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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 6887-6— 2015

Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА, ИСХОДНОЙ СУСПЕНЗИИ И ДЕСЯТИЧНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Часть 6

Специальные правила приготовления проб, отобранных на начальной стадии производства

(ISO 6887-6:2013, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») на основе аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 22 июля 2015 г. № 78-П)

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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31 августа 2015 г. № 1217-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 6887-6—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 6887-6:2013 Microbiology of food and animal feed — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходной суспензии и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 6. Специальные правила приготовления проб, отобранных на начальной стадии производства).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO/TC 34/SC 9 «Микробиология» Технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2016

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Разбавители и дезинфицирующие средства 2
5.1 Разбавители для специальных целей 2
5.2 Дезинфицирующие средства для использования при лабораторном исследовании 2
6 Оборудование и стеклянная посуда 3
7 Типы проб, доставляемых в лабораторию 3
8 Подготовка проб 3
8.1 Общие положения 3
8.2 Хранение 3
9 Конкретные методики работы 3
9.1 Методика работы с пробами, отобранными на ферме 3
9.2 Методика работы с пробами, отобранными на бойне 5
9.3 Методика работы с пробами, отобранными от домашней птицы на инкубаторной станции либо при транспортировании из инкубаторной станции до фермы 6
10 Дополнительные десятичные разведения 7
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 8
Библиография 9

Введение

ISO 6887-6 разработан Европейским комитетом по стандартизации (CEN), Техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов — Горизонтальные методы», совместно с Техническим комитетом ISO/TC 34 «Пищевые продукты», Подкомитетом SC 9 Микробиология, в соответствии с Соглашением о техническом сотрудничестве между ISO и CEN (Венское Соглашение).

ISO 6887 состоит из следующих частей под общим названием «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований»:

- Часть 1: Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений;
- Часть 2: Специальные правила подготовки мяса и мясных продуктов;
- Часть 3: Специальные правила приготовления рыбы и рыбных продуктов;
- Часть 4: Специальные правила приготовления продуктов, кроме молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов и рыбы и рыбопродуктов;
- Часть 5: Специальные правила подготовки молока и молочных продуктов;
- Часть 6: Специальные правила приготовления проб, отобранных на начальной стадии производства.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных

ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА, ИСХОДНОЙ СУСПЕНЗИИ И ДЕСЯТИЧНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Часть 6

Специальные правила приготовления проб, отобранных на начальной стадии производства

Microbiology of food and animal feed.
Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
Part 6. Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает правила приготовления проб, отобранных на стадиях от фермы до бойни, а также их суспензий для микробиологических исследований в случае, когда требуется приготовление проб, отличное от приготовления по методам, установленным в ISO 6887-1.

В настоящий стандарт не включено описание приготовления проб для методов подсчета и выявления, поскольку оно имеется в соответствующих стандартах.

Настоящий стандарт применим в отношении различных проб, отобранных с птицефабрик, фермы, транспортного средства или с животных и птицы в процессе их транспортирования, либо с животных или их туш на бойне, с целью проверки животных на наличие зоонозных микроорганизмов.

Настоящий стандарт не распространяется на пробы, отобранные с целью санитарно-гигиенической оценки мяса.

Стандарт не распространяется на пробы, отобранные из водной окружающей среды (морской или пресной) на начальной стадии производства.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на приведенные ниже стандарты, которые являются обязательными при его применении. В случае датированных ссылок применяется только указанное издание. В случае недатированных ссылок применяется последнее издание ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 6887-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений)

ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям)

ISO 13307 Microbiology of food and animal feed — Primary production stage — Sampling techniques (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Начальная стадия производства. Методы отбора проб)

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **лабораторная проба** (laboratory sample): Проба, приготовленная для отправки в лабораторию и предназначенная для контроля или анализа.

3.2 **анализируемая проба** (test portion): Отмеренная (по массе или объему) представительная проба, отобранная из лабораторной пробы (3.1), предназначенная для приготовления исходной суспензии (3.4).

3.3 **объединенная проба** (pooled sample): Составная проба, представляющая собой сумму проб, отобранных от разных животных (птицы), либо сумму проб, отобранных из окружающей среды.

3.4 **исходная суспензия** (initial suspension), **первичное разведение** (primary dilution): Суспензия, раствор или эмульсия, полученные в результате смешения конкретного взвешенного или отмеренного количества исследуемой продукции (или анализируемой пробы, приготовленной из продукции), как правило, с девятикратным количеством разбавителя; при этом допускается осаждение крупных частиц (если они присутствуют).

Примечание — В некоторых случаях требуется приготовление более концентрированных или менее концентрированных исходных разведений, например, с соотношением 1:5 или 1:100 (по объему).

3.5 **дополнительные десятичные разведения** (further decimal dilutions): Суспензия или раствор, полученные путем смешения отмеренного объема исходной суспензии (3.4) с девятикратным объемом разбавителя и путем повторения данной операции с каждым разведением, приготовленным таким образом, с целью получения серии десятичных разведений, пригодных для инокуляции питательных сред.

4 Сущность метода

Исходную суспензию (3.4) готовят таким образом, чтобы достичь максимально однородного распределения микроорганизмов, содержащихся в анализируемой пробе, при условии сохранения их жизнеспособности.

Суспензию для предварительного обогащения или обогащения готовят, используя среду, которая рекомендуется при данном методе анализа, за исключением особых случаев, упомянутых в подпункте (разделе) для каждого продукта, описанного в настоящем стандарте.

При необходимости готовят дополнительные разведения (3.5) с целью уменьшения количества микроорганизмов на единицу объема, чтобы после проведения инкубирования можно было наблюдать определенный рост (при посеве в жидкие среды) или проводить подсчет колоний (в или на слоях агара в чашках), как это установлено в каждом конкретном стандарте.

С целью ограничения, при необходимости, диапазона микроорганизмов при подсчете с тем, чтобы он попал в заданный интервал, либо когда предполагается наличие большого количества микроорганизмов, имеется возможность проводить инокуляцию только определенными разведениями (как минимум, двумя последовательными разведениями), в соответствии с вычислениями, приведенными в ISO 7218.

5 Разбавители и дезинфицирующие средства

Информация о разбавителях для общего использования приведена в ISO 6887-1.

5.1 Разбавители для специальных целей

5.1.1 Нейтрализующие разбавители

Нейтрализующий разбавитель, приготовленный в соответствии с ISO 13307, используют при необходимости в количестве 10 % объемной доли от разбавителя. Нейтрализующие разбавители добавляют при отборе проб до их транспортирования в лабораторию.

Примечание — Если в пробах предполагается наличие большого количества формалина, допускается также добавление в бульон для предварительного обогащения *L*-гистидина (0,9 %).

5.2 Дезинфицирующие средства для использования при лабораторном исследовании

Информация о дезинфицирующих средствах приведена в ISO 7218 (6.2.4).

6 Оборудование и стеклянная посуда

Применяют лабораторное оборудование для общего использования (см. ISO 6887-1 и ISO 7218).

6.1 Гомогенизаторы

6.1.1 Гомогенизатор перистальтический (stomacher).

6.1.2 Гомогенизатор ротационный (блендер).

6.1.3 Миксер вибрационный (pulsifier).

6.2 Молоток стерильный (пластиковый или из другого материала).

6.3 Песок, пестик и ступка стерильные.

6.4 Пинцеты, ножницы, скальпели, шпатели, ложки стерильные.

6.5 Колбы стерильные или бутылки с завинчивающимися пробками подходящей вместимости стерильные.

6.6 Пипетки градуированные стерильные с полным сливом, наконечники пипеток.

7 Типы проб, доставляемых в лабораторию

Пробы отбирают и транспортируют в соответствии с ISO 7218 и ISO 13307.

Информация, касающаяся проб, приведена в разделе 9:

- пробы, отбираемые на ферме:

из окружающей среды (например, тампонами, с подстилок, экскременты, пыль, вода);

от животных (например, тампонами);

- пробы, отбираемые на бойне (например, содержимое прямой или слепой кишки, брыжеечные лимфатические узлы);

- пробы, отбираемые на инкубаторной станции (например, с вкладышей в корзинах инкубаторов, поврежденная яичная скорлупа);

- пробы, отбираемые с транспортных средств, отсеков, ящиков для транспортирования животных (например, тампонами).

8 Подготовка проб

8.1 Общие положения

Все процедуры подготовки проб проводят с соблюдением асептических условий, используя стерильное оборудование во избежание микробного загрязнения проб из внешних источников (см. ISO 7218).

В случае, когда пробу переносят в другой контейнер и используют лабораторную пробу целиком, следует обеспечить перенос всей пробы (например, при переносе стельки из исходного контейнера в новый следует исключить возможность сохранения остатков материала стельки в исходном контейнере).

В протоколе указывают, какая процедура использовалась для анализа в случае, если она отличалась от процедуры, описанной в настоящем стандарте.

8.2 Хранение

Пробы хранят в условиях, обеспечивающих оптимальное выживание микроорганизма(ов) в соответствии с ISO 7218.

9 Конкретные методики работы

9.1 Методика работы с пробами, отобранными на ферме

9.1.1 Пробы, отобранные из окружающей среды или с живых животных

9.1.1.1 Тканевые тампоны

Требуемое количество среды добавляют непосредственно к пробе в транспортном контейнере. Конкретное количество добавляемой среды зависит от размеров тампона и цели анализа. Обеспечивают пропитывание всех частей тампона.

Учитывают влияние количества добавляемой среды на предел обнаружения в анализе (см. примечание к 3.4).

С целью подсчета добавляют количество среды, достаточное для полного пропитывания тампона, в то же время должно оставаться минимальное количество свободной жидкости, необходимое для подсчета и для выявления. Обеспечивают присутствие достаточного количества свободной жидкости.

Например, для проведения подсчета с губчатого тампона размером 10 × 10 см добавляют 100 $см^3$ разбавителя. Тампон отжимают несколько раз (например, рукой в случае, если контейнером является пакет) так, чтобы микроорганизмы перешли в суспензию, затем энергично встряхивают.

При проведении процедуры выявления тампон вводят в культуру.

9.1.1.2 Палочковые тампоны

Тампон переносят в подходящий контейнер. Отламывают (или, при необходимости, отрезают) палочку, используя стерильные инструменты, добавляют требуемое количество/объем среды и перемешивают. Если тампон уже располагается в пробирке или другом подходящем контейнере, среду добавляют в тот же контейнер, за исключением случаев, когда контейнер с палочковым тампоном содержит плотную транспортную среду.

Допускается объединять палочковые тампоны, добавляя требуемый объем среды.

9.1.1.3 Тампоны для обуви, тампоны для протирки, тампоны из веревки

Добавляют требуемое количество/объем среды непосредственно в транспортный контейнер.

Обеспечивают пропитывание всех частей тампона.

Например, в случае анализа на *Salmonella* к паре тампонов для обуви добавляют не менее 225 $см^3$ подходящего разбавителя (см. [1], приложение D).

9.1.1.4 Тампоны Moore

С данными тампонами обращаются также, как с тампонами для обуви (9.1.1.3), однако ввиду накопления большого количества микроорганизмов в течение длительного периода времени предпочтительным является разбавление в соотношении 1:20.

9.1.1.5 Пробы с подстилок и пробы экскрементов, накопленных в естественных условиях

Лабораторную пробу сухого материала перемешивают. В отдельных случаях к пробе добавляют равное количество (объем) разбавителя в тот же контейнер, который используется для транспортирования. Перемешивают для получения кашицы. Дают отстояться в течение 10—15 мин и перемешивают снова. 50 $см^3$ суспензии (содержащей 25 г исходной пробы) переносят к соответствующему количеству разбавителя, в соответствии с конкретным стандартом на искомый микроорганизм.

9.1.1.6 Пробы экскрементов

В качестве единичной пробы отбирают часть экскрементов или целый кусок экскрементов, если он мал по размерам. Осторожно перемешивают и добавляют соответствующее количество (объем) среды, в соответствии с конкретной методикой анализа.

Если пробы перемешиваются с трудом, действуют в соответствии с 9.1.1.5.

Для объединения проб перемешивают каждую пробу как можно более тщательно, отбирают равные количества каждой пробы, добавляют соответствующее количество (объем) среды в соответствии с конкретным стандартом на искомый микроорганизм и тщательно перемешивают снова.

Объединяют экскременты не более 20 животных.

9.1.1.7 Пыль

Данный вид проб отбирают при анализе на *Salmonella* или другие устойчивые микроорганизмы, но не отбирают, например, для анализа на *Campylobacter*.

Анализируют не менее 10 г пыли. Для выявления *Salmonella* в очень сухих, поглощающих влагу пробах, таких как пыль, оптимальным является коэффициент отношения количества пробы к среде предварительного обогащения 1:20. Большие пробы пыли допускается готовить в лаборатории путем смешения с разбавителем в соотношении 1:4, затем отбирают часть пробы, которую разбавляют для предварительного обогащения в соотношении 1:5, при этом следует обеспечить проведение анализа не менее 10 г первоначальной пробы. Пробы, имеющие размер не более 25 г, допускается культивировать без отбора из них частей.

Чтобы сократить количество процедур с пробой пыли в лаборатории и снизить последующий риск перекрестного загрязнения, рекомендуется проводить сбор анализируемой пыли в достаточно большие мешки или сосуды так, чтобы в лаборатории добавляли только требуемое количество (объем) среды. Работу с пылью выполняют в шкафу с ламинарным потоком воздуха.

9.1.1.8 Вода

Допускается добавление малых количеств воды (например, 100 $см^3$) к равным объемам среды для культивирования двойной концентрации. Воду помещают в контейнер подходящего размера, добавляют среду в соотношении, установленном в конкретной методике, и перемешивают.

В случае больших объемов воды из водных систем: пробу фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (в случае *Campylobacter* — 0,20 мкм), затем культивируют фильтр. Чем больше объем отфильтрованной воды, тем более чувствительным будет выявление.

Дополнительная информация приведена в [2].

9.1.2 Животные с фермы

9.1.2.1 Общие положения

Желательно использовать отдельные специализированные помещения.

9.1.2.2 Птица

Выделение бактерий из внутренностей птицы требует особого внимания, учитывая риск перекрестного загрязнения и необходимость вскрытия тушки с разделением на анализируемые органы. Вскрытие тушки проводят с осторожностью во избежание перекрестного загрязнения, особенно избегают разбрасывания пуха или перьев. В периоды между работой с партиями рабочие поверхности, такие как секционные столы или доски, тщательно дезинфицируют. Допускается использовать одноразовые покрытия рабочих поверхностей.

Нижеприведенные методики используются для выявления *Salmonella*.

9.1.2.2.1 Цыплята возрастом 1—3 сут

Печень и желточный мешок отбирают в стерильных условиях от не более чем 60 цыплят и объединяют в стерильных пластиковых мешках или контейнерах, достаточно больших для проведения дальнейшей гомогенизации и разбавления анализируемой пробы.

Извлекают слепую кишку целиком вместе с содержимым и объединяют экземпляры слепой кишки не более чем от 30 цыплят в стерильных пластиковых мешках или чашках, достаточно больших для проведения дальнейшей гомогенизации и разбавления анализируемой пробы.

Чтобы произошло выделение содержимого слепой кишки перед разведением надавливают пальцами на мешок *stomacher* снаружи или путем измельчения кишечника ножницами.

9.1.2.2.2 Птица возрастом более 3 сут

Органы, куски органов или содержимое органов (печень, селезенка, яичник, яйцевод, слепая кишка) отбирают в стерильных условиях. Допускается объединение проб слепой кишки от не более 30 птиц или других проб от не более 60 птиц. Является целесообразным отбор верхней части яйцевода с яичником. Пробы слепой кишки не смешивают с другими органами. Используют стерильные пластиковые мешки или контейнеры, достаточно большие для проведения дальнейшей гомогенизации и разбавления анализируемой пробы.

9.1.2.3 Другие животные (свиньи, крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади и т. д.)

В лабораторию допускается отправка целых туш или органов, а также биологических материалов, отобранных с мертвых животных на ферме или бойне. Приемка целых туш допускается лишь в случае, когда лаборатория имеет специализированные условия.

Органы, используемые для анализа, могут различаться в зависимости от микроорганизмов, которые предстоит выявлять или подсчитывать.

9.2 Методика работы с пробами, отобранными на бойне

9.2.1 Свиньи

9.2.1.1 Пробы слепой кишки

Поверхность слепой кишки дезинфицируют подходящим дезинфицирующим средством (см. ISO 7218, 6.2.4) или прижигают раскаленным железом или пламенем. Используя стерильные инструменты, проводят надрез и извлекают пробу содержимого (как правило, 10—25 г) при помощи стерильной ложки или шпателя. Помещают в стерильный контейнер. Далее действуют в соответствии с 9.1.1.5.

Допускается объединять не более пяти индивидуальных проб содержимого слепой кишки.

9.2.1.2 Содержимое слепой кишки или прямой кишки

См. 9.1.1.6.

9.2.1.3 Брыжеечные лимфатические узлы (илеоцекальный, каудальный, тощекишечный, а также более близкорасположенные брыжеечные лимфатические узлы)

С поверхности лимфатических узлов удаляют остатки жира и соединительную ткань. Дезинфицируют поверхность каждого лимфатического узла осторожным фламбированием либо погружением в подходящее дезинфицирующее средство с последующей сушкой. При помощи стерильных ножниц или скальпеля и пинцета разрезают их на мелкие кусочки, взвешивают и помещают в стерильный контейнер. Лимфатические узлы размягчают путем простукивания молотком прочного стерильного пластикового пакета с пробами либо при помощи стерильного песка и ступки с пестиком.

На 1 г пробы добавляют 9 $см^3$ подходящего разбавителя.

9.2.1.4 Миндалины

Поверхность миндалин дезинфицируют путем кратковременного погружения в кипящую воду или в подходящее дезинфицирующее средство, после чего просушивают. При помощи стерильных ножниц или скальпеля и пинцета разрезают их на мелкие кусочки или размягчают, взвешивают и помещают в стерильный контейнер.

На 1 г пробы добавляют 9 $см^3$ подходящего разбавителя.

9.2.2 Жвачные животные, лошади, кролики и другие животные, разводимые для получения мяса

9.2.2.1 Содержимое слепой кишки или прямой кишки

См. 9.1.1.6.

9.2.2.2 Брыжеечные лимфатические узлы (илеоцекальный, каудальный, тощекишечный, а также более близкорасположенные брыжеечные лимфатические узлы)

См. 9.2.1.3.

9.2.3 Домашняя птица

9.2.3.1 Содержимое целой слепой кишки

Содержимое не более 30 экземпляров слепой кишки допускается объединять, как это описано ниже.

Неповрежденные экземпляры слепой кишки вскрывают при помощи стерильных ножниц и перед отбором анализируемой пробы содержимое перемешивают.

В качестве альтернативы вскрывают одну неповрежденную слепую кишку у одной птицы при помощи стерильных ножниц. При помощи петли на 10 $мм^3$ или стерильного палочкового тампона переносят порцию содержимого слепой кишки в пробирку, содержащую небольшой объем (не более 5 $см^3$) разбавителя. Данную операцию повторяют в отношении остальных проб, которые требуется объединить. Объединенную пробу тщательно перемешивают.

9.2.3.2 Слепая кишка вместе с илеоцекальным соединением

Данную методику, используют в случае *Salmonella* применительно к племенным птицам и несушкам.

Допускается объединение не более 30 экземпляров слепой кишки от разных птиц. Поверхность каждой слепой кишки дезинфицируют фламбированием, затем ее нарезают на кусочки при помощи стерильных ножниц. Взвешивают и на 1 г пробы добавляют 9 $см^3$ разбавителя.

9.3 Методика работы с пробами, отобранными от домашней птицы на инкубаторной станции либо при транспортировании из инкубаторной станции до фермы

Данные пробы отбирают только для анализа на *Salmonella*. Допускается использование конкретного метода, установленного в [1].

9.3.1 Вкладыши в корзинах инкубаторов

В стерильный пластиковый мешок помещают не менее пяти вкладышей от одного стада для получения не менее 1 $м^2$ площади поверхности. Добавляют 1—2 $дм^3$ среды для предварительного обогащения, подогретой до комнатной температуры (либо оптимально до 37 °С, из-за большого объема разбавителя).

9.3.2 Поврежденная яичная скорлупа

Пробу яичной скорлупы измельчают и перемешивают, затем добавляют ее к среде для предварительного обогащения с десятикратным разведением, например, берут анализируемую пробу массой 25 г и добавляют 225 $см^3$ среды для предварительного обогащения.

9.3.3 Пух в инкубаторе

Чтобы избежать манипуляций с пухом в лаборатории и последующего риска перекрестного загрязнения, рекомендуется собрать анализируемый пух в достаточно большие мешки или сосуды так, чтобы в лаборатории добавляли только требуемый объем или массу среды, или в сосуды, которые позволяют перенести пробу целиком без разбрасывания пуха.

9.3.4 Меконий

В лабораторию доставляют объединенную пробу мекония от 250—300 цыплят. Добавляют соответствующее количество (объем) среды в соотношении 1:9.

9.3.5 Тампоны из вкладышей инкубаторов

Действуют в соответствии с 9.1.1.1 (тканевые тампоны).

9.3.6 Размягченные пробы отходов птицефабрик

Действуют по аналогии с пробами поврежденной яичной скорлупы (9.3.2), либо с пробами тканевых тампонов (см. 9.1.1.1), если они используются для получения пробы.

9.3.7 Замершие эмбрионы

9.3.7.1 Инкубируемые яйца с неповрежденной скорлупой

Содержимое яиц отбирают в стерильных условиях. Скорлупу стерилизуют погружением в кипящую воду на 2—5 с, либо погружением в подходящее дезинфицирующее средство на 1—2 мин, при этом следует убедиться, что яйца и дезинфицирующее средство имеют комнатную температуру, во избежание поглощения дезинфицирующего средства. После дезинфекции яйца высушивают, удаляют скорлупу и исследуют содержимое.

- Если в яйцах имеются развитые эмбрионы, данные пробы готовят аналогично пробам из цыплят возрастом 1—3 сут (см. 9.1.2.2.1).
- Если эмбрионы не развиты, допускается содержимое не более 30 яиц объединять в стерильных пластиковых мешках или контейнерах, достаточно больших для проведения дальнейшей гомогенизации и разбавления анализируемой пробы.

Некоторые яйца, не имеющие развитых эмбрионов, могут содержать большое количество искомых бактерий (*Salmonella*) и не иметь вторичного загрязнения или ассоциированной флоры. Допускается исследовать гомогенаты путем непосредственного посева и обогащения, либо путем только обогащения.

При исследовании методом обогащения пробы разбавляют подходящим количеством среды (в соотношении 1:9).

9.3.7.2 Инкубируемые яйца с поврежденной скорлупой

К данному типу яиц относятся яйца с наклевом: яичная скорлупа повреждена, поскольку цыпленок начал разрушать скорлупу.

Внешняя дезинфекция скорлупы не является необходимой. Содержимое яйца готовят таким же способом, как в случае цыплят возрастом 1—3 сут (9.1.2.2.1).

9.3.8 Отбракованные цыплята

См. 9.1.2.2.1.

10 Дополнительные десятичные разведения

Дополнительные десятичные разведения проводят по ISO 6887-1.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 6887-1 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятичных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятичных разведений	—	*
ISO 7218:2007 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям	IDT	ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
ISO 13307 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Начальная стадия производства. Методы отбора проб	—	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты.

Библиография

[1] ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
[2] ISO 8199 Water quality — General guidance on the enumeration of microorganisms by culture

УДК 579.67:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: микробиология пищевых продуктов и кормов для животных, анализируемая проба, исходная суспензия, десятичное разведение, микробиологическое исследование, специальные правила приготовления проб, начальная стадия производства, ферма, бойня, птицефабрика

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 19.11.2015. Подписано в печать 10.02.2016. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,10. Тираж 44 экз. Зак. 3954.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru