

# МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ

# ISO 13720

Второе издание  
2010-08-15

---

---

## Мясо и мясные продукты. Подсчет видов предполагаемых псевдомонад

*Meat and meat products — Enumeration of presumptive Pseudomonas spp.*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.itech.ai)

ISO 13720:2010

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/84cfef19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R  
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер  
ISO 13720:2010(R)

© ISO 2010

**Отказ от ответственности при работе в PDF**

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или вывести на экран, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на загрузку интегрированных шрифтов в компьютер, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 13720:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe119-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO 2010

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO по соответствующему адресу, указанному ниже, или комитета-члена ISO в стране заявителя.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Главная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Обращается внимание на то, что некоторые элементы данного документа могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо одного или всех таких патентных прав.

ISO 13720 был разработан Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 9, *Микробиология*.

Это второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 13720:1995), которое было технически пересмотрено

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>



# Мясо и мясные продукты. Подсчет видов предполагаемых псевдомонад

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод для подсчета видов предполагаемых псевдомонад (*Pseudomonas* spp.), присутствующих в мясе и мясных продуктах, включая домашнюю птицу.

## 2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

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 6887-2, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специфические правила для приготовления мяса и мясных продуктов*

ISO 7218, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и руководство для микробиологических исследований*

ISO/TS 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 11133-2, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Правила приготовления и производства питательных сред. Часть 2. Практическое руководство по определению эффективности питательных сред*

## 3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются следующие термины и определения.

### 3.1

#### **виды предполагаемых псевдомонад presumptive *Pseudomonas* spp.**

бактерии, которые при 25 °C образуют колонии в агаре с цефалотином-фузидатом натрия-цетримидом (CFC) и которые показывают положительную реакцию на оксидазу при испытании методом, описанным в настоящем международном стандарте

## 4 Сущность метода

Исходную суспензию и десятичные разведения готовят из пробы для испытания.

## ISO 13720:2010(R)

Твердую селективную среду, агар CFC, инокулируют заданным количеством исходной суспензии данного продукта.

Другие пластинки с агаровой средой готовят в таких же условиях, используя десятичные разведения исходной суспензии.

Пластинки инкубируют при 25 °C в течение 44 ч ± 4 ч.

Колонии предполагаемых видов псевдомонад подтверждают испытанием на оксидазу (положительная реакция).

Количество предполагаемых видов псевдомонад на миллилитр или на грамм пробы для испытания вычисляют из числа подтвержденных колоний на пластинке.

## 5 Разбавитель, культурная среда и реактив

### 5.1 Общие положения

Существующую лабораторную практику см. в ISO 7218; приготовление и испытание культурных сред см. в ISO/TS 11133-1 и ISO/TS 11133-2.

### 5.2 Разбавитель

См. ISO 6887-1 и ISO 6887-2.

### 5.3 Агар с цефалотином-фузидатом натрия-цетримидом (см. Ссылку [3])

#### 5.3.1 Основная среда

##### 5.3.1.1 Состав

Ферментативный перевар желатина	16,0 г
Ферментативный перевар казеина	10,0 г
Сульфат калия (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	10,0 г
Хлорид магния (MgCl <sub>2</sub> )	1,4 г
Агар <sup>a</sup>	12,0 г до 18,0 г
Вода	1 000 мл

<sup>a</sup> Используемая масса зависит от желирующей способности агара.

##### 5.3.1.2 Приготовление

Растворяют основные компоненты или обезвоженную основную среду в воде, доводя до кипения.

Регулируют pH (6.4), если необходимо, так чтобы после стерилизации он был 7,2 ± 0,2 при 25 °C.

Распределяют основную среду по колбам или бутылкам подходящей вместимости (6.6).

Стерилизуют в течение 15 мин в автоклаве (6.1) при 121 °C.

### 5.3.2 Ингибиторные растворы

Не следует держать растворы более 7 дней при 5 °C ± 3 °C.

#### 5.3.2.1 Раствор цефалотина

##### 5.3.2.1.1 Состав

Цефалотина натриевая соль <sup>а</sup>	0,1 г
Вода	100 мл

#### 5.3.2.1.2 Приготовление

Растворяют цефалотин в воде и стерилизуют раствор фильтрацией.

#### 5.3.2.2 Раствор фузидата натрия

##### 5.3.2.2.1 Состав

Фузидат натрия	0,1 г
Вода	100 мл

##### 5.3.2.2.2 Приготовление

Растворяют фузидат натрия в воде и стерилизуют раствор фильтрацией.

#### 5.3.2.3 Раствор цетримиды

##### 5.3.2.3.1 Состав

Цетримид <sup>а</sup>	0,1 г
Вода	100 мл
<sup>а</sup> Смесь, состоящая в основном из бромиды тетрадецилтриметиламмония и меньших количеств бромиды додецилтриметиламмония и бромиды цетримония (гексадецилтриметиламмоний).	

##### 5.3.2.3.2 Приготовление

Растворяют цетримид в воде и стерилизуют раствор фильтрацией.

#### 5.3.3 Полная среда

##### 5.3.3.1 Состав

	Объем мл	Окончательная концентрация мкг/мл
Основная среда (5.3.1)	100	—
Раствор цефалотина (5.3.2.1)	5	50
Раствор фузидата натрия (5.3.2.2)	1	10
Раствор цетримиды (5.3.2.3)	1	10

##### 5.3.3.2 Приготовление

Добавляют ингибиторные растворы к основной среде, охлажденной в водяной бане (6.3) до 47 °C ± 2 °C, затем тщательно перемешивают.

### 5.3.4 Приготовление пластинок с агаровой средой CFC

Наливают приблизительно по 15 мл полной среды (5.3.3) в стерильные чашки Петри (6.8) и оставляют для затвердевания.

Непосредственно перед применением агаровые пластинки следует просушить согласно ISO/TS 11133-1.

Если агаровые пластинки приготовлены заранее, то не высушенные пластинки следует хранить не более 4 недель при  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 5.3.5 Определение эффективности

Для определения селективности и продуктивности следует обратиться к ISO/TS 11133-1. Рабочие характеристики агара CFC испытывают, используя методы и критерии, описанные в ISO/TS 11133-2.

#### 5.3.5.1 Продуктивность

Инкубация: При  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение  $44\text{ ч} \pm 4\text{ ч}$

Штамм: *Флуоресцирующие псевдомонады* WDCM 00115<sup>1)</sup> (Всемирный центр данных о микроорганизмах) или

*Псевдомонады фраги* (психрофильные грамотрицательные бактерии) WDCM 00116<sup>1)</sup>

Контрольная среда: Соево-казеиновая гидролизатная агаровая среда (TSA)

Метод контроля: Количественный

Критерии: Коэффициент продуктивности  $P_R \geq 0,5$

#### 5.3.5.2 Селективность

Инкубация: При  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение  $44\text{ ч} \pm 4\text{ ч}$

Штамм: Грамотрицательная палочковидная бактерия *Escherichia coli* WDCM 00013<sup>1)</sup>

Метод контроля: Количественный

Критерии: Полное ингибирование

### 5.4 Реактив для обнаружения оксидазы

#### 5.4.1 Состав

<i>N,N,N',N'</i> -Тетраметил- <i>p</i> -фенилендиамин дигидрохлорид	1,0 г
Вода	100 мл

#### 5.4.2 Приготовление

Реактив растворяют в воде непосредственно перед использованием.

Можно использовать поставляемые промышленностью диски или палочки. В этом случае нужно соблюдать рекомендации изготовителя.

1) Информацию о номерах штаммов в коллекции культур и контактную информацию см. в каталоге штаммов (от 2010-07-19) на сайте [http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue](http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM_Reference_Strain_Catalogue)



## 6 Оборудование

Используется обычное микробиологическое лабораторное оборудование (см. ISO 7218) и, в частности, следующее.

- 6.1 Термостат для сухой стерилизации или автоклав для мокрой стерилизации.**
- 6.2 Инкубатор**, обеспечивающий работу при  $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .
- 6.3 Водяная баня**, обеспечивающая работу при  $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .
- 6.4 pH-метр**, обеспечивающий измерения с точностью  $\pm 0,05$  единиц pH.
- 6.5 Петли**, сделанные из платиноиридиевого сплава или аналогичные стерильные одноразовые петли.
- 6.6 Пробирки, бутылки или колбы** подходящей вместимости.
- 6.7 Пипетки полного слива**, стерильные, номинальной емкостью 1 мл и градуированные с делениями 0,1 мл, ISO 835<sup>[1]</sup> класс А, или автоматические пипетки, ISO 8655-2<sup>[2]</sup>, с использованием стерильных наконечников.
- 6.8 Чашки Петри**, сделанные из стекла или пластика, диаметром от 90 мм до 100 мм.
- 6.9 Шпатели**, сделанные из стекла или пластика, например клюшки, изготовленные из стеклянной палочки диаметром приблизительно 3,5 мм и длиной 200 мм, изогнутые под прямым углом на расстоянии около 30 мм и имеющие отожженные срезанные концы.

## 7 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, установленного в этом международном стандарте. Если для рассматриваемого продукта отсутствует специальный международный стандарт на отбор проб, то рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны пришли к соглашению по этому вопросу.

Важно, чтобы лаборатория получила действительно репрезентативную пробу, с которой не произошло никаких изменений или повреждений во время транспортировки или хранения (см. ISO 7218).

## 8 Приготовление пробы для испытания

Пробу для испытания готовят согласно ISO 6887-1 и ISO 6887-2 и/или согласно специальному международному стандарту, подходящему для рассматриваемого продукта. Если нет никакого специального международного стандарта, рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны пришли к соглашению по этому вопросу.

## 9 Процедура

### 9.1 Испытательный образец, исходная суспензия и разведения

Готовят исходную суспензию согласно ISO 6887-2.

### 9.2 Инокуляция и инкубация

**9.2.1** Согласно ISO 7218 следует использовать одну пластинку на разведение при проведении как минимум двух последовательных разведений. Если выполняется только одно разведение, тогда используются две пластинки.

**9.2.2** Берут одну пластинку с агаром CFC (5.3.4). Переносят пипеткой (6.7) 0,1 мл исходной суспензии на пластинку.

Берут другую пластинку с агаром CFC. Переносят другой стерильной пипеткой 0,1 мл первого

десятичного разведения исходной суспензии на пластинку.

Повторяют эти операции с последующими разведениями, используя чистую стерильную пипетку для каждого десятичного разведения.

**9.2.3** Распределяют жидкость по поверхности агаровой пластинки стерильным шпателем (6.9), пока поверхность не станет полностью сухой.

**9.2.4** Инкубируют приготовленные таким образом чашки, перевернутые крышками вниз, в инкубаторе (6.2) при  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение  $44\text{ ч} \pm 4\text{ ч}$ .

### 9.3 Подсчет и селекция колоний

После заданного периода инкубации подсчитывают колонии на каждой пластинке и оставляют пластинки, содержащие менее 150 колоний.

Произвольно отбирают пять колоний, включая все типы колоний, с каждой оставленной пластинки для подтверждения (9.4).

### 9.4 Подтверждение

#### 9.4.1 Реакция на оксидазу

Увлажняют кусок фильтровальной бумаги оксидазным реактивом (5.4.2). Берут материал из отобранной колонии с помощью петли из платиноиридиевого сплава или пластика (петля из никелехромового сплава дает ложные положительные результаты) (6.5) и осаждают его на увлажненную фильтровальную бумагу.

Если присутствует оксидаза, то появляется окраска от фиолетовой до пурпурной в период от 5 с до 10 с. Если цвет не меняется через 30 с, тест считается отрицательным.

Для подтверждения результатов проводят положительный и отрицательный контроль. Примерами подходящих контрольных штаммов являются *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025<sup>2</sup>) (положительный контроль), *Escherichia coli* WDCM 00013<sup>2</sup>) (отрицательный контроль).

#### 9.4.2 Интерпретация

Колонии, которые показывают положительную реакцию на оксидазу, считаются колониями предполагаемых видов псевдомонад.

## 10 Выражение результатов

См. ISO 7218.

## 11 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать как минимум следующую информацию:

- а) всю информацию, требуемую для полной идентификации пробы;
- б) используемый метод испытания со ссылкой на этот международный стандарт (ISO 13720:2010);
- в) полученные результаты;
- д) все рабочие детали, не установленные в этом международном стандарте или считающиеся необязательными, вместе с деталями любого инцидента, который мог повлиять на результат(ы).

---

2) Информацию о номерах штаммов в коллекции культур и контактную информацию см. в каталоге штаммов (от 2010-07-19) на сайте [http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue](http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM_Reference_Strain_Catalogue)