МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 8607— 2015

Средства воспроизводства

СПЕРМА ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ ЗАМОРОЖЕННАЯ

Подсчет живых аэробных микроорганизмов

(ISO 8607:2003, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста» (ВИЖ им. Л.К. Эрнста) на основе собственного аутентичного перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 мая 2015 г. № 77-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 июня 2015 г. № 558-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 8607:2003 Artificial insemination of animals. Frozen semen of breeding bulls. Enumeration of living aerobic microorganisms (Оплодотворение искусственное животных. Замороженная сперма племенных быков. Подсчет живых аэробных микроорганизмов), включая его изменение Amd.1:2011.

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

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

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии.

Степень соответствия — идентичная (IDT).

Изменение к международному стандарту, принятое после его официальной публикации, внесено в текст настоящего стандарта и выделено двойной вертикальной линией на полях справа от соответствующего текста.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования международного стандарта в связи с особенностями построения межгосударственной системы стандартизации

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2015

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины и определения . . . 1
4 Принцип . . . 2
5 Разбавитель и питательная среда . . . 2
5.1 Разбавитель . . . 2
5.2 Агаровая среда . . . 2
6 Оборудование . . . 3
7 Отбор проб . . . 3
8 Подготовка испытуемого образца . . . 3
9 Методика . . . 3
9.1 Порция испытуемой пробы, исходная суспензия и разведение . . . 3
9.2 Инокуляция и инкубация . . . 4
9.3 Контрольные чашки . . . 4
9.4 Представление результатов . . . 4
10 Выражение результатов . . . 4
10.1 Метод расчета . . . 4
10.2 Точность . . . 5
11 Протокол испытаний . . . 5
Приложение А (обязательное) Доверительные пределы для оценки небольших количеств колониеобразующих единиц микроорганизмов . . . 6
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам . . . 7
Библиография . . . 8

Введение

Количественный микробиологический контроль гигиены отбора и обработки спермы быков имеет большое значение в обеспечении эффективности искусственного осеменения и выполнении требований биобезопасности [1]. По этой же причине очень важно исследование бактериальной загрязненности и возможного присутствия факультативных патогенных микроорганизмов в замороженной сперме быков.

Существует необходимость в разработке международного метода, подходящего для подсчета микроорганизмов в замороженной сперме, который указывал бы на гигиенический статус в период отбора проб, обработки и хранения. Метод подсчета колоний, указанный в настоящем стандарте, устанавливает правила подсчета сапрофитных микроорганизмов, которые изначально присутствуют или поступили в сперму быков из окружающей среды. С помощью этого метода обнаруживают только общее количество бактерий, главным образом аэрофильные и мезофильные сапрофиты, а также некоторые факультативно патогенные микроорганизмы, не очень чувствительные к условиям окружающей среды.

Поскольку образцы замороженной спермы крупного рогатого скота дополнительно содержат антибиотики, определение микробиологической загрязненности данного типа образцов несколько отличается от общепринятых микробиологических методов. При исследовании образцов замороженной спермы при низком разведении, число колоний может быть ниже, чем ожидалось и не отвечать обычным пропорциям. Поэтому для компенсации эффекта действия антибиотиков необходимо использовать относительно высокое десятикратное разведение. В результате использования высокого разведения в каждой чашке Петри получают 15 или меньшее количество колоний и результат подсчета этих колоний должен быть принят как окончательный. В этом состоит отличие от обычного микробиологического исследования пищевых продуктов, при котором разведение образцов может быть выбрано таким образом, что число колоний в чашке Петри для более точного исследования может быть 15 и более.

Микробиальные клетки часто образуют в образце сгустки или группы. Встряхивание проб и разведение позволяет равномерно распределить сгустки бактерий, но не разбивает их полностью до отдельных клеток. В последующем каждая колония, появляющаяся на среде, может вырасти как от сгустка, так и от одной клетки, это позволяет получить более точный результат по числу колониеобразующих единиц, по сравнению с результатом по числу микроорганизмов [2].

Настоящий стандарт устанавливает значение допустимого предела не для всех КОЕ-бактерий, которые могут быть затребованы покупателями в торговле. Это должно быть указано в коммерческих контрактах.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Средства воспроизводства

СПЕРМА ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ ЗАМОРОЖЕННАЯ

Подсчет живых аэробных микроорганизмов

Product for reproduction. Frozen semen of breeding bulls. Enumeration of living aerobic microorganisms

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод подсчета живых аэробных микроорганизмов в замороженной сперме племенных быков. Подсчитывают число колоний, выросших на питательной среде после аэробной инкубации при температуре 37 °С. Микробиологическое загрязнение выражают как число колониеобразующих единиц микроорганизмов на кубический сантиметр испытуемой пробы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте применяют следующие ссылочные документы. Для датированных ссылок применяют только указанное издание. Для недатированных ссылок применяют последнее издание приведенного документа (включая все изменения).

ISO 6887-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений)

ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ISO 6887-1, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **сперма** (semen): Продукт генитальных органов самцов, предназначенный для оплодотворения самок.

3.2 **эякулят** (ejculate): Количество спермы, полученной в результате одной садки самца.

3.3 **доза** (dose): Количество спермы, индивидуально расфасованной для одного осеменения.

3.4 **серия доз** (series doses): Группа доз спермы, полученных от одного быка и одного или более эякулятов в один день и подвергнутых одной и той же обработке.

3.5 **живые аэробные микроорганизмы** (living aerobic microorganisms): Бактерии, дрожжи, плесени, которые растут аэробно при температуре 37 °С в условиях, указанных в настоящем стандарте.

Издание официальное

3.6 **колониеобразующая единица, КОЕ** (colony-forming unit, CFU): Единичные микробные клетки или колонии, или группы клеток, формирующие одну колонию на питательной среде в условиях, указанных в настоящем стандарте.

4 Принцип

Две чашки Петри заполняют определенной питательной средой. Среду инокулируют на значительной глубине определенным количеством испытуемой пробы с последующей аэробной инкубацией при температуре 37 °С.

Число КОЕ микроорганизмов на кубический сантиметр испытуемой пробы подсчитывают по числу полученных колоний.

5 Разбавитель и питательная среда

Общее руководство — по ISO 7218.

Химические вещества должны отвечать требованиям для аналитических и микробиологических исследований.

Используемая вода должна быть дистиллированной или эквивалентной по качеству (см. ISO 7218).

5.1 Разбавитель

Разбавителем является солевой раствор пептона, как указано в ISO 6887-1. Его состав, приготовление и использование приведены только для удобства пользователя настоящего стандарта.

Чтобы добиться воспроизводимости результатов, для приготовления разбавителя используют обезвоженные основные компоненты или обезвоженный готовый разбавитель. Следует строго соблюдать инструкции производителя.

5.1.1 Состав

Фермент, расщепляющий казеин . . . . . 1,0 г;
хлорид натрия (NaCl) . . . . . 8,5 г;
вода . . . . . 1000 $см^3$.

5.1.2 Приготовление

Растворяют компоненты в воде, при необходимости подогревают.

При необходимости, регулируют pH так, чтобы после стерилизации он был 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °С.

5.1.3 Распределение и стерилизация

Для приготовления исходной суспензии разбавитель разливают в испытательные пробирки или колбы (6.3) определенной вместимости.

Для приготовления десятикратного разведения разбавитель разливают в пробирки или колбы (6.3) таким образом, чтобы после стерилизации каждая пробирка или колба содержала 9,0 $см^3$. Неопределенность измерений данного конечного объема после стерилизации не должна превышать ± 2 %.

5.2 Агаровая среда

5.2.1 Состав

Мясной бульон . . . . . 10 г;
обезвоженная *D*-глюкоза . . . . . 1,0 г;
обезвоженный экстракт дрожжей . . . . . 2,5 г;
пептон . . . . . 3,0 г;
хлорид натрия (NaCl) . . . . . 2,0 г;
гидроортофосфат натрия ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) . . . . . 2,0 г;
желатин . . . . . 10 г;
агар в виде порошка или хлопьев . . . . . от 12 до 18 г[1)];
вода . . . . . 1000 $см^3$.

[1)] Согласно прочности геля агара.

5.2.2 Приготовление

Растворяют компоненты или дегидратированную готовую среду в воде, при необходимости подогревают.

При необходимости, устанавливают значение pH так, чтобы после стерилизации оно было равно 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °С.

Распределяют среду по пробиркам или колбам (6.3) в количествах, необходимых для заполнения 1/2 их объема.

Стерилизуют в автоклаве (6.1) при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

Если среду будут использовать сразу, то ее охлаждают до температуры 44 °С—47 °С на водяной бане (6.8), а затем добавляют 10 % (по объему) инокулированной и стерилизованной[1)] бычьей или овечьей сыворотки.

6 Оборудование

Примечание — Имеющееся оборудование должно быть приемлемой альтернативой используемой стеклянной посуде и иметь подходящие характеристики.

Используют обычное для микробиологических лабораторий оборудование, в том числе:

6.1 Стерилизатор (для сухой стерилизации) или автоклав (для стерилизации паром), см. ISO 7218.

6.2 Инкубатор, способный поддерживать температуру (37 ± 1) °С.

6.3 Пробирки диаметром 16 мм и длиной 160 см или флаконы вместимостью не более 500 см^3.

6.4 Чашки Петри из стекла или пластика диаметром 90—100 мм.

6.5 Пипетки градуированные вместимостью 1 см^3 с ценой деления 0,1 см^3.

Нельзя использовать выдувные пипетки.

Вместе с тем, можно использовать микропипетки вместимостью (1,0 ± 0,01) см^3.

6.6 pH-метр электрический с точностью измерения 0,1 ед. pH при температуре 25 °С.

6.7 Водяная баня, способная поддерживать температуру (37 ± 1) °С.

6.8 Водяная баня, способная поддерживать температуру (45 ± 1) °С.

6.9 Водяная баня, позволяющая поддерживать температуру кипения.

6.10 Оборудование для подсчета колоний, состоящее из освещенной базы с темным фоном с увеличительными линзами, подходящее для использования при увеличении ×1,5, оснащенное механическим или электронным цифровым счетчиком.

7 Отбор проб

Отбирают из серии доз необходимое количество доз спермы глубокой заморозки в упаковке любого типа (гранулы или соломинки по 0,25 см^3 или 0,5 см^3) так, чтобы объем выборки составлял 1,0 см^3.

Отобранные испытуемые пробы хранят в жидком азоте.

Для исследования испытуемые пробы переносят из большого сосуда с жидким азотом в небольшой лабораторный контейнер с жидким азотом.

8 Подготовка испытуемой пробы

Испытуемую пробу размораживают, поместив ее в водяную баню (6.7) с температурой 37 °С на 3 мин.

Размороженная испытуемая проба может храниться в холодильнике при температуре 4 °С, но не более 1 ч.

9 Методика

9.1 Порция испытуемой пробы, исходная суспензия и разведение

Готовят в стерильном боксе исходную суспензию в соответствии с ISO 6887-1.

Число дальнейших разведений выполняют в зависимости от содержания антибиотиков в исходной суспензии как указано ниже.

[1)] Путем ультрафильтрации (фильтр 0,2 нм).

a) Если исходная суспензия содержит обычное количество антибиотиков [т. е. 10^3 международных единиц (МЕ)[1)] пенициллина и 1 мг стрептомицина или другого антибиотика широкого спектра действия в процентах], то используют конечное разбавление 10^{-5}.

b) Если количество антибиотиков отличается от указанного в пункте a), то используют такое конечное разбавление, при котором в суспензии содержится пенициллина не более 0,1 МЕ/см^3, а антибиотиков широкого спектра действия — не более 0,1 мкг/см^3.

Примечание — Высокая концентрация антибиотиков может ингибировать рост микроорганизмов и можно получить искаженные результаты.

9.2 Инокуляция и инкубация

9.2.1 Берут две стерильные чашки Петри (6.4). В каждую чашку стерильной пипеткой (6.5) вносят по 1 см^3 конечного разведения исходной суспензии (см. 9.1).

В две другие стерильные чашки Петри новой стерильной пипеткой вносят в каждую чашку по 1 см^3 суспензии с разведением на порядок меньше, чем последнее.

9.2.2 В каждую чашку Петри заливают около 15 см^3 агаровой среды (5.2) с температурой (45 ± 1) °С. Промежуток от окончания подготовки исходной суспензии до разлива среды по чашкам не должен превышать 15 мин.

Тщательно перемешивают инокулят со средой и дают смеси затвердеть, оставив чашки на горизонтальной поверхности в прохладном месте.

9.2.3 Подготовленные чашки переворачивают и ставят в инкубатор (6.2) с температурой 37 °С на (72 ± 3) ч.

9.3 Контрольные чашки

Инокулируют и инкубируют две контрольные чашки параллельно с операциями, определенными 9.2, используя 1 см^3 разбавителя (5.1) конечного разбавления (см. 9.1).

9.4 Представление результатов

9.4.1 Исследование контрольных чашек

Во всех случаях осуществляют первоначальный осмотр контрольных чашек (9.3) для определения присутствия колоний в пределах среды. Если колонии присутствуют, то контрольные чашки и чашки, содержащие испытуемые пробы, бракуют, и процедуру повторяют.

Если колонии отсутствуют, то проводят оценку чашек, содержащих испытуемые пробы по 9.4.2.

9.4.2 Подсчет колоний

Подсчет колоний в каждой из чашек, содержащей испытуемую пробу, проводят с помощью оборудования (6.10) или визуально.

Считают только хорошо различимые колонии, которые выросли в среде и на поверхности среды. Чашки, в которых более половины поверхности зарастает, не учитывают.

10 Выражение результатов

Примечание — Этот раздел основан на ISO 4833:1991 (см. [3]).

10.1 Метод расчета

10.1.1 Общий подход

Если количество колоний на чашках с конечным разбавлением больше, чем на чашках с предварительным разбавлением, то берут в расчет количество колоний, полученных на чашках с конечным разбавлением.

10.1.2 Чашки содержащие от 15 до 300 колоний

Отбирают чашки от двух последующих разбавлений, содержащие не более 300 колоний. Важно, чтобы одна из этих чашек содержала, по меньшей мере, 15 колоний.

Вычисляют N количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на кубический сантиметр испытуемой пробы, используя следующее уравнение

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0{,}1n_2)d},$$

[1)] МЕ — точно установленное значение международного стандартного образца. Для группы пенициллина имеется несколько стандартных образцов. Например, 1 мг калиевой соли бензил пенициллина соответствует 1670 МЕ.

где ΣC — сумма колоний, посчитанных на всех чашках;

n_1 — число чашек, отобранных при первом из двух последующих разбавлений;

n_2 — число чашек, отобранных при втором разбавлении;

d — коэффициент разбавления, соответствующий первому разбавлению.

Полученный результат округляют до двух значащих цифр.

Количество колониеобразующих единиц на сантиметр кубический испытуемой пробы выражают как число между 1,0 и 9,9, умноженное на 10^x, где x — число, соответствующее показателю степени.

ПРИМЕР

Подсчет колоний дал следующие результаты:

- при первом разведении (10^{-4}): 168 и 215 колоний, соответственно, в двух чашках;
- при втором разведении (10^{-5}): 14 и 25 колоний, соответственно, в двух чашках:

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0{,}1n_2)d} = \frac{168 + 215 + 14 + 25}{[2 + (0{,}1 \cdot 2)] \cdot 10^{-4}} = 1918181.$$

Округление результата, указанного выше, дает 1900000 или $1{,}9 \times 10^6$ колониеобразующих единиц на сантиметр кубический испытуемой пробы.

10.1.3 Чашки, содержащие 15 и менее колоний

Если обе чашки первого разбавления содержат менее 15 колоний, количество колониеобразующих единиц рассчитывают, как среднеарифметическое значение для двух этих чашек, используя следующее уравнение:

$$N_E = \frac{m}{d},$$

где N_E — предполагаемое количество колониеобразующих единиц на сантиметр кубический;

m — среднеарифметическое число колоний, рассчитанное для двух чашек;

d — коэффициент разведения для первого из двух последовательных разведений.

10.1.4 При отсутствии колоний

Если для окончательного разбавления не наблюдается рост колоний, то результат выражают, как «менее $1 \times d^{-1}$ КОЕ/см^3 испытуемой пробы», где d — коэффициент для конечного разбавления.

10.2 Точность

10.2.1 Чашки, содержащие 15—300 колоний (см. 10.1.2)

Статистически достоверные (в 95 % случаях) доверительные пределы этого метода варьируются от ±12 % до ±37 % (см. [4]). На практике, особенно среди результатов, полученных различными микробиологами, можно найти еще бóльшие отклонения.

10.2.2 Чашки, содержащие 15 или менее колоний (см. 10.1.3)

Доверительные пределы для оценки небольшого числа колониеобразующих единиц приведены в таблице А.1.

11 Протокол испытаний

В протоколе испытаний указывают:

- всю необходимую информацию для точной идентификации пробы;
- метод отбора проб, если известно;
- используемый метод испытаний со ссылкой на настоящий стандарт;
- все операции, не установленные настоящим стандартом или принимаемые во внимание как факт, вместе с подробной информацией о любых случаях, которые могли повлиять на результат испытаний;
- полученный результат испытаний, даже если было выявлено небольшое количество колоний, входящий в доверительные пределы на уровне 95 %.

Приложение А
(обязательное)

Доверительные пределы для оценки небольших количеств колониеобразующих единиц микроорганизмов

Т а б л и ц а А.1 — Доверительные пределы, когда количество колоний на чашках 15 или меньше

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ)	Доверительные пределы на уровне 95 %	
	ниже	выше
1	< 1	2
2	< 1	4
3	< 1	5
4	1	6
5	2	9
6	2	10
7	2	12
8	3	13
9	4	14
10	4	16
11	5	18
12	6	19
13	7	20
14	7	21
15	8	23

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 6887-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений	IDT	ГОСТ ISO 6887-1—2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений
ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям	IDT	ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

Библиография

[1] RADKE H., CORBOZ L. and FLÜKIGER A. 9th European A.I. Vets Meeting, 1997, Neuchâtel, Switzerland

[2] VANDERZANT C. and SPLITTSTOESSER D. F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, 1992, pp. 78—79

[3] ISO 4833:19914), Microbiology — General guidance for the enumeration of micro-organisms — Colony count technique at 30 °C

[4] COWELL N. D. and MORISETTI M. D. J. Sci. Food. Agric., 20, 1969, pp. 573—579

УДК 619:611-031.11:006.354 МКС 65.020.30 IDT

Ключевые слова: средства воспроизводства, сперма племенных быков замороженная, подсчет живых аэробных микроорганизмов

Редактор *М.Ж. Будажапова*
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 23.08.2015. Подписано в печать 27.11.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,40. Тираж 33 экз. Зак. 3913.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru