илрүүлэх шинжилгээг биоаюулгүйн 2-р зэрэглэлийн лабораторид гүйцэтгэхийг зөвлөж байна. Мөн лабораторийн эмэгтэй ажилтан *L.monocytogenes*, *Listeria* spp.-ийн халдвар эхээр дамжин ургийн хөгжилд сөргөөр нөлөөлдөг эрсдлийн талаар мэддэг байх, жирэмсэн болон бие султай эсвэл ямар нэгэн дархлааны эмгэгтэй хүн *L. monocytogenes*, *Listeria* spp.-ийн өсгөвөртэй харьцаж болохгүй.

1 Хамрах хүрээ

Энэ стандарт нь дараах ерөнхий аргыг заана

- *L.monocytogenes*-ийг илрүүлэх, мөн
- *Listeria* spp.-ийг илрүүлэх (үүнд *L.monocytogenes* багтана).

Энэхүү стандарт нь

- хүний хэрэгцээнд зориулагдсан болон малын тэжээлийн бүтээгдэхүүн
- хүнс үйлдвэрлэх болон түүнтэй харьцах орчны дээж зэргийг хамаарна.

Listeria-ийн зүйлүүд энэ аргаар илрүүлж, батлах боломжгүй байдаг тул нэмэлт арга хэрэглэхийг зөвшөөрдөг.^{[5],[10],[12],[14],[25],[26],[27]}

2 Норматив эшлэл

Энд зарим буюу бүх агуулга нь энэхүү стандартын шаардлагыг бүрдүүлдэг дараах баримт бичгийг заана. Хугацаа заасан ишлэлийн хувьд зөвхөн дурдсан хэвлэлийг хэрэглэнэ. Хугацаа заагаагүй эшлэлийн хувьд, эш татсан баримт бичгийн хамгийн сүүлийн хэвлэл (аливаа нэмэлт өөрчлөлтийг оруулаад)-ийг хэрэглэнэ.

ISO 6887 (бүх хэсгүүд), *Microbiology of food and animal feeding stuffs—Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs—General requirements and guidance for microbiological examinations*

ISO 11133, *Microbiology of food, animal feed and water—Preparation, production, storage and performance testing of culture media*

3 Нэр томьёо, тодорхойлолт

Энэ стандартад дараах нэр томьёо, тодорхойлолтыг хэрэглэнэ.

ISO ба IEC-ийн стандартад ашиглах нэр томьёоны өгөгдлийн санг дараах хаягаас авч болно:

- IEC Electropedia: <http://www.electropedia.org/>
- ISO Онлайн хайлтын платформ: <http://www.iso.org/obp>

3.1

Listeria monocytogenes

энэ стандартын дагуу шинжилгээ хийхэд морфологи, физиологи, биохимийн тодорхой шинж үзүүлдэг, мөн хатуу сонгомол тэжээлт орчин дээр хэв шинжит колони үүсгэдэг бичил биетэн

3.2

***Listeria monocytogenes*-ийг илрүүлэх**

энэ стандартын дагуу шинжилгээ хийхэд, тухайн бүтээгдэхүүний масс эсвэл эзэлхүүн мөн тодорхой гадаргуу дээр *Listeria monocytogenes* (3.1) илэрч байгаа эсэхийг тодорхойлох

3.3

***Listeria* spp.**

энэ стандартын дагуу шинжилгээ хийхэд морфологи, физиологи, биохимийн тодорхой шинж үзүүлдэг, мөн хатуу сонгомол тэжээлт орчин дээр хэв шинжит колони үүсгэдэг бичил биетэн

3.4

***Listeria* spp.-ийг илрүүлэх**

энэ стандартын дагуу шинжилгээ хийхэд, тухайн бүтээгдэхүүний масс эсвэл эзэлхүүн мөн тодорхой гадаргуу дээр *Listeria* spp. (3.3) илэрч байгаа эсэхийг тодорхойлох

4 Аргын мөн чанар

4.1 Ерөнхий зүйл

Listeria spp. нь бага тоогоор байж болох ба ихэнхдээ их тооны бусад бичил биетэнтэй хамт байдаг тул сонгомол баяжуулалт хийх шаардлагатай байдаг. Түүнчлэн эхний сонгомол баяжуулалтын тэжээлт орчны дарангуйлагч бодисын агууламжийг бууруулж гэмтсэн эсвэл стресст орсон *Listeria* spp.-ийг илрүүлэх шаардлагатай.

ТАЙЛБАР: *L.monocytogenes* нь бусад *Listeria*-ийн зүйлүүд, тухайлбал *L.innocua* эсвэл *L. ivanovii*-тэй хамт илэрч болно.

Энэхүү стандартын хүрээнд *L.monocytogenes* ба *Listeria* spp.-ийг илрүүлэхдээ А хавсралтад заасан дараалсан дөрвөн үе шатыг шаарддаг.

4.2 Сонгомол бодисын концентрацийг бууруулсан сонгомол шингэн тэжээлт орчин (хагас-Фразер шөл)-д эхний баяжуулалт хийх

Шинжилгээний сорьц (9.1)-ыг шингэрүүлэх шингэн болох акрифлавин, налидиксийн хүчил агуулсан хагас сонгомол тэжээлт орчин (хагас-Фразер шөл, В.1-ийг үзэх)-д тарилга хийнэ. Эхний булингыг 30 °С температурт 24-26 цаг өсгөвөрлөнө.

4.3 Сонгомол бодис бүхий сонгомол шингэн тэжээлт орчин (Фразер шөл)-д хоёрдогч баяжуулалт хийх

4.2-т заасны дагуу илрүүлсэн өсгөврийг өтгөрүүлсэн хоёр дахь шингэн баяжуулах тэжээлийн орчин (Фразер шөл)-д тарина. Фразер шөлийг 37 °C температурт 24 цаг өсгөвөрлөнө.

4.4 Сонгомол хатуу тэжээлт орчинд тарих

4.2 болон 4.3-т заасны дагуу илрүүлсэн өсгөврийг дараах хоёр сонгомол хатуу тэжээлт орчинд тарина.

- Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар (Ном зүй [16] ба [17] ба В.3-ыг үзэх);
- Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар тэжээлт орчинтой ижил төрлийн сонгомол хатуу тэжээлт орчныг хэрэглэх бол тус тэжээлт орчноос нэгээс илүүгүй субстрат /эсвэл зарчмаар ялгаатай байна (В.4-ийг үзэх). Тэжээлт орчны талаарх мэдээллийг Е Хавсралтаас үзэх.

Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар тэжээлт орчныг 37°C-д нийт 48 цаг өсгөвөрлөнө. Хэрэв *L.monocytogenes* эсвэл *Listeria* spp. гэж таамаглаж буй колони 24 цагийн дотор илэрвэл өсгөвөрлөлтийг энэ шатнаас зогсоож болно. Хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчныг тохирох температурт өсгөвөрлөж, тохирох цаг хугацааны дараа шалгана.

4.5 Баталгаажуулах

L.monocytogenes эсвэл *Listeria* spp. гэж таамаглаж буй колонийг 4.4-д заасан тэжээлт орчинд өсгөвөрлөж, шаардлагатай морфологи /эсвэл биохимийн шинжилгээгээр баталгаажуулна.

5 Тэжээлт орчин, урвалж бодис

Лабораторийн үйл ажиллагаа, ISO 7218 болон ISO 11133-ыг үз.

Тэжээлт орчин, урвалж бодисын найрлага, тэдгээрийн бэлтгэлийг В хавсралтад тайлбарласан болно.

6 Тоног төхөөрөмж ба хэрэглэх зүйлс

Микробиологийн лабораторийн энгийн (ISO 7218-ийг үзэх) буюу дараах тоног төхөөрөмжийг ашиглана.

6.1 Хуурайгаар (хатаах шүүгээ) болон уураар ариутгах (автоклав) багаж

ISO 7218 стандартыг үзэх.

6.2 Хатаах шүүгээ эсвэл дулаан тогтоогуур, (25-50) °C температурт ажиллах чадвартай.

6.3 Дулаан тогтоогуур, (30±1) °C, (37±1) °C болон (25±1) °C-д (сонголтоор) тус тус ажиллах чадвартай.

6.4 Усан халаагуур, (47-50) °C температурт ажиллах чадвартай.

6.5 Ариун гогцоо, ойролцоогоор 3 мм голчтой эсвэл 10 μл эзлэхүүн бүхий тарилгын зүү эсвэл утас.

6.6 рН метр, 25 °C-д 0,01 нэгж хүртэл унших боломжтой, ± 0,1 рН нэгжийн утгыг нарийвчилах чадвартай.

6.7 Ариун хэмжээст шилэн эсвэл автомат соруур, 1 мл, 10 мл-ийн хуваарьтай

6.8 Ариун Петрийн аяга, жишээ нь 90 мм-ийн голчтой.

6.9 Микроскоп, гэрлийн ялгарал сайтай, тавиур шил болон бүрхүүл шилтэй

6.10 Хөргөгч, $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ температурт ажиллах чадвартай.

7 Дээж авах

Дээж авах хэсэг нь энэ стандартын аргад заагаагүй. Хэрэв бүтээгдэхүүнээс дээж авах тусгай Олон улсын стандарт байхгүй бол талууд харилцан тохиролцохыг зөвлөж байна. Хүнс, малын тэжээлийн дээжийн хувьд ISO/TS 17728^[3] стандартыг үзэх. Орчны дээж авах бол ISO 18593^[2] стандартыг мөн Ном зүй [24]-ийг хэрэглэнэ. Лабораторийн шинжилгээнд бүтээгдэхүүнийг бүрэн төлөөлж чадахуйц, тээвэрлэлт, хадгалалтын явцад гэмтэж өөрчлөгдөхгүй дээжийг хүлээж авах шаардлагатай (ISO 7218 стандартыг үзэх).

8 Шинжилгээний дээж бэлтгэл

Тухайн бүтээгдэхүүнтэй холбоотой Олон улсын стандартын дагуу шинжилгээний дээжийг бэлтгэнэ [ISO 6887 (бүх хэсэг) ба ISO 18593^[2] стандартыг үзэх]. Хэрэв тусгай стандарт байхгүй бол талуудыг харилцан тохиролцохыг зөвлөж байна.

9 Шинжилгээний явц

9.1 Шинжлэгдэхүүний хэмжээ, эхний булинга

ISO 6887 (бүх хэсэг) болон шинжлэх бүтээгдэхүүнд тохирох Олон улсын стандартыг үзэх.

Эхний суспензийг бэлтгэхэд ерөнхий тохиолдолд В.1 (хагас-Фразер шөл)-д заасан баяжуулалтын өмнөх тэжээлийг шингэлэгч уусмалаар ашиглана.

Ерөнхийдөө эхний булингыг бэлтгэхийн тулд 25 г эсвэл 25 мл шинжигээний сорьцыг 225 г буюу 225 мл эхний сонгомол баяжуулах тэжээлт орчин (В.1)-днэмж шинжилгээний дээжийг 10 дахин шингэлэн нэгэн төрлийн болгоно. Эхний сонгомол баяжуулах тэжээлт орчин хэрэглэхийн өмнө тасалгааны хэмд байлгана.

Энэ стандарт нь 25 г бүхий дээжид баталгаажсан болно. Дээжийн бага хэмжээний сорьцыг ашиглан эхний баяжуулах шөл болон шинжилгээний дээжийн хоорондын харьцаа ижил байхаар нэмэлт баталгаажуулалт/ баталгаажилт хийлгүйгээр хэрэглэж болно. Хэрэв баталгаажуулалт /баталгаажилтын судалгаагаар *L.monocytogenes* эсвэл *Listeria* spp.-ийг илрүүлэхэд сөрөг нөлөөгүйг тогтоосон бол эхний баталгаажилтанд их хэмжээний сорьцыг ашиглаж болно.

1-Р ТАЙЛБАР: Баталгаажуулалтыг ISO 16140 (бүх хэсэг) стандартын зохих хэсгийн дагуу хийж болно^[1]. Дээжийг баталгаажуулахдаа ISO 6887-1:2017, D хавсралт (чанарын шинжилгээ хийх дээжийг нэгтгэн баталгаажуулах протокол)-д заасан протоколын дагуу хийнэ. *Listeria*-ийн нэгдлийн дээжийн тухай мэдээллийг Номзүй [21] ба [22]-ыг үзэх.

2-Р ТАЙЛБАР: Хэмжээ ихтэй тохиолдолд, дээжийн сорьцтой холихын өмнө эхний сонгомол баяжуулах тэжээлт орчинг $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ хүртэл урьдчилан халаахыг зөвлөж байна.

9.2 Эхний баяжуулалт

9.1-ийн дагуу бэлтгэсэн эхний баяжуулалт бүхий тэжээлт орчин (хагас-Фразер шөл, В.1-ийг үзэх)-г 30°C (6.3)-д 25 ± 1 цаг өсгөвөрлөнө.

1-Р ТАЙЛБАР: Өсгөвөрлөлтийн явцад хар өнгө үүсдэг.

2-Р ТАЙЛБАР: Урьдчилан баяжуулсан дээжийг өсгөвөрлөсний дараа Фразер шөлрүү шилжүүлэхийн өмнө 5°C (6.10) температурт хамгийн ихдээ 72 цаг хадгалах боломжтой.

(Ном зүй [20]-г үзэх).

9.3 Хоёр дахь баяжуулалт

9.3.1 Эхний булинга (эхний баяжуулалт)-ыг 25 ± 1 цаг (9.2) өсгөвөрлөсний дараа, эхний баяжуулалт хийгдсэн 9.2 (түүний өнгө үл харгалзан)-ээс 0,1 мл-ийг 10 мл

хоёр дахь баяжуулах тэжээлт орчин (Фразер шөл) (B.2) бүхий хуруу шил эсвэл шилэн саванд шилжүүлж өсгөвөрлөнө.

9.3.1 Тарилт бүхий тэжээлт орчин (9.3.1)-г 37 °C (6.3) температурт 24±1 цаг өсгөвөрлөнө.

ТАЙЛБАР: *Listeria monocytogenes*-ээс бусад *Listeria* spp.-ийн зүйлүүдийг илрүүлэхдээ бүрэн сэргээх зорилгоор дахин 24 цаг өсгөвөрлөнө.

9.4 Сэлгүүлэн тарих, тодорхойлох

9.4.1 Ерөнхий

9.4.1.1 30 °C (6.3) температурт 25±1 цаг өсгөвөрлөсөн эхний баяжуулалтын өсгөврөөс (9.2) эхний сонгомол хатуу тэжээлт орчин болох Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агарын гадаргууд гогцоо (6.5) зүүгээр тарилт хийж, цэвэр тусгаар колони гаргаж авна.

Дурын хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчин (B.4)-д ижил аргаар тарилт хийнэ.

ТАЙЛБАР: Хагас-Фразер ба Фразерийн шөлийг ялгах сонгомол тэжээлт орчин руу шилжүүлэхийн өмнө хөргөгчинд 5 °C (6.10) температурт хамгийн ихдээ 72 цаг хадгалах боломжтой [20].

9.4.1.2 Хоёр дахь баяжуулалтыг 37 °C (6.3)-д 24±2 цаг (9.3.2) өсгөвөрлөсний дараа сонгомол тэжээлт орчинд 9.4.1.1-д заасны дагуу давтан тарилга хийнэ.

9.4.1.3 9.4.1.1 болон 9.4.1.2-т тарилт хийсэн Петрийн аяга бүхий Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар (B.3)-ыг 37 °C (6.3) температуртай дулаан тогтоогуурт доош харуулан байрлуулна. Хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчны (B.4) хувьд, үйлдвэрлэгчийн зааврыг дагана.

9.4.1.4 Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агарыг нийт 48±2 цаг өсгөвөрлөнө. Хэрэв *L.monocytogenes* эсвэл *Listeria* spp. гэж таамаглаж буй колони 24±2 цагт илэрвэл тус шатанд өсгөвөрлөлтийг зогсоож болно. Хоёр дахь сонгомол агарыг тохирох хугацаанд өсгөвөрлөнө. *L.monocytogenes* эсвэл *Listeria* spp. гэж таамаглаж буй колони байгаа эсэхийг (9.4.1.3) шалгана.

ТАЙЛБАР: Өсгөвөрлөсний дараа үр дүнг уншихийн өмнө аягыг хөргөгчинд 5 °C (6.10) температурт хамгийн ихдээ 48 цаг хадгалах боломжтой.

9.4.2 Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар

Тунгалаг хүрээтэй хөх-ногоон колони (ердийн колони)-ийг *L.monocytogenes* гэж таамаглана. *L..ivanovii*-ийн колони мөн тунгалаг хүрээтэй хөх-ногоон колони байдаг. *Listeria* spp. гэж таамаглах колони нь тунгалаг хүрээтэй буюу хүрээгүй хөх-ногоон өнгөтэй байдаг.

1-Р ТАЙЛБАР: *L.monocytogenes*-ийн зарим омгууд нь стрессд орсноор ялангуяа хүчлийн стрессд орсноор маш сул хүрээ (эсвэл бүр ямар ч хүрээгүй) үүсгэдэг.

2-Р ТАЙЛБАР: Зарим ховор *L.monocytogenes* нь PIPLC (фосфатидилинозитолфосфолипаза C)-ийн сул идэвхи үзүүлдэг. Ийм бичил биетний өсгөвөрлөлтийг жишээлбэл, дөрвөн өдөр хүртэл хугацаагаар сунгаж илрүүлнэ.Эдгээр омгийн зарим нь өвчин үүсгэгчид байж болно^[13]. *L.monocytogenes*-ийн ямар ч омог PIPLC сөрөг гэж тэмдэглэгдээгүй.

3-Р ТАЙЛБАР: *Listeria* spp.-ээс бусад организм дээрх тэжээлт орчинд цэнхэр колони үүсгэдэг. В хавсралт ба Ном зүй [23]-г үзэх.

9.4.3 Хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчин

Хэрэглэсэн тэжээлт орчны хэлбэр, түүний онцлогт суурилан (B.4) *Listeria* spp. эсвэл *L.monocytogenes* гэж таамаглаж буй колони ургасан эсэхийг тохиромжтой хугацааны дараа шалгана. Дэлгэрэнгүй мэдээллийг E хавсралтаас үзэх.

9.5 *L.monocytogenes* эсвэл *Listeria* spp. гэж батлах

9.5.1 Батлах сорилд колони сонгох

9.5.1.1 *L.monocytogenes*-ийг батлахын тулд *L.monocytogenes* гэж тооцогдох дор хаяж нэг колонийг (9.4.2 ба 9.4.3-ыг үзэх) сонгоно. Дээж бүрээс нэг колони сонгоход хангалттай. Эхний колони сөрөг байвал, сонгомол тэжээлт орчин

(сонгомол тэжээлт орчин бүхий аяга тус бүрээс хамгийн ихдээ 5 колони)-оос *L.monocytogenes* гэж тооцсон колонийг дахин сонгож авна.

Сонгосон колонийг сонгомол бус урьдчилан хатаасан тэжээлт орчны гадаргууд зурааслан тарьж, тухайлбал цустай агар, нутрейнт агар, триптон шар буурцаг дрожжийн хандтай агар (TSYEA) (B.14) зэрэгт тусгаар колони гаргаж авна.

Цэвэр өсгөвөр гаргаж авахад цустай агарыг хэрэглэх нь гемолизийн сорил эерэг өсгөвөр ялгах боломж олгодог (9.5.2.5.2 ба D хавсралтыг үзэх). Хэрэв цустай агар дээр гемолизийн хүрээ илрээгүй бол гемолизийн сорилыг хатгах аргаар (9.5.2.5.2) эсвэл шингэн орчинд (9.5.2.5.3) тарих замаар гүйцэтгэнэ.

Тарилт бүхий аягыг 37 °C (6.3) температурт 18-24 цаг эсвэл хангалттай өсөлттэй болох хүртэл өсгөвөрлөнө.

Хэрэв колони ялгагдаагүй бол *L.monocytogenes*-ийн хэв шинжит колонийг өөр сонгомол бус агар бүхий аяганаас сонгоно. Сонгомол бус агараас цэвэр колони сонгож дараах шинжилгээг (9.5.2) гүйцэтгэнэ.

9.5.1.2 *Listeria* spp.-ийг батлахын тулд *Listeria* spp. гэж тооцогдох дор хаяж нэг колонийг (9.4.2 ба 9.4.3-ыг үзэх) сонгоно. Эхний колони нь сөрөг байвал, сонгомол тэжээлт орчин(сонгомол тэжээлт орчин бүхий аяга тус бүрээс хамгийн ихдээ 5 колони)-оос *Listeria* spp. гэж тооцсон колонийг дахин сонгож авна.

Listeria spp.-ийг баталгаажуулахдаа TSYEA тэжээлт орчинг ашиглана.

Сонгосон колонийг урьдчилан хатаасан TSYEA (B.14) тэжээлт орчны гадаргууд зурааслан тарьж тусгаар колони гаргаж авна.

Тарилт бүхий аягыг 37 °C (6.3) температурт 18-24 цаг эсвэл хангалттай өсөлттэй болох хүртэл өсгөвөрлөнө.

TSYEA тэжээлт орчин дээрх *Listeria* spp.-ийн хэв шинжит колони нь 1-2 мм диаметртэй, гүдгэр, өнгөгүй, тунгалаг захтай байна. Тарилт бүхий аягыг 45 градусын өнцөгт гэрэл (хиймэл буюу байгалийн)-д харвал, колони нь хөх саарал өнгөтэй, мөхлөгт гадаргуутай харагддаг.

9.5.2 *L.monocytogenes*-ийг батлах

9.5.2.1 Ерөнхий

L.monocytogenes-ийг батлах сорилыг гүйцэтгэнэ. Батлах сорил бүрт тохирох эерэг ба сөрөг хяналтын омгийг хэрэглэнэ.

1 дүгээр хүснэгтэд жагсаасан (тодоор бичсэн) заавал шаардлагатай сорилыг гүйцэтгэнэ.

1-р хүснэгт – *L.monocytogenes*-ийг батлах сорил

Сорил	<i>L.monocytogenes</i> -ийг батлах сорил	Үр дүн
Заавал шаардлагатай	Микроскопийн шинжилгээ ^a (9.5.2.4)	Богино нарийн савханцар эсвэл коккобацил
	Бета-гемолиз (9.5.2.5)	+
	L-Рамноза (9.5.2.7)	+
	D-Ксилоза (9.5.2.7)	-
Сонголтоор	Каталазын сорил (9.5.2.2)	+
	25 °C температурт хөдөлгөөн (9.5.2.3)	+
	КАМП сорил (9.5.2.6)	+
^a Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу <i>Listeria</i> -ийн агар хэрэглэсэн мөн хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчин нь өвчин үүсгэгч болон өвчин үүсгэдэггүй <i>Listeria</i> spp.-ийг ялгадаг тохиолдолд микроскопийн шинжилгээг сонголтоор хэрэглэнэ.		

Батлах сорилын үр дүнгийн талаарх дэлгэрэнгүй мэдээллийг D хавсралтаас үзэх.
ТАЙЛБАР: Ялгасан *Listeria monocytogenes*-ийн өсгөврийг батлахдаа ISO 7218 стандартад дурьдсан аргачлалыг ашиглаж болно.

Хэрэв үр дүн баталгаатай гэж үзвэл *Listeria monocytogenes*-ийн биохимийн шинжийг таних цомгийг ашиглаж болно (ISO 7218 стандартыг үзэх).

L.monocytogenes-ийн зарим ховор омгууд нь энэ стандартад заасан нөхцлийн дагуу бета-гемолизийн хүрээ эсвэл КАМП сорилд эерэг үр дүн үзүүлдэггүй. Хэрэв RIPLC сул идэвхтэй зүйлүүд нь Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу Листериа агар дээр гемолизийн хүрээ үүсгэдэггүй хэв шинжит колони байвал *L.monocytogenes* мөн эсэхийг тодорхойлох нэмэлт сорил (Грамын будаг, каталазын сорил, хөдөлгөөн, КАМП сорил, PCR зэрэг) хийхийг зөвлөж байна.

9.5.2.2 Каталазын сорил (сонголтоор)

9.5.1.1-т заасны дагуу ялгасан колонийг авч, тавиур шилэн дээр нэг дусал устөрөгчийн хэт ислийн уусмал (В.6)-тай холино. Нэн даруй хийн бөмбөлөг үүсэх нь эерэг урвалыг харуулна.

ТАЙЛБАР: Цустай агараас ялгасан колони нь заримдаа каталазын урвалд хуурамч-эерэг үр дүн өгдөг.

9.5.2.3 Хөдөлгөөний сорил (сонголтоор)

9.5.1.1-т заасны дагуу ялгасан колонийг авч, сонгомол бус шингэн тэжээлт орчин бүхий хуруу шилэнд суспензлэнэ.

25 °C температуртай дулаан тогтоогуур (6.3)-т 8-24 цаг тэжээлт орчинд булинга үүстэл өсгөвөрлөнө.

Дээрх өсгөврөөс гогцоо зүү (6.5) ашиглан нэг дуслыг авч микроскопийн цэвэр тавиур шилэн дээр байрлуулна. Дээд талд нь бүрхүүл шил байрлуулан микроскоп (6.9)-оор харна.

Listeria spp. (*L.monocytogenes* мөн хамаарна) нь тонгорох хөдөлгөөнтэй нарийн, богино савханцар харагдана.

Өсгөврийг 25 °C-ээс дээш температурт өсгөвөрлөж байгаа тохиолдолд энэ хөдөлгөөнийг үзүүлдэггүй. Үүнийг *Listeria*-ийн мэдэгдэж буй өсгөвөртэй харьцуулж үзнэ. Кокк, том савханцар, эсвэл түргэн сэлэх хөдөлгөөнтэй савханцар нь *Listeria* spp. биш юм.

Хөдөлгөөн тодорхойлох өөр сорилын хувьд тарилгын зүү (6.5) ашиглан сонгомол бус агараас ялгасан колоний хэсгийг ариун ус (эсвэл бусад тохиромжтой шингэлэгч)-аар шингэлж хэрэглэнэ. *Listeria* spp. (*L.monocytogenes* мөн хамаарна) нь тонгорох хөдөлгөөнтэй нарийн, богино савханцар харагдана.

Мөн өөр сорилын хувьд, тарилгын зүү (6.5) ашиглан 9.5.1.1-д ургасан хэв шинжит колониос авч хөдөлгөөн тодорхойлох агар (В.7)-т хатгаж тарина. 25 °C температурт 48 ± 2 цаг өсгөвөрлөнө.

Хатгалтын эргэн тойронд ургалтыг шалгана. *Listeria* spp. нь хөдөлгөөн нь шүхэр хэлбэрийн ургалт үзүүлдэг. Хэрэв өсөлт хангалтгүй байвал 5 хоног хүртэл өсгөвөрлөн хатгалтыг дахин ажиглана.

ТАЙЛБАР: *Listeria*-ийн зарим шинэ зүйл саяхан ялгагдсан байна. [5], [10], [12], [14], [25], [26], [27] Тэдгээрийн ихэнх нь хөдөлгөөн тодорхойлох агар дээр хөдөлгөөнгүй байна.

9.5.2.4 Микроскопийн шинжилгээ (сонголтоор өвчин үүсгэгч *Listeria* spp. илрүүлэх тусгай агарыг хэрэглэсэн тохиолдолд)

9.5.1.1-д ургасан цэвэр тусгаар колонийг авч, микроскопийн бэлдэц (Грамын будаг зэрэг) бэлтгэнэ. *Listeria* spp. (*L.monocytogenes* мөн хамаарна) нь шинэ өсгөврөөс бэлтгэсэн бол тонгорох хөдөлгөөнтэй, Грам эерэг (хэрэв Грамын будалт хийсэн бол), нарийн, богино савханцар эсвэл коккобацил харагдана.

Грамын будаг бүхий микроскопийн бэлдэц хийх аргыг ISO 7218 стандартаас үзэх.

9.5.2.5 Гемолизийн сорил

9.5.2.5.1 Ерөнхий

Дараах гемолизийн сорилуудын аль нэгийг сонгоно (9.5.2.5.2 эсвэл 9.5.2.5.3).

ТАЙЛБАР: Энэ стандартад заасан нөхцөлд *L.monocytogenes*-ийн зарим ховор омгууд b-гемолиз эсвэл КАМП сорилд эерэг дүн үзүүлдэггүй.

9.5.2.5.2 Цустай агарт гемолиз үүсгэх

Морфологи, физиологийн шинж нь *Listeria* spp. гэж тодорхойлогдож байвал цустай агар бүхий аяга (B.8)-нд тарьж гемолизийн урвалыг тодорхойлно.

Хэрэглэхийн өмнө агарын гадаргууг сайтар хатаана. 9.5.1.1-ээс ялгасан колонийг авч, тэжээлт орчны хэсэгт зүү (6.5)-гээр тарина. Энэ тарилтыг өсгөвөр бүрт давтана. Хэрэв боломжтой бол, нэг аяган дээр эерэг (*L.monocytogenes*) болон сөрөг (*L.innocua*) хяналтын өсгөврийг тарина. Жишээ нь: *L.monocytogenes* 4b WDCM 00021 эсвэл *L.monocytogenes* 1/2a WDCM 00109, *L.innocua* WDCM 00017 зэргийг ашиглаж болно.

Шинжилгээний болон хяналтын омгийг 37 °C (6.3) температурт 24±2 цаг өсгөвөрлөсний дараа шалгана. *L.monocytogenes* нь гемолизийн нарийн, тунгалаг, цайвар бүс үзүүлдэг; харин *L.innocua* нь тарилтын эргэн тойронд тунгалаг хүрээ үзүүлдэггүй. *L.seeligeri* нь ихэвчлэн гемолизийн идэвхи сул хүрээ үзүүлдэг. *L.ivanovii* нь ихэвчлэн гемолизийн зураас бүхий хүрээ сайн үзүүлдэг. Шинжилгээний өсгөврийг хяналттай харьцуулахдаа тод гэрэлд өсгөвөрлөлтийг харж шалгана.

1-Р ТАЙЛБАР: Гемолизийн урвал нь тарилтын эргэн тойронд тэжээлт орчны гадаргуу дээр тунгалаг хүрээ үүссэнээр илүү амархан танигдана.

2-Р ТАЙЛБАР: Гемолизийн сорилыг КАМП тестийн шинжилгээнд ашигладаг цустай агар тэжээлт орчинд тарьж болно.

9.5.2.5.3 Цусны улаан эсийг ашигладаг гемолизийн урвал

Цусны улаан эсийг ашиглан дараах байдлаар гемолизийн урвал явагдаж болно.

150 μл сонгомол бус шингэн тэжээлт орчинд колонийг суспензэлж, 37°C (6.3)-д 2 цаг өсгөвөрлөнө. Дараа нь 150 μл цусны улаан эсийн булинга (B.10)-ыг нэмнэ. Үүнийг 37 °C (6.3)-д 15-60 минут өсгөвөрлөсний 5 °C (6.10)-д ойролцоогоор 2 цаг хөргөж, гемолизийн идэвхийг шалгана. Хэрэв урвал эргэлзээтэй байвал, 5 °C (6.10)-д 24±2 цаг хүртэл байлгана. Цусны улаан эсийн тунадас (хуруу шилний ёроолд улаан цэг үүсэх) нь сөрөг урвалыг илэрхийлдэг.

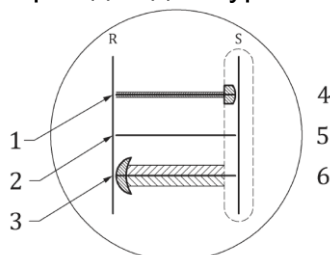
Эерэг ба сөрөг хяналтыг шалгана. Хяналтын омгийг 9.5.2.5.2-оос үзэх.

9.5.2.6 КАМП сорил (сонголтоор)

Хэрэв гемолизийн шинжилгээний үр дүнг тайлбарлахад төвөгтэй байвал, гемолизийг листериолизиний идэвхитэй холбоотойгоор КАМП сорилыг гүйцэтгэхийг зөвлөж байна.

β-гемолиз үүсгэдэг *Staphylococcus aureus* (жишээ нь: WDCM 00034) ба *Rhodococcus equi* (жишээ нь: WDCM 0028)-ийн омгоор КАМП сорилыг гүйцэтгэх шаардлагатай. *S.aureus*-ийн бүх омог нь КАМП сорилд тохиромжтой байдаггүй. *S.aureus*, *R.equi*-ийн өсгөвөр бүрийг цустай агар тэжээлт орчинд (B.8.3 эсвэл B.11.4) дан зураасаар, хоёр өсгөвөр хоорондоо параллель байхаар (1-р зургийг үзэх) тарина. Тарилтыг нарийхан жигд хийх шаардлагатай.

Шинжилгээний өсгөвөр (9.5.1.1)-ийг *S.aureus*, *R.equi*-ийн өсгөвөртэй тэгш өнцөгтэй, мөн босоогоор тарьсан өсгөвөрт хүрэлцэхээргүй ойролцоогоор 1-2 мм зайтай зураасаар тарина. Нэг аяган дээр хэд хэдэн туршилтын өсгөвөр тарьж болно.



1-Р ЗУРАГ: КАМП сорилын аяган дээрх тарилт ба түүний тайлбар

Энд:

1 β-гемолизийн нарийн хүрээ

- 2 β -гемолизийн нарийн хүрээ үүсгээгүй
- 3 β -гемолизийн нарийн өргөн хүрээ
- 4 *L. monocytogenes*
- 5 *L. innocua*
- 6 *L. ivanovii*

1-р зурагт үзүүлсэн босоо шугам нь *S.aureus* (S), *R.equi* (R)-ийн зураасыг илэрхийлнэ. Хэвтээ шугам нь шинжилгээний өсгөврүүдийг илэрхийлнэ. Торлосон хэсгүүд нь гемолиз хүрээ үүссэнийг заана. Тасархай зураасаар *S.aureus*-ийн өсгөврийн нөлөөлсөн хүрээг үзүүлнэ.

Мөн *L.monocytogenes*, *L.innocua*, *L.ivanovii*-ийн хяналтын өсгөврүүдийн тарилт байна. Тухайлбал *L.monocytogenes* 4b WDCM 00021, *L.monocytogenes* 1/2a WDCM 00109, *L.innocua* WDCM 00017, *L.ivanovii* WDCM 00018 зэргийг ашиглаж болно. ISO 11133 стандартад заасны дагуу хяналтын нөөц өсгөврүүдийг хадгалана.

Цустай агар (B.8.3) хэрэглэж байгаа бол 37 °C температурт 18-24 цаг өсгөвөрлөнө. Хэрэв давхар савласан цустай агар тэжээлт орчин (B.11.4) ашиглаж байгаа бол 37 °C температурт 12-18 цаг өсгөвөрлөнө.

R.equi-ийн эерэг урвал нь "сумны толгой" хэлбэрийн гемолизийн өргөн хүрээтэй (5-10 мм) харагддаг. Хэрвээ гемолизийн наргийн хүрээ нь *R.equi*-ийн тархалтын хүрээтэй шинжилгээний өсгөврийн огтлолцол 1 мм-ээс хэтрээгүй байвал урвалыг сөрөг гэж үзнэ.

S.aureus-ийн эерэг урвал гэдэг нь *S.aureus* өсгөврийн ургалтаас шалтгаалсан сул гемолитик хүрээнд шинжилгээний омогоос 2 мм орчим өргөн гемолизын жижиг хүрээ үзэгдэнэ. *S.aureus* болон *L.monocytogenes*-ийн хэсэгт гемолизын өргөн хүрээ нь үүсдэггүй.

9.5.2.7 Нүүрс ус ашиглах

Гогцоо зүү (6.5) ашиглан сонгомол бус агар (9.5.1.1)-аас ялгасан өсгөврийг нүүрс ус агуулсан шөлөнд (B.12) тарина. 37 °C температурт өсгөвөрлөнө. Ихэвчлэн микро хэмжээст хуруу шилэнд 24-48 цаг, макро хэмжээст хуруу шилэнд 5 хоногийн дараа эерэг урвал (хүчил үүснэ) шар өнгөөр илэрнэ. L-Рамноза эерэг, D-Ксилоза сөрөг (D хавсралтыг үзэх) шинжээр нь дээрх хоёр нүүрс усыг *L.monocytogenes*-ийг батлахад ашигладаг.

ТАЙЛБАР: *L.monocytogenes*-ийн ховор омгууд L-Рамнозаг исэлдүүлдэггүй.^{[15], [18]}

Микро хэмжээст хуруу шил ашигласан тохиолдолд хариу урвал илүү хурдан байдаг. Нийт эзэлхүүнтэй харьцуулахад тарилтын түвшин чухал хүчин зүйл болдог. Сонгосон протокол бүрийн хувьд, шар өнгө үүссэн хугацааг баталгаажуулах нь чухал. Үүнийг хянаж ажиллахыг зөвлөж байна. Жишээ нь: *L.monocytogenes* 4b WDCM 00021, *L.innocua* WDCM 00017 ба *L.ivanovii* WDCM 00018 зэргийг ашиглаж болно. ISO 11133 стандартад заасны дагуу хяналтын өсгөвөрийг хадгална.

9.5.3 *Listeria* spp.-ийг батлах

9.5.3.1 Ерөнхий

Хэв шинжит колони (9.5.1.2)-оос *Listeria* spp.-ийг батлах сорилыг гүйцэтгэнэ. Баталгаажуулах туршилт бүрт тохирох эерэг ба сөрөг хяналтын омгийг хэрэглэнэ.

2-р Хүснэгтэнд жагсаасан (тодоор бичсэн) заавал шаардлагатай сорилыг хийж гүйцэтгэнэ.

Хэрэв *Listeria* spp.-ийн зүйлийг тодорхойлох шаардлагатай бол, цаашид хийх сорилыг D хавсралтаас үзэх.

2-р хүснэгт: *Listeria* spp.-ийг батлах сорил

Сорил	<i>L.monocytogenes</i> -ийг батлах сорил	Үр дүн
Заавал шаардлагатай	Микроскопийн шинжилгээ (9.5.2.4) Каталазын сорил (9.5.2.2)	Богино нарийн савханцар эсвэл коккобацил +

Сонголтоор	VP сорил(9.5.3.5) 25 °C температурт хөдөлгөөн (9.5.2.3)	+ +
------------	--	--------

1-Р ТАЙЛБАР: Ялгасан *Listeria spp.*-ийн өсгөврийг батлахдаа ISO 7218 стандартад дурьдсан өөр аргачлалыг ашиглаж болно.

2-Р ТАЙЛБАР: Шинээр ялгасан *Listeria spp.*-ийн зарим шинэ зүйл нь энэхүү схемийн хөдөлгөөн, VP сорил, 37 °C температурт өсөх (тухайлбал: Номзүй [4], [10], [25], [26] ба [27]-г үзэх) зэрэг шинжтэй тохирохгүй байж болно.

9.5.3.2 Каталазын сорил

9.5.1.2-т ялгасан колонийг авч 9.5.2.2-т заасны дагуу шинжилгээг гүйцэтгэнэ.

9.5.3.3 Хөдөлгөөний сорил (сонголтоор)

9.5.1.2-т ялгасан колонийг авч 9.5.2.3-т заасны дагуу шинжилгээг гүйцэтгэнэ.

9.5.3.4 Вогес–Проскауерын (VP) сорил (сонголтоор)

Гогцоо зүү (6.5) ашиглан 3 мл VP-ийн орчин (B.13.1) бүхий хуруу шилэнд тарина. 37 °C температурт 24 ± 2 цаг өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөсний дараа 0,6 мл 5 %-ийн α-нафтолын уусмал (B.13.2) ба 0,2 мл 40 %-ийн калийн гидроксидын уусмал (B.13.3)-ыг тус тус нэмнэ. Сайн сэгсэрч хуруу шилийг налуу (агаарын шингэний уулзварын талбайн хэмжээг нэмэгдүүлэх зорилгоор) байрлуулна. 15 минутаас 1 цагийн дараа үр дүнг шалгана. Эерэг урвал нь тод улаан өнгөөр илэрнэ. *Listeria spp.* нь VP сорилд эерэгүр дүн үзүүлнэ.

ТАЙЛБАР: *Listeria*-ийн зарим шинэ зүйл саяхан ялгагдсан байна. [5], [10], [12], [14], [25], [26], [27] Тэдгээрийн ихэнх нь VP сорилд сөрөг байна.

10 Морфологи, физиологийн шинж ба биохимийн урвалыг тайлбарлах

Listeria spp.-ийн бүх зүйл нь каталазын сорилд эерэг, жижиг, Грам эерэг савханцар эсвэл коккобацил байдаг.

L.monocytogenes-ийг 1 дүгээр хүснэгтийн дагуу, *Listeria spp.*-ийг 2 дугаар хүснэгтийн дагуу баталгаажуулна.

11 Ялгасан өсгөврийн нэмэлт шинж (сонголтоор)

L.monocytogenes гэж үзэж буй өсгөвөр (9.6)-ийг хүлээн зөвшөөрөгдсөн үндэсний буюу бүсийн *Listeria*-ийн Лавлагаа Лаборатори эсвэл (боломжгүй тохиолдолд) *Listeria*-ийн Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллагын Хамтын Ажиллагааны Төв зэрэгт нарийвчлан шинжлүүлнэ. Илгээхдээ өсгөвөртэй холбоотой бүхий л боломжит мэдээллийг дагалдуулна.

Хэрэв *Listeria*-ийн зүйлийг тодорхойлох шаардлагатай бол, цаашид хийх сорилыг D хавсралтаас үзэх.

12 Үр дүнг илэрхийлэх

Дээжийн хэсэг бүрт эсвэл гадаргуугийн сантиметр квадратад, шинжилсэн дээжийн миллилитр дэх эзлэхүүн, грамм дах массыг тодорхойлоход шинжилгээний сорьцод *L.monocytogenes* илэрсэн, илрээгүйг /эсвэл *Listeria spp.*-ийн илэрсэн, илрээгүй үр дүнг тайлбарласны дагуу (9.6-г үзэх) тайлагнана.

13 Аргын гүйцэтгэлийн шинж чанар

13.1 Аргын баталгаажилтын судалгаа

Аргын гүйцэтгэлийн шинж чанарыг лаборатори хоорондын шинжилгээгээр өвөрмөц чанар, мэдрэг чанар, мөн боломжтой бол аргын илрүүлэх түвшин (LOD₅₀)-г тодорхойлно. Энэ өгөгдлийг F хавсралтад нэгтгэн үзүүлэв. Лаборатори

хоорондын судалгаанаас гарсан утгууд E хавсралтад зааснаас өөр төрлийн хүнсний бүтээгдэхүүнд хамаарахгүй.

13.2 Мэдрэг чанар

Аргын мэдрэг чанар нь тухайн бохирдлын түвшинд шинжилсэн сорьцын тоог эерэг дээжийн тоонд хувааж тодорхойлно. Үр дүн нь дээжийн бохирдлын түвшнээс шууд хамаарна.

13.3 Өвөрмөц чанар

Аргын өвөрмөц чанар нь хоосон дээжийн тоог сөрөг гарсан дээжийн тоонд хувааж тодорхойлогдоно.

14 Илрүүлэх түвшин (LOD₅₀)

LOD₅₀ (илрүүлэх түвшин) гэдэг нь 50 %-ийн илрүүлэх магадлалын концентраци (cfu/шинжилгээний сорьц) юм.

15 Шинжилгээний тайлан

Шинжилгээний тайлан нь хэрэглэсэн арга болон гарсан үр дүнг заана. Түүнчлэн энэ стандартад ороогүй үйл ажиллагааны нарийвчилсан мэдээлэл, эсвэл үр дүнд нөлөөлж болзошгүй аливаа тохиолдлын талаар нарийвчлан тайлбарласан байх шаардлагатай (10 дугаар зүйлийг үзэх).

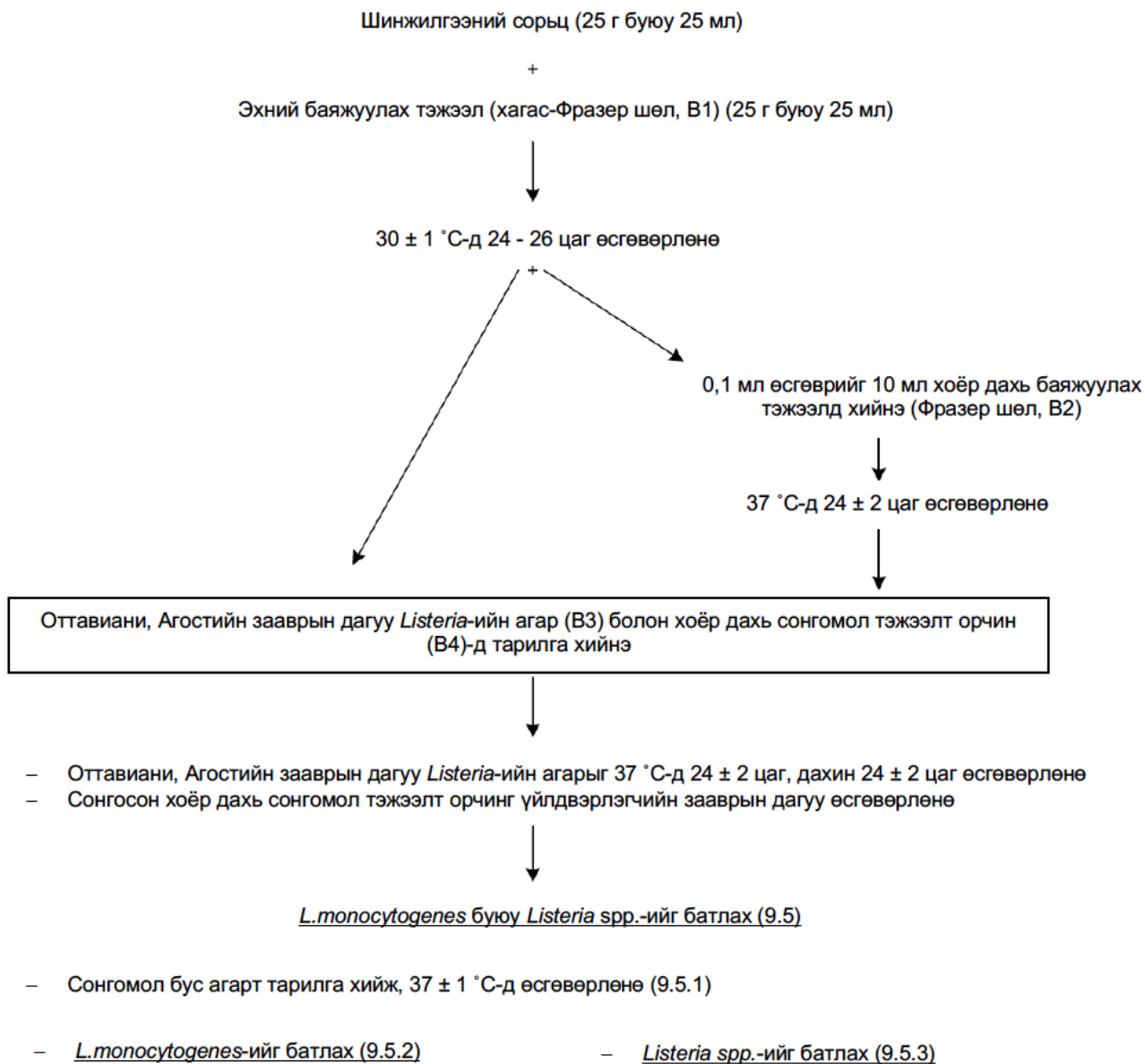
Шинжилгээний тайланд дээжийг бүрэн танихад шаардлагатай бүх мэдээллийг оруулна.

16 Чанарын баталгаа

Лаборатори нь шинжилгээ хийхэд тохирох тоног төхөөрөмж, бодис урвалж, арга техникийн чанарын хяналтын тогтолцоог сайтар тодорхойлсон байх шаардлагатай. Эерэг, сөрөг, хоосон хяналтыг ашиглах нь шинжилгээний нэг хэсэг юм. Тэжээлт орчны гүйцэтгэлийн шинжилгээг B.5 ба ISO 11133 стандартад тодорхойлсон.

А Хавсралт (норматив)

Шинжилгээний явцын бүдүүвч



А.1 зураг – Шинжилгээний явцын бүдүүвч

В Хавсралт (норматив)

Тэжээлт орчин ба урвалж бодисын найрлага, бэлтгэл

В.1 Эхний сонгомол баяжуулах шингэн тэжээл: хагас-Фразер шөл

В.1.1 Тэжээлийн суурь

В.1.1.1 Найрлага

Махны пептон	5,0 г
Казейны фермент	5,0 г
Махны ханд	5,0 г
Дрожжийн ханд	5,0 г
Натрийн хлорид	20,0 г
Хоёр халаат фосфат натрийн давс	12,0 г
Нэг халаат фосфат калийн давс	1,35 г
Эскулин	1,0 г
Ус	1000 мл

В.1.1.2 Бэлтгэл

Хуурайшуулсан бэлэн суурь болон тэжээлийн суурийн орц бүрийг усанд хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °С температурт $7,2 \pm 0,2$ болгож тохируулна.

Шинжилгээнд шаардагдах хэмжээтэй тохирох агууламж (9.1-ийг харах) бүхий хуруу шилэнд тэжээлт орчинг хуваарилна.

Автоклав (6.1)-т 121 °С температурт 15 минут ариутгана.

Ариутгахын өмнө хлорт литийн уусмал (В.1.2) болон налидиксийн хүчлийн уусмал (В.1.3)-ыг тэжээлт орчны суурь (В.1.1)-нд нэмж болно.

В.1.2 Хлорт литийн уусмал

В.1.2.1 Найрлага

Хлорт лити	3 г
Ус	10 мл

В.1.2.2 Бэлтгэл

Хлорт литийг усанд уусгана.

0,45 μm нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

АНХААРУУЛГА — Хлорт литийг усанд уусгахдаа, тус урвал нь ихээхэн эксотермик шинжтэй учир бүхий л урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээг авч ажиллана. Түүнчлэн энэ уусмал нь салст бүрхэвчийг цочирдуулдаг.

В.1.3 Налидиксийн хүчлийн натрийн давсны уусмал

В.1.3.1 Найрлага

Налидиксийн хүчлийн натрийн давс	0,1 г
Натрийн гидроксид, 0,05 моль/л уусмал	10 мл

В.1.3.2 Бэлтгэл

Налидиксийн хүчлийн давсыг натрийн гидроксидод уусгана.

0,45 μm нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.1.4 Акрифлавины гидрохлоридын уусмал

В.1.4.1 Найрлага

Акрифлавины гидрохлорид	0,25 г
Натрийн гидроксид, 0,05 моль/л уусмал	100 мл

В.1.4.2 Бэлтгэл

Акрифлавины гидрохлоридыг усанд уусгана. 0,45 μ м нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.1.5 Аммонийн төмөр (III) цитратын уусмал

В.1.5.1 Найрлага

Аммонийн төмөр (III) цитрат	5,0 г
Ус	100 мл

В.1.5.2 Бэлтгэл

Аммонийн төмөр (III) цитратыг усанд уусгана. 0,45 μ м нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.1.6 Нийлмэл тэжээлт орчин

В.1.6.1 Найрлага

Тэжээлийн суурь (В.1.1)	100 мл
Хлорт литийн уусмал (В.1.2)	1,0 мл
Налидиксийн хүчлийн натрийн давсны уусмал (В.1.3)	0,1 мл
Акрифлавины гидрохлоридын уусмал (В.1.4)	0,5 мл
Аммонийн төмөр (III) цитратын уусмал (В.1.5)	1,0 мл

В.1.6.2 Бэлтгэл

Хэрэглэхийн өмнө нэн даруй дөрвөн уусмал (В.1.2-В.1.5) тус бүрийг 100 мл тэжээлийн суурь (В.1.1) дээр нэмнэ.

В.2 Хоёр дахь сонгомол баяжуулах шингэн тэжээл: Фразер шөл

В.2.1 Тэжээлийн суурь

В.2.1.1 Найрлага

Махны пептон	5,0 г
Казейны фермент	5,0 г
Махны ханд	5,0 г
Дрожжийн ханд	5,0 г
Натрийн хлорид	20,0 г
Хоёр халаат фосфат натрийн давс	12,0 г
Нэг халаат фосфат калийн давс	1,35 г
Эскулин	1,0 г
Литиум хлорид	3,0 г
Налидиксийн хүчлийн натрийн давс	0,02 г
Ус	1000 мл

В.2.1.2 Бэлтгэл

Хуурайшуулсан бэлэн суурь болон тэжээлийн суурийн орц бүрийг усанд хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 $^{\circ}$ С температурт $7,2 \pm 0,2$ болгож тохируулна.

Шинжилгээнд шаардагдах хэмжээтэй тохирох агууламж бүхий хуруу шилэнд тэжээлт орчинг хуваарилна.

Автоклав (6.1)-т 121 °C температурт 15 минут ариутгана.

В.2.2 Акрифлавины гидрохлоридын уусмал

В.1.4-ийг харах.

В.2.3 Аммонийн төмөр (III) цитратын уусмал В.1.5-ыг харах.

В.2.4 Нийлмэл тэжээлт орчин

Хэрэглэхийн өмнө, тэжээлийн суурь (В.2.1) бүхий хуруу шил (10 мл эзлэхүүн) бүрт 0,1 мл хэмжээтэй В.2.2, В.2.3 уусмалыг нэмнэ. Зөөлөн холино.

В.3 Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу *Listeria*-ийнагар^{[16],[17]}

В.3.1 Тэжээлийн суурь

В.3.1.1 Найрлага

Махны пептон	18 г
Казейны фермент	6 г
Дрожжийн ханд	10 г
Натрийн пируват	2 г
Глюкоза	2 г
Магнийн глицерофосфат	1 г
Магнийн сульфат (усгүй)	0,5 г
Натрийн хлорид	5,0 г
Хоёр халаат фосфат натрийн давс(усгүй)	2,5 г
5-бром-4-хлор-3-индолил-β-D-глюкопиранозид	0,05 г
Агар	9 - 18 г ^a
Ус	930 мл ^b
^a Агарын гелийн чанараас хамаарна.	
^b Амфотерицин В уусмал хэрэглэж байгаа бол 925 мл (В.3.5.2-ыг үзэх).	

В.3.1.2 Найрлага

Хуурайшуулсан бэлэн суурь болон тэжээлийн суурийн орц бүрийг буцлаж буй усанд уусгана.

Автоклав (6.1)-т 121 °C температурт 15 минут ариутгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °C температурт $7,2 \pm 0,2$ болгож тохируулна.

В.3.2 Налидиксийн хүчлийн уусмал

Налидиксийн хүчлийн натрийн давс	0,02 г
Натрийн гидроксид (0,05 моль/л)	5 мл

Налидиксийн хүчлийн давсыг 5 мл натрийн гидроксидод уусган 0,45 μм нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.3.3 Цефтазимидийн уусмал

Цефтазимид	0,02 г
Ус	5 мл

Цефтазимидийг 5 мл усанд уусган 0,45 μм нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.3.4 Полимиксин В-ийн уусмал

Полимиксин В сульфат	76 700 IU
Ус	5 мл

Полимиксин В-ийг 5 мл усанд уусгана. 0,45 мкм нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.3.5 Антибиотикийн нэмэлт

В.3.5.1 Циклогексимидийн уусмал

Циклогексимид	0,05 г
Этанол	2,5 мл
Ус	2,5 мл

Циклогексимидийг 2,5 мл этанолд уусгасны дараа нь 2,5 мл ус нэмнэ. 0,45 мкм нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана.

В.3.5.2 Амфотерицин В-ийн уусмал (Циклогексимидийн уусмалтай ижил)

Амфотерицин В	0,01 г
HCl (1 моль/л)	2,5 мл
Диметилформамид(DMF)	7,5 мл

HCl/DMF-ийн уусмал дээр амфотерицинийг уусгана. 45 мкм нүхтэй мембранаар шүүж ариутгана. Тэжээлт орчин нийлүүлэгчийн зааврын дагуу бусад уусгах арга (усанд эсвэл халуун тэжээлт орчны суурь дээр нэмэх зэрэг)-ыг хэрэглэж болно.

АНХААРУУЛГА —HCl/DMF-ийн уусмал нь хортой учир болгоомжтой харьцна.

В.3.6 Нэмэлт

50 мл усанд 2 г L-α-фосфатидилинозитолыг¹ уусгана.

L-α-фосфатидилинозитол оронд хамгийн багадаа 9-15 %-ийн фракцлагдаагүй фосфатидилинозитол агуулсан 2 г шар буурцгийн лецитин ашиглаж болно.^{[6],[9],[19]}

Суспензийг нэгэн жигд болтол 30 минут орчим сэгсэрнэ. Автоклав (6.1)-т 121 °C температурт 15 минут ариутгаж, 47-50 °C хүртэл хөргөнө.

В.3.7 Нийлмэл тэжээлт орчин

В.3.7.1 Найрлага

Тэжээлийн суурь (В.3.1)	930 мл ^a
Налидиксийн хүчлийн натрийн давсны уусмал (В.3.2)	5 мл
Цефтазимидийн уусмал (В.3.3)	5 мл
Полимиксин В-ийн уусмал (В.3.4)	5 мл
Циклогексимидийн уусмал (В.3.5.1)	5 мл
эсвэл Амфотерицин В-ийн уусмал (В.3.5.2)	10 мл
Нэмэлт (В.3.6)	50 мл
^a Амфотерицин В уусмал хэрэглэж байгаа бол 925 мл.	

В.3.7.2 Бэлтгэл

(47-50) °C хүртэл хайлуулсан тэжээлийн суурь (6.4) дээр уусмалуудыг нэмэх бүрт сайтар холино.

Бэлтгэсэн тэжээлт орчны pH 25 °C температурт 7,2 ± 0,2 байна.

Тэжээлт орчин нь нэгэн жигд үл ялиг сүүн цагаан өнгөтэй байна.

В.3.7.3 Агар бүхий аягыг бэлтгэх

Петрийн аяга бүрт 18 - 20 мл шинэ бэлтгэсэн тэжээлт орчинг савлаж, хатаана.

В.4 Хоёр дахь сонгомол хатуу тэжээлт орчин

Хоёр дахь сонгомол тэжээлт орчинг шинжилгээ хийж буй лаборатори өөрөө сонгоно. Хэрэв худалдааны зориулалттай тэжээлт орчин ашигладаг бол, түүнийг бэлтгэх, ашиглахтай холбоотой үйлдвэрлэгчийн зааврыг дагаж мөрдөнө.

¹ P 6636® нь Sigma-аас нийлүүлэгддэг ба худалдааны бүтээгдэхүүний тохиромжтой жишээ юм. Энэ мэдээлэл нь энэхүү стандартыг хэрэглэгчдэд дөхөм болгох зорилгоор өгөгдсөн ба тус бүтээгдэхүүнийг ISO-ийн зүгээс дэмжиж байгаа хэрэг биш юм.

В.5 Тэжээлт орчны чанарын баталгаажилт хийх

Өвөрмөц чанар, сонгомол чанар ба бүтээмжит чанар зэрэг тодорхойлолтыг багтаасан ISO 11133 стандартын дагуу тэжээлт орчны чанарын баталгаажилт хийж гүйцэтгэнэ. Энэ стандартад хэрэглэгдэх тэжээлт орчны хяналт хийхэд 1 дүгээр хүснэгтэд заасан хяналтын омгийг хэрэглэнэ. Хоёр дахь ялгах тэжээлт орчны хувьд, ISO 11133 стандартын дагуу эсвэл үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу гүйцэтгэнэ.

ТАЙЛБАР: Бүтээмжит чанарыг шалгахдаа *Listeria* spp.-ийг илрүүлэх тохиолдолд өөр нэг хяналтын омог (*Listeria*spp-ийн өөр зүйлээс)-ийг мэдээллийн байдлаар нэмж болно.

В.1 хүснэгт – *Listeria monocytogenes*-ийн тэжээлт орчны чанарын баталгаажилт хийх

Тэжээлт орчин ^а	Үүрэг	Өсгөвөрлөлт	Хяналтын өсгөвөр	WDCM тоо ^с	Павлагаа тэжээлт орчин	Хяналтын арга	Шалгуур	Зорилтот бичил биетний өвөрмөц урвал
Хагас Фрайзер шөл	Бүтээмжит чанар	25±1 цаг / (30 ±1) °C	<i>Listeria monocytogenes</i> 4b + <i>Escherichia coli</i> ^d	00021b 00012 эсвэл 00013 00009 эсвэл 00087	—	чанарын	Оттавиани, Агостийн дагуу <i>Listeria</i> нь агар дээр > 10 колони	Тунгалаг хүрээтэй Хөх ногоон колони
			<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a + <i>Escherichia coli</i> ^d	00109 00012 Эсвэл 00013 00009 Эсвэл 00087				
	Сонгомол чанар		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 Эсвэл 00013	—	чанарын	TSA дээр дарангуйлна	—
			<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 Эсвэл 00087				
Фрайзер	Бүтээмжит чанар	24±2 цаг / (37 ±1) °C	<i>Listeria monocytogenes</i> 4b + <i>Escherichia coli</i> ^d	00021b 00012 Эсвэл 00013 00009 Эсвэл 00087	—	чанарын	Оттавиани, Агостийн дагуу <i>Listeria</i> нь агар дээр > 10 колони	Тунгалаг хүрээтэй Хөх ногоон колони
			<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a + <i>Escherichia coli</i> ^d	00109 00012 Эсвэл 00013 00009 Эсвэл				

	Сонгомол чанар			00087				
			<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 Эсвэл 00013	—	чанарын	TSA дээр дарангуйл на(0)	—
			<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 Эсвэл 00087	—	чанарын	TSA дээр <100 колони	—
Оттавиани, Агостийн зааврын дагуу <i>Listeria</i> - йнагар	Бүтээмжит чанар	48± 4 цаг / (37 ±1) °C	<i>Listeria monocy- togenes</i> 4b	00021 ^b 00109	—	чанарын	Сайн ургана (2)	Тунгалаг хүрээтэй Хөх ногоон колони
			<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a					
	Сонгомол чанар		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 эсвэл 00013	—	чанарын	Өсөлтийг саатуулна (0)	—
			<i>Enterococcus faecalis</i> ^d	00009 Эсвэл 00087				
	Сонгомол чанар		<i>Listeria innocua</i>	00017	—	чанарын	—	Тунгалаг хүрээтэй Хөх ногоон колони
^a Тэжээлийн товчилсон нэр томъёоны бүтэн нэр. ^b Хамгийн бага хэмжээндашиглах омог. ^c www.wfcc.info хаяг дахь стандарт омогийн каталоогоос бичил биетний өсгөврийн сангийн талаарх мэдээллийг авна уу; WDCM: Дэлхийн бичил биетний мэдээллийн төв. ^d Чөлөөт сонголттой омог; Хамгийн бага хэмжээнд ашиглах шаардлагатай омгуудын нэг								

В.6 Устөрөгчийн хэт ислийн уусмал

3 %-ийн (м/м), 10 эзлэхүүн уусмалыг хэрэглэнэ.

В.7 Хөдөлгөөн тодорхойлох агар

В.7.1 Найрлага

Казейны фермент	20,0 г
Махны пептон	6,1 г
Агар	3,5 г
Ус	1000 мл

В.7.2 Бэлтгэл

Хуурайшуулсан бэлэн тэжээлийг усанд хийж уустал нь буцалгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °C температурт 7,3±0,2 болгож тохируулна.

Хуруу шилэнд 5 мл тэжээлт орчинг савлана.

Автоклав (6.1)-т 121 °C температурт 15 минут ариутгана.

В.8 Цустай агар

В.8.1 Суурь агар

В.8.1.1 Найрлага

Махны пептон	15 г
Элэгний чанамал	2,5 г

Дрожжийн ханд	5 г
Натри хлорид	5 г
Агар	9-18 г
Ус	1000 мл

В.8.1.2 Бэлтгэл

Хуурайшуулсан бэлэн тэжээлийг усанд хийж уустал нь буцалгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °С температурт 7,2±0,2 болгож тохируулна.

Шинжилгээнд шаардагдах хэмжээтэй тохирох агууламж (9.1-ийг харах) бүхий хуруу шилэнд тэжээлт орчинг хуваарилна.

Автоклав (6.1)-т 121 °С температурт 15 минут ариутгана.

В.8.2 Фибрингүйжүүлсэн хонины цус

В.8.3 Нийлмэл суурь тэжээл

В.8.3.1 Найрлага

Суурь (В.8.1)	100 мл
Фибрингүйжүүлсэн хонины цус (В.8.2)	5 мл-7 мл

В.8.3.2 Бэлтгэл

Урьдчилан (47-50) °С хүртэл хөргөсөн суурь тэжээл дээр цусыг нэмнэ. Сайтар холино.

В.9 Фосфат буферийн давстай уусмал (ФБДУ)

В.9.1 Найрлага

Фосфат натрийн давс	8,98 г
Нэг халаат фосфат натрийн давс	2,71 г
Натрийн хлорид	8,5 г
Ус	1000 мл

В.9.2 Бэлтгэл

Хуурайшуулсан бэлэн тэжээлийг усанд хийж уусгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °С температурт 7,2±0,2 болгож тохируулна.

Автоклав (6.1)-т 121 °С температурт 15 минут ариутгана.

В.10 Цусны улаан эсийн булинга

Цусны улаан эсийн булингаа хэрэглэхийн өмнө (5±2) °С температурт хадгална. Хэрэглэхийн өмнө ийлдэсний дээд давхрагад гемолизийн (reddening) улаан өнгө үзүүлж байгаа эсэхийг шалгана. Хэрвээ гемолизийн (reddening) улаан өнгө үүсээгүй бол дээд давхрагаас 2 мл цусны улаан эсийг авч 98 мл ФБДУ буфер дээр нэмнэ. (В.9)

Хэрвээ гемолиз үүссэн бол цусны улаан эсийн давхаргаас ойролцоогоор 4 мл суспензийг авч 10 мл **ФБДУ-д хийж** центрифугдэнэ. Супернатант нь тунгалаг улаан байвал гемолиз үүссэн гэж үзнэ.

В.11 CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen) тэжээлт орчин, шинжилгээний омгууд

В.11.1 Ерөнхий

Энэ сорилд цустай агарыг (В.8) ашиглаж болох боловч маш нимгэн цусны давхарга бүхий давхар агартай аягыг (В.11.4) хэрэглэх нь зүйтэй.

В.11.2 Суурь агар

В.8.1 Үзэх.

В.11.3 Цустай агар тэжээлт орчин

В.8.3 Үзэх.

В.11.4 Нийлмэл суурь тэжээл

Суурь агарыг (В.11.2) ариун петрийн аяганд ойролцоогоор 10 мл-ийн хэмжээгээр савлана. Цустай агар тэжээлторчинг(В.11.3) аяга бүрт 3 мл-ээс илүүгүй хэмжээгээр маш нимгэн савлана.

Хэрэв цусыг урьдчилан бэлтгэсэн суурьтай саванд нэмбэл 20 минутын турш хоолыг дулаацуулахын тулд 37⁰С-ийн инкубаторт тавьж, цусны дунд давхаргыг цутгахаас өмнө байрлуулж болно.

В.12 Нүүрс-усыг хэрэглэх шөл (L-рамноз ба D-кислоз)

В.12.1 Суурь агар

В.12.1.1 Найрлага

Махны пептон	10 г
Махны ханд	1 г
Натри хлорид	5 г
Бромкризол улаан	0,02 г
Ус	1000 мл

В.12.1.2 Бэлтгэл

Шаардлагатай бол хуурайшуулсан бэлэн тэжээлийг усанд уусгаж халаана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25⁰С температурт 6,8±0,2 болгож тохируулна.

Шинжилгээнд шаардагдах хэмжээтэй тохирох агууламж (9.1-ийг харах) бүхий хуруу шилэнд тэжээлт орчинг хуваарилна.

Автоклав (6.1)-т 121⁰С температурт 15 минут ариутгана.

В.12.2 Нүүрс-усны уусмал

В.12.2.1 Найрлага

Нүүрс-ус ^а	5 г
Ус	100 мл

L-рамноз эсвэл D-кислоз

В.12.2.2 Бэлтгэл

Уусмалын элементүүдийг усанд уусган, 0,45 μм мембранаар шүүхээр шүүж ариутгана.

В.12.3 Нийлмэл суурь тэжээл

9 мл суурь тэжээлт орчин дээр х мл ариун уусмал нэмнэ.

В.13 Voges-Proskauer (VP) урвалын урвалжууд

В.13.1 VP тэжээлт орчин

В.13.1.1 Найрлага

Махны пептон	7 г
Натри хлорид	5 г
Глюкоз	5 г
Ус	1000 мл

В.13.1.2 Бэлтгэл

Шаардлагатай бол хуурайшуулсан бэлэн тэжээлийг усанд уусгаж халаана.

Ариутгасны дараа, рН-ийг 25⁰С температурт 6,9±0,2 болгож тохируулна.

3 мл-ийн хэмжээст хуруу шилэнд тэжээлт орчинг савлана. Автоклав (6.1)-т 121⁰С температурт 15 минут ариутгана.

Тэмдэглэл: Бэлтгэхийн өмнө тэжээлт орчны рН 6,9±0,5 байна.

В.13.2 α-наффтол, этанолийн уусмал

В.13.2.1 Найрлага

α-наффтол	5 г
Этилийн спирт, 96 %	100 мл

В.13.2.2 Бэлтгэл

Этилийн спиртэд α-наффтолыг уусгана.

Анхааруулга-α-нафтол нь хортой учраас болгоомжтой харьцана уу

В.13.3 Калийн гидрооксидийн уусмал

В.13.3.1 Найрлага

Калийн гидроксид	40 г
Ус	100 мл

В.13.3.2 Бэлтгэл

Усанд Калийн гидрооксидийг уусгана.

В.14 Триптон, шар буурцаг, хөрөнгийн хандтай агар (TSYEA)

В.14.1 Найрлага

Казейны фермент	5,0 г
Шар буурцагны пептон	3,0 г
Дрожжийн ханд	6,0 г
Глюкоз	2,5 г
Натрийн хлорид	5 г
Калийн фосфат	2,5 г
Агар	(12-18) г ^а хүртэл
Ус	1000 мл

В.14.2 Бэлтгэл

Хуурайшсан бүрэлдэхүүн хэсгүүд эсвэл усгүйжүүлсэн тэжээлт орчныг буцалгаж усанд бүрэн уусгана.

Шаардлагатай тохиолдолд ариутгасны дараа, рН-ийг 25 °С температурт $7,3 \pm 0,2$ болгож тохируулна.

Автоклав 121 °С температурт 15 минут ариутгана.

В.14.2.1 Агар бүхий аягыг бэлтгэх

Петрийн аяга бүрт 18 - 20 мл шинэ бэлтгэсэн тэжээлт орчинг савлаж, хатаана.

**С Хавсралт
(мэдээллийн)**

***Listeria* spp.-ийг бусад төрлөөс ялган дүйх**

**С.1 Хүснэгт - *Listeria* spp.-ийг бусад бактерийн төрөл,
зүйлээс ялган дүйх**

	Грамын будалт	Каталаза	Хөдөлгөөн (20-25) °C	VP тест	37 °C дахь өсөлт
<i>Listeria</i> spp.	Gpb/Gpcb	+	+	+	+
<i>Bacillus</i> spp. ^a	Gpb ^b том хэмжээтэй, спортой савханцар (залуу өсгөвөр)	+	V	V	+
<i>Carnobacterium</i> spp. ^a	Gpb	-	-	-	+
<i>Staphylococcus</i> spp. ^a	Gpc	+	-	V	+
<i>Streptococcus</i> spp. ^a	Gpc	-	-	V	+
<i>Lactobacillus</i> spp.	Gpb	- (зарим үед+)	- (зарим үед+)	-	+
<i>Brochothrix</i> spp.	Gpb	+	-	+	-
<i>Kurthia</i> spp.	Gpb	+	+	-	+
<i>Erysipelothrix</i> spp.	Gpb	-	-	-	+
<i>Corynebacterium</i> spp.	Gpb	+	-	- (зарим үед+)	+
<i>Enterococcus</i> spp. ^A	Gpc	-	-	+	+
<i>Cellulosimicrobiu m funkei</i> ^a	Gpcb	+	+	-	+
<i>Kocuria kristinae</i> ^a	Gpc	+	-	+ (зарим үед+)	+
<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i> ^{a,c}	Gpb	+	+	+	+
<i>Rothia terrae</i> ^a	Gpc	+	-	+	+

^a Оттавиани, Агости болон бусад хромогений тэжээлт орчны зааврын дагуу *Listeria*-ийн агар дээр заримдаа хөх эсвэл хөхөвтөр колониуд үүсгэдэг.

^b *Bacillus oleronius*-ыг Грамаар будахад хувирамтгай харагддаг. Ихэнх эсүүд нь Грам сөрөг үзэгддэг. [23]

^c *M. psychrotolerans*-ыг *Listeria* spp-ээс ялгахын тулд TSYEA дээрх янз бүрийн колони шинж чанарыг нь ашиглаж болно. (37 °C температурт 24 цаг өсгөрлөсний дараа 2-3 мм-ийн голчтой тунгалаг биш, бүдэг шар, гүдгэрколониуд). [23]

Gpb: Грам эерэг bacillus

Gpcb: Грам эерэг coccobacillus

Gpc: Грам эерэг coccus or coccoid

V: Тогтворгүй урвалууд

1-Р ТАЙЛБАР: Сүүлийн үед ялгасан *Listeria* spp-ийн зарим шинэ зүйлүүд хөдөлгөөн, VP тест, 37 °C температурт өсөх чадвар нь С1-Хүснэгтэй тохирохгүй байж болзошгүй. (жишээг, [5], [10], [12], [14], [25], [26] болон [27] ном зүйгээс харна уу).

2-Р ТАЙЛБАР: *Listeria*-ийн зарим цөөн омгууд каталаза эерэг байдаггүй.

D Хавсралт (мэдээллийн)

Listeria spp-ийн зүйлүүдийг тодорхойлох урвалууд

D.1-р хүснэгт - Энэ стандартад заасан гол сорилууд (үзэх [9.5](#))

Зүйлүүд	PI-PLC	β- гемолиз	Хүчлийн задралын бүтээгдэхүүн			Камп тест	
			L-раммноза	D-ксилоза	Маннитол	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+ (24 цаг)	+	+	-	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	-	V	-	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+(24-48) цаг	+	-	+	-	-	+
<i>L. seeligeri</i>	-	(+)	-	+	-	(+)	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	V	+	-	-	-
<i>L. grayi</i>	-	-	V	-	+	-	-
<i>L. fleischmanii</i>	-	-	+	+	+	-	-
<i>L. marthii</i>	-	-	-	-	+	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	-	-	+	+	+	-	-
<i>L. weihenstephanensis</i>	-	-	+	+	-	-	-

PI-PLC: фосфатидилинозитол фосфолипаза C

V: Тогтворгүй урвалууд

(+): сул урвал

+ : эерэг урвал 90 %-аас илүү идэвхитэй

- : урвал явагдахгүй

1-Р ТАЙЛБАР: Энэ стандартын дагуу шинжилгээг хийхэд *L. monocytogenes*-ийн цөөн омогууд В-гемолиз эсвэл Камп тест-д эерэг урвал үзүүлдэггүй.

2-Р ТАЙЛБАР: *L. seeligeri*-ийн зарим омогууд *L. monocytogenes*-тэй ижил гемолизын үр дүн үзүүлж болзошгүй.

3-Р ТАЙЛБАР: Сүүлийн үед ялгасан *Listeria* spp-ийн зарим шинэ зүйлүүдийн хувьд тэднийг нарийвчлан тодорхойлохын тулд нэмэлт тест зайлшгүй хийх шаардлагатай. [\[5\]](#), [\[10\]](#), [\[12\]](#), [\[14\]](#), [\[25\]](#), [\[26\]](#), [\[27\]](#)

4-Р ТАЙЛБАР: *L. innocua*-ийн зарим хэв шинжит бус омогууд нь *L. monocytogenes*-ийн фенотип шинж чанарыг үзүүлдэг ба зөвхөн Лавлагаа лаборатороор ялган дүйлт хийлгэнэ. [\[11\]](#)

5-Р ТАЙЛБАР: *L. monocytogenes*-ийн цөөн зүйлүүд L-раммноза ферментийн идэвхигүй байдаг. [\[15\]](#), [\[18\]](#)

D.2 Хүснэгт - *Listeria*-н төрөл зүйлийг^e тодорхойлох нэмэлт урвал

Төрөл, зүйл	Каталаза	Хөдөлгөөн (22-30) °C	Эскулин (β Глюкозидаза) (β Глюкозидаза)	PI-PLC ^a	Маннитол	β-гемолиз	Камп тест		DIM	MAN	DAR	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
							<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>									
<i>L.fleischmannii</i> subsp. <i>coloradensis</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>L.fleischmannii</i> subsp. <i>fleischmannii</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>L.grayi</i> biovar <i>grayi</i> ^c	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	(-)	V ^b	+	-	-
<i>L.grayi</i> biovar <i>murrayi</i> ^c	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	V	+	-	-
<i>L.innocua</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	V	+	-	-	-
<i>L.ivanovii</i> subsp. <i>ivanovii</i>	+	+	+	+(24-48) цаг	-	+	-	-	V	-	+	+	-	+	+	V	-
<i>L.ivanovii</i> subsp. <i>londoniensis</i>	+	+	+	+(24-48) цаг	-	+	+	-	V	-	+	+	-	+	-	V	-
<i>L. marthii</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>L.monocytogenes</i>	+	+	+	+24 цаг	-	+(24-72) цаг	-	+	-	+	+	-	+ ^d	+	-	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	+	+ сул	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>L. weihen-stephanensis</i>	+	+ сул	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>L. welshineri</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	(+)	+	+	+	V	+	-	-	+

^a PI-PLC: фосфатидилинозитол фосфолипаза C; DIM: D-ариламидаза; MAN: α-маннозидаза; DAR: D-арабитол; XYL: D-ксилоза; RHA: L-рамноза; MDG: α-метил-D-глюкозидаза; RIB: D-рибоза; G1P: глюкоза-I-фосфат; TAG: D-Тагатоza.

^b V: тогтворгүй; + эсвэл - : эерэг болон сөрөг Ихэнх омог нь эерэг эсвэл сөрөг байдаг; (+) эсвэл (-) : Эерэг ба сөрөг урвалын 90%.

^c *murrayi*-н бүлгүүд нь нитрат болон тураноза эерэг байдаг бол *Grayi*-н бүлгүүд нь нитрат болон тураноза сөрөг байдаг.

^d Рамноза сөрөг омог ховор байдаг, энэ нь IIIB / IIIC гарал үүсэлд хамаарагддаг.

^e Эх үүсвэр: Дэлхийн Эрүүл мэндийн Үндэсний хамтын ажиллагааны лавлагаа төв.

Е Хавсралт (мэдээллийн)

Listeria сонгомол агарууд

Х-β-D-глюкозидын конъюгатуудын задрал нь β-D-глюкозидаза ферментийн оролцоотой явагддагаар *Listeria* spp.-ийг илрүүлдэг. β-D-глюкозидаза фермент нь бүх *Listeria* spp.-ийн нийтлэг фермент юм. Гэхдээ *L.monocytogenes* өвчин үүсгэгч *L. ivanovii*-ийг илрүүлэх нь лецитиназа (фосфатидилхолин фосфолипаза С-PCPLC -), эсвэл фосфатидилинозитол фосфолипаза С (PIPLC)-ийн идэвхээр тодорхойлдог.

Е.1 Хүснэгт - *Listeria*-ийн сонгомол бус агарууд (Ном зүй [7])

	Литийн хлорид (г/л)	Полимиксин (Р) эсвэл Колистин (С) (мг/г)	Акрифл авин (мг/г)	Бусад (мг/г)	Индикатор система ^а	Ном зүй
<i>Listeria</i> spp-ийг тодорхойлох агарууд						
Харлекүйн Листериа тэжээлт орчин	15	С10	2,5	Фосфомицин 5, Цефотетан 1, Циклогексимид 200	СHEg+ Fe	Смид., 2000
Литийн хлоридийн фенилэтанол моксалактам (ЛПМ)	5	0	0	Моксалактам 20, Глицерин ангидрид 10, Фенилэтанол 2500	Хэйври	Лий болон Lee МкКэйн , 1986
Оксфорд	15	С20	5	Фосфомицин 10, Цефотетан 2 Циклогексимид 4009	Ае + Fe	Куртис., 1989
Модификацижуулсан оксфорд (МОХ)	12	С10	0	Цефтазидиме 20	Ае + Fe	Күүк, 1998
Палкам	10	Р10	5	Цефтазидиме 30	Ае + Fe Mann + PR	Ван нэттен., 1989
Гемолизын идэвхийн хүрээний ялгаатай байдлыг тодорхойлох агарууд						
Сайжруулсан гемолиз агар (ЕХА)	10	Р10	5	Цефтазидиме 30	MUG Хонин ы цус	Кокс., 1991 б
<i>Listeria monocytogenes</i> цустай агар (ЛМВА)	10	Р10	0	Цефтазидиме 20	Хонин ы цус	Жоннсон, 1998
Өвчин үүсгэгч <i>Listeria</i> spp.-ийн зүйлүүдийг тодорхойлох агар						
Оттавани Агостийн Листериа агар	10	Полимиксин В: 76700 нэгж,		Амфотерицин В 10, Налидиксийн хүчил, Цефтазидиме 20	Chrom PCPLC	Ottaviani et al., 1997
^а Ае: аэскулин; СHEg: СHE-глюкозид; Chrom: хромогений бодисууд; Fe: төмрийн давс; Хэйври: Хэйври (1993). Гэрэлтүүлгийн арга; Mann: маннитол; MUG: 4-метилумбэллиферил -β-D-глюкозид; PR: Фенолын улаан						

F Хавсралт
(мэдээллийн)

***Listeria monocytogenes*-ийг илрүүлэх лаборатори хоорондын судалгааны үр дүн**

F1. Лаборатори хоорондын судалгааны үр дүн

Нийт 17 Олон улсын лаборатори хоорондын судалгаа явуулсан. Судалгаанд дараах төрлийн хүнсний бүтээгдэхүүн хэрэглэсэн: хүйтэн яргай загас, хүрээлэн буй орчны дээж, бэлэн хоол салатууд, нунтагласан нярай хүүхдийн хоол тэжээл, бяслаг. Хүнсний дээжийг хоёр өөр түвшинд бохирдуулж, нэмэлтээр сөрөг хяналтын хамт шалгав. Хүрээлэн буй орчин, бяслагны дээжүүдэд *L.monocytogenes* болон *L.innocua*-ийг; хүйтэн салмон загасыг *L.Monocytogenes*, *L.welshimeri*-ээр зориуд халдварлуулж бохирдуулсан. Хүрээлэн буй орчны дээжид, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fragi* нэмсэн. Нунтагласан нярай хүүхдийн хоол тэжээлийн дээжийг зөвхөн *L.monocytogenes*-ээр бохирдуулсан.

2013 онд ANSES Хүнсний аюулгүй байдлын лаборатори, Францын Maisons-Alfort зэрэгт хүйтэн яргай загас, хүрээлэн буй орчны дээж, бэлэн хоол салатууд, нунтагласан нярай хүүхдийн хоол тэжээлийн дээж, ACTALIA-CECALAIT, Францын Poligny-д бяслагны дээжид судалгаа хийсэн.

Лаборатори хоорондын судалгааны үр дүнгийн утгуудыг F.1 - F.5 хүснэгтэд үзүүлэв.

Лаборатори хоорондын судалгааг эхний баяжуулалтын хугацаа 24 ± 2 цаг, харин энэ хугацааг $25 \text{ цаг} \pm 1 \text{ цаг}$ хүртэл өөрчилсөн. Энэхүү өөрчлөлт нь анхдагч баяжуулах шөлөн дэх их хэмжээний байгаа бактерийг нэмэгдүүлэх боломжийг олгосон тул энэхүү өөрчлөлт үр дүнгийн шинж чанарын үзүүлэлтүүдэд нөлөө үзүүлэхгүй. 24 цагаас бага хугацаанд шинжилж байсан лабораторийн тоо: хүйтэн салмон загасыг гурав, хүрээлэн буй орчны дээж хоёр, бэлэн хоол салатыг тав, нунтагласан нярай хүүхдийн хоол тэжээлийг нэг, бяслагны дээжийг зургаан лаборатори шинжилгээ хийсэн.

F.1-р хүснэгт - Хүйтэн яргай загасны дээжид хийсэн шинжилгээний үр дүн

Үзүүлэлт	0 Бактерийн нийт тоо /25 г (хоосон)	8 Бактерийн нийт тоо /25 г (бага хэмжээний бохирдол)	74 Бактерийн нийт тоо / 25 г (их хэмжээний бохирдол)
Оролцогчдын тоо	15	15	15
Өгөгдлийг үнэлсний дараах оролцогчдын тоо	15	15	15
Дээжийн тоо	120	120	120
Өгөгдлийг үнэлсний дараах дээжийн тоо	120	120	120
Мэдрэмтгий чанар %	—	100	100
Өвөрмөц чанар %	100	—	—

F.2-р хүснэгт - Хүрээлэн буй орчны дээжид хийсэн шинжилгээний үр дүн (Шингэрүүлэгч уусмалыг Самбайнд шингээсэн)

Үзүүлэлт	0 Бактерийн нийт тоо / самбай (хоосон)	11 Бактерийн нийт тоо / самбай (бага хэмжээний бохирдол)	100 Бактерийн нийт тоо / самбай (их хэмжээний бохирдол)
Оролцогчдын тоо	15	15	15
Өгөгдлийг үнэлсний дараах оролцогчдын тоо тоо	14a	14a	14a
Дээжийн тоо	120	120	120
Өгөгдлийг үнэлсний дараах дээжийн тоо	112	112	112
Мэдрэмтгий чанар %	—	99,1b	99,1b
Өвөрмөц чанар %	100	—	—

^a Дээж авсан лабораториудаас нэг лаборатори хасагдсан /тээвэрлэлтийн явцад асуудал гарсан/
^b Нэг лаборатори нь найман дээжээс 7 дээжид *L.monocytogenes* гэж илрүүлсэн. Колоний хэв шинжийг харан *L.monocytogenes* гэж тодорхойлсон боловч цаашид тусгаар колони ялган баталгаажуулж тодорхойлоход *L.innocua* байв.

F.3-р хүснэгт –Салатны дээжин хийсэн шинжилгээний үр дүн (шинэ бууцай, мөсөн уулын шанцайны холимог)

Үзүүлэлт	0 Бактерийн нийт тоо/25 г (хоосон)	9 Бактерийн нийт тоо/ 25 г (бага хэмжээний бохирдол)	90 Бактерийн нийт тоо/ 25 г (их хэмжээний бохирдол)
Оролцогчдын тоо	16	16	16
Өгөгдлийг үнэлсний дараах оролцогчдын тоо тоо	16	16	16
Дээжийн тоо	128	128	128
Өгөгдлийг үнэлсний дараах дээжийн тоо	128	128	128
Мэдрэмтгий чанар %	—	100	100
Өвөрмөц чанар %	97,6a	—	—

^a Гурван өөр лабораторид гурван хуурамч эерэг үр дүн гарсан (лаборатори тус бүрд найман дээж авсан). Үүний шалтгаан нь: (i) зохион байгуулагчийн түвшний хөндлөнгийн бохирдлоос, (ii) оролцогч лабораторийн түвшний хөндлөнгийн бохирдлоос (iii) Зохион байгуулагч болон дээж үйлдвэрлэгч нар анхдагч илрүүлэх шинжилгээг гүйцэтгэхэд матрицад бага хэмжээний бохирдол болон олон төрлийн байдал илрээгүй нь шинжилгээний чанарын үр дүнд нөлөөлөх магадлал багатай.

F.4-р хүснэгт - Нярайн хүүхдийн тэжээлийн шинжилгээний үр дүн

Үзүүлэлт	0 Бактерийн нийт тоо/25 г (хоосон)	11 Бактерийн нийт тоо/ 25 г (бага хэмжээний бохирдол)	91 Бактерийн нийт тоо/ 25 г (их хэмжээний бохирдол)
Оролцогчдын тоо	16	16	16
Өгөгдлийг үнэлсний дараах оролцогчдын тоо тоо	16	16	16
Дээжийн тоо	128	128	128
Өгөгдлийг үнэлсний дараах дээжийн тоо	128	128	128
Мэдрэмтгий чанар %	—	99,2a	100
Өвөрмөц чанар %	100	—	—

^a Нэг лаборатори нь найман дээжээс 7 дээжид *L.monocytogenes* гэж илрүүлсэн.

Ү.5-р хүснэгт - Бяслалгны өгөгдлийн шинжилгээний үр дүн (хуурамч бяслалгийн ааруул)

Үзүүлэлт	0 Бактерийн нийт тоо/25 г (хоосон)	7 Бактерийн нийт тоо/25 г (бага хэмжээний бохирдол)	78 Бактерийн нийт тоо/25 г (их хэмжээний бохирдол)
Оролцогчдын тоо	15	15	15
Өгөгдлийг үнэлсний дараах оролцогчдын тоо	14 ^a	14 ^a	14 ^a
Дээжийн тоо	120	120	120
Өгөгдлийг үнэлсний дараах дээжийн тоо	112	112	112
Мэдрэмтгий чанар %	—	91,1 ^b	100
Өвөрмөц чанар %	100	—	—

^a Дээжийг хэт орой хүлээн авсны улмаас нэг лаборатори хасагдсан.
^b Гурван лаборатори нь найман дээжээс 7 дээжид *L.monocytogenes* гэж илрүүлсэн. Нэг лаборатори нь 8 дээжээс 1 дээжид *L. monocytogenes* гэж илрүүлсэн.

Ү.2 Илрүүлэлтийн түвшин (LOD_{50%}) –г үнэлэх

Ү.1-д тодорхойлсон лаборатори хоорондын судалгааны хүрээнд илрүүлэлтийн түвшинг 50% тооцоолох боломжгүй байв. Харин ISO 11290-1-1999/Amd.12004 стандартаас илрүүлэлтийн түвшин 50%-ийн дундаж утгыг, ISO 16140-20032 стандартын дагуу аргыг AFNOR баталгаажуулалтын судалгаанаас авах боломжтой. Хүснэгт Ү.6-д цөөн тооны хүнсний зүйл, хүрээлэн буй орчны дээжийг харуулав. Энэхүү баримт бичгийн техникийн өөрчлөлт нь илрүүлэлтийн түвшин 50 %-д эдгээр утгуудад чухал нөлөө үзүүлэхгүй.

Ү.6-р хүснэгт — LOD50% (Бактерийн нийт тоо/25 г эсвэл 25 мл)

Үзүүлэлт	Махан бүтээгдэхүүн		Далайн гаралтай бүтээгдэхүүн (n = 22)	Сүүн бүтээгдэхүүн (n = 23)	Хүнсний ногоо (n = 22)	Хүрээлэн буй орчны дээж (n = 22)
	Rillettes (n = 19)	Татсан мах (n = 2)				
Дундаж	0,6	1	0,5	0,6	0,6	0,5
Стандарт хазайлт	0,2	0,9	0,2	0,2	0,2	0,1
Хэт их утга	0,2- 1,0	0,4 -1,7	0,1 -1,3	0,3 -1,2	0,1- 0,9	0,3 - 0,8

ТАЙЛБАР: Ном зүй харгах [20].

Ү.7 хүснэгт – Илрүүлэлтийн хязгаар (LOD50%)-ыг үнэлэх AFNOR

Баталгаажуулалтын тайлан [20]

Эзэмшсэн арга	AFNOR Тайлангийн ишлэл (гэрчилгээний дугаар / хэвлэгдсэн огноо)
ALOA One Day	AES 10/3 – 09/00 20 December 2012
ADIA FOOD <i>Listeria monocytogenes</i>	AES 10/8 – 12/09 August 2010
Transia Plate <i>Listeria monocytogenes</i>	TRA 02/11–03/08 2008 v01
ChromIDTM Lmono Agar	BIO 12/31–05/11
ChromIDTM Ottaviani Agosti Agar	BIO 12/24–03/08, 9 February 2012
Vidas <i>Listeria monocytogenes</i> 2 (30 °C)	BIO 12/09–07/02 2007 v01
Vidas <i>Listeria monocytogenes</i> 2 (37 °C)	BIO 12/11–03/04 2013 v01
Vidas <i>Listeria</i> DUO	BIO 12/18–03/06 2006 v01
VIDAS <i>Listeria monocytogenes</i> Xpress	BIO 12/27–02/10 2012 v01
Rapid L'Mono (Detection)	BRD 07/04–09/98 2010 v01
IQ Check <i>Listeria monocytogenes</i> II	BRD 07/10 – 04/05 2013 v01
AL/Agar Detection	BRD 07/16 – 01/09, 2013
CHROMagar™ <i>Listeria</i>	CHR 21/1 – 12/01 7 October 2013
Lumiprobe 24 <i>Listeria monocytogenes</i>	EUR 15/03 –12/05 February 2010
Accuprobe <i>Listeria monocytogenes</i>	BIO 12/4 - 02/95 7 February 2011
MicroSEQ <i>Listeria monocytogenes</i>	ABI 29/05–12/11 5 December 2011
<i>Listeria</i> Precis™	UNI 03/04–04/05 4 February 2013
ThermoScientific SureTect PCR Assay	UNI 03/08–11/13 28 November 2013
BAX ® <i>Listeria mono</i> 24E	QUA 18/05 – 07/08 9 July 2012
GeneDisc <i>Listeria monocytogenes</i>	GEN 25/08–07/10 31 March 2011
Compass <i>Listeria</i> Agar (Detection)	BKR 23/02 – 11/02 28 June 2013

Ном зүй

- [1] ISO 16140 (бүх хэсгүүд), Хүнсний бүтээгдэхүүний микробиологи - Аргын баталгаажуулалт
- [2] ISO 18593, Хүнс, малын тэжээлийн микробиологи – Гадаргуу дээрээс арчдасны дээж авах ерөнхий арга
- [3] ISO/TS 17728, Хүнсний бүтээгдэхүүний микробиологи - Хүнс, тэжээлийн микробиологийн дээж авах арга
- [4] БАРРОУ Г.И., ФЕЛТХАМ Р.К.А., зэрэг Анагаах ухааны бичил биетэн тодорхойлох Кован, Стийл нарын гарын авлага. Кембриджийн их сургуулийн хэвлэл, Их Британи, Гурав дахь хэвлэл, 1993 он
- [5] БЕРЦЦ Д., РАУ Ж., ЭУГСТЕРМ.Р., ХАУГ М.С., ЛАУСОН П.А., ЛАКРОИКС С., МЕЙЛЕ Л. Бяслалгаас ялгасан *Listeria fleischmannii* дэд зүйл. nov., Системчилсэн хувьслын микробиологийн олон улсын сэтгүүл. 2013, **63**. 526–532
- [6] БЕУМЕР Р.Р., ХАЗЕЛЕГЕР В.С. *Listeria monocytogenes*-ийг илрүүлэх, тоолоход зориулсан хромоген тэжээлт орчин. Стандартчиллын олон улсын байгууллагын ажлын хэсгийн гүйцэтгэсэн туршилтын үр дүн – ISO/ТС 34/SC 9. Arch. Lebensmittelhyg. 2007, **58**. 47–50
- [7] КОРРИ Ж.Э.Л., КУРТИС Г.Д.В., БАЙРД Р.М. зэрэг. Хүнс ба усны микробиологийн дээжийг тэжээлт орчинд өсгөвөрлөх гарын авлага. Гурав дахь хэвлэл, 2012 он
- [8] ГАРИТТИ Г.М. (ерөнхий редактор). Системийн бактериологийн Бейргийн гарын авлага, хоёр дахь хэвлэл. 2005
- [9] ГРИЙНВҮҮД М., ВИЛЛИС С., ДОЗВЕЛЛ П., АЛЛЕН Г., РАТАК К. Хүнсэн дэх *Listeria*-ийн зүйлийг илрүүлэх хромоген тэжээлт орчны үнэлгээ. Хэрэглээний микробиологи сэтгүүл 2005, **99**. 1340–1345
- [10] ГРЭВЕС Л.М., ХЕЛСЕЛ Л.О., СТЕЙГЕРВОЛТ А.Г., МОРЕЙ Р.Е., ДАНЕШВАР М.И., РҮҮФ С.Е., ОРСИ Р.Х., ФОРТЕС Е.Д., МИЛИЛЛО С.Р., ДЕН БАККЕР Х.С., ВЕЙДМАНН М., СВАМИНАДАН В., САУДЕРС В.Д. Хүрээлэн буй орчноос ялгасан *Listeria marthii* sp. nov Фингер лэйкс нэйшнл форест Системчилсэн хувьслын микробиологийн олон улсын сэтгүүл. 2010, **60**. 1280–1288
- [11] ЖОНСОН Ж., ЖИННЕМЭН К., СТЕЛМА Г., СМИД В.Г., ЛЯЕЙ Д., МЕССЕР Ж., УЛАСЗЕК Ж., ЭВСЭН Л., ЖЕНДЕЛ С., БЕННЕТТ Р.В., СВАМИНАДАН В., ПРУКЛЕР Ж., СТЕЙГЕРВАЛТ А., КАДАРИОУ С., ЕЙЛДИРИМ С., ВОЛОХОВ Д., РАСҮҮЛЯ А., ЧИЗИКОВ В., ВЕЙДМАНН М., ФОРТЕС Е., ДУВАЛЛ Р.Е., ХИТЧИНС А.Д. *Listeria innocua*-ийн хэв шинжит бус нэг ген нь өвчин үүсгэгч *Listeria monocytogenes*-тэй ижилхэн Хэрэглээний болон хүрээлэн буй орчны микробиологи. 2004, **70**. 4256–4266
- [12] ЛАНГ ХАЛТЕР Е., НЕУХАУС К., СЧЕРЕР С. Германы цэвэр усны усан сангийн Лемна трисулка усныургамлаас ялгасан *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., Системчилсэн хувьслын микробиологийн олон улсын сэтгүүл.2013, **63**. 641–647
- [13] ЛЕКЛЕРКЮ А. Оксфорд, Палкам, Л.моно, Алоэ хатуу тэжээлт орчин дээр *Listeria monocytogenes*-ийн омгийн дээрх колонийн атипийн морфологи ба *Listeria monocytogenes* омгийн нөхөн сэргэлт бага. Оксфорд, палкам, түргэвчилсэн L.monoc, АЛОА хатуу тэжээлт орчин дээр хэв шинжит бус морфологитой колони нь удаан сэргэдэг. Микробиологийн Арга зүй сэтгүүл. 2004, **57**. 251–258
- [14] ЛЕКЛЕРКЮ А., КЛЕРМОНТ Д., БИЗЕТ С. ГРИМОНТ П.А., ЛЕ ФЛЭЙЧЭ-МАТЁОС А., РОХЕ С.М., БУХРЕЗЕР С., КАДЕТ-ДАНИЕЛ В., ЛЕ МОННИЕР А., ЛЕКУИТ М., АЛЛЕРБЕРГЕР Ф. *Listeria rocourtiae* sp. nov. Системчилсэн хувьслын микробиологийн олон улсын сэтгүүл. 2010, **60**. 2210–2214

- [15] ЛИУ Д., ЛОРЕНЦЕ М.Л., ВЭЙДМАНН М., ГОРСКИ Л., МАНДРЭЛЛ Р.Е., АЙНСВОРД А.Ж., ОСТИН Ф.В. *Listeria monocytogenes*-ийн IIIA, IIIB, IIIC дэд бүлэг нь янз бүрийн эмгэг төрүүлэгч хүчин зүйл бүхий генетикийн хувьд ялгаатай популяцийг тодорхойлдог. Эмнэлэгийн микробиологийн сэтгүүл. 2006, **44**. 4229–4233
- [16] ОТТАВИАНИ Ф., ОТТАВИАНИМ., АГОСТИ М. *Listeria monocytogenes*-ийг ялган дүйх агар тэжээлт орчин. Куанпэр фройд хурлын материал, П6 АДРИА Куанпэр, Франц, 16–18 6-р сар, 1997
- [17] ОТТАВИАНИ Ф., ОТТАВИАНИМ., АГОСТИ М. *L. mono*-ийг ялган дүйх сонгомол тэжээлт орчин. Хүнсний Аж үйлдвэр, 1997
- [18] РОБЕРТ А., НАЙТИНГАЛ К., ЖЕФФЕРС Г., ФОРТЕС Е., КОНГО KONGO Ж.М., ВЕЙДМАНН М. *Listeria monocytogenes*-ийн III-ийн генетик, фенотипийн шинж чанар. *Микробиологи*. 2006, **152**. 685–693
- [19] ВИЛЛИС С., ВАЛХАМ Т., ГРИЙНВУУД М., ПРЕСЛАНД Ф. Хүнсэн дэх *Listeria*-ийн зүйлийг илрүүлэх шинэ хромоген тэжээлт орчны үнэлгээ. Хэрэглээний микробиологийн сэтгүүл. 2006, **101**. 711–717
- [20] АФНОР баталгаажуулалтын судалгааг [http:// nf -validation .afnor .org/ en/ ?s = listeria](http://nf-validation.afnor.org/en/?s=listeria) дээрээс авна уу
- [21] Августин Ж.-С., КАЛМОКАФ М., ЭЛЛС Т., ПАВРИТ С., ДЭСРИУМАУКС Ж., Фрейзер шөлөөр баяжуулах явцад *Listeria monocytogenes*-н үйл явцыг загварчлах - Хоол хүнсэнд агуулагдах *L. monocytogenes*-г илрүүлэхэд баяжуулах хугацааны нөлөөлөл. Хүнсний микробиологи. 2016, 60 хуудас 131–136
- [22] ЖАГАДЕЕСАН В., ВАСТИК СХМИД Б., КЛИЖН А., МКМАХОН В. Validation of Test Portion Pooling for the Detection of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in Dairy Products. Poster presented at: IAFP 2016, St. Louis, Jul 29 to Aug 3
- [23] АНЖЕЛИДИС А.С., КАЛАМАКИ М.С., ЖОРЖИАДОУ С.С. Оттавиани, Агостын (ALOA)-ын дагуу *Listeria* агар дээр spp биш бактерийг тодорхойлохдоо Оттавиани ба Агости (ALOA) -ын дагуу Листериа агар дээр β-D-глюкозидазын эерэг фенотип гаргадаг *Listeria* spp биш бактерийн өсгөврийг ялган таних. Хүнсний микробиологийн сэтгүүл. 2015, **193**. 114–129
- [24] КАРПЕНТИЕР В., БАРРЕ Л. *Listeria monocytogenes*-ийг илрүүлэхдээ хүнс үйлдвэрлэлийн байр болон тоног төхөөрөмжөөс дээж авах заавар. 2012
- [25] БАРРЕ Л., АНЖЕЛИДИС А.С., БОУССАЙД Д., ДЕКОУРСЭУЛЛЕС БРАССЕУР Е., МАНСО Е. ГАНОУ БЕССЕ Н. *Listeria*- н шинэ зүйлүүдийг тодорхойлохдоо *Listeria monocytogenes*-г илрүүлэх стандарт арга EN ISO 11290-1 хэрэглэх нь. Хүнсний микробиологийн олон улсын сэтгүүл. 2016, **238**. 281–287
- [26] ХЕНК С., ВАРЧОКИ С., ЭМИЛИ М., АДАМ Ф., ЦЛЯДЕ М., КЕПХАР Д болон ВЕЙДМАНН М. Америкийн нэгдсэн улсын хөдөө аж ахуй болон хүрээлэн буйорчноос ялгасан *Listeria*-ийн (*L. floridensis* sp. nov., *L. aquatic* sp. nov., *L. cornellensis* sp. nov., *L. riparia* sp. nov., and *L. grandensis* sp. nov.) таван шинэ зүйл. Системчилсэн хувьслын микробиологийн олон улсын сэтгүүл. 2014, **64**. 1882–1889
- [27] ВЕЛЛЕР D., ЭНДРУС А., ВЕЙДМАНН М., БАККЕР Х. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015, **65**. 286–292
- [28] ISO 17468, *Хүнсний сүлжээний микробиологи— Стандартчилагдсан лавлагаа аргыг бий болгох, шинэчлэх техникийн шаардлага ба удирдамж*
- [29] ГАНОУ БЭССИ Н., ПАВРИТ С., ДЭСРИУМАУКС Ж., зэрэг; EN ISO 11290-1 стандартад Фрезер шөлөнд 24 цаг өсгөрлөхөд гарах *Listeria*-н зүйлийн олон талт байдлын ялгааг үнэлсэн нь. ОУ сэтгүүл. Хүнсний микробиологи. 2016, 224 хуудас 16–21

[30] ISO 16140: 2003,³⁾ Хүнс болон малын тэжээлийн микробиологи - Өөр аргуудыг баталгаажуулах протокол

³⁾ Хүчингүй болсон стандарт

САНАЛ АВАХ ТӨСӨЛ