

ČESKÁ TECHNICKÁ NORMA

ICS 07.100.30

**2022**

**Červen**

Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) -

Část 2: Technika s použitím agarové půdy s králičí plazmou a fibrinogenem

ČSN  
EN ISO 6888-2

56 0089

idt ISO 6888-2:2021

Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -  
Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) -  
Partie 2: Méthode utilisant le milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) -  
Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma-Fibrinogen-Agar

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 6888-2:2021. Překlad byl zajištěn Českou agenturou pro standardizaci. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN ISO 6888-2:2021. It was translated by the Czech Standardization Agency. It has the same status as the official version.

Nahrazení předchozích norem

Tuto normou se nahrazuje ČSN EN ISO 6888-2 (56 0089) z prosince 1999.

Národní předmluva

Změny proti předchozí normě

Hlavní změny v porovnání s předcházejícím vydáním jsou uvedeny v předmluvě.

Informace o citovaných dokumentech

ISO 6887 (soubor) zaveden v ČSN EN ISO 6887 (soubor) (56 0102) Mikrobiologie potravinového řetězce - Příprava analytických vzorků, výchozí suspenze a desetinásobných ředění pro mikrobiologické zkoušení

ISO 7218 zavedena v ČSN EN ISO 7218 (56 0103) Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné požadavky

a doporučení pro mikrobiologické zkoušení

ISO 11133 zavedena v ČSN EN ISO 11133 (56 0099) Mikrobiologie potravin, krmiv a vody -  
Příprava, výroba,  
uchovávání a zkoušení výkonnosti kultivačních půd

Souvisící ČSN

ČSN EN ISO 707 (57 0003) Mléko a mléčné výrobky - Návod pro odběr vzorků

ČSN EN ISO 6888-1 (56 0089) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) - Část 1: Technika s použitím agarové půdy dle Baird-Parkera

ČSN EN ISO 6888-3 (56 0089) Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) - Část 3: Průkaz a stanovení nízkých počtů technikou MPN

ČSN EN ISO 13307 (56 0101) Mikrobiologie potravin a krmiv - Prvovýroba - Techniky odběru vzorků

ČSN EN ISO 17468 (56 0104) Mikrobiologie potravinového řetězce - Technické požadavky a návod pro zavedení nebo revizi normalizované referenční metody

ČSN EN ISO 17604 (56 0105) Mikrobiologie potravinového řetězce - Vzorkování těl poražených zvířat pro mikrobiologické vyšetření

ČSN P CEN ISO/TS 17728 (56 0100) Mikrobiologie potravinového řetězce - Techniky odběru vzorků pro mikrobiologické zkoušení potravin a krmiv

ČSN EN ISO 18593 (56 0626) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchů

Upozornění na národní poznámky

Do této normy byly k článkům 11.2 a 11.3 doplněny národní poznámky.

Vypracování normy

Zpracovatel: QUALIMENT Praha, komise České potravinářské společnosti, z.s., IČO 539525, MVDr. Tomáš Brychta

Technická normalizační komise: TNK 151 Potraviny

Pracovník České agentury pro standardizaci: Ing. Radmila Foretová

Česká agentura pro standardizaci je státní příspěvková organizace zřízená Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví na základě ustanovení § 5 odst. 2 zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů

ICS 07.100.30  
6888-2:1999/A1:2003

Nahrazuje EN ISO 6888-2:1999, EN ISO

Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) -  
Část 2: Technika s použitím agarové půdy s králičí plazmou a fibrinogenem  
(ISO 6888-2:2021)

Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -  
Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium  
(ISO 6888-2:2021)

Microbiologie de la chaîne alimentaire -  
Méthode  
horizontale pour le dénombrement  
des staphylocoques à coagulase positive  
(*Staphylococcus aureus* et autres espèces) -  
Partie 2: Méthode utilisant le milieu gélosé  
au plasma de lapin et au fibrinogène  
(ISO 6888-2:2021)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette -  
Horizontales  
Verfahren für die Zählung von koagulase-  
positiven  
Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und  
andere  
Spezies) -  
Teil 2: Verfahren mit  
Kaninchenplasma/Fibrinogen-Agar  
(ISO 6888-2:2021)

Tato evropská norma byla schválena CEN dne 2021-04-27.

Členové CEN jsou povinni splnit vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací uděluje status národní normy.

Aktualizované seznamy a bibliografické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídícím centru CEN-CENELEC nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídícímu centru CEN-CENELEC, má stejný status jako oficiální verze.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa,

Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Republiky Severní Makedonie, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédksa, Švýcarska a Turecka.



**Evropský výbor pro normalizaci  
European Committee for Standardization  
Comité Européen de Normalisation  
Europäisches Komitee für Normung**

**Řídící centrum CEN-CENELEC: Rue de la Science 23, B-1040 Brusel**

© 2021 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoliv formě a jakýmkoliv prostředky

ISO 6888-2:2021 E

jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

Ref. č. EN

# Evropská předmluva

Tento dokument (EN ISO 6888-2:2021) vypracovala technická komise ISO/TC 34 *Potravinářské výrobky* ve spolupráci s technickou komisí CEN/TC 463 *Mikrobiologie potravinového řetězce*, jejíž sekretariát zajišťuje AFNOR.

Této evropské normě je nutno nejpozději do března 2022 udělit status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do března 2022.

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. CEN nelze činit odpovědným za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv.

Tento dokument nahrazuje EN ISO 6888-2:1999.

Jakákoli zpětná vazba a otázky týkající se tohoto dokumentu mají být adresovány národnímu normalizačnímu orgánu uživatele. Úplný seznam těchto orgánů lze nalézt na webových stránkách CEN.

Podle vnitřních předpisů CEN-CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační organizace následujících zemí: Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Republiky Severní Makedonie, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédská, Švýcarska a Turecka.

## Oznámení o schválení

Text ISO 6888-2:2021 byl schválen CEN jako EN ISO 6888-2:2021 bez jakýchkoliv modifikací.

## Obsah

	Strana
Předmluva.....	
.....	6
Úvod.....	
.....	7
<b>1..... Předmět normy.....</b>	
.....	8
<b>2..... Citované dokumenty.....</b>	
.....	8
<b>3..... Termíny a definice.....</b>	
.....	8
<b>4..... Podstata zkoušky.....</b>	
.....	9
<b>4.1..... Obecně.....</b>	
.....	9
<b>4.2..... Inkubace.....</b>	
.....	9
<b>4.3..... Stanovení počtu.....</b>	
.....	9
<b>5..... Kultivační půdy a činidla.....</b>	
.....	9
<b>6..... Vybavení a spotřební materiály.....</b>	
.....	9
<b>7..... Vzorkování.....</b>	
.....	10
<b>8..... Příprava zkušebního vzorku.....</b>	
.....	10

<b>9..... Postup zkoušky (viz obrázek</b>	
A.1).....	10
<b>9.1..... Zkušební podíl, výchozí suspenze</b>	
a ředění.....	10
<b>9.2..... Inokulace</b>	
a inkubace.....	
..... 10	
<b>9.3..... Počítání</b>	
kolonií.....	
..... 11	
<b>10..... Vyjádření</b>	
výsledků.....	
..... 11	
<b>11..... Výkonnostní charakteristiky</b>	
metody.....	11
<b>11.1.... Mezilaboratorní</b>	
studie.....	
..... 11	
<b>11.2.... Mez</b>	
opakovatelnosti.....	
..... 11	
<b>11.3.... Mez</b>	
reprodukce.....	
..... 12	
<b>12..... Protokol</b>	
o zkoušce.....	
..... 12	
<b>13..... Zajištění</b>	
kvality.....	
..... 13	
<b>Příloha A (normativní) Vývojový diagram postupu</b>	
zkoušky.....	14
<b>Příloha B (normativní) Kultivační půdy</b>	
a činidla.....	15
<b>Příloha C (informativní) Výsledky mezilaboratorní</b>	
studie.....	18
<b>Bibliografie.....</b>	
..... 20	



# Předmluva

ISO (Mezinárodní organizace pro normalizaci) je celosvětová federace národních normalizačních orgánů (členů ISO). Mezinárodní normy obvykle vypracovávají technické komise ISO. Každý člen ISO, který se zajímá o předmět, pro který byla vytvořena technická komise, má právo být v této technické komisi zastoupen. Práce se zúčastňují také vládní i nevládní mezinárodní organizace, s nimiž ISO navázala pracovní styk. ISO úzce spolupracuje s Mezinárodní elektrotechnickou komisí (IEC) ve všech záležitostech normalizace v elektrotechnice.

Postupy použité při tvorbě tohoto dokumentu a postupy určené pro jeho další udržování jsou popsány ve směrnících ISO/IEC, část 1. Zejména se má věnovat pozornost rozdílným schvalovacím kritériím potřebným pro různé druhy dokumentů ISO. Tento dokument byl vypracován v souladu s redakčními pravidly uvedenými ve směrnících ISO/IEC, část 2 (viz [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. ISO nelze činit odpovědnou za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv. Podrobnosti o jakýchkoliv patentových právech identifikovaných během přípravy tohoto dokumentu budou uvedeny v úvodu a/nebo v seznamu patentových prohlášení obdržených ISO (viz [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Jakýkoliv obchodní název použitý v tomto dokumentu se uvádí jako informace pro usnadnění práce uživatelů a neznamená schválení.

Vysvětlení nezávazného charakteru technických norem, významu specifických termínů a výrazů ISO, které se vztaží k posuzování shody, jakož i informace o tom, jak ISO dodržuje principy Světové obchodní organizace (WTO) týkající se technických překážek obchodu (TBT), jsou uvedeny na tomto odkazu URL:  
[www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Tento dokument vypracovala technická komise ISO/TC 34 *Potravinářské výrobky*, subkomise SC 9 *Mikrobiologie* ve spolupráci s technickou komisí Evropského výboru pro normalizaci (CEN) CEN/TC 463 *Mikrobiologie potravinového řetězce* na základě Dohody o technické spolupráci mezi ISO a CEN (Vídeňská dohoda).

Toto druhé vydání zrušuje a nahrazuje první vydání (ISO 6888-2:1999), které bylo technicky zrevidováno. Zahrnuje také změnu ISO 6888-2:1999/Amd.1:2003. Hlavní změny v porovnání s předcházejícím vydáním jsou následující:

- název byl změněn tak, aby se vztahoval k „potravinovému řetězci“;
- status tohoto dokumentu a ISO 6888-1 byl vyjasněn;
- dokument byl sjednocen s ISO 7218:2007, tj. nalití rozpuštěné agarové půdy při 44 °C až 47 °C;
- všude, kde to bylo vhodné, „35 °C nebo 37 °C“ bylo změněno na „34 °C až 38 °C“;
- všude, kde to bylo vhodné, inkubační doba byla změněna z „18 h až 24 h“ na „24 h ± 2 h“;
- byly přidány požadavky na využití ISO 11133;
- všechny dostupné normy související s technikami vzorkování byly zaktualizovány;

- vývojový diagram postupu zkoušky v příloze A byl zaktualizován;
- do přílohy B byla přesunuta a přidána kultivační média a činidla se zkoušením výkonnosti;
- bylo přidáno zkoušení výkonnosti agarové půdy s králičí plazmou a fibrinogenem (RPFA);
- byly zaktualizovány výsledky mezilaboratorní studie (z ISO 6888-2:1999/Amd1:2003, informace o preciznosti);
- bibliografie byla zaktualizována.

Seznam všech částí souboru ISO 6888 lze nalézt na webových stránkách ISO.

Jakákoli zpětná vazba nebo otázky týkající se tohoto dokumentu mají být adresovány národnímu normalizačnímu orgánu uživatele. Úplný seznam těchto orgánů lze nalézt na adrese [www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html).

# Úvod

ISO 6888-1, tento dokument a ISO 6888-3 popisují tři horizontální metody pro detekci a stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků, mezi nimiž se setkáváme s enterotoxinogenními kmeny. Zabývá se zejména *Staphylococcus aureus*, ale také *S. intermedius* a některými kmeny *S. hyicus*.

Pro účely tohoto dokumentu je charakterizace stafylokoků založena na pozitivní koagulázové reakci, ale je známo, že některé kmeny *Staphylococcus aureus* mají koagulázovou reakci slabě pozitivní. Tyto zmíněné kmeny mohou být zaměněny s jinými bakteriemi, ale lze je odlišit pomocí dalších zkoušek, které nejsou zahrnuty v tomto dokumentu, jako je test citlivosti k lyzostafinu, a produkce hemolyzinu, termostabilní nukleázy a kyseliny z manitolu (viz ISO 7218 a odkaz [13]).

Hlavní technické změny vyjmenované v předmluvě uvedené v tomto dokumentu jsou při srovnání s předchozím vydáním považovány za méně významné (viz ISO 17468). Mají malý dopad na výkonnostní charakteristiky této metody.

Výsledky mezilaboratorní studie a zkoušené vzorky jsou popsané v příloze C.

**UPOZORNĚNÍ - Pro zajištění ochrany zdraví laboratorních pracovníků je nezbytné, aby zkoušky k průkazu stafylokoků byly prováděny pouze ve vhodně vybavených laboratořích pod dohledem zkušeného mikrobiologa a aby byla věnována velká péče likvidaci všech inkubovaných materiálů. Osoby, které používají tento dokument, mají být obeznámeny se zásadami správné laboratorní praxe. Tento dokument adresně neupozorňuje na všechny bezpečnostní aspekty, pokud existují, spojené s jeho používáním. Je odpovědností uživatele tohoto dokumentu, aby stanovil příslušné postupy v oblasti bezpečnosti a ochrany zdraví.**

## 1 Předmět normy

Tento dokument specifikuje horizontální metodu pro stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků založenou na počítání kolonií narostlých na pevném médiu (agarová půda s králičí plazmou a fibrinogenem) po aerobní kultivaci při 34 °C až 38 °C (viz odkaz [10]).

Tento dokument je použitelný pro

- výrobky určené pro lidskou spotřebu;
- výrobky určené ke krmení zvířat;
- vzorky prostředí v místech výroby potravin a krmiv a zacházení s nimi;
- vzorky z pruvovýroby.

Tato horizontální metoda byla původně vyvinuta pro vyšetřování veškerých vzorků patřících do potravinového řetězce.

Kvůli velké rozmanitosti výrobků v potravinovém řetězci je možné, že tato horizontální metoda není vhodná ve všech detailech pro všechny výrobky. Předpokládá se však, že požadované modifikace jsou minimalizovány tak, aby nevedly k významné odchylce od této horizontální metody.

Na základě informací dostupných v době vydání tohoto dokumentu, tato metoda není považována za (plně) vhodnou pro vyšetřování fermentovaných výrobků nebo jiných výrobků obsahujících kulturní mikroflóru založenou na bakteriích rodu *Staphylococcus* (např. *S. xylosus*) (jako třeba sýry vyrobené ze syrového mléka a některé výrobky ze syrového masa), u kterých je pravděpodobné, že jsou kontaminované:

- stafylokoky tvořícími atypické kolonie na půdě podle Baird-Parkera;
- doprovodnou mikroflórou, která může zakrývat kolonie, které jsou hledány.

Nicméně jak tomuto dokumentu, tak ISO 6888-1 je dán rovnocenný status.

**Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.**