

Ангилалтын код 67.100.

Хүнсний микробиологи – <i>Clostridium spp.</i> илрүүлэх, тоо тоолох ерөнхий арга – 1-р хэсэг: Сульфит задлагч <i>Clostridium spp.</i> -ийн колони тоолох арга	MNS ISO 15213-1:2024
Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Clostridium spp.</i> — Part 1: Enumeration of sulfite-reducing <i>Clostridium spp.</i> by colony-count technique	

Стандарт, хэмжил зүйн газрын даргын 2024 оны ... дугаар сарын ..... өдрийн ..... дугаар тогтоолоор батлав.

Энэ стандарт нь 2024 оны .... дугаар сарын ..... өдрөөс эхлэн хүчинтэй.

АНХААРУУЛГА - Лабораторийн ажилтнуудын эрүүл мэндийг хамгаалахын тулд сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог тоолох шинжилгээг зөвхөн мэргэжлийн микробиологчын удирдлага дор зохих тоног төхөөрөмжөөр тоноглогдсон лабораторид явуулах ба өсгөвөрлөсөн бүх материалуудыг устгахдаа маш анхааралтай ажиллана. Энэ баримт бичгийг ашиглаж буй хүмүүс лабораторийн ерөнхий дадлыг мэддэг байх ёстой. Энэхүү баримт бичиг нь уг аргын ашиглалттай холбоотой аюулгүй байдлын бүх асуудлыг шийдвэрлэхгүй болно. Аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн зохих дадлыг бүрдүүлэх нь хэрэглэгчийн үүрэг юм.

## 1 Хамрах хүрээ

Энэ стандартаар сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн колони тоолох аргыг зааж өгсөн болно.

Энэхүү баримт бичигт дараахь зүйлс хамаарагдана. Үүнд:

- хүний хэрэгцээнд зориулагдсан бүтээгдэхүүн;
- малын тэжээлийн бүтээгдэхүүн;
- хүнс, малын тэжээл үйлдвэрлэх, боловсруулах хэсгийн орчны дээж;
- үйлдвэрлэлийн анхан шатны дээж;

ТАЙЛБАР: Энэ аргыг доорх төрлийн хүнсний бүтээгдэхүүнүүдийн хувьд лаборатори хоорондын туршилтаар баталгаажуулсан болно. Үүнд:

- шууд хэрэглэх эсвэл халаан хэрэглэхэд бэлэн махан бүтээгдэхүүн;
- өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүн (үүнээс гаралтай);
- боловсруулсан жимс, хүнсний ногоо;
- нярай хүүхдийн сүүн тэжээл, үр тарианы зутан;
- олон төрлийн орцтой хүнс эсвэл хоолны орцууд;

Уг арга нь мөн дараах ангиллын дээжүүдийн хувьд баталгаажсан болно. Үүнд:

- тэжээвэр амьтны хоол болон малын тэжээл
- хүрээлэн буй орчны дээж (хүнс эсвэл тэжээлийн үйлдвэрлэл)

Энэхүү аргыг тав болон үүнээс олон хүнсний ангиллын хувьд баталгаажуулсан тул хүнсний өргөн хүрээнд хэрэглэх боломжтой юм. Баталгаажуулалтын талаарх дэлгэрэнгүй мэдээллийг Хавсралт С болон 11-р хэсгээс харж болно. Үйлдвэрлэлийн анхан шатны дээжинд уг аргыг төдийлөн ашигладаггүй учраас энэ ангиллын дээжүүдийг лаборатори хоорондын туршилтад хамруулаагүй. Иймээс уг ангиллын дээжийн хувьд гүйцэтгэлийн шинж чанаруудыг олж аваагүй болно.

## MNS ISO 15213-1:2024

Энэхүү аргыг анхнаасаа хүнсний сүлжээнд хамааралтай бүхий л дээжийг шинжлэх зорилгоор боловсруулсан болно. Уг баримт бичгийг батлаж буй цаг үеийн мэдээллүүдэд үндэслэн энэ аргыг хүнсний сүлжээнд хамаарах бүхий л дээжийг шинжлэхэд бүрэн тохиромжтой хэмээн үзэж байна. Гэсэн хэдий ч хүнсний сүлжээнд олон төрлийн хүнсний бүтээгдэхүүнүүд байдаг тул энэхүү ерөнхий арга нь бүх бүтээгдэхүүний хувьд бүрэн тохиромжтой биш юм. Тиймээс шаардлагатай багахан өөрчлөлтийг хийж болох ба энэ нь уг ерөнхий аргаас мэдэгдэхүйц хазайлттай үр дүнг гаргахгүй юм.

Уг аргачлалын хувьд нэг аяган дээр хамгийн багадаа 10 колони ургасан шинжилгээний дээжийн хувьд тохиромжтой, гэвч бас үүгээр хязгаарлагдахгүй болно. Энэ нь 1 мл шингэн дээжийн хувьд 10 КҮН/мл-аас их, харин 1 г хатуу дээжийн хувьд 100 КҮН/г-аас их байх хэмжээний бохирдлын түвшин юм.

## 2 Норматив эшлэл

Дараах эш татсан баримт бичгүүдийн агуулга бүхэлдээ эсвэл зарим хэсэг нь уг стандартыг хүчин төгөлдөр болгоход зайлшгүй шаардлагатай болно. Хугацаа заагдсан эшлэлүүдийн хувьд зөвхөн дурдсан хэвлэлийг хэрэглэнэ. Харин хугацаа заагдаагүй эшлэлийн хувьд эш татсан баримт бичгийн хамгийн сүүлийн хэвлэл (*аливаа нэмэлт өөрчлөлтийг оруулаад*)-ийг хэрэглэнэ.

ISO 6887, (*бүх хэсгүүд*), *Хүнсний микробиологи - Микробиологийн шинжилгээнд дээж, эх булинга болон аравтын шингэрүүлэлт бэлтгэх*

ISO 7218, *Хүнсний микробиологи - Микробиологийн шинжилгээнд зориулсан ерөнхий шаардлага болон зааварчилгаа*

ISO 11133, *Хүнс, малын тэжээл, усны микробиологи - Тэжээлт орчин бэлтгэх, үйлдвэрлэх, хадгалах, хянах.*

ISO 19036:2019, *Хүнсний микробиологи - Тоон тодорхойлолтийн үеийн хэмжилтийн тодорхойгүй байдлын тооцоолол*

## 3 Нэр томъёо, тодорхойлолт

Энэ стандартад дараах нэр томъёо, тодорхойлолтуудыг хэрэглэнэ.

ОУСБ болон ЕСХ нь стандарт боловсруулахад ашиглагддаг нэр томъёоны мэдээллийн санг дараах хаягт байршуулдаг.

- ОУСБ-ын онлайн хайлтын платформ: <https://www.iso.org/obp>
- ЕСХ-ны цахим хуудас: <https://www.electropedia.org/>

### 3.1

#### **Сульфит задлагч *Clostridium spp.***

*ихэвчлэн* анаэроб нөхцөлд төмрийн сульфит агар (ТСА) дээр хэв шинжит эсвэл хэв шинжит бус колони үүсгэдэг, биохимийн сорилоор тодорхой шинж чанаруудыг үзүүлдэг *Clostridiaceae*-ийн овгийн бичил биетний зүйл

ТАЙЛБАР 1: Биохимийн баталгаажуулах сорилыг 9.6-д үзүүлсэн.

### **3.2**

#### **Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоо тоолох**

нэг грамм, миллилитр, сантиметр квадрат эсвэл дээж авсан хэрэгсэл дахь сульфит задлагч *Clostridium spp.* (3.1)-ийн колони үүсгэгч нэгж (КҮН)-ийн тоог заасан стандарт аргын дагуу тодорхойлох

ТАЙЛБАР 1: Стандарт аргыг 9-р хэсэгт үзүүлсэн.

## **4 АРГЫН ЗАРЧИМ**

### **4.1 Ерөнхий**

Шингэн сорьц бол шууд, харин бусад бүтээгдэхүүний хувьд эх булингаас нь тодорхой хэмжээтэйгээр авч хоосон петрийн аяга руу хийн, хайлуулсан тэжээлт орчинтой хольж царцаана. Шинжилгээний сорьцын аравтын шингэрүүлгүүдээс мөн өөр аягануудад ижил нөхцөлд бэлтгэнэ. Тэжээлт орчин царцсаны дараа гадаргуу хэсэгт тархаж ургадаг колониуд ургахаас сэргийлж нэмэлт давхарга үүсгэж царцаана. Хэрэв зөвхөн спорыг нь тоолох бол нэмэлт давхарга үүсгэхээс өмнө 80°C температурт 10 минут дулааны боловсруулалт хийх шаардлагатай.

Хэрэв колони үүсгэгч нэгжийн тоо (КҮН) нь тодорхойлох хязгаарт эсвэл түүнтэй ойролцоо хэмжээнд байх төлөвтэй бол зэрэгцээ аяга ашиглах нь зүйтэй. Зэрэгцээ аяга ашиглаж байгаа тохиолдолд хоёр аяган дээрх колонийн нийлбэр нь хамгийн багадаа 10 байх ёстой. Энэ тохиолдолд, бохирдлын түвшинг шингэн сорьцын хувьд 5 КҮН/мл, хатуу сорьцын хувьд 50 КҮН/г-аас их хэмээн үзнэ.

Аяганд нэмэлт давхарга үүсгэх арга нь зорилтот бактерийн колонийг далдлах боломжтой тархаж ургадаг колониудыг агуулсан байж болзошгүй бүтээгдэхүүнд ашиглахад тохиромжтой юм. Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог тоолоход Хавсралт А-д заасан дараалласан дөрвөн үе шат шаардлагатай байдаг.

### **4.2 Шингэрүүлэг бэлтгэх**

Шинжилгээний сорьцоос аравтын шингэрүүлэг бэлтгэхдээ ISO 6887 цуврал стандартад заасан журмыг мөрдөнө.

### **4.3 Тоо тоолох**

Бэлтгэсэн аягыг анаэроб нөхцөлд 37°C-т 48 цаг өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөсний дараа хар, саарлаас шар хүрэн өнгийн хэв шинжит колониудын тоог тоолно. Тэжээлт орчинд агуулагдах сульфидын ион болон гурван валенттэй төмөр (Fe(III)) хоорондын урвалын үр дүнд төмрийн (II) сульфид үүсдэгээс болж колонийн өнгө болон хүрээ өөрчлөгддөг.

### **4.4 Баталгаажуулалт**

Хэв шинжит колониудыг сонгож баталгаажуулна.

Тайлбар: Хэрэв баталгаажуулалт хийгээгүй бол үр дүнг "анаэроб сульфит задлагч бактери" хэмээн тайлагнана.

## **5 Тэжээлт орчин, урвалж бодис**

ISO 7218 стандартад заасан тухайн үеийн лабораторийн дадлыг дагаж мөрдөнө. Тэжээлт орчин, урвалж бодисын найрлага болон тэдгээрийг бэлтгэх талаар Хавсралт Б-д заасан болно. Тэжээлт орчны чанарыг хянахдаа ISO 11133 стандарт болон Хавсралт В-д заасан журмыг мөрдөнө.

## **6 Тоног төхөөрөмж, хэрэглэх материал**

Тохиромжтой техникийн үзүүлэлттэй нэг удаагийн багаж хэрэгслүүд нь дахин ашигладаг шилэн сав суулгыг орлуулж болох боломжит нэг хувилбар юм. Микробиологийн лабораторийн ердийн тоног төхөөрөмж (ISO 7218-г үз), ялангуяа дараах зүйлсийг ашиглана. Үүнд:

**6.1 Анаэроб орчин бүрдүүлэхэд тохиромжтой аппарат:** агаар нэвтрүүлэхгүйгээр битүүмжлэх боломжтой сав эсвэл тэжээлт орчныг өсгөвөрлөх нийт хугацаанд агааргүй орчныг бүрдүүлэх боломжтой бусад тохиромжтой багаж хэрэгсэл. Анаэроб лабораторийн шүүгээ зэрэг бусад ижил ажиллагаатай системийг мөн ашиглаж болно. Багаж хэрэгслийг суурилуулах болон засварлахдаа үйлдвэрлэгчийн зааварчилгааг дагана уу.

Шаардлагатай атмосферын найрлагыг бүрдүүлэхдээ савнаас агаарыг зайлуулсаны дараа хийн холимог нэмэх (жишээлбэл хийн баллоноос), шүүгээнээс агаарыг шахаж гаргах эсвэл өөр бусад тохиромжтой аргуудыг (худалдааны хийн багц) ашиглаж болдог. Ерөнхийдөө, анаэроб өсгөвөрлөлтөд хүчилтөрөгчийн эзлэх хувь 1%-иас бага, нүүрсхүчлийн давхар ислийн эзлэх хувь 9-13% байх шаардлагатай байдаг.

**6.2 Хуурай ариутгалын (хатаах шүүгээ) эсвэл уурын ариутгалын (автоклав) аппарат**

**6.3 Дулаан тогтоогуур,**  $37\pm 1^\circ\text{C}$  температурт ажиллах хүчин чадалтай.

**6.4 рН метр,**  $25^\circ\text{C}$  температурт  $\pm 0.1$  рН-ийн нарийвчлалтай нэгжийн шалгалт тохируулгатай.

**6.5 Хөргөгч,**  $5\pm 3^\circ\text{C}$  температурт ажиллах хүчин чадалтай.

**6.6 Тохиромжтой багтаамжтай ариутгасан шилэн сав, колбо, хуруу шил.** Хоргүй металл эсвэл хуванцар эргэдэг тагтай шилэн сав, колбо болон хуруу шил ашиглаж болно.

**6.7 Ариутгасан хэмжээст шилэн пипетка эсвэл автомат пипетка,** 1мл болон 10мл-ийн нэрлэсэн багтаамжтай.

**6.8 Ариутгасан гогцоо,** ойролцоогоор 1 мкл-ийн эзэлхүүнтэй эсвэл микробиологийн зүү болон төмөр утас.

**6.9 Ариутгасан петрийн аяга,** ойролцоогоор 90 мм болон илүү том (ойролцоогоор 140 мм) диаметртай (завал биш).

**6.10 Температурын тохируулгатай усан банн,**  $44-47^\circ\text{C}$  болон  $80\pm 2^\circ\text{C}$  температурт ажиллах хүчин чадалтай.

## **7 Дээж авах**

Дээж авах нь уг баримт бичигт заасан аргын хэсэг биш юм. Тухайн бүтээгдэхүүнтэй холбоотой тусгайлсан олон улсын стандартыг дагаж мөрдөнө. Хэрэв холбогдох бүтээгдэхүүнээс дээж авах тухай тусгайлсан олон улсын стандарт байхгүй бол оролцогч талууд энэ тал дээр харилцан зөвшилцөж ажиллахыг санал болгож байна.

Санал болгох дээж авах аргуудыг дараах бичиг баримтуудад тусгаж өгсөн байдаг. Үүнд:

- Хүнс, малын тэжээлд ISO/TS 17728;

## **MNS ISO 15213-1:2024**

- Сүү, сүүн бүтээгдэхүүнд ISO 707;
- Үйлдвэрлэлийн анхан шатны хэсгийн түүхий нялцгай биетэн, туникат, эхинодермд ISO 6887-3;
- Үйлдвэрлэлийн анхан шатны дээжинд ISO 13307;
- Гулууз маханд ISO 17604;
- Гадаргуугийн дээжинд ISO 18593;

Лаборатори нь шинжлэх гэж буй бүтээгдэхүүнийг төлөөлж чадахуйц дээжийг хүлээн авах нь маш чухал юм. Тухайн дээж нь тээвэрлэлт болон хадгалалтын явцад гэмтэж эсвэл өөрчлөгдөөгүй байх ёстой.

### **8 Шинжилгээний дээж бэлтгэх**

Тухайн бүтээгдэхүүнтэй холбоотой тусгайлсан олон улсын стандартын дагуу лабораторид хүлээн авсан дээжнээс шинжилгээний сорьцыг бэлтгэнэ. ISO 6887 цуврал стандартад заасан журмыг дагана. Хэрэв тусгайлсан олон улсын стандарт байхгүй бол оролцогч талууд энэ тал дээр харилцан зөвшилцөж ажиллахыг санал болгож байна.

### **9 Шинжилгээний явц**

#### **9.1 Ерөнхий**

Шинжилгээний явцын урсгал диаграммыг Хавсралт А-д үзүүлсэн болно.

#### **9.2 Шинжилгээний сорьц, эх булинга болон шингэрүүлэлт**

Тухайн бүтээгдэхүүний холбогдох тусгайлсан олон улсын стандарт болон ISO 6887 цувралд заасан журмыг мөрдөнө.

Шингэн бүтээгдэхүүн бол шинжилгээний сорьцоос шууд, бусад бүтээгдэхүүний хувьд эх булингаас нь аравтын шингэрүүлгийг бэлтгэнэ.

Малын тэжээлийн дээжээс эх булинга бэлтгэхэд зориулсан тусгай протоколыг Хавсралт Д-д харуулсан болно.

#### **9.3 Спор ялгах дулааны боловсруулалт**

Хэрэв зөвхөн спор тоолох зорилготой бол аравтын шингэрүүлгүүдийг усан баннанд 80°C-т 10±1 минут халаана. Спороос амьд эс үүсэхээс сэргийлэхийн тулд эх булингыг бэлтгэснээс хойш 15 минутын дотор дулааны боловсруулалтыг явуулах ёстой. Хэрэв хуруу шилнүүдийг 15 минутын дотор усан баннд байрлуулаагүй бол хайлж буй мөсөнд нэн даруй хийж хамгийн ихдээ 2 цагийн турш байлгана.

Дулааны боловсруулалтын үеийн температурыг хянахын тулд дээж хийсэн савтай (6.6) адилхан хэмжээтэй саванд дээжтэй ижил эзэлхүүнтэй ус хийн, үүнд тохирох термометрийг хийж байрлуулна. Хуруу шилнүүдийг дулааны боловсруулалтын явцад бүрэн таглаж болохгүй. Температур 80°C-т хүрэх хугацаа 5 минутаас хэтрэхгүй байх ёстой бөгөөд уг хугацааг усны түвшинг дээжний түвшнээс дээш 4 см өндөрт байлгах болон эргэлдүүлэгч усан насосыг усан баннд суурилуулан дулааны солилцоог нэмэгдүүлэх замаар бий болгох боломжтой байдаг.

Хяналтын савны температур 80°C-т хүрэх үед халаах хугацааг (10 минут) эхлүүлнэ. Дулааны боловсруулалтын дараа дээжийг ойролцоогоор 20°C хүртэл богино хугацаанд хөргөнө. Дулааны боловсруулалт нь мөн олон төрлийн бичил

## MNS ISO 15213-1:2024

биетэн агуулсан зарим матриц (жишээлбэл шингэн шар сүү, тэжээлийн дарш)-ийн өрсөлдөх чадвартай бичил биетнүүдийг бууруулах ёстой юм.

### 9.4 Тарилт ба өсгөвөрлөлт

**9.4.1** 90 мм-ийн диаметртай ариутгасан хоёр ширхэг петрийн аяга (6.9) авна. Хэрэв шингэн бол дээжнээс 1 мл-ийг, харин бусад бүтээгдэхүүний хувьд эх булинга ( $10^{-1}$  шингэрүүлэлт)-аас 1 мл-ийг ариутгасан пипеткээр аяга тус бүрт хийнэ. Хэрэв нэгээс олон шингэрүүлэг ашиглах бол шингэрүүлэг бүрээс нэг аяганд тарилт хийж болно (ISO 7218-г үз). Тодорхой бүтээгдэхүүн дэх цөөн тооны сульфит задлагч *Clostridium spp.*-э тоолох шаардлагатай үед гурван ширхэг том (140 мм) петрийн аяга (6.9)-нд 10 мл эх булинга хийж шинжилсэнээр тоолох хязгаарын түвшинг 10 дахин бууруулах боломжтой байдаг.

**9.4.2** Өөр ариутгасан петрийн аяга (6.9) авна. Өөр ариутгасан пипетка (6.7) ашиглан  $10^{-1}$  (шингэн бүтээгдэхүүн) эсвэл  $10^{-2}$  (бусад бүтээгдэхүүн) дэх шингэрүүлгээс тухайн аяганд хийнэ.

**9.4.3** Шаардлагатай бол дараагийн аравтын шингэрүүлэлт бүрээс шинэ ариутгасан пипетка (6.7) ашиглан дээрх үйл явцыг давтана.

**9.4.4** Боломжтой бол петрийн аяганд тарилт хийхдээ нэг аяганд (90 мм-ийн петрийн аяга дээр) 10-150 колони эсвэл нэг аяганд (140 мм-ийн петрийн аяга дээр) 10-360 колони тоолох боломжтой эгзэгтэй шингэрүүлгүүд (хамгийн багадаа дараалласан хоёр аравтын шингэрүүлэг)-ийг сонгоно.

**9.4.5** Петрийн аяга (6.9) бүрт хайлуулж, 44-47°C (6.10) температур хүртэл хөргөсөн төмөр сульфит агар (ТСА) тэжээлт орчинг (В.2-р хэсэг) 90 мм-ийн петрийн аяганд ойролцоогоор 12-15 мл, харин 140 мм-ийн петрийн аяганд 45-50 мл-ийг хийнэ.

**9.4.6** Петрийн аяга (6.9)-ыг цагийн зүүний дагуу хөдөлгөх замаар тэжээлт орчинг дээжтэй болгоомжтой холих ба аягыг хүйтэн тэгш гадаргуу дээр царцаана.

**9.4.7** Бүрэн царцсаны дараа тэжээлт орчны гадаргуу хэсэгт тархдаг колони ургахаас сэргийлж ТСА тэжээлт орчинг (В.2-р хэсэг) 90 мм-ийн петрийн аяга (6.9)-нд 5 мл хэмжээтэйгээр, харин 140 мм-ийн петрийн аяга (6.9)-нд 10 мл хэмжээтэйгээр хийж нэмэлт давхарга үүсгэнэ. Үүнийг 9.4.6-т заасны дагуу царцаана.

**9.4.8** Царцаасан аяганууд (9.4.7)-ыг эргүүлж харуулан 37°C (6.3)-т анаэроб орчин (6.1)-д өсгөвөрлөнө.

### 9.5 Хэв шинжит колони тоолох

**9.5.1** Аяган (9.4.8-ыг үз) дээрх боломжит сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийг  $48 \pm 2$  цагийн өсгөвөрлөлтийн дараа шалгана.

ТСА тэжээлт орчин дээр ургасан хар, саарлаас бор шар өнгөтэй хэв шинжит колониудыг тоолно.

Хүчилтөрөгчийн нөлөөгөөр колонийн өнгө маш хурдан бүдгэрч арилдаг тул өсгөвөрлөсөн аягануудыг анаэроб орчноос нь гаргаснаас хойш 30 минутын дотор тоолох хэрэгтэй. Хэрэв анаэроб сав ашигласан бол нэг саван дахь аягануудыг шалгаж дууссаны дараа хоёр дахь савны аягануудыг шалгах замаар, харин анаэроб инкубатор (6.1, 6.3) хэрэглэсэн бол аягануудыг бага багаар гаргаж тоолно.

## MNS ISO 15213-1:2024

ТАЙЛБАР: Тэжээлт орчны сарнисан, өвөрмөц бус харлалт тохиолдож болно. Устөрөгч (H<sub>2</sub>S биш) үүсгэдэг анаэроб бактерийн өсөлт нь сульфитын хэмжээг бууруулж, улмаар тэжээлт орчныг бүхэлд нь хамарсан харлалтыг үүсгэдэг ба энэ нь хэв шинжит колониудыг тоолоход хүндрэлтэй болгодог.

**9.5.2** Өсгөвөрлөсөн аяганууд (9.5.1-ийг хар)-аас 150-иас бага боломжит колони (90 мм-ийн петрийн аяганы хувьд) эсвэл 360-иас бага боломжит колони (140 мм-ийн петрийн аяганы хувьд) ургасан аягыг сонгож авна. Нэгж аяга бүр дэх боломжит колониудын тоог бүртгэж авна. Дараа нь батлах сорил (9.6-г хар)-д зориулан таван колони сонгон авч, сэлгэн тарина. Хэт бага эсвэл олон тооны боломжит колонитой аягануудыг тоолохын тулд ISO 7218-г харна уу.

### 9.6 Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийг батлах

**9.6.1** Аяга бүрээс (9.5.2-ыг үз) таван боломжит колонийг сонгон авч батлана. Хэрэв ургасан колониуд нэгээс олон өөр өөр морфологи шинжтэй бол өөр өөр морфологи шинж бүхий колони бүрээс нэгийг сонгон авч, сэлгэн тарьж, баталгаажуулна.

**9.6.2** Сонгосон колони тус бүрийг ариун гогцоо (6.8) ашиглан хоёр ширхэг сонгомол бус цустай агар, жишээлбэл колумбиа цустай агар (B.3-р хэсгийг үз)-т тарина. Хэрэв цус байхгүй бол колумбиа агарын суурь эсвэл өөр шим тэжээлээр баялаг тэжээлт орчин (жишээлбэл, триптон шар буурцгын агар эсвэл тархи зүрхний ханд агар) ашиглаж болно.

Тухайн агартай аягануудыг бага температурт хадгалж байсан бол ашиглахын өмнө өрөөний температурт байлгана. Шаардлагатай бол эдгээр аягануудыг ашиглахын өмнө гадаргууг хатаана (ISO 11133-ыг үзнэ үү).

Хоёр ширхэг сонгомол бус агартай аягыг тодорхой хэсгүүдэд хуваан хэд хэдэн колонийн сэлгэн тарилтыг хийж болно. Тарилтын үр дүнд цэвэр тусгаар колониудыг гарган авах ёстой.

Хоёр аягын нэгийг нь анаэроб орчин (6.1)-д, харин нөгөөхийг нь аэроб орчинд 37°C-т (6.3) 20±2 цаг өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөлтийн дараа аягануудыг 5°C температурт хөргөгчинд (6.5) хамгийн ихдээ 48 цагийн турш хадгалж болно. Анаэроб нөхцөлд өсгөвөрлөсөн аягануудыг анаэроб орчинд хадгална.

**9.6.3** Хэв шинжит колониудыг дараах байдлаар баталгаажуулна.

- Хэрэв анаэроб орчинд өсгөвөрлөсөн (цустай) агар дээр нэг хэв шинжтэй колони ургасан, харин аэроб нөхцөлд өсгөвөрлөсөн (цустай) агар дээр ургаагүй бол тухайн колони нь *Clostridia*-ийн төрөлд хамаарагдана. Уг тохиолдолд, TCA тэжээлт орчин дээрээс бүртгэн авсан тухайн колонитой ижил морфлогитой колониудыг сульфит задлагч *Clostridium spp.* хэмээн тоолно.
- Хэрэв анаэроб болон аэроб нөхцөлд өсгөвөрлөсөн цустай агарын аль алинд нь нэг хэв шинжтэй колони ургасан бол тухайн колони нь *Clostridia*-ийн төрөлд хамаарахгүй. Тиймээс TCA тэжээлт орчин дээр ургасан тухайн колонитой ижил морфологи бүхий бусад колониудыг *Clostridium spp.* гэж тооцохгүй.

Тайлбар: Ялгасан сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийг батлахад тохиромжтой эсэхийг баталгаажуулсан (ISO 16140-4 эсвэл ISO 16140-6-г үз) өөр орлуулах аргуудыг (ISO 7218-г үз) ашиглаж болно.

## 10 Үр дүнг илэрхийлэх

Үр дүнг тооцоолохдоо ISO 7218-д заасан аргачлалыг дагана. Үр дүнг нэгж грамм, миллилитр эсвэл сантиметр квадрат дахь сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн

## MNS ISO 15213-1:2024

тоогоор тооцоолж тайлагнана. Дээж авсан талбай тодорхойгүй тохиолдолд нэгж дээж авах хэрэгсэл (даавуу, хөвөн бамбар эсвэл савх г.м) дэх хэмжээгээр тайлагнана.

Хэрэв спор ялгахын тулд дулааны боловсруулалт ашигласан бол үр дүнг нэгж грамм, миллилитр, сантиметр квадрат эсвэл нэгж дээж авах хэрэгсэл дэх сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн спорын тоогоор тайлагнана.

Хэв шинжит колони илрээгүй тохиолдолд үр дүнг илэрхийлэхдээ ISO 7218 стандартад заасан тусгай нөхцлийн хэсгийг дагаж мөрдөнө.

### 11 Аргын баталгаат байдал

#### 11.1 Лаборатори хоорондын харьцуулалт

Аргын гүйцэтгэлийн шинж чанарыг тодорхойлох лаборатори хоорондын харьцуулалтын үр дүн (ISO 17468 стандартын 6-р алхам)-г 11.2-т үзүүлсэн болно.

Тайлбар: Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог эрүүл ахуйн индикатор болгож зөвшөөрөгдөх хамгийн доод түвшинг (жишээлбэл, нярай хүүхдийн сүүн тэжээлийн хувьд зөвшөөрөгдөх дээд түвшин нь 10-30 КҮН/г хооронд байдаг) нь тодорхойлдог учраас лаборатори хоорондын харьцуулалтаар уг аргын таарц болон тохирцыг уг доод түвшинд нь тодорхойлсон.

#### 11.2 Гүйцэтгэлийн шинж чанар

Уг аргын гүйцэтгэлийн шинж чанарууд (таарц болон тохирцын стандарт хазайлт)-ыг лаборатори хоорондын харьцуулалтаар тодорхойлсон. Лаборатори хоорондын харьцуулалтын үр дүнд олж авсан утгууд нь ашигласнаас бусад ангиллын хүнсний бүтээгдэхүүн болон концентрацийн хэмжээний хувьд тохиромжтой бус байж болзошгүй юм. Бүх тоон өгөгдлийг Хавсралт С-д үзүүлсэн болно.

Лаборатори хоорондын харьцуулалтын таарцын стандарт хазайлт ( $s_r$ )-ын өөр утгуудын хураангуйг Хүснэгт 1-т харуулсан.

**Хүснэгт 1 – Лаборатори хоорондын харьцуулалтын  $s_r$ -ийн утгуудын хураангуй**

(Хүнсний) ангилал	(Хүнсний) бүтээгдэхүүн	Тарилтын бага түвшний $s_r$ -ийн утгууд
Шууд хэрэглэх эсвэл халаан хэрэглэхэд бэлэн бэлэн халаан махан бүтээгдэхүүн	Лаазалсан үхрийн мах	0.091
Олон орцтой хүнс эсвэл хоолны орцууд	Савласан бэлэн шөл	0.049
Нярай хүүхдийн сүүн тэжээл, үр тарианы зутан	Нярай хүүхдийн хуурай сүүн тэжээл	0.040
Өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүн (үүнээс гаралтай)	Хуурай өндөг	0.11
Боловсруулсан жимс, хүнсний ногоо	Лаазалсан ханборгоцой	0.060
Хүрээлэн буй орчны дээж (хүнс, тэжээлийн үйлдвэрлэл)	Гадаргуугийн арчдас	0.054



## MNS ISO 15213-1:2024

Тэжээвэр амьтны хоол, малын тэжээл	Малын тэжээлийн дарш	0.048
------------------------------------	----------------------	-------

Лаборатори хоорондын харьцуулалтын тохирцын стандарт хазайлт ( $s_R$ )-ын өөр утгуудын хураангуйг Хүснэгт 2-т харуулсан болно.

### Хүснэгт 2 – Лаборатори хоорондын харьцуулалтын $s_R$ -ийн утгуудын хураангуй

(Хүнсний) ангилал	(Хүнсний) бүтээгдэхүүн	Тарилтын бага түвшний $s_R$ -ийн утгууд
Шууд хэрэглэх эсвэл халаан хэрэглэхэд бэлэн махан бүтээгдэхүүн	Лаазалсан үхрийн мах	0.93
Олон орцтой хүнс эсвэл хоолны орцууд	Савласан бэлэн шөл	0.41
Нярай хүүхдийн сүүн тэжээл, үр тарианы зутан	Нярай хүүхдийн хуурай сүүн тэжээл	0.12
Өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүн (үүнээс гаралтай)	Хуурай өндөг	0.61
Боловсруулсан жимс, хүнсний ногоо	Лаазалсан ханборгоцой	0.35
Хүрээлэн буй орчны дээж (хүнс, тэжээлийн үйлдвэрлэл)	Гадаргуугийн арчдас	0.20
Тэжээвэр амьтны хоол, малын тэжээл	Малын тэжээлийн дарш	0.26

## 12 Шинжилгээний тайлан

Шинжилгээний тайланд дараах мэдээллүүдийг заавал оруулна. Үүнд:

- Шинжилгээнд ашигласан аргыг энэ баримт бичигт дурдсан эшлэлийн хамт, тухайлбал ISO 15213-1;
- Хэрэв мэдэгдэж байвал ашигласан дээж авах арга;
- Энэ баримт бичигт заагаагүй, нэмэлт эсвэл мэдээллийн чанартайгаар (мэдээллийн хавсралтыг багтаагаад) хэрэглэсэн бүхий л үйл ажиллагааны нөхцлийг, шинжилгээний үр дүнд нөлөөлж болзошгүй аливаа үйл явцын дэлгэрэнгүй мэдээллийн хамт;
- Энэ баримт бичигт заасан аливаа хазайлтууд;
- Дээжийг бүрэн тодорхойлоход шаардлагатай бүх мэдээлэл;
- Олж авсан шинжилгээний үр дүн;
- Шинжилгээ явуулсан огноо;
- Шаардлагатай үед эсвэл үйлчлүүлэгчийн хүсэлтээр ISO 19036:2019 стандартын 9-р хэсгийн дагуу хийсэн шинжилгээний үр дүнгийн хэмжилтийн тодорхойгүй байдлын тооцоолол;

## 13 Чанарын баталгаажуулалт

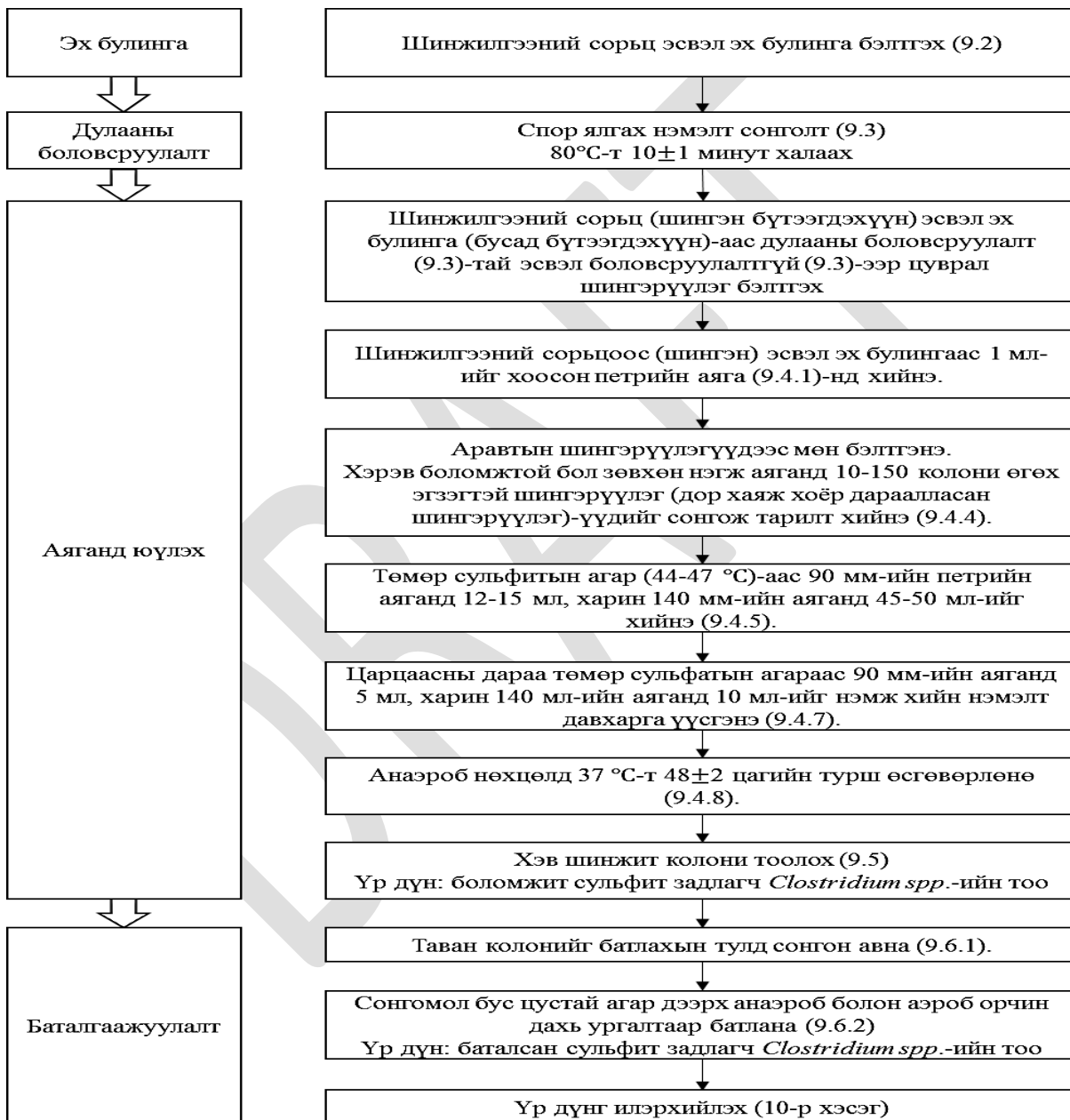
Лаборатори нь энэхүү аргад тохирсон тоног төхөөрөмж, урвалж бодис, аргачлалыг баталгаажуулах чанарын хяналтын системтэй байх ёстой. Эерэг, сөрөг хяналт болон бланкын хэрэглээ нь энэ аргын нэг хэсэг юм. Тэжээлт орчны чанарын хяналтыг Хавсралт В болон ISO 11133 стандартад заасан байдаг.

**А хавсралт**  
(норматив)

**Шинжилгээний явцын бүдүүвч**

Зураг А.1-т хүнс, малын тэжээл, хүрээлэн буй орчин болон үйлдвэрлэлийн анхан шатны дээж дэх сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог колони тоолох аргаар тооцоолох аргын бүдүүвчийг үзүүлэв.

**Зураг А.1 - Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог колони тоолох аргаар тооцоолох аргын бүдүүвч**



## В хавсралт (норматив)

### Тэжээлт орчин, урвалж бодис

#### В.1 Ерөнхий

ISO 11133 стандартын ерөнхий техникийн үзүүлэлтүүд нь энэхүү хавсралтанд дурдсан тэжээлт орчнуудын хяналт болон тэдгээрийг бэлтгэхэд хамаарна. Хэрэв тэжээлт орчин, урвалж бодисыг усгүйжүүлсэн нийлмэл орчин, урвалж бодисоос бэлтгэсэн эсвэл хэрэглэхэд бэлэн тэжээлт орчин, урвалж бодисыг ашигласан бол бэлтгэх, хадгалах нөхцөл, дуусах хугацаа болон ашиглалтын хувьд тухайн үйлдвэрлэгчийн зааварчилгааг дагана.

Энэ хавсралтанд заасан тэжээлт орчны хадгалах хугацааг тодорхой судалгааны үр дүнд тогтоосон болно. Хэрэглэгч үүнийг өөрийн хадгалалтын нөхцөл (ISO 11133 стандартын дагуу)-ийн хувьд баталгаажуулах хэрэгтэй.

Тэжээлт орчны чанарын хяналтын талаар В.4-р хэсэгт тайлбарласан болно.

#### В.2 Төмөр сульфит агар (ТСА)

##### В.2.1 Найрлага

Пептон <sup>a</sup>		15.0 г
Шар буурцгийн ферментийн задрал		5.0 г
Дрожжийн ханд		5.0 г
Натрийн дисульфит (натрийн метабисульфит) усгүй (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	(CAS Registry Number <sup>d</sup> 7681-57-4)	0.5 г
Төмөр (III) аммонийн цитрат (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> FeNO <sub>4</sub> ) <sup>b</sup>	(CAS No. 1185-57-5)	1.0 г
Агар <sup>c</sup>		9.0-18.0 г
Ус		1000 мл

<sup>a</sup> - Жишээлбэл, казеины ферментийн задрал.

<sup>b</sup> - Энэ урвалж нь хамгийн багадаа 150 г/кг төмөр агуулсан байх ёстой.

<sup>c</sup> - Агарын гелийн бат бөх чанараас хамаарна.

<sup>d</sup> - Chemical Abstracts Service (CAS) Registry Number<sup>®</sup> нь Америкийн химийн нийгэмлэгийн (ACS) худалдааны тэмдэг юм. Энэ мэдээллийг хэрэглэгчдэд дөхөм болгох үүднээс өгсөн бөгөөд дурдагдсан бүтээгдэхүүнийг ОУСБ-аас суртачилаагүй болно. Ижил үр дүнд хүргэх боломжтойг баталсан бол үүнтэй ижил төстэй бүтээгдэхүүнийг ашиглаж болно.

##### В.2.2 Бэлтгэх

Нэрмэл усанд дээрх бүх орцуудыг хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана. Хэрэв боломжтой бол ариутгалын дараа тэжээлт орчны рН-ийг 25°C температурт 7.6 ± 0.2 (6.4) байхаар тохируулж өгнө. Автоклав (6.2)-т хийн 121°C температурт 15 минут ариутгана. Тэжээлт орчинг битүү сав эсвэл хуруу шилэнд (6.6) 5°C температурт (6.5) дөрвөн долоо хоног хүртэл хадгална. Хадгалсан тэжээлт орчинг хэрэглэхийн өмнө бүрэн хайлуулаад, 44-47°C (6.10) температур хүртэл хөргөнө.

#### В.3 Колумбия цустай агар (КЦА/СВА)

##### В.3.1 Колумбия цустай агарын суурь

## MNS ISO 15213-1:2024

### В.3.1.1 Найрлага

Амьтны эдийн ферментийн задрал		23.0 г
Уусдаг цардуул (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> )	(CAS No. 9005-84-9)	1.0 г
Натрийн хлорид (NaCl)	(CAS No. 7647-14-5)	5.0 г
Агар <sup>а</sup>		8.0-18.0 г
Ус		1000 мл

<sup>а</sup> - Агарын гелийн бат бөх чанараас хамаарна.

### В.3.1.2 Бэлтгэх

Нэрмэл усанд дээрх бүх орцуудыг хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана.

Хэрэв боломжтой бол ариутгалын дараа тэжээлт орчны рН-ийг 25°C температурт  $7.3 \pm 0.2$  (6.4) байхаар тохируулж өгнө.

Шинжилгээнд тохирох хэмжээгээр авч ашиглахын тулд тохиромжтой багтаамж бүхий колбонд (6.6) тэжээлт орчныг бэлтгэнэ.

Автоклав (6.2)-д хийн 121°C температурт 15 минут ариутгана. Тэжээлт орчинг битүү сав эсвэл хуруу шилэнд (6.6) 5°C температурт (6.5) дөрвөн долоо хоног хүртэл хадгална.

### В.3.2 Фибрингүйжүүлсэн цус (адуу эсвэл хонины цус)

#### В.3.3 Нийлмэл суурь

##### В.3.3.1 Найрлага

Суурь (В.3.1)	100 мл
Фибрингүйжүүлсэн цус (В.3.2)	5 мл

##### В.3.3.2 Бэлтгэх

Урьдчилан 44-47°C (6.10) хүртэл хөргөсөн суурь агар дээр цусыг дээрх заасан хэмжээгээр нэмээд, сайтар холино.

##### В.3.3.3 Хонины цустай агартай аяга бэлтгэх

Бэлтгэсэн тэжээлт орчин (В.3.3.1)-г ариутгасан петрийн аяга (6.9) руу шинжилгээнд тохиромжтой хэмжээгээр хийнэ. Сайтар царцаана. Хэрэглэхийн яг өмнө агартай аягануудыг ISO 11133 стандартад заасны дагуу хатаана. Агартай аягануудыг хатахаас сэргийлж 5°C температурт дөрвөн долоо хоног хүртэл хадгална.

### В.4 Шинжилгээний гүйцэтгэл

Сонгомол байдал болон бүтээмжит чанар тодорхойлолтыг ISO 11133 стандартаас харна уу. Ерөнхийдөө ISO 11133 стандартад заасан хяналтын аргыг дагаж мөрдөнө.

Тэжээлт орчны чанарын баталгаажуулалтын хяналтын тухай Хүснэгт В.1-т харуулсан болно.

## Хүснэгт В.1 – Тэжээлт орчны чанарын баталгаажуулалтын хяналт

Тэжээлт орчин	Функц	Өсгөвөрлөлт	Хяналтын омог	WDCM дугаар <sup>a</sup>	Лавлах тэжээлт орчин	Хяналтын арга	Шалгуур <sup>c,e</sup>
ТСА	Бүтээмж	Анаэроб орчинд 48±2 цаг/37±1°C	<i>Clostridium perfringens</i>	00007 <sup>b</sup> 00080	Анаэроб нөхцөлд тохиромжтой сонгомол бус тэжээлт орчин	Тоон	$P_R \geq 0,5$ (аль хэдийн баталгаажуулсан ТСА-ын багцтай харьцуулбал $P_R \geq 0,7$ )
	Өвөрмөц байдал		<i>Escherichia coli</i> <sup>d</sup>	00013 эсвэл 00012	-	Чанарын	Ургалт (1-ээс 2) Колониуд харлахгүй
КЦА	Баталгаажуулалт	Анаэроб орчинд 20±2 цаг/37±1°C	<i>Clostridium perfringens</i>	00007 <sup>b</sup>	-	Чанарын	Сайн ургана (2) Бета гемолизтай колониуд

<sup>a</sup> – Стандарт өсгөвөрийн каталоогоос бичил биетний өсгөвөрийн сангийн талаарх мэдээллийг <http://www.wfcc.info> цахим хаягнаас авна уу; WDCM: World Data Centre for Microorganisms.

<sup>b</sup> - Наад захын ашиглах омог

<sup>c</sup> -  $P_R$  = бүтээмжийн харьцаа

<sup>d</sup> – Чөлөөт сонголттой өсгөвөр; аль нэгийг нь зайлшгүй ашиглах шаардлагатай.

<sup>e</sup> - Ургалтыг дараах байдлаар ангилна: 0 - ургалтгүй; 1 - багахан ургалттай (хэсэгчлэн дарангуйлсан); 2 - сайн ургалттай (ISO 11133 стандартыг үз)

**С хавсралт**  
(мэдээллийн)

**Аргын гүйцэтгэлийн шинж чанар**

Нийт 7 орны 20 лабораторийг хамруулсан лаборатори хоорондын судалгааг явуулсан. Дараах хүнсний бүтээгдэхүүнүүдийг (заасан хүнсний ангилалыг төлөөлнө) судалгаанд хамруулсан болно: лаазалсан үхрийн мах, савласан бэлэн шөл, нярай хүүхдийн хуурай сүүн тэжээл, хуурай өндөг, лаазалсан ханборгоцой, гадаргуугийн арчдас болон малын тэжээлийн дарш. Хүнсний дээж бүрийг бохирдлын доод түвшинд туршсан болно. Энэхүү баримт бичгийг боловсруулах ажлын хүрээнд уг судалгааг 2019 онд Германы Дармштадт хотын Merck KGaA компани болон FrieslandCampina компани нар зохион байгуулсан болно.

Энэхүү лаборатори хоорондын судалгаанаас олж авсан хүнсний бүтээгдэхүүн болон хүнсний ангилал тус бүрийн гүйцэтгэлийн шинж чанарын утгуудыг ISO 17468 стандартын дагуу тооцоолсон ба Хүснэгт С.1-ээс С.7 хүртэлх хүснэгтэд харуулав.

**Хүснэгт С.1 - Лаазалсан үхрийн махнаас олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн**  
(ангилал: шууд хэрэглэхэд бэлэн эсвэл халааж хэрэглэхэд бэлэн махан бүтээгдэхүүн)

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	13
Дээжийн тоо	26
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	26
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.61
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.091
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.931
Тайлбар 1: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. perfringens</i> (WDCM 00201).	
Тайлбар 2: Лаазалсан үхрийн махны хувьд оролцогчдын үр дүнгийн зөрүү их байсан учраас $s_R$ өндөр байгаа болно.	

**Хүснэгт С.2 – Савласан бэлэн шөлнөөс олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн**  
(ангилал: олон орцтой хүнс эсвэл хоолны орцууд)

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	13
Дээжийн тоо	26
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	26
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.58

**MNS ISO 15213-1:2024**

Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.049
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.41
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. perfringens</i> (WDCM 00201).	

**Хүснэгт С.3 – Нярай хүүхдийн сүүн тэжээлээс олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн**  
(ангилал: нярай хүүхдийн сүүн тэжээл, үр тариан зутан)

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	8
Дээжийн тоо	16
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	16
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.48
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.040
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.12
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. sporogenes</i> (WDCM 00008)	

**Хүснэгт С.4 – Хуурай өндөгнөөс олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн**  
(ангилал: өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүн (үүнээс гаралтай))

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	7
Дээжийн тоо	14
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	14
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.52
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.11
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.61
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. sporogenes</i> (WDCM 00008)	

**Хүснэгт С.5 – Лаазалсан ханборгоцойноос олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн**  
(ангилал: боловсруулсан жимс, хүнсний ногоо)

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	13

**MNS ISO 15213-1:2024**

Дээжийн тоо	26
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	26
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.60
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.060
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.35
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. bifermentans</i> (WDCM 00079)	

**Хүснэгт С.6 – Гадаргуугийн арчдаснаас олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн  
(ангилал: хүрээлэн буй орчны дээж (хүнс, тэжээлийн үйлдвэрлэл))**

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	14
Дээжийн тоо	28
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	28
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.60
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.054
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.20
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. bifermentans</i> (WDCM 00079)	

**Хүснэгт С.7 – Малын тэжээлийн даршнаас олж авсан мэдээллийн дүн шинжилгээний үр дүн  
(ангилал: тэжээвэр амьтны хоол, малын тэжээл)**

Үзүүлэлт	Доод түвшин
Оролцогчын тоо	20
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн оролцогчдын тоо	13
Дээжийн тоо	26
Мэдээллийг үнэлсэний дараа авч үлдсэн дээжийн үр дүнгийн тоо	26
Дундаж утга $\Sigma a$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.61
Лаборатори хоорондын таарцын стандарт хазайлт, $s_r$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.048
Лаборатори хоорондын тохирцын стандарт хазайлт, $s_R$ ( $\log_{10}$ КҮН/г)	0.26
Тайлбар: Тарилтад ашигласан омог: <i>C. perfringens</i> (WDCM 00201)	



**D хавсралт**

(мэдээллийн)

**Малын тэжээл дэх сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог тоолох тусгай протокол****Д.1 Ерөнхий**

Энэ хавсралтанд сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог тоолох малын тэжээлээс эх булинга бэлтгэх тусгай протоколыг тайлбарласан болно. Малын тэжээл нь үр дүнд нөлөөлж болзошгүй зэс зэрэг нэмэлт бодисуудыг агуулж байж болзошгүй. Энэ асуудлыг эх булинга бэлтгэхэд зориулсан өөр харьцаа болон тусгай шингэрүүлэгч ашиглан шийдвэрлэх боломжтой юм.

Шингэрүүлэгчийн хяналтын тухай Хавсралт Д.6-т тайлбарласан болно.

**Д.2 Зарчим**

Полиоксиэтилен-80-сорбитан монолаурат (PSM) болон пептон агуулсан буфер уусмалын тусламжтай дээжнээс нэгэн төрлийн эх булинга бэлтгэнэ. Дээжинд маш их хэмжээний зэс байгаа тохиолдолд эх булинга бэлтгэх явцад хелатжуулагч бодис нэмэх хэрэгтэй.

**Д.3 Тэжээлт орчин, урвалж бодис**

ISO 11133 стандартын ерөнхий техникийн үзүүлэлтүүд нь энэхүү хавсралтанд дурдсан тэжээлт орчнуудын хяналт болон тэдгээрийг бэлтгэхэд хамаарна. Хэрэв тэжээлт орчин, урвалж бодисыг усгүйжүүлсэн нийлмэл орчин, урвалж бодисоос бэлтгэсэн эсвэл хэрэглэхэд бэлэн тэжээлт орчин, урвалж бодисыг ашигласан бол бэлтгэх, хадгалах нөхцөл, дуусах хугацаа болон ашиглалтын хувьд тухайн үйлдвэрлэгчийн зааварчилгааг дагана.

Энэ хавсралтанд заасан тэжээлт орчны хадгалах хугацааг тодорхой судалгааны үр дүнд тогтоосон болно. Хэрэглэгч үүнийг өөрийн хадгалалтын нөхцөл (ISO 11133 стандартад заасны дагуу)-ийн хувьд баталгаажуулах хэрэгтэй.

**Д.3.1 Малын тэжээлийн эх булинга бэлтгэх шингэрүүлэгч уусмал****Д.3.1.1 Найрлага**

Амьтны эдийн ферментийн задрал		1.0 г
Натрийн дигидроген фосфат-дигидрат ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ )	(CAS No. 13472-35-0)	0.58 г
Натрийн гидроген фосфат-дигидрат ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ )	(CAS No. 7558-79-4)	2.5 г
Натрийн хлорид ( $\text{NaCl}$ )		4.0 г
Полиоксиэтилен-80-сорбитан монолаурат ( $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_8\text{P}$ )	(CAS No. 9005-65-6)	0.3г
Ус		1000 мл

**Д.3.1.2 Бэлтгэх**

Нэрмэл усанд дээрх бүх орцуудыг хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана.

Хэрэв боломжтой бол ариутгалын дараа тэжээлт орчны pH-ийг 25°C температурт  $7.0 \pm 0.2$  (6.4) байхаар тохируулж өгнө. Автоклав (6.2)-т хийн 121°C температурт 15 минут ариутгана.

## MNS ISO 15213-1:2024

Тэжээлт орчинг битүү сав эсвэл хуруу шилэнд (6.6) 5°C температурт (6.5) дөрвөн долоо хоног хүртэл хадгална.

### Д.3.2 Малын тэжээлийн шингэрүүлэгч уусмал

#### Д.3.2.1 Найрлага

Натрийн дигидроген фосфат-дигидрат (CAS No. 13472-35-0) ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ )	0.58 г
Натрийн гидроген фосфат-дигидрат (CAS No. 7558-79-4) ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ )	2.5 г
Натрийн хлорид ( $\text{NaCl}$ )	4.0 г
Ус	1000 мл

#### Д.3.2.2 Бэлтгэх

Нэрмэл усанд дээрх бүх орцуудыг хийж, шаардлагатай бол халааж уусгана.

Хэрэв боломжтой бол ариутгалын дараа тэжээлт орчны pH-ийг 25°C температурт  $7.0 \pm 0.2$  (6.4) байхаар тохируулж өгнө. Автоклав (6.2)-т хийн 121°C температурт 15 минут ариутгана.

Тэжээлт орчинг битүү сав эсвэл хуруу шилэнд (6.6) 5°C температурт (6.5) дөрвөн долоо хоног хүртэл хадгална.

### Д.3.3 Полиоксиэтилен-80-сорбитан монолаурат (PSM) (CAS No 9005-65-6)

#### Д.4 Тоног төхөөрөмж, хэрэглэх материал

Тохиромжтой техникийн үзүүлэлттэй нэг удаагийн багаж хэрэгслүүд нь дахин ашигладаг шилэн сав суулгыг орлуулж болох боломжит нэг хувилбар юм. Микробиологийн лабораторийн ердийн тоног төхөөрөмж (ISO 7218-г үз), ялангуяа дараах зүйлсийг ашиглана. Үүнд:

**Д.4.1 Ариутгасан хадгалах сав:** малын тэжээлийн эх булингийн шингэрүүлэгч уусмал болон малын тэжээлийн шингэрүүлэгч уусмалд зориулсан, тухайлбал, 500 мл, 1000 мл, болон 2500 мл-ийн нэрлэсэн эзэлхүүнтэй, таг болон бөглөөтэй колбо эсвэл шилэн сав.

**Д.4.2 Ариутгасан лабораторийн шилэн сав,** 500 мл болон 1000 мл-ийн нэрлэсэн эзэлхүүнтэй, таглаа эсвэл iso-жийрэгтэй.

**Д.4.3 Ариутгасан шилэн сав эсвэл колбо,** 50 мл-ээс багагүй багтаамжтай, тохирох таг эсвэл бөглөөтэй.

**Д.4.4 Сэгсрэгч төхөөрөмж,** 120-180 эрг/мин хурдны тохируулгатай, хэвтээ сэгсэрч байвал зохимжтой.

**Д.4.5 Дээж бутлагч,** ариутгаса

н ууттай (хамгийн багадаа 400 мл-ийн багтаамжтай)

**Д.4.6 Ариутгасан хуваарьтай серологийн пипетка (5 мл),** өргөн хошуутай, бүрэн гадагшуулах зориулалттай.

#### Д.5 Шинжилгээний явц

##### Д.5.1 Шинжилгээний сорьц болон эх булинга бэлтгэх

## MNS ISO 15213-1:2024

Санал болгох сорьцын хэмжээ болон малын тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэлтийн эзэлхүүн (Д.3.1)-ийг Хүснэгт Д.1-ийн А хэсэгт харуулсан болно. Эх булингийг Хүснэгт Д.1-ийн Б хэсэгт үзүүлсэн зөвлөмжийн дагуу бэлтгэнэ.

### Хүснэгт Д.1 - Санал болгох сорьцын хэмжээ, малын тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэлтийн эзэлхүүн болон үйл явц

А хэсэг Төрөл бүрийн дээжнээс эх булинга бэлтгэхэд хэрэглэх ашиглахад бэлэн анхдагч шингэрүүлэгч уусмалын эзэлхүүн болон санал болгох сорьцын тоо хэмжээ				Б хэсэг Санал болгох эх булинга бэлтгэх аргачлал болон шингэрүүлэлтийн зэрэг	
Дээжийн төрөл	Үл зөвшөөрөх зэсийн агууламж мг/кг	Дээжийн хэмжээ г эсвэл мл	Тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэгч (Д.3.1) мл	Эх булингийн шингэрүүлэлтийн зэрэг	Эх булинга бэлтгэх
Нэмэлтүд	Хамаарахгүй	4	196	1:50	Сэгсрэгч төхөөрөмж (20 мин) эсвэл дээж бутлагч (5 мин)
Урьдчилсан бэлдэц, эрдэс тэжээл	≥400	20	380	1:20	
Багсармал тэжээл	≥400		380		
Өвс, сүрэл, дарш	Хамаарахгүй	20	380	1:20	
Дан тэжээл	Хамаарахгүй	20	180	1:10	
Сүү орлуулагч	Хамаарахгүй				
Нийлмэл малын тэжээл	≥200				
Шингэн тэжээл	Хамаарахгүй	20	180	1:10	
Зуурмаган болон тосорхог тэжээл	≥400	5	90 + 5г PSM	1:20	Дээж бутлагч (5 мин)

#### Д.5.2 Сэгсрэх арга

Санал болгосон хэмжээ (Хүснэгт Д.1-ийн А хэсэг)-ээр дээжийг жинлэн авч шилэн саванд (Д.4.2) хийнэ. Тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэгч уусмал (Д.3.1)-ыг нэмээд 1 минутын турш гараар хүчтэй сэгсрэнэ. Эх булингийг сэгсрэгч төхөөрөмж (Д.4.4) дээр байрлуулан 20 минутын турш байлгана.

## MNS ISO 15213-1:2024

### Д.5.3 Дээж бутлагчаар бэлтгэх арга

Санал болгосон хэмжээ (Хүснэгт Д.1-ийн А хэсэг)-ээр дээжийг жинлэн авч, шаардлагатай бол PSM-ийг хамт дээж бутлагчийн уутанд (Д.4.5) хийнэ. Тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэгч уусмал (Д.3.1)-ыг нэмээд дээж бутлагч (Д.4.5)-аар 5 минутын турш нэгэн төрлийн болгоно.

### Д.5.4 Эхний шингэрүүлэлт

Бэлтгэсэн эх булинга (Д.5.2 эсвэл Д.5.3)-аас Хүснэгт Д.2-т заасны дагуу тэжээлийн шингэрүүлэгч уусмал (Д.3.2)-ийг ашиглан эхний шингэрүүлэг (шингэрүүлэлтийн зэрэг 1:100 болно)-ийг бэлтгэнэ. Эх булингийг пипеткээр соруулахад боломжтой болтол нэгэн төрлийн болгоно. Шаардлагатай хэмжээний эх булинга (Д.5.2 эсвэл Д.5.3)-ийг пипетка (Д.4.6) ашиглан сав (Д.4.2) руу хийнэ.

#### Хүснэгт Д.2 – Эхний шингэрүүлэлт бэлтгэхэд тохиромжтой хэмжээ

Дээжийн төрөл	Нэмэлтүүд	Урьдчилсан бэлдэц, эрдэст тэжээл, багсармал, тосорхог эсвэл зуурмаган тэжээл, дарш, өвс, сүрэл	Бусад хатуу болон шингэн тэжээл
Бэлтгэсэн эх булинга	Д.5.2 эсвэл Д.5.3		
Эх булингийн шингэрүүлэлтийн зэрэг	1:50	1:20	1:10
Эх булингийн эзэлхүүн (Д.5.2 эсвэл Д.5.3)	5 мл	5 мл	5 мл
+ тэжээлийн шингэрүүлэлтийн уусмал	+ 5 мл	+ 20 мл	+ 45 мл
Эхний шингэрүүлэлтийн шингэрүүлгийн зэрэг (Д.5.2 эсвэл Д.5.3)	1:100 (10 <sup>2</sup> )		

Эхний шингэрүүлэлтээс цааш Д.5.4-т заасны дагуу ариутгасан колбо эсвэл сав ашиглан цуврал шингэрүүлэлтүүд хийнэ. Сульфит задлагч *Clostridium spp.*-ийн тоог энэхүү баримт бичгийн үндсэн хэсэг заасан арга (9.3-аас эхлэн)-ын дагуу тоолно.

### Д.6 Шинжилгээний хяналт

Сонгомол байдал болон бүтээмжит байдлын тодорхойлолтыг ISO 11133 стандартаас харна уу. Ерөнхийдөө ISO 11133 стандартад заасан хяналтын аргыг дагаж мөрдөнө.

Малын тэжээлийн шингэрүүлэлтийн чанарын баталгаажуулалтын хяналтын тухай Хүснэгт Д.3-т үзүүлсэн болно.

**Хүснэгт Д.3 – Малын тэжээлийн шингэрүүлэлтийн чанарын  
баталгаажуулалтын хяналт**

Тэжээлт орчин	Функц	Өсгөвөрлөлт	Хяналтын омог	WDC М дугаар <sup>a</sup>	Хяналтын арга	Шалгуур
Тэжээлийн анхдагч шингэрүүлэгч уусмал, тэжээлийн шингэрүүлэлтийн уусмал	Шингэрүүлэлт	45 мин – 1 цаг хүртэл / 20-25°C	<i>Clostridium perfringens</i>	00007 <sup>b</sup>	Тоон	Анаэроб бактериудад тохиромжтой сонгомол бус тэжээл дээрх ±30% колони/эсвэл (анхдагч тооны ±30%) хүртэлх
<p><sup>a</sup> - Стандарт өсгөвөрийн каталоогоос бичил биетний өсгөвөрийн сангийн талаарх мэдээллийг <a href="http://www.wfcc.info">http://www.wfcc.info</a> цахим хаягнаас авна уу; WDCM: World Data Centre for Microorganisms.</p> <p><sup>b</sup> - Наад захын ашиглах омог</p>						

**Ном зүй**

1. ISO 707, *Milk and milk products — Guidance on sampling*
2. ISO 13307, *Microbiology of food and animal feed — Primary production stage — Sampling techniques*
3. ISO 15213-2,<sup>1)</sup> *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Clostridium spp. — Part 2: Enumeration of Clostridium perfringens by colony-count technique*
4. ISO/TS 15213-3,<sup>2)</sup> *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Clostridium spp. — Part 3: Detection of Clostridium perfringens*
5. ISO 16140-4, *Microbiology of the food chain — Method validation — Part 4: Protocol for method validation in a single laboratory*
6. ISO 16140-6, *Microbiology of the food chain — Method validation — Part 6: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods for microbiological confirmation and typing procedures*
7. ISO 17468, *Microbiology of the food chain — Technical requirements and guidance on establishment or revision of a standardized reference method*
8. ISO 17604, *Microbiology of the food chain — Carcass sampling for microbiological analysis*
9. ISO/TS 17728, *Microbiology of the food chain — Sampling techniques for microbiological analysis of food and feed samples*
10. ISO 18593, *Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling*
11. VDLUFA 28.3.2, *Futtermitteluntersuchung – Bestimmung von Sulfitreduzierenden Clostridien*
- 12.