ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EACC)
EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 6887-1— 2015

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ

Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования

Часть 1

Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений

(ISO 6887-1:1999, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован
№ 10826
27 февраля 2015 г.

Минск
Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

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 научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 февраля 2015 г. № 75-П)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ISO 3166) 004—97	Код страны по МК (ISO 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 6887-1:1999 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).

Международный стандарт разработан техническим комитетом по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международного стандарта, на который даны ссылки, имеются в Госстандарте Республики Беларусь.

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на международный стандарт актуализированы.

В стандарт внесено следующее редакционное изменение: наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования международного стандарта в целях увязки с существующей группой межгосударственных стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ
Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования
Часть 1
Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений

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

Дата введения —

1 Область применения

В настоящем стандарте изложены общие правила приготовления исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований пищевой продукции и кормов.

Настоящий стандарт не применяется к продукции, указанной в ISO 6887-2.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный стандарт. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

ISO 7218:2007 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)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **исходная суспензия (первичное разведение)** (initial suspension (primary dilution)): Суспензия, раствор или эмульсия, полученные после смешивания взвешенного или отмеренного количества испытуемой продукции (или образца для испытания, отобранного из продукции) с девятикратным количеством разбавителя, позволяющим оседать крупным частицам, если они имеются.

Примечание — См. раздел 5 и примечания 1, 2 к 9.1.

3.2 **последовательные десятикратные разведения** (further decimal dilutions): Суспензии или растворы, полученные посредством смешивания отмеренного объема исходной суспензии (3.1) с девятикратным объемом разбавителя и повторения этой операции с дальнейшими разведениями до получения серии десятикратных разведений, пригодных для инокуляции питательной среды.

3.3 **соответствующий стандарт** (specific standard): Стандарт или руководящий документ, описывающий исследование конкретной продукции (или группы продукции) с целью обнаружения или подсчета определенного микроорганизма (или группы микроорганизмов).

Издание официальное

4 Сущность метода

Приготавливают исходную суспензию (3.1) таким образом, чтобы получить однородное распределение микроорганизмов, содержащихся в пробе для испытания.

При необходимости осуществляют десятикратные разведения (3.2) с целью снижения количества микроорганизмов на единицу объема, позволяющих после инкубации наблюдать за тем, растут они или нет (в случае использования пробирок или колб), или подсчитывать колонии (в случае использования чашек), как указано в соответствующем стандарте.

Примечание — Для того чтобы ограничить диапазон подсчета до заданного интервала или если предполагается наличие большого количества микроорганизмов, можно инокулировать только необходимые десятикратные разведения (не менее двух последовательных разведений), требующиеся для выполнения подсчета в соответствии с расчетом, указанным в ISO 7218.

5 Разбавители

5.1 Основные материалы

Для повышения воспроизводимости результатов испытаний рекомендуется при приготовлении разбавителя использовать обезвоженные (сухие) основные компоненты или обезвоженную (сухую) полноценную среду. Необходимо неукоснительно следовать инструкциям изготовителей.

Химические реактивы должны быть признанного аналитического качества и пригодными для микробиологических исследований.

Используют дистиллированную воду или воду равноценного качества (см. ISO 7218).

5.2 Общие разбавители

5.2.1 Пептонный солевой раствор

5.2.1.1 Состав

Гидролизат казеина, г	1,0
Хлорид натрия, г	8,5
Вода, мл	1000

5.2.1.2 Приготовление

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости.

Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.2.2 Забуференная пептонная вода

5.2.2.1 Состав

Пептон, г	10,0
Хлорид натрия, г	5,0
Двузамещенный фосфорнокислый натрий 12-водный ($Na_2HPO_4 \cdot I2H_2O$), г	9,0
Однозамещенный фосфорнокислый калий (KH_2PO_4), г	1,5
Вода, мл	1000

5.2.2.2 Приготовление

Растворяют компоненты в воде, нагревая при необходимости.

Если необходимо, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он составлял 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.3 Разбавители для специального применения

См. стандарт, относящийся к рассматриваемому продукту.

Примечание — Соответствующие правила приведены в ISO 6887-2.

5.4 Розлив и стерилизация разбавителя

Разливают разбавитель (5.2 или 5.3) в объемах, необходимых для приготовления исходных суспензий, по колбам (6.4) соответствующей вместимости.

Разливают разбавитель (5.2 или 5.3) в объемах, необходимых для приготовления десятикратных разведений, в пробирки (6.5) или колбы (6.4) в таких количествах, чтобы после стерилизации в каждой пробирке или колбе содержалось 9,0 мл. Погрешность измерения окончательного объема после стерилизации не должна превышать ±2 %.

Примечание — Если требуется провести подсчет нескольких групп микроорганизмов, используя различную питательную среду, то может возникнуть необходимость розлива всех разбавителей (или некоторых из них) в количествах выше 9,0 мл; в данном случае должен быть оговорен размер колб (6.4) и пробирок (6.5).

Пробирки или колбы закрывают пробками.

Стерилизацию производят в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин.

6 Оборудование и лабораторная посуда

Используют стандартное микробиологическое лабораторное оборудование (см. ISO 7218), в том числе перечисленное ниже.

6.1 **Оборудование для суховоздушной стерилизации (сушильный шкаф) и стерилизации паром (автоклав).**

См. ISO 7218.

6.2 **Гомогенизатор.**

См. ISO 7218.

6.3 **Механическая мешалка.**

См. ISO 7218.

6.4 **Колбы или бутылки с закручивающимися крышками.**

6.5 **Пробирки соответствующей вместимости.**

6.6 **Полностью нагнетательные градуированные пипетки** вместимостью 1, 10 мл с делениями по 0,1, 0,5 мл соответственно.

6.7 **Прибор для измерения pH**, способный считывать показания с точностью до 0,01 единицы pH при температуре 25 °С, и производить измерения с точностью до ±0,1 единиц pH.

6.8 **Весы**, с точностью взвешивания до 0,01 г.

7 Отбор образцов

Выполняют отбор образцов в соответствии с требованиями соответствующего стандарта на конкретную продукцию. В случае если такие стандарты отсутствуют, отбор образцов необходимо осуществлять, учитывая мнения всех заинтересованных сторон.

8 Подготовка образца для испытания

См. соответствующий стандарт на конкретную продукцию. В случае если такие стандарты отсутствуют, подготовку образцов необходимо осуществлять, учитывая мнения всех заинтересованных сторон.

9 Методика проведения испытания

9.1 Проба для испытания и исходная суспензия (первичное разведение)

Репрезентативную часть образца для испытания (см. раздел 8) взвешивают в стерильный тигель или стерильный полиэтиленовый пакет с погрешностью измерения массы m в граммах ±5 %, или отмеряют с погрешностью измерения объема V в миллилитрах ±5 %. Если не установлено иное, масса (объем) пробы образца для испытания должна (должен) быть не менее 10 г (10 мл).

Добавляют количество разбавителя, равное $9 \times m$ или $9 \times V$. Это количество взвешивают (по массе) или отмеряют (по объему) с погрешностью измерения ±5 %.

Примечание 1 — Для продукции, у которой исходная суспензия слишком тягучая или густая, можно добавить дополнительное количество разбавителя, что следует учитывать для последующих операций и/или при выражении результатов.

Примечание 2 — Первичное разведение частично обуславливает значение нижнего предела подсчета, которое также зависит от применяемого метода (например, чашечного метода с 1 мл инокулята суспензии 1/10, для которой предел составляет 10 микроорганизмов на грамм). Если подсчет в некоторых видах продукции нужно вести ниже этого предела, то, возможно использовать меньший объем разбавителя [1]. Следует отметить, что инокуляция исходной суспензии может вызывать трудности вследствие несбалансированности соотношения инокулята и среды (сдерживания роста бактерий за счет повышенной концентрации пищевых компонентов).

Чтобы избежать разрушения микроорганизмов в результате внезапных изменений температуры, температура разбавителя во время операций, описанных ниже, должна быть приблизительно такой же, как и температура окружающей среды, если иное не указано в соответствующем стандарте.

Смесь гомогенизируют в соответствии с рекомендациями ISO 7218.

Дают крупным частицам осесть при необходимости в течение 15 мин. Можно использовать системы фильтрации, дающие аналогичные результаты.

Для подсчета спор проводят тепловую обработку исходной суспензии в течение 10 мин при температуре 80 °С сразу же после приготовления, после чего осуществляют быстрое охлаждение.

9.2 Последовательные десятикратные разведения

С помощью пипетки переносят 1 мл исходной суспензии с погрешностью измерения [2] ±5 % в пробирку, в которой содержится 9 мл стерильного разбавителя при соответствующей температуре.

Примечание — Допускается в пробирку, содержащую девятикратный объем стерильного разбавителя, добавить более 1 мл исходной суспензии с погрешностью измерения ±5 %.

Для оптимальной точности пипетку вводят в исходную суспензию не более чем на 1 см.

Избегают какого-либо соприкосновения пипетки, содержащей инокулят, со стерильным разбавителем.

Тщательно перемешивают, желательно с использованием механической мешалки (6.3), в течение 5–10 с, чтобы получить раствор с разведением 10^{-2}.

Если необходимо, повторяют операцию, используя разведение 10^{-2}. Используют новые стерильные пипетки для приготовления следующих последовательных десятикратных разведений 10^{-3}, 10^{-4} и т. д. до получения соответствующего количества микроорганизмов (см. раздел 4).

9.3 Продолжительность процедуры

Между окончанием приготовления исходной суспензии и внесением ее в питательную среду не должно проходить более 45 мин, между приготовлением исходной суспензии (9.1) и началом приготовления следующих десятикратных разведений — более 30 мин, если в соответствующем стандарте не указано иное.

Примечание — Если температура воздуха в лаборатории слишком высокая, необходимо сократить вышеуказанное время.

[1] В этом случае объем используемого разбавителя указывают в протоколе испытания.

[2] Погрешность измерения ±5 % учитывает значения погрешности используемых пипеток.

Приложение Д.А
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту

Таблица Д.А.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 7218:2007 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

УДК 579.67.088.1(083.74)(476) МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: микробиология, пищевая продукция, исходная суспензия, десятикратные разведения, корма

gost.e-ecolog.ru