ГОСТ 7702.2.3—93

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ

Метод выявления сальмонелл

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Госстандартом России

ВНЕСЕН Техническим секретариатом Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации 21 октября 1993 г.

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Республика Беларусь	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызская Республика	Кыргызстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикстандарт
Туркменистан	Главгосслужба «Туркменстандартлары»

3 Постановлением Комитета Российской Федерации по стандартизации, метрологии и сертификации от 02.06.94 № 160 межгосударственный стандарт ГОСТ 7702.2.3—93 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 01.01.95

4 ВЗАМЕН ГОСТ 7702.2—74 в части метода выявления сальмонелл

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2009 г.

© Издательство стандартов, 1994
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2009

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

УДК 637.576.8.07:006.354 Группа Н19

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ

Метод выявления сальмонелл

Poultry meat, edible offal, ready-to-cook products.
Method for detection of Salmonellae

МКС 67.120.20
ОКСТУ 9209

Дата введения 1995—01—01

Настоящий стандарт распространяется на предназначенные для реализации и промышленной переработки:

мясо птицы в виде потрошеных, полупотрошеных и потрошеных с комплектом потрохов и шеей тушек, частей, полученных при их разделке, а также обваленное и измельченное;

субпродукты и полуфабрикаты птичьи.

Стандарт устанавливает метод выявления сальмонелл.

Метод основан на высеве определенного количества продукта или смывов с его поверхности на жидкие неселективные и селективные питательные среды с выделением чистых культур на диагностических средах с морфологическими и культуральными признаками сальмонелл; в проверке биохимических свойств выделенных культур; в проверке их серологических реакций.

1 Методы отбора проб и подготовка к исследованиям — по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0

2 Проведение исследования

2.1 Для выращивания бактериальных культур навеску продукта не менее 25 г или смыва не менее 25 $см^3$ высевают в пептонно-буферную воду, приготовленную по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.11 в соотношении 1:5. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение 16—24 ч. Затем 10 $см^3$ культуры из пептонно-буферной воды пересевают в 90 $см^3$ одной из сред обогащения (Мюллера, Кауфмана, селенитовую, селенит-цистиновую, магниевую) по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.12—2.4.16. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение 24—48 ч.

Через 24 и 48 ч со второй среды обогащения пересевают на две любые дифференциальные среды — Эндо, Левина, висмут-сульфитный агар и другие — по выбору см. (ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.10; 2.4.17; 2.4.18). Посевы на всех средах, кроме висмут-сульфитного агара инкубируют в течение 18—24 ч, а на висмут-сульфитном агаре при отсутствии роста подозрительных колоний инкубируют (48±1) ч при (37±1) °С.

Сальмонеллы на средах Эндо и Плоскирева растут в виде бесцветных колоний, на среде Левина — голубоватых, на висмут-сульфитном агаре — обычно в виде черных колоний с металлическим блеском с окраской среды под колониями в черный цвет. S. typhi и некоторые другие на висмут-сульфитном агаре растут в виде бесцветных или светло-зеленых колоний без окраски среды под колониями. На агаре с бриллиантовым зеленым и феноловым красным типичные сальмонеллы имеют розовую окраску.

При отсутствии подозрительных колоний на дифференциальных средах работу с посевами прекращают. Подозрительные колонии используют в дальнейших исследованиях.

2.2 Биохимические свойства культуры определяют путем исследования не менее пяти подозрительных колоний, выросших на дифференциальной среде. Определяют расщепление сахаров,

Издание официальное

мочевины, образование индола, сероводорода, ацетил-метил-карбинола (реакция Фогес-Проскауэра), утилизацию цитрата, расщепление аминокислот.

2.2.1 Для выявления расщепления сахаров используют либо среды Гисса по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.19, либо одну из комбинированных сред (Клиглера, Ресселя, агар тройной сахарный по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.20—2.4.22).

Для посевов в среды Гисса часть каждой из пяти отобранных подозрительных колоний снимают бактериологической петлей, размешивают в 0,5—1 $см^3$ стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь засевают в среды Гисса, инкубируют при (37±1) °С в течение 12—18 ч, после чего посевы просматривают. При образовании кислоты меняется цвет среды.

Посев на одну из комбинированных сред проводят штрихом на скошенную часть и уколом в столбик. Посевы инкубируют при (37±1) °С, учет проводят через (24±1) ч.

При ферментации лактозы, сахарозы в скошенной части столбика комбинированных сред происходит пожелтение. Покраснение или пожелтение самого столбика указывает на расщепление глюкозы.

Сальмонеллы не разлагают лактозу и сахарозу, расщепляют глюкозу с образованием кислоты и газа, а маннит — с образованием кислоты.

2.2.2 Для выявления расщепления мочевины используют одну из сред: агар тройной сахарный или скошенный агар с мочевиной по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.24.

Восстановление изменившегося цвета среды агара тройного сахарного при расщеплении глюкозы (см. 2.2.1) с красного или желтого цвета до бледно-розового свидетельствует о расщеплении мочевины.

Посевы на поверхность скошенного агара с мочевиной инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. Окрашивание среды в красный цвет происходит при расщеплении мочевины. Отсутствие изменения окраски — отрицательная реакция.

Сальмонеллы мочевину не расщепляют.

2.2.3 Для выявления образования индола проводят посев в одну из питательных сред: 1 %-ную пептонную воду по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.3.2 или в триптон-триптофановую среду по ГОСТ 28560. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±1) ч.

В пробирки с суточной культурой в пептонной воде по стенке добавляют 5—10 капель одного из реактивов: Эрлиха или Ковача по ГОСТ 28560. В первом случае при наличии индола не позднее чем через 5 мин в пограничном слое образуется ярко-красное кольцо, при отсутствии — кольцо остается светло-желтого цвета. Во втором случае после взбалтывания результаты учитывают через 10 мин: реактив поднимается на поверхность среды и при наличии индола окрашивается в темно-красный цвет.

В пробирку с суточной культурой в триптон-триптофановой среде добавляют 1 $см^3$ реактива Эрлиха или Ковача. Темно-красное кольцо — реакция положительная; коричнево-желтое кольцо — реакция отрицательная.

Сальмонеллы индола не образуют.

2.2.4 Для выявления образования сероводорода используют одну из питательных сред: агар тройной сахарный, или среду Клиглера, или 1 %-ную пептонную воду. Посевы инкубируют при (3±1) °С в течение 24—72 ч.

При посеве культуры в одну из комбинированных сред об образовании сероводорода судят по почернению среды в столбике.

При посеве культуры в 1 %-ную пептонную воду в пробирку под пробку помещают полоску фильтровальной бумаги, предварительно смоченную уксуснокислым свинцом и высушенную по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.3.21. Полоска не должна соприкасаться с питательной средой. При выделении культурой сероводорода через 24—72 ч инкубирования бумажка с уксуснокислым свинцом чернеет.

Сальмонеллы выделяют сероводород.

2.2.5 Для выявления утилизации цитрата культуру высевают на скошенный столбик агара Симмонса по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.23, инкубируют при (37±1) °С в течение (24±1) ч. Окрашивание среды в синий цвет — положительная реакция, отсутствие изменений — отрицательная реакция.

Сальмонеллы, за небольшим исключением, дают положительную реакцию.

2.2.6 Для выявления способности культуры к образованию ацетил-метил-карбинола (реакция Фогес-Проскауэра) засевают ее в среду по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.25. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) ч, после чего переносят 1 $см^3$ посева в пустую пробирку, добавляют 0,2 $см^3$ раствора гидроокиси калия по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.3.19 и 0,6 $см^3$

раствора α-нафтола по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.3.18 и несколько кристаллов креатина. Пробирки тщательно встряхивают и оставляют на 1 ч при комнатной температуре. При наличии ацетил-метил-карбинола среда окрашивается в розовый цвет. При отрицательной реакции остаток среды инкубируют еще 24 ч и тест повторяют.

Сальмонеллы имеют отрицательную реакцию Фогес-Проскауэра.

2.2.7 Для определения расщепления аминокислот культуру высевают методом укола в пробирку со столбиком агаризованной среды с одной из аминокислот по ГОСТ 7702.2.0/ ГОСТ Р 50396.0, 2.4.27, 2.4.28, инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±3) ч.

При декарбоксилировании лизина появляется темно-красная окраска. При отрицательной реакции окраска желтая. Сальмонеллы декарбоксилируют лизин.

Для теста расщепления фенилаланина культуру высевают на поверхность скошенного агара, инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч, затем на поверхность среды наносят 3—4 капли хлорного железа. Появление зеленой окраски среды — положительная реакция, цвет среды не изменяется — отрицательная реакция. Сальмонеллы дают отрицательную реакцию.

2.3 Для выявления подвижности культуру высевают методом укола в пробирку со столбиком полужидкого агара по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.29. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч.

О наличии подвижности свидетельствуют диффузный рост вокруг линии укола и помутнение столбика агара.

2.4 Серологические реакции проводят с суточной культурой, выросшей на агаризованной среде по ГОСТ 7702.2.0/ГОСТ Р 50396.0, 2.4.1; 2.4.4.

Определяют чистые колонии на способность самоагглютинации и на присутствие О, Vi, Н — антигенов сальмонелл.

При этом на предметное стекло помещают каплю физиологического раствора, а рядом каплю одной из антисальмонеллезных сывороток (поливалентную О-сыворотку, отдельных О-групп и другие).

Растирают в капле некоторое количество исследуемой культуры до получения однородной мутной суспензии. Покачивают стекло в течение 30—40 с, затем помещают его на темный фон и рассматривают. При агглютинации образуются хлопья, комочки.

Штампы считаются самоагглютинирующими при образовании хлопьев, комочков в капле физиологического раствора, и они серологическому подтверждению не подлежат.

При получении положительной реакции с поливалентной О-сывороткой культуру испытывают с сыворотками к антигенам отдельных О-групп, входящими в поливалентные сыворотки.

Для выявления Vi-антигена исследуемую культуру испытывают с моновалентной Vi-сывороткой; Н-антигенов — с моновалентными Н-сыворотками.

Для выявления Н-антигена в реакции агглютинации следует использовать культуру с нижней, более влажной части скошенного агара, в которой лучше развит Н-антиген.

Положительная реакция — агглютинация бактерий, отрицательная реакция — отсутствие агглютинации. Сальмонеллы дают положительную реакцию.

На основании серологических исследований подтверждают или исключают принадлежность выделенной культуры к роду сальмонелл.

3 Обработка результатов

3.1 Результаты исследований оценивают по каждой пробе в отдельности.

3.2 К бактериям рода сальмонелл относят те культуры, которые дали типичные биохимические и серологические реакции.

3.3 Результаты исследований записывают следующим образом: сальмонеллы обнаружены или не обнаружены в 25 г продукта или в смыве с продукта с указанием исследуемой площади в квадратных сантиметрах.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 7702.2.0—95/ГОСТ Р 50396.0—92 ГОСТ 28560—90	1; 2.1; 2.2.1; 2.2.2; 2.2.3; 2.2.4; 2.2.5; 2.2.6; 2.2.7; 2.3; 2.4 2.2.3

gost.e-ecolog.ru