

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

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»

© Стандартиформ, 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 культураль- ных 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-микро- организмов 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.

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,

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 разлива или распределения. Чашки или пробирки следует инкубировать по меньшей мере в течение 18 ч при 37 °C 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

$$P_R = N_S / N_0, \quad (1)$$

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

N_0 — 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_r , который варьируется в зависимости от культуральной среды. Таким образом, является существенным их сравнение с предыдущими показателями и/или с G_r 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

$$S_F = D_0 - D_S, \quad (2)$$

где D_0 — 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_0 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. Среда 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).

П р и м е ч а н и е — 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 «- стандартность, которая позволит использовать его в последующей стадии.

П р и м е ч а н и е — 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. Среда, обычно используемая 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_p , как ожидается, должен продемонстрировать четко выраженные различия, может быть уместной замена или стерилизация петли между операциями посева штрихом в секторах А и В.

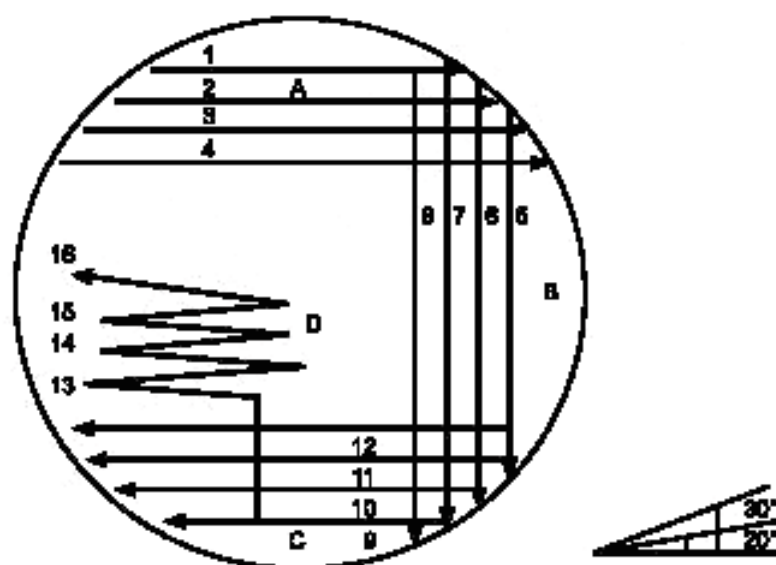


Рисунок 1 — Образец проведения инокуляции при помощи модифицированного метода посева штрихом и угол наклона петли

5.3.2.3 Расчеты

После инкубации оценивают внешний вид, размер колоний и интенсивность роста и вычисляют показатель роста G_p . 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_p . Например, если рост наблюдается в секторах А и В и в половине сектора С, G_p будет равен 10.

5.3.2.4 Интерпретация результатов

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

5.3.3.2 Процедура

Чашки с агаром готовят обычным способом, используя около 15 см³ агара. Среда, обычно используемая 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.

П р и м е ч а н и е — 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 см³ 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/см³ до 10^8 КОЕ/см³;
- содержание нецелевых микроорганизмов не должно превышать 10^4 КОЕ/см³ 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 $\pm 50\%$ 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 тетраэтилатный 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.

П р и м е ч а н и я

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.

Т а б л и ц а В.1 — Селективные среды для подсчета микроорганизмов

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
Барда- Парке- ра	S ^a	Коагулазопо- ложительные стафилококки	EN ISO 6888-1	Производи- тельность	24—48 ч/37 °C	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ^b	Триптиказо- совый агар (TSA)	Количе- ственный	PR ≥ 0.5	Черные/серые колонии с четким ореолом (реак- ция просветления яичного желтка)
				Селектив- ность	48 ч/37 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	—
				Специфич- ность	24—48 ч/37 °C	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 ^b	—	Качествен- ный	—	Черные/серые колонии без реакции просвет- ления яичного желтка
RPFA	S	Коагулазопо- ложительные стафилококки	EN ISO 6888-2	Производи- тельность	24—48 ч/37 °C	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 или 6538 P <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ^b	TSA	Количе- ственный	PR ≥ 0.5	Черные/серые колонии с тем- ным ореолом
				Селектив- ность	48 ч/37 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	—
				Специфич- ность	24—48 ч/37 °C	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 ^b	—	Качествен- ный	—	Черные/серые колонии без темного ореола
Хпор- амфе- никол или OGA (OGY)	S	Дрожжи/ плесневые грибы	ISO 7954	Производи- тельность	3—5 дней/25 °C	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 <i>A. niger</i> ATCC 16404 ^b <i>P. cyclopium</i> ATCC 16025 <i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763 ^b	SDA, OGA или хлорам- феникол агар	Количе- ственный	PR ≥ 0.5	Характерные колонии в соот- ветствии с каж- дым видом
				Селектив- ность	3—5 дней/25 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	—	Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	—

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 °C	L. sake ATCC 15521 ^b Red. damposus ATCC 29358 Lc. lactis ATCC 19435 ^b	Партия среды MRS, уже утвержденная	Количественный	PR ≥ 0,5	Характерные колонии в соответствии с каждым видом
				Селективность		E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b B. cereus ATCC 11778	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Селективность		—	—	—	—	—
MYP	S	Bacillus cereus	EN ISO 7932	Производительность	24—48 ч/30 °C	B. cereus ATCC 11778 ^b	TSA	Количественный	PR ≥ 0,7	Розовые колонии с ореолом осадка
				Селективность	48 ч/37 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	48 ч/37 °C	B. subtilis ATCC 6633 ^b	—	—	—	Желтые колонии без ореола осадка
Oxford	S	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290	Производительность	48 ч/37 °C	L. моно 1/2a ATCC 19111 L. моно 4b ATCC 13932 ^b	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Черно-серые колонии с черным ореолом
				Селективность	48 ч/37 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b E. faecalis ATCC 29212 или 19433 S. albacans ATCC 10231	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Селективность	48 ч/37 °C	—	—	—	—	—

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
PAL-CAM	S	<i>Listeria monocytogenes</i>	EN ISO 11290	Производительность	48 ч/37 °C	L. моно 1/2a ATCC 19111	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Серо-зеленые и черные колонии с черным ореолом
TS(C)	S	<i>Clostridium perfringens</i>	EN ISO 7937	Селективность	72 ч/30 °C	L. моно 4b ATCC 13932 ^b	—	Качественный	Полное ингибирование	—
						E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b				
				Производительность	20 ч/37 °C (анаэробная атм.)	E. faecalis ATCC 29212 или 19433	Партия среды TS(C), уже утвержденная	Количественный	PR ≥ 0,7	Черные колонии
						Cl. perfringens ATCC 13124				
VRBG	S	<i>Enterobacteriaceae</i>	ISO 7402 ISO 8523	Селективность TSC	20 ч/37 °C (анаэробная атм.)	Cl. perfringens ATCC 12916	—	Количественный	Полное ингибирование	—
						E. coli ATCC 25922 или 8739				
				Производительность TS	24 ч/37 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Розово-красные колонии с ореолом или без ореола осадка
						S. typhimurium ATCC 14028				
				Селективность	24 ч/37 °C	E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b	—	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 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Пурпурные колонии с ореолом или без ореола осадка
CT-SMAC	S	Escherichia coli O157	ISO 16654	Селективность	24 ч/30 °C	E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24 ч/30 °C	Ps. aeruginosa ATCC 27853	—	Качественный	—	Бесцветные или бежевые колонии
				Производительность	24 ч/37 °C	E. coli O 157:H7 ATCC 43894 или 43895 ^b (не токсигенные)	TSA	Количественный	PR ≥ 0,5	Прозрачные колонии с бледной желтоватой или желтой окраской и диаметром около 1 мм
BGBLB	L ^c	Coliforms	ISO 4831	Селективность	24 ч/37 °C	S. aureus ATCC 6538 или 25923 ^b	—	Качественный	Полное ингибирование	—
				Специфичность	24 ч/37 °C	E. coli ATCC 11775 или 25922 ^b	—	Качественный	—	Розовые колонии
				Производительность	24—48 ч/30 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b C. freundii ATCC 43864	—	Получили-чественный	Мутность 2 + газ в 1/3 пробирки Дюжэма	Образование газа и мутность
				Селективность	24—48 ч/30 °C	E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b	—	Качественный	Отсутствие роста	—

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
LST	L	Coliforms	ISO 4831	Производи- тельность	24—48 ч/30 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b S. freundii ATCC 43864	—	Получили- чествен- ный	Мутность 2 + газ в 1/3 про- бирки Дюрхама	Образование газа и мутность
				Селектив- ность		E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b	—	Качествен- ный	Отсутствие роста	—
EC	L	Escherichia coli	ISO 7251	Производи- тельность	24—48 ч/44 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получили- чествен- ный	Мутность 2 + газ в 1/3 про- бирки Дюрхама	Образование газа и мутность
				Селектив- ность	24—48 ч/44 °C	Ps. aeruginosa ATCC 27853 ^b	—	Качествен- ный	Отсутствие роста	—

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

П р и м е ч а н и е — для твердых культуральных сред возможно также использование полуколичественного метода культивирования.

Т а б л и ц а В.2 — Неселективные среды для подсчета микроорганизмов

Среды	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характеристиче- ские реакции
PCA	S ^a	Общая флора	ISO 4833	Производи- тельность	72 ч/30 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b S. aureus ATCC 6538 или 6538 P B. subtilis ATCC 6633 ^b	TSA	Количе- ственный	PR ≥ 0.7	—

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

Таблица В.3 — Обогащительные 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	—	Получиственный	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		Получиственный	Полное ингибирование	
Half-Fraser	L	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290-1	Производительность	24 ч/30 °C	L. моно 1/2a ATCC 19111		Получиственный	> 10 колоний на Oxford или PALCAM	Серо-черные колонии с черным ореолом
						или L. моно 4b ATCC 13932 ^b				
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b + E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b				
Fraser	L	Listeria monocytogenes	EN ISO 11290-1	Селективность	24 ч/30 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получиственный	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433 ^b			< 100 колоний на TSA	
						L. моно 1/2a ATCC 19111 или L. моно 4b ATCC 13932 ^b		Получиственный	> 10 колоний на Oxford или PALCAM	Серо-черные колонии с черным ореолом

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b				
						+ <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 или 19433 ^b				
						<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b				
						<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 или 19433 ^b				
ITC	L	<i>Yersinia enterocoli- tica</i>	ISO 10273	Производи- тельность	48 ч/25 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Полукולי- чествен- ный	Полное ингибиро- вание на TSA < 100 колоний на TSA	—
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b				
						+ <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b				
						<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 ^b				
Park & Sanders	L	<i>Campy- lobacter</i>	ISO 10272	Селектив- ность	48 ч/25 °C	<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	—	Полукולי- чествен- ный	Полное ингибиро- вание на TSA	—
						<i>C. coli</i> ATCC 43478 ^c				
				Производи- тельность	См. стандарт		—	Полукולי- чествен- ный	< 10 коло- ний на среде Капелли 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 <i>S. jejuni</i> ATCC 33291 или 29428 ^a + <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b + <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906 ^b				
Preston	L	Campylobacter	ISO 10272	Селективность	См. стандарт	+ <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	—	Получившийся	Полное ингибирование на TSA	—
				Производительность	18 ч/42 °С	<i>S. coli</i> ATCC 43478 ^b или <i>S. jejuni</i> ATCC 33291 или 29428 ^b + <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b + <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906 ^b	—	Получившийся	< 10 колоний на среде Катала или любой другой среде по выбору	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
				Селективность	18 ч/42 °С	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	—	Получившийся	Полное ингибирование на TSA	—

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
PSB	L	Yersinia enterocoli- tica	ISO 10273	Производи- тельность	3—5 дней/25 °С	Y. enterocolitica ATCC 23715 или 9610 ^b	—	Получили- чествов- ный	> 10 коло- ний на CIN или SSDC	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						+ E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b				
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853 ^b				
				Селектив- ность	3—5 дней/25 °С	Ps. aeruginosa ATCC 27853 ^b	—	Получили- чествов- ный	Полное ингибиро- вание на TSA	—
						P. mirabilis ATCC 29906				
MKTTn	L	Salmonella	ISO 6579	Производи- тельность	24 ч/37 °С	S. typhimurium ATCC 14028 ^b	—	Получили- чествов- ный	> 10 коло- ний 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				
				Селектив- ность	24 ч/ 37 °С	+ Ps. aeruginosa ATCC 27853 ^b	—	Получили- чествов- ный	Полное ингибиро- вание на TSA	—
						E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b				
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433			< 10 коло- ний на TSA	

Продолжение таблицы В 3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
Rap- raport Vassilia- dis	L	Salmonella	EN 12824	Производительность	24 ч/41,5 °C	S. typhimurium ATCC 14028 ^b	—	Получившийся	< 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				
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Селективность	24 ч/41,5 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получившийся	Полное ингибирование на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433				
						S. typhimurium ATCC 14028				
						или S. enteritidis ATCC 13076 ^b				
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Производительность	24 ч/41,5 °C	+ E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получившийся	< 10 колоний на TSA	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853b				
						S. typhimurium ATCC 14028				
						или S. enteritidis ATCC 13076 ^b				

Окончание таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции целевых микроорганизмов
Selenite- cystine	L	Salmonella	EN 12894	Селектив- ность	24 ч/41,5 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получили- чествен- ный	Полное ингибиро- вание на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433	—	—	<10 коло- ний на TSA	—
						S. typhimurium ATCC 14028 ^b	—	Получили- чествен- ный	< 10 коло- ний 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	—	—	—	—
				Селектив- ность	24 ч/37 °C	E. coli ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Получили- чествен- ный	< 100 колоний на TSA	—
						E. faecalis ATCC 29212 или 19433	—	—	—	—
a L = жидкая среда.										
b Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).										

Таблица В.4 — Обогачительные неселективные среды

Среда	Тип	Микроор- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
BHI	L ^a	<i>Staphylococcus</i>	ISO 6888	Производи- тельность	24 ч/37 °C	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 ^b	—	Качествен- ный	Мутность 1–2	—
Brucella	L	<i>Campylobacter</i>	ISO 10272	Производи- тельность	2–5 дней/25 °C	<i>C. coli</i> ATCC 43478 <i>C. jejuni</i> ATCC 33291 или 29428 ^b	—	Качествен- ный	Мутность 1–2	—
Pepton- esat (пепто- новая соль)	L	<i>Dilution liquids</i> (разбавитель)	ISO 6787	Раствори- тель	45 мин/20 °C — 25 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	TSA	Количе- ственный	+/- 50 % коп. к (+/- 50 % изначаль- ного подсчета)	—
Thiogly- colate	L	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>	ISO 3937	Производи- тельность	24 ч/37 °C	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	—	—	—	—
TSYEB	L	<i>Listeria mono- cytogenes</i>	ISO 11290	Производи- тельность	24 ч/25 °C	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 ^b <i>L. mono</i> 1/2a ATCC 19111	—	Качествен- ный	Мутность 1–2	—
						<i>L. mono</i> 4b ATCC 13932 ^b	—	—	—	—

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

Т а б л и ц а В.5 — Селективные разделительные среды

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции
Модифи- цирован- ная среда Butzler	S ^a	Camru- lobacter	ISO 10272	Производи- тельность	24—72 ч/42 °С	<i>S. coli</i> ATCC 43478	—	Качест- венный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
CCDA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Karmali	—	—	—	—	—	<i>C. jejuni</i> ATCC 33291 или 29428 ^b	—	—	—	—
Preston	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Skirrow	—	—	—	Селектив- ность	24—72 ч/42 °С	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качест- венный	Полное или частичное ин- гибирование (0—1)	Не обнаруживает- ся никаких харак- терных колоний
—	—	—	—	—	—	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	—	—	Полное ингибирован- ие (0)	—
CIN	S	<i>Yersinia ente- rocolitica</i>	ISO 10273	Производи- тельность	24 ч/30 °С	<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 23715 или 9610 ^b	—	Качест- венный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)
SSDC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	Селектив- ность	24 ч/30 °С	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качест- венный	Полное или частичное ин- гибирование (0—1)	Не обнаруживает- ся никаких харак- терных колоний
—	—	—	—	—	—	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	—	—	Полное ингибирован- ие (0)	—
Агар с блужда- ющим зеленым (BGA)	S	<i>Salmonella</i>	EN 12824/ ISO 6579	Производи- тельность	24—48 ч/37 °С	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 ^b	—	Качест- венный	Хороший рост (2)	Характерные колонии согласно каждой среде (см. стандарт)

Окончание таблицы В.5

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерные реакции
XLD				Селектив- ность	24—48 ч/37 °C	<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076 <i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^b	—	Качест- венный	Полное ингибиро- вание или медленный рост (0—1)	Не обнаруживает- ся никаких харак- терных колоний
						<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 или 19433			Полное ингибирова- ние (0)	—

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

Таблица В.6 – Неселективные разделительные среды

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Обозначение стандарта	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы	Эталонные среды	Метод контроля	Критерии	Характерная реакция
Пита- тельный агар	S ^a	<i>Enterobacteria- ceae</i>	ISO 7402, ISO 8523	Производи- тельность	24 ч/37 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 или 8739 ^c	—	Качест- венный	Хороший рост (2)	—
—	—	<i>Salmonella</i>	EN 12824, ISO 6579		24 ч/37 °C	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 ^c	—	—	—	—
—	—	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ISO 10273		24 ч/30 °C	<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 23715 или 9610 ^c	—	—	—	—
Агар TSYEA	S	<i>Listeria mono- cytogenes</i>	EN ISO 11290	Производи- тельность	24 ч/37 °C	<i>L. mono</i> 12a ATCC 19111 или <i>L. mono</i> 4b ATCC 13932 ^b	—	Качест- венный	Хороший рост (2)	—

^a S = твердая среда.^b Штаммы, предназначенные для использования в лаборатории пользователя (минимум).^c Производственные 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
П р и м е ч а н и е — 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] np. 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] np. 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

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 60×84¹/₈. 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.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано и отпечатано в Калужской типографии стандартов, 248021 Калуга, ул. Московская, 256.

Изменение № 1 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

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 67-П от 30.05.2014)

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, BY, KG, MD, RU, TJ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Утверждено и введено в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 09.07.2014 № 719-ст

Дата введения — 2015—01—01

Наименование стандарта. Заменить слова: «культуральных сред» на «питательных сред» (4 раза).

По всему тексту стандарта заменить слова: «культуральные среды» на «питательные среды».

Раздел 2 дополнить ссылками:

«ISO 4831 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms — Most probable number technique (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета колиформных бактерий. Методика наиболее вероятного числа)

ISO 4832 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета колиформ. Метод подсчета колоний)

ISO 4833 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30 °C (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета микроорганизмов. Метод подсчета колоний при температуре 30 °C)

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.)

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 проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений)

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)

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)

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, рыбы и рыбопродуктов)

ISO 6887-5 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 5. Специальные правила подготовки молока и молочных продуктов)

ISO 6888-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1. Technique using Baird-Parker agar medium (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулазоположительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* и другие виды). Часть 1. Метод с применением агаровой среды Бейда-Паркера)

ISO 6888-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 2. Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулазоположительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* и другие виды). Часть 2. Метод с применением агаровой среды с бычьим фибриногеном в плазме кролика)

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 коагулазоположительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* и другие виды). Часть 3. Обнаружение и метод MPN для низких количеств)

ISO 7251 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique (Микробиология пищевых продуктов и кормов. Горизонтальный метод обнаружения и определения количества presumptивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа)

ISO 7932 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* — Colony-count technique at 30 °C (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета presumptивных бактерий *Bacillus cereus*. Методика подсчета колоний при температуре 30 °C)

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

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)

ISO/TS 10272-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 2: Colony-count technique (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий *Campylobacter* spp. Часть 2. Метод подсчета колоний)

ISO/TS 10272-3 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 3: Semi-quantitative method (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий *Campylobacter* spp. Часть 3. Полуколичественный метод)

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 выявления условно-патогенных *Yersinia enterocolitica*)

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)

ISO 11290-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 2: Enumeration method (Микробиология продуктов питания и животных кормов. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета микроорганизмов *Listeria monocytogenes*. Часть 2. Метод подсчета)

ISO 15213 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета сульфитвосстанавливающих бактерий, растущих в анаэробных условиях)

ISO 15214 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 °C (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета мезофильных молочнокислых бактерий. Метод подсчета колоний при температуре 30 °C)

ISO 16649 (все части) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета бета-глюкуронидаза-положительных бактерий *Escherichia coli*)

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)

ISO 21528-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы обнаружения и подсчета бактерий Enterobacteriaceae. Часть 1. Обнаружение и подсчет методом MPN с предварительным обогащением)

ISO 21528-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count method (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы обнаружения и подсчета бактерий Enterobacteriaceae. Часть 2. Метод подсчета колоний)».

Приложение В изложить в новой редакции:

**«Приложение В
(обязательное)**

**Тест-микроорганизмы для обычно используемых питательных сред
(информация о питательных средах, условиях культивирования,
тест-микроорганизмах, номерах коллекций культур тест-микроорганизмов
и ожидаемых реакциях)**

Таблицы В.1 — В.6 составлены с учетом контрольных штаммов, используемых в Европейской фармакопее (ЕФ), и рекомендаций ЕФ, касающихся пищевой микробиологии питательных сред [Рабочая группа международного комитета по пищевой микробиологии и гигиене (ICFMH)]. Данные критерии должны быть включены в конкретные стандарты, которые будут разработаны или будут пересматриваться в будущем. Валидированной партией считается партия питательных сред, которая демонстрирует удовлетворительную эффективность. Номера штаммов, приведенные в таблицах В.1 — В.7, взяты из каталога универсальных идентификаторов штаммов, содержащего информацию об эталонных штаммах, которые представлены номерами WDCM и контактной информацией о коллекциях культур, собранных Всемирным центром данных по микроорганизмам (WDCM) (см. [16]). Все перечисленные виды питательных сред описаны в рамках стандартов.

В случае наличия изменчивости штаммов исследуют воздействие питательной среды (например, приобретая тот же вид питательной среды у другого производителя) и получают следующую эталонную культуру из коллекции культур, в которой она была первоначально размещена. Пользователи могут получить необходимую информацию об изменчивости штаммов, обратившись в РГ 5 «Питательные среды» подкомитета 9 технического комитета 34 ИСО через секретариат.

Информация об испытаниях на эффективность, уже опубликованная в стандартах, в таблицах В.1—В.7 не приводится.

4 Таблица В.1 — Селективные среды для подсчета микроорганизмов

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
Baird- Parker	S ^a	Коагулазопо- ложительные стафилококки	ISO 6888-1	Производи- тельность	24—48 ч при 37 °C	<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032 <i>Staph. aureus</i> WDCM 00034 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c : 0,5	Черные или серые колонии с прозрач- ным ореолом (ре- акция прозрачности с яичным желтком)
				Селектив- ность	48 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	24—48 ч при 37 °C	<i>Staphylococcus epidermidis</i> WDCM 00036 или <i>S. saprophyticus</i> WDCM 00159 ^b		Качествен- ный		Черные или серые колонии, реакции прозрачности с яичным желтком нет
RPFA	S	Коагулазопо- ложительные стафилококки	ISO 6888-2	Производи- тельность	24—48 ч при 37 °C	<i>Staph. aureus</i> WDCM 00032 <i>Staph. aureus</i> WDCM 00034 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c : 0,5	Черные или серые колонии с непроз- рачным ореолом
				Селектив- ность	48 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	24—48 ч при 37 °C	<i>Staphylococcus epidermidis</i> WDCM 00036 или <i>S. sap- rophyticus</i> WDCM 00159 ^b		Качествен- ный		Черные или серые колонии без не- прозрачного ореола
MRS	S	Молочнокис- лые бактерии	ISO 15214	Производи- тельность	72 ч при 30 °C	<i>Lactobacillus sakei</i> WDCM 00015 ^b <i>Pediosoccus pentosaceus</i> WDCM 00158 <i>Lactococcus lactis</i> WDCM 00016 ^b	Партия среды MRS уже валиди- рована	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c : 0,7	Типичные колонии, соответствующие каждому виду
				Селектив- ность	72 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Bacillus cereus</i> WDCM 00001		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
МYP	S	<i>Bacillus cereus</i>	ISO 7932	Производи- тельность	24—48 ч при 30 °C	<i>B. cereus</i> WDCM 00001 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,5	Розовые колонии с осадочным ореолом
				Селектив- ность	48 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	48 ч при 30 °C	<i>Bacillus subtilis</i> WDCM 00003 ^b				Желтые колонии без осадочного ореола
Агар <i>Listeria</i> соглас- но Октавиани и Агости	S	<i>Listeria mono- cytogenes</i>	ISO 11290 (все части)	Производи- тельность	48 ч при 37 °C	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00020 <i>L. monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,5	Сине-зеленые колонии с непроз- рачным ореолом
				Селектив- ность	48 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087 или <i>E. fae- calis</i> WDCM 00009 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	48 ч при 37 °C	<i>Listeria innocua</i> WDCM 00017		Качествен- ный	—	Сине-зеленые колонии без непрозрачного ореола
TS(C)	S	<i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937	Производи- тельность	20 ч при 37 °C в анаэробной атмосфере	<i>C. perfringens</i> WDCM 00007 ^b <i>C. perfringens</i> WDCM 00080	Партия среды TS(C) уже валиди- рована	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,7	Черные колонии
				Селектив- ность TSC	20 ч при 37 °C в анаэробной атмосфере	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	

в Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
TS	S	Сульфитреду- цирующие бактерии	ISO 15213	Производи- тельность	24—48 ч при 37 °С в анаэробной атмосфере	<i>S. refingens</i> WDCM 00007 ^a <i>S. refingens</i> WDCM 00080	Партия среды TS уже валидирова- на	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,7	Черные колонии
				Специфич- ность TS		<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	—	Белые колонии
VRBG	S	<i>Enterobactera- ceae</i>	ISO 21528 (все части)	Производи- тельность	24 ч при 37 °С	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i> WDCM 00031	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,5	Колонии, имеющие окраску от розовой до красной, с осадочным орео- лом или без него
				Селектив- ность	24 ч при 37 °С	<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^a		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
VRBL	S	Колиформные бактерии	ISO 4832	Производи- тельность	24 ч при 30 °С	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,5	Пурпурно-красные колонии с осадоч- ным ореолом или без него
				Селектив- ность	24 ч при 30 °С	<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^a		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	24 ч при 30 °С	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> WDCM 00025		Качествен- ный	—	Бесцветные или бежевые колонии
CT- SMAC	S	<i>Escherichia coli</i> O157	ISO 16654	Производи- тельность	24 ч при 37 °С	<i>E. coli</i> O 157:H7 WDCM 00014 (нетоксикогенные)	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c :0,5	Прозрачные коло- нии с бледными желтовато-коричне- выми тонами, диа- метром около 1 мм

Продолжение таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
СТ- SMAC	S	<i>Escherichia coli</i> O157	ISO 16654	Селектив- ность	24 ч при 37 °C	<i>Staph. aureus</i> WDCM 00032 или WDCM 00034 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
						<i>E. coli</i> WDCM 00090 или WDCM 00013 ^b		Качествен- ный	Частичное ингибиро- вание	Рост определен- ных розовых колоний
BGBLB	L ^d	Колиформные бактерии	ISO 4831	Производи- тельность	24—48 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Citrobacter freundii</i> WDCM 00006		Качествен- ный	Помутне- ние 2 и газ в пробирке Дюрхэма	Газообразование и помутнение
						<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Качествен- ный	Частичное ингибиро- вание без газообра- зования	
LST	L	Колиформные бактерии	ISO 4831	Производи- тельность	24—48 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>C. freundii</i> WDCM 00006		Качествен- ный	Помутне- ние 2 и газ в пробирке Дюрхэма	Газообразование и помутнение
						<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Качествен- ный	Отсутствие роста	
EC	L	<i>E. coli</i>	ISO 7251	Производи- тельность	24—48 ч при 44 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Качествен- ный	Помутне- ние 2 и газ в пробирке Дюрхэма	Газообразование и помутнение
						<i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b		Качествен- ный	Отсутствие роста	

Окончание таблицы В.1

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
ТВХ	S	β -D- глюкуронида- заполжи- тельные бак- терии <i>E. coli</i>	ISO 16649 (все части)	Производи- тельность	24 ч при 44 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c : 0,5	Синие колонии
				Селектив- ность	24 ч при 44 °C	<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Качествен- ный	Полное ингибиро- вание	
				Специфич- ность	24 ч при 44 °C	<i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 или <i>C. freundii</i> WDCM 00006 ^b		Качествен- ный		Белые или зелено- бежевые колонии
^a S — твердая среда. ^b Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум). ^c PR — коэффициент производительности. ^d L — жидкая среда. ^e WDCM 00013 — сильный, WDCM 00012 — слабый продуценты β -D-глюкуронидазы.										
Примечание — В случае твердых питательных сред также возможно использование полуколичественного метода посева.										

Таблица В.2 — Неселективные среды для подсчета микроорганизмов

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
РСА	S ^a	Подсчет колоний	ISO 4833	Производи- тельность	72 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Staph. aureus</i> WDCM 00032 или WDCM 00034 <i>B. subtilis</i> WDCM 00003 ^b	TSA	Количе- ственный	Мини- мальное значение PR ^c : 0,7	
^a S — твердая среда. ^b Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум). ^c PR — коэффициент производительности.										

Таблица В.3 — Селективные обогачительные среды

Среда	Тип	Микроорганизмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции целевых микроорганизмов
EE	L ^a	Enterobacteriaceae	ISO 21528-1	Производительность	24 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b или <i>S. Typhimurium</i> WDCM 00031		Получили-чественный	> 10 колоний на VRBG	Колонии, имеющие окраску от розовой до красной с осадочным ореолом или без него
				Селективность	24 ч при 37 °C	+ <i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Получили-чественный	Полное ингибирование	
Half-Fraser	L	<i>L. monocytogenes</i>	ISO 11290-1	Производительность	24 ч при 30 °C	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00020 или <i>L. monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Получили-чественный	> 10 колоний на агаре <i>Listeria</i> согласно Ottaviani и Agosti	Сине-зеленые колонии с непрозрачным ореолом
				Селективность	24 ч при 30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Получили-чественный	Полное ингибирование на TSA	
						<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Получили-чественный	< 100 колоний на TSA	
Fraser	L	<i>L. monocytogenes</i>	ISO 11290-1	Производительность	48 ч при 37 °C	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00020 или <i>L. monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Получили-чественный	> 10 колоний на агаре <i>Listeria</i> согласно Ottaviani и Agosti	Сине-зеленые колонии с непрозрачным ореолом

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции целевых микроорганизмов
Fraser	L	<i>L. monocytogenes</i>	ISO 11290-1	Селективность	48 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Полукочевенный	Полное ингибирование на TSA	
ITC	L	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ISO 10273	Производительность	48 ч при 25 °C	<i>Y. enterocolitica</i> WDCM 00160 или WDCM 00038 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b		Полукочевенный	> 10 колоний на CIN или SSDC	Типичные колонии, соответствующие каждой среде (см. ISO 10273)
Бульон-Болтона	L	<i>Campylobacter</i>	ISO 10272-1	Селективность	48 ч при 25 °C	<i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b <i>Proteus mirabilis</i> WDCM 00023		Полукочевенный	Полное ингибирование на TSA	
				Производительность	5 ч при 37 °C, затем 44 ч при 41,5 °C	<i>Campylobacter coli</i> WDCM 00004 ^b или <i>Campylobacter jejuni</i> WDCM 00005 или WDCM 00156 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>P. mirabilis</i> WDCM 00023 ^b		Полукочевенный	> 10 колоний на mCDA	Сероватые, плоские и влажные, иногда с металлическим блеском
				Селективность	5 ч при 37 °C, затем 44 ч при 41,5 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>P. mirabilis</i> WDCM 00023		Полукочевенный	Полное ингибирование на TSA	

Продолжение таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции целевых микроорганизмов
PSB	L	<i>Y. enterocolitica</i>	ISO 10273	Производительность	3—5 сут при 25 °C	<i>Y. enterocolitica</i> WDCM 00160 или WDCM 00038 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b		Получили-чественный	> 10 колоний на CIN или SSDC	Типичные колонии, соответствующие каждой среде (см. ISO 10273)
				Селективность	3—5 сут при 25 °C	<i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b <i>P. mirabilis</i> WDCM 00023		Получили-чественный	Полное ингибирование на TSA	
MKTTn	L	<i>Salmonella</i>	ISO 6579	Производительность	24 ч при 37 °C	<i>S. Typhimurium</i> WDCM 00031 или <i>S. Enteritidis</i> WDCM 00030 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b		Получили-чественный	> 10 колоний на XLD или другой среде на выбор	Типичные колонии, соответствующие каждой среде (см. ISO 6579)
				Селективность	24 ч при 37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b		Получили-чественный	Частичное ингибирование ≤ 100 колоний на TSA	
						<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^b		Получили-чественный	< 10 колоний на TSA	
RVS	L	<i>Salmonella</i>	ISO 6579	Производительность	24 ч при 41,5 °C	<i>S. Typhimurium</i> WDCM 00031 или <i>S. Enteritidis</i> WDCM 00030 ^b + <i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b + <i>Ps. aeruginosa</i> WDCM 00025 ^b		Получили-чественный	> 10 колоний на XLD или другой среде на выбор	Типичные колонии, соответствующие каждой среде (см. ISO 6579)

Окончание таблицы В.3

Среда	Тип	Микроорганизмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции целевых микроорганизмов
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Селективность	24 ч при 41,5 °C	E. coli WDCM 00013 или WDCM 00012 ^б		Получили- чествен- ный	Частичное ингибирование ≤ 100 колоний на TSA	
						E. faecalis WDCM 00087 или WDCM 00009 ^б		Получили- чествен- ный	≤ 10 колоний на TSA	
^а L — жидкая среда. ^б Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум).										

Таблица В.4 — Неселективные жидкие среды

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
BHI	L ^a	Коагулазоположительные стафилококки	ISO 6988-1 ISO 6988-3	Производительность	24 ч при 37 °C	<i>Staph. aureus</i> WDCM 00034 ^b		Качественный	Помутнение 1–2	
Brucella	L	<i>Camptylobacter</i>	ISO 10272 (все части)	Производительность	2—5 сут при 25 °C	<i>C. coli</i> /WDCM 00004 ^b или <i>C. jejuni</i> /WDCM 00005 или WDCM 00156 ^b		Качественный	Помутнение 1–2	
Perfringens	L	Жидкие разбавители	ISO 6887 (все части)	Разбавитель	45 мин при 20 °C — 25 °C	<i>E. coli</i> /WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b <i>Staph. aureus</i> WDCM 00034	TSA	Количественный	±50 % колоний T ₀ (±50 % первоначального подсчета)	
Тюпикол	L	<i>C. perfringens</i>	ISO 7937	Производительность	24 ч при 37 °C	<i>C. perfringens</i> WDCM 00007 ^b		Качественный	Помутнение 1–2	
TSYEB	L	<i>L. monocytogenes</i>	ISO 11290 (все части)	Производительность	24 ч при 25 °C	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00020 <i>L. monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 ^b		Качественный	Помутнение 1–2	
^a L — жидкая среда. ^b Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум).										

Таблица В.5 — Селективные изолирующие среды

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
mCCDA	Sa	Campylobacter	ISO 10272 (все части)	Производи- тельность	41 ч/41,5 °C	<i>S. coli</i> WDCM 00004 ^а или <i>S. jejuni</i> WDCM 00005 или WDCM 00156 ^б		Качест- венный	Активный рост (2)	Сероватые, плос- кие и влажные, иногда с металли- ческим блеском
				Селектив- ность	41 ч/41,5 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^б		Качест- венный	Полное или частичное ин- гибирование (0—1)	Типичные колонии отсутствуют
CIN SSDC	S	<i>Y. enterocolitica</i>	ISO 10273	Производи- тельность	24 ч/30 °C	<i>Y. enterocolitica</i> WDCM 00160 или WDCM 00038 ^б		Качест- венный	Активный рост (2)	Типичные колонии, соответствующие каждой среде (см. ISO 10273)
				Селектив- ность	24 ч/30 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^б		Качест- венный	Полное или частичное ин- гибирование (0—1)	Типичные колонии отсутствуют
XLD	S	<i>Salmonella</i>	ISO 6579	Производи- тельность	24 ч/37 °C	<i>S. Typhimurium</i> WDCM 00031 ^а <i>S. Enteritidis</i> WDCM 00030		Качест- венный	Активный рост (2)	Колонии с черным центром и слегка прозрачной зоной красноватого цвета из-за изменения цвета среды
				Селектив- ность	24 ч/37 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^б		Качест- венный	Рост или частичное ин- гибирование (0—1)	Желтые колонии
						<i>E. faecalis</i> WDCM 00087 или WDCM 00009 ^б		Качест- венный	Полное ингибирование (0)	
^а S — твердая среда. ^б Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум).										

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

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
Nutrient agar	S ^a	Enterobacteriaceae	ISO 21528 (все части)	Производи- тельность	24 ч при 37 °C	E. coli WDCM 00013 или WDCM 00012 ^c		Качест- венный	Активный рост (2)	
		Salmonella	ISO 6579		24 ч при 37 °C	S. Typhimurium WDCM 00031 ^c				
		Y. enterocolitica	ISO 10273		24 ч при 30 °C	Y. enterocolitica WDCM 00160 или WDCM 00038 ^c				
агар TSYEA	S	L. mono- cytogenes	ISO 11290 (все части)	Производи- тельность	24 ч при 37 °C	L. monocytogenes 1/2a WDCM 00020 или L. monocytogenes 4b WDCM 00021 ^b		Качест- венный	Активный рост (2)	
^a S — твердая среда. ^b Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум). ^c Штаммы в соответствии с используемым методом.										

Таблица В.7 – Многоцелые среды

Среда	Тип	Микроорга- низмы	Стандарт	Функция	Инкубация	Контрольные штаммы (см. [16])	Эталонная среда	Метод контроля	Критерии	Типичные реакции
Буфер- ная пеп- тонная вода ^c	L ^a	Разбавитель для подсчета всех микроорга- низмов	ISO 6887 (все части)	Разбавление	45 мин при 20 °C — 25 °C	<i>E. coli</i> WDCM 00013 или WDCM 00012 ^b	TSA	Количе- ственный	±50 % колоний/Т ₀	
		Разбавитель для подсчета <i>L. mono- cytogenes</i>	ISO 11290-2	Разбавление	45—60 мин при 20 °C	<i>L. monocytogenes</i> 1/2a WDCM 00020 или <i>L. monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 ^b	TSA	Количе- ственный	±50 % колоний/Т ₀	
		Предваритель- ное обогащение для обнаруже- ния <i>Salmonella</i>	ISO 6579	Производи- тельность	18 ч при 37 °C	<i>S. Typhimurium</i> WDCM 00031 ^b или <i>S. Enteritidis</i> WDCM 00030 ^b		Качест- венный	Помутне- ние 1–2	

^a L — жидкая среда.
^b Штаммы, используемые в лаборатории конечного пользователя (минимум).
^c В случае, когда используется буферная пептонная вода для двух или трех различных целей, по меньшей мере в лабораториях пользователей, проводят испытание по обогащению *salmonella*.

Приложение ДА. Таблицу ДА.1 изложить в новой редакции:

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO/TS 11133-1:2000 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 питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории
ISO 4831 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета колиформных бактерий. Методика наиболее вероятного числа	MOD	ГОСТ 31747—2012 (ISO 4831:2006, ISO 4832:2006)* Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)
ISO 4832 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета колиформ. Метод подсчета колоний		
ISO 4833 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета микроорганизмов. Метод подсчета колоний при температуре 30 °C	—	**
ISO 6579 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения сальмонеллы <i>Salmonella</i> spp.	MOD	ГОСТ 31659—2012 (ISO 6579:2002)* Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода <i>Salmonella</i>
ISO 6887-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений	—	**
ISO 6887-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила подготовки мяса и мясных продуктов	—	**
ISO 6887-3 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	—	**
ISO 6887-4 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, рыбы и рыбопродуктов	—	**

Продолжение таблицы ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 6887-5 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 5. Специальные правила подготовки молока и молочных продуктов	—	**
ISO 6888-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулазоположительных стафилококков (<i>Staphylococcus aureus</i> и другие виды). Часть 1. Метод с применением агаровой среды Бейда-Паркера	MOD	ГОСТ 31746-2012 (ISO 6888-1:1999; ISO 6888-2:1999; ISO 6888-3:2003)* Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и <i>Staphylococcus aureus</i>
ISO 6888-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулазоположительных стафилококков (<i>Staphylococcus aureus</i> и другие виды). Часть 2. Метод с применением агаровой среды с бычьим фибриногеном в плазме кролика		
ISO 6888-3 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета коагулазоположительных стафилококков (<i>Staphylococcus aureus</i> и другие виды). Часть 3. Обнаружение и метод MPN для низких количеств		
ISO 7251 Микробиология пищевых продуктов и кормов. Горизонтальный метод обнаружения и определения количества presumptивных бактерий <i>Escherichia coli</i> . Метод наиболее вероятного числа	MOD	ГОСТ 31708-2012 (ISO 7251:2005)* Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества presumptивных бактерий <i>Escherichia coli</i> . Метод наиболее вероятного числа
ISO 7932 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета presumptивных бактерий <i>Bacillus cereus</i> . Методика подсчета колоний при температуре 30 °C	—	**
ISO 7937 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета <i>Clostridium perfringens</i> . Метод подсчета колоний	MOD	ГОСТ 31744—2012 (ISO 7937:2004)* Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод подсчета колоний <i>Clostridium perfringens</i>
ISO 10272-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий <i>Campylobacter</i> spp. Часть 1. Метод обнаружения	IDT	ГОСТ ISO 10272-1—2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы обнаружения и подсчета бактерий <i>Campylobacter</i> spp. Часть 1. Метод обнаружения
ISO/TS 10272-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий <i>Campylobacter</i> spp. Часть 2. Метод подсчета колоний	IDT	ГОСТ ISO/TS 10272-2—2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы обнаружения и подсчета бактерий <i>Campylobacter</i> spp. Часть 2. Метод подсчета колоний
ISO/TS 10272-3 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета бактерий <i>Campylobacter</i> spp. Часть 3. Полуколичественный метод	—	**

Окончание таблицы ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 10273 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод выявления условно-патогенных <i>Yersinia enterocolitica</i>	IDT	ГОСТ ISO 10273—2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии <i>Yersinia enterocolitica</i>
ISO 11290-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета микроорганизмов <i>Listeria monocytogenes</i> . Часть 1. Метод обнаружения	NEQ	ГОСТ 32031—2012* Продукты пищевые. Методы выявления бактерий <i>Listeria Monocytogenes</i>
ISO 11290-2 Микробиология продуктов питания и животных кормов. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета микроорганизмов <i>Listeria monocytogenes</i> . Часть 2. Метод подсчета	—	**
ISO 15213 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета сульфитвосстанавливающих бактерий, растущих в анаэробных условиях	—	**
ISO 15214 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета мезофильных молочнокислых бактерий. Метод подсчета колоний при температуре 30 °C	—	**
ISO 16649 (все части) Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета бета-глюкуронидаза-положительных бактерий <i>Escherichia coli</i>	—	**
ISO 16654 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения палочки <i>Escherichia coli</i> O157	MOD	ГОСТ 32011—2013 (ISO 16654:2001)* Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения <i>Escherichia coli</i> O157
ISO 21528-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы обнаружения и подсчета бактерий <i>Enterobacteriaceae</i> . Часть 1. Обнаружения и подсчет методом MPN с предварительным обогащением	MOD	ГОСТ 32064—2013 (ISO 21528-1:2004, ISO 21528-2:2004)* Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i>
ISO 21528-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы обнаружения и подсчета бактерий <i>Enterobacteriaceae</i> . Часть 2. Метод подсчета колоний		
* Внесенные технические отклонения обеспечивают выполнение требований настоящего стандарта. ** Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов. П р и м е ч а н и е — В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов: IDT — идентичные стандарты; MOD — модифицированные стандарты; NEQ — неэквивалентные стандарты.		

Элемент «Библиография» дополнить позициями — [10] — [16]:

- «[10] 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 качественным признакам. Часть 1. Планы выборочного контроля с указанием приемлемого уровня качества (AQL) для последовательного контроля партий)
- [11] 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)
- [12] DIN 58959-10- June 97 Quality management in medical microbiology — Part 10: Requirements for the use of control strains for testing reagents, dyes and biological materials (Микробиология медицинская. Управление качеством. Часть 10. Требования к использованию контрольных штаммов для испытания реактивов, красящих веществ и биологических материалов)
- [13] Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M., editors. Culture media for food microbiology. London: Elsevier, 1995, 491 p. (Progress in Industrial Microbiology, Vol. 34.)
- [14] Curtis, G.D.W., Baird, R.M., Skovgaard, N.P., Corry, J.E.L. A formal system of approval for monographs in the pharmacopoeia of culture media: Statement from the IUMS-ICFMH working party on culture media. Int. J. Food Microbiol., 1998, 45, pp. 59—63
- [15] Bell, C., Neaves, P., Williams, A.P. Food microbiology and laboratory practice. Oxford: Blackwell Science, 2005, 324 p.
- [16] World Data Centre For Microorganisms. Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media. Available (2010-12-07) at: http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM_Reference_Strain_Catalogue».

(ИУС № 10 2014 г.)