ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54354 — 2011

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Общие требования и методы микробиологического анализа

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом мясной промышленности им. В.М. Горбатова Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии)

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

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 июля 2011 г. № 180-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2013

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 3
4 Средства измерений, аппаратура, лабораторная посуда, материалы и реактивы 5
5 Питательные среды 9
6 Общие требования к проведению микробиологического анализа 9
7 Подготовка к проведению анализа 10
8 Проведение анализа 11
9 Требования безопасности 26
10 Приложение А (справочное) Перечень рекомендуемых микробиологических питательных сред . . 27
Библиография 36

ОКС 67.120.10

Поправка к ГОСТ Р 54354—2011 Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 4.1, четвертый абзац	с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 мг.	с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 г.

(ИУС № 9 2025 г.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Общие требования и методы микробиологического анализа

Meat and meat products. General requirements and methods of microbiological testing

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо (все виды убойных животных), полуфабрикаты, субпродукты, колбасные изделия и продукты из мяса и устанавливает общие требования и методы микробиологического анализа.

Выявление и определение микроорганизмов:

- количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ);
- бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий — БГКП);
- бактерий рода Proteus;
- бактерий рода Pseudomonas;
- дрожжей и плесневых грибов;
- молочнокислых микроорганизмов;
- сульфитредуцирующих клостридий;
- энтерококков;
- бактерий рода Salmonella;
- Listeria monocytogenes;
- Escherichia coli;
- Staphylococcus aureus;
- коагулазоположительных стафилококков;
- Yersinia enterocolitica;
- бактерий рода Campylobacter;
- Bacillus cereus.

При определении количества микроорганизмов посевом на (в) агаризованные среды результаты выражают — КОЕ (колониеобразующая единица) в 1 г продукта, при определении количества микроорганизмов по методу НВЧ (наиболее вероятное число) — количеством клеток в 1 г продукта.

При выявлении микроорганизмов в определенной массе продукта результаты выражают: «обнаружены в *x* г продукта» или «не обнаружены в *x* г продукта», где *x* — масса продукта г.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 7218—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ Р ИСО 11133-1—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории

Издание официальное

ГОСТ Р ИСО 11133-2—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред

ГОСТ Р 50454—92 (ИСО 3811—79) Мясо и мясные продукты. Обнаружение и учет предполагаемых колиформных бактерий и Escherichia coli (арбитражный метод)

ГОСТ Р 50455—92 (ИСО 3565—75) Мясо и мясные продукты. Обнаружение сальмонелл (арбитражный метод)

ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

ГОСТ Р 51448—99 (ИСО 3100-2—88) Мясо и мясные продукты. Методы подготовки проб для микробиологических исследований

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ Р 51921—2002 Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий Listeria monocytogenes

ГОСТ Р 51935—2002 Стерилизаторы паровые большие. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ Р 52814—2007 (ИСО 6579—2002) Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода Salmonella

ГОСТ Р 52815—2007 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus

ГОСТ Р 52816—2007 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

ГОСТ Р 52830—2007 (ИСО 7251—2005) Микробиология пищевых продуктов и кормов. Метод обнаружения и определения количества презумптивных бактерий Escherichia coli. Метод наиболее вероятного числа

ГОСТ Р 54004—2010 Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042–83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

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

ГОСТ 3640—94 Цинк. Технические условия

ГОСТ 4148—78 Реактивы. Железо (II) сернокислое 7-водное. Технические условия

ГОСТ 4172—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6006—78 Реактивы. Бутанол-1. Технические условия

ГОСТ 6038—79 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 9792—73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 10444.1—84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ 10444.8—88 Продукты пищевые. Методы определения Bacillus cereus

ГОСТ 10444.11—89 Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов

ГОСТ 10444.12—88 Продукты пищевые. Методы определения дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ 10444.15—94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

ГОСТ 10929—76 Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13646—68 Термометры стеклянные ртутные для точных измерений. Технические условия

ГОСТ 13739—78 Масло иммерсионное для микроскопии. Технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 16317—87 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 21239—93 Инструменты хирургические. Ножницы. Общие 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 21400—75 Стекло химико-лабораторное. Технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 23932—90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 24788—2001 Посуда хозяйственная стальная эмалированная. Общие технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 28560—90 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий родов Proteus, Morganella, Providencia

ГОСТ 28566—90 Продукты пищевые. Метод выявления и определения количества энтерококков

ГОСТ 29185—91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий

ГОСТ 29227—91 (ИСО 4794—94) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 30726—2001 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида Escherichia coli

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяют в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

3.1 **бактерии группы кишечных палочек (колиформные бактерии):** Грамотрицательные, оксидазоотрицательные, неспорообразующие палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37 ± 1) °С, принадлежащие в основном к родам — эшерихия (Escherichia), клебсиелла (Klebsiella), энтеробактер (Enterobacter), цитробактер (Citrobacter), серрация (Serratia).

3.2 **бактерии рода Campylobacter:** Грамотрицательные, неспорообразующие, микроаэрофильные, оксидазоположительные, подвижные мелкие бактерии спиралевидной S-образной или изогнутой формы.

Примечание — При культивировании более 48 — 72 ч образуют кокковые формы. Углеводы не ферментируют и не окисляют. Для человека наиболее опасен C. jejuni.

3.3 **бактерии рода Proteus:** Грамотрицательные палочки, обладающие свойством ползучего роста, оксидазоотрицательные, образующие сероводород и дезаминирующие фенилаланин.

3.4 **бактерии рода Pseudomonas:** Грамотрицательные, подвижные, прямые или слегка изогнутые палочковидные бактерии, оксидазоположительные, аэробы, окисляющие глюкозу.

3.5 **бактерии рода Salmonella:** Грамотрицательные, подвижные (кроме S. pullorum, S. gallinarum) палочки с закругленными концами, оксидазоотрицательные, каталазоположительные, ферментирующие глюкозу с образованием кислоты и газа, не ферментирующие лактозу (кроме S. typhi), в основном образующие сероводород, не гидролизующие мочевину, не образующие ацетоин, индол и β-галактозидазу (кроме S. arizona), образующие L-лизиндекарбоксилазу (кроме Salmonella paratiphi A).

3.6 **дрожжи:** Грамположительные, неподвижные, овальной или эллипсовидной формы клетки; факультативные анаэробы, размножающиеся почкованием или спорообразованием.

3.7 **запас рабочей культуры:** Культура эталонного штамма в условиях временного хранения (полужидкий агар, 4 °С — 8 °С).

3.8 **запас эталонной культуры:** Культура эталонного штамма в условиях длительного хранения (жидкий азот, минус 70 °С).

3.9 **импеданс Z:** Сопротивление потоку переменного тока через проводящий материал; является функцией активной проводимости, емкостного сопротивления и применяемой частоты, измеряемых в омах по формуле

$$Z = \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{2\pi FC}\right)^2},$$

где R — активное омическое сопротивление, Ом;

F — частота, Гц;

C — емкостная составляющая, пФ.

3.10 **коагулазоположительные стафилококки:** Грамположительные, каталазоположительные микроорганизмы, которые образуют типичные и/или атипичные колонии на/или в селективно-диагностической питательной среде, дающие положительную реакцию на коагулазу или специфическую для кроличьей плазмы реакцию на агаре с кроличьей плазмой и фибриногеном.

3.11 **культура для целевого использования:** Культура эталонного штамма, прошедшая не более двух пассажей после высева со среды временного хранения (из запасов рабочей культуры), предназначенная для использования в исследованиях.

3.12

культуральная среда: Перечень ингредиентов в жидкой, полужидкой или твердой формах, которые содержат натуральные и/или синтетические компоненты, для того чтобы поддерживать размножение или сохранять жизнеспособность микроорганизмов.

[ГОСТ Р ИСО 11133-1—2008, статья 3.3.1]

3.13 **лиофилизированная культура:** Культура, высушенная при низких температурах в вакууме.

3.14 **молочнокислые микроорганизмы:** Грамположительные, микроаэрофильные, неподвижные, неспорообразующие палочки, иногда кокковидной формы, или кокки, каталазоотрицательные, сбраживающие углеводы с образованием молочной кислоты.

3.15 **непрямой метод (косвенный) измерения импеданса:** Метод регистрации изменения импеданса посредством определения количества диоксида углерода (CO_2), образуемого в ходе процесса обмена веществ микроорганизмов.

3.16 **плесневые грибы:** Гифомицеты, поскольку тело плесневых грибов состоит из тонких ветвящихся нитей — гифов.

3.17 **прямой метод измерения импеданса:** Метод определения изменения импеданса питательной среды, обусловленного разложением питательных субстратов в процессе метаболизма микроорганизмов.

3.18 **скрининг** (от англ. screening «просеивание»): Общее название метода проверок больших групп объектов, обследований с целью выявления возбудителей заболеваний для проведения профилактических мероприятий.

3.19 **сульфитредуцирующие клостридии:** Грамположительные, спорообразующие, сульфитредуцирующие, каталазоотрицательные палочки, способные расти в анаэробных условиях.

3.20 **тест-штаммы микроорганизмов:** Микроорганизмы, типичные по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам, паспортизированные в установленном порядке.

3.21 **основные методы микробиологических исследований:** Методы классического анализа, лежащие в основе утвержденных установленным порядком микробиологических исследований.

3.22 **ускоренные методы микробиологических исследований:** Методы микробиологических исследований, позволяющие в более короткий промежуток времени, по сравнению с основными методами, получить результаты испытаний.

3.23 **энтерококки:** Грамположительные кокки овальной или круглой формы; располагаются парами, короткими или длинными цепочками; факультативные анаэробы, оптимальная температура роста 37 °С, каталазоотрицательные разлагают глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа.

3.24 **эталонный штамм (референтный штамм, референс-штамм):** Микроорганизм, определенный, по меньшей мере, до рода и вида, включенный в каталог и описанный в соответствии с его характеристиками.

3.25 **Bacillus cereus:** Грамположительные, каталазоположительные, спорообразующие, подвижные палочки, ферментирующие в анаэробных условиях глюкозу, нитратредуцирующие, образующие ацетилметилкарбинол и не ферментирующие маннит.

3.26 **Escherichia coli:** Грамотрицательные, оксидазоотрицательные бактерии, ферментирующие лактозу при температуре (44 ± 1) °С с образованием газа и образующие индол из триптофана, не образующие ацетоин и не утилизирующие цитрат, дающие положительную реакцию с метил-рот, ферментирующие глюкозу и сорбит.

3.27 **Listeria monocytogenes:** Грамположительные, неспорообразующие, тонкие, короткие палочки, подвижные при температуре (22 ± 1) °С и неподвижные или слабоподвижные при температуре (37 ± 1) °С, каталозоположительные, оксидазоотрицательные, гидролизующие эскулин, ферментирующие с образованием кислоты рамнозу и маннозу, не ферментирующие маннит и ксилозу, обладающие β-гемолитической и лецитиназной активностью (лецитиназная активность только в присутствии активированного угля).

3.28 **Staphylococcus aureus:** Коагулазоположительные стафилококки, образующие ацетоин, ферментирующие мальтозу в аэробных условиях.

3.29 **Yersinia enterocolitica:** Грамотрицательные, полиморфные палочки, подвижные при температуре 22 °С — 29 °С; факультативные анаэробы, каталазоположительные, оксидазоотрицательные, ферментирующие большинство углеводов (исключая лактозу и рамнозу) без образования газа.

4 Средства измерений, аппаратура, лабораторная посуда, материалы и реактивы

4.1 Средства измерений, аппаратура, лабораторная посуда, материалы и реактивы для основных методов анализа

Средства измерений, аппаратура, лабораторная посуда, материалы и реактивы — по ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ 10444.1, ГОСТ 25336 со следующими дополнениями.

Анаэробные сосуды с оборудованием для генерирования анаэробной атмосферы, включая систему для проверки анаэробных условий.

Бидистиллятор.

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г (для взвешивания реактивов) с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 мг.

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 1 кг (для взвешивания продукта) с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 20,0 мг.

Баня водяная с терморегулятором по ГОСТ Р ИСО 7218 для поддержания заданной температуры с погрешностью ± 0,5 °С, кроме особо оговоренных случаев.

Генератор анаэробной атмосферы.

Генератор микроаэрофильной атмосферы.

Гомогенизатор типа мастикатор или другие модели.

Дилютер гравиметрический — автоматизированная система для разведения образцов.

Дистиллятор, обеспечивающий качество дистиллированной воды в соответствии с ГОСТ 6709.

Дозаторы переменного объема.

Дозаторы пипеточные.

Дозаторы для розлива питательных сред.

Лампа ультрафиолетовая с длиной волны 254 нм (лампа ртутная низкого давления).

Примечание — При работе с ультрафиолетовой лампой используют защитные очки и перчатки для предупреждения раздражения глаз и кожи.

Лупа.

Микроскоп биологический, обеспечивающий просмотр в проходящем свете, с увеличением $900^{\times}$ — $1000^{\times}$ с иммерсионнной системой или с приспособлением для фазовоконтрастного микроскопирования.

Шкаф морозильный.

Прибор нагревательный для варки питательных сред либо магнитные мешалки с подогревом.

Насадки к дозаторам.

Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150.

Поплавки для пробирок.

Машина посудомоечная.

Прибор для подсчета колоний микроорганизмов.

Ридер (иммуноферментный анализатор).

Ротатор 40 — 42 об/мин с таймером.

pH-метр, обеспечивающий измерение с допускаемой погрешностью ± 0,1.

СВЧ-печь (для расплавления питательных сред).

Система для анаэробного культивирования с манометром (анаэростат).

Примечание — Материалы и лабораторная посуда, поставляемые нестерильными, стерилизуют в соответствии с установленными процедурами.

Стерилизатор суховоздушный.

Стерилизатор паровой медицинский по ГОСТ Р 51935.

Термометр ртутный по ГОСТ 13646 с диапазоном измерения от 0 °С до 220 °С (цена деления шкалы 1 °С).

Термостаты, обеспечивающие поддержание температуры в интервале (24 ± 0,5) °С — (60 ± 0,5) °С.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 16317 с морозильной камерой.

Центрифуга универсальная лабораторная (20000 *xg*) с охлаждением.

Часы механические сигнальные по ГОСТ 3145.

Тара стеклянная для химических реактивов и особо чистых веществ по ГОСТ Р 51477.

Воронки из полимерных материалов, металлические.

Кастрюли эмалированные по ГОСТ 24788.

Колбы плоскодонные конические или круглые разной вместимости по ГОСТ 1770.

Колбы мерные наливные вместимостью 500 и 1000 $см^3$.

Контейнеры для анаэробного культивирования.

Микротест системы для биохимической идентификации энтеробактерий (МТС-М-12Е).

Микротест системы для биохимической идентификации стафилококков (МТС-С).

Микротест системы для биохимической идентификации сальмонелл (МТС-Сальм).

Пипетки полимерные стерильные для однократного применения.

Посуда мерная лабораторная стеклянная по ГОСТ 1770: цилиндры (вместимостью 100; 250; 500 $см^3$), мензурки, колбы, пробирки (вместимостью 10; 15; 20 $см^3$).

Посуда лабораторная стеклянная.

Пипетки градуированные по ГОСТ 29227.

Пробирки (многоразового или одноразового пользования) по ГОСТ 25336.

Флакон-дозатор для дозирования жидкостей.

Флаконы с резьбой и крышкой стерилизуемые (500 — 1000 $см^3$).

Чашки Петри среднего размера (диаметр 90 или 100 мм) и/или большие (диаметр 140 мм).

Биотест для контроля тепловой стерилизации.

Биотест для контроля «холодной» стерилизации.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Горелки газовые.

Дезодорант для автоклавирования отработанного материала.

Диски индикаторные с реактивами для идентификации микроорганизмов.

Диски с бацитрацином для идентификации стрептококков.

Зажимы для пакетов.

Индикаторы анаэробной атмосферы.

Коробка для создания анаэробной атмосферы.

Красители для окрашивания капсул.

Красители для окрашивания по Граму.

Красители для окрашивания спор.

Маркеры по стеклу.

Марля медицинская по ГОСТ 9412.

Мешки полимерные для стерилизации и деструкции лабораторных принадлежностей.

Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.

Пакеты газонепроницаемые стерильные для измельчения проб.

Пакеты газонепроницаемые стерильные различного объема для контейнеров анаэростатов, хранения и инкубации посевов в чашках Петри.

Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

Перчатки пластиковые, резиновые.

Петля бактериологическая платино-иридиевая или никель-хромовая диаметром около 3 мм.

Петля бактериологическая полимерная объемом 1; 10 мкл.

Пинцет медицинский по ГОСТ 21241.

Пипетки пастеровские — стеклянные и пластиковые.

Пипетки по ГОСТ 29227 вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$ с ценой деления 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 $см^3$ соответственно.

Подставки для пакетов.

Полоски индикаторные.

Полоски с реактивом Ковача (на индол).

Полоски с ацетатом свинца (на сероводород).

Пробки и колпачки для пробирок (силиконовые, резиновые, металлические и другие), выдерживающие стерилизацию сухим жаром или автоклавированием.

Система для быстрой идентификации энтеробактерий по биохимическим признакам.

Скальпель хирургический по ГОСТ 21240.

Слайды или планшеты для иммунологических реакций.

Смесь газов O_2 — 5 %, CO_2 — 10 %, N_2 — 95 % — в баллоне.

Спиртовки лабораторные.

Спиртовки лабораторные стеклянные по ГОСТ 23932.

Стандарт мутности Макфарланда по [1].

Стандартный образец мутности по [2].

Стационарный CO_2 — инкубатор.

Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.

Стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672.

Тампоны стерильные в индивидуальной упаковке для отбора проб с поверхностей производственных объектов методом смыва.

Термоконтейнер (сумка-холодильник).

Шпатели бактериологические.

Штативы для пробирок.

Электроплитка по ГОСТ 14919.

Ацетон по ГОСТ 2603.

Бриллиантовый зеленый.

Бромкрезол пурпурный.

Бромтимоловый синий.

Ванкомицин для выявления бактерий рода Leuconostoc.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Гептадецилсульфат натрия (тергитол).

Гидрохлорид.

2,3,5-трифенилтетразолиум хлорид (ТТХ).

DL-триптофан.

Железо (II) сернокислое по ГОСТ 4148.

Желчь бычья сухая или натуральная.

Йод кристаллический.

Калий йодистый.

Р-диметиламин бензальдегид.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363.

Кислота 5-амино-2-нафтален сульфоновая.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Кислота сульфаниловая.

Креатин.

Кристаллический фиолетовый.

Лактоза по ГОСТ 6038.

L-триптофан.

Оксалат малахитовый зеленый.

Масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739.

Набор реактивов для окраски по Граму.
Натрия гидроокись, ч. д. а., по ГОСТ 4328.
Натрий гиппурат 99 %.
Натрий метабисульфит.
Натрий лаурил сульфат.
Натрий пировиноградноклислый, ч.
Натрий хлористый по ГОСТ 4233.
Нингидрин 99 %.
Оксидазные диски.
Пероксид водорода по ГОСТ 10929.
Полимиксин В сульфат.
Полимиксин М сульфат.
Раствор перекиси водорода 3 %.
Реагент Ковача.
Спирт амиловый, не содержащий органических щелочей.
Спирт бутиловый, не содержащий органических щелочей (основной).
Спирт бутиловый нормальный, ч. д. а., по ГОСТ 6006.
Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652.
Индикатор феноловый красный.
Ферментативный перевар молока и животных протеинов.
Ферментативный перевар казеина.
Ферментативный гидролизат сои.
Натрий фосфорнокислый двузамещенный Na_2HPO_4 (безводный), ч. д. а., по ГОСТ 4172.
Натрий фосфорнокислый однозамещенный $NaHPO_4 \cdot H_2O$.
Хлористый магний 6-водный ($MgCl_2\ 6H_2O$).
Цинк-порошок по ГОСТ 3640.

4.2 Аппаратура для ускоренных методов анализа

Для ускоренных методов анализа используют следующую аппаратуру:

- при выявлении колиформных бактерий, сальмонелл, энтерококков, дрожжей и плесневых грибов, Clostridium perfringens, листерий методом измерения электрического сопротивления (импеданса) с использованием приборов «Рэбит» — по [3], Бак Трак — по [4];

- при выявлении и определении бактерий рода Salmonella и Listeria monocytogenes на основе гетерогенной твердофазной дезоксирибонуклеиновой кислоты — рибонуклеиновой кислоты (ДНК-РНК) гибридизации с хемилюминесцентным детектированием (прибор «Люмипроб») — по [5] со следующими дополнениями: пробирочный люминометр «Люмлайт» или планшетный люминометр — фотомер «PhL», инкубатор-встряхиватель, 96-луночные и 192-луночные микропланшеты с ДНК-зондом, автоматическая пипетка на 0,04 $см^3$ и наконечники, многоканальные пипетки 0,04 — 0,3 $см^3$, кюветы для реагентов, адсорбирующие салфетки;

- при выявлении бактерии рода Campylobacter — по [6];

- при выявлении возбудителя иерсиниоза — по [7];

- при использовании анализатора Vidas/ mini Vidas для выявления бактерий рода Salmonella — по [8];

- при идентификации микроорганизмов родов Salmonella, Campylobacter на основе ПЦР с использованием системы Бакс (Bax system Q7) — по [9];

- при выделении и идентификации E. coli O157:H7 — по [10];

- при проведении санитарно-микробиологического контроля мясных продуктов на наличие Listeria monocytogenes с использованием анализатора Vidas/mini Vidas — по [8], ГОСТ Р 51921;

- при идентификации микроорганизмов с использованием стриповых наборов к анализатору Vidas/ mini Vidas или другим устройствам (приборам) в соответствии с прилагаемой инструкцией по их применению; иммунохроматографические экспресс-тесты для выявления бактерий рода Salmonella, бактерий Listeria monocytogenes, E. coli O157:H7, бактерий рода Campylobacter и других микроорганизмов, разрешенные к применению в пищевой промышленности.

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

5 Питательные среды

Рекомендуемые питательные среды для выполнения основных микробиологических анализов, разрешенные к применению в пищевой промышленности, приведены в приложении А.

Рекомендуемые питательные среды для использования при ускоренных методах анализа приведены в [3] — [16].

Допускается применение других питательных сред по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте и зарегистрированных (разрешенных) к применению при контроле продукции в пищевой промышленности.

6 Общие требования к проведению микробиологического анализа

6.1 Общие требования проведения микробиологического анализа — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.1.1 Основные методы анализа применяют при получении окончательных результатов, в том числе идентификации микроорганизмов — по ГОСТ Р ИСО 7218.

При производственном контроле вместо питательных сред, содержащихся в чашках Петри многократного или одноразового применения, разрешается использовать подложки (пластины). Для биохимической идентификации выделенной микрофлоры допускается использование тест-систем промышленного производства, разрешенных к применению в пищевой промышленности по [3] — [16].

6.1.2 Ускоренные методы предназначены для осуществления производственного контроля, идентификации культур микроорганизмов, выделенных с использованием основных методов контроля и (или) скрининговых испытаний — по [3] — [16]. При получении положительных результатов этими методами проводят подтверждающие анализы с использованием основных микробиологических и других методов (биохимических, серологических и т. д.). Окончательным результатом считают данные, полученные с использованием основных методов.

6.2 Подготовка помещений, аппаратуры, средств измерений, питательных сред, растворов, лабораторной посуды к проведению анализа — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.3 Требования к персоналу — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.4 Обеспечение качества проведения анализа

6.4.1 Контроль режимов паровой и суховоздушной стерилизации

6.4.1.1 Химический и термический контроли режима стерилизации — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.4.1.2 Биологический контроль осуществляют два раза в год, используя биотесты, предназначенные для контроля паровой или суховоздушной стерилизации конкретного вида и разрешенные к применению в пищевой промышленности.

6.4.2 Контроль санитарно-микробиологических показателей воздушной среды помещений лаборатории — по ГОСТ Р ИСО 7218 с учетом 6.4.2.1, 6.4.2.2.

6.4.2.1 Микробиологический контроль воздуха в боксах или в ламинарных шкафах проводят не реже одного раза в неделю перед началом выполнения анализа. Отбор пробы воздуха в количестве 100 $дм^3$ проводят согласно инструкции к используемому прибору.

Инкубируют посевы при (37 ± 1) °С в течение (24 ± 2) ч.

6.4.2.2 Допустимый уровень общего содержания микроорганизмов не более 500 КОЕ/$м^3$ [17] при использовании аспирационного метода.

6.4.3 Контроль санитарно-микробиологических показателей поверхностей объектов производственной лаборатории — по ГОСТ Р ИСО 7218 с учетом 6.4.3.1, 6.4.3.2.

6.4.3.1 Контроль проводят с целью проверки эффективности санитарной обработки поверхности объектов путем обнаружения колиформных бактерий.

6.4.3.2 Анализ выполняют не реже одного раза в месяц перед началом работы методом смыва или прямого контакта питательной среды с исследуемой поверхностью. Контролируют микробиологические боксы, помещения для проведения микробиологических анализов.

Отбор проб выполняют со стен бокса, с поверхности рабочих столов на каждом рабочем месте, с дверных ручек, наружных деталей приборов.

При контроле мелких предметов смывы берут с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят с площади не менее 100 $см^2$.

6.4.4 Оценка эффективности ультрафиолетового бактерицидного излучения — по [18] с учетом 6.4.4.1.

6.4.4.1 Бактерицидную эффективность ультрафиолетового облучения помещения *БЭ*, %, вычисляют по формуле

$$БЭ = ((N_д — N_п)/N_д)\cdot 100,$$

где $N_д$ — число микроорганизмов до облучения;

$N_п$ — число микроорганизмов после облучения.

Ультрафиолетовое бактерицидное облучение помещений считается эффективным, если бактерицидная эффективность составляет не менее 99 %.

6.4.5 Контроль качества дистиллированной воды — по ГОСТ 6709.

6.4.6 Требования к обеззараживанию и подготовке лабораторного оборудования, материалов, инструментов и лабораторной посуды — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.4.7 Хранение и использование эталонных культур микроорганизмов — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6.4.8 Контроль питательных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1, ГОСТ Р ИСО 11133-2, ГОСТ 10444.1 (пункт 4), с учетом 6.4.8.1 — 6.4.8.3.

6.4.8.1 Контроль условий и сроков хранения питательных сред

Сухие питательные среды и реактивы, если не указаны особые условия хранения, хранят при температуре 10 °С — 25 °С; готовые к применению питательные среды (плотные, полужидкие, жидкие), доставленные с предприятия-изготовителя, хранят при температуре 2 °С — 8 °С в соответствии со сроками, указанными на этикетке.

Вскрытые упаковки со средами хранят плотно закрытыми.

Готовые питательные среды хранят при температуре 2 °С — 8 °С. Сроки хранения готовых питательных сред определяет изготовитель.

Все питательные среды маркируют с указанием названия среды, даты приготовления и срока годности.

6.4.8.2 Контроль питательных сред на этапе приготовления

Контроль питательных сред на этапе приготовления включает в себя следующее: оценку внешнего вида готовой среды, измерение pH готовой среды, определение стерильности (отсутствие контаминации) готовой среды, постановку качественного контроля биологических свойств среды.

Расплавленные питательные среды хранят не более 8 ч. Повторное плавление и использование плотной питательной среды не допускается.

Чашки Петри с внесенной стерильной питательной средой хранят не более одной недели при условии сохранения их состава.

7 Подготовка к проведению анализа

7.1 Отбор, транспортирование, приемка и хранение проб

7.1.1 Отбор проб — по ГОСТ 9792, ГОСТ Р 51447, ГОСТ 26668, ГОСТ 26669, [19] а также в соответствии с нормативными документами на продукты конкретных видов с учетом ниже приведенного.

Пробы отрезают стерильным ножом или другими стерильными инструментами.

Из отобранных по ГОСТ 9792 (пункт 1.3) единиц продукции отбирают объединенную пробу:

- от туши, полутуши, четвертины, мясокостных отрубов, бескостных (обваленных) отрубов, жилованного мяса и от крупнокусковых бескостных полуфабрикатов — целый кусок бескостного мяса размером 8 × 10 × 10 см и массой не менее 500 г;

- от крупнокусковых и мелкокусковых мясокостных полуфабрикатов, порционных бескостных полуфабрикатов отбирают пробу, в которой бескостная часть составляет не менее 500 г;

- от мясного блока, в зависимости от способа обработки мяса, отбирают целый кусок бескостного мяса массой не менее 500 г или мясо, в котором бескостная часть составляет не менее 500 г;

- от тримминга, мяса механической обвалки (дообвалки), пищевых субпродуктов, в том числе замороженных, кишок-сырца, кишок-полуфабрикатов, кишок-фабрикатов, от мелкокусковых и порционных бескостных, порционных мясокостных, рубленых мясных (мясосодержащих), формованных кусковых (рубленых), фаршированных полуфабрикатов, мясного (мясосодержащего) фарша и от полуфабрикатов панированных, в тесте, мясного (мясосодержащего) кулинарного изделия отбирают продукт общей массой не менее 500 г;

- от колбасных изделий отбирают не менее двух точечных проб на расстоянии 15 см от края батона и из них составляют объединенную пробу. Если длина колбасного изделия не более 15 см, то отбирают два батона целиком;

- сосиски и сардельки (точечные пробы) отбирают из разных мест партии, не нарушая целостности единиц продукции, при этом из нескольких точечных проб составляют объединенную пробу;

- от партии языков из двух единиц продукции, с выполнением мер стерильности по всей толщине продукта, вырезают пробы длиной не менее 8 см каждая и из них составляют объединенную пробу;

- от продуктов из говядины, свинины, баранины и мяса других видов животных отрезают точечные пробы по всей толщине продукта длиной не менее 10 см от двух единиц продукции и из двух точечных проб составляют объединенную пробу;

- от окорока, изготовленного из тазобедренной части туши, срез делают шириной не менее 10 см и отбирают по всей толщине продукта в месте сочленения берцовой и бедренной костей;

- от окорока, изготовленного из лопаточной части туши, срез шириной 10 см делают и отбирают по всей толщине продукта в месте сочленения лопатки и плечевой кости;

- от изделий без оболочки (студни, паштеты и др.) точечные пробы отбирают не менее чем от трех единиц изделий массой 200 — 250 г каждая.

7.1.2 Транспортирование, приемка и хранение проб — по ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ Р 54004.

8 Проведение анализа

8.1 Подготовка проб и отбор их навесок при микробиологическом анализе

Подготовка проб и отбор их навесок для микробиологического анализа включает в себя размораживание (при необходимости), стерильное вскрытие упаковки (при исследовании упакованных мясных продуктов), обжиг поверхности пробы или отбор навески без стерилизации ее поверхности и измельчение проб — согласно ГОСТ Р 51448, ГОСТ 26669.

Без стерилизации (обжига) поверхности продукта осуществляют отбор проб от следующих продуктов: тримминга, мяса механической обвалки (дообвалки), пищевых субпродуктов (кроме печени, почек, сердца), кишок-сырца, кишок-полуфабрикатов и кишок-фабрикатов, мелкокусковых бескостных (мясокостных) полуфабрикатов, порционных бескостных (мясокостных) полуфабрикатов, рубленых мясных (мясосодержащих) полуфабрикатов, мясного (мясосодержащего) фарша, формованных кусковых (рубленых) полуфабрикатов, фаршированных полуфабрикатов, полуфабрикатов в тесте, панированных полуфабрикатов, мясных (мясосодержащих) кулинарных изделий, колбасных изделий и продуктов из мяса в нарезке (высота до 5 см), упакованных под вакуумом или в модифицированную газовую среду.

Масса навески зависит от установленных требований на исследуемый микробиологический показатель.

В зависимости от вида исследуемой продукции объединенную пробу массой 70 — 80 г составляют из точечных проб следующим образом: колбасные изделия в оболочке и продукты из свинины, баранины и говядины помещают в металлический или эмалированный лоток, тщательно протирают ватным тампоном, смоченным спиртом, и дважды обжигают пламенем (спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652 или другими средствами, разрешенными для этих целей).

Затем батоны колбасных изделий разрезают продольно стерильным (фламбированным) ножом или скальпелем на две половинки, не рассекая оболочку противоположной стороны батона.

Из свиных, бараньих, говяжьих продуктов на костях и бекона пробы вырезают стерильным инструментом из различных участков обожженного образца на глубине 2 — 3 см от поверхности, предпочтительно ближе к кости.

Изделия без оболочки (мясные хлебы, паштеты, студни и др. изделия) исследуют с поверхности и из глубины продукта.

Для анализа поверхности изделий без оболочки, после развертывания упаковки, с поверхности исследуемых образцов делают смыв (с каждого образца новым стерильным увлажненным ватным тампоном) с тех участков, с которыми могли соприкасаться руки упаковщика, и исследуют согласно ГОСТ Р 52816 на наличие БГКП.

Для анализа глубинных участков этого вида продукта образцы помещают в металлический или эмалированный лоток, смачивают спиртом и обжигают. Затем делают продольный разрез и отбирают навеску методом, указанным для колбасных изделий и продуктов в оболочке, составляя из них одну объединенную пробу, которую помещают в предварительно взвешенную стерильную бюксу или чашку Петри.

Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду (пакет для гомогенизации) 20 г продукта с погрешностью, не превышающей 0,1 г.

Навеску помещают в стерильную емкость (колбу, стакан, пакет) гомогенизатора для приготовления испытуемой взвеси. Для этого к навеске добавляют в четырехкратном количестве 0,1 %-ную пептонную воду или стерильный физиологический раствор и гомогенизируют.

Для посевов на питательные среды стерильной градуированной пипеткой отбирают надосадочную жидкость после 15 мин выдержки при комнатной температуре, учитывая, что в 1 $см^3$ исходной суспензии содержится 0,2 г продукта.

8.2 Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)

Подготовка исследований, проведение и учет результатов анализа — по ГОСТ 10444.15 с учетом разделов 4 — 7, 8.1 и ниже приведенного.

Ряд десятикратных разведений зависит от предполагаемой контаминации продукта.

Для подсчета количества выросших колоний микроорганизмов, кроме учета в ручном режиме, допускается использовать также приборы: счетчики микроорганизмов для ручного контроля, автоматические анализаторы различных типов, разрешенные к применению в пищевой промышленности.

При применении пластин (подложек) питательных сред [12], [13], [15] или других типов, разрешенных к применению в пищевой промышленности, подготовку к анализу, приготовление разведенной пробы выполняют по 8.1.

Пластины питательной среды, предназначенные для подсчета КМАФАнМ, представляют собой готовую систему для нанесения исследуемого образца, содержащую набор питательных веществ, растворимых в холодной воде; в систему может также быть включен тетразолиевый индикатор, облегчающий учет микроорганизмов.

Оптимальный рост микроорганизмов обеспечивается при анализе образца продукта и его разведений в интервале pH 3,7 — 7,5.

Подготовка проб к анализу — по 8.1.

Пластины (подложки) помещают на ровную поверхность питательной среды. Из подготовленного образца или его соответствующих разведений отбирают 1,0 $см^3$ взвеси, снимают крышку пластинчатого устройства (чашки) и в центр пластины вносят отобранный объем взвеси. Внесенная взвесь диффундирует и равномерно распределяется по поверхности матерчатой подложки, трансформируя ее в гель в течение нескольких секунд. При выполнении контроля санитарного состояния поверхностей оборудования, рук персонала, упаковки и других объектов прикладывают к ним предварительно увлажненные пластины (подложки). После чего покровную пленку (крышку) пластины (подложки) закрывают и ставят ее в термостат, располагая в горизонтальном положении крышкой вниз. Допускается размещать чашки друг на друга по 20 шт. Затем посевы инкубируют 24 — 48 ч при температуре 30 °С — 35 °С.

Учет результатов анализа — по ГОСТ 10444.15.

При этом учитывают все колонии красного цвета независимо от их размера и интенсивности окраски, что облегчает получение результатов анализа.

8.3 Выявление и определение бактерий рода Salmonella

8.3.1 Основные методы анализа

Подготовка к анализу, проведение и обработка результатов анализа — по ГОСТ Р 50455, ГОСТ Р 52814 с учетом разделов 4 — 7 и ниже приведенного.

Хромогенные и флюорогенные питательные среды являются питательными средами нового поколения, принцип действия которых основан на выявлении высокоспецифичных ферментов у искомых микроорганизмов. В состав этих сред входит хромогенный субстрат — вещество, при расщеплении которого ферментами, специфичными для определенного вида микроорганизмов, образуются окрашенные и/или флюоресцирующие продукты. В результате колонии искомых микроорганизмов окрашиваются в определенный цвет или приобретают способность к флюоресценции при ультрафиолетовом облучении.

В плотной хромогенной среде [11] присутствие дезоксисилата натрия ингибирует сопутствующую грамположительную микрофлору.

Посев материала на эту среду осуществляют из жидкой селективной среды. Инкубируют посевы в аэробных условиях 24 — 48 ч при температуре 35 °С — 37 °С. Обработка результатов анализа — по ГОСТ Р 50455, ГОСТ Р 52814.

Сальмонеллы при культивировании на этой хромогенной среде образуют кислоту из пропиленгликоля и под воздействием изменения индикатора pH их колонии окрашиваются в красный цвет. Хромогенный субстрат, также имеющийся в составе среды, гидролизуется ферментом β-галактозидазой, продуцируемым колиформами, в результате чего колонии колиформных бактерий при росте на этой среде приобретают сине-зеленый или сине-фиолетовый цвет, а остальные энтеробактерии остаются бесцветны.

Плотные селективные хромогенные среды других типов (приложение А) для выделения и идентификации сальмонелл имеют питательную основу из нескольких видов пептонов и содержат три хромогенных субстрата, что обеспечивает рост всех штаммов Salmonella и позволяет определять их специфическую ферментативную активность. Дифференциация штаммов Salmonella, в том числе сбраживающих лактозу, от других бактерий основана на том, что продуценты эстеразы образуют розовые или розовато-лиловые колонии. Прочие бактерии образуют колонии других цветов. Селективная смесь ингибирует рост большинства грамположительных бактерий и дрожжей.

Посев материала на эту питательную среду осуществляют из жидкой селективной среды. Инкубируют посевы в аэробных условиях 18 — 24 ч при температуре 35 °С — 37 °С.

Полужидкие агаризованные среды предназначены для выявления подвижных штаммов сальмонелл, диффузный рост которых в толще этих сред проявляется от центра к периферии (ГОСТ Р 52814).

В состав питательной среды пластин (подложек) для анализа сальмонелл входят питательные вещества с добавлением хромогенного субстрата и антибиотика, например, новобиоцина. Посев пробы выполняют из среды накопления: открывают поверхностную защитную пленку пластины (подложки), затем в центр среды вносят 1 $см^3$ материала и термостатируют при температуре 43 °С до 48 ч. При этом сальмонеллы формируют зеленые или черные колонии за счет распада хромогенного субстрата, присутствующего в среде. Среда вокруг колоний сальмонелл меняет цвет с фиолетового на желтый. При высокой концентрации колоний сальмонелл вся поверхность среды может быть желтого цвета. При выявлении на этой среде подозрительных на сальмонеллы колоний их идентифицируют по ГОСТ Р 52814.

Пластифицированные среды пластин (подложек) других типов (приложение А) могут содержать питательные вещества с добавлением хромогенного субстрата и дезоксихолата натрия, ингибирующего рост грамположительной микрофлоры. Посев пробы выполняют, как указано выше, термостатируют 24 ч при температуре 35 °С. Сальмонеллы ферментируют ксилозу и декарбоксилируют лизин до кадаверина, что сопровождается повышением pH и выделением сероводорода, который, соединяясь с железом, образует сульфит железа, придающий колониям черный цвет.

В состав пластифицированной среды подложек (пластин) для комплексного выявления сальмонелл/Enterobacteriacae входит модифицированный агар, а также субстраты X-α-Gal (ферментируемый α-галактозидазой) и Salmon-β-Gal (ферментируемый β-галактозидазой). Посев и термостатирование пробы выполняют, как указано выше. При инкубации сальмонеллы формируют голубые или зелено-голубые колонии, в то время как другие энтеробактерии формируют колонии пурпурного цвета.

Результаты анализа оценивают по каждой пробе отдельно.

Интерпретацию результатов анализа выявленных культур проводят по ГОСТ Р ИСО 7218.

Если культуры предположительно отнесены к бактериям рода Salmonella, то окончательную идентификацию проводят по ГОСТ Р ИСО 7218. В этом случае результаты выявления бактерий рода Salmonella выдают после получения ответа по окончательной идентификации.

Результаты анализа записывают следующим образом: «бактерии рода Salmonella обнаружены или не обнаружены в 25 $см^3$ жидкого или 25 г сухого продукта».

8.3.2 Ускоренные методы анализа

8.3.2.1 Подготовка и выполнение анализа — в соответствии с разделами 4, 6, 7, [3] — [5], [8], [11], [20].

а) Метод выявления и определения бактерий рода Salmonella на основе гетерогенного твердофазного гибридизационного ДНК-РНК анализа с хемилюминесцентной детекцией — по [5].

Этот метод является основой функционирования микробиологического анализатора на базе пробирочного люминометра. Его применяют для ускоренного выявления сальмонелл непосредственно из продуктов питания и/или подтверждения выделенных микробиологическими методами культур этих бактерий. Общее время выявления бактерий рода Salmonella составляет 24 — 48 ч.

Сущность метода: основан и действует на принципе гибридизации участка бактериального генома с закрепленным на твердофазном носителе (стенке пробирки) комплементарным к определяемой последовательности ДНК сальмонелл олигонуклеотидным зондом, меченным флюоресцентным красителем, с последующей детекцией гибридов по степени их хемилюминесценции.

Порядок выполнения метода: из точечных проб мясной продукции отбирают 25 г и вносят в обогатительный бульон (225 $см^3$), если масса пробы иная, чем 25 г, используют необходимое количество неселективной среды, исходя из соотношения 1 : 10; гомогенизируют пробу, выполняют посев и термостатируют его при температуре (37 ± 1) °С в течение 16 — 18 ч; переносят 1 $см^3$ из обогатительного бульона в 100 $см^3$ селективного бульона и инкубируют посев 18 — 24 ч при температуре (41,5 ± 0,5) °С для накопления сальмонелл; затем проводят обработку культуральной жидкости лизирующим буфером для денатурации бактериальной оболочки сальмонелл и высвобождения рибосомной РНК; выполняют гибридизацию фрагментов рибосомной РНК с комплементарным меченым зондом; осуществляют хемилюменесцентое детектирование продуктов реакции.

Порядок ускоренной идентификации бактерий рода Salmonella: отбор трех — пяти характерных колоний с дифференциально-диагностических сред; пересев их на питательный агар и инкубирование при температуре 37 °С в течение 24 ч; обработка суточной культуры лизирующим буфером для денатурации бактериальной клетки и высвобождения рибосомальной РНК; гибридизация фрагментов рибосомной РНК с комплементарным меченым ДНК-зондом; хемилюминесцентное детектирование продуктов реакции. Общее время детекции бактерий рода Salmonella этим методом составляет 2 ч.

Описание проведения и учета результатов анализа — по [5].

При выявлении бактерий рода Salmonella результаты подтверждают в соответствии с ГОСТ Р 52814.

б) Метод, основанный на использовании принципа импеданса

Подготовка и выполнение этого метода — по разделам 4, 6, 7, 8.1, [3], [4].

Сущность метода основана на принципе измерения сопротивления (импеданса) в жидкой питательной среде, специфической для исследуемого микроорганизма, в зависимости от содержания в ней контролируемых микробных клеток.

Проведение и учет результатов анализа — по [3], [4].

в) Метод полимеразно-цепной реакции (ПЦР) для идентификации сальмонелл [9]

Сущность метода основана на обнаружении специфических целевых нуклеотидных последовательностей ДНК, присутствующих в микроорганизмах, посредством полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Используют этот метод, особенно при затруднениях в идентификации сальмонелл взамен расширенного набора биохимических тестов, в случаях отсутствия агглютинации культуры с поливалентной О-сывороткой (A, B, C, D, E) и со смесью О-сывороток редких групп при положительном результате стандартного набора биохимических тестов; при предположительном результате в случае наличия агглютинации с сыворотками редких групп сальмонелл; нетипичных результатах биохимических тестов (отклонения по двум и более признакам).

Порядок проведения анализа:

- подготовка аппаратуры, материалов, реактивов и питательных сред в соответствии с установленными требованиями;
- выявление и накопление биомассы бактериальных культур для идентификации, для чего отбирают отдельные колонии с агаризованных селективно-диагностических питательных сред;
- подготовка образцов чистых культур к анализу на анализаторе (смывы с поверхности питательной среды с концентрацией клеток в 1 $см^3$ не менее $5 \cdot 10^6$);
- проведение лизиса и выделение ДНК;
- подготовка к проведению ПЦР;
- ампфликация и детекция;
- создание протокола (файла) анализа.

Полное описание проведения и учета результатов анализа — по [9].

г) Метод иммуноферментного анализа

Сущность метода: выявление сальмонелл основано на применении комплекса высокоспецифичных антител к антигенам О и Н, что позволяет определить как подвижные, так и неподвижные штаммы сальмонелл после предварительного неселективного обогащения проб.

Порядок проведения анализа: подготовка проб — по 8.1; предварительное неселективное обогащение сальмонелл — по 8.3.1; процедура иммуноконцентрации с использованием анализатора для автоматизированного определения сальмонелл; интерпретация результатов; биохимическое подтверждение принадлежности выделенных характерных микроорганизмов к бактериям рода Salmonella; оценка результатов анализа.

Проведение и учет результатов анализа — по [8].

При положительном результате анализа его подтверждают по ГОСТ Р 52814.

д) Твердофазный иммуноферментный анализ с использованием полистирольных планшет

Сущность метода основана на выявлении сальмонелл путем постановки иммуноферментной реакции [20].

Анализ выполняют с использованием полистирольных планшетов, покрытых моноклональными антителами к термостабильному антигену сальмонелл. Использование твердой фазы позволяет надежно разделять компоненты реакции за счет специфичной иммунной сорбции сальмонелл и коньюгатов на поверхности планшета.

Результатом проведения ИФА является образование легко детектируемого комплекса антиген-антитело (сэндвича) в лунках с положительными исследуемыми пробами и положительным контролем. При наличии сальмонелл раствор в лунках окрашивается в синий цвет. Для фиксации результатов реакции в лунки добавляют останавливающий реагент, что сопровождается изменением синего цвета на желтый.

Процедура проведения анализа: предобогащение 25 г пробы в 225 $см^3$ забуференной пептонной воды в течение 18 — 24 ч при температуре 37 °С; обогащение в течение 18 — 24 ч при температуре (45,0 ± 0,5) °С 1 $см^3$ жидкой фазы из среды предобогащения в 10 $см^3$ бульона Раппопорта-Вассилиадиса; перенос по 1 $см^3$ культуральной жидкости после селективного обогащения в отдельную пробирку, каждая из которых содержит 10 $см^3$ модифицированного GN-бульона (с добавкой 10 мкг/$см^3$ новобиоцина); инкубирование 4 — 6 ч при температуре (45,0 ± 0,5) °С; автоклавирование смеси бульонов (по 1 $см^3$) при температуре 120 °С или на кипящей водяной бане 20 мин; охлаждение бульона для последующего исследования методом ИФА; подготовка рабочих разведений растворов, входящих в комплект тест-системы; извлечение из пакетов необходимого количества стрипов; внесение по 0,1 $см^3$ исследуемых бульонов положительного и отрицательного контролей в соответствующие лунки; инкубирование планшета при комнатной температуре в течение 30 мин; промывание лунок; добавление по 0,1 $см^3$ конъюгата моноклональных антител с пероксидазой; инкубация планшета при комнатной температуре в течение 30 мин; промывание лунок; добавление субстрата и выдержка планшета при комнатной температуре в темноте 30 мин; визуальный учет, остановка реакции и интерпретация результатов.

Подтверждение положительных результатов — по ГОСТ Р 50455, ГОСТ Р 52814.

При использовании тестовой системы для выявления сальмонелл процедура проведения анализа состоит из следующих этапов: предобогащение 25 г пробы в 225 $см^3$ забуференной пептонной воды 16 — 20 ч при температуре (35 ± 1) °С — (37 ± 1) °С; иммунохимическое связывание на планшете в течение 30 мин при температуре (35 ± 1) °С — (37 ± 1) °С; отмывка планшета, реактивация поврежденных клеток сальмонелл в лунках планшета в течение 4 ч при температуре (35 ± 1) °С — (37 ± 1) °С; добавление в лунки по 0,1 $см^3$ коньюгата; инкубация в течение 30 мин при температуре (35 ± 1) °С — (37 ± 1) °С; вторая отмывка планшета; добавление в лунки 0,1 $см^3$ субстрата/хромогена; инкубация в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте; добавление стоп-раствора.

С помощью 96-луночного ИФА-планшета можно выполнять анализы от одного до 94 образцов одновременно как при визуальной, так и автоматической оценке результатов.

При положительных результатах анализа на наличие сальмонелл проводят биохимическое и серологическое тестирование и окончательно оценивают результаты анализа по ГОСТ Р 50455.

е) Биохимическая идентификация микроорганизмов рода Salmonella с применением тест-систем (стрипов) промышленного производства, зарегистрированных в Российской Федерации

Для биохимической идентификации признаков бактерий рода Salmonella допускается использовать наборы тест-систем, зарегистрированных в Российской Федерации.

Порядок использования тест-систем и учет результатов анализа — по ГОСТ Р 52814 (пункт 8.5).

ж) Метод выявления патогенных микроорганизмов с использованием экспресс-тестов — по [11].

Иммунохроматографические экспресс-тесты предназначены для выявления патогенных микроорганизмов и представляют собой диагностическую тест-панель с лункой для внесения образца, окном с тестовой и контрольной зонами. Экспресс-тест содержит иммобилизованные на подложке меченные золотом антитела, обладающие высокой специфичностью к определяемым микроорганизмам.

Сущность действия экспресс-тестов основана на методе визуальной иммунохроматографии — разновидности иммуноферментного анализа. Антигены определяемых бактерий, присутствующие в исследуемом образце, взаимодействуют с меченными золотом антителами с образованием комплекса антиген-антитело. При прохождении по подложке теста комплекс антиген-антитело связывается с иммобилизованными антителами, образуя красные линии в тестовой и контрольной зонах, свидетельствующих о наличии искомого микроорганизма в исследуемом образце.

Процедура проведения анализа состоит из следующих этапов.

Неселективное обогащение: навеску анализируемого образца массой (25,0 ± 0,1) г или объемом (25,0 ± 0,1) см^3 вносят в 225 см^3 забуференной пептонной воды. При необходимости анализа других масс (объемов) образца их посев проводят в забуференную пептонную воду в соотношении 1 : 9 по объему. Твердые образцы измельчают в гомогенизаторе. Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение (21 ± 3) ч.

Селективное обогащение: 0,1 см^3 обогащенной культуры после неселективного обогащения переносят в 9,9 см^3 среды Раппопорт-Василиадиса. Посевы инкубируют при температуре (41 ± 1) °С в течение (21 ± 3) ч.

Инактивация сальмонелл: 1 — 2 см^3 культуры, полученной после селективного обогащения, переносят в пробирку. Инактивируют обогащенную культуру на водяной бане при температуре 80 °С в течение 20 мин. Оставшуюся после селективного обогащения культуру используют для подтверждения положительных результатов.

Тестирование сальмонелл: инактивированную культуру охлаждают до комнатной температуры. Переносят 0,16 см^3 инактивированной культуры в лунку для внесения образца теста.

Учет результатов анализа: учитывают результаты через 20 мин после внесения инактивированной исследуемой культуры в тестовую лунку. При этом выявляют наличие линий в тестовой (Т) и контрольной (С) зонах. Результат теста считается положительным, если красная линия присутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне. Результат теста считают отрицательным, если красная линия присутствует только в контрольной (С) зоне. Результат теста считается недействительным, если красная линия отсутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне.

Положительный результат подтверждают по ГОСТ Р 52814.

8.4 Выявление и определение Listeria monocytogenes

8.4.1 Основные методы анализа

8.4.1.1 Подготовка, проведение и обработка результатов исследований — по ГОСТ Р 51921 со следующим дополнением.

Хромогенные и флюорогенные питательные среды — по 8.3.1.

В хромогенной среде Оттавиани-Агости (приложение А) наличие ингибиторов подавляет рост некоторых видов листерий (L. seeligeri, L. grayi, L. welshimeri), грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжей и плесневых грибов. Рост L. monocytogenes и L. innocua не подавляется, а рост L. ivanovii — задерживается. Все листерии обладают активностью фермента β-D-глюкозидазы и образуют при взаимодействии с хромогенным субстратом сине-зеленые колонии. L. monocytogenes выявляется по наличию фермента фосфатидилинозит-фосфолипазы С. Фосфолипазная активность выявляется по наличию зоны просветления вокруг колоний L. monocytogenes. Кроме L. monocytogenes только L. ivanovii проявляет фосфолипазную активность.

Посев на поверхность хромогенной среды выполняют микробиологической петлей со сред обогащения, приведенных в разделе 5.

Инкубируют посевы 24 ч при температуре 37 °С. При отрицательном результате продлевают инкубацию еще на 24 ч. Все сине-зеленые колонии с зоной просветления среды вокруг колоний учитывают предположительно как наличие Listeria monocytogenes. Для получения окончательных результатов подозрительные колонии изучают по ГОСТ Р 51921.

В хромогенной питательной среде «Основа диагностического агара для листерий» (приложение А) дифференциация L. monocytogenes от других видов листерий основана на выявлении активности фосфатидилинозит-специфичной фосфолипазной С активности и ферментации α-метил-D-маннозида. Фермент фосфолипаза С является важным специфическим ферментом и встречается только у L. monocytogenes и L. ivanovii. Он гидролизует очищенный субстрат (FD227), добавляемый в среду, в результате чего вокруг колоний листерий формируется зона помутнения среды. Дифференциация колоний L. monocytogenes и L. ivanovii при этом основана на утилизации α-метил-D-маннозида. L. monocytogenes ферментирует этот субстрат, формируя желтый ореол вокруг колоний, который отсутствует вокруг колоний L. ivanovii.

При получении положительных результатов на наличие L. monocytogenes с использованием хромогенных и флюорогенных питательных сред результаты подтверждают анализом колоний этих микроорганизмов по ГОСТ Р 51921, в том числе системы биохимической идентификации.

8.4.2 Ускоренные методы анализа

8.4.2.1 При подготовке к анализам и их выполнении руководствуются разделами 4, 6, 7, [4], [5], [9].

а) Метод выявления и определения L. monocytogenes на основе гетерогенного твердофазного гибридизационного ДНК-РНК анализа с хемилюминесцентным детектированием

Его применяют для ускоренного выявления и/или подтверждения принадлежности к L. monocytogenes культур бактерий, выделенных микробиологическими методами [5].

Процедура выполнения метода: из точечных проб мясной продукции отбирают навеску 25 г, вносят в 225 $см^3$ среды первичного накопления, и инкубируют посевы при температуре 37 °С в течение (24 ± 2) ч; затем из этого посева отбирают 0,1 $см^3$ суспензии и вносят в 10 $см^3$ бульона Фразера для вторичного обогащения; термостатируют посев при температуре (37 ± 1) °С в течение 48 ч; обрабатывают культуральную жидкость лизирующим буфером для денатурации бактериальной клетки и высвобождения рибосомной РНК; осуществляют гибридизацию фрагментов рибосомной РНК с комплементарным меченым ДНК-зондом и хемилюминесцентное детектирование продуктов реакции.

Ускоренная идентификация культур, выделенных из мясных продуктов, и определение их принадлежности к L. monocytogenes предусматривает следующее: получение суточной культуры микроорганизма; обработку суспензии суточной культуры клеток лизирующим буфером для денатурации бактериальной клетки и высвобождения рибосомной РНК; гибридизацию фрагментов рибосомной РНК с комплементарным меченым ДНК-зондом; хемилюминисцентное детектирование продуктов реакции. Общее время идентификации L. monocytogenes — 2 ч.

Описание проведения и учета результатов анализа — по [5].

б) Метод измерения электрического сопротивления (импеданса)

Подготовка к проведению анализа — по 4.2, разделам 6, 7.

Сущность метода — по 8.3.2.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа с использованием экспресс-анализатора — по [4].

в) Метод ПЦР при идентификации Listeria monocytogenes с использованием тест-систем, разрешенных к применению в пищевой промышленности, допускается использовать одновременно с определением лецитиназной и β-гемолитической активности [9].

Сущность метода — по 8.3.2.

Порядок проведения анализа — по 8.3.2. Первичный посев для выявления Listeria monocytogenes осуществляют по ГОСТ Р 51921.

Для определения принадлежности характерных колоний к Listeria monocytogenes отбирают отдельные (3—4) колонии с селективно-диагностических сред после их инкубирования и пересевают штрихами на поверхность плотных питательных сред или в пробирки с жидкими средами (триптонсоевый бульон с дрожжевым экстрактом) и инкубируют 24 ч при температуре (37 ± 1) °С.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [9].

г) Метод иммуноферментного анализа с использованием анализатора.

Сущность метода — по 8.3.2.

Проведение и учет результатов анализа — по ГОСТ Р 51921 (разделы 7, 8).

д) Метод твердофазного иммуноферментного анализа

Сущность метода основана на выявлении бактерий рода Listeria, в том числе L. monocytogenes, путем постановки иммуноферментной реакции с помощью тест-систем [21]. Анализ выполняют на полистирольных планшетах, покрытых моноклональными антителами к антигену этих бактерий. Результатом проведения ИФА является образование легко детектируемого комплекса антиген-антитело (сэндвича) в лунках с положительными исследуемыми пробами и положительным контролем. В отсутствие листерий, а также в лунке с отрицательным контролем, иммунокомплекс не образуется. При наличии листерий раствор в лунках окрашивается в синий цвет; для фиксации результатов реакции в лунки добавляется фиксирующий реагент, при этом цвет раствора меняется на желтый.

Процедура проведения анализа: предобогащение 25 г пробы в 225 $см^3$ бульона Фразера в течение 24 ч при температуре 30 °С; обогащение 0,1 $см^3$ предобогащенного бульона Фразера путем его внесения в 10 $см^3$ бульона Фразера и культивирования 24 ч при температуре 30 °С; инактивирование жизнеспособных бактерий путем тепловой обработки при температуре 100 °С в течение 20 мин после их инкубации в среде обогащения; подготовка рабочих разведений растворов, входящих в комплект тест-системы; извлечение из пакетов необходимого количества стрипов; внесение по 0,1 $см^3$ исследуемых растворов, положительного и отрицательного контролей в соответствующие лунки; инкубирование планшета при температуре 37 °С

30 мин; промывание лунок; добавление в лунки по 0,1 $см^3$ коньюгата моноклональных антител с пероксидазой; инкубация планшета при температуре 37 °С в течение 30 мин; промывание лунок, добавление субстрата и выдержка планшета при комнатной температуре в темноте 30 мин; визуальный учет, остановка реакции. Учет результатов и подтверждение положительных результатов — по ГОСТ Р 51921.

е) Иммунохроматографический экспресс-тест [11]

Сущность и принцип метода основаны на выявлении Listeria monocytogenes с использованием иммунохроматографического теста, представляющего собой диагностическую тест-панель с лунками для внесения образца и окном с тестовой и контрольной зонами — по 8.3.2.

Процедура проведения анализа.

Предварительное селективное обогащение: навеску анализируемого образца массой (25,0 ± 0,1) г или объемом (25,0 ± 0,1) $см^3$ вносят в 225 $см^3$ бульона Фразера половинной концентрации или в селективный бульон для листерий (ЮВМ). При необходимости анализа других масс (объемов) образца их посев проводят в селективную среду бульон ЮВМ в соотношении 1 : 9 по объему. Твердые образцы измельчают в гомогенизаторе. Посевы инкубируют при температуре (30 ± 1) °С в течение (21 ± 3) ч.

Селективное обогащение: 0,1 $см^3$ культуры после предварительного селективного обогащения переносят в 9,9 $см^3$ бульона Фразера или бульона для обогащения листерий (ЮВМ). Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение (21 ± 3) ч.

Инактивация листерий: 1 — 2 $см^3$ культуры, полученной после селективного обогащения, переносят в пробирку. Инактивируют обогащенную культуру на водяной бане при температуре 80 °С в течение 20 мин.

Оставшуюся после селективного обогащения культуру используют для подтверждения положительных результатов.

Тестирование L. monocytogenes: инактивированную культуру охлаждают до комнатной температуры. Переносят 0,18 $см^3$ инактивированной культуры в лунку для внесения образца экспресс-теста.

Результаты анализов учитывают через 20 мин после внесения инактивированной исследуемой культуры в тестовую лунку, для чего выявляют наличие линий в тестовой (Т) и контрольной (С) зонах экспресс-теста. Результат теста считается положительным, если красная линия присутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне. Результат тестирования считается отрицательным, если красная линия присутствует только в контрольной (С) зоне. Результат тестирования считают недействительным, если красная линия отсутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне.

Положительный результат подтверждают, используя дифференциально-диагностические среды по ГОСТ Р 51921.

8.5 Выявление и определение энтерококков (E.faecalis, E.faecium)

8.5.1 Основные методы анализа

8.5.1.1 Подготовка, проведение и учет результатов анализа — по ГОСТ 28566 (пункты 4, 5) с учетом разделов 4 — 7 и ниже приведенного.

Ряд десятикратных разведений выполняют в зависимости от предполагаемой контаминации продукта.

Хромогенная среда типа «основа хромогенного агара» для выделения и дифференциации E. faecalis и E. faecium, кроме питательных веществ, содержит арабинозу и хромогенный субстрат, который окрашивает колонии этих микроорганизмов в различный цвет. E. faecalis не ферментирует арабинозу и формирует колонии синего цвета. E. faecium ферментирует арабинозу и образует колонии зеленой окраски.

На хромогенных агаровых средах, в составе которых имеется эскулин и предназначенных для выявления энтерококков и Д-стрептококков, эти микроорганизмы гидролизуют эскулин с почернением среды. Селективность среды обеспечивается наличием в ней канамицина и азида натрия (ингибирование грамотрицательной микрофлоры), и желчных кислот (ингибирование грамположительных микроорганизмов).

Энтерококки и стрептококки группы Д образуют характерные бесцветные или серые колонии, окруженные черным ореолом. Окончательная идентификация этих микроорганизмов с изучением их биохимических свойств — по ГОСТ 28566.

Для контроля качества среды используют штамм согласно ГОСТ Р ИСО 11133-2. На данной среде может наблюдаться рост листерий и стафилококков.

8.5.2 Ускоренный метод анализа путем измерения электрического сопротивления (импеданса)

8.5.2.1 Подготовка к анализу и сущность метода — по 8.3.2.

8.5.2.2 Порядок проведения анализа: подготовка прибора к анализу; внесение в ячейку прибора с питательной средой 1 $см^3$ из соответствующих разведений образца; перемешивание содержимого ячейки; внесение в отдельную ячейку контрольного образца питательной среды; начало измерений; учет результатов.

Полное описание проведения и учета результатов анализа — по [4].

8.6 Выявление бактерий группы кишечных палочек (БГКП)

8.6.1 Основные методы анализа

8.6.1.1 Подготовка, проведение, обработка и учет результатов анализа — по ГОСТ Р 52816 (разделы 8 — 10), ГОСТ Р 50454 (разделы 8 — 10) с учетом разделов 4 — 7 и ниже приведенного.

Для приготовления гомогената при проведении анализа используют стерильные полимерные пакеты, а гомогенизацию осуществляют с применением аппарата перильстатического или других типов.

Когда исследуемый объем 1 $см^3 < x \leq 10$ $см^3$ (x, $см^3$ жидкой пробы, x, $см^3$ исходной суспензии при использовании других продуктов), используют одну из обогатительных селективных сред двойной концентрации в объеме 10 $см^3$. Пробирки с посевами в среде двойной концентрации инкубируют при температуре 37 °С в течение (24 ± 2) ч, после чего из этих пробирок инокулируют посевы петлей в селективную среду нормальной концентрации. Затем эти посевы инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение (24 ± 2) ч. Если в них не отмечено образование газа, то продолжают наблюдение до (48 ± 2) ч. Посевы, в которых отмечено образование газа после (24 ± 2) ч или после (48 ± 2) ч инкубирования, считают положительным.

Если исследуемый объем $x \leq 1$ $см^3$, то его вносят в пробирку, содержащую 10 $см^3$ одной из обогатительных селективных сред нормальной концентрацией. Пробирки с посевами инкубируют при температуре 37 °С в течение (24 ± 2) ч. Если в этих пробирках не отмечено образование газа или помутнения, затрудняющего выявление газа, продолжают инкубацию еще (24 ± 2) ч. После чего из пробирок, в которых отмечено образование газа или помутнение, инокулируют посевы петлей в селективную среду. Эти посевы инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение (24 ± 2) ч. Если в них не выявлено образование газа, то продолжают термостатную выдержку до (48 ± 2) ч. Посевы, в которых отмечено образование газа после (24 ± 2) ч или после (48 ± 2) ч инкубирования, считают положительным.

Принцип действия хромогенных основных питательных сред, а также пластин (подложек) по выявлению колиформных бактерий основан на реакции вырабатываемого ими фермента β-галактозидазы, который расщепляет хромогенный субстрат питательной среды, формируя цвет колоний этих микроорганизмов. В зависимости от состава индикатора колонии БГКП формируют определенный цвет, например, голубой или зелено-голубой [12], [13], розовый (до красного) [16].

В состав питательной среды пластин (подложек) входит растворимый в холодной воде гелеобразующий агент.

Подготовка образцов, внесение испытуемых взвесей на поверхность хромогенных питательных сред, в том числе пластин (подложек), — по 8.1, 8.2.

Для подавления роста грамположительных микроорганизмов в составе среды имеется ингибиторное вещество.

Инкубируют посевы 24 ч при температуре 35 °С — 37 °С. Учет результатов анализа — по ГОСТ Р 52816, ГОСТ Р 50454.

Для автоматического учета колоний и регистрации результатов анализа на наличие колиформных бактерий допускается использовать устройства, разрешенные для этих целей.

8.6.2 Ускоренный метод анализа на принципе импеданса [3], [4]

8.6.2.1 Подготовка проб к анализу и отбор их навесок — по 8.1.

8.6.2.2 Сущность метода — по 8.3.2.2.

8.6.2.3 Процедура проведения и учета результатов анализа — по [3], [4].

8.7 Выявление Escherichia coli

8.7.1 Основные методы анализа

8.7.1.1 Подготовка, проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ Р 52830, ГОСТ 30726, ГОСТ Р 50454 с учетом разделов 4 — 7 и ниже приведенного.

Действие хромогенных питательных сред для выявления E. coli основано на обнаружении специфического фермента β-глюкуронидазы у этих микроорганизмов с образованием продуктов, окрашивающих их колонии в специфический цвет, а флюорогенных — в расщеплении флюорогенного субстрата ферментом β-глюкуронидаза, содержащимся в клетках E. coli, с образованием флюоресцирующего (под воздействием УФ-света) продукта в питательной среде.

Порядок проведения анализа с использованием хромогенных и флюорогенных питательных сред: подготовка к анализу — по разделу 7, 8.1; посев суспензии (твердых образцов) или жидких образцов на поверхность плотной хромогенной или в жидкую питательную среду — по [16]; термостатирование при температуре 37 °С в течение (21 ± 3) ч; учет и оценка результатов анализа; после термостатирования на хромогенной плотной питательной среде колонии E. coli приобретают темно-синий или фиолетовый цвет, колиформные бактерии — розовый, красный; при использовании флюорогенной среды у E. coli отмечается наличие флюоресценции при облучении ультрафиолетовой лампой.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа с использованием хромогенных и флюорогенных питательных сред — по [16].

8.7.2 Выявление и идентификация энтерогемморагической кишечной палочки E. coli O157:H7

Выявление E. coli O157:H7 с применением дифференциально-диагностического метода основано на использовании биохимических особенностей данного микроорганизма — отсутствии способности ферментировать сорбитол и наличии продукции веротоксинов VT1, VT2.

Порядок анализа при выявлении E. coli O157:H7: подготовка к анализу — по разделу 7, 8.1; отбор 25 г из навески пробы и внесение в селективную питательную среду; инкубирование посева в селективной питательной среде при температуре 37 °С в течение 18 — 24 ч; посев из селективной среды на плотную питательную среду, обладающую селективными свойствами для E. coli O157:H7; термостатирование посева 24 ч при температуре 37 °С; просмотр посевного материала и выявление [10] на питательной среде колоний, характерных для E. coli O157:H7; биохимическая и серологическая идентификация выявленных микроорганизмов; изучение токсигенных свойств (при положительном результате исследований); учет и оценка результатов анализа.

Полное описание процедуры проведения идентификации E. coli O157:H7 и учета результатов анализа — по [10].

8.7.3 Выявление E. coli с использованием пластин (подложек) [12], [13] или их аналогов

Подготовка образцов, внесение исследуемой взвеси на поверхность этих пластин (подложек) — по 8.1, 8.2.

Пластины (подложки) для выявления E. coli — готовые стерильные системы с пластифицированной средой, содержащей модифицированный питательный состав с желчью и другими селективными компонентами, ингибирующими рост грамположительных микроорганизмов.

Принцип действия основан на выявлении у E. coli специфического фермента β-глюкуронидазы. Хромогенный субстрат Х-глюкуронид, используемый в питательной среде, позволяет выявить глюкуронидазную активность. Клетки E. coli сорбируют Х-глюкуронид, внутриклеточная глюкуронидаза расщепляет связь между глюкуронидом и хромофором, который, высвобождаясь в присутствии хромогенного субстрата, окрашивает колонии E. coli в пурпурный цвет. При использовании другого хромогенного субстрата колонии E. coli могут приобретать иной цвет, например, синий.

Проведение анализа — по 8.1, 8.2.

Инкубируют посевы 24 ч при температуре 35 °С — 37 °С.

Рост микроорганизмов проявляется в виде колоний пурпурного (синего) цвета.

Учет результатов анализа — по ГОСТ Р 50454.

Для автоматического учета и регистрации результатов анализа на наличие E. coli разрешается использовать устройства, допущенные для применения в этих целях.

8.7.4 Ускоренные методы анализа

8.7.4.1 Организация проведения анализа — по разделу 6, подготовка к проведению анализа — по разделу 7, подготовка проб и отбор их навесок при проведении анализа — по 8.1.

а) Метод выявления E. coli, основанный на принципе импеданса

Сущность и этапы выполнения метода — по 8.3.2.2.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [3], [4] с учетом раздела 7, 8.1.

б) Метод ПЦР для идентификации E. coli O157:H7

Сущность метода — по 8.3.2.3.

Порядок анализа: подготовка к проведению анализа, в том числе приготовление растворов и реактивов, питательных сред — по 5.1, 5.2, [8]; выделение и накопление биомассы бактериальной культуры путем отбора отдельных колоний (не менее трех сорбитолотрицательных или лактозоположительных), характерных для E. coli O157:H7 с агаризированных селективно-диагностических сред (сорбитол-агар E. coli O157:H7- агар и др.) и пересева на поверхность агара Клиглера или Олькеницкого, или Ресселя, или в триптон-соевый бульон с дрожжевым экстрактом; инкубирование посевов при температуре 37 °С 18 — 24 ч; подготовка образцов чистых культур к анализу; проведение лизиса и выделения ДНК; подготовка к проведению ПЦР, амплификация и детекция; оценка результатов идентификации на основе протокола (файлов) анализа.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [9].

в) Иммунохроматографический экспресс–тест для выявления E. coli O157:H7 [11]

Сущность метода — это диагностическая тест-панель, содержащая иммобилизованные на подложке меченные золотом антитела, обладающие высокой специфичностью к E. coli O157:H7 или веротоксинам.

Принцип действия экспресс-теста основан на методе визуальной хроматографии — разновидности иммуноферментного анализа.

Антигены E. coli O157:H7 или веротоксинов, присутствующих в исследуемом образце, взаимодействуют с меченными золотом антителами с образованием красных линий в тестовой и контрольной зонах. Исследуют предварительно обогащенные образцы.

Процедура проведения анализа.

Селективное обогащение. Навеску анализируемого образца массой (25 ± 0,1) г или объемом (25 ± 0,1) $см^3$ вносят в 225 $см^3$ модифицированного бульона с новобиоцином (мЕС-бульон). При необходимости анализа других масс (объемов) образцов их посев проводят в селективный бульон в соотношении 1 : 9 по объему. Твердые образцы измельчают в гомогенизаторе. Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение (21 ± 3) ч.

Инактивация исследуемой культуры микроорганизма.

1 — 2 $см^3$ культуры, полученной после селективного обогащения, переносят в пробирку. Инактивируют обогащенную культуру на водяной бане при температуре 100 °С 15 мин.

Тестирование инактивированной культуры.

Инактивированную культуру охлаждают до комнатной температуры. Переносят 0,16 $см^3$ инактивированной культуры в лунку для внесения образца тестового устройства.

Учет результатов. Учитывают результаты через 20 мин. Проверяют наличие линий в тестовой (Т) и контрольной (С) зонах. Результат теста считается положительным, если красная линия присутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне. Результат теста считается отрицательным, если красная линия присутствует только в контрольной (С) зоне. Результат теста считается недействительным, если красная линия отсутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне.

Положительные результаты необходимо подтвердить, используя агар Мак-Конки с сорбитолом (СМАК-агар) или агар Мак-Конки с сорбитолом усиленной селективности (ЦТ-СМАК-агар) с последующей идентификацией по 8.7.1 с использованием основного метода анализа, предназначенного для выявления E. coli O157:H7.

г) Метод иммуноферментного анализа для выявления E. coli O157:H7 с использованием анализатора

Сущность метода и порядок проведения анализа — по 8.3.2.4.

Описание проведения и учета результатов анализа – по 8.4.2.4.

8.8 Выявление и определение количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus

8.8.1 Основные методы анализа

8.8.1.1 Подготовка к проведению, проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ Р 52815 с учетом разделов 4 – 7, 8.1 и ниже приведенного.

При проведении анализа применяют отечественные и зарубежные питательные среды, в том числе хромогенные, — по разделу 5. Принцип действия хромогенной питательной среды для выявления S. aureus заключается в подавляющем воздействии на большинство сопутствующей микрофлоры за счет наличия в этой среде хлорида лития и теллурита калия и в специфическом окрашивании колоний стафилококков.

Коагулазоположительные стафилококки и S. aureus образуют коричнево-черные колонии с непрозрачной зоной по их периметру, а S. epidermidis — коричневые. L. monocytogenes образуют колонии голубоватого цвета, Bacillus spp, E. coli и Micrococcus spp. — бесцветные.

Пластины (подложки) для выделения стафилококков содержат хромогенную среду на основе питательной среды Байрд-Паркера или пластифицированной питательной среды, содержащей модифицированный солевой агар с теллуритом (приложение А).

При проведении анализа с использованием среды Байрд-Паркера в центр пластины вносят 1 $см^3$ жидкой пробы или исходной суспензии других видов продуктов, или его разведения. Затем добавляют 0,3 $см^3$ суспензии стерильного яичного желтка (7—8 капель на чашку среды Компакт Драй) и термостатируют при температуре (35 ± 2) °С в течение 48 ч. S. aureus формирует на данной среде желтые колонии с непрозрачной зоной вокруг.

Учет и обработка результатов анализа — по ГОСТ Р 52815.

При использовании пластин (подложек) с наличием в них солевого агара с теллуритом восстановление теллурита в процессе роста стафилококков приводит к образованию колоний черного цвета [12]. Ферментация, связанная с кислотно-фосфотазной активностью S. aureus, в присутствии хромогенного субстрата сопровождается окрашиванием колоний в голубой цвет, в результате формируются черные колонии S. aureus с голубым ореолом.

Проведение анализа — по 8.1, 8.2.

Инкубируют посевы 24 — 48 ч при температуре 35 °С. Рост S. aureus проявляется в виде колоний черного цвета с металлическим оттенком, окруженных голубым ореолом.

Учет и обработка результатов анализа — по ГОСТ Р 52815.

8.8.2 Ускоренные методы анализа

Сущность метода и порядок проведения анализа — по [3], [4].

Описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [3], [4].

8.9 Выявление Bacillus cereus

Подготовка, проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ 10444.8 (разделы 4, 5); разделы 4 — 7, 8.1.

8.10 Выявление и определение количества сульфитредуцирующих клостридий

Проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ 29185 (разделы 4, 5); разделы 4 — 7, 8.1.

8.11 Выявление бактерий рода Proteus

Проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ 28560 (разделы 4, 5); разделы 4 — 7, 8.1.

8.12 Выявление Yersinia enterocolitica

8.12.1 Основные методы анализа

Аппаратура, лабораторная посуда, материалы — по разделу 4.1.

Питательные среды — по разделу 5.

Организация и проведение микробиологического анализа — по разделу 6.

Подготовка к проведению анализа — по разделу 7.

Подготовка проб и отбор их навесок при проведении микробиологического анализа — по разделу 8.1.

Порядок анализа: отбор, транспортирование и хранение проб; подготовка к исследованиям; посев пробы в селективную среду и инкубирование посева 24 ч при температуре 30 °С – 32 °С; пересев из селективной среды на плотную селективную среду и инкубирование 24 — 28 ч при температуре 30 °С — 32 °С; учет результатов с идентификацией выросших колоний, характерных для Y. enterocolitica.

Полное описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [7] с учетом раздела 7, 8.1.

Свойства энтеропатогенных иерсиний приведены в таблице 1.

Таблица 1

Тесты	Результаты			
	Y. enterocolitica			Y. pseudotuberculosis
Оксидаза	—			—
Глюкоза	K			K
Цитрат Симонса	—			—
Мочевиза (уреаза)	+			+
Сахароза	+			+
Салицин	—			—/+
Сорбит	+			—
Рамноза	—			+
Глицерин	+			+/—
Мальтоза	+			+
	Биовар			*
	II	III	IV	
Индол	+	—	—	
Ксилоза	+	+	—	

* Биовары отсутствуют.

Примечание — Знак «+» — положительный результат; знак «—» — отрицательный результат; К — образование кислоты.

8.13 Выявление бактерий рода Campylobacter

8.13.1 Основные методы анализа

Сущность метода заключается в выявлении и определении бактерий рода Campylobacter при использовании жидких селективных сред с наличием антибиотиков и аэротолерантных добавок с пересевом на твердые селективные питательные среды и дальнейшей инкубацией в микроаэрофильных условиях с последующей идентификацией этих микроорганизмов.

Аппаратура, материалы, лабораторная посуда, реактивы, питательные среды — по разделам 4, 5 с учетом [6].

Организация проведения анализа — по разделу 6, подготовка к проведению анализа — по разделу 7, подготовка проб и отбор их навесок при проведении микробиологического анализа — по 8.1 с учетом [6].

Порядок анализа: приготовление навески; посев в обогащенный бульон; предварительное обогащение в жидкой среде (бульоне) в микроаэрофильных условиях 4 ч при температуре 37 °С или 3 ч при температуре 32 °С, 2 ч при температуре 32 °С (для замороженных или хранившихся более 10 дней продуктов); обогащение в жидкой среде (бульоне) 18 — 24 ч при температуре 42 °С в микроаэрофильных условиях; пересев на поверхность селективного агара; инкубация 24 — 48 ч в микроаэрофильных условиях; учет результатов с подтверждением родовой и видовой идентификации (таблица 2); получение окончательного результата.

Полное описание процедуры проведения и учет результатов анализа — по [6].

Свойства бактерий рода Campylobacter приведены в таблице 2.

Таблица 2

Признак	Вид				
	C. jejuni	C. coli	C. lari	C. hyointestialis	C. upsaliensis
Рост при 25 °С	—	—	—	V	—
Гидролиз гиппурата	+	—	—	—	—
Продукция H_2S (на ТСА)	—	V	—	+(c)	—

Окончание таблицы 2

Признак	Вид				
	C. jejuni	C. coli	C. lari	C. hyointestialis	C. upsaliensis
Продукция каталазы	+	+	+	+	—
Продукция оксидазы	+	+	+	+	+
Устойчивость: к налидиксовой кислоте	S[d]	S	R	R	S
к цефалотину	R	R	R	S	S

Примечание — Знак «+» — 90 % и более штаммов положительные; знак «—» — 90 % и более штаммов отрицательные; V — от 11 % до 89 % штаммов положительные; S — чувствительные; R — устойчивые; [c] — незначительное образование H_2S на свежем (менее 3 дней) ТСА; [d] — есть сообщение о штаммах, чувствительных к налидиксовой кислоте.

8.13.2 Ускоренные методы анализа

8.13.2.1 Метод ПЦР для идентификации кампилобактерий

Сущность метода — по 8.3.2.3.

Подготовка к проведению анализа — по разделам 4, 6, 7, 8.1 и [9].

Порядок анализа при идентификации бактерий рода Campylobacter: отбор отдельных (3—4) колоний с агаризированной питательной среды; посев материалов из этих колоний на поверхность кровяного Колумбийского агара или бульона для бруцелл; инкубирование посевов (42 ± 1) °С в течение 48 ч в микроаэрофильной атмосфере; подготовка образцов чистых культур к лизису; проведение лизиса и выделение ДНК; подготовка к проведению ПЦР; амплификация и детекция; оценка результатов идентификации.

Описание процедуры проведения и учета результатов анализа — по [9].

8.13.2.2 Иммунохроматографический экспресс-тест для выявления кампилобактерий [11]

Подготовка к проведению анализа — по 4.2, разделам 6, 7, 8.1.

Сущность метода — по 8.3.2.7.

Проведение анализа

Селективное обогащение. Навеску анализируемого образца массой (25 ± 0,1) г или объемом (25 ± 0,1) $см^3$ вносят в 225 $см^3$ селективного бульона Болтона. При необходимости анализа других масс (объемов) образца их вносят в селективный бульон Болтона в соотношении 1 : 9 по объему. Твердые образцы измельчают в гомогенизаторе. Объем воздуха во флаконе (пробирке) после посева не должен превышать 10 % — 15 %. Если объем воздушного пространства превышает 15 %, то культивирование проводят в микроаэрофильных условиях, используя для этого газогенерирующие пакеты. Посевы инкубируют в два этапа: первый этап — при температуре (37 ± 1) °С в течение 4 ч; второй этап — при температуре (41 ± 1) °С в течение (44 ± 2) ч.

Инактивация исследуемой культуры микроорганизма. 1 — 2 $см^3$ культуры, полученной после селективного обогащения, переносят в пробирку. Инактивируют обогащенную культуру на водяной бане при температуре 100 °С в течение 15 мин. Оставшуюся после обогащения культуру используют для подтверждения положительных результатов.

Тестирование инактивированной культуры. Инактивированную культуру охлаждают до комнатной температуры. Переносят 0,16 $см^3$ инактивированной культуры в лунку для внесения образца.

Учет результатов. Через 20 мин после внесения образца в лунку учитывают результаты. Проверяют наличие линий в тестовой (Т) и контрольной (С) зонах тестового устройства. Результат теста считают положительным, если красная линия присутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне. Результат теста считается отрицательным, если красная линия присутствует только в контрольной (С) зоне. Результат теста считают недействительным, если красная линия отсутствует как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зоне.

Положительные результаты подтверждают по 8.13.1.

8.13.2.3 Метод иммуноферментного анализа

При проведении иммуноферментного анализа используют анализатор Vidas/mini Vidas.

Сущность метода — по 8.3.2.4.

Подготовка и порядок анализа — по [6].

Полное описание проведения и учет результатов анализа — по [6].

8.14 Выявление молочнокислых бактерий

8.14.1 Основные методы анализа

Проведение, обработка и оформление результатов анализа — по ГОСТ 10444.11 (разделы 4, 5); разделам 4 — 7, 8.1 и с учетом ниже приведенного.

8.14.2 Ускоренный метод анализа лактобактерий

Сущность метода и порядок анализа — по 8.3.2.

Полное описание проведения и учета результатов анализа – по [4].

8.15 Выявление дрожжей и плесневых грибов

8.15.1 Основные методы анализа

Проведение и учет результатов анализа — по ГОСТ 10444.12 с учетом разделов 4 — 7, 8.2.1 и ниже приведенного.

Пластины (подложки) готовой питательной среды для выявления дрожжей и плесневых грибов содержат растворимый в холодной воде гелеобразующий агент, краситель, антибиотики, препятствующие развитию другой микрофлоры, содержащейся в исследованном образце.

Подготовка образцов, внесение исследуемой взвеси на поверхность пластины — по 8.1, 8.2.

8.15.2 Ускоренный метод анализа

Сущность и порядок анализа — по 8.3.2.

Метод основан на принципе изменения импеданса в процессе культивирования микроорганизмов.

Подготовка анализа, его выполнение и учет результатов — по разделам 4, 6, 7, [3], [4].

8.16 Выявление бактерии рода Pseudomonas

Подготовка к анализу, подготовка проб и отбор их навесок при проведении микробиологического анализа — по разделам 4 — 7, 8.1.

8.16.1 Процедура проведения анализа

Исходную суспензию или соответствующее разведение пробы вносят в одну из жидких питательных сред, предназначенных для культивирования бактерий рода Pseudomonas — по разделу 5.

Если концентрация бактерии рода Pseudomonas предполагается достаточно высокой, то этап посева в жидкую среду исходной суспензии или соответствующего разведения можно не проводить, а выполнять непосредственно посев 0,1 $см^3$ исходной суспензии или ее разведений на поверхность одного из селективных агаров, указанных в разделе 5.

Термостатируют эти посевы при 25 °С в течение 24 — 48 ч, после чего из жидкой питательной среды с помощью микробиологической петли проводят пересев на поверхность одного из селективных агаров по разделу 5. Термостатируют чашки с посевами при 25 °С в течение 48 ч.

При наличии роста на селективном агаре с поверхности чашки отбирают произвольно пять изолированных колоний и пересевают на скошенный питательный агар каждую из них для проведения биохимического подтверждения свойств бактерий рода Pseudomonas. Термостатируют эти посевы при 25 °С в течение 24 ч.

До определения биохимических свойств бактерий, выросших на селективном агаре, и установления их принадлежности к роду Pseudomonas исследуют их на оксидазный тест и способность ферментировать глюкозу.

Оксидазный тест. Этот тест является дифференциальным, т. к. все бактерии рода Pseudomonas являются оксидазоположительными.

Присутствие оксидазы у исследуемой культуры определяют нанесением бактериальной культуры полимерной (при использовании петель из других материалов возможно искажение результатов) петлей на фильтровальную бумагу с оксидазным реагентом или оксидазный диск. При наличии оксидазы у исследуемой культуры в течение 5 — 10 с изменяется цвет бумаги или диска до фиолетового или пурпурного. Если цвет не изменился после 10 с, то тест считается отрицательным.

8.16.2 Тест на ферментацию глюкозы

Бактерии рода Pseudomonas не ферментируют глюкозу. Анализ способности анализируемой культуры ферментировать глюкозу выполняют следующим образом.

В пробирки с 10 $см^3$ глюкозного агара уколом засевают исследуемую культуру.

Термостатируют посевы при 25 °С в течение 24 ч.

Тест считается отрицательным, если пурпурный цвет агара не изменяется на желтый во всем содержимом пробирки, т. е. отсутствует ферментация глюкозы и не происходит обесцвечивания бромкрезолового пурпурного индикатора. Некоторые штаммы Pseudomonas могут образовывать желтый цвет, но только на поверхности агара в результате окисления глюкозы.

Бактерии из колонии, показывающие положительную оксидазную реакцию и отсутствие ферментации глюкозы, считают микроорганизмами рода Pseudomonas.

Бактерии рода Pseudomonas представляют собой грамотрицательные, оксидазоположительные, не окисляющие глюкозу и формирующие при 25 °С колонии на селективном агаре.

Учет результатов анализа: при выявлении микроорганизмов с указанными выше свойствами результаты считают положительными.

9 Требования безопасности

При микробиологическом анализе пищевых продуктов руководствуются ГОСТ Р ИСО 7218, [22].

Приложение А
(справочное)

Перечень рекомендуемых микробиологических питательных сред

А.1 Перечень рекомендуемых микробиологических питательных сред приведен в таблице А.1.

Таблица А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Мезофильные аэробные и факультативные анаэробные бактерии (КМАФАнМ)	Питательная среда № 1 ГРМ для количественного определения микробной загрязненности. Питательная среда № 1 для контроля микробной загрязненности. Среда для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов: КМАФАнМ. ПД-агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов). Среда Рингера для разведения образцов — RINGER tablets for the preparation of RINGER'S solution. Питательный агар для подсчета микроорганизмов — Plate count agar Casein-peptone glucose yeast extract agar for microbiology. Триптиказо-соевый агар — Tryptic soy agar Casein-peptone soymeal-peptone agar for microbiology USP. Триптон-дрожжевой агар с глюкозой — Tryptone Glucose Extract Agar (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar). Стандартный агар для определения микробного числа — Plate Count Agar (Standard Methods Agar). Дрожжевой триптон-соевый агар — Tryptone Soya Yeast Extract Agar. Соевый агар с казеиновым перевaром (триптон-соевый агар) — Soyabean Casein Digest Agar (Tryptone Soya Agar) (Antibiotic Assay Medium No. 36). Агар для подсчета бактерий, дрожжей и плесеней — Standard methods agar (PCA). Трипказо-соевый агар для выделения непритязательных микроорганизмов — Trypcase Soy agar. Среда Компакт Драй ТК (Compact Dry TC)
Дрожжи и плесневые грибы	Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро) для выращивания грибов. Бульон Сабуро (готовый во флаконах). Агар Сабуро (готовый во флаконах). Питательная среда для выделения грибов рода Кандида сухая (Кандида-агар). Среда для определения дрожжей и плесеней. Питательная среда № 2 для контроля микробной загрязненности (Агар Сабуро). Агар Сабуро. Агар Сабуро в комплекте с антибиотиком левомицетином. Бульон Сабуро (сухая питательная среда). Бульон Сабуро в комплекте с антибиотиком левомицетином. Среда Чапека (сухая питательная среда). Питательная среда № 2 ПД (для выращивания грибов — Сабуро). Бульон Сабуро 2 % — SABOURAUD-2 % dextrose broth for microbiology. Солодовый бульон — Malt extract broth for microbiology. Основа сусло-бульона — Wort broth (base) for microbiology. Агар Сабуро 4 % глюкозы — SABOURAUD 4 % dextrose agar for microbiology. Селективный агар с хлорамфениколом на дрожжи и плесневые грибы – YGC agar Yeast extract glucose chloramphenicol agar FIL-IDF for microbiology. Картофельный глюкозный агар — Potato dextrose agar for microbiology. Сусло-агар — Wort agar for microbiology. Агар с солодовым экстрактом — Malt extract agar for microbiology.

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Дрожжи и плесневые грибы	Селективный агар розовый бенгальский с хлорамфениколом — Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (RBC) for microbiology. Основа селективного агара OGYE для выделения и подсчета плесневых грибов и дрожжей — OGYE agar. Base acc. to ISO for microbiology. Селективная добавка OGY — OGY selective supplement for microbiology. Агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом – Sabouraud Chloramphenicol Agar. Агар с хлорамфениколом и бенгальским розовым — Rose Bengal Chloramphenicol Agar. Агар с дрожжевым экстрактом, глюкозой и хлорамфениколом — YGC agar. Агар Сабуро с хлорамфениколом — Sabouraud Chloramphenicol agar 2. Сабуро агар для выделения грибов — Sabouraud agar 2. Бульон Сабуро для выделения и культивирования дрожжей и плесеней — Sabouraud liquid medium. Среда Компакт Драй ЮМ (Compact Dry YM). Питательная среда для выделения энтерококков сухая (Энтерококкагар)
Энтерококки Хромогенная среда	Питательная среда для выделения энтерококков сухая (Энтерококкагар). Сухая питательная среда для выделения и учета энтерококков — Азидно-глюкозный бульон. Азидная среда. Полимиксиновая среда. Агар с канамицином, эск улином и азидом натрия — Kanamycin esculin azide agar for microbiology. Азид глюкозный бульон — Azide dextrose broth for microbiology ХайХром агар для дифференциации Enterococcus faecium — HiCrome Enterococcus faecium Agar Base. Основа агара для стрептококков KF — KF Streptococcal Agar Base. Селективная добавка для Enterococcus faecium — Enterococcus faecium Selective Supplement. Среда для селективного выделения энтерококков и D стрептококков — D-Coccosel Agar (ДСО-Т)
Salmonella	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной). Питательная среда № 14 ГРМ (цитратный агар Симмонса). Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (среда Гисса-ГРМ). Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая (среда Ресселя-ГРМ). Питательная среда № 11 ГРМ (лактозный бульон для накопления бактерий семейства Enterobacteriaceae). Питательная среда № 13 ГРМ (трехсахарный агар с солями железа для выявления сероводорода и определения ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы). Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Агар Клиглера-ГРМ). Питательная среда для выделения сальмонелл и шигелл сухая (SS-агар). Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (SDS-бульон). Питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (агар Плоскирева-ГРМ). Питательная среда для накопления сальмонелл сухая (Селенитовый бульон). Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо-ГРМ). Питательная среда № 15 ГРМ (для определения индола).

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Salmonella	Среда Клиглера. Среда Ресселя. Среды Гисса с индикатором ВР и углеводами (дульцит, глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, мальтоза, сорбит). Сухая питательная среда типа SIM-агара. Питательная среда для выделения сальмонелл-ПД (питательная среда с бриллиантовым зеленым и феноловым красным). Пептонная вода забуференная — Peptone water (buffered). Селенитовый накопительный бульон — Selenite enrichment broth acc. to LEIFSON for the selective enrichment of Salmonellae. Селенит-цистиновый накопительный бульон — Selenite cystine enrichment broth for the enrichment of salmonel. Тетратионатный бульон — Tetrathionate enrichment broth base acc. to MUELLER-KAUFFMANN for microbiology. Тетратионатный бульон с новобиоцином — Muller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocine enrichment broth acc. to ISO for microbiology. Магниевая среда Раппапорта — Salmonella enrichment broth acc. to RAPPAPORT for the selective enrichment of Salmonella. Магниевая среда Раппапорта-Вассилиадиса — Salmonella enrichment broth acc. to RAPPAPORT and VASSILIADIS (RVS broth) for microbiology. Основа среды MSRV (Модифицированная среда Раппапорта-Вассилиадиса) — MSRV Medium (Base) modified for microbiology. Селективная добавка MSRV — MSRV selective supplement for microbiology. Основа среды по Ван-Неттену и Ван-Дер-Зи — DIASALM Base acc. to VAN NETTEN and VAN DER ZEE for microbiology. Селективная добавка MSRV — MSRV selective supplement for microbiology. Основа среды Salmosyst — Salmosyst Broth base for microbiology. Селективная добавка Salmosyst — Salmosyst® selective supplement tablets for microbiology
Хромогенная среда	РАМБАХ-агар — RAMBACH® agar for the identification of Salmonella. РАМБАХ агар (готовая среда в чашках) — RAMBACH® agar for the identification of Salmonella Merckoplate®. XLT4 агар — XLT4 agar (Base) for microbiology. Селективная добавка к среде XLT4 агар — XLT4 Agar Supplement 4.6 ml supplement solution to 1 litre of XLT4 Agar (Base). Висмут-сульфитный агар — Bismuth sulfite agar acc. to WILSON-BLAIR for the isolation and differentiation of Salmonella typhi. Ксилозо-лизиновый агар с дезоксихолатом — XLD agar Xylose lysine deoxycholate agar for microbiology. Гектоеновый агар — Hektoen enteric agar for the detection and isolation of pathogenic intestinal bacteria
Salmonella Хромогенная среда	Селенитовый бульон — Selenite Broth (Selenite F Broth) (Twin Pack). Дифференцирующий агар для сальмонелл (двойная упаковка) — Salmonella Differential Agar, Modified. Ксилозо-лизин-дезоксихолатный агар (КЛД-агар) — Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar). Среда Раппапорта-Вассилиадиса — Rappaport-Vassiliadis Medium. Забуференная пептонная вода — Buffered Peptone Water. Бульон Раппапорта-Вассилиадиса — Rappaport-Vassiliadis soya broth. Бульон Мюллера-Кауфмана — Muller-Kauffman broth (МКТТп-Т). Селективная хромогенная среда для выделения и дифференциации сальмонелл — SM ID2 agar. Агар XLD Селективная среда для выделения сальмонелл и шигелл — XLD agar (Xylose Lysine Deoxycholate). Селективная среда для выделения сальмонелл и шигелл — Hektoen agar. Модифицированный агар с бриллиантовым зеленым — Brilliant Green agar modified. Сальмонелла-Шигелла агар — SS agar. Среда Компакт Драй СЛ (Compact Dry SL)

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Listeria monocytogenes	Питательный агар для культивирования и выделения листерий (ПАЛ). Питательный бульон для культивирования и выделения листерий (ПБЛ). Основа бульона Фразера — FRASER Listeria Selective Enrichment Broth (base) for microbiology. Добавка к среде Фразера — FRASER Listeria selective supplement for microbiology (2 x 8 vials for preparation of FRASER broth). Селективный бульон ЮВМ для обогащения листерий — UVM-Listeria selective enrichment broth modified for microbiology. Селективная добавка ЮВМ II — UVM II supplement for microbiology (1 vial with 13 mg of acriflavine hydrochloride). Основа среды ПАЛКАМ для листерий — PALCAM Listeria Selective agar (Base) acc. to Van Netten et al. for microbiology. Добавка к среде ПАЛКАМ — PALCAM Listeria Selective Supplement acc. to Van Netten et al. for microbiology. Основа Оксфордского агара для листерий — Oxford-Listeria-Selective-Agar (Base) for microbiology. Добавка для Оксфордского агара — Oxford Listeria selective supplement for microbiology (2 vials for 1 litre of culture medium). Основа кровяного агара — Blood agar (base) no. 2 for the cultivation of fastidious pathogens and other microorganism. Среда SIM для идентификации (сероводород, индол, подвижность) — SIM medium for microbiology
Хромогенная среда	Хромогенный агар на Listeria monocytogenes по Оттавиани-Агости — Chromocult® Listeria Selective Agar, Base acc. Ottaviani and Agosti
Listeria monocytogenes Хромогенная среда	Селективная добавка — Listeria-Selective Supplement. Обогатительная добавка — Listeria — selective Agar Enrichment Supplement. Хромогенный агар на листерии по Оттавиани-Агости (готовая среда в чашках) — Listeria selective-Agar acc. to Ottaviani and Agosti (ISO 11290) for microbiology Chromoplate®. Основа бульона Фразера для обогащения листерий (Основа бульона Фрезера) — Fraser Enrichment Broth Base. Основа бульона вторичного обогащения для листерий — Fraser Secondary Enrichment Broth Base. Селективная добавка Фразера — Fraser Selective Supplement. Агар для идентификации листерий (ПАЛКАМ) — Listeria Identification Agar (PALCAM)
Хромогенная добавка	Селективная добавка для листерий (PALCAM) — Listeria Selective Supplement (PALCAM). Основа Оксфордской среды для листерий — Listeria Oxford Medium Base. Селективная добавка для листерий — Oxford Listeria Supplement, Modified. Селективная добавка L. mono I — L. mono Selective Supplement I. Селективная добавка L.mono II — L. mono Selective Supplement II. Обогатительная добавка L. mono I — L. mono Enrichment Supplement I.
Хромогенная среда	Основа диагностического агара для листерий — L. Mono Confirmatory Agar Base. Набор (питательных сред) для подтверждения идентификаций Listeria spp. с помощью латекс-теста — HiListeria Latex Test Kit. Бульон для определения сахаролитической активности листерий — Carbohydrate Consumption Broth Base. Бульон Фразера в половинной концентрации – Half Fraser broth. Бульон Фразера – Fraser broth.
Listeria monocytogenes	Агар Оксфорд для выделения листерий — Oxford agar. Агар Палкам для выделения листерий — Palcam agar. Агар Оттавиани Агости, хромогенная среда для выделения и предварительной идентификации Listeria Monocytogenes — Ottaviani Agosti Agar. Трипказо-соевый агар с 5 %-ной бараньей кровью — Trypcase Soy Agar + 5 % sheep blood

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Колиформные бактерии и E. coli	Питательная среда № 11 ГРМ (лактозный бульон для накопления бактерий семейства Enterobacteriaceae). Питательная среда № 3 ГРМ (среда обогащения для бактерий семейства Enterobacteriaceae). Питательная среда № 6 ГРМ (для определения ферментации глюкозы). Питательная среда № 1 ГРМ для количественного определения микробной загрязненности. Питательная среда для обнаружения бактерий группы кишечной палочки сухая (среда Кесслера-ГРМ). Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (SDS-бульон). Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо-ГРМ). Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар). Питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон). Питательная среда № 7 ГРМ для контроля микробной загрязненности (для определения восстановления нитратов в нитриты) Питательная среда № 1 для контроля микробной загрязненности. Питательная среда № 3 для контроля микробной загрязненности. Сухая питательная среда Кесслер. Сухая питательная среда Кода. Сухая питательная среда Эндо. Буферный бульон Мак Конки. Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий (агар Клиглера). Трехсахарный агар с железом. Агар Эндо-ПД (питательная среда для выделения энтеробактерий). Питательная среда для выделения и дифференциации энтеробактерий селективная (Мак Конки агар). Лактозный бульон с бриллиантовым зеленым и желчью — BRILA broth Brilliant-green bile lactose broth for microbiology
Хромогенная среда	Хромогенная среда LMX (бульон) по Манафи и Осмеру на колиформы и E. coli — LMX broth modified acc. to MANAFI and OSSMER for microbiology Fluorocult®. Селективный бульон Мозеля для энтеробактерий — MOSSEL broth Enterobacteriaceae enrichment broth acc. to MOSSEL for microbiology. Лаурил-сульфатный бульон — Lauryl sulfate broth for microbiology. Мак Конки бульон — MacConkey broth for microbiology. Глюкозный агар с кристаллическим фиолетовым и желчью — VRBD agar Crystal-violet neutral-red bile glucose agar acc. to MOSSEL for microbiology.
Колиформные бактерии и E. coli	Лактозный агар с кристаллическим фиолетовым и желчью — VRB Agar Crystal-violet neutral-red bile agar for microbiology. Агар Эндо — ENDO agar (contains C.I. Basic Red 9) for microbiology . Агар Мак Конки — MacConkey agar for the isolation of Salmonella, Shigella and coliform bacteria.
Хромогенная среда	Хромогенный агар для определения колиформ и E. coli – Coliform Agar for microbiology Chromocult®. Хромогенный агар для определения колиформ и E. coli усиленной селективности — Coliform Agar ES (Enhanced Selectivity) for microbiology Chromocult®. Оксидазный реагент — Bactident® Oxidase 50 test strips for the testing of cytochromoxidase in microorganisms. Мак Конки агар с кристаллическим фиолетовым, NaCl и солями желчных кислот (0,15 %) — MacConkey Agar w/(0,15 %) Bile Salt, CV & NaCl. Жидкая лактозная среда — Lactose Broth.

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Хромогенная среда	ХайХром агар ECC для дифференциации E. coli и колиформных бактерий — HiCrome ECC Agar. Глюкозо-желчный агар с кристаллвиолетом и нейтральным красным — Violet Red Bile Glucose Agar w/o Lactose. Хромогенная среда для выделения и подсчета E. coli и колиформных бактерий — Coli ID medium. Агар с фиолетовым красным, желчью и лактозой для выделения колиформных бактерий — Violet Red Bile Lactose agar. Агар с фиолетовым красным, желчью и глюкозой — VRBG agar. Агар Эндо — Endo agar. Дезоксихолат лактозный агар — Desoxycholate lactose agar. Мак Конки агар — Mac Conkey agar. Бульон с желчью и бриллиантовым зеленым — Brilliant green bile broth. Агар Клиглера — Kligler agar. Трехсахарный агар — Triple Sugar Iron Agar (TSI). Агар с лактозой и бромкрезоловым пурпурным — Purple Lactose Agar (BCP). Агар с эозином и метиленовым синим — Eosin methylene blue agar. Среда Компакт Драй ЕЦ (Compact Dry EC). Среда Компакт Драй КФ для определения количества колиформных бактерий (Compact Dry CF).
Колиформные бактерии и E. coli	
E. coli O157:H7	Питательная среда для выделения и дифференциации E.coli O157:H7 (Сорбитол E. coli O157:H7 агар). Питательная среда для выделения и дифференциации E.coli O157:H7 (ЭДКС-агар) порошок для микробиологических целей. Сорбитол Мак Конки агар для обнаружения и выделения E. coli O157:H7. Модифицированный бульон EC с новобиоцином для исследования — mEC-broth with Novobiocin for microbiology. СМАК агар для дифференциации энтерогеморрагических штаммов E. coli O157:H7 — SMAC agar base for direct isolation and differentiation of enterohemorrhagi c (EHEC) E.coli O157:H7-strains. Селективная добавка к СМАК агару — CT-Supplement for microbiology.
Флюорогенная среда	Флюорогенная среда для выделения E. coli O157 — E. coli 0157:H7-Agar for microbiology Fluorocult®. EC 0157 агар с МУГ — MUG EC 0157 Agar.
E. coli O157:H7	Хай Хром агар для выделения и дифференциации E. coli O157:H7 — HiCrome EC 0157 : H7 Agar.
Хромогенная среда	Основа Хай Хром агара Мак Конки с сорбитом для энтеротоксигенных E. coli — HiCrome MacConkey Sorbitol Agar Base. Хай Хром селективный агар для выделения и дифференциации E. coli O157:H7 (основа) — HiCrome EC 0157:H7 Selective Agar Base. Селективная хромогенная среда для выделения E. coli O157:H7 — O157:H7 ID Agar. Агар Мак Конки с сорбитолом для выделения E. Coli O157:H7 — SMAC agar. Селективная добавка для выделения E.Coli O157:H7 — Cefixime-Tellurite selective mixture. Хромогенный агар для селективного выделения и предварительной идентификации E. coli O157:H7
Staphylococcus aureus	Питательная среда для выделения стафилококков. Питательная среда № 10 ГРМ (для идентификации Staphylococcus aureus). Питательная среда № 10 для контроля микробной загрязненности. Агар типа Байрд-Паркера. Агар солевой. Бульон солевой. Молочно-солевой агар для выделения S. aureus. Питательная среда для выделения стафилококков (элективный солевой агар).

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Staphylococcus aureus	Питательная среда № 10 ПД (маннит-солевой агар-ПД). Основа селективного бульона Жиолитти-Кантони для обогащения стафилококка — GIOLITTI-CANTONI-broth Staphylococcus-enrichment broth (base) acc. to GIOLITTI and CANTONI for microbiology. Бульон Байрда для селективного обогащения стафилококков — Staphylococcus enrichment broth base acc. to BAIRD for microbiology. Агар Байрда-Паркера — BAIRD-PARKER agar Staphylococcus selective agar base acc. to BAIRD-PARKER for microbiology. Стерильная желточно-теллуритная эмульсия — Egg yolk tellurite emulsion sterile, for microbiology. Селективная добавка теллурита калия — Potassium tellurite-trihydrate for microbiology. Основа ХайХром агара для выделения и идентификации стафилококков — HiCrome Aureus Agar Base. Эмульсия яичного желтка с теллуритом (для бактериологии) — Egg Yolk Tellurite Emulsion. Основа агара Байрд-Паркера — Baird Parker Agar Base. Агар Байрда-Паркера с лиофилизированной кроличьей плазмой и фибриногеном для подсчета стафилококков — Baird Parker. Агар Байрд-Паркер — Baird Parker agar. Солевой агар с манитолом — Manitol Salt Agar. Сердечно-мозговой бульон Brain-heart infusion. Среда Компакт Драй СА — Compact Dry SA
Bacillus cereus	Питательная среда № 1 ГРМ для количественного определения микробной загрязненности. Питательная среда № 1 для контроля микробной загрязненности. Сухая питательная среда Донована с селективным агентом хлорида лития. Сухая питательная среда с полимиксином и 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. МИП-агар для Bac. cereus — Cereus selective agar base acc. to MOSSEL (MYP agar) for microbiology. Селективная добавка к МИП-агару — Bacillus cereus selective supplement for microbiology. Желточная эмульсия стерильная к МИП-агару — Egg yolk emulsion sterile, for microbiology. Основа агара для Bacillus cereus — Bacillus Cereus Agar Base. Селективная добавка с полимиксином В — Polymyxin-B Selective Supplement. Эмульсия яичного желтка (для бактериологии) – Egg Yolk Emulsion. Основа Хай Хром селективного агара для обнаружения и идентификации Bacillus cereus — HiCrom Bacillus Agar
Кампилобактерии	Питательная среда для выделения и культивирования кампилобактерий сухая (Кампилобакагар). Основа селективного бульона Болтона — Bolton Selective Enrichment Broth (Base) for microbiology. Селективная добавка к бульону Болтона — Bolton Broth Selective Supplement. Селективный агар для кампилобактера (без добавления крови) — (Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (modified CCDA) for microbiology. Селективная добавка для агара CCDA — CCDA Selective Supplement 16 vials Selective Supplement for preparation of Campylobacter Blood-Free Selective Agar (modified CCDA). Основа селективного агара для кампилобактера — Campylobacter selective agar (base) for the isolation of Campylobacter.

Продолжение таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Хромогенная среда	Селективная добавка для Кампилобактер агара — Campylobacter Selective Supplement for preparation of 3,2 l Campylobacter Selective Agar. Селективная среда для выделения бактерий рода Campylobacter — Campylosel agar. Агар для подсчета бактерий рода Campylobacter — Campy Food ID agar. Селективная добавка для выделения бактерий рода Campylobacter — Campylosel mixture
Сульфитредуцирующие клостридии	Питательная среда для контроля стерильности сухая (тиогликолевая среда). ЖСС-1 — железосульфитная среда. ЖСС-2 — железосульфитная среда. Питательная среда для контроля стерильности сухая (тиогликолевая среда). Дифференциальный улучшенный клостридиальный бульон — Differential reinforced clostridial broth (DRCM) for microbiology. Улучшенный клостридиальный бульон — Reinforced clostridial medium (RCM) for microbiology. Тиогликолевая среда — Fluid thioglycolate medium for microbiology. Дифференциальный клостридиальный агар — DCA agar acc. to Weenk et al. for microbiology. ТСН перфрингенс агар — TSN agar Perfringens selective agar acc. to MARSHALL for microbiology. Улучшенный клостридиальный агар — Reinforced clostridial agar (RCM) for microbiology. Селективный СПС-агар сульфит-полимиксин-сульфадиазин — SPS agar Perfringens selective agar acc. to ANGELOTTI for microbiology. Основа железо-сульфитного агара — Sulfite iron agar base for microbiology. Основа ТСН агара — TSC agar Tryptose sulfite cycloserine agar (base) for microbiology. Селективная флюорогенная добавка для определения С. perfringens — Clostridium perfringens selective supplement for microbiology. Основа агара М-СР для клостридий — M-CP Agar Base. Селективная добавка для среды М-СР (I) — M-CP Selective Supplement-I. Селективная добавка для среды М-СР (II) — M-CP Selective Supplement-II. Обогащенный агар для клостридий — Reinforced Clostridial Agar. Основа агара для Clostridium perfringens — Perfringens Agar Base (T.S.C./S.F.P.). Добавка С.Ф.П. с канамицином и полимиксином для С. perfringens — S.F.P. Supplement (Perfringens S.F.P. Supplement). Добавка Т.С.Ц. с циклосерином для С. perfringens — T.S.C. Supplement (Perfringens T.S.C. Supplement). Железосульфитный агар — Iron Sulfite agar. Селективная добавка к железосульфитному агару для выделения С. perfringens D-cycloserine Supplement Агар ТСН для селективного выделения С. Perfringens — TSN agar
Иерсинии	Питательная среда для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза. Селективный накопительный бульон для иерсиний — Yersinia Selective Enrichment Broth acc. to OSSMER for microbiology. Селективный агар для иерсиний — Yersinia selective agar(base) acc. to SCHIEMANN (CIN-agar) for the selective cultivation of Yersinia. Селективная добавка для ЦИН-агара — Yersinia selective supplement (CIN) for preparation of Yersinia selective agar acc. to SCHIEMANN.

Окончание таблицы А.1

Вид микроорганизмов	Наименование среды
Иерсинии	Основа селективного агара для иерсиний – Yersinia Selective Agar Base. Селективная добавка для иерсиний – Yersinia Selective Supplement. Агар ЦАЛ (с целлобиозой, аргинином и лизином) – CAL Agar (Cellobiose Arginine Lysine Agar). Бульон ЦАЛ (с целлобиозой, аргинином и лизином – CAL Broth (Cellobiose Arginine Lysine Broth)
Молочно-кислые бактерии	Питательная среда для выделения и культивирования лактобацилл сухая (Лактобакагар). Питательная среда для культивирования и выделения бифидобактерий (Бифидум-среда). МРС бульон — MRS broth Lactobacillus broth acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE, for microbiology. МРС агар — MRS agar Lactobacillus agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE for microbiology. Рогоза агар — ROGOSA agar Lactobacillus selective agar for microbiology. Агар с апельсиновой вытяжкой — Orange-serum agar for microbiology. Бульон М17 — M17 broth acc. to TERZAGHI for microbiology. Агар М17 — M17 agar acc. to TERZAGHI for microbiology. Основа селективного агара для лактобактерий — Lactobacillus Selection Agar Base w/o Oxgall. Агар Рогоза (СЛ) — Rogosa SL Agar. Бульон Рогоза (СЛ) — Rogosa SL Broth. Агар МРС (Ман, Рогоза, Шарп) — MRS Agar. МРС Агар — MRS agar
Псевдомонас   <

Библиография

[1] Стандарт мутности МакФарланда. Регистрационное удостоверение № ФС № 2006/1177, зарегистрированное Росздравнадзором 01.08.2006 г.

[2] ОСО 42-28-85—10 и ОСО 42-28-86—10 — Отраслевые стандартные образцы мутности. Утверждены ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора

[3] МУК 4.2.581—96 — Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Проведение санитарно-бактериологического анализа продовольственного сырья, пищевых продуктов, воды и смывов с поверхностей с использованием бактериологического экспресс-анализатора

[4] МУК 4.2.2578—10 — Санитарно-бактериологические исследования методом разделенного импеданса

[5] МУК 4.2.1955—05 — Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Метод выделения и определения бактерий рода Salmonella и Listeria monocytogenes на основе гибридизационного ДНК-РНК анализа

[6] МУК 4.2.2321—08 — Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы определения бактерий рода Campylobacter в пищевых продуктах

[7] МУК 5-1-14/971—2005 — По лабораторной диагностике иерсиниоза животных и обнаружению возбудителя болезни в мясном сырье, молоке и растительных кормах

[8] МР 11-3/278—09 — Методы выявления бактерий рода Salmonella в пищевых продуктах с использованием анализатора Vidas/mini Vidas производства фирмы «BioMerieux»

[9] МР 032.036—08 — Идентификация патогенных бактерий, выделенных при контроле пищевых продуктов с применением Система Bax™ Q7

[10] МУК 4.2.992—2000 — Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки E. coli 0157-H7

[11] МР 24ФЦ/976—2004 — Методы выявления патогенных микроорганизмов с использованием иммунохроматографических экспресс-тестов производства Merk (Германия)

[12] МР 02.011—06 — Ускоренные методы выявления санитарно-показательных микроорганизмов с использованием подложек «RIDA COUNT» производства Chisso Corporation, Япония

[13] МР ФЦ 05.03—2004 — Методы определения колиформных бактерий, бактерий вида E. coli с применением пластин «Петрифильм» производства компании 3М

[14] МР 02.014—06 — Серотипирование бактерий рода Salmonella методом латексной агглютинации

[15] МР 24 ФЦ/6290—2003 — Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, количества дрожжей и плесневых грибов с применением пластин «Петрифильм» компании 3М

[16] МР 24 ФЦ/513—2004 — Определение колиформных бактерий и E.coli с использованием хромогенных и флюрогенных индикаторных сред производства Merk (Германия)

[17] МУ 2.1.4.1057—01 — Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды

[18] Р 3.5.1904—04 — Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях

[19] ИСО 6887-2:003* — Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила для приготовления мяса и мясных продуктов

[20] МР 02.013—06 — Определение бактерий рода Salmonella методом твердофазного иммуноферментного анализа

[21] МР 02.012—06 — Определение бактерий рода Listeria методом твердофазного иммуноферментного анализа

[22] СП 1.3.2322—08 — Санитарно-эпидемиологические правила. Безопасность работы с микроорганизмами III и IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней

*Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе соответствующего ИСО.

УДК 637.5.075:579.67:006.354	ОКС 67.120.10	Н19	ОКСТУ 9202 9209

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, микроорганизмы, методы, микробиологические анализы, питательные среды, аппаратура, лабораторная посуда, материалы, реактивы, подготовка, проведение исследований, пробы, тесты, идентификация, выявление, учет, результаты

Редактор *Л. В. Коретникова*
Технический редактор *В. Н. Прусакова*
Корректор *Л. Я. Митрофанова*
Компьютерная верстка *В. Н. Романовой*

Сдано в набор 03.12.2012. Подписано в печать 16.01.2013. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 4,65. Уч.-изд. л. 4,40. Тираж 143 экз. Зак. 1932.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано и отпечатано в Калужской типографии стандартов, 248021 Калуга, ул. Московская, 256.

ОКС 67.120.10

Поправка к ГОСТ Р 54354—2011 Мясо и мясные продукты. Общие требования и методы микробиологического анализа

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 4.1, четвертый абзац	с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 мг.	с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 г.

(ИУС № 9 2025 г.)

gost.e-ecolog.ru