ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 55481— 2013

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Качественный метод определения остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени 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 28 июня 2013 г. № 361-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Октябрь 2019 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2013, 2018, 2019

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Качественный метод определения остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ

Meat and meat products. Qualitative method for detection of antibiotics residues and other antimicrobial chemotherapeutic agents

Дата введения — 2014—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо всех видов убойных животных, мясо птицы, субпродукты и устанавливает микробиологический метод качественного определения остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 5833 Реактивы. Сахароза. Технические условия

ГОСТ 6038 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ 10163 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ ISO 11133-1* Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культурных сред в лаборатории

ГОСТ ISO 11133-2* 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 11293 Желатин. Технические условия

ГОСТ 13805 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 21241 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

---

* Действует ГОСТ ISO 11133—2016.

Издание официальное

ГОСТ 31502 Молоко и молочные продукты. Микробиологические методы определения наличия антибиотиков

ГОСТ Р 12.1.019* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ Р ИСО 6887-2 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила подготовки мяса и мясных продуктов

ГОСТ Р ИСО 17604 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Отбор проб с туши для микробиологического анализа

ГОСТ Р 50396.0** Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ Р 51447 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

ГОСТ Р 51448 Мясо и мясные продукты. Методы подготовки проб для микробиологических исследований

ГОСТ Р 51600*** Молоко и молочные продукты. Микробиологические методы определения наличия антибиотиков

ГОСТ Р 53228 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **антимикробное химиотерапевтическое вещество:** Вещество, использующееся для уничтожения возбудителей бактериальных заболеваний, находящихся в организме животного.

3.2 **антибиотик:** Химиотерапевтическое вещество, обладающее способностью подавлять в организме больного возбудителей заболеваний.

4 Сущность метода

Метод основан на способности антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ подавлять рост тест-культуры.

Наличие антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ устанавливают по отсутствию роста тест-культуры в агаре вокруг лунки с надосадочной жидкостью.

5 Общие требования

5.1 Общие требования проведения микробиологических исследований — по ГОСТ ISO 7218.

5.2 Требования к подготовке и тестированию питательных сред — по ГОСТ ISO 11133-1, ГОСТ ISO 11133-2.

---

* Действует ГОСТ 12.1.019—2017.

** Действует ГОСТ 7702.2.0—2016.

*** Действует ГОСТ 31502—2012.

5.3 Требования безопасности при работе с микроорганизмами — по [1], с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007, с электрооборудованием — по ГОСТ Р 12.1.019, требования противопожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

6 Средства измерений, аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ Р ИСО 6887-2 и ГОСТ Р 51600 со следующими дополнениями:

- агар микробиологический по ГОСТ 17206;
- бромкрезоловый пурпурный;
- весы лабораторные по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,1 мг;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- глюкоза по ГОСТ 6038;
- дозаторы переменного объема;
- желатин пищевой по ГОСТ 11293;
- колбы плоскодонные различной вместимости по ГОСТ 25336;
- крахмал растворимый по ГОСТ 10163;
- лента воздухонепроницаемая эластичная;
- линейка;
- насадки к дозаторам;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.;
- ножницы;
- пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805;
- пинцеты по ГОСТ 21241;
- пипетки градуированные вместимостью 1 и 10 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ по ГОСТ 29227;
- пробирки различной вместимости по ГОСТ 25336;
- пробирки центрифужные;
- пробочное сверло диаметром 9 мм;
- ротационный гомогенизатор (блендер);
- сахароза по ГОСТ 5833;
- стандарт мутности Мак-Фарланда по [2] или стандартный образец мутности по [3];
- стандартные образцы антибиотиков на дисках: пенициллиновой или тетрациклиновой группы*;
- термостат, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- термостат, поддерживающий температуру (70 ± 1) °С;
- тест-культура: Bacillus stearothermophilus (Geobacillus stearothermophilus) ATCC 7953 или Bacillus stearothermophilus (Geobacillus stearothermophilus) ВКМ В-718**;
- флаконы разной вместимости;
- центрифуга со скоростью вращения не менее 3000 об/мин;
- чашки Петри полимерные диаметром 90 мм.

Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками, вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не хуже указанных в настоящем стандарте.

Допускается использование других реактивов по качеству и чистоте не ниже вышеуказанных.

7 Питательные среды и растворы реактивов

7.1 Плотная культуральная среда по Кундрату

7.1.1 Основа среды

7.1.1.1 Состав:

пептон — 17,0 г;

натрий хлористый — 3,0 г;

---

* Допускается использовать более широкий спектр антибиотиков.

** Депонированы в Американской коллекции типовых культур и Всероссийской коллекции микроорганизмов соответственно.

глюкоза — 3,0 г;
сахароза — 2,0 г;
крахмал — 3,0 г;
желатин — 2,5 г;
бромкрезоловый пурпурный — 0,016 г;
агар микробиологический — 10,0 г;
дистиллированная вода — 1000,0 $см^3$.

7.1.1.2 Приготовление основы среды

Компоненты или сухую готовую среду растворяют при нагревании в дистиллированной воде.

Устанавливают значение pH среды таким образом, чтобы после стерилизации его значение было (6,7 ± 0,1) ед. pH при температуре 25 °С. Разливают основу среды в колбы или флаконы и стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

7.1.2 Получение спор тест-культуры Bacillus stearothermophilus ATCC 7953 или Bacillus stearothermophilus ВКМ В-718

Споры тест-культуры получают по ГОСТ 31502.

7.1.3 Приготовление суспензии спор Bacillus stearothermophilus ATCC 7953 или Bacillus stearothermophilus ВКМ В-718*

Из спор, полученных по 7.1.2 с помощью стандарта мутности Мак-Фарланда [2] или стандартного образца мутности [3], готовят суспензию, содержащую 5,0 × 10^7 — 5,0 × 10^8 спор в $см^3$ (КОЕ/$см^3$).

7.1.4 Готовая среда

7.1.4.1 Состав готовой среды приведен в таблице 1.

Таблица 1

Наименование компонента	Объем, $см^3$	Концентрация, КОЕ/$см^3$
Основа среды	100,0	—
Суспензия спор	1,0	5,0 × 10^7 — 5,0 × 10^8

7.1.4.2 Приготовление среды

В основу питательной среды, приготовленной по 7.1.1 и охлажденной на водяной бане до температуры (55 ± 5) °С, добавляют суспензию спор, приготовленную по 7.1.3, и тщательно перемешивают.

7.1.5 Подготовка чашек Петри с плотной культуральной средой

В стерильные полимерные чашки Петри разливают готовую среду (см. 7.1.4) с помощью пипетки точно по 10 $см^3$ и дают агару затвердеть.

Чашки с застывшей средой используют немедленно или заклеивают воздухонепроницаемой эластичной лентой.

Срок хранения при температуре (5 ± 3) °С — не более 1 мес.

7.2 Контроль качества среды

7.2.1 Контроль качества основы среды

Эффективность основы среды (см. 7.1.1) должна быть определена по методам и критериям в соответствии с ГОСТ ISO 11133-2.

7.2.2 Контроль качества готовой среды

Необходимо контролировать качество каждой партии готовой среды.

На поверхность агара (см. 7.1.5) одной из чашек Петри готовой среды кладут диски со стандартными образцами антибиотиков. Чашку Петри с дисками инкубируют в термостате при температуре (65 ± 1) °С в течение (3,5 ± 0,5) ч крышками вверх. Просматривают среду вокруг диска в проходящем свете на наличие зоны подавления роста тест-культуры. Вокруг дисков с антибиотиками должен отсутствовать рост тест-культуры, и при этом синий цвет среды не должен меняться.

7.3 Физиологический раствор

В колбе или флаконе 8,5 г хлористого натрия растворяют в 1000,0 $см^3$ дистиллированной воды, разливают в колбы и стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

---

* Допускается использование готовой суспензии спор.

8 Подготовка к проведению анализа

8.1 Отбор и подготовку проб проводят в соответствии с ГОСТ Р ИСО 17604, ГОСТ Р 51447, ГОСТ Р 51448, ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ ISO 7218, ГОСТ Р ИСО 6887-2 с учетом нижеследующего.

С поверхности и глубины (суммарно) лабораторной пробы с помощью стерильных ножниц и пинцетов берут анализируемую пробу массой не менее (25,0 ± 0,5) г и измельчают на ротационном гомогенизаторе.

Во флакон или колбу с (25,0 ± 0,5) г измельченной анализируемой пробы добавляют 25 $см^3$ физиологического раствора и тщательно перемешивают, получая при этом исходную суспензию.

Затем емкость с исходной суспензией выдерживают в термостате при температуре (37 ± 1) °С в течение 90 мин, периодически тщательно перемешивая.

Часть исходной суспензии после термостатирования переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную надосадочную жидкость отбирают в стерильные пробирки.

8.2 Транспортирование проб в лабораторию и их хранение — в соответствии с ГОСТ ISO 7218.

Проба должна быть представительной, без повреждений и изменений при транспортировании и хранении. Допускается замораживать пробы.

9 Проведение анализа

С помощью пробочного сверла в среде, приготовленной по 7.1.5, вырезают лунки. Допускается на одной чашке Петри вырезать от двух до шести лунок. С наружной части чашки Петри обводят тонким маркером контур лунки.

Надосадочную жидкость одной пробы, полученной по 8.1, необходимо вносить параллельно в две лунки с помощью автоматической пипетки по 0,05 $см^3$.

Чашки Петри с исследуемым материалом выдерживают при комнатной температуре не менее 30 мин для диффузии надосадочной жидкости в агар, затем инкубируют в термостате при температуре (65 ± 1) °С в течение (3,5 ± 0,5) ч крышками вверх.

Примечание — Не допускается ставить чашки друг на друга.

10 Обработка результатов

Обработку результатов проводят сразу после окончания инкубирования.

С помощью линейки измеряют, начиная от края лунки с анализируемой пробой, ширину зоны отсутствия роста тест-культуры, просматривая чашки Петри в проходящем свете.

Отсутствие роста тест-культуры, подтверждаемое сохранением синего цвета среды в зоне шириной 2,0 мм и более, следует оценивать как положительный результат, т. е. как наличие антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ в анализируемой пробе.

Отсутствие роста тест-культуры, подтверждаемое сохранением синего цвета среды в зоне шириной менее 2,0 мм, или наличие роста тест-культуры с изменением цвета среды с синего на желтый, следует оценивать как отрицательный результат, т. е. как отсутствие антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ в анализируемой пробе.

11 Оформление протокола испытания

Протокол испытания должен содержать:

- информацию, необходимую для полной идентификации образца;
- метод определения со ссылкой на настоящий стандарт;
- полученные результаты;
- все подробности проведения испытания, не предусмотренные настоящим стандартом или считающиеся необязательными, но которые могут повлиять на результат.

Результат испытания записывают следующим образом: «в анализируемой пробе качественным методом не обнаружены антибиотики и другие антимикробные химиотерапевтические вещества» или «в анализируемой пробе качественным методом обнаружены антибиотики или другие антимикробные химиотерапевтические вещества».

Приложение А
(справочное)

Пределы обнаружения антибиотиков

А.1 Пределы обнаружения некоторых антибиотиков приведены в таблице А.1.

Таблица А.1

Наименование антибиотиков	Предел обнаружения, мкг/кг
Аугментин	25,0
Бензилпенициллин	4,0
Доксициклин	10,0
Цефазолин	25,0

Библиография

[1]	СП 1.3.2322—08	Санитарные правила. Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней
[2]	Стандарт мутности Мак-Фарланда	Регистрационное удостоверение № ФС № 2006/1177, зарегистрированное Росздравнадзором 01.08.2006 г.
[3]	ОСО 42-28-85—10 ОСО 42-28-86—10	Отраслевые стандартные образцы мутности, утвержденные ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора

УДК 637.5.075:615.33:006.354 ОКС 67.120.20

Ключевые слова: мясо, мясо птицы, субпродукты, антибиотики, антимикробные химиотерапевтические вещества

Редактор *А.Е. Минкина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 16.10.2019. Подписано в печать 29.10.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,24.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru