ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 52830— 2007 (ИСО 7251:2005)

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ

Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа

ISO 7251:2005
Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique (MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2008

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН ОАО «ВНИИС» совместно с ГУ «Ярославская государственная испытательная лаборатория молочного сырья и продукции» на основе аутентичного перевода стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 декабря 2007 г. № 457-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ИСО 7251:2005 «Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества презумтивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа» (ISO 7251:2005 «Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique»). При этом дополнительные слова, фразы, абзацы, включенные в текст стандарта для учета потребностей национальной экономики Российской Федерации и особенностей российской национальной стандартизации, выделены курсивом.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5—2004 (подраздел 3.5)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2009 г.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2008
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2009

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины и определения . . . 2
4 Принцип *метода* . . . 2
4.1 Метод *качественного определения* . . . 2
4.2 Метод количественного определения . . . 2
5 Разведение, питательные среды и реактивы . . . 3
6 Оборудование и лабораторная посуда . . . 4
7 Отбор проб . . . 4
8 Подготовка проб . . . 4
9 *Проведение определения* . . . 5
9.1 Метод *качественного определения* . . . 5
9.2 Метод количественного определения . . . 5
10 *Результаты определения* . . . 7
10.1 Метод *качественного определения* . . . 7
10.2 Метод *количественного определения* . . . 7
11 Протокол испытания . . . 7
Приложение А (обязательное) Расчет наиболее вероятного числа (НВЧ) . . . 8
Библиография . . . 11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ

Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий *Escherichia coli*. Метод наиболее вероятного числа

Microbiology of food and feeding stuffs.
Method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*. Most probable number technique

Дата введения — 2009—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий *Escherichia coli* методом культивирования в жидких питательных средах и расчета наиболее вероятного числа (НВЧ) после инкубации при *температуре* 37 °С и 44 °С.

Настоящий стандарт применяется при исследовании продуктов, предназначенных для употребления в пищу человеком и для кормления животных, а также образцов окружающей среды в местах производства и оборота пищевых продуктов.

Примечание — Некоторые патогенные штаммы Escherichia coli не растут при температуре 44 °С.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 51426—99 (ИСО 6887—83) Микробиология. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований

ГОСТ Р 51446—99 (ИСО 7218—96) Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований

ГОСТ Р 51448-99 (ИСО 3100-2—88) Мясо и мясные продукты. Методы подготовки проб для микробиологических исследований

ГОСТ 26668—85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **презумптивная *Escherichia coli*** (presumptive *Escherichia coli*): Бактерия, ферментирующая при *температуре* 44 °С лактозу с образованием газа и образующая индол из триптофана при проведении опыта в соответствии с методом, указанным в настоящем стандарте.

3.2 **количество презумптивных бактерий *Escherichia coli*:** Наиболее вероятное число E.coli в $см^3$ или г образца при условии проведения опыта в соответствии с методом, указанным в настоящем стандарте.

4 Принцип *метода*

4.1 Метод *качественного определения*

4.1.1 Определенное количество первичного разведения образца вносят в пробирку с жидкой селективной обогатительной средой.

4.1.2 Пробирку инкубируют до 48 ч при *температуре* 37 °С. Для обнаружения газообразования пробирку проверяют через 24 и 48 ч инкубации.

4.1.3 При обнаружении затемнения, образования хлопьев или вспенивания среды проводят пересев в пробирку с жидкой селективной средой (ЕС-бульон).

4.1.4 После пересева согласно 4.1.3 пробирку инкубируют до 48 ч при *температуре* 44 °С. Для обнаружения газообразования пробирку проверяют через 24 и 48 ч инкубации.

4.1.5 При обнаружении вспенивания среды в пробирке после инкубации согласно 4.1.4 проводят пересев в пробирку с безиндольной пептонной водой.

4.1.6 После пересева согласно 4.1.5 пробирку инкубируют до 48 ч при *температуре* 44 °С. Пробирку проверяют для обнаружения образования индола при распаде триптофана в составе пептона.

4.1.7 Пробирки с затемнением, образованием хлопьев или газообразованием в жидкой селективной обогатительной среде (см. 4.1.1), при пересеве из которых в ЕС-бульон обнаружилось газообразование и образование индола в пептонной воде при *температуре* 44 °С, расцениваются как содержащие презумптивную *Escherichia coli*. Результат выражается как «презумптивная *Escherichia coli* обнаружена» или «презумптивная *Escherichia coli* не обнаружена (отсутствует)» в *граммах* или $см^3$ продукта.

4.2 Метод количественного определения

4.2.1 Определенное количество первичного разведения образца вносят в три пробирки с жидкой селективной обогатительной средой двойной концентрации.

4.2.2 Определенное количество первичного разведения образца вносят в три пробирки с жидкой обогатительной средой одинарной концентрации. Затем в аналогичных условиях определенные количества десятикратного разведения образца вносят в другие три пробирки с жидкой обогатительной средой одинарной концентрации.

4.2.3 Пробирки со средами двойной и одинарной концентрации инкубируют до 48 ч при *температуре* 37 °С. После 24 и 48 ч инкубации пробирки исследуют для обнаружения газообразования.

4.2.4 Из каждой пробирки со средой двойной концентрации, в которой обнаружено затемнение, образование хлопьев или вспенивание среды, а также из каждой пробирки со средой одинарной концентрации, в которой обнаружено вспенивание, *осуществляют* пересев в пробирку с жидкой селективной средой (ЕС-бульон).

4.2.5 После пересева согласно 4.2.4 пробирки инкубируют до 48 ч при *температуре* 44 °С. Для обнаружения газообразования пробирки проверяют через 24 и 48 ч инкубации.

4.2.6 При обнаружении вспенивания среды в пробирках после инкубации согласно 4.2.5 проводят пересев из них в пробирки с безиндольной пептонной водой.

4.2.7 После пересева согласно 4.2.6 пробирку инкубируют до 48 ч при *температуре* 44 °С. Пробирки проверяют для обнаружения образования индола при распаде триптофана в составе пептона.

4.2.8 Наиболее вероятное число *Escherichia coli* рассчитывают с помощью таблицы НВЧ (приложение А), в зависимости от числа пробирок с селективной обогатительной средой одинарной и двойной концентрации, при пересеве из которых в ЕС-бульон обнаружилось газообразование и образование индола в пептонной воде при *температуре* 44 °С.

5 Разведение, питательные среды и реактивы

Для текущей лабораторной практики *применяют ГОСТ Р 51446*.

5.1 Разведения

В общем случае *согласно ГОСТ Р 51426*, для молочных продуктов — [1].

5.2 Селективная обогатительная среда (бульон с лаурилсульфатом)

5.2.1 Состав *среды — в соответствии с таблицей 1*.

Таблица 1

Состав среды	a) *Для среды двойной концентрации*	b) *Для среды одинарной концентрации*
Ферментативный перевар растительных и животных тканей, г	40,0	20,0
Лактоза, г	10,0	5,0
Моногидрофосфат калия (K_2HPO_4), г	5,5	2,75
Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4), г	5,5	2,75
Хлорид натрия, г	10,0	5,0
Лаурилсульфат натрия [$CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$], г	0,2	0,1
Вода, $см^3$	1000	1000

5.2.2 Приготовление среды

Растворяют компоненты среды или готовую дегидратированную питательную среду в воде, при необходимости подогревают. Устанавливают уровень pH, чтобы после стерилизации он соответствовал (6,8 ± 0,2) при *температуре* 25 °С.

Среду одинарной концентрации разливают по 9 $см^3$ в пробирки 16 × 160 мм (см. 6.4) с пробирками-поплавками Дарема (*Уленгута*) (см. 6.6), среду двойной концентрации разливают по 10 $см^3$ в пробирки 18 × 180 мм (см. 6.4) с пробирками-поплавками Дарема (*Уленгута*) (см. 6.6).

Стерилизуют в автоклаве (см. 6.1) 15 мин при *температуре* 121 °С.

После стерилизации пробирки-поплавки Дарема (*Уленгута*) не должны содержать пузырьков воздуха.

5.3 ЕС-бульон (селективная среда)

5.3.1 Состав:

ферментативный перевар казеина . . . . . 20,0 г;
лактоза . . . . . 5,0 г;
желчные соли № 3 [2]. . . . . 1,5 г;
моногидрофосфат калия (K_2HPO_4) . . . . . 4,0 г;
дигидрофосфат калия (KH_2PO_4) . . . . . 1,5 г;
хлорид натрия . . . . . 5,0 г;
вода . . . . . 1000 $см^3$.

5.3.2 Приготовление среды

Растворяют компоненты среды или готовую дегидратированную питательную среду в воде, при необходимости подогревают. Устанавливают уровень pH, при необходимости, чтобы после стерилизации он соответствовал (6,8 ± 0,2) при *температуре* 25 °С.

Среду разливают по 10 $см^3$ в пробирки 16 × 160 мм (см. 6.4) с пробирками-поплавками Дарема (*Уленгута*) (см. 6.6).

Стерилизуют в автоклаве (см. 6.1) 15 мин при *температуре* 121 °С.

После стерилизации пробирки-поплавки Дарема (*Уленгута*) не должны содержать пузырьков воздуха.

5.3.3 Проверка пригодности и обеспечение качества питательных сред *согласно* [3] и [4].

5.4 Пептонная вода безиндольная

5.4.1 Состав:

ферментативный перевар казеина . . . . . 10,0 г;
хлорид натрия . . . . . 5,0 г;
вода . . . . . 1000 см^3.

5.4.2 Растворяют компоненты среды или готовую дегидратированную питательную среду в воде, при необходимости подогревают. Доводят pH, если необходимо, до такого значения, чтобы после стерилизации оно составляло (7,3 ± 0,2) при *температуре* 25 °С.

Среду разливают по 5—10 см^3 в пробирки 16 × 160 мм (см. 6.4).

Стерилизуют в автоклаве (см. 6.1) 15 мин при *температуре* 121 °С.

5.5 Реактив для определения индола (реактив Ковача)

5.5.1 Состав:

4-диметиламинобензальдегид. . . . . 5,0 г;
2-метилбутан-1-ол или пентан-1-ол. . . . . 75,0 см^3;
соляная кислота (ρ_{20} 1,18-1,19 г/см^3) . . . . . 25,0 см^3.

5.5.2 Приготовление реактива

Растворяют 4-диметиламинобензальдегид в 2-метилбутан-1-оле или пентан-1-оле при нагревании на водяной бане, поддерживающей температуру *от* 50 °С *до* 55 °С.

Охлаждают и добавляют соляную кислоту.

Хранят *реактив*, защищенный от света, при температуре около 4 °С *(ГОСТ Р 51446)*.

Цвет реактива должен быть от светло-желтого до светло-коричневого.

Примечание — *Допускается* использовать готовые коммерческие реактивы.

6 Оборудование и лабораторная посуда

Примечание — При одинаковой спецификации одноразовое оборудование предпочтительнее многоразового.

Обычное лабораторное оборудование, *а также* следующее:

6.1 Стерилизаторы сухожаровые (печи) или паровые (автоклавы) по *ГОСТ Р 51446*.

6.2 Термостат, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С и (44 ± 1) °С.

6.3 Водяная баня, поддерживающая температуру (44 ± 1) °С.

6.4 Пробирки размерами 16 × 160 мм и 18 × 180 мм или 20 × 200 мм.

6.5 Бактериологическая петля из платино-иридиевого или никель-хромового сплава *диаметром* около 3 мм, *вмещающая за один раз около 10 мм^3 среды*.

6.6 Пробирки-поплавки Дарема (*Улендута*), свободно помещающиеся в пробирки (см. 6.4).

6.7 Пипетки с полным сливом номинальным объемом от 1 до 10 см^3.

6.8 pH-метр с разрешением 0,01 единиц pH и точностью ± 0,1 pH при *температуре* 25 °С.

7 Отбор проб

В лабораторию направляется представительный образец. Образец не должен быть поврежден или изменен в *процессе* транспортирования или хранения.

Отбор проб проводят в соответствии с ГОСТ 26668. Рекомендуется достижение соглашения заинтересованных сторон по отбору проб конкретного продукта при отсутствии соответствующего стандарта.

8 Подготовка проб

Подготовку проб проводят в соответствии с *ГОСТ Р 51448 и ГОСТ 26669*. Рекомендуется достижение соглашения заинтересованных сторон *по* подготовке проб конкретного продукта при отсутствии *соответствующего* стандарта.

9 *Проведение определения*

9.1 Метод *качественного определения*

9.1.1 *Приготовление пробы и первичного разведения в зависимости от вида продукта согласно ГОСТ Р 51426, ГОСТ Р 51448, ГОСТ 26669, [5], [6] или [7].*

Состав ЕС-бульона с лаурилсульфатом при определенной концентрации согласно таблице 1 a) и b).

Добавляют 1 см^3 первичного разведения к 9 см^3 бульона с лаурилсульфатом одинарной концентрации (0,1 г или 0,1 см^3 образца) или 10 см^3 первоначального разведения к 10 см^3 бульона с лаурилсульфатом двойной концентрации (1 г или 1 см^3 образца). Для бóльших объемов пробы первичное разведение приготавливают добавлением *0,1* см^3 или *0,1* г к 9 см^3 разбавителя (*ГОСТ Р 51426* или [7]), затем добавляют весь объем первичного разведения к 90 см^3 бульона с лаурилсульфатом одинарной концентрации. Например, добавляют 5 см^3 или 5 г образца к 45 см^3 разбавителя, и весь объем начальной суспензии вносят в 450 см^3 бульона с лаурилсульфатом одинарной концентрации или вносят пробу в равный объем.

9.1.2 Инкубация селективного обогатительного бульона (бульона с лаурилсульфатом)

Инокулированный бульон с лаурилсульфатом одинарной или двойной концентрации (см. 5.2) инкубируют в термостате (см. 6.2), *при температуре* 37 °С в течение (24 ± 2) ч. Если на этой стадии не обнаруживают ни газообразования, ни замутнения среды, затрудняющего определение газообразования, продолжают инкубацию до (48 ± 2) ч.

Примечание — Время инкубации проб живых моллюсков должно составлять (48 ± 2) ч.

При исследовании некоторых молочных продуктов (например, казеина) пробирки-поплавки Дарема могут застревать на дне пробирки с селективной обогатительной средой. Если после 48 ч инкубации в пробирке обнаруживается лишь помутнение без газообразования, то также осуществляют пересев в ЕС-бульон согласно 9.1.3.

9.1.3 Инокуляция и инкубация селективной среды (ЕС-бульона)

При обнаружении помутнения, выпадения осадка или видимого газообразования после инкубации (см. 9.1.2) селективной среды двойной концентрации или при обнаружении видимого газообразования после инкубации селективной среды одинарной концентрации с помощью бактериологической петли (см. 6.5) проводят пересев в пробирку с ЕС-бульоном. Инокулированный ЕС-бульон инкубируют на водяной бане (см. 6.3) или в термостате (см. 6.2) (24 ± 2) ч при температуре 44 °С. Если на этой стадии не обнаруживают видимого газообразования в ЕС-бульоне (см. 5.3), то общее время инкубации продлевают до (48 ± 2) ч.

Примечание — Общее время инкубации проб живых моллюсков должно составлять (24 ± 2) ч.

9.1.4 Инокуляция и инкубация пептонной воды

При обнаружении видимого газообразования после инкубации согласно 9.1.3 с помощью бактериологической петли (см. 6.5) производят пересев в пробирку с пептонной водой (см. 5.4), предварительно прогретой до *температуры* 44 °С. Инкубируют (48 ± 2) ч при *температуре* 44 °С.

9.1.5 Обнаружение образования индола

В пробирку с пептонной водой (см. 5.4) после инкубации согласно 9.1.4 добавляют 0,5 см^3 реактива на индол (см. 5.5). После интенсивного перемешивания через 1 мин проводят оценку реакции. Красное окрашивание в спиртовой фазе свидетельствует о наличии индола.

9.1.6 Оценка результатов

При обнаружении видимого газообразования в пробирке с ЕС-бульоном и образования индола в пробирке с пептонной водой *(см. 9.1.2—9.1.4)* селективную обогатительную среду *оценивают* как положительную (презумптивная *Escherichia coli* обнаружена).

9.2 Метод количественного определения

9.2.1 *Приготовление пробы и первичного разведения в зависимости от вида продукта согласно ГОСТ Р 51426, ГОСТ Р 51448, ГОСТ 26669, [5], [6] или [7].*

Подготавливают достаточное число разведений, чтобы в максимальном разведении с уверенностью получить отрицательный результат.

9.2.2 Инокуляция и инкубация селективного обогатительного бульона (бульона с лаурилсульфатом)

9.2.2.1 Подготавливают ряд последовательных разведений, по три пробирки на каждое разведение. Для проб живых моллюсков и некоторых других особых продуктов, а также для получения большей точности результатов необходимо использовать по пять пробирок на каждое разведение (см. приложение А).

9.2.2.2 Берут три пробирки с селективной обогатительной средой двойной концентрации [см. *таблицу 1* a)] и, используя стерильную пипетку (см. 6.7), в каждую пробирку вносят по 10 см^3 первичного разведения. Таким образом, каждая пробирка этого ряда будет содержать по 1 г образца.

9.2.2.3 Берут три пробирки с селективной обогатительной средой одинарной концентрации [*см. таблицу 1* b)] и, используя новую стерильную пипетку (см. 6.7), в каждую пробирку вносят по 1 см^3 первичного разведения. Таким образом, каждая пробирка этого ряда будет содержать по 0,1 г образца.

9.2.2.4 Для каждого последующего разведения (соответствующего 0,01 г, 0,001 г и т.д. продукта на пробирку) повторяют процедуру, как в 9.2.2.3, используя для каждого разведения новую пипетку. Инокулят и среду тщательно перемешивают.

9.2.2.5 Инокулированные среды с лаурилсульфатом двойной по 9.2.2.1 или одинарной концентрации по 9.2.2.3 и 9.2.2.4 инкубируют в термостате (см. 6.2) *при температуре* 37 °С в течение (24 ± 2) ч. Если на этой стадии не обнаруживают ни газообразования, ни замутнения среды, затрудняющего определение газообразования, продолжают инкубацию до (48 ± 2) ч.

Примечание — Время инкубации проб живых моллюсков должно составлять (48 ± 2) ч.

При исследовании некоторых молочных продуктов (например, казеина) пробирки-поплавки Дарема могут застревать на дне пробирки с селективной обогатительной средой. Если после 48 ч инкубации в пробирке обнаруживается лишь помутнение без газообразования, то также осуществляют пересев в ЕС-бульон согласно 9.2.3.

9.2.3 Инокуляция и инкубация селективной среды (ЕС-бульона)

9.2.3.1 При обнаружении помутнения, выпадения осадка или видимого газообразования после инкубации селективной среды двойной концентрации [см. *таблицу 1* a)] согласно 9.2.2.5 или при обнаружении видимого газообразования после инкубации селективной среды одинарной концентрации [см. *таблицу 1* b)] согласно 9.2.2.5 с помощью бактериологической петли (см. 6.5) проводят пересев в пробирку с ЕС-бульоном (см. 5.3).

9.2.3.2 Инокулированный согласно 9.2.3.1 ЕС-бульон инкубируют на водяной бане (см. 6.3) или в термостате (см. 6.2) (24 ± 2) ч при температуре 44 °С. Если на этой стадии не обнаруживают видимого газообразования в ЕС-бульоне (см. 5.3), то общее время инкубации продлевают до (48 ± 2) ч.

Примечание — Общее время инкубации проб живых моллюсков должно составлять (24 ± 2) ч.

9.2.4 Инокуляция и инкубация пептонной воды

При обнаружении видимого газообразования после инкубации согласно 9.2.3.2 с помощью бактериологической петли (см. 6.5) производят пересев в пробирку с пептонной водой (см. 5.4), предварительно прогретой до *температуры* 44 °С. Инкубируют (48 ± 2) ч *при температуре* 44 °С.

9.2.5 Обнаружение образования индола

В пробирку с пептонной водой (см. 5.4) после инкубации согласно 9.2.4 добавляют 0,5 см^3 реактива на индол (см. 5.5). После интенсивного перемешивания через 1 мин проводят оценку реакции. Красное окрашивание в спиртовой фазе свидетельствует о наличии индола.

9.2.6 Оценка результатов

При обнаружении видимого газообразования в пробирке с ЕС-бульоном и образования индола в пробирке с пептонной водой (см. *9.2.2—9.2.4*) селективную обогатительную среду *оценивают* как положительную (презумптивная *Escherichia coli* обнаружена).

Для каждого разведения определяют число положительных результатов для среды двойной концентрации [см. *таблицу 1* a)] и одинарной концентрации [см. *таблицу 1* b)].

10 *Результаты определения*

10.1 Метод *качественного определения*

Исходя из оценки результатов (см. 9.1.6), конечный результат *определения* выражают как «презумптивная *Escherichia coli* обнаружена» или «не обнаружена (отсутствует)» в данном объеме пробы, указывая массу пробы в граммах или объем пробы в $см^3$.

10.2 Метод *количественного определения*

Расчет НВЧ проводят согласно приложению А.

Пример — При исследовании твердого образца и использовании трех пробирок на разведение для 95 % случаев доверительный интервал составляет от 13 до 200 презумптивных Escherichia coli в грамме при НВЧ 7,4 × 10 презумптивных Escherichia coli в грамме и от 4 до 99 презумптивных Escherichia coli в грамме при НВЧ 2,4 × 10 презумптивных Escherichia coli в грамме.

11 Протокол испытания

В протоколе испытания указывают:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;
- метод отбора пробы, если известен;
- использованный метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт;
- все детали исследования, не оговариваемые в настоящем стандарте, или рассматриваемые как необязательные, а также детали иного свойства, могущие оказать влияние на результаты исследований;
- полученные результаты.

Приложение А
(обязательное)

Расчет наиболее вероятного числа (НВЧ)

А.1 Расчет НВЧ при использовании трех пробирок — *по ГОСТ Р 51446.*

А.2 Расчет НВЧ при использовании пяти пробирок представлен в таблице А.1

Таблица А.1

Число положительных пробирок трех выбранных разведений			НВЧ	Категория* *оценки для одновременно проанализированных проб в количестве*					*Действительное число микроорганизмов в 1 г (см^3) с вероятностью*			
									95 %		*99 %*	
1,0	*0,1*	*0,01*		1	2	3	5	10	*от*	*до*	*от*	*до*
0	0	0	< 0,18	—	—	—	—	—	0,00	0,65	0,00	0,93
0	0	1	0,18	2	2	2	1	1	0,00	0,65	0,00	0,93
0	1	0	0,18	2	2	2	1	1	0,01	0,65	0,00	0,93
0	1	1	0,36	3	3	3	2	2	0,07	0,99	0,02	1,40
0	2	0	0,37	3	2	2	2	1	0,07	0,99	0,02	1,40
0	2	1	0,55	0	0	0	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
0	3	0	0,56	0	3	3	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
1	0	0	0,20	1	1	1	1	1	0,02	0,99	0,01	1,40
1	0	1	0,40	2	1	1	1	1	0,07	1,00	0,02	1,40
1	0	2	0,60	0	0	3	3	3	0,17	1,40	0,09	2,10
1	1	0	0,40	1	1	1	1	1	0,07	1,10	0,03	1,40
1	1	1	0,61	3	2	2	2	1	0,17	1,40	0,09	2,10
1	1	2	0,81	0	0	0	0	3	0,33	2,20	0,20	2,80
1	2	0	0,61	2	1	1	1	1	0,18	1,40	0,09	2,10
1	2	1	0,82	3	3	3	3	2	0,33	2,20	0,20	2,80
1	3	0	0,83	3	3	3	3	2	0,33	2,20	0,20	2,80
1	3	1	1,0	0	0	0	0	3	0,3	2,2	0,2	2,8
1	4	0	1,1	0	0	0	0	3	0,3	2,2	0,2	2,8
2	0	0	0,45	1	1	1	1	1	0,08	1,4	0,04	2,10
2	0	1	0,68	2	1	1	1	1	0,18	1,50	0,09	2,10
2	0	2	0,91	0	3	3	3	3	0,33	2,20	0,20	2,80
2	1	0	0,68	1	1	1	1	1	0,19	1,70	0,10	2,30
2	1	1	0,92	2	2	1	1	1	0,33	2,20	0,20	2,80
2	1	2	1,2	0	0	3	3	3	0,4	2,5	0,2	3,4
2	2	0	0,93	1	1	1	1	1	0,34	2,20	0,20	2,80
2	2	1	1,2	3	3	2	2	2	0,4	2,5	0,2	3,4
2	2	2	1,4	0	0	0	0	3	0,6	3,4	0,4	4,4
2	3	0	1,2	3	2	2	2	1	0,4	2,5	0,2	3,4
2	3	1	1,4	0	3	3	3	3	0,6	3,4	0,4	4,4
2	4	0	1,5	0	3	3	3	3	0,6	3,4	0,4	4,4

Продолжение таблицы А.1

Число положительных пробирок трех выбранных разведений			НВЧ	Категория* оценки для одновременно проанализированных проб в количестве					Действительное число микроорганизмов в 1 г ($см^3$) с вероятностью			
									95 %		99 %	
1,0	0,1	0,01		1	2	3	5	10	от	до	от	до
3	0	0	0,78	1	1	1	1	1	0,21	2,20	0,12	2,80
3	0	1	1,1	1	1	1	1	1	0,4	2,2	0,2	2,9
3	0	2	1,3	3	3	3	2	2	0,6	3,4	0,4	4,4
3	1	0	1,1	1	1	1	1	1	0,4	2,5	0,2	3,4
3	1	1	1,4	2	1	1	1	1	0,6	3,4	0,4	4,4
3	1	2	1,7	3	3	3	3	2	0,6	3,4	0,4	4,4
3	2	0	1,4	1	1	1	1	1	0,6	3,4	0,4	4,4
3	2	1	1,7	2	2	2	1	1	0,7	3,9	0,5	5,1
3	2	2	2,0	0	3	3	3	3	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	0	1,7	2	2	1	1	1	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	1	2,1	3	3	3	2	2	0,7	3,9	0,5	5,2
3	3	2	2,4	0	0	0	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
3	4	0	2,1	3	3	2	2	2	0,7	4,0	0,5	5,2
3	4	1	2,4	0	3	3	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
3	5	0	2,5	0	0	0	3	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	0	0	1,3	1	1	1	1	1	0,4	3,4	0,3	4,4
4	0	1	1,7	1	1	1	1	1	0,5	3,4	0,4	4,4
4	0	2	2,1	3	2	2	2	2	0,7	3,9	0,5	5,2
4	0	3	2,5	0	0	0	0	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	1	0	1,7	1	1	1	1	1	0,6	3,9	0,4	5,1
4	1	1	2,1	1	1	1	1	1	0,7	4,1	0,5	5,3
4	1	2	2,6	3	3	2	2	2	1,0	6,6	0,7	9,4
4	1	3	3,1	0	0	0	0	3	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	0	2,2	1	1	1	1	1	0,7	4,8	0,5	6,1
4	2	1	2,6	2	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	2	3,2	3	3	3	2	2	1,0	6,6	0,7	9,4
4	2	3	3,8	0	0	0	0	3	1,3	10,0	0,9	14,7
4	3	0	2,7	1	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	3	1	3,3	2	2	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4
4	3	2	3,9	3	3	3	3	2	1,3	10,0	0,9	14,7
4	4	0	3,4	2	2	1	1	1	1,3	10,0	0,9	14,7
4	4	1	4,0	3	3	2	2	2	1,3	10,0	0,9	14,7
4	4	2	4,7	0	0	0	3	3	1,4	11,3	0,9	14,7
4	5	0	4,1	3	3	3	3	2	1,3	10,0	0,9	14,7
4	5	1	4,8	0	0	3	3	3	1,4	11,3	0,9	14,7
5	0	0	2,3	1	1	1	1	1	0,7	6,6	0,5	9,4
5	0	1	3,1	1	1	1	1	1	1,0	6,6	0,7	9,4

Окончание таблицы А.1

Число положительных пробирок трех выбранных разведений			НВЧ	Категория* оценки для одновременно проанализированных проб в количестве					*Действительное число микроорганизмов в 1 г (см^3) с вероятностью*			
									95 %		*99 %*	
1,0	*0,1*	*0,01*		1	2	3	5	10	*от*	*до*	*от*	*до*
5	0	2	4,3	3	2	2	2	1	0,3	10,0	0,9	14,7
5	0	3	5,8	0	0	0	3	3	2,1	14,9	1,4	20,0
5	1	0	3,3	1	1	1	1	1	1,0	10,0	0,7	14,7
5	1	1	4,6	1	1	1	1	1	1,4	11,3	0,9	14,7
5	1	2	6,3	2	2	1	1	1	2,1	14,9	1,4	20,0
5	1	3	8,4	3	3	3	3	2	3,4	11,0	2,1	27,0
5	2	0	4,9	1	1	1	1	1	1,5	14,9	0,9	20,0
5	2	1	7,0	1	1	1	1	1	2,2	16,8	1,4	23,0
5	2	2	9,4	2	2	1	1	1	3,4	22,0	2,1	28,0
5	2	3	12	3	3	2	2	2	3	24	2	32
5	2	4	15	0	0	0	0	3	6	35	4	45
5	3	0	7,9	1	1	1	1	1	2,3	22,0	1,5	27,0
5	3	1	11	1	1	1	1	1	3	24	2	32
5	3	2	14	1	1	1	1	1	5	35	3	45
5	3	3	17	3	2	2	2	1	7	39	4	51
5	3	4	21	3	3	3	3	2	7	39	4	51
5	4	0	13	1	1	1	1	1	3	35	3	45
5	4	1	17	1	1	1	1	1	6	39	4	51
5	4	2	22	1	1	1	1	1	7	44	4	57
5	4	3	28	2	1	1	1	1	10	70	6	92
5	4	4	35	2	2	2	1	1	10	70	6	92
5	4	5	43	0	0	3	3	3	15	106	9	150
5	5	0	24	1	1	1	1	1	7	70	4	92
5	5	1	35	1	1	1	1	1	10	106	6	150
5	5	2	54	1	1	1	1	1	15	166	10	223
5	5	3	92	1	1	1	1	1	23	253	15	338
5	5	4	160	1	1	1	1	1	40	460	20	620
5	5	5	> 160	1	1	1	1	1	—	—	—	—

* Для объяснения категорий см. ГОСТ Р 51446.

Примечание — Приведенные результаты основаны на данных источника [8].

Библиография

[1] ИСО 8261:2001 Молоко и молочные продукты. Общие руководящие указания по приготовлению проб для испытаний, исходных суспензий и растворов, разведенных 1/10, для микробиологических исследований

[2] ICMSF Microorganisms in Food, 1988, Vol. 1, p. 280, University of Toronto Press, Toronto, Canada

[3] ИСО/TS 11133-1:2000 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории

[4] ИСО/TS 11133-2:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред

[5] ИСО 6887-3:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 3. Специальные правила для подготовки рыбы и рыбопродуктов

[6] ИСО 6887-4:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 4. Специальные правила для подготовки продуктов, кроме молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов и рыбы и рыбопродуктов

[7] ИСО 8261:2001 Молоко и молочные продукты. Общие руководящие указания по приготовлению проб для испытаний, исходных суспензий и растворов, разведенных 1/10, для микробиологических исследований

[8] De Man, J.C. MPN tables, corrected. Eur. J. Appl. Biotechnol., 1983, 17, pp. 301—305

УДК 663/664.777:006.354 ОКС 67.040, 65.120 Н09

Ключевые слова: пищевые продукты, корма, микробиология, горизонтальный метод обнаружения, презумптивные бактерии, наиболее вероятное число, *Escherichia coli*

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Т.И. Кононенко*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Подписано в печать 31.07.2009. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,30. Тираж 108 экз. Зак. 480.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru »@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru