
ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(ЕАСС)

EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
ISO 6222

*(проект, ВУ,
первая редакция)*

КАЧЕСТВО ВОДЫ

**Подсчет культивируемых микроорганизмов
Подсчет колоний при посеве в питательную
агаризованную среду**

(ISO 6222:1999, IDT)

Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия

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 _____ 20 ____ г.)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Грузия	GE	Грузстандарт
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Туркменистан	TM	Главгосслужба «Туркменстандартлары»
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 6222:1999. Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium (Качество воды. Подсчет культивируемых микроорганизмов. Подсчет колоний при посеве в питательную агаровую среду).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 9 «Микробиология» технического комитета 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 стандарт внесены следующие редакционные изменения: в разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на международные стандарты актуализированы.

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

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»

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Сущность метода.....	1
5 Оборудование и стеклянная посуда	2
6 Отбор проб	2
7 Питательные среды и разбавители	2
8 Методика	2
9 Выражение результатов	3
10 Протокол испытаний.....	3
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту.....	4

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

КАЧЕСТВО ВОДЫ
Подсчет культивируемых микроорганизмов
Подсчет колоний при посеве в питательную агаризованную среду

Water quality. Enumeration of culturable micro-organisms.
Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium

Дата введения — _____

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод подсчета культивируемых микроорганизмов в воде путем подсчета колоний, сформированных в питательной агаризованной среде после аэробной инкубации при температурах 36 °С и 22 °С.

Настоящий стандарт применим при оценке эффективности водоочистных процессов и для общего применения для всех типов воды. Он, в частности, применим к исследованию воды, предназначенной для потребления человеком, в том числе упакованной, и к природным минеральным водам.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

EN ISO 3696 Water for analytical laboratory use - Specification and test methods (ISO 3696:1987) (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

EN ISO 5667-3 Water quality - Sampling - Part 3: Preservation and handling of water samples (ISO 5667-3:1994) (Качество воды. Отбор проб. Часть 3. Консервация и обработка проб воды)

EN ISO 5667-1¹ Water quality - Sampling - Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques (ISO 5667-1:2006) (Качество воды. Отбор проб. Часть 1. Руководство по составлению программ и методик отбора проб)

ISO 6887-1² Microbiology of the food chain -- 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 пищевой цепи. Подготовка образцов для испытаний, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятичных разведений)

ISO 8199 Water quality - General guide to the enumeration of micro-organisms by culture (Качество воды. Общее руководство по подсчету микроорганизмов, выращенных методом посева на питательной среде).

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

культивируемые микроорганизмы (*culturable micro-organisms*): все аэробные бактерии, дрожжи и плесневые грибы, способные формировать колонии в среде, указанной в условиях испытания, описанных в настоящем стандарте.

4 Сущность метода

Проведение глубинного посева определенного количества образца или его разведения в указанную питательную среду на чашках Петри. Инкубация одного комплекта чашек при температуре 36 °С в течение 44 часов и другого комплекта при температуре 22 °С в течение 68 часов.

¹ Действует взамен EN 25667-2

² Действует взамен ISO 6887

Подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ) на миллилитр (мл) образца, исходя из числа колоний, сформированных в питательной среде.

5 Оборудование и стеклянная посуда

Применяют стандартное лабораторное оборудование для микробиологических исследований, а так же следующие:

- 5.1 **Оборудование для стерилизации паром (автоклав).**
- 5.2 **Инкубатор**, обеспечивающий поддержание температуры $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$.
- 5.3 **Инкубатор**, обеспечивающий поддержание температуры $(22 \pm 2) ^\circ\text{C}$.
- 5.4 **Стеклянные или пластмассовые чашки Петри** с диаметром 90 мм или 100 мм.
- 5.5 **Водяная баня**, обеспечивающая поддержание температуры $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
- 5.6 **Оборудование для подсчета колоний** методом подсвечивания на темном фоне.

6 Отбор проб

Отбор пробы воды проводят в соответствии с требованиями к отбору проб, обработке и сохранению, установленными в EN ISO 5667-1 и EN ISO 5667-3. Исследуемую воду, включая природную минеральную воду, доставленную в закрытой упаковке, допустимо хранить не более 12 часов после розлива при температуре хранения $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ в течение всего периода.

7 Питательные среды и разбавители

7.1 Основные материалы

Для подготовки сред используют ингредиенты стабильного качества, в том числе химические реактивы аналитической чистоты. Допустимо использовать эквивалентную готовую сухую среду в соответствии с инструкциями изготовителя. При приготовлении сред используют дистиллированную в стеклянном сосуде или деионизированную воду 3 степени чистоты, подготовленную в соответствии с EN ISO 3696, не содержащую веществ, которые могут ингибировать рост микроорганизмов в условиях испытания.

Примечание — Использование химических реактивов других степеней чистоты допустимо при условии получения таких же результатов испытания.

7.2 Разбавитель

Для разбавлений применяют пептонный разбавитель, соответствующий требованиям, установленным в ISO 8199.

7.3 Агар с дрожжевым экстрактом

Триптон (пептон из казеина панкреатический), г	6,0
Сухой дрожжевой экстракт, г	3,0
Агар, в виде порошка или гранул (в зависимости от необходимой прочности геля), г	От 10 до 20
Вода, мл	1000

Ингредиенты или готовую сухую среду растворяют в воде при нагревании. При необходимости рН корректируют таким образом, чтобы он был равен после стерилизации $(7,2 \pm 0,2)$ рН при температуре $25 ^\circ\text{C}$.

Разливают полученную среду в пробирки объемом от 15 мл до 20 мл, бутылки или другие емкости. Для хранения больших объемов применяют емкости объемом до 500 мл. Стерилизуют в автоклаве (5.1) при температуре $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) минут.

Перед применением среду расплавляют, охлаждают до температуры $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ и поддерживают ее посредством водяной бани (5.5). Среду рекомендуется хранить не более 4 часов при температуре $45 ^\circ\text{C}$, после чего ее утилизируют.

8 Методика

8.1 Подготовка и посев

Пробу готовят, разводят и инокулируют в соответствии с требованиями ISO 8199, EN ISO 5667-3 и ISO 6887-1.

Применяют метод глубинного посева в чашку (ISO 8199). Вносят испытуемую пробу (или ее разведение) объемом не более 2 мл в чашку Петри, добавляют 15 мл – 20 мл расплавленной среды (7.3) и тщательно перемешивают путем плавного вращения. Дают среде застыть. Промежуток времени

между внесением испытуемой пробы (или ее разведением) и моментом добавления расплавленной среды не должен превышать 15 минут. Посев проводят по меньшей мере в одну чашку для инкубации при каждом температурном режиме.

8.2 Инкубация и исследование

Переворачивают чашки и инкубируют один комплект при температуре (36 ± 2) °С в течение (44 ± 4) часов, другой комплект - при температуре (22 ± 2) °С в течение (68 ± 4) часов. Исследуют чашки, как только они будут извлечены из инкубаторов. Если это невозможно, их хранят при температуре (5 ± 3) °С и проводят исследование в течение 48 часов. В чашках со сплошным ростом микроорганизмов подсчет не производят.

8.3 Подсчет колоний

Для каждого температурного режима инкубации и в соответствии с процедурами, описанными в ISO 8199, подсчитывают колонии, присутствующие на каждой чашке и вычисляют предполагаемое количество колониобразующих единиц, присутствующих в 1 мл образца.

9 Выражение результатов

Результаты испытаний выражаются в виде количества колониобразующих единиц (КОЕ/мл) в миллилитре образца для каждого температурного режима инкубации. Если в чашках, инокулированных испытательными объемами неразбавленного образца, колонии отсутствуют, то записывают результат как «не обнаружено в одном миллилитре». Если в чашках, инокулированных самым большим разведением, насчитывают более 300 колоний, результат записывают как «более 300» или как приближенное количество.

10 Протокол испытаний

Протокол должен содержать ссылку на настоящий стандарт и предоставлять всю соответствующую информацию, включая:

- a) все необходимые для полной идентификации пробы сведения;
- b) используемое оборудование (заливные чашки) и среду;
- c) время и температуру инкубации;
- d) результаты подсчета, выраженные в соответствии с п. 9;
- e) все особенности, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как дополнительные, а также сведения о любых происшествиях, которые могли повлиять на результаты испытаний

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному
международному стандарту

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
EN ISO 3696:1995 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний	IDT	ГОСТ ISO 3696-2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля
ISO 6887-1:2017 Микробиология пищевой цепи. Подготовка образцов для испытаний, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятичных разведений	IDT	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

УДК

МКС 07.100.20

IDT

Ключевые слова: вода, качество, инокуляция, подсчет колоний, питательная агаризованная среда

Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

Заместитель директора по техническому
нормированию, стандартизации
и информатизации



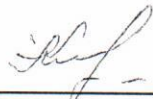
А.Г.Скуратов

Начальник отдела
технического нормирования и стандартизации
пищевой и сельскохозяйственной продукции



Л. М. Скорина

Начальник сектора отдела
технического нормирования и стандартизации
пищевой и сельскохозяйственной продукции



З. В. Контор

Ведущий инженер



И. А. Смотров