МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ЯИЧНЫЕ

МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности (ВНИИПП), Межгосударственным техническим комитетом МТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

ВНЕСЕН Госстандартом России

2 ПРИНЯТ Межгосударственным Советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 10 от 4 октября 1996 г.)

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Республика Армения	Армгосстандарт
Республика Беларусь	Госстандарт Беларуси
Республика Казахстан	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизская Республика	Киргизстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главная государственная инспекция Туркменистана
Республика Узбекистан	Узгосстандарт

3 Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации, метрологии и сертификации от 23 апреля 1998 г. № 145 межгосударственный стандарт ГОСТ 30364.2—96 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 января 1999 г.

4 ВЗАМЕН ГОСТ 2858—82 в части методов микробиологического контроля

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Госстандарта России

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ЯИЧНЫЕ

Методы микробиологического контроля

Egg products.
Microbiological testing methods

Дата введения 1999—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы микробиологического контроля жидких и сухих яичных продуктов, изготовленных из куриных яиц и предназначенных для пищевых целей:

определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;

определения бактерий группы кишечных палочек колиформных бактерий;

выявления бактерий рода Salmonellae;

выявления бактерий рода Proteus;

выявления бактерий рода Staphylococcus aureus.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 10.76—74 Мясо. Конина, поставляемая для экспорта. Технические требования

ГОСТ 171—81 Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия

ГОСТ 195—77 Натрий сернисто-кислый. Технические условия

ГОСТ 245—76 Натрий фосфорно-кислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

ГОСТ 779—55 Мясо — говядина в полутушах и четвертинах. Технические условия

ГОСТ 1027—67 Свинец (II) уксусно-кислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 1341—97 Пергамент растительный. Технические условия

ГОСТ 1760—86 Подпергамент. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2493—75 Калий фосфорно-кислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 2874—82* Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством

ГОСТ 3118—77 Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 3164—78 Масло вазелиновое медицинское. Технические условия

ГОСТ 3582—84 Вазелин медицинский. Технические условия

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4148—78 Железо (II) серно-кислое 7-водное. Технические условия

ГОСТ 4159—79 Йод. Технические условия

ГОСТ 4172—76 Натрий фосфорно-кислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Калий фосфорно-кислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4201—79 Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4209—77 Магний хлористый 6-водный. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Натрий хлористый. Технические условия

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51232—98.

Издание официальное

ГОСТ 4530—76 Кальций углекислый. Технические условия
ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия
ГОСТ 5833—75 Сахароза. Технические условия
ГОСТ 5962—67* Спирт этиловый ректификованный. Технические условия
ГОСТ 6038—79 Д-глюкоза. Технические условия
ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия
ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 6824—96 Глицерин дистиллированный. Технические условия
ГОСТ 8253—79 Мел химически осажденный. Технические условия
ГОСТ 8273—75 Бумага оберточная. Технические условия
ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия
ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия
ГОСТ 9285—78 Калия гидрат окиси технический. Технические условия
ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Общие технические условия
ГОСТ 10929—76 Водорода пероксид. Технические условия
ГОСТ 11078—78 Натр едкий очищенный. Технические условия
ГОСТ 11773—76 Натрий фосфорно-кислый двузамещенный. Технические условия
ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
ГОСТ 13805—76 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия
ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия
ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия
ГОСТ 17308—88 Шпагаты. Технические условия
ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия
ГОСТ 19569—89 Стерилизаторы паровые медицинские. Общие технические требования и методы испытаний
ГОСТ 21239—93 Ножницы медицинские. Общие технические требования и методы испытаний
ГОСТ 21240—89 Скальпели и ножи медицинские. Общие технические требования и методы испытаний
ГОСТ 21241—89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний
ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний
ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия
ГОСТ 27583—88 Яйца куриные пищевые. Технические условия
ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 29228—91 Посуда лабораторная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания
ГОСТ 30364.0—97 Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа

3 Средства контроля

3.1 Аппаратура, материалы и реактивы

Автоклав.

Аппарат для встряхивания.

Баня водяная с терморегулятором, обеспечивающим поддержание температуры в интервале 20—100 °С при отклонениях от заданной, не превышающих ±1 °С.

Бутыли стеклянные.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и пределом допускаемой погрешности ±2 мг для взвешивания реактивов.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 1 кг и пределом допускаемой погрешности ±10 мг для взвешивания продукта.

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

Воронка Бюхнера 3(5) по ГОСТ 9147.
Воронка БФ 1(3)—75(100) ХС по ГОСТ 25336.
Гомогенизатор бактериологический или аппарат для измельчения тканей с числом оборотов от 8000 об/мин до 45000 об/мин.
Дистиллятор электрический.
Капельница 2—50 ХС по ГОСТ 25336.
Кастрюли.
Колба КП 1(2) или П 1(2) по ГОСТ 25336.
Кружка по ГОСТ 9147.
Кюветы разные для окрашивания препаратов.
Лампы бактерицидные ДБ-30 или ДБ-60 (1,5—2,5 Вт на 1 м воздуха).
Лупа с увеличением 2—10×.
Мензурки по ГОСТ 1770.
Микроскоп световой биологический с увеличением в 900 — 1000 раз.
Мясорубка по ГОСТ 4025.
Ножи.
Нож консервный.
Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.
Пакеты из полимерных пленочных материалов.
Палочки стеклянные.
Пестик 1—2 по ГОСТ 9147.
Петледержатель.
Петля бактериологическая.
Пинцеты по ГОСТ 21241.
Пипетки 2—1—1 (2, 5, 10) по ГОСТ 29228.
Плита газовая или электрическая по ГОСТ 14919.
Поплавки (трубки Дархема).
Посуда с притертой пробкой.
Прибор для счета колоний бактерий ПСБ.
Пробирки П1—16—150 ХС или П2—10—90 ХС или П2Т-10 ТС по ГОСТ 25336.
Лоток.
Тарелка.
Пробки ватные.
Пробки резиновые.
Пробоотборники, ложки, масляный щуп из нержавеющей стали.
Проволока из нержавеющей стали.
pH-метр.
Скальпели и ножи медицинские по ГОСТ 21240.
Спиртовка СЛ-1 (2) по ГОСТ 25336.
Стакан В-1(2)—100(150—1000) по ГОСТ 25336.
Стакан Н-2 (100—1000) по ГОСТ 25336.
Стекла предметные по ГОСТ 9284.
Стекла покровные по ГОСТ 6672.
Стерилизатор паровой по ГОСТ 19569.
Ступка 1, 2 по ГОСТ 9147.
Термометры жидкостные стеклянные с диапазоном температуры от 0 °С до 50 °С и от 50 °С до 100 °С по ГОСТ 28498 с пределом допускаемой погрешности ±0,5 °С с ценой деления шкалы 0,5 °С.
Термостаты электрические для выращивания микроорганизмов с автоматическим терморегулятором до температуры 55 °С и с ценой деления 0,2 °С.
Фильтр бумажный или ватно-марлевый.
Флаконы.
Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.
Холодильник походный (сумка).
Центрифуга.
Цилиндр по ГОСТ 1770.
Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.
Чашки ЧБН-2 по ГОСТ 25336.

Шкаф сушильный.
Шпатель 1—3 по ГОСТ 9147.
Шпатели, ложки, половник из нержавеющей стали.
Шприцы медицинские по ГОСТ 22967.
Штативы для пробирок.
Бумага оберточная по ГОСТ 8273.
Пергамент по ГОСТ 1341.
Подпергамент по ГОСТ 1760.
Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.
Вата медицинская гигроскопичеекая по ГОСТ 5556.
Карандаш по стеклу.
Марля медицинская по ГОСТ 9412.
Мыло.
Полотно льняное.
Порошки стиральные.
Шпагат по ГОСТ 17308.
Щетки, ерши.
Агар микробиологический по ГОСТ 17206.
Агар сухой питательный.
Бриллиантовый зеленый.
Бромтимоловый синий.
Вазелин медицинский по ГОСТ 3582.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Вода питьевая (водопроводная) по ГОСТ 2874.
Генциан фиолетовый.
Глицерин, х.ч., по ГОСТ 6824.
Глюкоза, х.ч. или ч.д.а., по ГОСТ 6038.
Дрожжи хлебопекарные прессованные по ГОСТ 171.
Дрожжевой автолизат.
Дрожжевой экстракт.
Железо (III) аммония сульфат (соль Мора).
Железо сернокислое по ГОСТ 4148.
Железо треххлористое 6-водное.
Желчь крупного рогатого скота натуральная или сухая.
Йод кристаллический по ГОСТ 4159.
Калия гидрат окиси технический по ГОСТ 9285.
Калий йодистый (йодит).
Калий фосфорнокислый двузамещенный (3-водный) по ГОСТ 2493.
Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.
Кальций углекислый (карбонат) по ГОСТ 4530.
Кислота карболовая кристаллическая (фенол).
Кислота розоловая, ч.д.а.
Кислота соляная по ГОСТ 3118.
Кислота щавелевая.
Индикатор кристаллический фиолетовый.
Лактоза.
Магний сернокислый.
Магний хлористый (хлорид) по ГОСТ 4209.
Мальтоза.
Маннит.
Масло вазелиновое по ГОСТ 3164.
Масло иммерсионное.
Мел химически осажденный по ГОСТ 8253.
Метиленовый синий (голубой).
Метиловый красный.
Метиловый фиолетовый.
Мочевина.

Мясо. Конина по ГОСТ 10.76.
Мясо — говядина, охлажденное по ГОСТ 779.
Натрий-аммоний фосфорнокислый.
Натрия гидрат окиси 0,1 н. раствор (фиксанал).
Натрия гидрат окиси (едкий) по ГОСТ 11078.
Натрий двууглекислый (гидрокарбонат, бикарбонат, питьевая сода) по ГОСТ 4201.
Натрий лимоннокислый (цитрат) кристаллический.
Натрий селенистокислый (гидроселенит).
Натрий сернистокислый (сульфат) безводный по ГОСТ 195.
Натрий сернистокислый (сульфит).
Натрий серноватистокислый (тиосульфат).
Натрий сернокислый (сульфат).
Натрий углекислый (карбонат).
Натрий фосфорнокислый двузамещенный (дигидрофосфат) по ГОСТ 4172.
Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773.
Натрий фосфорнокислый однозамещенный (гидрофосфат) по ГОСТ 245.
Натрий хлористый (хлорид) по ГОСТ 4233.
Нейтральный красный.
Парадиметиламидобензальдегид.
Пептон бактериологический по ГОСТ 13805.
Пероксид (перекись) водорода по ГОСТ 10929.
Печень говяжья, свиная.
Плазма кроличья сухая цитратная.
Сахароза по ГОСТ 5833.
Свинец уксуснокислый по ГОСТ 1027.
Спирт этиловый по ГОСТ 5962 и ГОСТ 18300 — раствор с массовой долей 70,96 %.
Агар желточно-солевой.
Агар висмут-сульфитный.
Агар Клиглера.
Среда Гисса.
Среда Плоскирева.
Среда Кесслер.
Бульон солевой.
Среда селенитовая.
Среда с маннитом или мальтозой.
Среда Хейфеца.
Реактив Эрлиха.
Среда Эндо.
Сухой мясо-пептонный бульон.
Сыворотки сальмонеллезные О- и Н-агглютинирующие адсорбированные, поливалентные и монорецепторные.
Феноловый красный.
Фуксин кислый.
Фуксин основной.
Хлороформ.
Эфир этиловый.
Яйца куриные по ГОСТ 27583.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а реактивов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

3.2 Порядок подготовки к проведению контроля

3.2.1 Методы отбора проб по ГОСТ 30364.0 со следующим дополнением.

3.2.1.1 Для проведения микробиологического контроля из объединенной пробы отбирают 100 $см^3$ жидких (или 100 г сухих) яичных продуктов.

3.2.2 *Подготовка проб к микробиологическому контролю*

3.2.2.1 Для приготовления исходного разведения в колбу вместимостью 250 $см^3$ вносят 10 $см^3$ жидкого (или 10 г сухого) яичного продукта, отобранного из объединенной пробы, добавляют 90 $см^3$

стерильной водопроводной воды или стерильного изотонического раствора. Смесь взбалтывают (или перемешивают) в течение 1—2 мин стерильной пипеткой. Получают исходное разведение (1:10).

3.2.2.2 Для приготовления серий последовательных разведений 1 $см^3$ смеси исходного разведения переносят стерильной пипеткой в пробирку с 9 $см^3$ стерильной жидкости (водопроводной воды или изотонического раствора) так, чтобы пипетка не касалась поверхности жидкости. Внесенную смесь тщательно перемешивают другой стерильной пипеткой путем наполнения и выталкивания содержимого не менее 10 раз; получают разведение 1:100.

Аналогичным способом готовят последующие разведения: до 1:1000 для сухих и до 1:10000 для жидких яичных продуктов.

3.2.2.3 При приготовлении разведений соблюдают условия, исключающие вторичное микробное загрязнение. Полученные разведения используют для посевов. Время с момента окончания приготовления последнего разведения до начала высева не должно превышать 20 мин.

3.2.3 *Подготовка, мойка и стерилизация лабораторной посуды, инструментов и материалов*

3.2.3.1 Лабораторную посуду моют в отдельном помещении, применяя щетки, ерши в сочетании с моющими растворами полужидкого мыла, мыльного раствора, стиральных порошков, разрешенных для мойки лабораторной посуды. Закупорившиеся каналы пипеток прочищают тонкой проволокой. Для устранения со стекла налета белого цвета, посуду помещают в 5—10 %-ный раствор соляной кислоты на 30—40 мин. После мытья посуду прополаскивают водопроводной водой и дважды дистиллированной.

Вымытую посуду не вытирают, а сушат при комнатной температуре или горячим воздухом в сушильном шкафу при температуре (103±2) °С. Флаконы, пробирки, колбы, бутыли закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх которых надевают бумажные колпачки и обвязывают шпагатом. Чашки Петри по 3—6 шт. заворачивают в плотную оберточную бумагу, пергамент, подпергамент. В верхнюю часть градуированных и пастеровских пипеток вставляют кусочек ваты. Затем их заворачивают в бумагу и последнюю надписывают, указывая объем завернутых пипеток.

3.2.3.2 Лабораторную посуду стерилизуют сухим жаром при температуре (160±3) °С в течение (150±5) мин или в автоклаве при температуре (121±1) °С в течение 20—30 мин.

3.2.3.3 Стерилизация инструментов и материалов — по ГОСТ 26668.

3.2.4 *Приготовление питательных сред, красок и реактивов*

3.2.4.1 Мясная вода

Охлажденную говядину или конину освобождают от костей, сухожилий, жира, пропускают через мясорубку. 1 кг полученного фарша заливают двух- или четырехкратным количеством водопроводной воды (по массе), нагревают и кипятят в течение полутора часов, постоянно помешивая и удаляя накипь. После кипячения мясную воду остужают, удаляют жир. Жидкость фильтруют через вату или полотно, потом через фильтровальную бумагу до полной прозрачности. Фильтрат измеряют и доливают до первоначального объема кипяченой водопроводной водой, затем разливают по бутылям и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 30 мин.

3.2.4.2 Мясо-пептонный бульон

К 1 $дм^3$ полученной по 3.2.4.1 мясной воды добавляют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия и 100 $см^3$ дистиллированной воды (на выкипание); кипятят до растворения пептона. В горячий бульон добавляют 10 %-ный раствор гидрата окиси натрия и устанавливают pH (7,4±0,2), после чего бульон кипятят еще раз в течение 15 мин и фильтруют через увлажненный дистиллированной водой складчатый бумажный фильтр. Профильтрованный бульон должен быть совершенно прозрачным, соломенно-желтого цвета. Бульон разливают по колбам, пробиркам и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

3.2.4.3 Мясо-пептонный агар

К приготовленному по 3.2.4.2 мясо-пептонному бульону добавляют агар-агар: 2 г для приготовления полужидкого или 20 г — для приготовления плотного мясо-пептонного агара. Смесь кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара.

Приготовленный мясо-пептонный агар разливают в пробирки или в колбы и стерилизуют в автоклаве при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

3.2.4.4 Пептонная вода

К 1 $дм^3$ дистиллированной воды прибавляют 10 г пептона и 5 г хлористого натрия, устанавливают pH (7,4±0,2), кипятят таким образом, чтобы после кипячения он находился в ранее установленных пределах, фильтруют через бумажный фильтр до полной прозрачности и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 30 мин.

3.2.4.5 Изотонический раствор хлористого натрия

8,5 г хлористого (хлорида) натрия растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Раствор доводят до кипения, охлаждают, фильтруют через бумажный фильтр, разливают в колбы или пробирки и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

3.2.4.6 Среда Кесслер (с лактозой)

10 г пептона, 50 $см^3$ натуральной стерильной или 5 г сухой говяжьей желчи добавляют к 1 $дм^3$ водопроводной воды, тщательно перемешивают, кипятят в течение 20—30 мин, фильтруют через ватный фильтр, добавляют 2,5 г лактозы и доводят объем дистиллированной водой до 1 $дм^3$. Устанавливают pH (7,5±0,1), добавляют 2 $см^3$ 1 %-ного водного раствора кристаллического фиолетового или генциан фиолетового. Среду разливают в пробирки с поплавками по 5 $см^3$ и стерилизуют при температуре (112±1) °С 15 мин. Среда имеет фиолетовый цвет.

3.2.4.7 Среда Хейфеца с лактозой

В колбу вместимостью 1 $дм^3$ вносят 10 г пептона, 5 г лактозы, 5 г хлористого натрия и индикаторы: 1 $см^3$ 5 %-ного спиртового раствора розоловой кислоты и 2,5 $см^3$ 0,1 %-ного водного раствора метиленового синего (голубого), заливают 1 $дм^3$ водопроводной воды и нагревают до кипения. Устанавливают pH 7,4—7,6. Среду разливают по 10 $см^3$ в стерильные пробирки с поплавками. Стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин.

Приготовление индикаторов

0,5 г порошка розоловой кислоты всыпают во флакон с притертой пробкой и заливают 10 $см^3$ этилового ректификованного спирта с массовой долей 96 %. Через 24 ч раствор готов к употреблению. Раствором можно пользоваться в течение месяца.

0,1 г метиленового синего (голубого) заливают 100 $см^3$ дистиллированной воды, ставят на сутки в термостат при температуре (37±0,5) °С. Срок пользования водного раствора метиленового синего (голубого) не ограничен.

3.2.4.8 Индикатор Андреде

0,5 г кислого фуксина растворяют в 16,4 $см^3$ 1 н. раствора гидрата окиси натрия, прибавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды, настаивают 24 ч при температуре (37±1) °С, стерилизуют кипячением в течение 5 мин. Приготовленный таким образом индикатор имеет соломенно-желтый цвет. При смещении pH в кислую сторону индикатор Андреде приобретает ярко-малиновую окраску. Индикатор сохраняют во флаконах темного стекла с притертой пробкой.

3.2.4.9 Индикатор бромтимоловый синий

0,4 г бромтимолового синего растворяют в 40 $см^3$ дистиллированной воды, нагревая ее до кипения. После этого к раствору прибавляют 6,4 $см^3$ децинормального раствора гидрата окиси натрия, в результате чего жидкость приобретает зеленоватый цвет, и доливают дистиллированной водой до 100 $см^3$. Приготовленный таким образом индикатор может сохраняться в темном месте в склянке с притертой пробкой в течение длительного времени.

3.2.4.10 Среды Гисса с углеводами

К 1 $дм^3$ дистиллированной воды прибавляют 10 г пептона, 5 г хлористого (хлорида) натрия и нагревают до растворения в течение нескольких минут, затем фильтруют через бумажный фильтр до тех пор, пока раствор не станет совершенно прозрачным. Устанавливают pH (7,2±0,2), прибавляют 10 г одного из необходимых видов углеводов (лактозы, глюкозы, сахарозы, маннита и мальтозы), а затем индикатор Андреде в количестве 10 $см^3$ или 1 $см^3$ 1,6 %-ного раствора бромтимолового синего на 1 $дм^3$ среды.

Готовую среду разливают по 5 $см^3$ в пробирки, заранее простерилизованные вместе с пробирками и поплавками, расположенными запаянным концом кверху; стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин. Во время стерилизации поплавки заполняются доверху питательной средой. Среды Гисса с индикатором Андреде имеют соломенно-желтый цвет, с индикатором бромтимоловым синим — болотно-зеленый.

3.2.4.11 Среда с углеводом (маннитом или мальтозой) и феноловым красным

К 1 $дм^3$ стерильного питательного агара добавляют 52 $см^3$ 1,6 %-ного водного раствора фенолового красного и 10 г углеводов (маннита или мальтозы). Предварительно углеводы растворяют в небольшом объеме стерильной дистиллированной воды.

Готовят 1,6 %-ный водный раствор фенолового красного, для чего в 100 $см^3$ стерильной дистиллированной воды растворяют 1,6 г индикатора.

К расплавленному и охлажденному до (80±2) °С стерильному питательному агару добавляют углеводы (маннит или мальтозу) и индикатор феноловый красный, смесь перемешивают, при

необходимости еще раз расплавляют готовую среду, разливают в стерильные чашки Петри и подсушивают. Среда пурпурно-красного цвета. Среду готовят с соблюдением стерильности.

3.2.4.12 Среда Ресселя

К 1 дм^3 2,0 %-ного питательного или мясо-пептонного агара (pH 7,2) прибавляют 10 г лактозы, 1 г глюкозы и 10 см^3 индикатора Андреде. Среду разливают в пробирки в количестве 5—6 см^3, стерилизуют в автоклаве при (112±1) °С в течение 20 мин и скашивают так, чтобы на 2—3 см от дна пробирки агар оставался в виде столбика. Готовая среда бледно-розового цвета.

3.2.4.13 Среда Кауфмана

Колбу, содержащую 4,5 г мела, стерилизуют сухим жаром, наливают в нее 90 см^3 мясо-пептонного бульона и стерилизуют при (121±1) °С 30 мин. Перед посевом в асептических условиях в колбу добавляют 2 см^3 раствора Люголя, 10 см^3 50 %-ного раствора серноватистокислого натрия (тиосульфата), 5 см^3 стерильной желчи и 1 см^3 водного раствора бриллиантового зеленого в соотношении 1:1000. Смесь тщательно взбалтывают.

3.2.4.14 Раствор бриллиантового зеленого

1 г бриллиантового зеленого растворяют 100 см^3 спирта ректификата с массовой долей 96 % и настаивают в течение 24 ч. К 10 см^3 полученного 1 %-ного спиртового раствора доливают до 100 см^3 дистиллированной воды, тщательно взбалтывают. Полученный водный раствор бриллиантовой зелени в соотношении 1:1000.

3.2.4.15 Желчь

Отобранную асептически желчь крупного рогатого скота прогревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч. После отстаивания фильтруют и разливают по колбам, стерилизуют текучим паром три дня подряд по 20 мин или однократно в автоклаве при температуре (112±1) °С. Можно использовать сухую желчь, при этом 1 г сухой желчи соответствует 10 м^3 натуральной желчи.

3.2.4.16 Раствор Люголя для приготовления среды Кауфмана

25 г йодида калия растворяют в 5—10 см^3 дистиллированной воды, прибавляют 20 г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного его растворения, затем приливают остальное количество — до 100 см^3 дистиллированной воды.

3.2.4.17 Раствор серноватистокислого натрия (тиосульфата, гипосульфита)

50 г химически чистого кристаллического серноватистокислого натрия (тиосульфата, гипосульфита) доливают до 100 см^3 дистиллированной водой, стерилизуют кипячением в течение 30 мин.

3.2.4.18 Селенитовая среда Лейфсона

Для приготовления среды готовят два раствора: А и Б.

Раствор А состоит из 5 г пептона, 7 г безводного двузамещенного фосфорнокислого натрия (гидрофосфата), 3 г однозамещенного фосфорнокислого натрия (дигидрофосфата), 4 г химически чистой лактозы, 1 дм^3 дистиллированной воды, pH (7,0±0,1). Компоненты смешивают, разливают в стерильную посуду по 225 см^3 и стерилизуют текучим паром по 30 мин или при (112±1) °С в течение 30 мин.

В раствор Б входит 10 %-ный раствор кислого селенистокислого натрия, приготовленного на стерильной дистиллированной воде (готовят перед употреблением).

Перед началом работы к 225 см^3 раствора А стерильно добавляют 9 см^3 раствора Б.

3.2.4.19 Магниевая (хлористо-магниевая) среда

Среда состоит из трех растворов.

Раствор I: пептон — 4,2 г, натрия хлорид — 7,15 г, калия дигидрофосфат — 1,48 г, дрожжевой диализат — 9 см^3 (производство ИЭИМ АМН им. Н.Ф. Гамалея), вода дистиллированная — 890 см^3.

Раствор II: магния хлорид — 35,7 г, вода дистиллированная — 90 см^3.

Раствор III: бриллиантовый зеленый 0,5 %-ный, водный раствор — 0,9 см^3.

Все три приготовленных раствора смешивают, разливают в колбы, флаконы, пробирки. Стерилизуют при (112±1) °С 30 мин.

При отсутствии дрожжевого диализата (производство ИЭИМ АМН им. Н.Ф. Гамалея) допускается замена его дрожжевым экстрактом.

3.2.4.20 Среда Крумвиде-Олькеницкого (трехсахарный агар с мочевиной)

Агар питательный сухой — 25 г, лактоза — 10 г, сахароза — 10 г, глюкоза — 1 г, аммоний-железо (III) сульфат (соль Мора) ($FeSO_4 \cdot (NH_4)_2O \cdot 6H_2O$) — 0,2 г, натрия тиосульфат (гипосульфит, серноватистокислый натрий) — 0,3 г, мочевина — 10 г, феноловый красный 0,4 %-ный водный раствор — 4 см^3, вода дистиллированная — 1 дм^3.

Соли предварительно растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды. Углеводы и мочевину также растворяют в небольших объемах воды при подогревании на водяной бане. Сухой

питательный агар расплавляют в оставшемся объеме воды при нагревании и помешивании. Затем все ингредиенты соединяют, перемешивают с расплавленным агаром, фильтруют через марлевый фильтр, устанавливают pH (7,3±0,1), добавляют индикатор и разливают в стеклянные пробирки по 6—7 $см^3$. Среду стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин, скашивают, оставляя столбик 2—2,5 см. Готовая среда бледно-розового цвета. Среду хранят при комнатной температуре не более 7 сут.

3.2.4.21 Дрожжевой экстракт

100 г измельченных прессованных дрожжей заливают 1 $дм^3$ дистиллированной воды, кипятят при постоянном перемешивании до тех пор, пока не сойдет пена, и помещают на 24 ч при (5±1) °С в холодильник. Затем эмульсию фильтруют через вату и фильтрат стерилизуют 20 мин при (121±1) °С.

5 $см^3$ жидкого дрожжевого экстракта равноценны 1 г дрожжевого экстракта в порошке.

3.2.4.22 Солевой бульон

1 $дм^3$ мясо-пептонного бульона по 3.2.4.2 и 6,5 г хлористого натрия смешивают в колбе вместимостью 2 $дм^3$, разливают в пробирки по 10 $см^3$. Стерилизуют (20±1) мин в автоклаве при температуре (121±1) °С. Хранят не более 28 сут при температуре (4±1) °С.

3.2.4.23 Желточно-солевой агар

К приготовленному по 3.2.4.22 1 $дм^3$ солевого бульона добавляют 20 г питательного агара, расплавляют на водяной бане, при необходимости фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают мерным цилиндром по 100 $см^3$ в колбы вместимостью 250 $см^3$ и стерилизуют при (121±1) °С в течение 30 мин. Получают солевой агар. Вместо солевого бульона можно использовать, как основу, сухой питательный агар, мясо-пептонный бульон, бульон Хоттингера, добавляя 65 г хлористого натрия.

Для приготовления желточной эмульсии на дно стерильной чашки Петри помещают куриное яйцо, тщательно протирают его ватой, смоченной этиловым спиртом, и обжигают. Стерильным пинцетом пробивают с двух противоположных сторон яйца два отверстия, через одно из этих отверстий из яйца полностью удаляют белок, а затем, несколько увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу вместимостью 200 $см^3$. К желтку постепенно добавляют (частями по 20—30 $см^3$) 200 $см^3$ стерильного изотонического раствора, содержимое тщательно встряхивают до получения гомогенной массы.

Для приготовления желточно-солевого агара на 1 $дм^3$ стерильного расплавленного и остуженного до (45±1) °С солевого агара добавляют 200 $см^3$ желточной эмульсии, после полного размешивания желточно-солевой агар разливают в стерильные чашки Петри по 20—25 $см^3$ и хранят в холодильнике до 5—7 сут.

3.2.4.24 Приготовление реактива Эрлиха

В 50 $см^3$ этилового спирта с массовой долей 96 % растворяют 4 г парадиметиламидобензальдегида, затем медленно добавляют 50 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Реактив хранят в склянке из темного стекла при температуре 4—8 °С.

3.2.4.25 Бумага индикаторная для обнаружения индола

Листы фильтровальной бумаги обильно смачивают горячим насыщенным (12 %) раствором щавелевой кислоты, высушивают при температуре (23±2) °С, затем нарезают полосками шириной 0,2—0,4 мм, длиной 5—6 см и хранят в банках темного стекла под пробками.

3.2.4.26 Карболовый раствор кристаллического фиолетового или генциан фиолетового

1 г кристаллического фиолетового или генциан фиолетового растирают в фарфоровой ступке с 2 г кристаллической карболовой кислоты (фенола). Во время растирания небольшими порциями приливают 10 $см^3$ этилового спирта с массовой долей 96 %. Раствор фильтруют через влажный бумажный фильтр. Растворы генциан фиолетового или кристаллического фиолетового нестойки, длительному хранению не подлежат.

3.2.4.27 Красящие бумажки с кристаллическим фиолетовым или генциан фиолетовым для окраски по Граму, в модификации Синева

Кристаллического фиолетового или генциан фиолетового — 1 г, спирта этилового с массовой долей 96 % — 100 $см^3$, глицерина — 5 $см^3$ смешивают, наливают в лоток или глубокую тарелку. Бумагу нарезают в виде полосок шириной 2—2,5 см и длиной 30—50 см. Полоску погружают на несколько секунд в краситель так, чтобы смачивались обе ее поверхности. Окрашенные полоски вынимают пинцетом, дают красителю стечь и подвешивают на веревке для высушивания. Бумагу сушат в термостате при температуре (37±1) °С. Высушенные полоски бумаги разрезают на кусочки размером 2 × 2 или 2 × 4,5 см.

3.2.4.28 Раствор Люголя для окраски мазков по Граму

2 г йодида калия растворяют в 10 см^3 дистиллированной воды, прибавляют 1 г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного растворения йода, после чего доливают 290 см^3 дистиллированной воды. Раствор хранят в химической посуде из темного стекла.

3.2.4.29 Фуксин Циля — карболовый раствор

1 г порошка фуксина растирают в ступке с 5 г кристаллической карболовой кислоты и 0,5 см^3 (несколько капель) глицерина. Во время растирания небольшими порциями прибавляют 10 см^3 этилового спирта с массовой долей 96 %. После того, как смесь полностью разотрется, прибавляют при постоянном помешивании 100 см^3 дистиллированной воды, выдерживают 2 сут, после чего фильтруют. Фуксин Циля стойкий, хранится долгое время во флаконе из темного стекла с притертой пробкой.

3.2.4.30 Фуксин Пфейфера, спирто-водный раствор

К 1 части карболового раствора фуксина Циля приливают 9 частей дистиллированной воды. Раствор очень нестойкий, поэтому его готовят в необходимых количествах непосредственно перед использованием.

3.2.4.31 Сухие среды: питательный агар, висмут-сульфитный агар, Гисса, дрожжевой экстракт, Кесслер, желчь крупного рогатого скота, мясо-пептонный бульон, Плоскирева, селенитовую, Хейфеца, агар Эндо, агар Клиглера готовят по прописи, указанной на этикетке.

3.2.5 *Приготовление мазков по методу Грама*

3.2.5.1 Приготовление мазков из культуры в агаризованной среде

На середину чистого обезжиренного предметного стекла стерильной пипеткой или петлей наносят небольшую каплю стерильного изотонического раствора или водопроводной воды. Затем, соблюдая правила асептики, петлей с плотной питательной средой из пробирки или чашки берут испытуемую колонию. Часть ее погружают в каплю, слегка растирая в ней, а остаток в петле сжигают на пламени горелки. Остуженной петлей сначала краем, а потом всей плоскостью петли равномерными круговыми движениями распределяют каплю на площади, составляющей примерно $^1/_3$ предметного стекла.

При приготовлении препарата из культуры в жидкой питательной среде бактериологической петлей или пастеровской пипеткой берут каплю культуры и, поместив ее на середину сухого чистого стекла, равномерно распределяют ее в форме мазка. Петлю тотчас же обжигают на пламени горелки, а пастеровскую пипетку погружают в дезинфицирующий раствор.

Приготовленные мазки высушивают при комнатной температуре на воздухе.

Высушенные мазки фиксируют, для чего препарат берут пинцетом за край стекла мазком вверх и несколько раз проводят его через пламя горелки.

3.2.6 *Окраска мазков*

3.2.6.1 На предварительно фиксированный пламенем мазок кладут полоску фильтровальной бумаги, пропитанной кристаллическим фиолетовым или генциан фиолетовым, и на последнюю наливают дистиллированную воду так, чтобы бумажка полностью смочилась краской. Прокрашивание длится 1—2 мин.

3.2.6.2 Фильтровальную бумажку снимают пинцетом, сливают избыток красителя и, не промывая препарата водой, наливают на него раствор Люголя на 1—2 мин до почернения мазка.

3.2.6.3 Раствор Люголя сливают, предметное стекло для обесцвечивания мазка погружают несколько раз в стаканчик с этиловым спиртом с массовой долей 96 %. Процесс обесцвечивания считается завершенным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости. Мазок можно обесцвечивать и таким способом: на препарат наливают этиловый ректификованный спирт с массовой долей 96 % на 30—60 с, при этом препарат покачивают и доливают спирт.

3.2.6.4 Препарат тщательно промывают водопроводной водой и докрашивают спирто-водным раствором фуксина (Пфейфера) или 1 %-ным водным раствором нейтрального красного в течение 1—2 мин. Краску сливают, мазок промывают водопроводной водой, сушат на воздухе или фильтровальной бумагой и микроскопируют. При этом учитывают морфологические особенности изучаемых бактерий и их отношение к окраске: грамположительные бактерии окрашиваются основной краской в темно-фиолетовый цвет, грамотрицательные, воспринимая дополнительную окраску, приобретают ярко-розовый цвет.

3.3 Порядок проведения контроля

3.3.1 *Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов*

Метод основан на подсчете всех колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на плотном питательном агаре, и пересчете их количества на 1 г сухого (1 см^3 жидкого) яичного продукта.

3.3.1.1 Проведение контроля

По 1 см^3 исследуемого продукта из разведений, приготовленных по 3.2.2.1—3.2.2.3, высевают параллельно в две чашки Петри для каждого разведения. При посеве крышку чашки Петри слегка приоткрывают и посевной материал вносят на дно чашки. Не позже чем через 15 мин после внесения исследуемого материала в чашки его заливают 15—20 см^3 предварительно расплавленного и охлажденного до (45±1) °С питательного или мясо-пептонного агара. Чашки с посевами, залитыми питательной средой, осторожно вращают, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей питательной среде. Затем чашки с посевами оставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды. Чашки с посевами, перевернутые вверх дном, инкубируют в термостате при температуре (30±1) °С в течение (72±3) ч.

3.3.1.2 Обработка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Подсчет микроорганизмов

Для подсчета количества микроорганизмов учитывают все выросшие колонии, отмечая стеклографом по дну чашки. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) проводят невооруженным глазом или с помощью лупы, или с помощью специально предназначенного для подсчета колоний прибора.

Подсчет проводят в посевах того разведения, количество колоний в котором в пределах 30—300. По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение числа колоний из всех посевов одного разведения.

Если 30—300 колоний в посевах не одного, а двух следующих друг за другом разведений, то подсчитывают и вычисляют среднее арифметическое количество микроорганизмов в каждом из этих разведений отдельно. Если полученные результаты отличаются друг от друга более чем в 2 раза, то оценку проводят по результатам посева наибольшего разведения.

Полученные результаты округляют следующим образом:

если инкубированные чашки не содержат колоний, то результат выражают так: меньше чем $1{,}0 \times 10$ микроорганизмов в 1 см^3 или 1 г продукта;

если в чашках с разведением 1:10 выросло меньше чем 30 колоний, то результат выражают так: меньше чем $3{,}0 \times 10$;

если число выросших колоний меньше 100, его округляют до ближайшего числа, кратного 5;

если число больше 100 и его последняя цифра 5, его округляют до ближайшего числа, кратного 20;

если число больше 100 и его последняя цифра не 5, его округляют до ближайшего числа, кратного 10.

Количество микроорганизмов КОЕ X в 1 г или в 1 см^3 яичных продуктов вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 10^n}{V},$$

где a — округленное среднее арифметическое число колоний на чашках;

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

n — степень десятикратного разведения продукта.

Результаты исследований записывают следующим образом: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов $1{,}0 \times 10$ КОЕ/г (см^3) и т.д. до $9{,}9 \times 10$ КОЕ/г (см^3) продукта.

3.3.2 *Метод определения бактерий группы кишечных палочек*

Метод основан на способности бактерий группы кишечных палочек ферментировать лактозу с образованием кислоты и газа.

3.3.2.1 Проведение контроля

По 1 см^3 из разведений сухих или жидких яичных продуктов, приготовленных по 3.2.2.1 и 3.2.2.2, вносят в пробирки со средой Кесслер или Хейфеца. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. Из пробирок с признаками роста (изменение цвета среды, помутнение, газообразование) делают высев на среду Эндо. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. Затем посевы просматривают и отмечают рост колоний, характерных для бактерий группы кишечных палочек (плоские или слегка выпуклые, или с валиком, красные с различной интенсивностью окраски, розовые, бледно-розовые с металлическим или без металлического блеска). Из не менее чем трех характерных колоний готовят препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют.

3.3.2.2 Обработка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Обнаружение на среде Эндо характерного роста колоний, наличие в мазках из этих колоний грамотрицательных палочек, сбраживающих лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37±1) °С, указывают на выявление в продукте бактерий группы кишечных палочек.

Результат записывают как «не обнаружены» или «обнаружены» бактерии группы кишечных палочек в 0,1 см^3 жидких или в 0,1 г сухих яичных продуктов.

3.3.3 *Метод выявления бактерий рода Salmonellae*

Метод основан на использовании сред обогащения с последующим выделением сальмонелл на дифференциально-диагностических средах, а также на изучении культурально-морфологических, биохимических и серологических свойств культур.

3.3.3.1 Проведение контроля

25 г сухих или 25 см^3 жидких яичных продуктов из средней пробы с соблюдением стерильности вносят в колбу, содержащую 225 см^3 одной из сред обогащения (Кауфмана, магниевой или селенитовой), встряхивают и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 16—20 ч. Затем проводят высев бактериологической петлей (диаметр 0,4—0,5 мм) из сред обогащения в чашки Петри с висмут-сульфитным агаром или средой Плоскирева, или агаром Левина, растирая шпателем. Чашки с посевом инкубируют при температуре (37±1) °С. Учет результатов проводят на висмут-сульфитном агаре через 48 ч, на среде Плоскирева и Левина через 18—24 ч. Сальмонеллы на висмут-сульфитном агаре образуют черные колонии с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией и нежные светло-зеленые колонии. На средах Плоскирева и Эндо колонии сальмонелл прозрачные, на среде Левина — голубоватые. При отсутствии типичных или подозрительных колоний или при наличии слабого роста микробов на плотных дифференциальных средах чашки с посевами повторно инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 20—24 ч. Затем снова определяют присутствие колоний сальмонелл. При обнаружении подозрительных колоний продолжают исследование. В противном случае работу с посевами прекращают.

При наличии подозрительных типичных, характерных для сальмонелл колоний (по 3.3.1.1), из них берут не менее 3 колоний. Если имеется на одной чашке менее 3 типичных колоний, то берут все выросшие подозрительные колонии для пересева в пробирки: со скошенным питательным или мясо-пептонным агаром, с мясо-пептонным бульоном, с пептонной водой и на одну из дифференциальных сред Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера.

Среды Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера засевают сначала штрихом на скошенную поверхность, а затем уколом в глубину столбика.

Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч.

Выросшие культуры с поверхности скошенного агара используют для постановки реакции агглютинации и приготовления мазков. Мазки окрашивают по Граму и микроскопируют. Сальмонеллы — грамотрицательные палочки. Посевы на мясо-пептонном бульоне и пептонной воде используют для определения способности выделенных культур образовывать сероводород и индол.

Подтверждение наличия сальмонелл в продукте дает рост на средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера.

На средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера оценивают окраску и газообразование. При росте сальмонелл в средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера в малиновый цвет окрашивается столбик (за счет расщепления глюкозы), скошенная часть среды остается бледно-розовой при отсутствии расщепления лактозы, сахарозы или обоих сахаров. Газообразование устанавливают по трещинам и разрывам столбиков агара. На средах Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера образование сероводорода обнаруживают на основании почернения среды (от темной линии по месту протокола среды до разлитого почернения всего столбика). Расщепление мочевины выявляется по восстановлению первоначального цвета (бледно-розового) столбика среды.

Сальмонеллы мочевину не разлагают, сероводород образуют.

При необходимости более полной биохимической характеристики культуры пересеивают на цветные среды Гисса с углеводами («короткий пестрый ряд» с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом и мальтозой) и определяют их способность образовывать индол и сероводород.

С этой целью суточную культуру, взятую со скошенного питательного или мясо-пептонного агара, растирают в 1,0 см^3 физиологического раствора. Затем по 2 капли (0,2 см^3) взвеси вносят пастеровской пипеткой в среды Гисса, пептонную воду или мясо-пептонный бульон. Питательные среды с посевами инкубируют при температуре (37±1) °С.

На средах Гисса через 24 ч термостатирования учитывают кислотообразование (среды приобретают розово-красный цвет) и газообразование (наличие пузырьков в поплавках).

Сальмонеллы не ферментируют лактозу и сахарозу, ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа.

Для обнаружения индола в пробирку с мясо-пептонным бульоном или пептонной водой сразу же после посева испытуемой культуры помещают полоску фильтровальной бумаги, смоченную насыщенным водным раствором щавелевой кислоты. Бумажку помещают таким образом, чтобы она удерживалась пробкой, но не прикасалась к среде. При наличии индола через 1—3 дня инкубирования при температуре (37±1) °С нижняя часть бумажки окрашивается в розовый цвет, хорошо заметный в проходящем свете. Индол можно определить и другим способом: в пробирку с суточной бульонной культурой осторожно по стенке добавляют 5—10 капель реактива Эрлиха. Перед добавлением реактива к бульону можно ввести 2 $см^3$ этилового эфира. При наличии индола не позднее чем через 5 мин в пограничном слое образуется ярко-красное кольцо. Сальмонеллы индола не образуют.

Принадлежность выделенных культур к роду сальмонелл определяется реакцией агглютинации на стекле с поливалентной адсорбированной сальмонеллезной сывороткой.

С этой целью на предметное стекло помещают каплю изотонического раствора хлористого натрия и рядом каплю поливалентной агглютинирующей сальмонеллезной сыворотки. Затем в каждую из приготовленных капель, начиная с изотонического раствора, вносят петлей часть анализируемой колонии, равномерно растирают и покачивают предметным стеклом в течение 30—60 с. Помещают стекло на темный фон и рассматривают с помощью увеличительного стекла. При положительной реакции агглютинации через 0,5—2,0 мин в капле сыворотки образуются хлопья, жидкость просветляется.

В капле с изотоническим раствором остается равномерное помутнение.

3.3.3.2 Обработка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Штаммы, дающие типичные биохимические изменения и положительные серологические реакции с поливалентной агглютинирующей сальмонеллезной сывороткой, относят к сальмонеллам.

Для видовой идентификации подозрительных на сальмонеллы культур их отправляют в специализированные лаборатории.

3.3.4 *Метод определения бактерий рода Proteus*

Метод основан на высеве определенного количества продукта в конденсационную воду свежескошенного агара, способности бактерий рода Proteus давать ползучий, опережающий другие виды бактерий рост и образовывать сероводород.

3.3.4.1 Проведение контроля

1 $см^3$ жидких яичных продуктов или 1 $см^3$ из разведений 1:10, приготовленных по 3.2.2.1—3.2.2.2 сухих яичных продуктов, вносят в конденсационную воду пробирок со свежескошенным питательным или мясо-пептонным агаром, не прикасаясь к скошенной поверхности среды. Посевы инкубируют в термостате при температуре (37±1) °С в течение 24 ч.

При учете посевов обращают внимание на образование ползучего муарообразного налета с голубоватым оттенком на скошенном агаре, поднимающегося из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды и издающего резкий гнилостный запах. При появлении характерного роста микробов рода Proteus готовят мазки, окрашивают их по Граму, микроскопируют. Бактерии рода Proteus — неспорообразующие грамотрицательные палочки.

Для определения способности образовывать сероводород подозрительные культуры с агара высевают методом укола в столбик и штрихами по скошенной поверхности одной из сред: Крумвиде-Олькеницкого или Клиглера. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При образовании сероводорода столбик среды чернеет. Бактерии рода Proteus образуют сероводород, при этом в столбике среды появляется газ, что указывает на ферментацию глюкозы.

3.3.4.2 Обработка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Наличие характерного роста в виде тонкого муарообразного налета, поднимающегося вверх от конденсата на свежескошенном агаре, резкого гнилостного запаха, неспорообразующих грамотрицательных палочек в мазках, образующих сероводород, указывает на присутствие бактерий рода Proteus в 1 $см^3$ жидких и в 0,1 г сухих яичных продуктов.

3.3.5 *Метод выявления бактерий рода Staphylococcus aureus*

Метод основан на высеве определенного количества продукта или его разведений в селективные питательные среды, способности стафилококков расти на средах с повышенным содержанием хлористого натрия, коагулировать плазму крови кролика и образовывать кислоту из маннита и мальтозы в аэробных условиях.

3.3.5.1 Проведение контроля

Сухие яичные продукты в количестве 1 г, жидкие — 1 см^3 высевают в пробирки, содержащие по 9 см^3 солевого бульона, приготовленного по 3.2.4.22.

Через 24 ч инкубирования при температуре (37±1) °С из солевого бульона проводят пересев бактериологической петлей на чашки Петри с подсушенным желточно-солевым агаром. Чашки с посевами инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18—24 ч.

Для лучшего выявления пигментов после суточной инкубации чашки с посевами выдерживают на свету при комнатной температуре 18—24 ч.

На желточно-солевом агаре колонии Staphylococcus aureus имеют форму выпуклых дисков диаметром 2—4 мм желтого, белого, кремового, лимонного, золотистого цветов с ровными краями, вокруг колоний образуется радужное кольцо.

Из характерных колоний, подозрительных на Staphylococcus aureus, готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Колонии грамположительных мелких кокков, гроздевидно расположенные в мазке, бактериологической петлей отсевают в чашки Петри с питательным или мясо-пептонным агаром. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18—24 ч.

Из выросших на агаре подозрительных на Staphylococcus aureus колоний после проверки мазков на чистоту культуры под микроскопом ставят реакцию плазмокоагуляции. Для этого в две пробирки помещают по 0,5 см^3 разведенной кроличьей плазмы. В одну пробирку вносят петлей исследуемую суточную агаровую культуру, другую пробирку оставляют незасеянной. Пробирки помещают в термостат при температуре (37±1) °С. Учет результатов проводят через 2—4 ч и пробирки оставляют до утра при комнатной температуре для окончательного учета. Пробирки следует просматривать осторожно, чтобы не разрушить образовывающийся сгусток.

При учете реакции плазмокоагуляции могут наблюдаться три степени активности фермента коагулазы:

++++ — сгусток плотный, при наклоне пробирки неподвижен;

+++ — сгусток, имеющий небольшой отсек, при наклоне пробирки подвижен, плотная коагуляция плазмы;

++ — сгусток в виде взвешенного мешочка, неполная коагуляция плазмы с образованием подвижного сгустка в центре плазмы.

Все три варианта являются положительным результатом.

Подозрительные на Staphylococcus aureus колонии, выросшие на желточно-солевом агаре, бактериологической петлей пересевают в чашки Петри, содержащие агаризованную среду с манитом (или мальтозой) и индикатором феноловым красным. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При положительной реакции вокруг колонии наблюдается желтое окрашивание среды, четко контрастирующее с пурпурно-красным фоном.

3.3.5.2 Обработка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Наличие грамположительных гроздевидно расположенных мелких кокков в мазках из характерных колоний на желточно-солевом агаре, положительная реакция плазмокоагуляции, ферментация маннита и мальтозы с образованием кислоты свидетельствуют о выявлении в 1 г или в 1 см^3 яичных продуктов Staphylococcus aureus.

УДК 664.8.001.4:006.354 МКС 67.120.20 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: методы, микробиологический контроль, средства контроля, проведение контроля

Содержание

ГОСТ 30363—96 Продукты яичные. Общие технические условия. 3

ГОСТ 30364.0—97 Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа 11

ГОСТ 30364.1—97 Продукты яичные. Методы физико-химического контроля 19

ГОСТ 30364.2—96 Продукты яичные. Методы микробиологического контроля 37

ПРОДУКТЫ ЯИЧНЫЕ

БЗ 11—2000

Редактор *Т.П.Шашина*
Технический редактор *О.Н. Власова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Подписано в печать 13.09.2001. Формат 60x84$^{1}/_{8}$. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Усл.печ.л. 6,05. Уч.-изд.л. 5,50. Тираж 1004 экз. Зак. 2191. Изд. № 2757/2. С 2115.

ИПК Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14.
Набрано в Издательстве на ПЭВМ
Калужская типография стандартов, 248021, Калуга, ул. Московская, 256.
ПЛР № 040138

gost.e-ecolog.ru