МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO/TS 11133-1— 2014

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред

Часть 1
Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории

(ISO/TS 11133-1:2009, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 мая 2014 г. № 67-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 июля 2014 г. № 804-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO/TS 11133-1—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 11133-1:2009 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории).

Международный документ подготовлен Европейским комитетом по стандартизации (CEN), Техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы», совместно с Техническим комитетом ISO/TC 34 «Пищевые продукты», подкомитетом 9 «Микробиология» в соответствии с соглашением о техническом сотрудничестве между ИСО и CEN (Венское соглашение).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного документа, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

6 ВЗАМЕН ГОСТ ISO 11133-1–2011

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2015

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Введение

Питательные среды используют во всех традиционных методах выращивания микроорганизмов, а также для множества альтернативных задач. В микробиологической лаборатории большинство испытаний и процедур зависит от качества питательных сред и получения на них воспроизводимых результатов. В продаже имеется широкий ассортимент готовых питательных сред – обезвоженных концентратов, и еще больше составов питательных сред, предназначенных конкретно для выращивания микроорганизмов, описано в литературе. В лабораториях, занятых микробиологическими исследованиями пищевых продуктов и кормов для животных, основными целями является поддержание, оживление, выращивание, обнаружение и/или подсчет самых разнообразных микроорганизмов. Требования к среде являются специфичными как к пробе, так и к искомым микроорганизмам. Поэтому питательные среды, удовлетворяющие установленным или минимальным критериям эффективности, являются необходимым условием надежных результатов любого микробиологического исследования. Чтобы продемонстрировать приемлемость каждой партии среды, пригодность среды для выполнения предполагаемой задачи и что на данной среде можно получить непротиворечивые результаты, необходимо выполнить достаточный объем испытаний.

Данные три критерия являются важной частью процедур внутреннего контроля качества и, с соответствующей документацией, позволят осуществлять эффективный мониторинг питательных сред и способствовать достижению достаточной точности и прецизионности.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ
Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред
Часть 1
Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории

Microbiology of food and animal feeding stuffs.
Guidelines on preparation and production of culture media.
Part 1. General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

В настоящем стандарте представлена общая терминология, касающаяся обеспечения качества приготовления питательных сред, и установлены минимальные требования, применяемые в микробиологическом анализе продуктов, предназначенных для потребления в пищу человеком и кормления животных.

Настоящий стандарт также применим к питательным средам, используемым для микробиологического анализа всех видов воды.

Эти требования применимы к четырем классам питательных сред, используемых в лабораториях, которые готовят и/или используют питательные среды для выполнения микробиологических исследований:

- готовые к использованию среды промышленного производства;
- среды, которые необходимо переплавлять, дополнять и распространять;
- среды, которые готовят из имеющихся в продаже обезвоженных составов;
- среды, которые готовят из отдельных ингредиентов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы следующие нормативные ссылки:

ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям)

ISO/TS 11133-2:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по определению функциональных характеристик питательных сред)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

3.1 Общие положения

3.1.1 **управление качеством** (пищевых продуктов и кормов для животных) (quality control): Технические приемы и деятельность, направленные на выполнение требований к качеству.

3.1.2 **партия питательной среды** (batch of culture media): Однородная и полностью прослеживаемая единица среды, связанная с определенным количеством бестарного продукта, полуфабриката или конечного продукта, которая соответствует одному типу и качеству, прошла испытания на соответствие требованиям производства (контроль в процессе производства) и обеспечение качества, была произведена в течение определенного периода производства и которой был присвоен один и тот же номер партии.

3.1.3 **эффективность питательной среды** (performance of culture media): Реакция питательной среды на введение в нее (посев) тест-(микро)организмов в определенных условиях.

Издание официальное

3.2 Термины, связанные с питательными средами

3.2.1 **питательная среда** (culture medium): Смесь веществ в жидком, полутвердом или твердом состоянии, в которую входят природные и/или синтетические ингредиенты, предназначенные для поддержания размножения (с ингибированием роста определенных микроорганизмов или без него), идентификации или сохранения жизнеспособности микроорганизмов

Примечание – При использовании со сложными словами этот термин часто сокращают до слова «среда» (например, «обогатительная среда»).

3.2.2 **питательная среда с химически определенным составом** (chemically defined medium): Питательная среда, состоящая только из химически определенных ингредиентов с известной молекулярной структурой и степенью чистоты.

3.2.3 **питательная среда с химически неопределенным составом** (chemically undefined medium, partially undefined medium): Питательная среда, состоящая полностью или частично из природных веществ, переработанных или нет, химический состав которых определен не полностью.

Примечание – Гармонизированные обозначения для различных ингредиентов с химически неопределенным составом, используемых в питательных средах, приведены в приложении А.

3.2.4 **жидкая питательная среда** (liquid medium): Питательная среда, состоящая из водного раствора одного или нескольких компонентов (например, пептонная вода, питательный бульон).

Примечания

1 В некоторых случаях в жидкую питательную среду добавляют твердые частицы.

2 Жидкие среды в пробирках, колбах или флаконах обычно называют «бульон».

3.2.5 **плотная или полужидкая питательная среда** (solid medium or semi-solid medium): Жидкая питательная среда, содержащая затвердевающие материалы (например, агар-агар, желатин и т. д.) в различных концентрациях.

Примечания

1 Благодаря широкому использованию по всему миру питательных сред, затвердевающих с помощью агар-агара, в качестве синонима плотной питательной среды часто используют сокращенный термин «агар» и также в сочетании с существительными, например «агар для подсчета микроорганизмов в чашках Петри».

2 Плотную питательную среду, разлитую по чашкам Петри, обычно называют «plate» («чашка Петри»). Плотную питательную среду, разлитую по пробиркам или небольшим флаконам, которые держат в наклонном положении при застывании среды, часто называют «slant» или «slope» (скошенная плотная питательная среда, косой агар).

3.2.6 **транспортная (питательная) среда** (transport medium): Питательная среда, предназначенная для сохранения и поддержания жизнеспособности микроорганизмов без возможности существенного размножения в течение времени с момента отбора проб до момента обработки пробы в лаборатории.

Примечание – Транспортная среда обычно содержит вещества, которые не позволяют микроорганизмам размножаться, но обеспечивают в то же время их сохранение [например, транспортная среда Стюарта или Эми (Stuart, Amies)].

3.2.7 **(питательная) среда для сохранения** (preservation medium): Питательная среда, предназначенная для сохранения и поддержания жизнеспособности микроорганизмов в течение более продолжительного времени, чтобы защитить их от неблагоприятных воздействий, которые могут возникнуть при длительном хранении и способствовать восстановлению после этого периода [например, яичная питательная среда Дорсета (Dorset), скошенный питательный агар].

3.2.8 **питательная среда суспензирования** (suspension medium): Питательная среда, предназначенная для отделения микроорганизмов от испытуемого продукта в жидкую фазу без размножения или ингибирования в течение времени контактирования (например, пептонный солевой раствор).

Примечания

1 Среды суспензирования также используются с целью разбавления.

2 Среду суспензирования обычно называют «разбавитель».

3.2.9 **оживляющая (питательная) среда** (resuscitation medium): Питательная среда, предназначенная для активации подверженных стрессу и ослабленных микроорганизмов и восстановления их

способности к нормальному росту, но не обязательно способствующая их размножению (например, буферная пептонная вода).

Примечание – Ее можно также использовать как обогатительную среду.

3.2.10 **обогатительная (питательная) среда** (pre-enrichment medium, enrichment medium): Преимущественно жидкая питательная среда, которая благодаря составу обеспечивает особенно благоприятные условия для размножения микроорганизмов.

3.2.11 **селективная обогатительная (питательная) среда** (selective enrichment medium): Обогатительная среда, которая поддерживает размножение конкретных микроорганизмов, частично или полностью подавляя рост других микроорганизмов [например, соевая среда Раппапорта-Василиадиса (Rappaport-Vasiliadis)].

3.2.12 **неселективная обогатительная (питательная) среда** (non-selective enrichment medium): Обогатительная среда, которая поддерживает рост большинства микроорганизмов (например, питательный бульон).

3.2.13 **(питательная) среда для выделения** (isolation medium): Плотная или полужидкая питательная среда, которая поддерживает рост микроорганизмов (например, агар для подсчета микроорганизмов в чашках Петри).

3.2.14 **селективная (питательная) среда для выделения** (selective isolation medium): Питательная среда для выделения, которая поддерживает рост конкретных микроорганизмов, подавляя рост других микроорганизмов (например, агар XLD).

3.2.15 **неселективная (питательная) среда** для выделения (non-selective isolation medium): Питательная среда для выделения, которая не приспособлена к избирательному подавлению роста микроорганизмов (например, агар для подсчета микроорганизмов в чашках Петри).

3.2.16 **дифференциальная (питательная) среда** (differential medium characterization medium): Питательная среда, которая позволяет анализировать одну или несколько физиологических/биохимических характеристик микроорганизмов для их идентификации (например, агар MacConkey).

Примечание – Дифференциальные среды, которые можно использовать в качестве сред для выделения, называют средами для выделения/дифференциальными средами [например, агар на основе дезоксихолат-лизин-ксилозы (XLD), агар лактозный ТТС].

3.2.17 **идентификационная (питательная) среда** (identification medium): Питательная среда, предназначенная для получения специфической опознавательной реакции, которая обычно не требует последующего подтверждения (например, агар с желчью и эскулином, агар ТВХ).

Примечание – Идентификационные среды, которые можно использовать в качестве сред для выделения, называют средами для выделения/идентификационными средами.

3.2.18 **среда для подсчета** (enumeration medium): Селективная или неселективная питательная среда, которая позволяет производить подсчет микроорганизмов.

Примечание – Среда для подсчета может обладать свойствами оживляющей и/или обогатительной среды.

3.2.19 **подтверждающая среда** (confirmation medium): Питательная среда, которая частично или полностью способствует идентификации или определению характеристик микроорганизмов, которые проводят после предварительных стадий оживления, выделения и/или обогащения (например, агар Kligler).

3.2.20 **многоцелевая среда** (medium having multiple uses): Питательная среда, относящаяся к нескольким категориям.

Пример

Кровяной агар является оживляющей средой согласно 3.2.9, средой для выделения согласно 3.2.13 и дифференциальной средой согласно 3.2.16, используемой для обнаружения гемолиза.

3.2.21 **среда, готовая к использованию** (ready-to-use medium): Жидкая, плотная или полужидкая среда, которая поставляется в контейнерах в форме, готовой к использованию или готовой к использованию после переплавки.

Пример

Чашки Петри, пробирки или другие контейнеры, содержащие:

- полную среду, готовую к использованию;

- среду, которая подлежит переплавке, например для использования в методе заливки чашек Петри;

- среду, которая подлежит переплавке и распределению до использования, например путем разливания по чашкам Петри;

- среду, которая подлежит переплавке, внесению добавок и распределению до использования, например среда TSC, агар Baird Parker RPF.

3.2.22 **(питательная) среда, приготовленная из имеющейся в продаже дегидратированной формы**(medium prepared from commercially dehydrated formulations): Питательная среда в сухой форме, которая требует добавления воды и обработки перед использованием.

Пример

Восстановление путем добавления воды к порошкам, гранулам, сублимированным продуктам даст один из двух типов питательных сред:

- среду, полностью готовую к использованию;

- неполную среду, к которой необходимо добавить ингредиенты перед применением.

3.2.23 **(питательная) среда, приготовленная из отдельных ингредиентов** (medium prepared from individual components): Питательная среда, полностью приготовленная по рецептуре из конкретных ингредиентов.

3.3 Термины, касающиеся тест-(микро)организмов

3.3.1 **тест-микроорганизмы** (test organisms): Микроорганизмы, обычно используемые для проверки рабочих характеристик питательных сред.

Примечание – Тест-микроорганизмы далее определены в соответствии с их характеристиками согласно 3.3.2 – 3.3.5.

3.3.2 **контрольный (эталонный) штамм** (reference strain): Микроорганизм, полученный непосредственно из официальной коллекции культур, для которого определены, как минимум, род и вид, который внесен в каталог и описан в соответствии с его характеристиками и, предпочтительно, при необходимости установлено его происхождение в плане вида пищевого продукта или воды.

3.3.3 **контрольные (эталонные) исходные культуры** (reference stock): Набор отдельных идентичных культур, полученных в лаборатории от одного пересева контрольного штамма, либо имеющегося в лаборатории, либо полученного от поставщика.

3.3.4 **исходная культура** (stock culture): Первый пересев контрольной (эталонной) исходной культуры.

3.3.5 **рабочая культура** (working culture): Пересев контрольной исходной культуры, исходной культуры или стандартного образца, сертифицированных или нет.

Примечание – Стандартный образец – это материал, который содержит определенное количество жизнеспособных микроорганизмов в гомогенной, стабильной концентрации. Сертифицированный стандартный образец – это стандартный образец, концентрация в котором сертифицирована.

4 Обеспечение качества питательных сред

4.1 Документация

4.1.1 Документация, требуемая от изготовителя

От изготовителя требуется следующее:

- название среды, отдельных ингредиентов и всех добавок, включая их товарные коды;
- код партии;
- значение pH готовой среды;
- информация о хранении и дата истечения срока годности;
- свидетельство о контроле качества и используемый тест-(микро)организм;
- результаты проверки рабочих характеристик с критериями приемки;
- техническая спецификация;
- при необходимости, данные по опасности и мерах защиты.

4.1.2 Сдача-приемка продукции

Для каждой партии продукции (ингредиента или питательной среды) проводят проверку следующих показателей:

- идентификации продукции;
- целостности упаковки;
- даты истечения срока годности продукции;
- сопроводительной документации.

Регистрируют дату получения.

4.2 Хранение

4.2.1 Общие положения

В отношении условий хранения, истечения срока годности и применения всегда необходимо следовать инструкциям изготовителя.

4.2.2 Контроль качества и управление качеством обезвоженных (сухих) питательных сред и добавок

Питательные среды поставляют в форме обезвоженных порошков или гранул в герметично закрытых контейнерах, а добавки различных селективных или диагностических веществ поставляют либо в лиофилизированном, либо в жидком состоянии. Однако приобретение необходимо планировать заранее, чтобы обеспечить регулярный поток (т. е. «первым получен – первым использован»). Чтобы поддержать эффективный учет, необходимо проводить следующие проверки:

- проверка герметичности;
- проверка даты первого вскрытия;
- визуальная оценка содержимого вскрытых контейнеров.

Качество среды будет зависеть от условий хранения после того, как вскроют новый контейнер. Потеря качества обезвоженных сред проявляется в изменении текучести (сыпучести) порошка, гомогенности, комковании, изменениях цвета и т. д. Любую обезвоженную среду, которая абсорбировала влагу или демонстрирует очевидные изменения физического внешнего вида, не следует использовать.

4.2.3 Приобретаемые готовые (к применению) среды

В отношении условий хранения, даты истечения срока годности и применения необходимо следовать инструкциям изготовителя.

4.2.4 Среды, приготовленные в лаборатории

Сохраняемость у питательных сред такого типа различна. Конкретные международные или национальные стандарты могут предписывать конкретные условия и сроки хранения.

При необходимости, среды хранят в условиях, которые предотвращают любое изменение их состава, т. е. в условиях защиты от света и высыхания, в холодильнике при температуре (5 ± 3) °С. Как правило, рекомендуется, чтобы срок хранения для сред в чашках Петри не превышал две – четыре недели, а для флаконов и пробирок три – шесть месяцев, если в конкретных стандартах не указано иначе или результаты проверки срока годности в лаборатории не показывают более длительную сохраняемость.

Рекомендуется среды, к которым добавлены лабильные добавки, использовать в день приготовления, если в конкретных стандартах не указано иначе или результаты проверки срока годности в лаборатории не показывают более длительную сохраняемость. Плотные среды, содержащие химически активные и/или лабильные вещества, следует хранить в таре, в которой осуществляют их плавление.

Для хранимых сред необходимо установить утвержденную дату истечения срока годности. Наблюдают изменение цвета, признаки выпаривания/обезвоживания или рост микроорганизмов. Партии сред, демонстрирующие подобные изменения, использовать не следует.

Перед применением или нагреванием питательные среды рекомендуется выдерживать до установления равновесия с окружающей температурой.

Примечание – Специальные инструкции по хранению сред в чашках Петри приведены в 4.4.4.

4.3 Приготовление питательных сред в лаборатории

4.3.1 Общие положения

Точность при приготовлении питательных сред – один из основных принципов в микробиологических исследованиях, и необходимо уделять этому особое внимание.

Необходимо следовать установившимся правилам работы в лаборатории и выполнять инструкции изготовителя в отношении обращения с обезвоженными средами и другими ингредиентами, особенно содержащими опасные материалы, например соли желчных кислот или другие селективные компоненты.

Если среды готовят из имеющихся в продаже обезвоженных (сухих) форм, необходимо точно соблюдать инструкции изготовителя. Необходимо документировать все соответствующие данные, например, массу/объем, pH, дату приготовления, условия стерилизации, фамилию оператора.

В отношении сред, приготавливаемых из отдельных ингредиентов, необходимо строго следовать рецепту, записывать все детали и фиксировать все идентификационные данные (например, код и номер партии) используемых ингредиентов.

4.3.2 Вода

Электропроводность воды, полученной в лаборатории, должна быть не более 25 мкС/см (что эквивалентно сопротивлению ≥ 0,4 МОм · см) при 25 °С, если не требуется иное.

Микробное загрязнение не должно превышать 10^3 на кубический сантиметр и должно по возможности быть ниже 10^2 на кубический сантиметр. Следует проводить регулярную проверку микробного загрязнения в соответствии с ИСО 6222 [1] [проводя инкубирование при 22 °С в течение (68 ± 4) ч] или эквивалентным утвержденным методом.

4.3.3 Взвешивание и растворение

Тщательно взвешивают соответствующее количество обезвоженной среды (следя за тем, чтобы не вдохнуть порошок, особенно, если среда содержит токсичные вещества) и постепенно добавляют требуемое количество воды, избегая образования комков.

4.3.4 Растворение и диспергирование

Если необходимо, для растворения обезвоженные среды требуется быстро диспергировать путем постоянного перемешивания с последующим нагреванием. Средам, содержащим агар, перед нагреванием с перемешиванием для растворения необходимо дать несколько минут на пропитывание.

4.3.5 Измерение и регулирование pH

pH измеряют с помощью pH-метра и регулируют перед стерилизацией, если необходимо, так, чтобы после стерилизации и охлаждения до температуры 25 °С среда имела требуемое значение pH ± 0,2 единицы pH, если нет иных указаний. Регулировку pH обычно осуществляют с помощью раствора гидроксида натрия (NaOH) концентрацией приблизительно 40 г/дм^3 (примерно 1 моль/дм^3) или разбавленной соляной кислоты (HCl) концентрацией приблизительно 36,5 г/дм^3 (примерно 1 моль/дм^3). При регулировании pH среды после стерилизации используют стерильные растворы.

Примечание – Имеющиеся в продаже среды могут демонстрировать значительные изменения pH до и после обработки в автоклаве. Однако при условии использования дистиллированной или деионизованной воды регулирование pH перед обработкой в автоклаве не потребуется.

4.3.6 Разливка

Среду разливают по соответствующим контейнерам, имеющим вместимость, по меньшей мере, на 20 % превосходящий объем среды.

4.3.7 Стерилизация

4.3.7.1 Общие положения

Стерилизацию питательных сред и реактивов можно выполнять влажным паром (4.3.7.2) или фильтрацией (4.3.7.3).

Определенным средам для стерилизации не требуется обработка в автоклаве, их можно использовать после кипячения. Например, среды для выращивания *Enterobacteriaceae*, содержащие бриллиантовый зеленый, отчасти чувствительны к нагреванию и действию света, и после кипения их необходимо быстро охладить и защищать от интенсивного света. Некоторые реактивы также могут использоваться без стерилизации (см. соответствующий стандарт или инструкции изготовителя).

4.3.7.2 Стерилизация влажным паром

См. ISO 7218.

Стерилизацию влажным паром выполняют в автоклаве или специальном аппарате для приготовления питательных сред. Обычно операция обработки в автоклаве занимает 15 мин при температуре (121 ± 3) °С. Для объемов свыше 1000 см^3 режим стерилизации адаптируют соответствующим образом. В любом случае необходимо следовать рекомендациям стандарта или инструкциям изготовителя.

Примечание – Если в автоклаве обрабатывают большие объемы сред (> 1000 см^3), может произойти перегрев. См. ISO 7218.

После нагревания необходимо дать средам остыть, таким образом, чтобы предотвратить выкипание. Это особенно важно для сред в большом объеме и для чувствительных сред, например, сред, содержащих бриллиантовый зеленый.

4.3.7.3 Стерилизация фильтрацией

Стерилизацию фильтрацией можно выполнить под вакуумом или под давлением. Используют стерильное оборудование и мембраны с диаметром пор 0,2 мкм. Стерилизуют различные части фильтровального оборудования в соответствии с ISO 7218 либо используют заранее стерилизованное оборудование.

На некоторых фильтровальных мембранах могут задержаться протеины или другие вещества (такие как антибиотики). Для получения требуемой концентрации пользователь должен использовать предварительно смоченный фильтр.

4.3.7.4 Контроль

После обработки в автоклаве, кипячения или фильтрования любую среду необходимо контролировать, в частности, в отношении значения pH, цвета, стерильности и консистенции.

4.3.8 Подготовка добавок

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ – С готовыми добавками, содержащими токсичные вещества, особенно антибиотики, необходимо обращаться с осторожностью, избегая рассеивания порошка, что может вызвать аллергические или другие реакции у лабораторного персонала. Необходимо соблюдать технику безопасности и следовать инструкциям изготовителя при приготовлении растворов.

Нельзя использовать просроченные добавки, поскольку, например, для рабочих растворов антибиотиков срок годности истекает обычно в тот же самый день. При определенных обстоятельствах растворы антибиотиков можно хранить в замороженном состоянии подходящими объемами (аликвотами), но не допускается вторичное замораживание после оттаивания. Пользователю рекомендуется обсудить с изготовителем потенциальную потерю активности в результате замораживания или определить ее самостоятельно.

4.4 Подготовка к применению

4.4.1 Плавление агаризованных питательных сред

Расплавляют питательную среду, поместив ее на кипящую водяную баню, или с помощью любого другого процесса, который дает аналогичные результаты (например, в автоклаве текучим паром). Среды, которые ранее прошли обработку в автоклаве, рекомендуется снова нагревать в течение минимального времени, чтобы поддержать качество среды. Необходимо избегать перегрева и прекратить нагревание, если среда уже расплавилась. Выдерживают при комнатной температуре в течение короткого периода времени, например 2 мин, во избежание растрескивания стекла.

Охлаждают расплавленную среду до температуры от 47 °С до 50 °С на водяной бане с контролем температуры. Время, необходимое для достижения температуры от 47 °С до 50 °С, зависит от типа среды, объема и количества сосудов в водяной бане. Расплавленную среду рекомендуется использовать по возможности сразу, оставляя в таком состоянии не более чем на 4 ч. Неиспользованную среду не следует подвергать вторичному затвердеванию для последующего использования. В случае особо чувствительных сред время выдержки расплавленных сред необходимо сократить, как это установлено в соответствующем стандарте.

Устанавливают и документируют режим нагрева агара путем установки термометра в агаризованную среду в отдельном контейнере, аналогичном тому, который используется для испытуемой среды.

Среды, которые добавляют к пробе, следует нагреть до температуры от 44 °С до 47 °С, или как это установлено в соответствующем стандарте.

4.4.2 Деаэрация питательных сред

Если необходимо, непосредственно перед применением нагревают питательную среду на кипящей водяной бане или текучим паром в течение 15 мин, приоткрыв крышку или колпачок; после нагревания плотно закрывают крышки и быстро охлаждают до необходимой температуры.

4.4.3 Введение дополнительных ингредиентов

Не устойчивые к нагреванию ингредиенты рекомендуется добавлять в среду после ее охлаждения до температуры от 47 °С до 50 °С. Стерильному ингредиенту дают достичь комнатной температуры перед добавлением его в плотную среду. Холодные жидкости могут вызвать желатинизацию агара или образование прозрачных хлопьев. Все добавленные в среду ингредиенты вмешивают в среду осторожно и тщательно, затем распределяют по конечным контейнерам по возможности максимально быстро.

4.4.4 Подготовка и хранение сред в чашках Петри

Разливают расплавленную плотную питательную среду по чашкам Петри, так, чтобы получить слой толщиной не менее 3 мм (например, для чашек диаметром 90 мм обычно требуется от 18 до 20 $см^3$ агара), или как это установлено в соответствующем стандарте. Дают агару охладиться и застыть, разместив чашки Петри, закрытые крышками, на холодной горизонтальной поверхности. Если инкубирование длится более чем 48 ч или при температуре выше 40 °С, или если чашки Петри используются для посева после хранения, требуется большее количество питательной среды.

Примечание – Во время инкубирования может произойти потеря влаги плотной средой, что может неблагоприятно сказаться на росте микроорганизмов при некоторых обстоятельствах. Факторы, влияющие на потерю воды, включают состав среды, количество среды в чашках, тип термостата, т. е. с вентиляцией или без нее, влажность атмосферы в термостате, расположение и количество чашек в термостате и температура инкубирования.

Застывшую среду используют незамедлительно или хранят в условиях, предотвращающих изменение ее состава, т. е. в темноте и/или в холодильнике при температуре (5 ± 3) °С в герметично закрытых пакетах (см. 4.2). Чашки снабжают этикеткой, на которой указана дата приготовления и/или

дата истечения срока годности и идентификация. Можно использовать альтернативные системы кодирования, удовлетворяющие этим требованиям.

Срок хранения разлитой по чашкам среды будет больше, если хранить чашки в герметично закрытых пластиковых пакетах. Чтобы избежать появления конденсата, чашки необходимо охладить перед помещением их в пакеты. Не допускается подсушивание поверхности агара в чашках перед хранением в охлажденном состоянии.

Как правило, при посеве на поверхность плотной питательной среды чашки подсушивают, предпочтительно со снятыми крышками и перевернутом агаром вниз состоянии в сушильном шкафу при температуре от 25 °С до 50 °С или в ламинарном боксе, пока с поверхности среды не исчезнут капли влаги. Не допускается пересушивание. Чашки с готовой к применению приобретенной в продаже плотной средой рекомендуется хранить и использовать в соответствии с инструкциями изготовителя.

4.5 Утилизация сред

Как зараженные, так и неиспользованные питательные среды необходимо утилизировать безопасным способом, соответствующим местным или национальным регламентирующим документам.

5 Консервация и поддержание контрольных (эталонных) штаммов

5.1 Общие положения

Существует несколько методов, например, лиофилизация, хранение на шариках при температуре минус 70 °С или с использованием жидкого азота для успешного сохранения и поддержания всех микроорганизмов, имеющих отношение к микробиологии пищевых продуктов и воды. Один и тот же метод может не подойти ко всем штаммам.

Схема поддержания и приготовления приведена в приложении В.

5.2 Контрольные (эталонные) штаммы из коммерческих источников

Если контрольные штаммы получены из банков штаммов или от поставщиков, сертифицированных по ISO 9000 [3] или имеющих иную соответствующую сертификацию, и поддерживаются в первоначальном контейнере, то необходимо следовать инструкциям изготовителя в отношении их культивирования и использования.

5.3 Контрольные (эталонные) исходные (первичные) культуры, полученные в лаборатории

Исходные культуры контрольных (эталонных) штаммов (см. В.2) для определения эффективности необходимо поддерживать и обращаться с ними таким образом, чтобы свести к минимуму возможность перекрестного заражения, мутации или изменения типичных свойств. Контрольные (эталонные) исходные культуры рекомендуется хранить аликвотными порциями либо в состоянии глубокой заморозки (≤ минус 70 °С), либо после лиофилизации. При более высоких температурах срок хранения следует сократить.

Ростовые свойства питательных сред рекомендуется полностью подтвердить документально для каждой среды, в которой или на которой эти культуры были использованы в качестве тест-(микро)организмов.

Контрольные (эталонные) исходные культуры не следует использовать для приготовления контрольных (эталонных) штаммов.

5.4 Исходные культуры

Исходные культуры обычно получают из лиофилизированных или сильно замороженных контрольных (эталонных) исходных культур (см. В.2). С аликвотами необходимо обращаться таким образом, чтобы избежать возможного перекрестного заражения контрольной (эталонной) исходной культуры и/или ее порчи. Исходные культуры следует готовить путем повторного суспензирования аликвоты контрольной (эталонной) исходной культуры на неселективную питательную среду и инкубирования до получения культуры в стационарной фазе.

При использовании имеющихся в продаже систем консервации необходимо строго соблюдать инструкции изготовителя.

Исходные культуры не следует использовать для приготовления контрольных (эталонных) штаммов или контрольных (эталонных) исходных культур.

5.5 Рабочие культуры

Рабочие культуры готовят из исходных культур или контрольных (эталонных) исходных культур.

Рабочие культуры не следует использовать для приготовления контрольных (эталонных) штаммов, контрольных (эталонных) исходных культур или исходных культур.

6 Проверка рабочих характеристик готовых питательных сред

6.1 Общие положения

Процедуры проверки рабочих характеристик установлены в ISO/TS 11133-2.

Минимальные руководящие положения приведены в 6.2 и 6.3; на практике пищевые продукты и вода могут содержать микроорганизмы, подверженные стрессу. Необходимо принять во внимание пригодность среды в плане ее свойств способствовать восстановлению клеток, подверженных стрессу.

6.2 Управление физическим качеством

См. ISO/TS 11133-2.

6.3 Управление микробиологическим качеством

6.3.1 Загрязнение

Соответствующее количество от каждой партии рекомендуется испытать на загрязнение.

6.3.2 Тест-(микро)организмы

Набор тест-(микро)организмов должен включать микроорганизмы только с устойчивыми характеристиками, которые являются представительными для своих видов и надежными для демонстрации оптимальной эффективности конкретной питательной среды, приготовленной в лаборатории. Тест-(микро)орга-низмы, в первую очередь, должны включать штаммы, имеющиеся в большинстве банков контрольных (эталонных) культур, но можно также пользоваться хорошо зарекомендовавшими себя штаммами, выделенными рассматриваемой лабораторией. Лаборатории рекомендуется исследовать и записать данные о соответствующих характерных особенностях исходной культуры, а в восстановленном штамме могут проявляться атипичные свойства. Предпочтительно использовать штаммы, происходящие от пищевых продуктов и воды, хотя не все банки штаммов предоставляют информацию об их происхождении.

Тест-(микро)организмы для каждой среды могут включать:

- устойчивые положительные штаммы с типичными характеристиками;
- слабо растущие положительные штаммы (т. е. более чувствительные);
- штаммы, демонстрирующие отрицательные характеристики;
- частично или полностью подавленные штаммы.

Соответствующие тест-микроорганизмы приведены в ISO/TS 11133-2, приложении В.

Примечание – В [6] приводится утвержденный перечень тест-штаммов для оценки питательных сред.

6.3.3 Питательные среды и реактивы, готовые к использованию

Изготовители имеющихся на рынке готовых к использованию питательных сред, особенно те, которые имеют сертификацию по ISO 9000 [3], должны иметь действующую программу обеспечения качества и могут выдавать сертификат качества на поставляемые ими питательные среды. В этом случае пользователю не требуется проводить большой объем исследований на приобретенных средах, необходимо только убедиться в том, что поддерживаются условия хранения в соответствии с рекомендациями изготовителя. Для сред, готовых к использованию, в которые вводятся добавки, рекомендуется проведение, по меньшей мере, испытания качественных характеристик.

6.3.4 Питательные среды, приготовленные из имеющихся в продаже готовых концентратов

В случае сред для выделения и сред для подсчета необходимо проводить, по меньшей мере, полуколичественные испытания. Для дифференциальных испытуемых сред могут быть достаточными испытания качественных характеристик. Количественные испытания дадут большую уверенность в качестве питательных сред.

Для тех сред, которые не содержат индикаторы или селективные вещества, можно применять один положительный тест-штамм. Для тех сред, которые содержат индикаторы или селективные вещества, необходимо использовать штаммы, которые демонстрируют функцию индикаторов и селективности. Для сложных сред, т. е. сред с применением добавок, каждую партию необходимо проверить с помощью штаммов, характерные особенности которых перечислены в 6.3.2.

6.3.5 Питательные среды, приготовленные из базовых отдельных компонентов

Рекомендуется в дополнение к качественному анализу, описанному в 6.3.4, выполнить ряд количественных анализов, чтобы проследить тенденции качества базовых материалов, продуктивность питательной среды и записи последовательности хода приготовления сред внутри лаборатории.

Приложение А
(справочное)

Обозначение ингредиентов питательных сред в стандартах по микробиологическим исследованиям пищевых продуктов и кормов для животных

А.1 Общие положения

Гармонизированное описание различных ингредиентов в составе питательных сред в стандартных микробиологических методах приведено в А.2 – А.5.

А.2 Пептоны:

- гидролизат казеина ферментативный[1)];
- гидролизат соевого шрота ферментативный;
- гидролизат животных тканей ферментативный[2)];
- гидролизат сердца ферментативный;
- гидролизат желатина ферментативный;
- гидролизат животных и растительных тканей ферментативный[3)].

А.3 Экстракты:

- мясной экстракт;
- сердечно-мозговой экстракт;
- дрожжевой экстракт;
- желчь говяжья для микробиологии;
- желчные соли;
- желчные соли № 3.

А.4 Агар-агар:

- бактериологический агар-агар.

А.5 Другие компоненты:

- эмульсия яичного желтка;
- обезжиренное сухое (порошковое) молоко;
- гидролизат казеина кислотный.

[1)] Содержит пептический гидролизат казеина, триптический гидролизат казеина и триптон.
[2)] Содержит мясной пептон, пептический гидролизат мяса и панкреатический гидролизат мяса.
[3)] Содержит триптозу.

Приложение В
(справочное)

Приготовление контрольных (эталонных) исходных культур и рабочих культур

В.1 Приготовление контрольной (эталонной) исходной культуры из контрольного (эталонного) штамма



Рисунок В.1 – Схема приготовления контрольной (эталонной) исходной культуры

[a] Как правило, повторное суспензирование в питательном бульоне и время контактирования для оживления.
[b] Проверка морфологии колоний и окраски по Граму или идентификация с использованием биохимических тестов.
[c] Например, криозащитная среда, такая как TSB с добавкой от 10 % до 15 % (по объему) глицерина.
[d] Криопробирки могут содержать шарики.
[e] Замораживание при температуре ≤ минус 70 ºС позволяет хранить длительное время. Срок хранения при более высоких температурах ограничен.
[f] Может использоваться как рабочая культура.

В.2 Приготовление рабочей культуры из контрольной (эталонной) исходной культуры

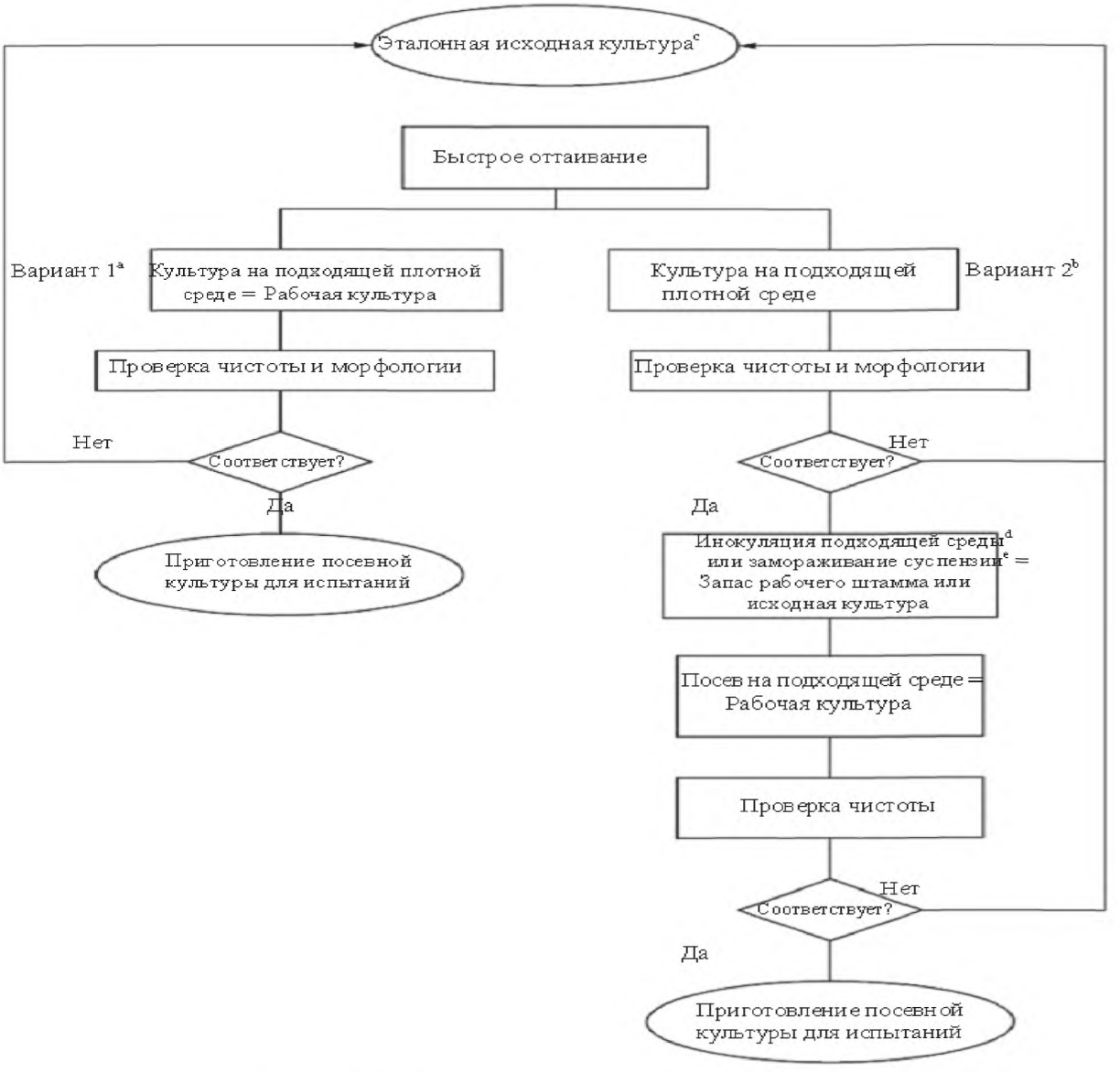

Рисунок В.2 – Схема приготовления рабочей культуры

[a] Данная процедура предпочтительней.

[b] Данная процедура может быть необходима для некоторых штаммов, например, для количественных испытаний. Документируют все стадии.

[c] Проверяют и архивируют документы в случае, если эталонная исходная культура получена из стороннего источника.

[d] Например, инокулируют пробирку со средой TSA, TSA с овечьей кровью или другой подходящей средой, инкубируют в течение 24 ч и хранят при подходящей температуре (от 18 °С до 25 °С или от 2 °С до 8 °С в зависимости от вида микроорганизмов) в течение четырех недель.

[e] Например, криозащитная среда, такая как TSB с добавкой от 10 % до 15 % (по объему) глицерина. Замораживание при температуре ≤ минус 70 °С позволяет хранить длительное время. Срок хранения при более высоких температурах ограничен.

Приложение С
(справочное)

Обеспечение качества питательных сред – выявление и устранение недостатков

Отклонение	Возможная причина
Плотная среда не застывает	Перегрев среды во время приготовления. Низкое значение pH, приводящее к кислому гидролизу. Использована неправильная масса агара. Агар был растворен не до конца. Недостаточное перемешивание ингредиентов
Неправильное значение pH	Перегрев среды во время приготовления. Плохое качество воды. Загрязнение химическими веществами извне. pH измерен при неправильной температуре. pH-метр неправильно калиброван. Плохое качество обезвоженной(сухой) среды
Неправильный цвет	Перегрев среды во время приготовления. Плохое качество воды. Плохое качество обезвоженной(сухой) среды Неправильное значение pH. Загрязнение извне
Образование осадков	Перегрев среды во время приготовления. Плохое качество воды. Плохое качество обезвоженной(сухой) среды Плохой контроль pH. При приготовлении из отдельных ингредиентов – примеси в сырье
Ингибирование/низкая продуктивность среды	Перегрев среды во время приготовления. Плохое качество обезвоженной(сухой) среды Плохое качество воды. Использована неправильная рецептура, например, ингредиенты неправильно взвешены, добавки введены в неверной концентрации. В посуде, где проводится приготовление или в воде присутствует токсичный осадок
Недостаточная селективность	Перегрев среды во время приготовления. Плохое качество обезвоженной(сухой) среды Использована неправильная рецептура. Неправильно осуществлено добавление ингредиентов, например, если среда была слишком горячая или неправильной концентрации. Загрязнение добавок
Загрязнение	Ненадлежащая стерилизация. Неэффективные методы асептики. Загрязнение добавок

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 7218:2007 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям	IDT	ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
ISO/TS 11133-2:2000 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по определению функциональных характеристик питательных сред	IDT	ГОСТ ISO 11133-2—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям питательных сред

Примечание – В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:
- IDT – идентичные стандарты.

Библиография

[1] ISO 6222 Water quality — Enumeration of culturable micro-organisms — Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium
[2] ISO 8199 Water quality — General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture
[3] ISO 9000 Quality management systems — Fundamentals and vocabulary
[4] EN 1659 In vitro diagnostic systems — Culture media for microbiology — Terms and definitions
[5] EN 12322 In vitro diagnostic medical devices — Culture media for microbiology — Performance criteria for culture media
[6] CORRY, J.E.L, CURTIS, G.D.W., BAIRD, R.M., editors. Handbook of culture media for food microbiology, 2nd edition. Elsevier, Amsterdam, 2003. 663 p. (Progress in Industrial Microbiology, Vol 37.)

УДК 579.67:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: микробиология пищевых продуктов и кормов для животных, питательные среды, руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред, общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории, термины и определения, обеспечение качества питательных сред, консервация и поддержание контрольных штаммов, проверка рабочих характеристик готовых питательных сред

Подписано в печать 02.02.2015. Формат 60х84 1/8.
Усл. печ. л. 2,33. Тираж 48 экз. Зак. 326.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru