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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 17410— 2013

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Горизонтальный метод подсчета психротрофных микроорганизмов

(ISO 17410:2001, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

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 Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии)

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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 декабря 2013 г. № 63-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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 марта 2014 г. № 156-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 17410—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 17410:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета психротрофных микроорганизмов).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO/TC 34/SC 9 «Микробиология» Технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

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, 2014

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 Сущность метода 1
5 Питательные среды и жидкость для разведения 2
6 Аппаратура и стеклянная посуда 2
7 Отбор проб 3
8 Подготовка испытуемой пробы 3
9 Порядок проведения испытания 3
10 Подсчет и выражение результатов 4
11 Прецизионность 5
12 Протокол испытаний 5
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 6

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Горизонтальный метод подсчета психротрофных микроорганизмов

Microbiology of food and animal feeding stuffs.
Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и корма для животных и устанавливает метод подсчета психротрофных микроорганизмов путем подсчета количества колоний, выращенных на плотной среде, после аэробной инкубации посевов при температуре 6,5 °С.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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 rules for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологических исследований)

ISO 8261 Milk and milk products — General guidance for the preparation of tests samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination (Молоко и молочные продукты. Общие правила приготовления проб для испытаний, исходных суспензий и десятикратных разведений для микробиологических исследований)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **психротрофные микроорганизмы:** Бактерии, дрожжи и плесени, образующие колонии в условиях, установленных в настоящем стандарте.

4 Сущность метода

4.1 Для посева используют две чашки Петри, плотную неселективную питательную среду и заданное количество пробы для испытания, если исходный продукт находится в жидком состоянии, или используют заданное количество исходной суспензии в случае других продуктов. Чтобы предупредить тепловой стресс, посевной материал наносят на поверхность питательной среды.

Издание официальное

Другие пары чашек Петри готовят при аналогичных условиях, используя десятичные разведения испытуемой пробы или исходной суспензии.

4.2 Посевы в чашках Петри подвергают аэробной инкубации при температуре 6,5 °С в течение 10 дней.

4.3 Число микроорганизмов на см^3 или грамм продукта рассчитывают исходя из числа колоний, выросших на выбранных для подсчета чашках Петри.

5 Питательные среды и жидкость для разведения

Общие правила микробиологических исследований — по ISO 7218.

Используют реактивы только аналитической чистоты, если не оговорено иначе, и дистиллированную или деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

Если приготовленная питательная среда и реактивы не используются немедленно, их хранят, если не установлено иначе, в темном месте при температуре (3 ± 2) °С не более 1 мес при условиях, которые не вызывают каких-либо изменений в их составе.

5.1 Жидкость для разведения

См. ISO 6887-1.

5.2 Агар для чашечного подсчета (PCA)

5.2.1 Состав:

продукт ферментативного гидролиза казеина — 5,0 г;

экстракт дрожжей — 2,5 г;

глюкоза — 1,0 г;

агар — 9—18 г[1)];

вода — 1000 см^3.

При исследовании молочных продуктов рекомендуется добавлять 1,0 г обезжиренного порошкового молока на кубический дециметр питательной среды. Порошок из обезжиренного молока не должен содержать веществ-ингибиторов.

5.2.2 Приготовление

Растворяют компоненты или обезвоженную основу среды в воде, при необходимости подогревая. Тщательно перемешивают и выдерживают в течение нескольких минут. Устанавливают pH (6.9), если необходимо, таким образом, чтобы после стерилизации он был на уровне 7,0 ± 0,2 при 25 °С.

Разливают среду по колбам (6.10) в определенных количествах. Стерилизуют в течение 15 мин в автоклаве (6.1) при температуре 121 °С.

Если среду нужно использовать немедленно, ее охлаждают перед использованием на водяной бане (6.7) при температуре от 44 °С до 47 °С.

В каждую из пронумерованных соответствующим образом чашек Петри (6.5) помещают примерно 15 см^3 свежеприготовленной или расплавленной готовой среды. Среде дают затвердеть.

Непосредственно перед использованием осторожно подсушивают поверхность среды в чашках Петри желательно при снятых крышках и агаровой поверхностью, направленной вниз, в инкубаторе (6.3) при температуре от 37 °С до 55 °С, пока поверхность агара не высохнет. Поверхность агаризованной среды в чашках Петри можно также подсушить в шкафу с ламинарным течением воздуха в течение 30 мин при открытых наполовину крышках или в течение ночи при закрытых крышках (см. ISO 7218).

6 Аппаратура и стеклянная посуда

Общие требования — по ISO 7218.

Можно использовать на выбор многоразовую стеклянную посуду или одноразовую аппаратуру, если они имеют одинаковые спецификации.

В микробиологических лабораториях обычно используют следующее оборудование:

6.1 Автоклав, обеспечивающий работу при температуре 121 °С.

6.2 Печь для сухой стерилизации, обеспечивающая работу при температуре от 170 °С до 175 °С в течение 1 ч.

6.3 Инкубатор, обеспечивающий работу при температуре от 37 °С до 55 °С.

6.4 Инкубатор, обеспечивающий работу при температуре (6,5 ± 1) °С.

[1)] В зависимости от желирующих свойств агара.

6.5 Чашки Петри, изготовленные из стекла или пластика, диаметром примерно 90—100 мм.

6.6 Пипетки, калиброванные для бактериологического применения номинальной вместимостью 0,1; 1 и 10 $см^3$.

6.7 Водяные бани или аналогичная аппаратура, одна — обеспечивающая температуру от 44 °С до 47 °С и другая — обеспечивающая температуру кипящей воды.

6.8 Оборудование для подсчета колоний, состоящее из освещенного основания для чашки Петри и, на выбор, из механического или электронного цифрового счетчика.

6.9 pH-метр, позволяющий проводить измерения с точностью до ±0,1 ед. pH.

6.10 Склянки и колбы подходящей вместимости для приготовления, стерилизации и, если необходимо, хранения питательных сред.

6.11 Стеклянные или пластиковые шпатели, стерильные, для распределения посевного материала по поверхности питательной среды.

7 Отбор проб

Важно, чтобы лаборатория получила пробу, которая является в полной мере представительной для продукта. Она не должна быть повреждена или изменена в процессе транспортирования или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящем стандарте. В случае отсутствия конкретного стандарта на отбор проб продукта рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны достигли согласия по процедуре отбора проб.

8 Подготовка испытуемой пробы

Испытуемую пробу готовят в соответствии с ISO 6887-1 или для молочных продуктов — ISO 8261.

9 Порядок проведения испытания

9.1 Проба для испытания, исходная суспензия и разведения

Отбирают пробу для испытания, готовят исходную суспензию (первичное разведение) и последующие разведения по ISO 6887-1 или для молочных продуктов — по ISO 8261.

9.2 Инокуляция и инкубация

9.2.1 Проводят посев на две чашки Петри пробы для испытания (если проба жидкая) или из первичного исходного разведения других продуктов и каждого выбранного для посева разведения. Переносят с помощью стерильной пипетки (6.6) 0,1 $см^3$ жидкого продукта, исходной суспензии (первичное разведение) или других разведений в середину каждой чашки Петри, снабженной надписью и содержащей среду PCA (5.3).

9.2.2 Тщательно распределяют посевной материал равномерно и, по возможности, быстро по поверхности среды, не касаясь стенок чашки Петри, с помощью шпателя (6.11), пока на поверхности агара не останется видимой жидкости.

Должна быть выбрана контрольная чашка Петри без посевного материала для проверки стерильности. Используют новый шпатель для каждой чашки Петри. Можно использовать тот же самый шпатель для всех разведений из одной пробы, начиная с самого большого разведения и затем в порядке возрастания до разведения, содержащего самое большое количество испытуемого материала.

9.2.3 Переворачивают чашки, приготовленные по 9.2.2, и помещают их в инкубатор (6.4) при температуре 6,5 °С. В инкубаторе посевы выдерживают в течение 10 сут.

9.3 Подсчет

По истечении установленного срока инкубации (см. 9.2.3) подсчитывают колонии в каждой чашке Петри, содержащей не более 150 колоний, используя приспособление для подсчета колоний (6.8). Важно, чтобы очень мелкие колонии были включены в подсчет, но также важно, чтобы оператор ошибочно не принял частицы нерастворенного или осажденного материала в чашках за мелкие колонии.

Разросшиеся колонии должны считаться как отдельные колонии. Если менее чем четверть чашки занято чрезмерно выросшими растекшимися колониями, то считают колонии на остальной части чашки, а затем вычисляют соответствующее число колоний для всей чашки. Если более четверти чашки занято чрезмерно выросшими растекшимися колониями, эту чашку не используют для подсчета.

10 Подсчет и выражение результатов

10.1 Подсчет

См. ISO 7218.

Для достоверности результата необходимо, чтобы хотя бы в одной чашке было подсчитано не менее 15 колоний.

Рассчитывают число колониеобразующих единиц (КОЕ) психротрофных микроорганизмов N на грамм или см^3 пробы по формуле

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

где ΣC — сумма всех колоний, подсчитанных на двух последовательных разведениях, каждая из которых содержит не менее 15 колоний;

V — объем посевного материала, помещенного в каждую чашку, см^3;

n_1 — число чашек, взятых из первого разведения;

n_2 — число чашек, взятых из второго разведения;

d — коэффициент разведения, относящийся к выбранному первому разведению.

Примечание — Наименьшее разведение — это разведение с наибольшим содержанием пробы для испытания.

10.2 Выражение результатов

10.2.1 Общий случай: чашки содержат от 15 до 150 колоний

Результаты округляют до двух значащих цифр. Если третья цифра меньше 5, предыдущую цифру не изменяют; если третья цифра больше или равна 5, предыдущую цифру увеличивают на единицу. Например, 28500 округляют до 29000, а 11500 до 12000.

В качестве результата принимают КОЕ психротрофных микроорганизмов на см^3 (жидкого продукта) или на грамм (других продуктов). Выражают результат как число между 1,0 и 9,9, умноженное на 10 в соответствующей степени, или как целое число с двумя значащими цифрами.

10.2.2 Оценка малых количеств

Если две чашки с соответствующей пробой для испытания (жидкие продукты) или исходной суспензией (другие продукты) содержат менее 15 колоний, рассчитывают среднее арифметическое значение числа колоний, подсчитанных в обеих чашках.

Результаты выражают следующим образом:

- оценивают число психротрофных микроорганизмов N_E, на см^3 (жидкие продукты) или на грамм (другие продукты), используя формулу

$$N = \frac{\Sigma C}{(V \cdot n \cdot d)}, \quad (2)$$

где ΣC — сумма всех колоний, подсчитанных на двух чашках;

V — объем посевного материала, помещенного в каждую чашку, см^3;

n — число чашек, используемых для подсчета (в данном случае $n = 2$);

d — коэффициент разведения исходной суспензии или разведения с посеянным материалом.

10.2.3 Отсутствие колоний

Если в двух чашках с соответствующей пробой для испытания (жидкие продукты) или исходной суспензией (другие продукты) не содержится колоний, результаты сообщают следующим образом:

- менее $1/(V \cdot d)$ психротрофных микроорганизмов на см^3 (жидкие продукты) или на грамм (другие продукты):

где V — объем посевного материала, помещенного в каждую чашку, см^3;

d — коэффициент разведения для суспензии.

10.2.4 Оценка больших чисел

Если чашки Петри с посевами содержат свыше 150 колоний, рассчитывают и оценивают среднее арифметическое по чашкам, содержащим примерно 150 колоний.

Результат выражают, используя формулу (3):

- число психротрофных микроорганизмов, N на см^3 (жидкие продукты) или на г (другие продукты):

$$N' = \frac{\Sigma C}{(V \cdot n \cdot d)}, \quad (3)$$

где ΣC — сумма всех колоний, подсчитанных на двух чашках;

V — объем посевного материала, помещенного в каждую чашку, см^3;

n — число чашек, используемых для подсчета (в данном случае $n = 2$);

d — коэффициент разведения, соответствующий выбранному для подсчета разведению.

10.3 Пример расчета

Микроорганизмы подсчитали, используя 0,1 см^3 посевного материала, и получили следующие результаты:

- при разведении 10^{-2}: 138 и 125 колоний;
- при разведении 10^{-3}: 20 и 18 колоний.

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0{,}1 n_2)d} = \frac{138 + 125 + 20 + 18}{0{,}1[2 + (0{,}1 \cdot 2)] \cdot 10^{-2}} = \frac{301}{0{,}0022} = 136818.$$

Округление результата в соответствии с ISO 7218 дает 140000 или $1{,}4 \cdot 10^5$ КОЕ психротрофных микроорганизмов на см^3 или на грамм продукта.

11 Прецизионность

В соответствии с распределением Пуассона для микроорганизмов в субстрате, пределы достоверности настоящего метода по подсчету колоний изменяются приблизительно от 16 % до 52 % [1]. На практике может быть обнаружен и больший разброс.

Более подробная информация по пределам достоверности для оценки малого количества микроорганизмов приведена в ISO 7218.

12 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

- всю необходимую информацию для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб, если он известен;
- использованный метод испытания (РСА с порошком обезжиренного молока или без него);
- все подробности испытания, не указанные в настоящем стандарте, а также подробности любых факторов, которые могли повлиять на конечный результат(ы) испытаний;
- полученный результат(ы), указав примененный метод выражения результатов;
- в случае проверки сходимости, окончательный полученный зарегистрированный результат.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего 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	—	*
ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологических исследований	IDT	ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
ISO 8261 Молоко и молочные продукты. Приготовление контрольных проб и растворов для микробиологического анализа	—	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичный стандарт.

Библиография

[1] Cowell and Morisetti, J. Sc. Fd. Agri., 20, 1969, p. 573

[2] IDF Standard 132A:1991, Milk — Estimation of numbers of psychrotrophic microorganisms, rapid colony count technique, 25 hours at 21 °C

[3] ISO 6887-2:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products

[4] ISO 6887-3:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products

[5] ISO 6887-4:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products

[6] ISO 6887-5:2010 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products

УДК 543.9:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: микробиология, пищевые продукты, корма для животных, горизонтальный метод подсчета, психротрофные микроорганизмы, инкубирование посевов, чашки Петри, колонии, КОЕ, колониеобразующие единицы, инокуляция, инкубация

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Е.В. Беспрозванная*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 21.07.2014. Подписано в печать 21.08.2014. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90. Тираж 43 экз. Зак. 3339.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru