МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 35044— 2023

МЯСО И СУБПРОДУКТЫ

Качественный метод определения остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2024

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 15 декабря 2023 г. № 64—2023)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 марта 2024 г. № 310-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 35044—2023 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 марта 2025 г. с правом досрочного применения

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 Настоящий стандарт подготовлен на основе ГОСТ Р 55481—2013

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2024

В Российской Федерации 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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЯСО И СУБПРОДУКТЫ

Качественный метод определения остаточных количеств антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ

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

Дата введения — 2025—03—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

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

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные 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 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 427 Линейки измерительные металлические. Технические условия

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[1)]

ГОСТ 7702.2.0 Продукты убоя птицы, полуфабрикаты из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 10163 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 11293 Желатин. Технические условия

ГОСТ 13805 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 21239 (ИСО 7741—86) Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 21241 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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

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

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018 «Вода дистиллированная. Технические условия».

Издание официальное

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

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

ГОСТ 31598 (EN 285:1996) Стерилизаторы паровые большие. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 31904 Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний

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

ГОСТ ISO 11133 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется 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:** Биологически активное вещество микробного, животного, растительного происхождения (а также синтезированное), подавляющее жизнеспособность микроорганизмов.

3.3 **навеска:** Часть пробы определенной массы, объема, предназначенной для приготовления гомогената, исходного разведения или непосредственного высева в питательные среды.

4 Сущность метода

Метод основан на способности антибиотиков и других антимикробных химиотерапевтических веществ подавлять рост тест-культуры в плотных питательных средах с pH (6,7 ± 0,1).

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.

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

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы — по ГОСТ ISO 7218 со следующими дополнениями:

ножницы по ГОСТ 21239;

пинцеты по ГОСТ 21241;

линейка по ГОСТ 427;

ротационный гомогенизатор (блендер);

pH-метр, имеющий точность калибровки ± 0,1 ед. pH при 25 °С;

центрифуга со скоростью вращения не менее 3000 об/мин;

термостат, обеспечивающий поддержание температуры (37 ± 1) °С;
термостат, обеспечивающий поддержание температуры (65 ± 1) °С;
стерилизатор паровой по ГОСТ 31598;
колбы плоскодонные различной вместимости по ГОСТ 25336;
дозаторы переменного объема;
наконечники к дозаторам;
пипетки градуированные вместимостью 10 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ по ГОСТ 29227;
пипетки градуированные вместимостью 2 $см^3$ с ценой деления 0,02 $см^3$ по ГОСТ 29227;
пробирки различной вместимости по ГОСТ 25336;
пробирки центрифужные;
флаконы разной вместимости;
чашки Петри полимерные диаметром 90 мм;
пробочное сверло диаметром 9 мм;
лента воздухонепроницаемая эластичная;
агар микробиологический по ГОСТ 17206;
бромкрезоловый пурпурный, ч. д. а.;
вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
глюкоза по ГОСТ 6038;
желатин пищевой по ГОСТ 11293;
крахмал растворимый по ГОСТ 10163;
натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.;
пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805;
сахароза по ГОСТ 5833;
стандарт мутности Мак-Фарланда по [2] или стандартные образцы мутности по [3];
стандартные образцы антибиотиков;
тест-культура: *Bacillus stearothermophilus (Geobacillus stearothermophilus)* ВКМ В-718 или *Bacillus stearothermophilus (Geobacillus stearothermophilus)* АТСС 7953[1)];
тест-набор, включающий плотную питательную среду с индикатором бромкрезоловый пурпурный в соответствии с 8.2.1, суспензию спор *Geobacillus stearothermophilus* в концентрации не ниже указанной 8.2.1.4, во флаконах по 12 или 120 $см^3$, пробочное сверло[2)].

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

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Транспортирование проб в лабораторию и их хранение — по ГОСТ ISO 7218.

Проба должна быть представительной, без повреждений и изменений при транспортировании и хранении. Допускается замораживание пробы и предоставление в замороженном виде.

7.2 Отбор и подготовку проб проводят в соответствии ГОСТ ISO 7218, ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 31904 и ГОСТ 26669 с учетом нижеследующего.

7.3 С поверхности и глубины (суммарно) лабораторной пробы (без обжига поверхности), с помощью стерильных ножниц и пинцетов, отбирают пробу не менее 50 г и измельчают на ротационном гомогенизаторе. Затем от нее отбирают навеску массой 25 г и помещают в пакет для гомогенизации или в другую емкость по выбору лаборатории.

В емкость с навеской добавляют не менее (25,0 ± 0,5) $см^3$ 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 и тщательно перемешивая.

[1)] Депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов и в Американской коллекции типовых культур соответственно.

[2)] Например, тест-набор «Антибиотест». Данная информация является рекомендуемой, приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования тест-наборов других изготовителей, обеспечивающих требования настоящего стандарта.

Часть исходной суспензии после термостатирования переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную надосадочную жидкость отбирают не менее 0,1 см^3 в стерильную пробирку или эппендорф.

8 Подготовка к анализу

8.1 Приготовление физиологического раствора

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

8.2 Приготовление питательных сред

8.2.1 Плотная питательная среда по Кундрату

8.2.1.1 Основа среды

Состав основы среды:

пептон	17,0 г
хлористый натрий	3,0 г
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

Компоненты или сухую готовую среду растворяют при нагревании в дистиллированной воде до полного расплавления агар-агара. Затем устанавливают 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.

Срок годности питательной среды, разлитой в колбы или во флаконы в лаборатории, устанавливают согласно ГОСТ ISO 11133.

8.2.1.2 Получение спор тест-культуры *Bacillus stearothermophilus* АТСС 7953 или *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718

Споры тест-культуры получают по ГОСТ 31502.

8.2.1.3 Приготовление суспензии спор *Bacillus stearothermophilus* АТСС 7953 или *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-7183

Из спор, полученных по 8.2.1.2, с помощью стандарта мутности Мак-Фарланда по [2] или стандартного образца мутности по [3] готовят суспензию, содержащую 5,0 × 10^7 — 5,0 × 10^8 спор в см^3, КОЕ/см^3.

Примечание — Допускается использование готовой суспензии спор.

8.2.1.4 Готовая среда

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

В основу питательной среды, приготовленной по 8.2.1.1 и охлажденной до температуры (55 ± 5) °С, добавляют суспензию спор, приготовленную по 8.2.1.3, и тщательно перемешивают.

8.2.1.5 Подготовка чашек Петри с плотной питательной средой

Готовую среду по 8.2.1.4 разливают с помощью пипетки в стерильные полимерные чашки Петри по (11 ± 1) см^3 и дают агару затвердеть.

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

Срок хранения чашек Петри со средой при температуре (5 ± 3) °С — не более одного месяца.

8.2.2 Тест-набор

Содержимое флакона растапливают на водяной бане, затем охлаждают только при комнатной температуре и сразу разливают в чашки Петри согласно 8.2.1.5.

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

Срок хранения чашек Петри со средой при температуре (5 ± 3) °С — не более одного месяца.

8.3 Контроль качества готовой среды в чашках Петри

Контроль качества готовой среды осуществляют каждой партии. Для контроля используют подготовленные по 8.2.1.5 чашки Петри с плотной питательной средой.

8.3.1 Определение физических показателей готовой среды в чашках Петри

Оценка качества, проводимая визуально, должна гарантировать, что питательная среда соответствует установленным рекомендациям, например:

- внешний вид — плотная;
- цвет — синий;
- однородность — однородная, прозрачная.

8.3.2 Оценка производительности готовой среды в чашках Петри

Оценку производительности готовой среды в чашках Петри проводят качественным методом с учетом наличия роста тест-культуры *Bacillus stearothermophilus*. Интенсивность роста в слое агара после инкубации при температуре (65 ± 1) °С в течение (4,0 ± 0,5) ч оценивают следующим образом:

0 — соответствует нулевому росту;

1 — слабому росту (либо сокращению роста или размеров колоний);

2 — выраженному росту.

Рост тест-культуры должен соответствовать уровню 2.

8.3.3 Оценка эффективности готовой среды в чашках Петри

Оценку эффективности готовой среды в чашках Петри проводят с одним из стандартных образцов антибиотиков, в концентрации не ниже указанных в приложении А.

9 Проведение анализа

С помощью пробочного сверла в среде, приготовленной по 8.2.1.5, вырезают лунки. Допускается на одной чашке Петри вырезать от двух до семи лунок. Шесть лунок располагают по окружности чашки на равном расстоянии друг от друга и от центра чашки. Седьмую лунку вырезают в центре чашки в случае использования контрольного раствора антибиотика. С наружной части чашки Петри обводят контур лунки тонким маркером.

Надосадочную жидкость пробы, полученной по 7.2, вносят в лунку с помощью дозатора переменного объема 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 (4,0 ± 0,5) ч крышками вверх до изменения цвета питательной среды с синего на желтый.

Примечание — Не допускается ставить чашки друг на друга.

10 Обработка результатов

Обработку результатов проводят сразу после окончания инкубирования чашек Петри с исследуемым материалом при температуре (65 ± 1) °С в течение (4,0 ± 0,5) ч.

С помощью линейки измеряют ширину зоны отсутствия роста тест-культуры в питательном агаре, начиная от края лунки (от контура лунки), просматривая чашки Петри в проходящем свете.

Отсутствие роста тест-культуры в зоне шириной равной или более 2,0 мм оценивают как наличие в анализируемой пробе антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ (см. приложение А).

Наличие роста тест-культуры с изменением цвета питательной среды с синего на желтый или отсутствие роста тест-культуры в зоне шириной менее 2,0 мм оценивают как отсутствие в анализируемой пробе антибиотиков или других антимикробных химиотерапевтических веществ (см. приложение А).

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 исследованном образце обнаружены (или не обнаружены) следующие антибиотики или другие антимикробные химиотерапевтические вещества: ...» (прикладывается перечень веществ и пределы их обнаружения согласно приложению А при использовании тест-системы «Антибиотест». В случае использования тест-систем, отличных от «Антибиотест», необходимо указать перечень веществ и пределы их обнаружения, определяемых иной, аналогичной тест-системой).

Приложение А
(справочное)

Пределы обнаружения антибиотиков[1)]

Пределы обнаружения некоторых антибиотиков приведены в таблице А.1.

Таблица А.1

Группа антибиотиков	Наименование антибиотиков	Предел обнаружения, мг/кг
Аминогликозиды	Гентамицин	0,05
	Канамицин	**1,0***
	Неомицин	0,5
	Паромомицин	0,5
	Стрептомицин	0,5
	Спектиномицин	0,4
Пенициллины	Амоксициллин	0,05
	Ампициллин	0,05
	Бензилпенициллин	0,05
	Диклоксациллин	**0,3***
	Клоксациллин	0,3
	Нафциллин	0,3
	Оксациллин	0,3
Тетрациклиновая группа	Доксициклин	0,1
	Окситетрациклин	**0,1***
	Тетрациклин	**0,1***
	Хлортетрациклин	**0,1***
Цефалоспорины	Цефалексин	0,2
	Цефапирин	0,05
	Цефкином	0,05
Хинолоны	Данофлоксацин	**4,0***
	Дифлоксацин	**4,0***
	Марбофлоксацин	**3,0***
	Ципрофлоксацин	**2,0***
Флорфениколы	Флорфеникол	**20,0***
Линкозамиды	Линкомицин	0,1
Макролиды	Спирамицин	**20,0***
	Тилозин	**0,2***
	Тилмикозин	**5,0***

[1)] Пределы обнаружения антибиотиков, в т. ч. и тест-набором «Антибиотест».

Окончание таблицы А.1

Группа антибиотиков	Наименование антибиотиков	Предел обнаружения, мг/кг
Плевромутилины	Вальнемулин	**0,5***
	Тиамулин	**10,0***
Амфениколы	Тиамфеникол	**5,0***
Полимиксины	Колистин	**15,0***
Производные диаминопиримидина	Триметоприм	**0,2***
Нитрофураны	Фуразолидон	0,1
Полипептиды	Бацитрацин	**3,0***
* В Российской Федерации — в соответствии с ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции».		

Библиография

[1] СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней

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

[3] ОСО 42-28-85-10 Отраслевые стандартные образцы мутности, утвержденные ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора
ОСО 42-28-86-10

УДК 637.5.075:615.33:006.354 МКС 67.120.20

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

Редактор *Е.Ю. Митрофанова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 18.03.2024. Подписано в печать 25.03.2024. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,18.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru