ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57480— 2017

ПРОДУКТЫ УБОЯ ПТИЦЫ, ПРОДУКЦИЯ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ И ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Метод выявления сальмонелл ускоренным способом

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности — филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ВНИИПП)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31 мая 2017 г. № 467-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Август 2018 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, 2018

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

ПРОДУКТЫ УБОЯ ПТИЦЫ, ПРОДУКЦИЯ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ И ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Метод выявления сальмонелл ускоренным способом

Poultry slaughtering products, poultry meat products and environment production objects. Salmonella identification by quick method

Дата введения — 2018—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется:

- на продукты убоя птицы (тушки, части тушек, жир-сырец, кожу, субпродукты, мясо птицы механической обвалки, кость птицы пищевую, сырье коллагенсодержащее), полуфабрикаты из мяса птицы, в том числе высокой степени готовности, и яичные продукты, предназначенные для пищевых целей (далее — продукты);
- продукцию из мяса птицы и яиц сельскохозяйственной птицы, готовую к употреблению, — колбасные, кулинарные изделия, консервы и др. (далее — готовые продукты);
- объекты окружающей производственной среды (технологическое оборудование, тара, инвентарь, стены и пол производственных цехов, воздух в производственных цехах, одежда и поверхность рук работников).

Настоящий стандарт устанавливает ускоренный метод качественного обнаружения сальмонелл (далее — бактерии рода *Salmonella*) с использованием тест-пластины, содержащей дегидратированный питательный гелеобразующий хромогенный субстрат на подложке.

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 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. 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 7702.2.0 Продукты убоя птицы, полуфабрикаты из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 8756.0 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию

ГОСТ 9792 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 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

Издание официальное

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

ГОСТ ISO 16140 Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов

ГОСТ 28489 Микроскопы световые. Термины и определения

ГОСТ 31468 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Метод выявления сальмонелл

ГОСТ 31659 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella

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

ГОСТ Р 52313 Птицеперерабатывающая промышленность. Продукты пищевые. Термины и определения

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 термины по ГОСТ Р 52313, ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 31468, а также следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **тест-пластина для определения бактерии рода *Salmonella***: Дегидратированная дифференциально-диагностическая среда на подложке, содержащая хромогенные субстраты и растворимое в холодной воде гелеобразующее вещество.

4 Сущность метода

Метод выявления бактерии рода *Salmonella* ускоренным способом основан на высеве определенного количества пробы в жидкие неселективные и селективные среды с последующим высевом на плотную дифференциально-диагностическую среду, выделении культур, имеющих типичные для бактерий рода *Salmonella* морфологические, культуральные признаки, с последующей их идентификацией по биохимическим свойствам и серологическим реакциям.

5 Требования безопасности

5.1 Общие требования проведения микробиологических исследований, в том числе требования безопасности к работе с микроорганизмами III и IV групп патогенности — по ГОСТ ISO 7218, [1].

5.2 При подготовке и проведении анализа необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

5.3 Помещение, в котором проводят анализ, должно быть оснащено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5.4 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ Р 12.1.019.

5.5 Требования к персоналу — по ГОСТ ISO 7218.

6 Аппаратура, материалы, реактивы и питательные среды

Аппаратура, материалы, реактивы и питательные среды — по ГОСТ 7702.2.0 со следующими дополнениями:

- микроскоп биологический, обеспечивающий просмотр в проходящем свете, с увеличением 900х—1000х по ГОСТ 28489;
- тест-пластина для определения бактерии рода *Salmonella* по документации изготовителя;
- диск для биохимической идентификации бактерии рода *Salmonella,* содержащий биохимический субстрат, облегчающий биохимическое подтверждение присутствия бактерии рода *Salmonella* по документации изготовителя;
- среда для неселективного предварительного обогащения — забуференная пептонная вода по ГОСТ 7702.2.0;
- бульон Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10) по 8.4;
- распределитель для тест-пластин по документации изготовителя;
- губка (спонж) для отбора образцов с нейтрализующим раствором по ГОСТ 7702.2.0;
- пептонно-солевой раствор для приготовления разведений по ГОСТ 7702.2.0;
- мясо-пептонный агар по ГОСТ 7702.2.0;
- сухие агглютинирующие адсорбированные поливалентные О-сыворотки; Vi-, Н-агглютинирующие сыворотки для серологической идентификации бактерии рода *Salmonella* по ГОСТ 7702.2.0;
- физиологический раствор по ГОСТ 7702.2.0;
- дистиллированная вода по ГОСТ 6709, ГОСТ ISO 11133;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

7 Подготовка к проведению анализа

7.1 Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 9792, ГОСТ 8756.0.

Для отбора проб окружающей среды используют губку (спонж) с нейтрализующим раствором, не содержащую антимикробных веществ.

Размер участка пробы для проверки присутствия или отсутствия патогенов на поверхности составляет 100 $см^2$ (10 × 10 см). Забирая пробу с помощью губки, покрывают весь участок в двух направлениях (слева направо, затем сверху вниз).

7.2 Подготовка посуды — по ГОСТ 31468.

7.3 Подготовка тест-пластин к анализу — по [2].

7.4 Температура проб перед анализом должна быть в пределах комнатной температуры от 18 °С до 22 °С.

8 Приготовление питательных сред, сыворотки и селективной добавки

8.1 Пептонно-солевой раствор для приготовления разведений — по ГОСТ 7702.2.0.

8.2 Среда для неселективного предварительного обогащения — забуференная пептонная вода — по ГОСТ 7702.2.0.

8.3 Селективная добавка к среде неселективного предварительного обогащения

Состав:

- малахитовый зеленый оксалат;
- цефсулодин натрия;
- стрептомицина сульфат;
- новобиоцин натрия;
- налидиксин натрия.

Весовые характеристики и приготовление — в соответствии с инструкцией изготовителя.

8.4 Бульон Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10)

Состав:

- хлорид магния (безводный) 13,4 г;
- хлорид натрия 7,2 г;
- казеиновый пептон 4,54 г;

- дигидроортофосфат калия 1,45 г;
- малахитовый зеленый 0,036 г;
- дистиллированная вода 1000,0 $см^3$.

Приготовление:

26,6 г сухой среды растворяют в 1000 $см^3$ дистиллированной воды. Тщательно перемешивают, при необходимости нагревают до полного растворения порошка. Стерилизуют при температуре 116 °С в течение 15 мин. Показатель pH должен соответствовать (5,1 ± 0,2) ед. pH при 25 °С.

8.5 Мясо-пептонный агар — по ГОСТ 7702.2.0.

8.6 Сухие агглютинирующие адсорбированные поливалентные О-сыворотки, Vi-, Н-агглютинирующие сыворотки — в соответствии с инструкцией изготовителя.

8.7 Питательные среды перед использованием контролируют по ГОСТ ISO 11133.

8.8 Контроль сред на стерильность

Среды проверяют на стерильность путем выдержки в термостате при (37 ± 1) °С в течение 48 ч. Если после этого на плотных питательных средах не обнаруживаются колонии микроорганизмов, а в жидких средах нет помутнения или осадка, свидетельствующих о росте микроорганизмов, они считаются стерильными.

9 Проведение анализа

9.1 Предварительное обогащение в неселективной среде

Для приготовления исходной суспензии используют неселективную среду с селективной добавкой.

Перед использованием неселективную среду по 8.2 вместе с селективной добавкой по 8.3 нагревают на водяной бане до температуры (41,5 ± 1,0) °С. Подготовленную среду для неселективного обогащения с селективной добавкой в асептических условиях инокулируют пробой продукта массой (25 ± 0,1) г в пакеты с фильтром. Соотношение между количеством высеваемой пробы и количеством неселективной среды — 1:9, т. е. (25 ± 0,1) г пробы на (225 ± 0,1) $см^3$ среды. Тщательно гомогенизируют в течение 2 мин.

Для проб окружающей среды соотношение между количеством высеваемой пробы и количеством неселективной среды — 1:9, т. е. губка на (225 ± 0,1) $см^3$ среды.

Посевы инкубируют при (41,5 ± 1,0) °С в течение (18—24) ч.

9.2 Обогащение в селективной среде

Культуры из среды для предварительного неселективного обогащения пересевают в среду селективного обогащения — бульон Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10) (см. 8.4).

Для этого 0,1 $см^3$ культуры, полученной по 9.1, пересевают в (10 ± 1,0) $см^3$ бульона Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10) по 8.4.

Посевы на бульоне Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10) инкубируют при температуре (41,5 ± 1,0) °С в течение (8—24) ч.

Допускается высевать культуры из среды неселективного обогащения проб продуктов, готовых к употреблению, непосредственно на дифференциально-диагностическую среду (тест-пластину), исключая этап обогащения в селективной среде на бульоне Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10).

9.3 Пересев на дифференциально-диагностические среды

После инкубирования на селективной среде — бульоне Раппапорта-Вассилиадиса (R-V R10) — проводят высев посевного материала на дифференциально-диагностическую среду.

Для получения отдельных хорошо изолированных колоний бактериологической петлей диаметром 3 $мм^3$ берут посевной материал и проводят высев непрерывным штрихом на поверхность геля тест-пластины. Рукой в перчатке проводят разглаживающим движением по поверхности пленки тест-пластины, оказывая на нее равномерное давление, для удаления пузырьков воздуха из области высева.

Тест-пластины инкубируют пленкой вверх при температуре (41,5 ± 1,0) °С в течение (24 ± 2) ч, укладывают в стопки в количестве не более 20 пластин.

После инкубирования проводят просмотр тест-пластин на присутствие типичных колоний для бактерий рода *Salmonella*.

Бактерии рода *Salmonella* образуют на тест-пластине колонии цвета от красного до коричневого с желтой зоной и/или пузырьком газа.

При отсутствии типичных колоний в посевах на дифференциально-диагностической среде работу с посевами прекращают и конечный результат определяют как отсутствие бактерий рода *Salmonella* в анализируемой пробе (массе, объеме) продукта.

9.4 Идентификация

9.4.1 Биохимическая идентификация

Если типичные колонии бактерий рода *Salmonella* присутствуют на тест-пластине, на верхней пленке тест-пластины обводят не менее пяти изолированных типичных колоний несмываемым сверхтонким маркером и переходят к проведению идентификации бактерий рода *Salmonella* по биохимическим свойствам.

Для определения биохимических свойств используют тест-пластину с типичными колониями.

Поднимают верхнюю пленку тест-пластины и вставляют диск для биохимической идентификации, разместив его на геле катящим движением во избежание попадания пузырьков воздуха. Закрывают тест-пластину. Рукой в перчатке аккуратно проводят разглаживающим движением по поверхности пленки, оказывая на нее равномерное давление.

Тест-пластину и диск инкубируют при температуре (41,5 ± 1,0) °С в течение 4—5 ч в горизонтальном положении диском вверх, укладывая по высоте не более 20 пластин.

Типичные культуры бактерий рода *Salmonella* показывают изменение цвета колоний на зеленый, синий, темно-синий с ореолом темно-фиолетового цвета вокруг колоний.

Принцип биохимической идентификации с применением диска основан на комбинированном действии двух хромогенных субстратов на бета-галактозидазу и бета-глюкоронидазу. Распад хромогенных ферментов сопровождается изменением цвета и образованием ореола темно-фиолетового цвета вокруг колоний.

Колонии, которые сохранили тот же красный, темно-красный или коричневый цвет без темно-фиолетового ореола, не являются подтвержденными по биохимическим свойствам.

9.4.2 Серологическая идентификация

Серологическую идентификацию для подтверждения принадлежности к бактериям рода *Salmonella* проводят с культурами, предварительно пересеянными на поверхность мясо-пептонного агара.

Для этого поднимают верхнюю пленку тест-пластины и петлей снимают колонию с геля или диска, затем штриховым движением колония переносится на мясо-пептонный агар.

Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение 18—24 ч, затем проводят серологическую идентификацию по ГОСТ 31659.

10 Обработка результатов

10.1 Результаты оценивают по каждой пробе в отдельности.

10.2 Результаты записывают следующим образом: бактерии рода *Salmonella* обнаружены или не обнаружены в определенном количестве г ($см^3$) продукта.

11 Валидация метода

Валидация метода проведена с помощью межлабораторных испытаний по ГОСТ ISO 16140.

Библиография

[1] СП 1.3.2322-08 Санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 28 января 2008 г.

[2] МУК 4.2.2884-11 Методические указания «Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием петрифильмов», утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 29 июня 2011 г.

УДК 637.54:579.67:006.35 ОКС 67.120.20

Ключевые слова: мясо птицы, субпродукты, полуфабрикаты, бактерии рода *Salmonella*, питательные среды, отбор проб, биохимические свойства, контроль микробиологических исследований

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 23.08.2018. Подписано в печать 01.09.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,74.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru