ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57650— 2017

ПРОДУКЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ. КОРМОБАКТЕРИН

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2017

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Ассоциацией «Некоммерческое партнерство Координационно-информационный центр государств — участников СНГ по сближению регуляторных практик» при участии ООО «Центр Промышленной Биотехнологии имени Княгини Е. Р. Дашковой»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 сентября 2017 г. № 1051-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*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, 2017

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 Технические требования 3
4 Требования безопасности 4
5 Правила приемки 4
6 Методы испытаний 4
7 Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение 11
8 Указания по применению 12
9 Гарантии изготовителя 12
Библиография 13

Поправка к ГОСТ Р 57650—2017 Продукция микробиологическая. Кормобактерин. Технические условия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
С.1	**Дата введения — 2017—08—01**	**Дата введения — 2018—08—01**
Библиографические данные	**;65.020.00**	—

(ИУС № 1 2018 г.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ. КОРМОБАКТЕРИН

Технические условия

Microbiological products. Cormobacterinum. Specifications

Дата введения — 2017—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на кормобактерин, представляющий собой высокобелковую и витаминную биомассу, которая используется в качестве белковой добавки в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птицы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.1.008 Система стандартов безопасности труда. Биологическая безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.044 (ИСО 4589) Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов. Номенклатура показателей и методы их определения

ГОСТ 12.2.003 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 12.4.028 Система стандартов безопасности труда. Респираторы ШБ-1 «Лепесток». Технические условия

ГОСТ 12.4.103 Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация

ГОСТ 12.4.253 Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты глаз. Общие технические требования

ГОСТ 245 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

ГОСТ 857 Кислота соляная синтетическая техническая. Технические условия

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

ГОСТ 2081 Карбамид. Технические условия

ГОСТ 2226 Мешки из бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия

ГОСТ 4159 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4198 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 4208 Реактивы. Соль закиси железа и аммония двойная сернокислая (соль Мора). Технические условия

ГОСТ 4232 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4525 Реактивы. Кобальт хлористый 6-водный. Технические условия

ГОСТ 4528 Реактивы. Кобальт (II) азотнокислый 6-водный. Технические условия

ГОСТ 5100 Сода кальцинированная техническая. Технические условия

ГОСТ 5833 Реактивы. Сахароза. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6038 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6259 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6672 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6691 Реактивы. Карбамид. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 8515 Диаммонийфосфат. Технические условия

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 10354 Пленка полиэтиленовая. Технические условия

ГОСТ 11109 Марля бытовая хлопчатобумажная. Общие технические условия

ГОСТ 11773 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13805 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 16280 Агар пищевой. Технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 19651 Диаммонийфосфат кормовой. Технические условия

ГОСТ 20730 Питательные среды. Бульон мясо-пептонный (для ветеринарных целей). Технические условия

ГОСТ 21241 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 22967 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 25706 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования

ГОСТ 28489 Микроскопы световые. Термины и определения

ГОСТ 29227 (ИСО 855-1) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 32044.1 (ИСО 5983-1) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина. Часть 1. Метод Къельдаля

ГОСТ 32901 Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа

ГОСТ Р 8.857 Государственная система обеспечения единства измерений. pH-метры. Методика поверки

ГОСТ Р 51232 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества

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

ГОСТ Р 54951 Корма для животных. Определение содержания влаги

ГОСТ Р 55064 Натр едкий технический. Технические условия

ГОСТ Р 57233 Продукция микробиологическая. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 57234 Продукция микробиологическая. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

ГОСТ Р 57248 Препараты ферментные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 57249 Препараты ферментные. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

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 кото-

рый 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 принять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется принять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Технические требования

3.1 Кормобактерин получают сбраживанием барды ацетонобутилового производства (отходов переработки растительного сырья: муки и патоки) культурой *Azotobacter suis* с последующим концентрированием путем выпаривания и сушки.

Препарат должен соответствовать требованиям настоящего стандарта и изготавливаться по технологическому регламенту с соблюдением действующих санитарных правил и норм.

3.2 Требования к сырью

Для производства кормобактерина должны применяться сырье и вспомогательные материалы, соответствующие требованиям технологического регламента:

- культура *Azotobacter suis*, которая по показателям должна соответствовать утвержденным требованиям;
- барда ацетонобутилового производства;
- карбамид по ГОСТ 2081;
- диаммоний фосфат технический по ГОСТ 8515 или
- диаммоний фосфат кормовой по ГОСТ 19651;
- меласса свеклосахарная по действующей нормативно-технической документации (НТД);
- кислота соляная синтетическая техническая по ГОСТ 857 или
- кислота соляная техническая по [1];
- кобальт хлористый 6-водный по ГОСТ 4525 или
- кобальт азотнокислый 6-водный по ГОСТ 4528;
- натр едкий технический по ГОСТ Р 55064;
- сода кальцинированная техническая по ГОСТ 5100.

3.3 По органолептическим, физико-химическим и биологическим показателям кормобактерин должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 1.

Таблица 1 — Характеристики препарата кормобактерин

№ п/п	Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод испытания
1	Внешний вид и цвет	Однородный порошок коричневого цвета	По 6.2
2	Массовая доля влаги, %, не более	10,0	По ГОСТ Р 54951
3	Массовая доля сырого протеина в пересчете на абсолютно сухое вещество, %, не менее	40,0	По 6.4
4	Массовая доля белка в пересчете на абсолютно сухое вещество (СВ), %, не менее	20,0	По 6.5
5	Число микробных клеток[1)], тыс./г, не более	100	По 6.6
6	Количество сальмонелл в 50 г продукта[2)]	Отсутствуют	По 6.7
7	Количество колиформных бактерий в 0,1 г продукта	Отсутствуют	По 6.8
8	Безвредность в тест-дозе, мг: - на одного цыпленка - на одну мышь	 600 100	По 6.9

[1)] Показатель по пунктам 4, 5, 8 изготовитель определяет в каждой 10-й партии кормобактерина.

[2)] Нормы по показателям пунктов 6, 7 предприятие-изготовитель гарантирует. Показатель определяется по требованию потребителя.

4 Требования безопасности

4.1 Кормобактерин по степени воздействия на организм в соответствии с ГОСТ 12.1.007 относится к веществам 4-го класса опасности по [2].

Предельно допустимая концентрация (ПДК) кормобактерина в воздухе рабочей зоны согласно ГОСТ 12.1.005 должна составлять 6 мг/м^3.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) кормобактерина в атмосферном воздухе населенных мест — 0,03 мг/м^3.

4.2 При работе с микроорганизмами следует соблюдать требования биологической безопасности по ГОСТ 12.1.008.

4.3 При работе с препаратом необходимо пользоваться индивидуальным средствами защиты:

- для органов дыхания — респиратором ШБ-1 «Лепесток» по ГОСТ 12.4.028;
- глаз — очками защитными по ГОСТ 12.4.253;
- рук — перчатками по ГОСТ 12.4.103.

4.4 При производстве, применении и испытании препарата должны соблюдать общие требования безопасности по ГОСТ 12.2.003 и санитарно-эпидемиологические правила по [3].

4.5 Все работы в помещениях с препаратом следует проводить при работающей общей и местной приточно-вытяжной вентиляции в соответствии с ГОСТ 12.4.021.

4.6 К работе с препаратом не допускаются лица с хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания, зрения, кожи и лица, склонные к аллергическим реакциям.

4.7 Все работники, контактирующие с препаратом, проходят периодические медицинские осмотры по [4].

4.8 Кормобактерин в соответствии с ГОСТ 12.1.044 относится к числу пожаро-взрывоопасных препаратов:

- нижний концентрационный предел воспламенения — 115 г/м^3;
- температура вспышки — 195 °С;
- температура тления — 204 °С;
- температура самовоспламенения — 475 °С.

Тушение следует проводить распылением воды со смачивателем или пеной.

5 Правила приемки

Кормобактерин сдают и принимают в установленном порядке в соответствии с требованиями ГОСТ Р 57233.

6 Методы испытаний

6.1 Отбор проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 57248.

Масса объединенной пробы должна составлять не менее 500 г. Масса пробы, направляемой на анализ или хранение, составляет не менее 100 г.

6.2 Определение внешнего вида и цвета

Определение внешнего вида и цвета препарата проводят визуально по каждой единице фасовки в момент отбора проб или при выделении среднего объема объединенной пробы при использовании автоматического пробоотборника.

6.3 Определение массовой доли влаги — по ГОСТ Р 54951.

6.4 Определение массовой доли сырого протеина

Массовую долю сырого протеина определяют по ГОСТ 32044.1 (титриметрический метод, с катализатором 2) со следующим изменением: для отгонки аммиака в приемную колбу наливают 60 см^3 раствора серной кислоты концентрацией 0,05 моль/дм^3 (0,1 н).

6.5 Определение массовой доли белка

Метод основан на определении в продукте белкового азота с последующим пересчетом на белок. Сущность метода заключается в способности белка давать осадки с солями тяжелых металлов: меди, свинца, ртути, железа, олова и др.

6.5.1 Аппаратура, материалы в реактивы

Для проведения испытания применяют оборудование, материалы и реактивы по ГОСТ 32044.1, а также:

- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228, 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г или других аналогичных типов;
- стаканы стеклянные по ГОСТ 25336, вместимостью 250 см^3;
- воронки Бюхнера по ГОСТ 9147, вместимостью 120 см^3;
- колбы для фильтрования под вакуумом по ГОСТ 25336;
- цилиндры 2—25 по ГОСТ 1770;
- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026, марки ФОБ, ФОС или ФОМ.

6.5.2 Проведение испытания

Препарат массой 1,0000 г взвешивают в стакане с точностью до 4-го десятичного знака, затем приливают 15—25 см^3 нагретой до кипения дистиллированной воды. Содержимое стакана хорошо перемешивают. Не прекращая перемешивания, приливают цилиндром 25 см^3 раствора с массовой долей сернокислой меди 6 % и 25 см^3 раствора с массовой долей гидроокиси натрия 1,25 %. Смесь оставляют на 2—3 ч, чтобы жидкость над осадком стала прозрачной. Жидкость и осадок отфильтровывают через вакуум-фильтр. Осадок на фильтрате промывают водой до тех пор, пока фильтрат не станет бесцветным.

Промытый и подсушенный на воздухе осадок с фильтром переносят в колбу для сжигания. Дальнейшее определение белкового азота ведут по ГОСТ 32044.1.

6.5.3 Обработка результатов

Массовую долю белка X в пересчете на абсолютно сухое вещество, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot 0{,}0014 \cdot 6{,}25 \cdot 100}{M \cdot (1 - 0{,}01W)}, \quad (1)$$

где V_1 — объем раствора гидроокиси натрия концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н), израсходованный на титрование 50 см^3 раствора серной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 (0,1 н) в контрольном опыте, см^3;

V_2 — объем раствора гидроокиси натрия концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н), израсходованный на титрование остатка серной кислоты, не связанный с выделившимся аммиаком при его отгонке, см^3;

K — поправочный коэффициент к титру раствора гидроокиси натрия концентрации 0,1 моль/дм^3 (0,1 н);

0,0014 — количество азота, эквивалентное 1 см^3 точного раствора серной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 (0,1 н);

6,25 — коэффициент для пересчета азота на белок;

M — масса навески препарата, г;

W — массовая доля влаги в кормобактерине, %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 1,0 % относительных, а расхождение между результатами, полученными в разных условиях, — 3 % относительных.

6.6 Определение числа микробных клеток

6.6.1 Аппаратура, материалы и реактивы:

- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228, 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г или других аналогичных типов;
- термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева (37 ± 0,2) °С;
- лупа с увеличением в 8—10 раз по ГОСТ 25706;
- прибор для счета колоний бактерии (ПСБ) по [5];
- колбы 2–250–2 по ГОСТ 25336;
- пипетки 1,4–2–1 по ГОСТ 29227;
- пробирки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336, вместимостью 10 см^3;
- чашки ЧБН-2 по ГОСТ 25336;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233;
- агар микробиологический по ГОСТ 17206 или

- агар пищевой по ГОСТ 16280;
- бульон мясо-пептонный по ГОСТ 20730;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- марля бытовая по ГОСТ 11109.

6.6.2 Подготовка к испытанию

Мясо-пептонный агар готовят по ГОСТ 32901.

6.6.3 Проведение испытания

Препарат массой 1,00 г взвешивают с точностью до 2-го десятичного знака, помещают в колбу с 99 $см^3$ стерильного физиологического раствора, получают разведение 10^{-2} и тщательно встряхивают. Из полученной взвеси готовят последующие разведения 10^{-3} и 10^{-4}.

После оседания взвешенных частиц из верхнего слоя жидкости берут суспензию каждого разведения и засевают на 2—3 чашки следующим образом: 1 $см^3$ суспензии, взятой стерильной пипеткой, помещают в центр каждой чашки и заливают около 15 $см^3$ расплавленного и охлажденного до температуры 45 °С мясо-пептонного агара. При посеве и заливке агаром крышку чашки Петри быстро приоткрывают и закрывают.

Сразу после заливки агара содержимое чашки тщательно перемешивают, делая чашками круговые движения на гладкой поверхности стола для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки перевертывают крышками вниз, помещают в термостат и выдерживают в течение 48 ч при температуре (37 ± 0,2) °С.

6.6.4 Обработка результатов

Число выросших колоний подсчитывают в каждой чашке, поместив ее вверх дном (без крышки), пользуясь лупой и прибором для подсчета колоний. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами. При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки делят на четыре одинаковых сектора, подсчитывают число колоний в двух-трех секторах, находят среднее арифметическое и умножают на общее число секторов. Таким образом находят общее число колоний, выросших на одной чашке. Для подсчета общего числа микробных клеток в 1,00 г препарата число колоний, выросших на каждой чашке, умножают на соответствующее разведение. Полученные результаты по отдельным чашкам складывают и делят на количество подсчитанных чашек. За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

6.7 Метод выявления сальмонелл

6.7.1 Сущность метода

Метод заключается в предварительном обогащении проб в неизбирательной жидкой среде, последующем обогащении на жидкой среде, посеве на твердую селективную среду. После инкубирования среда исследуется на присутствие колоний, подозреваемых на сальмонеллы, и в подтверждение их принадлежности к сальмонеллам.

6.7.2 Аппаратура, материалы, реактивы и питательные среды:

- автоклав электрический или других аналогичных марок;
- петля бактериологическая;
- баня водяная любого типа, обеспечивающая температуру нагрева от 20 °С до 100 °С с точностью терморегуляции ±3 °С;
- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228 не ниже 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г или других аналогичных типов;
- дистиллятор;
- колбы по ГОСТ 25336 типа Кн, вместимостью 2000 $см^3$;
- лупа по ГОСТ 25706;
- pH-метр по ГОСТ Р 8.857 или другой прибор для определения pH среды в интервале 1 ÷ 14 с погрешностью не более 0,1 ед. pH;
- микроскоп типа МБИ по ГОСТ 28489 или других аналогичных марок;
- пинцеты по ГОСТ 21241;
- пробирки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 10 $см^3$;
- пипетки 1, 4, 5–1, 2, 5, 10 по ГОСТ 29227;
- пипетки пастеровские;
- стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
- стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;
- спиртовки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336;
- термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева (50 ± 0,2) °С;

- цилиндры 2-10, 100, 500, 1000 по ГОСТ 1770;
- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026;
- чашки ЧБН-2 по ГОСТ 25336;
- штативы для пробирок;
- шпатель;
- агар висмут-сульфитный сухой;
- бактоагар Плоскирева сухой;
- среда Левина сухая;
- среда Эндо сухая;
- сыворотки поливалентные и моновалентные О и Н — агглютинирующие;
- пептон фирмы «Спора» или фирмы «Рихтер»;
- пептон сухой для бактериологических целей по ГОСТ 13805;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233;
- натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773;
- лактоза по [6];
- натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245;
- натрий кислый селенистокислый;
- питательная среда с индикатором «ВР» и сахарозой, сухая;
- мочевина по ГОСТ 6691;
- глюкоза по ГОСТ 6038;
- мясо-пептонный бульон по ГОСТ 20730;
- фуксин основной;
- кислота карболовая;
- глицерин по ГОСТ 6259;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962;
- кристаллвиолет;
- калий йодистый по ГОСТ 4232;
- йод кристаллический по ГОСТ 4159;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;
- бриллиантовый зеленый;
- экстракт дрожжевой по [7];
- сахароза по ГОСТ 5833;
- феноловый красный индикатор по [8];
- соль закиси железа и аммония двойная сернокислая (соль Мора) по ГОСТ 4208;
- среда селенитовая или среда магниевая;
- вода пептонная;
- среда Рассела;
- агар трехсахарный с мочевиной.

6.7.3 Подготовка к испытанию

6.7.3.1 Состав и приготовление питательных сред

Все компоненты, используемые для приготовления сред, взвешивают с точностью до 2-го десятичного знака.

Пептонная вода. Состав среды:

пептон . . . . . 10,00 г;
хлористый натрий . . . . . 5,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 1000 см^3.

Приготовление среды

К 1000 см^3 дистиллированной воды добавляют 10,00 г пептона и 5,00 г хлористого натрия, кипятят до растворения пептона, фильтруют и устанавливают pH, равным 7,2—7,4, после чего стерилизуют при температуре 120 °С в течение 30 мин.

Селенитовая среда. Состав среды:

натрий кислый селенисто-кислый (без теллурита) . . . . . 4,00 г;
пептон . . . . . 5,00 г;
натрий фосфорнокислый однозамещенный (безводный) . . . . . 3,00 г;
лактоза . . . . . 4,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 1000 см^3.

Приготовление питательной среды

В колбу вместимостью 2000 см^3 с дистиллированной водой добавляют фосфаты, пептон и лактозу, тщательно перемешивают до растворения и стерилизуют при температуре (112 ± 1) °С в течение 30 мин. Отдельно на стерильной дистиллированной воде готовят раствор с массовой долей кислого селенистокислого натрия 10 %, который добавляют к среде перед употреблением из расчета 0,4 см^3 на 10 см^3 среды. Готовая среда должна иметь pH, равный 6,8—7,1.

Магниевая среда. Состав среды:

пептон . . . . . 4,20 г;
натрий хлористый . . . . . 7,00 г;
калий фосфорнокислый однозамещенный (безводный) . . . . . 1,50 г;
экстракт дрожжевой . . . . . 20,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 890 см^3.

Приготовление питательной среды

Все компоненты растворяют при кипении в дистиллированной воде, затем добавляют следующие растворы:

хлористый магний кристаллический . . . . . 36,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 90,00 см^3;
водный раствор бриллиантового зеленого с массовой долей 0,1 % . . . . . 5,00 см^3.

Среду разливают в колбы и стерилизуют при температуре (112 ± 1) °С в течение 20 мин.

Среда Рессельса и сухих питательных сред. Состав среды:

сухой питательный агар с индикатором ВР и лактозой . . . . . 40,00 г;
сухой питательный агар . . . . . 5,00 г;
глюкоза . . . . . 1,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 1000 см^3.

Приготовление среды

К 950 см^3 дистиллированной воды последовательно добавляют 40,00 г сухого питательного агара с индикатором ВР и лактозой, 5,00 г сухого питательного агара. Смесь растворяют при нагревании до кипения. В 50 см^3 дистиллированной воды растворяют 1,00 г глюкозы и добавляют к указанной выше смеси. Среду разливают в стерильные пробирки по 5—6 см^3, стерилизуют текучим паром два раза по 30 мин.

Трехсахарный агар с мочевиной. Состав среды:

лактоза . . . . . 1,00 г;
сахароза . . . . . 1,00 г;
глюкоза . . . . . 0,10 г;
мочевина . . . . . 1,00 г;
соль Мора . . . . . 0,02 г;
натрия серноватистокислого (гипосульфита) . . . . . 0,63 г;
фенолово красный (фенолрот) . . . . . 0,4—0,6 см^3;
питательный агар (pH = 7,2 – 7,4) . . . . . 100 см^3.

Все компоненты, кроме фенолрота, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды (10 см^3) на водяной бане и вносят в расплавленный агар, фильтруют через марлю и доводят pH до уровня 7,2—7,4. Затем добавляют 0,4—0,6 см^3 фенолрота и разливают в пробирки по 5—6 см^3. Стерилизуют в прогретом автоклаве при температуре (111 ± 1) °С в течение 20 мин.

6.7.4 Проведение испытания

6.7.4.1 Предварительное обогащение

Фламбированным шпателем берут 50,00 г препарата, взвешенного с точностью до 2-го десятичного знака, и переносят его в колбу, содержащую 450 см^3 пептонной воды. Содержимое колбы тщательно перемешивают и ставят в термостат при температуре 37 °С на 16—24 ч.

6.7.4.2 Обогащение

Приливают 10 см^3 содержимого колбы к 50 см^3 селенитовой или магниевой среды.

Селенитовую среду с посевом выдерживают в термостате при температуре 37 °С в течение 24—48 ч.

6.7.4.3 Посев на чашки

После выдерживания в течение 18—24 ч делают посев из каждой колбы на чашки с твердыми дифференциально-диагностическими средами бактоагаром Плоскирева, висмут-сульфитным агаром, со средой Эндо или Левина (по две чашки).

Перед посевом содержимое колб тщательно перемешивают и делают посев штрихом диаметром 2,5—3,0 мм на чашки.

Посевы помещают в термостат на 18—24 ч при температуре (37 ± 0,2) °С, посевы на висмут-сульфитном агаре — на 48 ч.

На селективных средах сальмонеллы растут, образуя характерные колонии: на среде Плоскирева — в виде бесцветных или нежно-розовых колоний, но более плотных и несколько меньшего размера, чем на среде Эндо; на среде Левина — в виде прозрачных, бледных, нежно-розовых или розовато-фиолетовых колонии.

На висмут-сульфитном агаре *Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A* растут в виде мелких, нежных, серовато-зеленых колоний с черным центром.

S. cholerae suis — в виде зеленых колоний. Колонии почти всех других сальмонелл значительно крупнее, темно-коричневого цвета с металлическим блеском, окруженные ореолом, цвет среды под колонией — черный.

Если рост колоний выражен слабо или не наблюдается типичных колоний сальмонелл, чашки повторно выдерживают в термостате при температуре (37 ± 0,2) °С в течение 20—24 ч. Затем снова определяют наличие типичных колоний сальмонелл.

6.7.4.4 Подтверждение присутствия *Salmonella*

При обнаружении на чашках подозрительных колоний исследуют 3—5 колоний в каждой чашке.

Колонии высевают на комбинированную среду Расселя или двухсахарный (лактоза, глюкоза) агар, предпочтительнее на трехсахарный (лактоза, глюкоза, сахароза) «скошенный столбик» с мочевиной.

Высе в колоний также делают на короткий пестрый ряд, включающий скошенный агар и среды Гисса с лактозой, глюкозой и сахарозой, а также на бульон Хоттингера для определения индола и сероводорода.

Культуры, ферментирующие лактозу, глюкозу и сахарозу с образованием газа и расщепляющие мочевину, отбрасывают. Культуры, не ферментирующие лактозу и сахарозу и не расщепляющие мочевину, подлежат дальнейшему исследованию.

Изучают морфологию культуры в мазке, окрашенном по Граму, и подвижность (в висячей или раздавленной капле или в полужидком агаре).

Культуры, представляющие собой грамотрицательные палочки, ферментирующие глюкозу с образованием газа, не ферментирующие лактозу и сахарозу, не расщепляющие мочевину и не образующие индол, подвергают серологическому исследованию в реакции агглютинации или на предметном стекле с набором агглютинирующих сывороток.

Серологические подтверждения

Поливалентную агглютинирующую сыворотку применяют для дифференцирования культур рода сальмонелла от других возбудителей кишечных инфекций, а монорецепторные О- и Н-сыворотки — для идентификации сальмонеллезных культур.

Предварительно культуры испытывают в реакции агглютинации на предметном стекле с поливалентной сывороткой.

Отрицательная реакция с поливалентной сывороткой означает, что испытуемая культура не принадлежит к роду *Salmonella*, и последующий анализ с О- и Н-агглютинирующими сыворотками не проводят.

Культуры, дающие положительную реакцию агглютинации с поливалентной сывороткой, также проверяют с монорецепторными агглютинирующими сыворотками.

Сначала с помощью монорецепторных О-сывороток устанавливают принадлежность культур к той или иной серологической группе.

Установив серологическую группу, к которой отнесена данная культура, последнюю проверяют в реакции агглютинации с Н-сыворотками I и II фазы.

На основании положительной реакции агглютинации с определенными О- и Н-сыворотками анализируемую культуру относят к одному из серотипов.

6.7.5 Обработка результатов

Обнаружение подвижных (кроме *S. gallinarum*, *S. pullorum*) грамотрицательных бактерий, не разлагающих лактозу и сахарозу, разлагающих глюкозу и маннит, выделяющих сероводород, не образующих индол, дающих положительную реакцию агглютинации с поливалентной и монорецепторными О- и Н-сальмонеллезными сыворотками, указывает на присутствие в исследуемой пробе бактерий из рода сальмонелл.

6.8 Метод определения количества колиформных бактерий

6.8.1 Сущность метода

Метод заключается в высеве определенного количества продукта в агаризованную среду, культивировании посевов при (30 ± 0,5) °С в течение 48 ч и подсчете колоний колиформных бактерий.

6.8.2 Аппаратура, материалы и реактивы:

- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228, 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г или других аналогичных типов;
- термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева (30 ± 1) °С;
- прибор для подсчета колоний по действующей НТД по [5];
- pH-метр по ГОСТ Р 8.857 или другой прибор для определения pH среды в интервале 1 ÷ 14 с погрешностью не более 0,1 ед. pH;
- баня водяная с пределом терморегуляции от 20 °С до 100 °С и точностью терморегуляции ±3 °С;
- чашки ЧБН 2 по ГОСТ 25336;
- пробирки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336, вместимостью 10 $см^3$;
- пептонно-солевой раствор pH = 7,0;
- колбы по ГОСТ 25336 типа Кн, вместимостью 2000 $см^3$;
- пипетки 1,4—2—1,10 по ГОСТ 29227;
- агар лактозный с кристаллическим фиолетовым, нейтральным красным и желчью;
- стаканчик для взвешивания пробирки;
- шпатель для взятия навески;
- фильтровальная бумага по ГОСТ 12026.

6.8.3 Подготовка к испытанию

6.8.3.1 Состав и приготовление питательных сред

Пептонно-солевой раствор. Состав среды:

натрий хлористый . . . . . 8,50 г;
пептон для бактериологических целей . . . . . 1,00 г;
вода дистиллированная . . . . . 1000 $см^3$.

Приготовление среды

8,50 г хлористого натрия и 1,00 г пептона растворяют в воде при медленном нагревании. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр, устанавливают pH (7,0 ± 0,1), разливают в конические колбы и пробирки, стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 30 мин.

Раствор хранят в темном месте при температуре от 0 °С до 5 °С не более 30 сут.

Агар лактозный с кристаллическим фиолетовым, нейтральным красным и желчью. Состав среды:

пептон . . . . . 7,00 г;
дрожжевой экстракт . . . . . 3,00 г;
лактоза (безводная) . . . . . 10,00 г;
хлорид натрия . . . . . 5,00 г;
желчные соли . . . . . 1,50 г;
нейтральный красный . . . . . 0,03 г;
кристаллический фиолетовый . . . . . 0,002 г;
агар . . . . . 9—16 г;
вода дистиллированная . . . . . 1000 $см^3$.

Компоненты, кроме кристаллического фиолетового, взвешивают с точностью до 2-го десятичного знака, кристаллический фиолетовый взвешивают с точностью до 3-го десятичного знака.

Приготовление среды.

Все компоненты растворяют в воде, дают постоять несколько минут, хорошо перемешивают, устанавливают pH таким образом, чтобы после кипячения он составлял (7,4 ± 0,1) при температуре 25 °С, доводят до кипения, периодически перемешивая, кипятят в течение 2 мин и немедленно охлаждают до температуры (45 ± 0,5) °С в водяной бане. Необходимо исключить перегрев среды и повторный ее нагрев. Среду не стерилизуют в автоклаве и используют в течение 3 ч с момента изготовления.

6.8.4 Проведение испытания

Разведение для посевов готовят следующим образом: к 1,00 г препарата, взвешенному с точностью до 2-го десятичного знака, добавляют 9 $см^3$ пептонно-солевого раствора (pH = 7,0) и тщательно перемешивают с жидкостью до получения однородной суспензии.

Из первого разведения 10^{-1} готовят последующие разведения 10^{-2} и т. д. Порядок разведения выбирают в зависимости от предполагаемой обсемененности продукта, чтобы на чашках развивалось не более 150 колоний (если на чашке вырастает более 150 колоний, колонии колиформных бактерий могут иметь нетипичную морфологию).

Посев производят из одного-двух последовательных 10-кратных разведений. Из каждого разведения делают высев на две-три чашки Петри. По 1 $см^3$ суспензии вносят в чашки с заранее маркированным

дном. Не позднее чем через 15 мин после внесения посевного материала в чашки Петри его заливают 12 см^3 расплавленной и охлажденной до температуры (45 ± 0,5) °С агаризованной лактозной среды. Сразу после заливки среды содержимое чашки тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. Затем чашки Петри с посевами оставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды. После полного застывания около 4 см^3 агаризованной лактозной среды, расплавленной и охлажденной до температуры (45 ± 0,5) °С, дополнительно вносят на поверхность чашки с посевным материалом, перемешивают и дают застыть.

Для проверки стерильности в контрольную чашку вносят 12 см^3 агаризованной среды.

После застывания питательной среды чашки переворачивают крышками вниз и инкубируют в термостате при температуре (30 ± 1) °С в течение 24 ч.

6.8.5 Обработка результатов

Учитывают характерные для колиформных бактерий колонии на чашках, в которых выросло всего не более 150 колоний. Через 24 ч после инкубации при температуре 30 °С колиформные бактерии образуют темно-красные колонии диаметром 0,5 мм и более.

Для подсчета отбирают чашки с посевом из тех разведений, где выросло 15—150 типичных колоний колиформных бактерий. Результаты обрабатывают и пересчитывают на 0,10 г препарата.

6.9 Определение безвредности

6.9.1 Аппаратура и реактивы:

- шприц медицинский инъекционный по ГОСТ 22967;
- ступка фарфоровая по ГОСТ 9147;
- вода питьевая по ГОСТ Р 51232.

6.9.2 Проведение испытания

Для проведения испытания отбирают пять цыплят 30-дневного возраста массой около 300 г или пять белых мышей массой по 14—16 г.

Кормобактерин тщательно растирают в ступке с водой. Воду добавляют с таким расчетом, чтобы 1 см^3 готовой суспензии содержал 200 мг кормобактерина.

Суспензию вводят цыплятам шприцем с тонким резиновым зондом через рот в течение 5 сут однократно в дозе 3 см^3 на каждого (из расчета 1 см^3 на 100 г живой массы).

Мышам суспензию вводят через рот с помощью иглы, на конец которой наплавлена олива диаметром не более 1 мм. Препарат вводят ежедневно в течение 5 сут однократно в дозе 0,5 см^3 на каждую мышь (из расчета 100 мг препарата на одну мышь).

Допускается определение безвредности путем естественного скармливания кормобактерина мышам массой 16—18 г.

Препарат массой 1,00 г, взвешенный с точностью до 2-го десятичного знака, смешивают с водой в соотношении 1:10 (из расчета 200 мг на мышь). Пять мышей помещают в отдельные клетки, в которые ставят раствор препарата, налитый в чашку Петри, на 1 сут. На время исследования другого питья не дают. Мыши получают препарат в течение 5 сут.

6.9.3 Обработка результатов

Кормобактерин считают безвредным, если все цыплята остаются живыми в течение 5 сут, мыши в течение двух-трех последующих суток наблюдения. При гибели хотя бы одного цыпленка или мыши в повторном опыте препарат бракуют.

Каждого цыпленка или мышь используют в опыте один раз.

7 Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

7.1 Упаковка и маркировка

Упаковку и маркировку кормобактерина проводят в соответствии с ГОСТ Р 57234 и ГОСТ Р 57249, кроме мешков марки НМ.

7.1.1 Допускается упаковка кормобактерина в мешки марки НМ только для потребителей областей Центральной России.

Упаковка в мягкие специализированные контейнеры разового использования для сыпучих продуктов по НТД с вкладышем из пленки полиэтиленовой — по ГОСТ 10354 (с 01.01.94 г.).

Допускается упаковка препарата в мешки или вкладыши из полиплена по [9].

Препарат фасуют по 10, 15, 20 кг. Погрешность взвешивания единицы упаковки не более ±1,25 %.

7.1.2 Маркировка кормобактерина — по ГОСТ Р 57249 с нанесением манипуляционного знака «Боится сырости».

7.2 Транспортирование и хранение

Транспортирование и хранение препарата — по ГОСТ Р 57234 и ГОСТ Р 57249.

Каждую партию отделяют одну от другой.

Хранение кормобактерина — по ГОСТ Р 57249 при температуре не выше 30 °С и не ниже минус 30°С и относительной влажности не выше 70 %.

8 Указания по применению

Кормобактерин должны применять в соответствии с «Наставлением по применению кормобактерина в животноводстве», а также по [10].

9 Гарантии изготовителя

9.1 Изготовитель гарантирует соответствие кормобактерина требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий применения, хранения и транспортирования препарата.

9.2 Гарантийный срок хранения — 6 мес со дня изготовления препарата.

Гарантийный срок хранения препарата, упакованного в бумажные мешки по ГОСТ 2226 марки НМ, — 2 мес.

По истечении гарантийного срока хранения кормобактерин проверяют на соответствие требованиям настоящего стандарта и применяют согласно наставлениям по использованию.

Библиография

[1]	ТУ 6-01-1194-79	Кислота соляная техническая
[2]	Классификация потенциально опасных веществ	Приказ Министерства природных ресурсов Российской Федерации и экологии от 4 декабря 2014 г. № 536 «Об утверждении Критериев отнесения отходов к I—V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду»
[3]	СП 2.2.2.1327-03	Гигиенические требования к организации технологических процессов, производственному оборудованию и рабочему инструменту
[4]	Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 апреля 2011 г. № 302н	Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические обязательные медицинские осмотры (обследования)
[5]	ТУ 64-1-2401-77	Приборы для счета колоний бактерий ПСБ
[6]	ТУ 6-09-2293-79	Альфа-Д-лактоза, 1-водная (4-О-Бета-Д-галакто-пиранозил-Альфа-Д-глюкопираноза)
[7]	ТУ 6-09-3462-83	Экстракт дрожжевой чистый
[8]	ТУ 6-09-5170-84	Феноловый красный, индикатор (фенолсульфофталеин) чистый для анализа
[9]	ТУ 6-19-371-87	Материалы пленочные многослойные «Полиплен»
[10]	ГУВ МСХ СССР Б/Н от 18 мая 1978 г.	Методические указания по лабораторной диагностике Б. Ауески

УДК 630.86: 006.354 ОКС 07.100.30; 65.020.00

Ключевые слова: кормобактерин, белковая добавка, сельскохозяйственные животные и птица

БЗ 5—2017/77

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 13.09.2017. Подписано в печать 05.10.2017. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,12. Тираж 23 экз. Зак. 1891.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru