МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 11133-2— 2011

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред

Часть 2

Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред

(ISO 11133-2:2003, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

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. Порядок разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным учреждением «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Российской академии медицинских наук на основе русской версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 ноября 2011 г. № 40)

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	Минторгэкономразвития
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. № 1476-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 11133-2—2011 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2013 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 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 культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред).

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

Степень соответствия — идентичная (IDT).

Стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р ИСО 11133-2—2008

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта публикуется в ежегодно издаваемом указателе «Национальные стандарты».

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты»

© Стандартинформ, 2013

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 Термины и определения 1
4 Критерии обычного контроля качества 1
5 Методы проверки характеристик питательных сред 4
6 Документирование результатов испытаний 9
Приложение А (рекомендуемое) Пример таблицы регистрации результатов испытаний культуральных сред, приготовленных лабораторией пользователя 10
Приложение В (рекомендуемое) Рекомендуемые тест-микроорганизмы для широко используемых культуральных сред (приводится информация о культуральных средах, условиях содержания сред, тест-микроорганизмах, номере коллекции культур тест-микроорганизмов и ожидаемых реакциях) 11
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 26
Библиография 27

Введение

Важно, чтобы для проведения микробиологического анализа пищевых продуктов с большой степенью надежности использовались культуральные среды проверенного качества. Для всех сред, описанных в стандартизованных методах, является важным установить минимальные критерии приемлемости, требуемые для обеспечения надежности сред. Рекомендуется, чтобы при определении эксплуатационных характеристик культуральной среды проводились испытания, которые соответствуют настоящим техническим условиям. Это применяется:

1) к приготовленным на коммерческой основе обезвоженным средам, готовым к употреблению;

2) культуральным средам, приготовленным из основных компонентов в лаборатории пользователя.

Установление широко принятых минимальных критериев эксплуатации для сред должно привести к более однородному качеству продукции на коммерческой основе и тем самым сократить спектр испытаний, которые необходимо проводить в лаборатории пользователя.

Кроме того, минимальные критерии приемлемости, измеряемые методами, установленными в настоящем стандарте, могут использоваться всеми микробиологическими лабораториями для оценки свойств производительности, селективности и/или избирательности культуральной среды.

В микробиологическом анализе пищевых продуктов и кормов для животных требования настоящего стандарта являются приоритетными при оценке качества сред.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред

Часть 2

Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред

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

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает критерии и методы эксплуатационных испытаний культуральных сред. Настоящий стандарт применяется:

- к коммерческим структурам, производящим и/или распространяющим готовые к употреблению или полуфабрикатные, восстановленные или обезвоженные среды для микробиологических лабораторий;
- некоммерческим структурам, поставляющим среды третьей стороне;
- микробиологическим лабораториям, осуществляющим приготовление культуральных сред для собственного использования и оценивание эксплуатационных характеристик этих сред.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные документы. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

ISO/TS 11133-1:2000 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 культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ISO 11133-1.

4 Критерии обычного контроля качества

4.1 Общие критерии качества

4.1.1 Качество культуральных сред

Качество культуральных сред зависит от качества основных компонентов, правильности состава, качества процедур приготовления, устранения загрязняющих микробных агентов и надлежащих условий упаковки и хранения (см. ISO 11133-1).

Производитель или оператор в лаборатории должен действовать в соответствии с физико-химическими характеристиками культуральных сред, как это установлено в соответствующем стандарте. Кроме того,

Издание официальное

оценивание качества должно гарантировать, что культуральная среда соответствует установленным рекомендациям, включая следующие характеристики:

- нанесенное количество и/или толщину;
- внешний вид, цвет и гомогенность;
- консистенция геля;
- содержание воды;
- значение pH;
- буферную емкость;
- микробное загрязнение.

Индивидуальные компоненты и любые питательные или селективные добавки также должны проходить надлежащие процедуры оценки качества.

4.1.2 Качество основных компонентов сред

Культуральные среды, которые описываются в стандартах, рассматриваются как удовлетворительные; вместе с тем, из-за непостоянства их качества для производителей сред может быть приемлемым изменение концентрации некоторых основных биологических компонентов, приведенных ниже:

- пептонов и мясных или дрожжевых экстрактов, питательные свойства которых непостоянны;
- агара, гелеобразующие свойства которого непостоянны;
- буферных веществ;
- солей желчных кислот, желчного экстракта и дезоксихолата, антибактериальных красителей в зависимости от их селективных свойств;
- антибиотиков в зависимости от их активности.

4.2 Микробиологические критерии качества

4.2.1 Общие положения

Испытания микробиологических эксплуатационных характеристик следует проводить с использованием пробы, которая является представительной для партии конечного продукта.

4.2.2 Микробное загрязнение

Надлежащее количество в зависимости от размера партии культуральной среды должно быть испытано на микробное загрязнение путем инкубации в соответствующих условиях. Предельные значения количества загрязненных чашек или емкостей жидкой среды следует установить для каждой среды, или они должны быть установлены производителем. Производители должны составить технические условия, основываясь на компонентах сред, технологических ограничениях и типе упаковки.

Примечания

1 Пробы, которые подвергаются испытаниям, должны представлять собой по меньшей мере одну чашку или пробирку либо 1 % чашек или пробирок от начала и одну чашку или пробирку, либо 1 % чашек или пробирок от конца процесса разливки или распределения. Чашки или пробирки следует инкубировать по меньшей мере в течение 18 ч при 37 °С или в условиях инкубации, которые обычно применяются для данной среды в соответствии с конкретным стандартом.

2 Для плана статистической выборки см. ISO 2859-1.

4.2.3 Рост

4.2.3.1 Общие положения

Для оценки каждой партии культуральной среды в целом, питательных компонентов или добавок необходимо оценить рост с помощью одного из методов:

1) количественного или

2) полуколичественного, или

3) качественного.

Количественное, полуколичественное или качественное определение проводят методами, описанными в настоящем стандарте, или другими общепринятыми методами. Для интерпретации результатов испытаний необходимо проводить сравнение величины роста в испытуемой среде с этой величиной для эталонной среды. Использование конкретной эталонной среды является обязательным для количественного метода (см. соответствующий стандарт или приложение В).

В случае полуколичественного или качественного метода использование конкретной эталонной среды (см. соответствующий стандарт или приложение В) или культуральной среды, дающей «положительную» реакцию, помогает интерпретировать результаты. Эталонная среда должна быть проверенного качества, отобранная из недавно выпущенных партий или партии другого поставщика, или готовая к употреблению среда и т. п.

Помимо этого, рост целевых штаммов должен быть типичным в плане внешнего вида, размера и морфологии колоний и рост нецелевых штаммов должен быть частично или полностью ингибирован.

4.2.3.2 Продуктивность

Твердые, полутвердые или жидкие культуральные среды должны быть инокулированы с использованием соответствующего инокулята (см. 5.2.1.1) рабочей культуры каждого определенного тест-микроорганизма при помощи надлежащего устройства.

Производительность должна достичь установленного минимального предела (см. соответствующий стандарт или приложение В).

Для количественного метода коэффициент производительности P_R вычисляют по формуле

$$P_R = N_S/N_o, \quad (1)$$

где N_S — общее количество колоний, полученных на данной культуральной среде при испытании (полученных на одной или более чашках);

N_o — общее количество колоний, полученных на определенной эталонной культуральной среде на одной или более чашках; оно должно быть ≥100 КОЕ (колониеобразующих единиц).

Примечание — Коэффициент производительности неселективной среды составляет по меньшей мере 0,7 для микроорганизмов, которые могут легко расти на этой среде. P_R целевых микроорганизмов на селективной среде должен быть не менее 0,1. Обычно достигаются эти значения, вместе с тем для определенных комбинаций сред и тест-микроорганизмов могут быть приняты менее жесткие критерии (см. соответствующий стандарт или приложение В).

В случае полуколичественных методов результаты подсчета в последовательных секторах чашки с инокуляцией экометрическим методом суммируются для получения показателя роста G_i, который варьируется в зависимости от культуральной среды. Таким образом, является существенным их сравнение с предыдущими показателями и/или с G_I эталонной среды и необходимо убедиться, что имеющиеся вариации не превышают норму. Ожидаемый диапазон вариаций для каждой культуральной среды также может быть установлен, как только будет наработан достаточный опыт в использовании метода.

Качественные определения проводят визуально путем локализации баллов, характеризующих рост.

4.2.3.3 Селективность

Для количественной оценки селективности селективные культуральные среды и эталонную среду инокулируют с использованием надлежащего инокулята (см. 4.2.1.2) определенного тест-микроорганизма при помощи надлежащего устройства. Селективность должна достичь определенных значений (см. соответствующий конкретный стандарт или приложение В).

Фактор селективности S_F вычисляют по формуле

$$S_F = D_O - D_S, \quad (2)$$

где D_O — наибольшее разбавление, при котором отмечается рост по меньшей мере 10 колоний на эталонной среде;

D_S — наибольшее разбавление, демонстрирующее сопоставимый рост на испытуемой среде.

S_F, D_O и D_S выражены в единицах $\log_{10}$.

Примечание — S_F нецелевых микроорганизмов на селективной среде должен быть не менее двух. Это значение, как правило, достигается. Вместе с тем, для определенных комбинаций сред и тест-микроорганизмов могут быть приняты менее жесткие критерии (см. соответствующий стандарт или приложение В).

Для полуколичественных и качественных методов рост неселективного штамма(ов) должен быть частично или полностью ингибирован.

4.2.4 Биохимические и физиологические характеристики (селективность и специфичность)

Чтобы получить полную картину характеристик сред, необходимо определить морфологию колоний и диагностические особенности, а также степень селективности.

Должны быть определены и достигнуты существенные характеристики специфичности. Для дифференциальных сред должны быть определены качественно биохимические/физиологические характеристики целевых микроорганизмов и степень ингибирования нецелевых микроорганизмов следует определить с использованием надлежащего набора испытательных штаммов.

4.2.5 Характеристики антимикробных испытаний

Антимикробное действие антибиотиков зависит от характеристик их диффузии в агаре и любых антагонистических влияний присутствующих компонентов. Среды для испытаний присутствия или отсутствия антимикробных веществ в пробах пищевых продуктов должны соответствовать эталонным методам.

4.3 Оценка характеристик и интерпретация результатов

Партия культуральной среды демонстрирует удовлетворительные эксплуатационные характеристики, если все используемые тест-микроорганизмы ведут себя в соответствии с признаками, приведенными в настоящем стандарте. Партия должна быть принята в случае, если соблюдаются общие и микробиологические критерии качества.

5 Методы проверки характеристик питательных сред

5.1 Общие положения

Описаны примеры количественного, полуколичественного и качественного методов испытаний для твердых культуральных и жидких сред. В большинстве случаев полуколичественный и качественный методы, используемые в лаборатории пользователя, должны соответствовать требованиям проверки характеристик партии питательной среды.

В особых случаях, например при оценивании новой среды или нового производителя и т. п., количественные методы испытаний следует применять в лаборатории пользователя.

Предполагается, что общепринятые микробиологические методы известны и, следовательно, их полное изложение не приводится.

Релевантные тест-микроорганизмы приведены в приложении В (см. также ISO 11133-1).

Примечание — В новые и пересматриваемые стандарты по определению или подсчету конкретных микроорганизмов или групп микроорганизмов следует включать описание релевантных тест-микроорганизмов, которые будут использоваться вместе с критериями приемлемости для каждой культуры в стандарте.

Для жидких сред взаимодействия, приводящие к успешному росту микроорганизмов, более сложные; таким образом, устанавливаемые методы эксплуатационных испытаний менее эффективны, чем для твердых сред.

Для успешной изоляции целевых микроорганизмов в многостадийном методе, например определении Salmonella, на каждой стадии роста имеют место несколько сложных взаимодействий. В данном случае следует провести контрольное испытание с использованием надлежащих проб, культуры и эталонных веществ, чтобы продемонстрировать продуктивность или соответственно селективность всего метода. Кроме того, можно продемонстрировать, что каждый компонент среды соответствует целям.

5.2 Тест-микроорганизмы

Релевантные эталонные штаммы целевых (продуктивность) и нецелевых (селективность) микроорганизмов для каждой культуральной среды приведены в приложении В. Тест-микроорганизмы должны соответствовать требованиям, изложенным в ISO 11133-1 (пункт 5.2.2), например, речь идет о жизнестойких, медленно растущих, биохимически неактивных или поврежденных штаммах, когда это целесообразно.

Методические указания по консервированию и сохранению эталонных штаммов приводятся в приложении В.

5.2.1 Приготовление рабочей культуры

Рабочие культуры следует готовить в виде чистой культуры в стационарной фазе роста в неселективном бульоне из эталонных исходных культур.

Могут использоваться различные методы, но они должны гарантировать чистоту инокулята, а также его -е стандартность, которая позволит использовать его в последующей стадии.

Примечание — Замороженные инокуляты можно использовать, если будет показано, что данный микроорганизм способен выживать в течение выбранного периода.

5.2.1.1 Рабочая культура для испытаний на продуктивность

Для количественных испытаний чашечной среды для требуемых микроорганизмов используется инокулят, содержащий приблизительно 10^2 КОЕ.

Для полуколичественных или качественных испытаний чашечной среды необходим инокулят, содержащий 10^3—10^4 КОЕ.

Для испытаний на продуктивность жидких сред используется инокулят, содержащий 10—100 КОЕ.

5.2.1.2 Рабочая культура для испытаний на селективность

Для испытаний культуральных сред на селективность в чашку или в пробирку со средой инокулируют суспензию нецелевых микроорганизмов, содержащую от 10^4 до 10^6 КОЕ.

5.2.1.3 Условия инкубации

Инокулированные культуральные среды инкубируют с соблюдением условий, описанных в соответствующем стандарте и приведенных в соответствующих таблицах приложения В.

5.3 Методы, применяемые в отношении твердых культуральных сред

5.3.1 Количественный метод

5.3.1.1 Общие положения

Это обычный метод, пригодный для большинства плотных культуральных сред. Он может быть непригодным для испытаний некоторых видов плесневых грибов.

5.3.1.2 Процедура

Используют рабочие культуры в соответствии с 5.2.1.

Отбирают соответствующее число чашек, которое является представительными для каждой партии, подлежащей испытаниям, и обеспечивают правильное высушивание поверхности каждой чашки. Чашки с эталонной средой готовят аналогичным образом.

По поверхности испытуемых и эталонных чашек распределяют инокулят разбавленной рабочей культуры с целью внесения количества, которое входит в рекомендуемые пределы, приведенные в 5.2.1.

Примечания — Может также использоваться чашечный метод для культуральных сред, обычно применяемых для подсчета таким образом.

Чашки инкубируют в соответствующих условиях, как это установлено в соответствующих стандартах.

Проводят подсчет колоний, присутствующих в каждой чашке или в каждой капле, по обстоятельствам. Оценивают размер и внешний вид колоний.

5.3.1.3 Расчеты

Исходя из объема, распределенного на чашках, и фактора разбавления можно рассчитать среднее количество микроорганизмов в среде. В случае использования капельных методов необходимо принимать во внимание количество капель и их объем.

5.3.1.4 Интерпретация результатов

Для интерпретации результатов следует рассчитать коэффициент производительности P_R (см. 5.2.3.2) или фактор селективности S_F (см. 5.2.3.3).

5.3.2 Полуколичественный метод посева штрихом, основанный на экометрии

5.3.2.1 Общие положения

Метод посева штрихом пригоден для определения рабочих характеристик плотных и жидких культуральных сред, данный метод является только полуколичественным. Таким образом, показатели роста являются лишь ориентировочными, и он может рассматриваться только как дополнительное испытание твердых культуральных сред.

При использовании данного метода испытуемые культуральные среды необходимо высушить до одной и той же степени, и вся процедура должна быть стандартизирована, чтобы можно было сравнивать результаты, полученные для различных партий.

5.3.2.2 Процедура

Чашки с агаром готовят обычным способом, используя около 15 $см^3$ агара. Среды, обычно используемые в чашечном методе, например агар для чашечного подсчета, могут также подвергаться испытаниям поверхностным культивированием на затвердевших средах.

Используют рабочие культуры, как это описано в 5.2.1.

В чашки делают посев штрихом, как это показано на рисунке 1, используя петлю на 1 мкл. Проводят четыре параллельные линии петлей с интервалом приблизительно 0,5 см в секторе А. Штриховую разводку повторяют для секторов В и С и завершают в секторе D одной линией. Для помощи в выполнении точного посева штрихом под чашкой можно использовать шаблон.

Соблюдают время и температуру инкубации, установленные в стандартных методах.

Примечание — В культуру необходимо погружать только петлю, но не проволоку. Петля должна быть полностью заполнена культурой. Избыточную жидкость удаляют трехкратным нажатием на расширенную часть петли, используя край емкости. При посеве штрихом угол между петлей и поверхностью агара должен быть от 20° до 30°. Давление петли на поверхность агара и скорость посева штрихом должны быть всегда соразмерны. Следует избегать погружения петли в культуру, если на поверхности бульона имеются пена и/или пузыри.

Обычно для посева штрихом всех секторов от А до D используют одну и ту же петлю без обработки в пламени между операциями посева штрихом. В некоторых случаях, когда более низкий показатель роста

G_I, как ожидается, должен продемонстрировать четко выраженные различия, может быть уместной замена или стерилизация петли между операциями посева штрихом в секторах А и В.

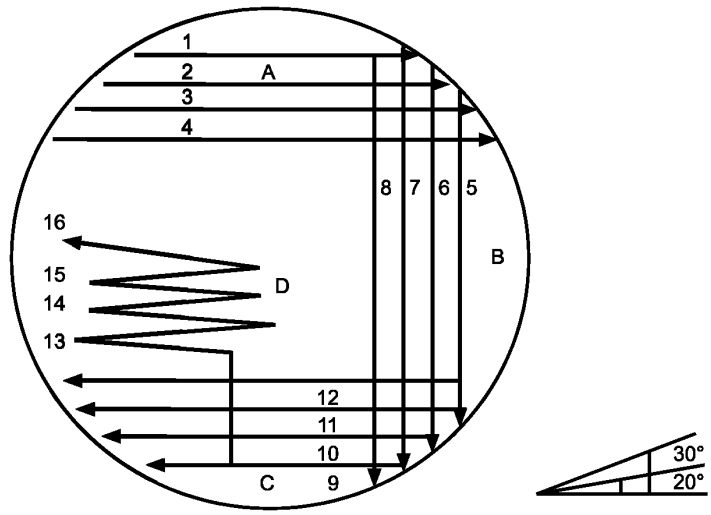

Рисунок 1 — Образец проведения инокуляции при помощи модифицированного метода посева штрихом и угол наклона петли

5.3.2.3 Расчеты

После инкубации оценивают внешний вид, размер колоний и интенсивность роста и вычисляют показатель роста G_I. Каждой линии посева, которая показывает рост, приписывают 1 балл. Максимальное количество баллов для чашки равно 16. Линии приписывают 0,5 баллов, если рост наблюдается только на половине ее длины. Линия, на которой роста нет или имеется ограниченный рост (менее половины длины), оценивается в 0 баллов. Баллы суммируют с целью получения G_I. Например, если рост наблюдается в секторах А и В и в половине сектора С, G_I будет равен 10.

5.3.2.4 Интерпретация результатов

Показатель роста G_I, характеризующий целевой штамм, должен быть по меньшей мере равен 6, чтобы сделать выводы о приемлемости среды. В случае неселективных сред G_I обычно выше.

Кроме того, рост целевого штамма должен быть типичным, а рост нецелевых штаммов должен быть частично или полностью ингибирован.

5.3.3 Качественный метод посева штрихом

5.3.3.1 Общие положения

Данный метод пригоден для дополнительных эксплуатационных испытаний твердых культуральных сред.

Данный метод является только качественным, и, таким образом, оценка дается только приблизительная.

5.3.3.2 Процедура

Чашки с агаром готовят обычным способом, используя около 15 $см^3$ агара. Среды, обычно используемые в чашечном методе, например агар для чашечного подсчета, могут также подвергаться испытаниям поверхностным культивированием на затвердевших средах.

Используют рабочие культуры, как это описано в 5.2.1.

Тест-микроорганизмы наносят прямыми параллельными линиями, используя петлю на 1 мкл, на поверхность испытуемой среды. В одной и той же чашке можно осуществлять посев штрихом нескольких тест-микроорганизмов, не смешивая их.

Примечание — Возможно применение других стандартизированных методов посева штрихом.

5.3.3.3 Интерпретация результатов

Рост, наблюдаемый в чашках после инкубации, оценивается следующим образом:

- 0 соответствует нулевому росту,

- 1 соответствует слабому росту и

- 2 соответствует значительному росту.

Целевые микроорганизмы должны оцениваться в 2 балла и иметь типичный внешний вид, размер и морфологию колоний. Рост нецелевых микроорганизмов должен быть частично или полностью ингибирован (0 или 1).

5.4 Методы, применяемые в отношении жидких культуральных сред

5.4.1 Общие положения

Для определения производительности жидкой среды необходимо использовать подходящий инокулят. Количественный, полуколичественный и качественный методы, описанные ниже, позволяют оценить производительность и селективность. Предлагаемые методы регистрируют степень роста после надлежащей инкубации путем культивирования или штрихового посева из жидких сред на агаровые среды и подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ) или вычисления баллов для жидкой среды. В случае качественных методов для жидких сред характеристические реакции оценивают визуально.

5.4.2 Количественный метод разбавления для целевых и нецелевых микроорганизмов

Данный метод также пригоден для оценивания новых культуральных сред или разбавителей.

5.4.2.1 Процедура

Отбирают нужное число пробирок или порций по 10 $см^3$ каждой партии испытуемой жидкой среды.

Инокуляция целевых микроорганизмов: инокулируют испытуемый бульон и эталонный бульон, используя каждый тест-микроорганизм с малым содержанием (например, от 10 до 100 КОЕ в каждой пробирке; о приготовлении инокулята см. 5.2.1), и перемешивают.

Инокуляция нецелевых микроорганизмов: инокулируют испытуемый бульон и эталонный бульон, используя каждый тест-микроорганизм с более высоким содержанием (> 1000 КОЕ в каждой пробирке; о приготовлении инокулята см. 5.2.1), и перемешивают.

Инокуляция целевых и нецелевых микроорганизмов как смешанной культуры: для испытаний смешанных культур в селективных средах инокулируют испытуемый бульон и эталонный бульон малым количеством целевых микроорганизмов (например, от 10 до 100 КОЕ на каждую пробирку; о приготовлении инокулята см. 5.2.1) и в ту же пробирку вносят значительное количество нецелевых микроорганизмов (> 1000 КОЕ в каждую пробирку; о приготовлении инокулята см. 5.2.1), и перемешивают.

Инокуляция целевых и нецелевых микроорганизмов в разбавителях и транспортных средах: инокулируют разбавители тест-микроорганизмами (например, от 100 до 1000 КОЕ в каждую пробирку; о приготовлении инокулята см. 5.2.1), и перемешивают.

Соблюдают время и температуру инкубации, установленные в стандартных методах.

Разбавители должны инкубироваться в течение 45 мин при комнатной температуре и затем быть разлиты по чашкам. Транспортные среды должны инкубироваться при соответствующей температуре и нужное время в соответствии с обычным использованием и затем быть разлиты по чашкам.

Берут аликвотный объем или, при необходимости, разбавление каждого бульона после инкубации и распределяют в чашке с неингибирующим агаром, как это описано в 5.3.1.

Примечание — Для испытаний смешанных культур необходимо проводить распределение, когда это возможно, на чашках с неселективным агаром, которое позволяет достичь дифференциации микроорганизмов в смешанной культуре (например, для подсчета видов Escherichia coli и Salmonella используется агар для чашечного подсчета с MUG). В случае, когда невозможно различить смешанные культуры на неселективном агаре, следует использовать среды с селективным агаром при условии, что были предварительно испытаны их эксплуатационные характеристики.

5.4.2.2 Снятие результатов, расчеты и интерпретация

После инкубации проводят подсчет колоний целевых и нецелевых микроорганизмов в случае, если в смешанных культурах можно различить разные типы. Расчеты и интерпретацию следует проводить с учетом цели исследования:

1) сравнительная интерпретация между эталонным и испытуемым бульонами, используя значения P_R и S_F, как это описано в 4.2.3.2 и 4.2.3.3:

- для целевых микроорганизмов P_R не должен быть < 0,1 (разница в росте не превышает одного порядка величины);

- для нецелевых микроорганизмов S_F должен достигать по меньшей мере 2;

- в смешанных культурах рост целевых микроорганизмов не должен ингибироваться нецелевыми микроорганизмами, т. е. целевые микроорганизмы должны всегда быть доминирующей популяцией;

2) в других случаях, когда достигается фиксированное минимальное количество целевых микроорганизмов и максимальное количество нецелевых микроорганизмов, более уместно, что:

- содержание целевых микроорганизмов должно достигать от 10^6 КОЕ/см^3 до 10^8 КОЕ/см^3;
- содержание нецелевых микроорганизмов не должно превышать 10^4 КОЕ/ см^3 в селективном бульоне;

3) в случае разбавителей и транспортных сред не требуется ни пониженное, ни повышенное количество целевых и/или нецелевых микроорганизмов. Число микроорганизмов после инкубации в данных средах должно быть в пределах ± 50 % исходного количества.

Примечание — Качество жидкой среды в плане свойств оптимального роста проявляется наиболее обстоятельно на ранней стадии роста. Анализ продолжительности лог-фазы и роста в начале лог-фазы дает наиболее точную информацию относительно производительности и селективности целевых и нецелевых микроорганизмов соответственно в испытуемом и эталонном бульонах. Таким образом, если пытаются обнаружить только минимальные различия в качестве сред, следует провести посев штрихом из жидких сред в чашках после сокращенного периода инкубации продолжительностью, например, 6 или 12 ч.

5.4.3 Полуколичественный метод с одной пробиркой для целевых, нецелевых и смешанных микроорганизмов

5.4.3.1 Процедура

Отбирают нужное количество пробирок или порций по 10 мл каждой испытуемой партии.

Инокуляция целевых и нецелевых микроорганизмов как смешанной культуры: инокулируют одну пробирку испытуемого бульона примерно от 10 до 100 КОЕ целевых микроорганизмов и в ту же пробирку инокулируют повышенное число нецелевых микроорганизмов (> 1000 КОЕ на каждую пробирку), и перемешивают.

Инокуляция нецелевых микроорганизмов: инокулируют одну пробирку испытуемого бульона микроорганизмами с повышенным содержанием (> 1000 КОЕ) и перемешивают.

Соблюдают время и температуру инкубации, установленные в стандартных методах.

Отбирают 10 мкл смешанной культуры и проводят посев штрихом в чашке с конкретной селективной средой для целевых микроорганизмов.

Отбирают одну петлю (10 мкл) культуры нецелевых микроорганизмов и проводят посев штрихом в чашке с неселективной средой (например, с триптиказо-соевым агаром).

Инкубируют обе чашки в надлежащих условиях необходимое время, как это установлено в соответствующих стандартах.

5.4.3.2 Расчеты и интерпретация результатов

Производительность испытуемого жидкого бульона является удовлетворительной, если по меньшей мере 10 колоний целевых микроорганизмов выросли в чашке с селективным агаром.

Селективность испытуемого жидкого бульона является удовлетворительной, если не наблюдалось никакого роста (или менее 10 КОЕ) нецелевых микроорганизмов в чашке с неселективным агаром.

5.4.4 Качественный метод с одной пробиркой

5.4.4.1 Общие положения

Данный метод пригоден для определения рабочих концентраций жидких культуральных сред. Метод является только качественным, и оценки, таким образом, приблизительные. Для испытания мутных сред, например тетратионатный бульон, этот метод неприменим.

5.4.4.2 Процедура

Для эксплуатационных испытаний жидких культуральных сред рабочие культуры непосредственно инокулируют в испытуемую среду, используя петлю на 1 мкл.

Соблюдают время и температуру инкубации, установленные в стандартных методах.

5.4.4.3 Интерпретация результатов

Качественное определение следует проводить визуально путем определения баллов роста, например от 0 до 2.

Для пробирок и бутылок

- 0 соответствует нулевой мутности;
- 1 соответствует очень слабой мутности;
- 2 соответствует удовлетворительной мутности.

Число баллов для целевых микроорганизмов должно быть равно 2.

Примечания

1 Иногда рост микроорганизмов можно наблюдать только как агрегацию, осаждение клеток на дне пробирки или бутылки. В этом случае оценивание и интерпретацию может улучшить тщательное встряхивание.

2 Данный метод позволяет также оценить другие характеристики, такие как образование газа, изменение цвета и т. п.

6 Документирование результатов испытаний

6.1 Информация, предоставляемая производителем

Производитель или поставщик культуральных сред должен по запросу предоставлять сведения о ростовых характеристиках микроорганизмов и общую информацию, касающуюся конкретной партии культуральной среды.

6.2 Прослеживаемость

Все данные обычных эксплуатационных испытаний должны быть зарегистрированы надлежащим образом и храниться в течение достаточного периода времени в соответствии с действующей системой качества. Рекомендуется использование контрольных листов для документирования и оценивания результатов испытаний (см. приложение А).

Приложение А
(рекомендуемое)

Пример таблицы регистрации результатов испытаний культуральных сред, приготовленных лабораторией пользователя

Т а б л и ц а А.1 – Пример таблицы

Контрольная таблица для внутренних испытаний на качество культуральных сред				
Культуральная среда:		Приготовленный объем:	Дата добавления:	Внутренний номер партии:
Обезвоженная среда (и код):	Поставщик:	Партия	Количество:	Дата/подпись:
Добавка:	Поставщик:	Партия	Количество:	Дата/подпись:
Подробности процесса				
Физический контроль качества				
Ожидаемое значение pH:	Измеренный pH:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дефекты:	Дата/подпись:
Ожидаемое заполняющее количество и/или толщина слоя:	Наблюдается:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дефекты:	Дата/подпись:
Ожидаемый цвет:	Наблюдается:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дефекты:	Дата/подпись:
Ожидаемая прозрачность /присутствие оптических артефактов:	Наблюдается:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дефекты:	Дата/подпись:
Ожидаемые стабильность/ постоянство/влажность геля:	Наблюдается:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дефекты:	Дата/подпись:
Микробное загрязнение				
Номера испытуемых чашек или пробирок: Инкубация:	Результат:	Качество подтверждено: да □, нет □	Номера загрязненных чашек или пробирок	Дата/подпись:
Микробиологический рост — Производительность		Метод контроля:	Количественный □	Качественный □
Штаммы: Инкубация: Эталонная среда:	Критерии:	Результат:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дата/подпись:
Микробиологический рост — Селективность		Метод контроля:	Количественный □	Качественный □
Штаммы: Инкубация: Эталонная среда:	Критерии:	Результат:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дата/подпись:
Микробиологический рост — Специфичность		Метод контроля:	Количественный □	Качественный □
Штаммы: Инкубация: Эталонная среда:	Критерии:	Результат:	Качество подтверждено: да □, нет □	Дата/подпись:
Выпуск партии				
Подробности хранения		Выпуск партии да □, нет □		Дата/подпись:

Приложение В
(рекомендуемое)

Рекомендуемые тест-микроорганизмы для широко используемых культуральных сред (приводится информация о культуральных средах, условиях содержания сред, тест-микроорганизмах, номере коллекции культур тест-микроорганизмов и ожидаемых реакциях)

Таблицы В.1—В.6 составлены, принимая во внимание контрольные штаммы, используемые в Европейской фармакопее, и рекомендации фармакопеи, касающиеся микробиологии пищевых продуктов в отношении культуральных сред (Рабочая группа Международного комитета по микробиологии пищевых продуктов и гигиене). Данные критерии предстоит включить в соответствующие стандарты при их подготовке или пересмотре в будущем (новый стандарт или пересмотр). Утвержденная партия среды — это партия среды, которая показала удовлетворительные эксплуатационные характеристики. Допускается использование тех же штаммов из других эталонных коллекций (например, NCTC, CIP и др.). Все приводимые среды описаны в стандартах EN и ISO.

Таблица В.1 — Селективные среды для подсчета микроорганизмов

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
Бэрда-Паркера	S[a]	Коагулазоположительные стафилококки	EN ISO 6888-1	Производительность	24—48 ч/37 °С	S. aureus ATCC 6538 S. aureus ATCC 25923[b]	Триптиказо-соевый агар (TSA)	Количественный	PR ≥ 0,5	Черные/серые колонии с четким ореолом (реакция просветления яичного желтка)
				Селективность	48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24—48 ч/37 °С	S. epidermidis ATCC 12228[b]	—	Качественный	—	Черные/серые колонии без реакции просветления яичного желтка
RPFA	S	Коагулазоположительные стафилококки	EN ISO 6888-2	Производительность	24—48 ч/37 °С	S. aureus ATCC 6538 или 6538 P S. aureus ATCC 25923[b]	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Черные/серые колонии с темным ореолом
				Селективность	48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24—48 ч/37 °С	S. epidermidis ATCC 12228[b]	—	Качественный	—	Черные/серые колонии без темного ореола
Хлорамфеникол или OGA (OGY)	S	Дрожжи/плесневые грибы	ISO 7954	Производительность	3—5 дней/25 °С	C. albicans ATCC 10231 A. niger ATCC 16404[b] P. cyclopium ATCC 16025 S. cerevisiae ATCC 9763[b]	SDA, OGA или хлорамфеникол агар	Количественный	PR ≥ 0,5	Характерные колонии в соответствии с каждым видом
				Селективность	3—5 дней/25 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b] B. subtilis ATCC 6633	—	Качественный	Полное ингибирование	—

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
MRS	S	Молочнокислые бактерии	ISO 15214	Производительность	72 ч/30 °С	L. sake ATCC 15521[b] Ped. damnosus ATCC 29358 Lc. lactis ATCC 19435b	Партия среды MRS, уже утвержденная	Количественный	PR ≥ 0,5	Характерные колонии в соответствии с каждым видом
				Селективность	72 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
						B. cereus ATCC 11778				
MYP	S	Bacillus cereus	EN ISO 7932	Производительность	24—48 ч/30 °С	B. cereus ATCC 11778[b]	TSA	Количественный	PR ≥ 0,7	Розовые колонии с ореолом осадка
				Селективность	48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	48 ч/37 °С	B. subtilis ATCC 6633[b]	—	—	—	Желтые колонии без ореола осадка
Oxford	S	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290	Производительность	48 ч/37 °С	L. mono 1/2a ATCC 19111	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Черно-серые колонии с черным ореолом
						L. mono 4b ATCC 13932[b]				
				Селективность	48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433				
						C. albicans ATCC 10231				

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
PALCAM	S	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290	Производительность	48 ч/37 °С	L. mono 1/2a ATCC 19111	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Серо-зеленые и черные колонии с черным ореолом
				Селективность	72 ч/30 °С	L. mono 4b ATCC 13932[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
						E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433				
TS(C)	S	Clostridium perfringens	EN ISO 7937	Производительность	20 ч/37 °С (анаэробная атм.)	Cl. perfringens ATCC 13124	Партия среды TS(C), уже утвержденная	Количественный	PR ≥ 0,7	Черные колонии
						Cl. perfringens ATCC 12916				
				Селективность TSC	20 ч/37 °С (анаэробная атм.)	E. coli ATCC 25922 или 8739	—	Количественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность TS			—	Количественный	—	Белые колонии
VRBG	S	Enterobacteriaceae	ISO 7402 ISO 8523	Производительность	24 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739b	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Розово-красные колонии с ореолом или без ореола осадка
						S. typhimurium ATCC 14028				
				Селективность	24 ч/37 °С	E. faecalis ATCC 29212 или 19433b	—	Качественный	Полное ингибирование	—

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
VRBL	S	Coliforms	ISO 4832	Производительность	24 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Пурпурные колонии с ореолом или без ореола осадка
				Селективность	24 ч/30 °С	E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24 ч/30 °С	Ps. aeruginosa ATCC 27853	—	Качественный	—	Бесцветные или бежевые колонии
CT-SMAC	S	Escherichia coli O157	ISO 16654	Производительность	24 ч/37 °С	E. coli O 157:H7 ATCC 43894 или 43895[b] (не токсикогенные)	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Прозрачные колонии с бледной желтовато-коричневой окраской и диаметром около 1 мм
				Селективность	24 ч/37 °С	S. aureus ATCC 6538 или 25923[b]	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24 ч/37 °С	E. coli ATCC 11775 или 25922[b]	—	Качественный	—	Розовые колонии
BGBLB	L[c]	Coliforms	ISO 4831	Производительность	24—48 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b] C. freundii ATCC 43864	—	Полуколичественный	Мутность 2 + газ в 1/3 пробирки Дюрхэма	Образование газа и мутность
				Селективность	24—48 ч/30 °С	E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]	—	Качественный	Отсутствие роста	—

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
LST	L	Coliforms	ISO 4831	Производительность	24—48 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b] C. freundii ATCC 43864	—	Полуколичественный	Мутность 2 + газ в 1/3 пробирки Дюрхэма	Образование газа и мутность
				Селективность		E . faecalis ATCC 29212 или 19433[b]	—	Качественный	Отсутствие роста	—
EC	L	Escherichia coli	ISO 7251	Производительность	24—48 ч/44 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Мутность 2 + газ в 1/3 пробирки Дюрхэма	Образование газа и мутность
				Селективность	24—48 ч/44 °С	Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]	—	Качественный	Отсутствие роста	—

[a] S = твердая среда.
[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).
[c] L = жидкая среда.

Примечание — для твердых культуральных сред возможно также использование полуколичественного метода культивирования.

Таблица В.2 — Неселективные среды для подсчета микроорганизмов

Среды	Тип	Микроорганизмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характеристические реакции
PCA	S[a]	Общая флора	ISO 4833	Производительность	72 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	TSA	Количественный	PR ≥ 0,7	—
						S. aureus ATCC 6538 или 6538 P				
						B. Subtilis ATCC 6633[b]				

[a] S = твердая среда.
[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).

Таблица B.3 — Обогатительные селективные среды

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
EE	L	Enterobacteriaceae	ISO 7402 ISO 8523	Производительность	24 ч/37 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739[b] или S. typhimurium ATCC 14028	—	Полуколичественный	Более 10 колоний на VRGB	Розово-красные колонии с или без ореола осадка
				Селективность	24 ч/37 °C	+ E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]		Полуколичественный	Полное ингибирование	
Half-Fraser	L	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290-1	Производительность	24 ч/30 °C	L. mono 1/2a ATCC 19111	—	Полуколичественный	> 10 колоний на Oxford или PALCAM	Серо-черные колонии с черным ореолом
						или L. mono 4b ATCC 13932[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]				
				Селективность	24 ч/30 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]			< 100 колоний на TSA	
Fraser	L	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290-1	Производительность	48 ч/37 °C	L. mono 1/2a ATCC 19111	—	Полуколичественный	> 10 колоний на Oxford или PALCAM	Серо-черные колонии с черным ореолом
						или L. mono 4b ATCC 13932[b]				

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]				
				Селективность	24—48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433[b]			< 100 колоний на TSA	
ITC	L	Yersinia enterocolitica	ISO 10273	Производительность	48 ч/25 °С	Y. enterocolitica ATCC 23715 или 9610[b]	—	Полуколичественный	< 10 колоний на CIN или SSDC	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]				
				Селективность	48 ч/25 °С	Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						P. mirabilis ATCC 29906				
Park & Sanders	L	Campylobacter	ISO 10272	Производительность	См. стандарт	C. coli ATCC 43478*	—	Полуколичественный	< 10 колоний на среде Karmali или любой другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
						или C. jejuni ATCC 33291 или 29428*				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ P. mirabilis ATCC 29906[b]				
				Селективность	См. стандарт	+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						P. mirabilis ATCC 29906				
Preston	L	Campylobacter	ISO 10272	Производительность	18 ч/42 °C	C. coli ATCC 43478b	—	Полуколичественный	< 10 колоний на среде Karmali или любой другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						или C. jejuni ATCC 33291 или 29428[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ P. mirabilis ATCC 29906[b]				
				Селективность	18 ч/42 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						P. mirabilis ATCC 29906				

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
PSB	L	Yersinia enterocolitica	ISO 10273	Производительность	3—5 дней/25 °С	Y. enterocolitica ATCC 23715 или 9610[b]	—	Полуколичественный	> 10 колоний на CIN или SSDC	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]				
				Селективность	3—5 дней/25 °С	Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						P. mirabilis ATCC 29906				
MKTTn	L	Salmonella	ISO 6579	Производительность	24 ч/37 °С	S. typhimurium ATCC 14028 [b]	—	Полуколичественный	> 10 колоний на XLD или другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						или S. enteritidis ATCC 13076[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]				
				Селективность	24 ч/ 37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433			< 10 колоний на TSA	

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
Rappaport Vassiliadis	L	Salmonella	EN 12824	Производительность	24 ч/41,5 °С	S. typhimurium ATCC 14028 [b]	—	Полуколичественный	< 10 колоний на BGA или другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						или S. enteritidis ATCC 13076[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]				
				Селективность	24 ч/41,5 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433			< 10 колоний на TSA	
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Производительность	24 ч/41,5 °С	S. typhimurium ATCC 14028	—	Полуколичественный	> 10 колоний на XLD или другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						или S. enteritidis ATCC 13076[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853b				

Окончание таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
				Селективность	24 ч/41,5 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433	—	—	<10 колоний на TSA	—
Selenite-cystine	L	Salmonella	EN 12894	Производительность	24 ч/37 °С	S. typhimurium ATCC 14028b	—	Полуколичественный	< 10 колоний на BGA или другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						или S. enteritidis ATCC 13076[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739[b]				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853[b]				
				Селективность	24 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Полуколичественный	< 100 колоний на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433				

[a] L = жидкая среда.

[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).

Таблица B.4 — Обогатительные неселективные среды

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
BHI	L[a]	Staphylococcus	ISO 6888	Производительность	24 ч/37 °C	S. aureus ATCC 25923[b]		Качественный	Мутность 1–2	—
Brucella	L	Campylobacter	ISO 10272	Производительность	2—5 дней/25 °C	C. coli ATCC 43478	—	Качественный	Мутность 1–2	—
						C. jejuni ATCC 33291 или 29428[b]				
Peptonesalt (пептоновая соль)	L	Dilution liquids (разбавитель)	ISO 6787	Растворитель	45 мин/20 °C — 25 °C	E. coli ATCC25922 или 8739[b]	TSA	Количественный	+/– 50 % кол. к (+/– 50 % изначального подсчета)	—
						S. aureus ATCC 25923	—	—	—	—
Thioglycollate	L	Clostridium perfringens	ISO 3937	Производительность	24 ч/37 °C	Cl. perfringens ATCC 13124[b]	—	Качественный	Мутность 1–2	—
TSYEB	L	Listeria monocytogenes	ISO 11290	Производительность	24 ч/25 °C	L. mono 1/2a ATCC 19111	—	Качественный	Мутность 1–2	—
						L. mono 4b ATCC 13932 [b]	—	—	—	—

[a] L = жидкая среда.
[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).

Таблица В.5 — Селективные разделительные среды

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции
Модифицированная среда Butzler	S[a]	Campylobacter	ISO 10272	Производительность	24—72 ч/42 °С	C. coli ATCC 43478	—	Качественный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
CCDA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Karmali	—	—	—	—	—	C. jejuni ATCC 33291 или 29428[b]	—	—	—	—
Preston	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Skirrow				Селективность	24—72 ч/42 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное или частичное ингибирование (0—1)	Не обнаруживается никаких характерных колоний
						S. aureus ATCC 25923			Полное ингибирование (0)	—
CIN	S	Yersinia enterocolitica	ISO 10273	Производительность	24 ч/30 °С	Y. enterocolitica ATCC 23715 или 9610[b]	—	Качественный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
SSDC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Селективность	24 ч/30 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное или частичное ингибирование (0—1)	Не обнаруживается никаких характерных колоний
						S. aureus ATCC 25923	—	—	Полное ингибирование (0)	—
Агар с бриллиантовым зеленым (BGA)	S	Salmonella	EN 12824/ ISO 6579	Производительность	24—48 ч/37 °С	S. typhimurium ATCC 14028[b]	—	Качественный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)

Окончание таблицы В.5

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции
						S. enteritidis ATCC 13076				
XLD				Селективность	24—48 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[b]	—	Качественный	Полное ингибирование или медленный рост (0—1)	Не обнаруживается никаких характерных колоний
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433			Полное ингибирование (0)	—

[a] S = твердая среда.
[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).

Т а б л и ц а В.6 – Неселективные разделительные среды

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
Питательный агар	S[a]	Enterobacteriaceae	ISO 7402, ISO 8523	Производительность	24 ч/37 °С	E. coli ATCC 25922 или 8739[c]	—	Качественный	Хороший рост (2)	—
—	—	Salmonella	EN 12824, ISO 6579		24 ч/37 °С	S. typhimurium ATCC 14028[c]	—	—	—	—
—	—	Yersinia enterocolitica	ISO 10273		24 ч/30 °С	Y. enterocolitica ATCC 23715 или 9610[c]	—	—	—	—
Агар TSYEA	S	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290	Производительность	24 ч/37 °С	L. mono 1/2a ATCC 19111 или L. mono 4b ATCC 13932 [b]	—	Качественный	Хороший рост (2)	—

[a] S = твердая среда.
[b] Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).
[c] Произвольные штаммы в зависимости от используемого метода.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO/TS11133-1:2000 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории	IDT	ГОСТ ISO 11133-1—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

Библиография

[1] EN ISO 6887-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление испытательных образцов, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 1. Общие правила для подготовки исходных суспензий и десятичных разведений)

[2] EN ISO 8261 Milk and milk products. General guidance for the preparation of tests samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination (Молоко и молочные продукты. Общие руководящие указания по приготовлению проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований)

[3] EN ISO 6887-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила подготовки мяса и мясных продуктов)

[4] пр. EN ISO 6887-3 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 3. Специальные правила для приготовления рыбы и рыбных продуктов)

[5] пр. EN ISO 6887-4 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 4. Специальные правила для приготовления продуктов, кроме молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов и рыбы и рыбопродуктов)

[6] ISO 7218 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)

[7] ISO 2859-1:1999 Sampling procedures for inspection by attributes. Part 1. Sampling schemes indexed by acceptance quality limit (AQL) for lot-by-lot inspection (Процедуры выборочного контроля по альтернативному признаку. Часть 1. Планы выборочного контроля с указанием приемлемого уровня качества (AQL) для последовательного контроля партий)

[8] Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM, 1995., Culture Media for Food Microbiology. London: Elsevier Science, Volume 34

[9] Anon. 1998., Int. J. Food Microbiol. 45, 65

УДК 576.8:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: пищевые продукты, корма, обеспечение качества, питательная среда, культуральная среда, штамм

Редактор *Н. В. Таланова*
Технический редактор *В. Н. Прусакова*
Корректор *Л. Я. Митрофанова*
Компьютерная верстка *Т. Ф. Кузнецовой*

Сдано в набор 30.10.2012. Подписано в печать 22.01.2013. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 3,72. Уч.-изд. л. 3,30. Тираж 170 экз. Зак. 1801.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано и отпечатано в Калужской типографии стандартов, 248021 Калуга, ул. Московская, 256.

gost.e-ecolog.ru