ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 13720— 2011

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Подсчет количества презумптивных *Pseudomonas spp.*

ISO 13720:2010
Meat and meat products — Enumeration of presumptive *Pseudomonas spp.*
(IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

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 Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии) на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 226 «Мясо и мясная продукция»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. № 943-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 13720:2010 «Мясо и мясные продукты. Подсчет количества презумптивных *Pseudomonas spp.*» (ISO 13720:2010 «Meat and meat products — Enumeration of presumptive *Pseudomonas spp.*»).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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, 2014

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 2
5 Приготовление разведений, питательных сред и реактивов 2
6 Оборудование 3
7 Отбор проб 4
8 Подготовка проб 4
9 Порядок проведения испытаний 4
10 Обработка результатов 5
11 Оформление протокола испытаний 5
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов ссылочным межгосударственным стандартам 6
Библиография 7

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Подсчет количества презумптивных *Pseudomonas spp.*

Meat and meat products. Enumeration of presumptive Pseudomonas spp.

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо и мясные продукты, включая мясо птицы, и устанавливает метод подсчета количества презумптивных *Pseudomonas spp.*

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ИСО 6887-1—1999 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений (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)

ИСО 6887-2—2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила для подготовки мяса и мясных продуктов (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)

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

ИСО 11133-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Правила приготовления и производства питательных сред. Часть 1. Общие правила по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории (ISO/TS 11133-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory)

ИСО 11133-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Правила приготовления и производства питательных сред. Часть 2. Практическое руководство по определению эффективности питательных сред (ISO/TS 11133-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

презумптивные *Pseudomonas spp.* (presumptive *Pseudomonas spp.*): Бактерии, образующие колонии на цефалотин-фуцидин натрия-цетримидном агаре (CFC агар) при температуре культивирования 25 °С и дающие положительную реакцию в тесте на наличие оксидазы при проведении исследования в соответствии с настоящим стандартом.

Издание официальное

4 Сущность метода

Метод основан на высеве определенного количества исходной суспензии, ее десятикратных разведений на CFC агар и в последующем подсчете количества презумптивных *Pseudomonas spp.*

Посевы инкубируют при температуре 25 °С в течение (44 ± 4) ч.

Наличие на агаре колоний презумптивных *Pseudomonas spp.* подтверждается тестом на оксидазу (оксидазоположительные).

Количество презумптивных *Pseudomonas spp.* в 1 г (см^3) исследуемой пробы рассчитывается исходя из количества подтвержденных колоний на чашке с CFC агаром.

5 Приготовление разведений, питательных сред и реактивов

5.1 Общие требования

Общие правила проведения лабораторных исследований должны удовлетворять требованиям ИСО 7218; подготовка и тестирование питательных сред — ИСО 11133-1 и ИСО 11133-2.

5.2 Приготовление разведений

Десятикратные разведения готовят в соответствии с ИСО 6887-1 и ИСО 6887-2.

5.3 Цефалотин-фуцидин натрия-цетримидин агар (CFC агар) [1]

5.3.1 Основа среды

5.3.1.1 Состав:

- желатин ферментативно гидролизованный . . . . . 16,0 г;
- казеин ферментативно гидролизованный . . . . . 10,0 г;
- сульфат калия (K_2SO_4) . . . . . 10,0 г;
- хлорид магния ($MgCl_2$) . . . . . 1,4 г;
- агар* . . . . . от 12,0 до 18,0 г;
- дистиллированная вода . . . . . 1000 см^3.

5.3.1.2 Приготовление

Компоненты или сухую готовую среду растворяют в дистиллированной воде при нагревании.

При необходимости устанавливают pH среды (см. 6.4) так, чтобы после стерилизации его значение составляло 7,2 ± 0,2 при температуре 25 °С. Разливают основу питательной среды в колбы или флаконы соответствующего объема (см. 6.6) и стерилизуют в автоклаве (см. 6.1) при температуре 121 °С в течение 15 мин.

5.3.2 Растворы селективных добавок

Растворы хранят при температуре (5 ± 3) °С не более 7 сут.

5.3.2.1 Раствор цефалотина

5.3.2.1.1 Состав:

цефалотина натриевая соль . . . . . 0,1 г;
дистиллированная вода . . . . . 100 см^3.

5.3.2.1.2 Приготовление

Натриевую соль цефалотина растворяют в дистиллированной воде и стерилизуют раствор путем фильтрования.

5.3.2.2 Раствор фуцидина натрия

5.3.2.2.1 Состав:

фуцидин натрия . . . . . 0,1 г;
дистиллированная вода . . . . . 100 см^3.

5.3.2.2.2 Приготовление

Фуцидин натрия растворяют в дистиллированной воде и стерилизуют раствор путем фильтрования.

5.3.2.3 Раствор цетримида

5.3.2.3.1 Состав:

цетримид** . . . . . 0,1 г;
дистиллированная вода . . . . . 100 см^3.

---

* Используемая масса зависит от прочности агарового геля.

** Смесь состоит в основном из тетрадецилтриметиламмония бромида с небольшим количеством додецилтриметиламмония бромида и цетримония (гексадецилтриметиламмония) бромида.

5.3.2.3.2 Приготовление

Цетримид растворяют в дистиллированной воде и стерилизуют раствор путем фильтрования.

5.3.3 Готовая среда

5.3.3.1 Состав среды

	Объем, см^3	Концентрация, мг/см^3
Основа питательной среды (см. 5.3.1)	100	—;
Раствор цефалотина (см. 5.3.2.1)	5	50;
Раствор фуцидина натрия (см. 5.3.2.2)	1	10;
Раствор цетримида (см. 5.3.2.3)	1	10.

5.3.3.2 Приготовление

В основу питательной среды, охлажденную на водяной бане (см. 6.3) до температуры (47 ± 2) °С, добавляют растворы ингибиторов и тщательно перемешивают.

5.3.4 Приготовление чашек с CFC агаром

В стерильные чашки Петри (см. 6.8) разливают готовую среду примерно по 15 см^3 и дают агару затвердеть.

Непосредственно перед применением среду в чашках подсушивают в соответствии с ИСО 11133-1.

Среду в чашках Петри хранят не более четырех недель при температуре (5 ± 3) °С.

5.3.5 Определение эффективности питательной среды

Определение продуктивности и селективности среды проводят в соответствии с ИСО 11133-1. Эффективность CFC агара должна быть проверена по методам и критериям ИСО 11133-2.

5.3.5.1 Определение продуктивности

Инкубация: при температуре 25 °С в течение (44 ± 4) ч.

Штаммы: *Pseudomonas fluorescens* WDCM 00115* или *Pseudomonas flagi* WDCM 00116*.

Эталонная среда: трипказо-соевый агар (TSA).

Метод контроля: количественный.

Критерий: коэффициент продуктивности $P_R > 0,5$.

5.3.5.2 Определение селективности

Инкубация: при температуре 25 °С в течение (44 ± 4) ч.

Штаммы: *Escherichia coli* WDCM 00013*.

Метод контроля: количественный.

Критерий: полное ингибирование роста.

5.4 Реактив для определения оксидазы

5.4.1 Состав:

N, N, N′, N′ — тетраметил-*p*-фенилендиамин дигидрохлорид — 1,0 г;

дистиллированная вода — 100 см^3.

5.4.2 Приготовление

Реактив растворяют в дистиллированной воде непосредственно перед применением. Могут быть использованы готовые (имеющиеся в продаже) диски или пластинки. В этом случае следуют рекомендациям изготовителя.

6 Оборудование

Используют следующее лабораторное оборудование для микробиологических исследований в соответствии с ИСО 7218, в частности:

6.1 Термостат для сухой стерилизации или автоклав для влажной стерилизации.

6.2 Термостат, поддерживающий температуру (25 ± 1) °С.

6.3 Баня водяная, поддерживающая температуру (47 ± 2) °С.

6.4 pH-метр с точностью измерения ± 0,05 единиц.

6.5 Петли, изготовленные из платиново-иридиевого сплава или эквивалентные стерильные одноразовые петли.

---

* Справочный каталог штаммов, доступный на gost.e-ecolog.ru Reference Strain Catalogue, для информации о коллекции культур ряда штаммов и детали контактов.

Допускаются к использованию и другие штаммы указанных в настоящем стандарте видов микроорганизмов с аналогичными свойствами.

6.6 Пробирки, бутылки или колбы необходимого объема.

6.7 Пипетки градуированные, стерильные, вместимостью 1 $см^3$, с ценой деления 0,1 $см^3$ по [2] класса А или автоматические пипетки по [3], с использованием стерильных наконечников.

6.8 Чашки Петри стеклянные или полимерные диаметром от 90 до 100 мм.

6.9 Шпатели стеклянные или пластиковые, например шпатель стеклянный в форме хоккейной клюшки, диаметром 3,5 мм, длиной 200 мм, имеющий изгиб под прямым углом приблизительно 30 мм от одного конца, с оплавленными концами.

7 Отбор проб

Метод отбора проб не входит в настоящий стандарт. При отсутствии стандарта, описывающего отбор проб исследуемого продукта, пробы отбирают по специальному соглашению между заинтересованными сторонами.

Следует обеспечить условия, чтобы лаборатория получила пробы, которые были бы представительными и не были бы повреждены или изменены при транспортировании или хранении (см. ИСО 7218).

8 Подготовка проб

Подготовку проб к исследованию проводят в соответствии с ИСО 6887-1 и ИСО 6887-2 и/или по определенным стандартам, разработанным для рассматриваемых групп продукции, или по специальному соглашению между заинтересованными сторонами.

9 Порядок проведения испытаний

9.1 Навеска, исходная суспензия и разведения

Приготовление исходной суспензии и ее десятикратных разведений проводят в соответствии с ИСО 6887-2.

9.2 Посев и инкубация

9.2.1 Для посева каждого разведения используют одну чашку с агаром и не менее двух последовательных разведений в соответствии с ИСО 7218.

При посеве только одного разведения используют не менее двух чашек Петри с агаром.

9.2.2 0,1 $см^3$ исходной суспензии вносят в чашку с CFC агаром (см. 5.3.4). В другую чашку с CFC агаром вносят 0,1 $см^3$ из первого десятикратного разведения.

Эту процедуру повторяют с каждым из последующих десятикратных разведений, используя каждый раз чистую стерильную пипетку.

9.2.3 Посевной материал растирают по поверхности агара шпателем (см. 6.9) до тех пор, пока его поверхность не станет сухой.

9.2.4 Чашки с посевами инкубируют вверх дном в термостате (см. 6.2) при температуре 25 °С в течение (44 ± 4) ч.

9.3 Подсчет и отбор колоний

После инкубирования отбирают чашки, содержащие не более 150 колоний.

С каждой такой чашки произвольно отбирают не менее пяти колоний различных типов.

9.4 Идентификация

9.4.1 Оксидазный тест

Часть фильтровальной бумаги увлажняют оксидазным реактивом (см. 5.4.2). Затем на фильтровальную бумагу с помощью пластмассовой петли или петли из платиново-иридиевого сплава по 6.5 (никель-хромовая петля дает ложноположительные результаты) наносят отобранную колонию.

Если через 5—10 с фильтровальная бумага окрашивается в фиолетовый цвет, тест на оксидазу считается положительным.

Если в течение 30 с цвет фильтровальной бумаги не изменился, тест на оксидазу считается отрицательным.

Результаты подтверждают, используя положительные и отрицательные контрольные штаммы микроорганизмов. Примерами контрольных штаммов могут быть *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025 (положительный контроль), *Escherichia coli* WDCM 00013 (отрицательный контроль).

9.4.2 Оценка результатов

Оксидазоположительные микроорганизмы оценивают как презумтивные *Pseudomonas spp.*

10 Обработка результатов

Обработку результатов проводят в соответствии с ИСО 7218.

11 Оформление протокола испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

a) информацию, необходимую для полной идентификации образца;

b) метод исследования со ссылкой на настоящий стандарт;

c) полученные результаты;

d) все подробности проведения испытаний, не предусмотренные настоящим стандартом или считающиеся необязательными, но которые могут повлиять на результат.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов ссылочным межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ИСО 6887-1	—	*
ИСО 6887-2	—	*
ИСО 7218	IDT	ГОСТ ISO 7218—2011 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям»
ИСО 11133-1	IDT	ГОСТ ISO 11133-1—2011 «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»
ИСО 11133-2	IDT	ГОСТ ISO 11133-2—2011 «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»

* Соответствующий национальный 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] MEAD, G.C., ADAMS, B.W. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. Br. Poult. Sci. 1977, 18, pp. 661—670

[2] ИСО 835 Посуда лабораторная стеклянная. Мерные градуированные пипетки (ISO 835 Laboratory glassware — Graduated pipettes)

[3] ИСО 8655-2 Устройства мерные, приводимые в действие поршнем. Часть 2. Пипетки, приводимые в действие поршнем (ISO 8655-2 Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Piston pipettes)

УДК 637.5.075:006.034 ОКС 67.120.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, мясо птицы, презумптивные *Pseudomonas spp.,* CFC агар, оксидазный тест

Редактор *И.В. Алферова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *О.Д. Черепковой*

Сдано в набор 23.12.2013. Подписано в печать 15.01.2014. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.
Уч.-изд. л. 0,95. Тираж 163 экз. Зак. 36.

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

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

gost.e-ecolog.ru