

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
ISO/TS 21872-2—  
2013

---

**МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ  
И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ**

**Горизонтальный метод обнаружения потенциально  
энтеропатогенных *Vibrio* spp.**

**Часть 2**

**Обнаружение видов бактерий, отличных  
от *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae***

**(ISO/TS 21872-2:2007, IDT)**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2014

## Предисловие

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

### Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 335)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 декабря 2013 г. № 63-П)

За принятие проголосовали:

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

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 21872-2:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. — Part 2: Detection of species other than *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения потенциально энтеропатогенных видов рода *Vibrio*. Часть 2: Выявление видов, отличных от *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae*).

Международный документ разработан подкомитетом ISO/TC 34/SC 9 «Микробиология» Технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Перевод с английского языка (en).

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

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 марта 2014 г. № 158-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO/TS 21872-2—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

## 6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2014

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

III

## Содержание

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Сведения о стандарте .....                                                                                                   | II |
| 1 Область применения .....                                                                                                   | 1  |
| 2 Нормативные ссылки .....                                                                                                   | 1  |
| 3 Термины и определения .....                                                                                                | 2  |
| 4 Сущность метода .....                                                                                                      | 2  |
| 4.1 Общие положения .....                                                                                                    | 2  |
| 4.2 Первичное обогащение в жидкой селективной среде .....                                                                    | 2  |
| 4.3 Вторичное обогащение в жидкой селективной среде .....                                                                    | 2  |
| 4.4 Выделение и идентификация .....                                                                                          | 3  |
| 4.5 Подтверждение .....                                                                                                      | 3  |
| 5 Реактивы и среды .....                                                                                                     | 3  |
| 6 Аппаратура и материалы .....                                                                                               | 4  |
| 7 Отбор проб .....                                                                                                           | 4  |
| 8 Приготовление испытуемой пробы .....                                                                                       | 4  |
| 9 Процедура проведения испытания (см. приложение А) .....                                                                    | 4  |
| 9.1 Проба для испытания и исходная суспензия .....                                                                           | 4  |
| 9.2 Первичное селективное обогащение .....                                                                                   | 4  |
| 9.3 Вторичное селективное обогащение .....                                                                                   | 5  |
| 9.4 Выделение и идентификация .....                                                                                          | 5  |
| 9.5 Подтверждение .....                                                                                                      | 5  |
| 10 Выражение результатов .....                                                                                               | 9  |
| 11 Протокол испытаний .....                                                                                                  | 9  |
| Приложение А (обязательное) Схема проведения испытания .....                                                                 | 10 |
| Приложение В (обязательное) Состав и приготовление питательных сред и реактивов .....                                        | 11 |
| Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов<br>ссылочным международным стандартам ..... | 17 |
| Библиография .....                                                                                                           | 18 |

## МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Горизонтальный метод обнаружения потенциально энтеропатогенных *Vibrio* spp.

## часть 2

Обнаружение видов бактерий, отличных от *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae*

Microbiology of food and animal feeding stuffs.

Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp.Part 2. Detection of species other than *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae*

Дата введения — 2015—07—01

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Для гарантии здоровья лабораторного персонала необходимо, чтобы испытания для выявления *Vibrio* spp. и особенно токсигенного *Vibrio cholerae* проводились только в лабораториях, специально оснащенных для этих целей и под руководством опытного микробиолога и чтобы уделялось особое внимание обеззараживанию зараженного материала.

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и корма для животных и устанавливает горизонтальный метод для выявления энтеропатогенных видов *Vibrio*, вызывающих заболевания в или через кишечный тракт, отличных от *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae*. Виды, выявляемые указанным методом, включают *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus* и *Vibrio vulnificus* (см. 9.4.4). Этот метод не подходит для выделения *Vibrio hollisae*. Виды *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae* могут быть также выделены в процессе применения данного метода. Данный метод не предназначен для выявления *Vibrio metschnikovii*, так как он оксидазоотрицателен.

Метод применим также для выявления данных микроорганизмов в объектах окружающей среды в сфере пищевого производства и оборота пищевых продуктов.

**Примечание 1** — *Vibrio metschnikovii* иногда выявляют из образцов фекалий человека, он может вызывать расстройство желудка.

**Примечание 2** — Идентификация видов *Vibrio*, отличных от *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae*, сложна и требует дальнейшего развития. Биохимические тесты, приведенные в настоящем стандарте, дают возможность предположительного подтверждения этих видов.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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 и рыбы и рыбопродуктов)

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)

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 правила приготовления проб для испытаний, исходных суспензий и десятикратных разведений для микробиологических исследований)

### 3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

**3.1 потенциально энтеропатогенные *Vibrio*:** Микроорганизмы, которые образуют типичные колонии на плотной селективной среде и обладают описанными биохимическими характеристиками при тестировании, проводимом в соответствии с настоящим стандартом.

**3.2 обнаружение потенциально энтеропатогенных *Vibrio*:** Определение присутствия или отсутствия предположительных, энтеропатогенных видов *Vibrio* в определенном количестве продукта, после проведения испытания в соответствии с настоящим стандартом.

### 4 Сущность метода

#### 4.1 Общие положения

Метод обнаружения потенциально энтеропатогенных *Vibrio* spp. состоит из четырех последовательных этапов (см. приложение А).

**Примечание** — *Vibrio* могут присутствовать в небольших количествах, часто вместе с гораздо большим количеством других микроорганизмов, относящихся к семейству Vibrionaceae или другим семействам, поэтому необходимы два последовательных обогащения для выявления этих микроорганизмов.

#### 4.2 Первичное обогащение в жидкой селективной среде

Среду для обогащения (щелочную солевую пептонную воду, ASPW) (5.1) инокулируют пробой при комнатной температуре. Инкубируют при 37 °C в течение  $(6 \pm 1)$  ч.

В случае больших количеств высеваемого продукта ASPW следует нагреть до 37 °C перед внесением пробы.

#### 4.3 Вторичное обогащение в жидкой селективной среде

Среду для обогащения (ASPW) инокулируют культурой, полученной по 4.2. Инкубируют при температуре 37 °C в течение  $(18 \pm 1)$  ч.

#### 4.4 Выделение и идентификация

Культуры, полученные по 4.2 и 4.3, пересевают на следующие две селективные агаризованные среды:

- Тиосульфат-цитратный агар с сахарозой и желчью (TCBS);
- другая подходящая агаризованная селективная среда (остается на выбор лаборатории), такая как колистин полимиксин  $\beta$ -целлобиоза агар (CPC), натрия додецил сульфат, полимиксин В, сахароза агар (SDS) или модифицированный колистин полимиксин целлобиоза агар (mCPC).

Две среды для выделения инкубируют при 37 °C в течение  $(24 \pm 3)$  ч.

#### 4.5 Подтверждение

Характерные колонии *Vibrio* spp., выделенные по 4.4, пересевают и затем подтверждают с помощью подходящих биохимических тестов.

### 5 Реактивы и среды

Информация об общепринятой лабораторной практике приведена в ISO 7218.

**Примечание** — В связи с большим количеством питательных сред и реагентов и для удобства пользования их состав и приготовление представлены в приложении В.

5.1 Среда для обогащения: щелочная солевая пептонная вода (ASPW)

См. В.1.

#### 5.2 Агаризованные среды для выделения

5.2.1 Первая среда: тиосульфат, цитрат, желчная соль и сахароза (TCBS) агар

См. В.2.

##### 5.2.2 Вторая среда

Выбирают между:

- a) натрия додецил сульфат полимиксин сахароза агар (SDS), см. В.3;
- b) целлобиоза полимиксин колистин агар (CPC), см. В.4;
- c) модифицированный целлобиоза полимиксин колистин агар (mCPC), см. В.5.

5.3 Солевой питательный агар (SNA)

См. В.6.

5.4 Реактив для определения оксидазы

См. В.7.

5.5 Солевой трехсахарный железистый (TSA) агар

См. В.8.

5.6 Солевая среда для определения орнитин декарбоксилазы (ODC)

См. В.9.

5.7 Солевая среда для определения лизин декарбоксилазы (LDC)

См. В.10.

5.8 Солевая среда для определения аргинин дегидролазы (ADH)

См. В.11.

5.9 Реактив для определения  $\beta$ -галактозидазы

См. В.12.

5.10 Солевая среда для определения индола

См. В.13.

5.11 Солевые пептонные воды

См. В.14.

5.12 Раствор хлорида натрия

См. В.15.

## 6 Аппаратура и материалы

**Примечание** — Инструменты одноразового применения — приемлемая альтернатива стеклянной посуде многократного пользования, если они имеют подходящие технические характеристики.

Используют оборудование обычной микробиологической лаборатории (см. ISO 7218) и, в частности, следующее.

6.1 Термостат, регулируемый до  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

6.2 Термостаты или водяные бани, регулируемые до  $(41,5 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

6.3 Водяная баня, регулируемая от 44 до  $47 ^\circ\text{C}$ .

6.4 Водяная баня, регулируемая до  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

Рекомендуется использовать водяные бани (6.2, 6.3 и 6.4), содержащие антибактериальный агент.

## 7 Отбор проб

В лабораторию необходимо доставить представительную пробу, не поврежденную и не измененную в ходе транспортирования или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящем стандарте. Отбор проб — по стандарту на конкретный продукт. В случае отсутствия конкретного стандарта на отбор проб продукта рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны достигли согласия по процедуре отбора проб.

## 8 Приготовление испытуемой пробы

Пробу для испытания готовят в соответствии с определенной частью ISO 6887 и/или ISO 8261 или стандарту на конкретный продукт. В случае отсутствия конкретного стандарта рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны достигли согласия по данному вопросу.

## 9 Процедура проведения испытания (см. приложение А)

### 9.1 Проба для испытания и исходная суспензия

Для приготовления исходной суспензии используют первую среду для обогащения (ASPW), указанную в 5.1.

Берут пробу для испытания ( $x$  г или  $x$  см<sup>3</sup>) в соответствии с нормативным значением и гомогенизируют ее в 9х см<sup>3</sup> (или 9х г) среды для обогащения.

В случае больших количеств высеваемого продукта перед внесением пробы ASPW должна быть нагрета до  $37 ^\circ\text{C}$ .

Если разведение и инкубирование не могут быть проведены в тот же день, исходную суспензию хранят до следующего дня при температуре  $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .

Когда более чем одна проба массой 25 г испытывается от той же партии анализируемого продукта, то для уменьшения объема проводимой работы эти пробы могут быть объединены. При этом должна быть уверенность в том, что смесь (собранные вместе пробы) не изменят результаты для испытуемого продукта.

**Пример** — Если анализируют 10 проб для испытания по 25 г, возможно объединить эти 10 проб, для того, чтобы получить в сумме объединенную пробу массой 250 г и добавить к ней 2,25 дм<sup>3</sup> среды для обогащения.

Количество клеток потенциально энтеропатогенных *Vibrio* spp. значительно снижается за счет хранения при низких температурах. Хранение образцов и в меньшей степени суспензий при таких температурах должно быть устранено или сведено к минимуму.

### 9.2 Первичное селективное обогащение

Инкубируют исходную суспензию (9.1) при температуре  $37 ^\circ\text{C}$  в течение  $(6 \pm 1)$  ч.

Необходимо обращать особое внимание на применение метода для продуктов с высоким содержанием соли, так как конечная концентрация соли в среде может изменять ее качественные характеристики (см. ИСО 6887-4).

### 9.3 Вторичное селективное обогащение

9.3.1 Переносят 1 см<sup>3</sup> культуры, полученной по 9.2, взятой с поверхности, в пробирку, содержащую 10 см<sup>3</sup> ASPW (5.1).

9.3.2 Посевы на ASPW инкубируют при  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(18 \pm 1)$  ч.

### 9.4 Выделение и идентификация

9.4.1 Из культур, выросших на среде ASPW (9.2 и 9.3.2) засевают петлей поверхность чашек с TCBS агаром (5.2.1) таким образом, чтобы получить развитие хорошо изолированных колоний.

Аналогично поступают со второй селективной средой (5.2), используя новую петлю.

9.4.2 Переворачивают чашки с агаром (9.4.1) и помещают их в термостат (6.1), установленный на  $37^\circ\text{C}$ .

9.4.3 После инкубирования в течение  $(24 \pm 3)$  ч просматривают чашки (9.4.1 и 9.4.2) на наличие типичных колоний *Vibrio* spp. Отмечают их расположение на основании чашки.

Существует две основные морфологические характеристики для колоний *Vibrio* spp. на TCBS агаре (5.2.1):

- типичные колонии *V. mimicus* и *V. vulnificus* гладкие зеленые (сахарозоотрицательные), от 2 до 3 мм в диаметре;
- типичные колонии *V. fluvialis* гладкие, желтые (сахарозоположительные), от 2 до 3 мм в диаметре.

Примечание — *V. parahaemolyticus* и *V. cholerae* образуют зеленые и желтые колонии на TCBS агаре соответственно.

Существует две основные морфологические характеристики для колоний *Vibrio* spp. на SDS среде [5.2.2 а)]:

- типичные колонии *V. mimicus* и *V. vulnificus* фиолетовые и достигают 2 мм или более в диаметре, с темным кольцом;
  - типичные колонии *V. cholerae* O1 желтые, 2 мм или более в диаметре, с темным кольцом;
- V. cholerae*, не относящиеся к штамму O1, могут не образовывать темное кольцо.

Другие *Vibrio* spp. либо не будут расти на SDS агаре, либо образовывать колонии без кольца.

Существует две основные морфологические характеристики для колоний *Vibrio* spp. на CPC и mCPC среде [5.2.2 б) и с)]:

- типичные колонии *V. vulnificus* желтые, 2 мм или более в диаметре и окружены желтой зоной;
- типичные колонии *V. cholerae* фиолетовые, 2 мм или более в диаметре и окружены голубым кольцом.

Некоторые виды других *Vibrio* spp. могут расти на CPC или mCPC агарах; выросшие колонии подобны описанным выше.

9.4.4 Для выделения *V. vulnificus* следует обращать внимание на качество среды CPC или mCPC.

### 9.5 Подтверждение

9.5.1 Для идентификации *Vibrio* до вида могут быть использованы разнообразные коммерчески доступные наборы для биохимической идентификации, обеспеченные базой данных или идентификационными таблицами. Наборы инокулируются суспензией определяемых бактерий. Суспензии для инокуляции готовятся в физиологическом растворе или жидкости для разбавления. Наборы для биохимической идентификации основаны на реакциях, полученных при использовании сред, подобных тем, которые описаны в настоящем стандарте.

Примечание — Распознавание колоний *Vibrio* — в значительной степени вопрос опыта, их внешний вид может иногда различаться не только от вида, но также от партии питательной среды.

### 9.5.2 Отбор колоний для подтверждения и приготовления чистых культур

Для подтверждения пересевают с каждой селективной среды (см. 9.4) пять колоний, которые считаются типичными для каждого потенциально патогенного вида *Vibrio* spp. Если на чашке менее пяти типичных колоний, то пересевают все эти колонии.

**Примечание** — Пищевые продукты, особенно морепродукты, могут содержать большое число бактерий, включая непатогенные *Vibrio* spp., которые могут расти в процессе культивирования на селективных средах. Пересев малого количества колоний может привести к потере потенциально патогенных видов.

Пересевают отобранные колонии на поверхность чашек с солевым питательным агаром или поверхность скошенного солевого питательного агара (5.3) для получения изолированных колоний. Посевы (9.4.2) инкубируют при 37 °C в течение (24 ± 3) ч.

Для биохимического подтверждения используют чистые культуры.

### 9.5.3 Тесты для идентификации

#### 9.5.3.1 Тест на оксидазу

Используя платиново-иридиевую петлю или стеклянный стержень, берут часть чистой культуры с солевого питательного агара (9.5.2) и проводят по поверхности фильтровальной бумаги, увлажненной реактивом на оксидазу (5.4), или используют коммерческие доступные тесты, следуя инструкциям производителя. Не следует использовать ни никель-хромовую петлю для отбора, ни металлический провод. Тест считается положительным, если цвет меняется на розовато-лиловый, фиолетовый или насыщенный фиолетовый в течение 10 с.

#### 9.5.3.2 Микроскопирование

Каждую чистую культуру, полученную по 9.4.2, тестируют в соответствии с а) и б):

а) Готовят мазок для окраски по Граму (см. ISO 7218). После окраски, используя микроскоп, отмечают морфологию и отношение к окраске по Граму и записывают результаты.

б) Инокулируют пробирку с щелочной солевой пептонной водой (ASPW) (5.1). Посевы инкубируют при (37 ± 1) °C от 1 ч до 6 ч. Наносят каплю культуры на чистую поверхность предметного стекла, накрывают покровным стеклом и проверяют подвижность под микроскопом. Отбирают культуры, показывающие положительный результат на подвижность.

#### 9.5.3.3 Отбор культур для биохимических тестов

Отбирают для биохимического подтверждения оксидазоположительные, грамотрицательные культуры, которые показывают положительный результат в тесте на подвижность.

### 9.5.4 Биохимическое подтверждение

9.5.4.1 Используя петлю для посевов, инокулируют среды, указанные в 9.5.4.2 — 9.5.4.8, каждой культурой, полученной из колоний, отобранных по 9.5.3.3.

#### 9.5.4.2 Тест с солевым TSI агаром (5.5)

Инокулируют укалыванием основание столбика агара и проводят вдоль по скошенной поверхности. Посевы инкубируют при (37 ± 1) °C в течение (24 ± 3) ч.

Результаты интерпретируют следующим образом:

а) Основание агаризованной среды

- желтый: глюкозоположительный (ферментация глюкозы);
- красный или неизменившийся: глюкозоотрицательный (нет ферментации глюкозы);
- черный: образование сероводорода;
- пузыри или трещины: образование газа из глюкозы.

б) Скошенная поверхность агаризованной среды

- желтый: лактозо и/или сахарозо-положительный (ферментация лактозы и/или сахарозы);
- красный или неизменившийся: лактозо и сахарозо-отрицательный (нет ферментации лактозы или сахарозы).

Типичные реакции *V. vulnificus* и *V. fluvialis* соответствуют кислотной поверхности (желтый) и кислотному основанию (желтый), без образования сероводорода или газа.

Типичные реакции *V. mimicus* соответствуют щелочной поверхности (красный) (иногда кислотной: желтый) и кислому основанию (желтый) без образования сероводорода или газа.

#### 9.5.4.3 Выявление орнитин декарбоксилазы

Инокулируют жидкую солевую среду (5.7) чуть ниже поверхности. Добавляют около 1 см<sup>3</sup> стерильного минерального масла на поверхность среды. Посевы инкубируют при температуре 37 °C в течение (24 ± 3) ч.

Помутнение и фиолетовый цвет среды после инкубирования указывают на положительную реакцию (бактериальный рост и декарбоксилирование орнитина). Желтый цвет указывает на отрицательную реакцию.

#### 9.5.4.4 Выявление L-лизин декарбоксилазы

Инокулируют жидкую солевую среду (5.7) чуть ниже поверхности. Добавляют около 1 см<sup>3</sup> стерильного минерального масла на поверхность среды.

Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в течение (24 ± 3) ч.

Помутнение и фиолетовый цвет среды после инкубирования указывают на положительную реакцию (бактериальный рост и декарбоксилирование лизина). Желтый цвет указывает на отрицательную реакцию.

#### 9.5.4.5 Выявление аргинин дигидролазы

Инокулируют жидкую солевую среду (5.8) чуть ниже поверхности. Добавьте около 1 см<sup>3</sup> стерильного минерального масла на поверхность среды.

Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в течение (24 ± 3) ч.

Помутнение и фиолетовый цвет среды после инкубирования указывают на положительную реакцию (бактериальный рост и дигидрирование аргинина). Желтый цвет указывает на отрицательную реакцию.

#### 9.5.4.6 Выявление β-галактозидазы

Инокулируют подозрительную колонию в пробирку, содержащую 0,25 см<sup>3</sup> солевого раствора (5.12). Добавляют одну каплю толуола и встряхивают пробирку.

Помещают пробирку в водяную баню (6.4), установленную на 37 °C и оставляют приблизительно на 5 мин.

Добавляют 0,25 см<sup>3</sup> реактива для определения β-галактозидазы (5.9) и перемешивают. Возвращают пробирку в водяную баню, установленную на 37 °C, оставляют ее на (24 ± 3) ч, просматривая время от времени.

Желтый цвет указывает на положительную реакцию (присутствие β-галактозидазы). Часто реакция видна через 20 мин. Отсутствие окрашивания через 24 ч указывает на отрицательную реакцию.

Если используются диски, готовые к применению, то следуют инструкциям производителя.

#### 9.5.4.7 Определение индола

Подозрительную колонию высевает в пробирку с 5 см<sup>3</sup> триптон-триптофановой солевой среды (5.10). Посевы инкубируют при температуре 37 °C в течение (24 ± 3) ч. После инкубирования добавляют 1 см<sup>3</sup> реактива Ковача.

Образование красного кольца указывает на положительную реакцию (образование индола). Желто-коричневое кольцо указывает на отрицательную реакцию.

#### 9.5.4.8 Тест на солеустойчивость

Готовят серию сред с пептонной водой с возрастающей концентрацией соли (NaCl): 0, 2, 4, 6, 8 и 10 % (5.11).

Готовят суспензию из колоний, которые будут тестироваться, и с помощью петли засевают каждую из пробирок. Посевы инкубируют при температуре 37 °C в течение (24 ± 3) ч.

Появление мутности в посевах указывает на то, что подозреваемая колония может расти при концентрации хлорида натрия, существующей в пробирке с солевой пептонной водой.

#### 9.5.4.9 Интерпретация биохимических тестов

Виды потенциально энтеропатогенных *Vibrio* spp. в основном дают реакции, представленные в таблице 1. Реакции для *V. parahaemolyticus* и *V. cholerae* также представлены, так как они могут быть выделены в процессе применения процедур, приведенных в настоящем стандарте. Реакции для *V. hollisae* не представлены, так как этот вид не будет выявлен.

Т а б л и ц а 1 — Интерпретация биохимических тестов

| Тесты                                                               | <i>V. cholerae</i> <sup>a</sup> | <i>V. mimicus</i> <sup>a</sup> | <i>V. parahaemolyticus</i> <sup>a</sup> | <i>V. vulnificus</i> <sup>a</sup> | <i>V. fluvialis</i> <sup>a</sup> |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Оксидаза                                                            | +                               | +                              | +                                       | +                                 | +                                |
| Выделение газа (глюкоза)                                            | —                               | —                              | —                                       | —                                 | —                                |
| Лактоза                                                             | —                               | —                              | —                                       | +                                 | —                                |
| Сахароза                                                            | +                               | —                              | —                                       | —                                 | +                                |
| ODC                                                                 | +                               | +                              | +                                       | +                                 | —                                |
| LDC                                                                 | +                               | +                              | +                                       | +                                 | —                                |
| ADH                                                                 | —                               | —                              | —                                       | —                                 | +                                |
| ONPG гидролиз                                                       | +                               | +                              | —                                       | +                                 | +                                |
| Образование индола                                                  | +                               | +                              | +                                       | +                                 | <sup>b</sup>                     |
| Рост в пептонной воде с:                                            |                                 |                                |                                         |                                   |                                  |
| 0 % NaCl                                                            | +                               | +                              | —                                       | —                                 | —                                |
| 2 % NaCl                                                            | +                               | +                              | +                                       | +                                 | +                                |
| 6 % NaCl                                                            | —                               | —                              | +                                       | +                                 | +                                |
| 8 % NaCl                                                            | —                               | —                              | +                                       | —                                 | —                                |
| 10 % NaCl                                                           | —                               | —                              | —                                       | —                                 | —                                |
| <sup>a</sup> Знак «+» означает от 76% до 89% положительных реакций. |                                 |                                |                                         |                                   |                                  |
| <sup>b</sup> Изменчивые результаты                                  |                                 |                                |                                         |                                   |                                  |

**П р и м е ч а н и е** — Реакции, приведенные в таблице 1, — руководство по идентификации перечисленных видов. Требуется дополнительные фенотипические тесты для полного различия этих видов друг от друга, от других непатогенных видов *Vibrio* и других ферментативных грамотрицательных организмов, таких как *Aeromonas* spp.

#### 9.5.4.10 Пошаговое подтверждение (по желанию)

С культурами, отобранными по 9.5.3.3, проводят тесты на рост в 10 %-ной солевой пептонной воде (5.11). Затем проводят подтверждение (другие тесты) с культурами, которые не показали рост в 10 %-ной солевой пептонной воде.

**П р и м е ч а н и е** — Желательно параллельно проводить пересев либо в 2 %-ную солевую пептонную воду, либо на солевой питательный агар, для того, чтобы быть уверенным, что «отсутствие роста» в 10 %-ной солевой пептонной воде не вызвано гибелью культуры.

#### 9.5.5 Подтверждение биохимической идентификации и определение факторов патогенности

Биохимическая идентификация *Vibrio* затруднена, и предпочтительно для получения подтверждения идентификации изолированных колоний, считаемых потенциально энтеропатогенными видами *Vibrio*, посылать их в специализированную лабораторию.

Для транспортирования пересевают культуры на поверхность скошенного солевого питательного агара (5.3).

## 10 Выражение результатов

В зависимости от результатов интерпретации указывают присутствие или отсутствие потенциально энтеропатогенных *Vibrio* spp. в пробе для испытания  $x$  г или  $x$  см<sup>3</sup> продукта (см. ISO 7218), указав название соответствующих бактериальных видов.

## 11 Протокол испытаний

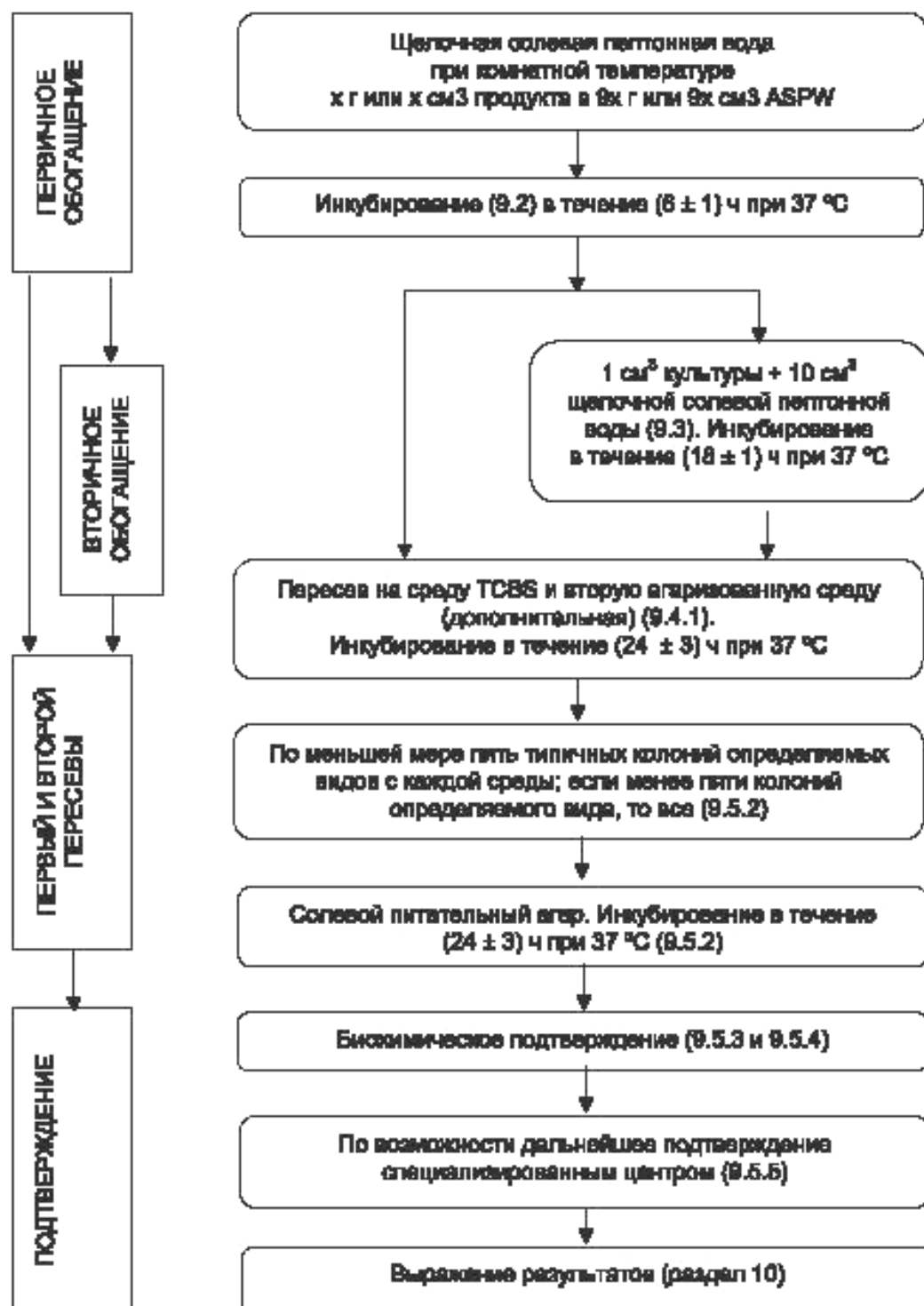
Протокол испытаний должен содержать:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- используемый метод приготовления образцов, если известно;
- любое отклонение в отношении среды для обогащения или использованных условий инкубирования;
- все рабочие детали, не установленные в этом стандарте, или рассматриваемые как дополнительные, вместе с другими инцидентами, которые могли бы повлиять на результат испытаний;
- полученные результаты.

Также протокол испытаний должен содержать информацию, был ли получен положительный результат при использовании только среды для изоляции, не указанной в настоящем стандарте.

Приложение А  
(обязательное)

## Схема проведения испытания



**Приложение В**  
**(обязательное)**

## **Состав и приготовление питательных сред и реактивов**

### **В.1 Щелочная солевая пептонная вода (ASPW)**

#### **В.1.1 Состав:**

пептон — 20,0 г;  
натрия хлорид — 20,0 г;  
вода — 1 000 см<sup>3</sup>

#### **В.1.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он был  $8,6 \pm 0,2$  при 25 °С.

Разливают среду в пробирки или колбы подходящего объема, чтобы получить порции, в количествах, требуемых для анализа (см. 9.1 и 9.3.1). Стерилизуют в автоклаве 15 мин при 121 °С.

### **В.2 Тиосульфат-цитратный желчный и сахарозный (TCBS) агар**

#### **В.2.1 Состав:**

пептон — 10,0 г;  
дрожжевой экстракт — 5,0 г;  
цитрат натрия — 10,0 г;  
тиосульфат натрия — 10,0 г;  
цитрат железа (iii) — 1,0 г;  
натрия хлорид — 10,0 г;  
сухая бычья желчь — 8,0 г;  
сахароза — 20,0 г;  
бромтимоловый голубой — 0,04 г;  
тимоловый голубой — 0,04 г;  
агар — 8,0–18,0 г<sup>1)</sup>  
вода — 1000 см<sup>3</sup>.

#### **В.2.2 Приготовление**

Растворяют компоненты или дегидратированную основу в воде доведения до кипения.

Если необходимо, регулируют pH так, чтобы он составлял  $8,6 \pm 0,2$  при 25 °С. Не автоклавируют.

#### **В.2.3 Приготовление чашек с агаром**

Разливают в чашки Петри по 15 — 20 см<sup>3</sup> свежеприготовленной среды, охлажденной приблизительно до 50 °С и оставляют для застывания.

Непосредственно перед использованием тщательно подсушивают поверхность агара (предпочтительнее после снятия крышек и переворачивания чашек).

#### **В.2.4 Контроль среды**

Для руководства см. [1], [2].

Для количественной оценки эффективности роста для каждой партии TCBS агара, используют солевой питательный агар (SNA) как сравнительную среду и следующие штаммы:

- *V. parahaemolyticus*: NCTC 10885;
- *V. furnissii*: NCTC 11218;
- *Escherichia coli*: ATCC 25922, 8739 или 11775.

Эффективность роста рассчитывают по формуле

$$(N_{\text{TCBS}} / N_{\text{SNA}}) \cdot 100,$$

где N — количество выросших колоний.

Эффективность роста должна составлять по меньшей мере 50 % для любых видов *Vibrio* (организмы положительного контроля) и менее 1 % для *E. coli* (организмы отрицательного контроля). Колонии *V. parahaemolyticus*: NCTC 10885 должны быть зелеными (сахарозоотрицательными), а колонии *V. furnissii*: NCTC 11218 должны быть желтыми (сахарозоположительными).

<sup>1)</sup> В зависимости от желирующих свойств агара.

**В.3 Натрий додецил сульфат полимиксин сахарозный (SDS) агар****В.3.1 Основа среды****В.3.1.1 Состав:**

протеозопептон — 10,0 г;  
 мясной экстракт — 5,0 г;  
 сахароза — 15,0 г;  
 натрия хлорид — 20,0 г;  
 натрий додецил сульфат — 1,0 г;  
 бромтимоловый голубой — 0,04 г;  
 крезоловый красный — 0,04 г;  
 агар — 15,00 г;  
 дистиллированная вода — 1000 см<sup>3</sup>

**В.3.1.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде. Устанавливают pH  $7,6 \pm 0,2$  при 25 °C. Стерилизуют при 121 °C в течение 15 мин.

**В.3.2 Раствор полимиксина В****В.3.2.1 Состав:**

Полимиксин В сульфат — 100000 единиц;  
 Вода — 5 см<sup>3</sup>.

**В.3.2.2 Приготовление**

Растворяют компонент в воде. Стерилизуют фильтрацией.

**В.3.3 Приготовление готовой среды**

Охлаждают основу среды приблизительно до 50 °C и прибавляют 5 см<sup>3</sup> стерильного раствора полимиксина В, перемешивают.

**В.3.4 Приготовление чашек Петри с агаром**

Разливают в чашки Петри по 15 — 20 см<sup>3</sup> агара. Выдерживают чашки до тех пор, пока поверхность агара не станет сухой.

**В.3.5 Контроль среды**

Для руководства см. [1], [2].

Для количественной оценки эффективности роста для каждой партии TCBS агара используют солевой питательный агар (SNA) как сравнительную среду и следующие штаммы:

- *V.vulnificus*: NCTC 11067 (ATCC 29307);
- *V.cholerae*: NCTC 8042 (ATCC 14733);
- *Escherichia coli*: ATCC 25922, 8739 или 11775.

Эффективность роста рассчитывают по формуле

$$(N_{SDS} / N_{SNA}) \cdot 100,$$

где N — количество выросших колоний.

Эффективность роста должна составлять по меньшей мере 50 % для любых видов *Vibrio* и менее 1 % для *E. coli*. Колонии *V. vulnificus*: NCTC 11067 должны быть пурпуро-зелеными с непрозрачными зонами, а *V. cholerae*: NCTC 8042 — желтыми с непрозрачными зонами.

**В.4 Целлобиозо-полимиксин-колистин (CPC) агар****В.4.1 Раствор 1****В.4.1.1 Состав**

бактериологический пептон — 10,0 г;  
 мясной экстракт — 5,0 г;  
 цитрат железа — 0,1 г;  
 натрия хлорид — 20,0 г;  
 бромтимоловый голубой — 0,04 г;  
 крезоловый красный — 0,04 г;  
 агар — 15,0 г;  
 дистиллированная вода — 900 см<sup>3</sup>.

**В.4.1.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде. Устанавливают pH  $7,6 \pm 0,2$ .

Автоклавуют при 121 °C в течение 15 мин. Охлаждают приблизительно до 50 °C.

**В.4.2 Раствор 2****В.4.2.1 Состав:**

целлобиоза — 15,0 г;  
 колистин — 1360000 единиц;  
 полимиксин В — 100000 единиц;  
 дистиллированная вода — 100 см<sup>3</sup>.

**В.4.2.2 Приготовление**

Растворяют целлобиозу в дистиллированной воде при нагревании. Охлаждают и прибавляют антибиотики, стерилизуют фильтрацией.

**В.4.3 Готовая среда**

Прибавляют раствор 2 (100 см<sup>3</sup>) к раствору 1 (900 см<sup>3</sup>) и перемешивают.

**В.4.4 Приготовление чашек с агаром.**

Вносят в чашку Петри 15 — 20 см<sup>3</sup> среды. Подсушивают поверхность агара перед использованием.

**В.4.5 Контроль среды**

Для руководства см. [1], [2].

Для количественной оценки эффективности роста для каждой партии TCBS агара используют солевой питательный агар (SNA) как сравнительную среду и следующие штаммы:

- *V.vulnificus*: NCTC 11067 (ATCC 29307);
- *V.cholerae*: не 01/0139 NCTC 8042 (ATCC 14733);
- *Escherichia coli*: ATCC 25922, 8739 или 11775.

Эффективность роста рассчитывают по формуле:

$$(N_{CPC} / N_{SNA}) \cdot 100,$$

где N — количество выросших колоний.

Эффективность роста должна составлять по меньшей мере 50 % для любых видов *Vibrio* и менее 1 % для *E. coli*. Колонии *V. vulnificus*: NCTC 11067 должны быть желтыми окруженными окрашенной желтой зоной среды, в то время как *V. cholerae*: NCTC 8042 должны быть пурпурными окруженными пурпурными зонами среды.

**В.5 Модифицированный целлобиозо-полимиксин-колистин (mCPC) агар****В.5.1 1000-кратный красящий раствор****В.5.1.1 Состав:**

- бромтимоловый голубой — 4,0 г;
- крезоловый красный — 4,0 г;
- этанол, 95% — 100 см<sup>3</sup>.

**В.5.1.2 Приготовление**

Растворяют краски в этаноле для получения 4 %-ного (масса к объему) раствора. Прибавляют 1 см<sup>3</sup> этого раствора на дм<sup>3</sup> mCPC агара до конечной концентрации 40 мг бромтимолового голубого и 40 мг крезолового красного на дм<sup>3</sup>.

**В.5.2 Раствор 1****В.5.2.1 Состав:**

- пептон — 10 г;
- мясной экстракт — 5 г;
- натрия хлорид — 20 г;
- 1000-кратный раствор красителя — 1 см<sup>3</sup>;
- агар — 15 г;
- дистиллированная вода — 900 см<sup>3</sup>.

**В.5.2.2 Приготовление**

Перемешивают компоненты и устанавливают pH 7,6. Охлаждают приблизительно до 50 °C.

**В.5.3 Раствор 2****В.5.3.1 Состав**

- целлобиоза — 10 г;
- колистин — 400000 единиц;
- полимиксин В — 100000 единиц;
- дистиллированная вода — 100 см<sup>3</sup>.

**В.5.3.2 Приготовление**

Растворяют целлобиозу в дистиллированной воде при нагревании. Охлаждают приблизительно до 50 °C. Добавляют антибиотики и перемешивают.

**В.5.4 Готовая среда****В.5.4.1 Состав:**

- 1000-кратный раствор красителя — 1 см<sup>3</sup>;
- Раствор 1 — 900 см<sup>3</sup>;
- Раствор 2 — 100 см<sup>3</sup>.

**В.5.4.2 Приготовление**

Прибавляют раствор 2 к раствору 1 и перемешивают.

Прибавляют 1 см<sup>3</sup> данного раствора на дм<sup>3</sup> mCPC агара до конечной концентрации 40 мг бромтимолового голубого и 40 мг крезолового красного на дм<sup>3</sup>.

**В.5.5 Приготовление чашек с агаром**

Наливают в чашки Петри по 15 — 20 см<sup>3</sup>. Перед использованием подсушивают поверхность агара.

**В.5.6 Контроль среды**

Для руководства см. [1], [2].

Для количественной оценки эффективности роста для каждой партии mCPC агара используют солевой питательный агар (SNA) как сравнительную среду и следующие штаммы:

- *V. vulnificus*: NCTC 11067 (ATCC 29307);
- *V. cholerae*: не O1/O139 NCTC 8042 (ATCC 14733);
- *Escherichia coli*: ATCC 25922, 8739 или 11775.

Эффективность роста рассчитывают по формуле:

$$(N_{mCPC} / N_{SNA}) \cdot 100,$$

где N — количество выросших колоний.

Эффективность роста должна составлять по меньшей мере 50 % для каждого вида *Vibrio* и менее 1 % для *E. coli*. Колонии *V. vulnificus*: NCTC 11067 должны быть желтыми, окруженными окрашенной желтой зоной среды, а *V. cholerae*: NCTC 8042 — пурпурными, окруженными пурпурными зонами среды.

**В.6 Солевой питательный агар (SNA)****В.6.1. Состав:**

мясной экстракт — 5,0 г;  
пептон — 3,0 г;  
натрия хлорид — 10,0 г;  
агар — 8–18 г<sup>1)</sup>;  
вода — 1 000 см<sup>3</sup>.

**В.6.2 Приготовление**

Растворяют компоненты или дегидратированную основу среды в воде, нагревая при необходимости. Регулируют pH так, чтобы после стерилизации он был на уровне  $7,2 \pm 0,2$  при 25 °C.

Разливают среду в емкости подходящей вместимости. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при 121 °C.

**В.6.3 Приготовление чашек с солевым питательным агаром**

Разливают в стерильные чашки Петри по 15 — 20 см<sup>3</sup> среды, охлажденной приблизительно до 50 °C. Оставляют для застывания.

Непосредственно перед применением тщательно подсушивают поверхность агара в чашках (предпочтительнее после снятия крышек и переворачивания чашек).

**В.6.4 Приготовление пробирок со скошенным агаром**

Разливают примерно 10 см<sup>3</sup> среды, охлажденной приблизительно до 50 °C, в пробирки подходящей вместимости. Оставляют до застывания в наклонном положении.

**В.7 Реактив для определения оксидазы****В.7.1 Состав:**

N, N, N', N' — Тетраметил-пара-фенилендиамин дигидрохлорид — 1,0 г;  
вода — 100 см<sup>3</sup>.

**В.7.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в холодной воде непосредственно перед использованием.

**В.8 Солевой трехсахарный железистый агар (TSI)****В.8.1 Основная среда****В.8.1.1 Состав:**

пептон — 20,0 г;  
мясной экстракт — 3,0 г;  
дрожжевой экстракт — 3,0 г;  
натрия хлорид — 10,0 г;  
лактоза — 10,0 г;  
сахароза — 10,0 г;  
глюкоза — 1,0 г;  
железо (iii) цитрат — 0,3 г;  
феноловый красный — 0,024 г;  
агар — 8–18 г<sup>1)</sup>;  
вода — 1000 см<sup>3</sup>.

**В.8.1.2 Приготовление**

Растворяют компоненты или дегидратированную основу среды в воде, нагревая, при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял  $7,4 \pm 0,2$  при температуре 25 °C.

<sup>1)</sup> В зависимости от железирующих свойств агара.

<sup>1)</sup> В зависимости от железирующих свойств агара.

Разливают среду по 10 см<sup>3</sup> в пробирки подходящей вместимости. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °С.

Оставляют для застывания в наклонном положении так, чтобы получить столбик высотой 2,5 см.

Если среда используется не ранее чем через 8 дней после приготовления, ее регенерируют расплавлением в кипящей воде или текущим паром в течение 10 мин. Оставляют для застывания, как указано выше.

#### **В.9 Солевая среда для определения орнитин декарбоксилазы (ODC)**

##### **В.9.1 Состав:**

L-Орнитин моногидрохлорид — 5,0 г;  
 дрожжевой экстракт — 3,0 г;  
 глюкоза — 1,0 г;  
 бромкрезоловый пурпурный — 0,015 г;  
 натрия хлорид — 10,0 г;  
 вода — 1000 см<sup>3</sup>.

##### **В.9.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы он составлял  $6,8 \pm 0,2$  при температуре 25 °С.

Разливают среду по 2 — 5 см<sup>3</sup> в узкие пробирки. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °С.

#### **В.10 Солевая среда для определения лизин декарбоксилазы (LDC)**

##### **В.10.1 Состав:**

L-Лизин моногидрохлорид — 5,0 г;  
 дрожжевой экстракт — 3,0 г;  
 глюкоза — 1,0 г;  
 бромкрезоловый пурпурный — 0,015 г;  
 натрия хлорид — 10,0 г;  
 вода — 1000 см<sup>3</sup>.

##### **В.10.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы он составлял  $6,8 \pm 0,2$  при температуре 25 °С.

Разливают среду по 2 — 5 см<sup>3</sup> в узкие пробирки. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °С.

#### **В.11 Солевая среда для определения аргинин дегидроксилазы (ADH)**

##### **В.11.1 Состав:**

аргинин моногидрохлорид — 5,0 г;  
 дрожжевой экстракт — 3,0 г;  
 глюкоза — 1,0 г;  
 бромкрезоловый пурпурный — 0,015 г;  
 натрия хлорид — 10,0 г;  
 вода — 1000 см<sup>3</sup>.

##### **В.11.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы он составлял  $6,8 \pm 0,2$  при температуре 25 °С.

Разливают среду по 2 — 5 см<sup>3</sup> в узкие пробирки. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °С.

#### **В.12 Реактивы для определения β-галактозидазы**

##### **В.12.1 OPNG раствор**

###### **В.12.1.1 Состав:**

2-орто-нитрофенил-β-D-галактопиранозид (OPNG) — 0,08 г;  
 Вода — 15 см<sup>3</sup>.

###### **В.12.1.2 Приготовление**

Растворяют OPNG в воде приблизительно при 50 °С, охлаждают раствор.

##### **В.12.2 Буферный раствор**

###### **В.12.2.1 Состав:**

натрия дигидрофосфат (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) — 6,9 г;  
 натрия гидроксид (NaOH) (раствор 0,1 моль/дм<sup>3</sup>) — приблизительно 3 см<sup>3</sup>;  
 вода до конечного объема — 50 см<sup>3</sup>.

###### **В.12.2.2 Приготовление**

В мерной колбе растворяют дигидрофосфат натрия приблизительно в 45 см<sup>3</sup> воды. Регулируют pH до  $7,0 \pm 0,2$  при температуре 25 °С с помощью раствора гидроксида натрия. Доводят объем водой до 50 см<sup>3</sup>.

##### **В.12.3 Готовый реактив**

###### **В.12.3.1 Состав:**

буферный раствор (В.12.2) — 5 см<sup>3</sup>;  
 раствор OPNG (В.12.1) — 15 см<sup>3</sup>.

**B.12.3.2 Приготовление**

Добавляют буферный раствор к раствору OPNG. Хранят при температуре от 0 °C до 5 °C.

**B.13 Солевая среда для определения индола****B.13.1 Триптофановая солевая среда****B.13.1.1 Состав:**

энзиматически переваренный казеин — 10,0 г;

DL-Триптофан — 1,0 г;

натрия хлорид — 10,0 г;

вода — 1000 см<sup>3</sup>.

**B.13.1.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости, и фильтруют. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял  $7,0 \pm 0,2$  при температуре 25 °C.

Разливают среду по 5 см<sup>3</sup> в пробирки подходящей вместимости. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °C.

**B.13.2 Реактив Ковача****B.13.2.1 Состав:**

4-диметиламинобензальдегид — 5,0 г;

соляная кислота (плотностью  $\rho = 1,18 \text{ г/см}^3 - 1,19 \text{ г/см}^3$ ) — 25 см<sup>3</sup>;

2-метилбутан-2-ол — 75 см<sup>3</sup>.

**B.13.2.2 Приготовление**

Смешивают компоненты.

**B.14 Солевые пептонные воды****B.14.1 Состав:**

пептон — 10,0 г;

- 0, 20, 60, 80 или 100 г;

вода — 1000 см<sup>3</sup>.

**B.14.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял  $7,5 \pm 0,2$  при температуре 25 °C.

Разливают среду по пробиркам подходящей вместимости. Стерилизуют 15 мин в автоклаве при температуре 121 °C.

**B.15 Раствор хлорида натрия****B.15.1. Состав:**

натрия хлорид — 10,0 г;

вода — 1000 см<sup>3</sup>.

**B.15.2 Приготовление**

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости. Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял  $7,5 \pm 0,2$  при температуре 25 °C.

Разливают раствор по пробиркам подходящей вместимости. Стерилизуют в течение 15 мин в автоклаве при температуре 121 °C.

**Приложение ДА**  
**(справочное)**

**Сведения о соответствии межгосударственных стандартов  
ссылочным международным стандартам**

Таблица ДА.1

| Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Степень соответствия | Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ISO 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 6887-4:2003 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                                                                                                                            | —                    | *                                                                                                                                               |
| ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | IDT                  | ГОСТ ISO 7218 — 2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям |
| ISO 8261 Молоко и молочные продукты. Общие правила приготовления проб для анализа, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований                                                                                                                                                                                                                                                                                               | —                    | *                                                                                                                                               |
| <p>* 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.</p> <p>Примечание — в настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов:</p> <p>- IDT — идентичные стандарты.</p> |                      |                                                                                                                                                 |

### Библиография

- [1] ISO/TS 11133-1 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
- [2] ISO/TS 11133-2 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

УДК 543.9:006.354

МКС 07.100.30  
65.120  
67.050

IDT

Ключевые слова: микробиология, пищевые продукты, корма для животных, инкубирование посевов, чашки Петри, колонии, идентификация, определение индола, определение оксидазы, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio vulnificus*

Подписано в печать 02.10.2014. Формат 60x84 1/8.  
Усл. печ. л. 2,79. Тираж 53 экз. Зак. 4114

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»,  
123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)