МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 20837— 2013

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах.

Требования к подготовке образцов для качественного обнаружения

(ISO 20837:2006, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

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 Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 44)

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
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 20837:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Requirements for sample preparation for qualitative detection (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах. Требования к подготовке образцов для качественного обнаружения).

Международный стандарт разработан техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы» совместно с подкомитетом ISO TC 34/SC 9 «Микробиология» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

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

Перевод с английского языка (en).

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 2133-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 20837—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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, 2014

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Принцип 1
4 Общие требования к лаборатории 2
5 Реактивы, аппаратура и оборудование 2
6 Методика 2
Приложение А (справочное) Стандарты по обогащению микроорганизмами (бактериями) 4
Приложение В (справочное) Метод выделения ДНК из грамотрицательных бактерий 5
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 7
Библиография 8

Введение

Обнаружение патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) обычно выполняется путем указанной ниже последовательности этапов (или одновременного их выполнения):

- гомогенизация образца;
- (культуральное) обогащение исследуемого патогенного микроорганизма и обработка образца;
- выделение нуклеиновых кислот (по выбору);
- амплификация нуклеиновых кислот исследуемого патогенного микроорганизма;
- обнаружение амплифицированной ДНК исследуемого патогенного микроорганизма.

Ссылки на стандарты, относящиеся к культуральному обогащению бактерий из пищевых матриц, приведены в приложении А. Пример специального метода подготовки образца описан в приложении В.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах.

Требования к подготовке образцов для качественного обнаружения

Microbiology of food and animal feeding stuffs.
Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens.
Requirements for sample preparation for qualitative detection

Дата введения — 2015—07—01

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Использование настоящего стандарта может включать применение опасных материалов, операций и оборудования. Данный стандарт не предназначен для рассмотрения всех проблем безопасности, связанных с его использованием. Пользователь настоящего стандарта несет ответственность за применение безопасных и не угрожающих здоровью методов и определение необходимости регламентных ограничений перед использованием стандарта.

1 Область применения

В настоящем стандарте приводятся критерии и примеры подготовки образцов для получения ПЦР-совместимых образцов или нуклеиновых кислот, качество и количество которых достаточны для использования в ПЦР.

В стандарте описаны общие принципы процесса подготовки образцов. Ссылки на стандарты, в которых описано обогащение микроорганизмами, приведены в приложении А, а подробное изложение метода выделения ДНК приведено в приложении В.

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты, а также в случае необходимости при некоторой адаптации применим к кормам и к пробам окружающей среды.

2 Нормативные ссылки

Следующий ссылочный стандарт является обязательным для применения настоящего стандарта. Для недатированных ссылок применяется только цитируемое издание. Для недатированных ссылок применяется самое последнее издание ссылочного стандарта (включая любые изменения).

ISO 22174:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах. Общие требования и определения)

3 Принцип

3.1 Общие положения

Цель описанных методов подготовки образцов состоит в получении нуклеиновых кислот из пробы обогащенных исследуемых патогенных микроорганизмов, качество и количество которых достаточны для использования в ПЦР.

Примечание — Качество нуклеиновых кислот зависит, например, от химической чистоты, средней длины молекул и структурной целостности выделенных молекул нуклеиновых кислот.

Издание официальное

Обогащение и обработка образцов должны обеспечивать обнаружение малого количества целевых микроорганизмов и уменьшение количества веществ, ингибирующих ПЦР. Физические, химические или биохимические процедуры, обладающие меньшим разрушающим эффектом на целостность нуклеиновых кислот, должны обеспечивать получение совместимых с ПЦР-амплификацией образца или раствора нуклеиновых кислот.

3.2 Обогащение и обработка образца

Обработка образцов может начинаться непосредственно с образца или после его обогащения, согласно описанию в перечисленных в приложении А стандартах или в других стандартах, относящихся к данному вопросу.

3.3 Выделение нуклеиновых кислот

Основные принципы выделения нуклеиновых кислот состоят в высвобождении ДНК, присутствующей в бактериях, и одновременном или последующем удалении ингибиторов ПЦР.

Пример метода выделения ДНК приводится в Приложении В. Этот метод является только примером, и должен быть в дальнейшем модифицирован пользователями для соответствия задачам, стоящим перед каждой лабораторией.

4 Общие требования к лаборатории

Обработку образцов следует выполнять в раздельных рабочих зонах согласно требованиям стандарта ISO 22174, 6.3.

5 Реактивы, аппаратура и оборудование

См. приложения А и В настоящего стандарта, а также ISO 22174.

6 Методика

6.1 Обогащение и обработка образцов для выявления бактерий

Обогащение образцов пищевых продуктов следует проводить согласно соответствующим стандартам или другим нормативным документам. Для обогащения можно использовать другие, более совместимые с ПЦР, культуральные среды, если было установлено путем валидации, что они имеют эффективность, сравнимую со средами, описанными в соответствующих стандартах.

Некоторые среды культурального обогащения, рекомендуемые стандартами, содержат меньшее количество ингибирующих ПЦР веществ, чем другие, что должно тщательно учитываться при выборе метода подготовки образцов.

Для некоторых продуктов необходимо принять специальные меры по подавлению роста конкурирующих сопутствующих фоновых микроорганизмов (например путем добавления селективных добавок или антибиотиков).

Могут быть опробованы менее разрушающие методы, например простое разведение, центрифугирование, гидролиз белка, фильтрация, центрифугирование в градиенте плотности, иммуномагнитная сепарация и т. д. В случае отсутствия ответа в ПЦР возможно пробное использование более жестких методов, например кипячения, применения хелатирующих добавок или более жестких химикатов, например, хлороформа и этилового спирта, или наборов реагентов с аналогичными функциями. Для снижения содержания жиров в веществах с высоким содержанием жиров могут быть использованы простые физические методы. Для уменьшения эффектов ингибирования, обусловленного высоким содержанием кальция в молочных продуктах, можно использовать хелатирующие агенты.

6.2 Выделение нуклеиновых кислот

6.2.1 Выделение ДНК

6.2.1.1 Высвобождение и очистка ДНК

Допускается комбинация нескольких принципов выделения ДНК. Например, могут быть выполнены следующие этапы:

a) разрушение белков в экстракте клеток с помощью протеаз (например, протеиназы К) и РНК с помощью рибонуклеаз;

b) преципитация образовавшихся пептидов с органическими растворителями (например, со смесью фенола и хлороформа), что позволяет оставить ДНК в водной фазе;

c) очистка раствора ДНК и дальнейшее концентрирование путем преципитации этиловым спиртом в присутствии одновалентных катионов;

d) сбор преципитата ДНК с помощью центрифугирования;

e) промывка ДНК этиловым спиртом и ресуспендирование в буфере (например, буфер трис-(гидроксиметил)аминометан/ЭДТА (Трис-ЭДТА буфер) или Трис-буфер).

Для увеличения выхода ДНК на этапах преципитации можно использовать соосадители ДНК, например гликоген, полиэтиленгликоль (ПЭГ) или транспортную РНК (тРНК). Допускается использование только соосадителей без нуклеазной активности, ПЦР-ингибирующих/конкурирующих эффектов и без гомологии последовательностей с потенциальными целевыми ПЦР-последовательностями анализируемых микроорганизмов.

Примечание — Использование лиофильной сушки для высушивания осадка ДНК, полученного после этапа преципитации, может привести к перекрестной контаминации.

ДНК может быть высвобождена путем температурного разрушения клеток (например при кипячении в течение 10 мин). После кипячения охлажденный образец центрифугируют и полученный супернатант используют в ПЦР. Перед кипячением может быть применена ферментативная обработка для улучшения разрушения клеток (например, лизоцим, мутанолизин для грамположительных бактерий), после которой образец инкубируется с протеазами. Для микроорганизмов с исключительно прочной клеточной стенкой (например *Mycobacterium spp.*) возможно потребуется использование других методов, например сильной встряски с шариками.

Для выделения нуклеиновых кислот могут быть использованы и другие методы, включая имеющиеся в продаже наборы реагентов, при условии, что получаемые результаты сравнимы.

6.2.1.2 Качество и количество ДНК

Качество и выход ДНК, выделенной данным методом из данной матрицы, должны быть как повторяемыми, так и воспроизводимыми применительно к амплификации в ПЦР, при условии достаточного содержания ДНК в матрице. В частности, применяемый метод должен обеспечивать получение фрагментов ДНК, средний размер которых больше или равен размеру исследуемых ПЦР-продуктов.

Концентрацию и чистоту выделенной ДНК можно оценить флуорометрическими методами или с помощью электрофореза в геле. Количественная оценка очищенной ДНК может быть выполнена спектрофотометрическими методами.

Электрофорез в агарозном геле с окраской бромистым этидием и флуоресценцией в ультрафиолетовом (УФ) свете является быстрым способом оценки качества и количества ДНК (см. [1]).

Для некоторых методов подготовки образцов (например кипячение) необходимо использовать раствор нуклеиновых кислот сразу же после приготовления, так как получаемые нуклеиновые кислоты нестабильны.

В целом следует избегать повторных замораживания и размораживания растворов нуклеиновой кислоты.

Для хранения нуклеиновых кислот с низким количеством копий используют подходящую пластиковую посуду.

Примечание — Некоторые материалы, используемые для изготовления пробирок, способны связывать нуклеиновые кислоты.

6.3 Оценка результатов

Оценка результатов испытания — по ISO 22174, 9.3 и таблица 1.

Приложение А
(справочное)

Стандарты по обогащению микроорганизмами (бактериями)

Перечисленные в таблице А.1 стандарты содержат информацию по обогащению микроорганизмами (бактериями).

Таблица А.1 — Специальные стандарты по отдельным микроорганизмам (бактериям)

Вид микроорганизма	Международный стандарт
Salmonella spp.	[6]
Staphylococcus aureus	[7]
Bacillus cereus	[8]
Clostridium perfringens	[9]
Campylobacter spp.	[10]
Yersinia enterocolitica	[11]
Listeria monocytogenes	[12]
Escherichia coli O157	[13]
Shigella spp.	[16]

Приложение В
(справочное)

Метод выделения ДНК из грамотрицательных бактерий

В.1 Применение

Данный метод применим для выделения ДНК из грамотрицательных бактерий путем лизиса или кипячения.

В.2 Состояние метода

Данный метод хорошо известен и широко применялся [1]. Более того, данный метод прошел валидацию в совместном исследовании по обнаружению штаммов *Salmonella* в образцах сухого молока, прошедших культуральное обогащение на бульоне [2], [3], и совместном исследовании по обнаружению образующих веротоксин-образующей *Escherichia coli* (VTEC) в рубленом мясе [4], [5].

В.3 Принцип

В данном методе применяется несколько этапов центрифугирования для отбора бактерий. Бактериальные клетки промываются, лизируются с помощью инкубации при температуре от 95 °С до 100 °С, а затем центрифугируются для преципитации остатков клеточных стенок, полисахаридов и белков, что позволяет в итоге получить экстракт нуклеиновых кислот.

Стартовым материалом обычно является питательный бульон для культурального обогащения.

В.4 Реактивы

В.4.1 Буфер для промывания, физиологический раствор [ρ (NaCl) = 9 г/дм^3] или фосфатно-солевой буферный раствор, ФСБ (ρ (NaCl) = 8 г/дм^3, ρ (KCl) = 0,2 г/дм^3, ρ (Na_2HPO_4) = 1,44 г/дм^3, ρ (KH_2PO_4) = 0,24 г/дм^3; pH = 7,4).

В.5 Аппаратура и оборудование

Обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

В.5.1 Дозаторы с микролитровыми рабочими объемами

В.5.2 Настольная центрифуга, для микролитровых реакционных пробирок, с вместимостью от 1,5 см^3 до 2 см^3, и регулируемым ускорением до 10000 *g*.

В.5.3 Водяная баня или твердотельный термостат, для микролитровых реакционных пробирок, способных выдерживать нагрев до 100 °С.

В.5.4 Мешалка, например вихревой смеситель.

В.6 Методика

В.6.1 Общие положения

После обогащения выделяют бактериальную ДНК согласно описанию в В.6.2.

В.6.2 Процедура выделения

Переносят 1 см^3 культуральной среды после обогащения в реакционную пробирку. Центрифугируют суспензию клеток в течение десяти минут при ускорении 10000*g* (В.5.2). Удаляют супернатант.

Ресуспендируют осадок в 1 см^3 буфера для промывки (В.4.1) или воды. Центрифугируют суспензию клеток в течение десяти минут при ускорении 10000*g* (В.5.2). Удаляют супернатант.

Ресуспендируют осадок в объеме воды от 200 до 250 мкл. Проводят термическое разрушение клеток путем нагрева до температуры 95 °С в течение 20 мин (для *Salmonella*) или до 100 °С в течение 15 мин (для шигатоксин-продуцирующей *Escherichia coli* (STEC)).

Переносят реакционные пробирки в ледяную баню для быстрого охлаждения.

Тщательно перемешивают лизат (например с помощью встряхивателя (В.5.4)]). Центрифугируют при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 3 мин при ускорении 10000*g* (*Salmonella*) или 10 с при ускорении 10000*g* (STEC).

Переносят супернатант в чистую микролитровую реакционную пробирку.

Если для экстрактов нуклеиновых кислот наблюдается по соответствующим контролям эффект ингибирования, то они должны быть очищены перед использованием в ПЦР.

По выбору вместо методов термического разрушения клеток и необходимой очистки можно использовать имеющиеся в продаже системы выделения и очистки ДНК при условии соблюдения инструкций производителя.

В.7 Валидация

Данный метод широко применяется и является основным методом в молекулярной биологии. Кроме того, данный метод прошел валидацию в совместных межлабораторных испытаниях.

В 1998 году межлабораторное испытание было организовано рабочей группой «ПЦР для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах» института DIN (Немецким институтом стандартизации). В этом испытании приняли участие двенадцать лабораторий, каждая из которых получила по 20 образцов. Материал образца представлял собой сухое молоко с низким содержанием жира. Часть этого сухого молока была искусственно контаминирована *Salmonella* (1000 КОЕ на 25 г). Подготовка образцов перед выделением ДНК в лаборатории вы-

полнялась следующим образом: 25 г образца добавлялось к 250 см^3 неселективной среды для обогащения (бриллиантовый зелёный 0,002 %) и инкубировалось при температуре 37 °С в течение 16 ч. Выделение нуклеиновых кислот начиналось из 1 см^3 такого культурального бульона. Экстракты анализировались в ПЦР. Всего было проанализировано 240 образцов; результаты для 1-го образца были признаны ложноотрицательными, для 2-х — ложноположительными; в 14 образцах наблюдалось ингибирование ПЦР.

В 2001 году данный метод прошел валидацию в совместном исследовании, организованном рабочей группой «ПЦР для обнаружения микроорганизмов в пищевых продуктах» в Немецком Федеральном Институте защиты здоровья потребителей и ветеринарной медицины (BgVV) согласно статье 35 Немецкого федерального закона о пищевых продуктах. Участвовали одиннадцать лабораторий. Каждая лаборатория получила десять образцов рубленого мяса, приготовленного из двух основных матриц. В каждом случае пять образцов были равномерно контаминированы известными штаммами STEC/EHEC в дозах от 54 КОЕ/25 г до 308 КОЕ/25 г рубленого мяса. Содержание сопутствующей микрофлоры составляло от 105 КОЕ/г до 106 КОЕ/г, однако иногда было выше этих значений (в результате транспортировки). Образцы 1—9 (подготовленные из основного материала) дополнительно имели естественное загрязнение 4 штаммами STEC. Для всех лабораторий было показано 100 %-ное обнаружение в ПЦР.

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 соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 22174:2005 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах. Общие требования и определения	—	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.		

Библиография

[1] Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1987 (ISBN 0-87969-309-6)

[2] Scheu, P., Gasch, A., Zschaler, R., Berghof, K. and Wilborn, F. Evaluation of a PCR-ELISA for food testing: Detection of selected Salmonella serovars in confectionery products. Food Biotechnology, 12 (1&2), 1998, pp. 1—12

[3] DIN 10135:1999 Method for detection of salmonella with polymerase chain reaction (PCR)
[Метод обнаружения Salmonella с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР)]

[4] P.Gallien, H. Richter, Chr. Much, I. Fröbe, K.-W. Perlberg, and D. Protz, Optimierung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis und zur Charakterisierung von Shigatoxin-produzierenden Escherichia coli (STEC). Lebensmitteln. Berl. Mьnch. Tierdrztl. Wschr. 110, 1997, p. 422

[5] Detection, isolation and characterization of verotoxin-forming Escherichia coli (VTEC) in minced meat by means of PCR and DNA hybridization. No. L 07.18-1 in: Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foods Act; Methods of sampling and analysis of foods, tobacco products, cosmetics and commodity goods/Federal health Office, loose leaf edition, Beuth Verlag GmbH

[6] ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of Salmonella spp.
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения сальмонеллы *Salmonella spp*)

[7] ISO 6888-3 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 3: Detection and MPN technique for low numbers
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулаза-положительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* и другие виды). Часть 3. Обнаружение и метод MPN для низких количеств)

[8] ISO 7932 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive Bacillus cereus — Colony-count technique at 30 degrees C
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета предполагаемых бактерий *Bacillus cereus*. Техника подсчета колоний при температуре 30 град. С)

[9] ISO 7937 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens — Colony-count technigue
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета *Clostridium perfringens*. Метод подсчета колоний)

[10] ISO 10272-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter spp. — Part 1: Detection method
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий *Campylobacter spp*. Часть 1. Метод обнаружения)

[11] ISO 10273 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic Yersinia enterocolitica
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения презумптивно патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*)

[12] ISO 11290-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of Listeria monocytogenes — Part 1: Detection method
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета микроорганизмов *Listeria monocytogenes*. Часть 1. Метод обнаружения)

[13] ISO 16654 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of Escherichia coli O157
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения палочки *Escherichia coli O157*)

[14] ISO/TS 20836 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Performance testing for thermal cyclers
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция для обнаружения патогенных пищевых микроорганизмов. Определение рабочих характеристик амплификаторов)

[15] ISO 20838 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Requirements for amplification and detection for qualitative methods
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция для обнаружения патогенных пищевых микроорганизмов. Требования к амплификации и обнаружению качественного анализа)

[16] ISO 21567 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of Shigella spp.
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения дизентерийной палочки *Shigella spp.*)

УДК 579.672:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: продукты пищевые, корма для животных, микробиология, требования к образцам, патогенные микроорганизмы, качественное обнаружение, качество и количество ДНК, РНК, нуклеиновые кислоты, полимеразная цепная реакция, ПЦР

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *О.Д. Черепковой*

Сдано в набор 15.09.2014. Подписано в печать 03.10.2014. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,86.
Уч.-изд. л. 1,35. Тираж 76 экз. Зак. 4205.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru