ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54374— 2011

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2012

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПП Россельхозакадемии)

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 5 августа 2011 г. № 219-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуются в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2012

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

Poultry meat, edible offal and ready to cook products. Methods for detection and quantity determination of coliform bacteria

Дата введения — 2012—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы (далее — продукт) и устанавливает методы наиболее вероятного числа, посева в/на агаризованные селективно-диагностические среды для выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий родов Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia) (далее — колиформные бактерии).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 7218—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ Р ИСО 11133-1—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории

ГОСТ Р ИСО 11133-2—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред

ГОСТ Р 50396.0—92 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ Р 52816—2007 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

ГОСТ Р 53597—2009 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 10444.1—84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26670—91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

ГОСТ 29184—91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства Enterobacteriaceae

ГОСТ 30425—97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности

Издание официальное

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52816, а также следующие сокращения.

НВЧ — наиболее вероятное число;

КОЕ — колониеобразующие единицы;

БГКП — бактерии группы кишечных палочек.

4 Сущность методов

Метод выявления колиформных бактерий основан на высеве определенного количества продукта и (или) его разведения в жидкую среду с лактозой, термостатировании при температуре (37 ± 1) °С в течение (48 ± 2) ч, подтверждении принадлежности, при необходимости, выросших микроорганизмов по морфологическим, культуральным признакам и биохимическим свойствам к колиформным бактериям.

Метод определения количества колиформных бактерий методом НВЧ основан на высеве определенного количества продукта и (или) его последовательных разведений в жидкую селективную среду с лактозой; термостатировании, учете положительных пробирок, подтверждении принадлежности, при необходимости, по морфологическим, культуральным признакам и биохимическим свойствам выросших микроорганизмов к колиформным бактериям. Метод определения наиболее вероятного числа колиформных бактерий предназначен для проб, содержащих в 1 г твердого продукта менее 150 или в 1 $см^3$ жидкого продукта менее 15 клеток колиформных бактерий.

Методы определения количества колиформных бактерий основаны на высеве определенного количества продукта и (или) его последовательных разведений в/на агаризованную селективно-диагностическую среду с лактозой, термостатировании, подсчете типичных и атипичных колоний, подтверждении принадлежности по морфологическим, культуральным признакам и биохимическим свойствам выросших микроорганизмов к колиформным бактериям.

Метод определения количества колиформных бактерий посевом в агаризованные селективно-диагностические среды предназначен для проб, содержащих в 1 г твердого продукта более 150 или в 1 $см^3$ жидкого продукта более 15 колониеобразующих единиц колиформных бактерий.

Метод определения количества колиформных бактерий посевом на агаризованные селективно-диагностические среды предназначен для проб, содержащих в 1 г твердого продукта более 1500 или в 1 $см^3$ жидкого продукта более 150 колониеобразующих единиц колиформных бактерий.

5 Общие положения

5.1 Общие требования к проведению микробиологических исследований — по ГОСТ Р ИСО 7218.

5.2 Требования безопасности

Требования безопасности при работе с микроорганизмами — по ГОСТ Р ИСО 7218, с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007, с электрооборудованием — по ГОСТ 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

5.3 Требования к персоналу — по ГОСТ Р ИСО 7218.

6 Средства измерений, аппаратура, материалы, культуральные среды и реактивы

6.1 Средства измерений, аппаратура, материалы, культуральные среды и реактивы — по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ Р 53597, ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ Р 52816.

6.2 Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками, а также материалов, реактивов, по качеству не ниже указанных в 6.1.

7 Подготовка к проведению испытаний

7.1 Отбор и подготовка проб

Отбор и подготовка проб — по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ Р 53597, ГОСТ Р ИСО 7218.

7.2 Приготовление разведений из пробы для анализа — по ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ 26669.

7.3 Подготовка средств измерений, аппаратуры, оборудования, посуды и материалов — по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ Р ИСО 7218.

7.4 Подготовка и приготовление культуральных сред, растворов реактивов

Общие указания по приготовлению культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1.

7.4.1 Селективная обогатительная среда (лаурил сульфат триптозный бульон) по ГОСТ Р 52816.

7.4.2 Бульон лактозный с бриллиантовым зеленым и желчью по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ Р 52816.

7.4.3 Селективная обогатительная среда (бульон Мак-Конки) по ГОСТ Р 52816.

7.4.4 Среда Кесслера с лактозой по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ Р 52816.

7.4.5 Среда Хейфица по ГОСТ Р 50396.0.

7.4.6 Кристалл виолет нейтральный красный желчный лактозный агар (VRBL-агар) по ГОСТ Р 52816.

7.4.7 Агар лактозный с бриллиантовым зеленым и феноловым красным по ГОСТ Р 52816.

7.4.8 Среда Эндо по ГОСТ Р 50396.0.

7.4.9 Среда Гисса с лактозой по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ 10444.1.

7.4.10 ГРМ-агар (сухой питательный агар на основе гидролизата рыбной муки для культивирования бактерий) по ГОСТ Р 52816.

7.4.11 Мясо-пептонный агар по ГОСТ Р 50396.0.

7.4.12 Реактивы для окраски по Граму по ГОСТ 10444.1.

7.4.13 Диски индикаторные бумажные для определения оксидазы.

7.4.14 Реактивы для теста Григорсена по ГОСТ Р 52816.

7.4.15 Допускается использование других культуральных селективно-диагностических сред, в том числе хромогенных, разрешенных и предназначенных для выявления и определения колиформных бактерий.

7.4.16 Приготовление и правила использования культуральных сред промышленного производства проводят по ГОСТ Р ИСО 11133-2.

7.4.17 Методы контроля культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1.

7.4.18 Сроки и условия хранения культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1.

8 Проведение испытаний

8.1 Метод выявления колиформных бактерий — по ГОСТ Р 52816 (подраздел 9.1).

8.1.1 Оценка и выражение результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Пробирки с посевами, в которых отмечен рост микроорганизмов (помутнение среды), образование газа (наличие пузырьков газа в поплавках) и кислоты (изменение цвета среды), считают положительными, и обнаруженные микроорганизмы относятся к колиформным бактериям.

При выявлении колиформных бактерий отмечают присутствие или отсутствие их в X г или в X см^3 продукта.

Результаты исследований записывают как «БГКП обнаружены или не обнаружены в X г ($см^3$) продукта».

8.1.2 Дополнительное подтверждение принадлежности выявленных бактерий к колиформным бактериям

8.1.2.1 Выделение чистой культуры на дифференциально-диагностических агаризованных средах и идентификация

При необходимости для дополнительного подтверждения принадлежности выявленных бактерий, выросших на жидких средах с образованием газа, к колиформным бактериям проводят пересевы для получения изолированных колоний по ГОСТ Р 50396.0, ГОСТ 26670 штрихом на поверхность одной из селективно-диагностических сред: VRDL-агар (см. 7.4.6), агар лактозный с бриллиантовым зеленым и феноловым красным (см. 7.4.7), среда Эндо (см. 7.4.8). Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение (24 ± 2) ч и отмечают рост типичных и атипичных колоний.

Типичные колонии колиформных бактерий:

- на VRBL-агаре — пурпурно-красные колонии диаметром не менее 0,5 мм, иногда окружены красноватой зоной преципитата (осадка) желчи;
- агаре лактозном с бриллиантовым зеленым и феноловым красным — зеленоватые колонии, окруженные яркой желто-зеленой зоной;
- среде Эндо — красные, розовые, бледно-розовые колонии, часто с металлическим блеском.

Атипичные колонии отличаются от типичных по цвету и размеру колоний.

8.1.2.2 Для дополнительного подтверждения отбирают не менее чем по пять типичных и атипичных колоний из чашек Петри с посевами (см. 8.1.2.1).

Атипичные колонии отбирают только те, в которых подтверждено наличие колиформных бактерий посевом в жидкую подтверждающую среду.

Каждую отобранную колонию пересевают на поверхность скошенного питательного агара (см. 7.4.10, 7.4.11). Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение (24 ± 2) ч.

Принадлежность выросших бактерий к колиформным бактериям определяют по отношению к окраске по Граму, по отсутствию оксидазы и по ферментации лактозы.

8.1.2.3 Окраска по Граму

Из подготовленных культур (см. 8.1.2.2) готовят мазки и окрашивают по Граму по ГОСТ 30425.

Допускается окраску по Граму заменять тестом Грегорсена по ГОСТ Р 52816.

8.1.2.4 Определение отсутствия оксидазы

Определение отсутствия оксидазы проводят по ГОСТ 29184.

Допускается использование дисков промышленного производства для определения оксидазы (см. 7.4.13).

8.1.2.5 Определение ферментации лактозы

Определение ферментации лактозы проводят по ГОСТ Р 52816.

8.1.2.6 Оценка результатов дополнительного подтверждения принадлежности выявленных бактерий к колиформным бактериям

По результатам дополнительного подтверждения к колиформным бактериям относят аэробные и факультативно-анаэробные не образующие спор грамотрицательные оксидазоотрицательные палочки, способные ферментировать лактозу с образованием кислоты и газа.

8.2 Определение количества колиформных бактерий

8.2.1 Определение количества колиформных бактерий методом НВЧ — по ГОСТ Р 52816.

Результаты выражают как «НВЧ колиформных бактерий в 1 г (см^3) продукта».

8.2.2 Определение количества колиформных бактерий методом посева в/на агаризованные селективно-диагностические среды

8.2.2.1 Подготовка к проведению исследований — по разделу 7.

8.2.2.2 Отбор и подготовка проб — по 7.1.

8.2.2.3 Приготовление разведений — по 7.2.

8.2.2.4 Посев — по ГОСТ Р 52816.

8.2.2.5 Термостатирование — по ГОСТ Р 52816.

8.2.2.6 Подсчет количества колоний по ГОСТ Р 52816.

8.2.2.7 Подтверждение принадлежности выявленных бактерий к колиформным бактериям

Для подтверждения принадлежности выявленных бактерий к колиформным бактериям отбирают не менее чем по пять типичных и атипичных колоний. Каждую отобранную колонию пересевают в пробирку с одной из жидких питательных сред (см. 7.4.2—7.4.5). Проведение подтверждения принадлежности выявленных бактерий к колиформным бактериям — по 8.1.1.

Оценка и выражение результатов по проведенному подтверждению — по 8.1.2.

8.2.2.8 Подсчет и выражение результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

В случае, когда не менее чем в четырех из пяти типичных и атипичных колоний подтвержден рост колиформных бактерий (не менее 80 %) считают, что все колонии принадлежат к колиформным бактериям. В остальных случаях количество колиформных бактерий определяют исходя из процентного отношения подтвержденных колоний к общему количеству колоний, взятых для подтверждения.

Расчет количества колиформных бактерий, определенного посевом в/на агаризованные селективно-диагностические среды, на 1 г (см^3) продукта проводят по ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ 26670.

Результаты определения количества колиформных бактерий в пробе продукта выражают и записывают по ГОСТ Р ИСО 7218, ГОСТ 26670.

УДК 663/664:543:006.354 ОКС 67.120.20 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: мясо птицы, субпродукты, полуфабрикаты, колиформные бактерии, разведение продукта, культуральные среды, отбор проб, посев, термостатирование, типичные и атипичные колонии, наиболее вероятное число (НВЧ)

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 27.02.2012. Подписано в печать 06.03.2012. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 0,93.
Уч.-изд. л. 0,65. Тираж 206 экз. Зак. 213.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru