ГОСТ Р 50396.3—92

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ

МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ

Издание официальное

БЗ 6—92/668

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 637.54:576:8.07:006.354 Группа Н19

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ

Метод выявления сальмонелл

ГОСТ Р 50396.3—92

Poultry meat, edible offal, ready-to-cook products. Method for detection of Salmonellae

ОКСТУ 9209

Дата введения 01.01.94

Настоящий стандарт распространяется на предназначенные для реализации и промышленной переработки:

мясо птицы в виде потрошеных, полупотрошеных и потрошеных с комплектом потрохов и шеей тушек, частей, полученных при их разделке, а также обваленное и измельченное;

субпродукты и полуфабрикаты птичьи.

Стандарт устанавливает метод выявления сальмонелл.

Метод основан на высеве определенного количества продукта или смывов с его поверхности на жидкие неселективные и селективные питательные среды с выделением чистых культур на диагностических средах с морфологическими и культуральными признаками сальмонелл; в проверке биохимических свойств выделенных культур; в проверке их серологических реакций.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ И ПОДГОТОВКА К ИССЛЕДОВАНИЯМ — по ГОСТ Р 50396.0

2. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Для выращивания бактериальных культур навеску продукта не менее 25 г или смыва не менее 25 см^3 высевают в пептонно-буферную воду, приготовленную по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.11 в соотношении 1 : 5. Посевы инкубируют при (37±1)°С в течение 16—24 ч. Затем 10 см^3 культуры из пептонно-буферной воды пересевают в 90 см^3 одной из сред обогащения (Мюллера, Кауфмана, селенитовую, селенит-цистиновую, магниевую) по ГОСТ Р 50396.0

Издание официальное

© Издательство стандартов, 1993

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен без разрешения Госстандарта России

пп. 2.4.12—2.4.16. Посевы инкубируют при (37±1)°С в течение 24—48 ч.

Через 24 и 48 ч со второй среды обогащения пересевают на две любые дифференциальные среды — Эндо, Левина, висмут-сульфитный агар и другие — по выбору см. (ГОСТ Р 50396.0 пп. 2.4.10; 2.4.17; 2.4.18). Посевы на всех средах, кроме висмут-сульфитного агара инкубируют в течение 18—24 ч, а на висмут-сульфитном агаре при отсутствии роста подозрительных колоний инкубируют (48±1) ч при (37±1)°С.

Сальмонеллы на средах Эндо и Плоскирева растут в виде бесцветных колоний, на среде Левина — голубоватых, на висмут-сульфитном агаре — обычно в виде черных колоний с металлическим блеском с окраской среды под колониями в черный цвет. *S. typhi* и некоторые другие на висмут-сульфитном агаре растут в виде бесцветных или светло-зеленых колоний без окраски среды под колониями. На агаре с бриллиантовым зеленым и феноловым красным типичные сальмонеллы имеют розовую окраску.

При отсутствии подозрительных колоний на дифференциальных средах работу с посевами прекращают. Подозрительные колонии используют в дальнейших исследованиях.

2.2. Биохимические свойства культуры определяют путем исследования не менее пяти подозрительных колоний, выросших на дифференциальной среде. Определяют расщепление сахаров, мочевины, образование индола, сероводорода, ацетил-метил-карбинола (реакция Фогес-Проскауэра), утилизацию цитрата, расщепление аминокислот.

2.2.1. Для выявления расщепления сахаров используют либо среды Гисс по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.19, либо одну из комбинированных сред (Клиглера, Ресселя, агар тройной сахарный по ГОСТ Р 50396,0, пп. 2.4.20—2.4.22).

Для посевов в среды Гисса часть каждой из пяти отобранных подозрительных колоний снимают бактериологической петлей, размешивают в 0,5—1 $см^3$ стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь засевают в среды Гисса, инкубируют при (37±1)°С в течение 12—18 ч, после чего посевы просматривают. При образовании кислоты меняется цвет среды.

Посев на одну из комбинированных сред проводят штрихом на скошенную часть и уколом в столбик. Посевы инкубируют при (37±1)°С, учет проводят через (24±1) ч.

При ферментации лактозы, сахарозы в скошенной части столбика комбинированных сред происходит пожелтение. Покраснение или пожелтение самого столбика указывает на расщепление глюкозы.

Сальмонеллы не разлагают лактозу и сахарозу, расщепляют глюкозу с образованием кислоты и газа, а маннит — с образованием кислоты.

2.2.2. Для выявления расщепления мочевины используют одну из сред: агар тройной сахарный или скошенный агар с мочевиной по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.24.

Восстановление изменившегося цвета среды агара тройного сахарного при расщеплении глюкозы (см. п. 2.2.1) с красного или желтого цвета до бледно-розового свидетельствует о расщеплении мочевины.

Посевы на поверхность скошенного агара с мочевиной инкубируют при температуре (37±1)°С в течение (24±1) ч. Окрашивание среды в красный цвет происходит при расщеплении мочевины. Отсутствие изменения окраски — отрицательная реакция.

Сальмонеллы мочевину не расщепляют.

2.2.3. Для выявления образования индола проводят посев в одну из питательных сред: 1%-ную пептонную воду по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.3.2 или в триптон-триптофановую среду по ГОСТ 28560. Посевы инкубируют при (37±1)°С в течение (24±1) ч.

В пробирки с суточной культурой в пептонной воде по стенке добавляют 5—10 капель одного из реактивов: Эрлиха или Ковача по ГОСТ 28560. В первом случае при наличии индола не позднее чем через 5 мин в пограничном слое образуется ярко-красное кольцо, при отсутствии — кольцо остается светло-желтого цвета. Во втором случае после взбалтывания результаты учитывают через 10 мин: реактив поднимается на поверхность среды и при наличии индола окрашивается в темно-красный цвет.

В пробирку с суточной культурой в триптон-триптофановой среде добавляют 1 см³ реактива Эрлиха или Ковача. Темно-красное кольцо — реакция положительная; коричнево-желтое кольцо — реакция отрицательная.

Сальмонеллы индола не образуют.

2.2.4. Для выявления образования сероводорода используют одну из питательных сред: агар тройной сахарный, или среду Клиглера, или 1%-ную пептонную воду. Посевы инкубируют при (37±1)°С в течение 24—72 ч.

При посеве культуры в одну из комбинированных сред об образовании сероводорода судят по почернению среды в столбике.

При посеве культуры в 1%-ную пептонную воду в пробирку под пробку помещают полоску фультровальной бумаги, предварительно смоченную уксуснокислым свинцом и высушенную по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.3.21. Полоска не должна соприкасаться с питательной средой. При выделении культурой сероводорода через 24—72 ч инкубирования бумажка с уксуснокислым свинцом чернеет.

Сальмонеллы выделяют сероводород.

2.2.5. Для выявления утилизации цитрата культуру высевают на скошенный столбик агара Симмонса по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.23, инкубируют при (37±1)°С в течение (24±1) ч. Окра-

шивание среды в синий цвет — положительная реакция, отсутствие изменений — отрицательная реакция.

Сальмонеллы, за небольшим исключением, дают положительную реакцию.

2.2.6. Для выявления способности культуры к образованию ацетил-метил-карбинола (реакция Фогес-Проскауэра) засевают ее в среду по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.25. Посевы инкубируют при (37±1)°С в течение (24±3) ч, после чего переносят 1 см^3 посева в пустую пробирку, добавляют 0,2 см^3 раствора гидроокиси калия по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.3.19 и 0,6 см^3 раствора α-нафтола по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.3.18 и несколько кристаллов креатина. Пробирки тщательно встряхивают и оставляют на 1 ч при комнатной температуре. При наличии ацетил-метил-карбинола среда окрашивается в розовый цвет. При отрицательной реакции остаток среды инкубируют еще 24 ч и тест повторяют.

Сальмонеллы имеют отрицательную реакцию Фогес-Проскауэра.

2.2.7. Для определения расщепления аминокислот культуру высевают методом укола в пробирку со столбиком агаризованной среды с одной из аминокислот по ГОСТ Р 50396.0 пп. 2.4.27, 2.4.28, инкубируют при температуре (37±1)°С в течение (24±3) ч.

При декарбоксилировании лизина появляется темно-красная окраска. При отрицательной реакции окраска желтая. Сальмонеллы декарбоксилируют лизин.

Для теста расщепления фенилаланина культуру высевают на поверхность скошенного агара, инкубируют при температуре (37±1)°С в течение (24±1) ч, затем на поверхность среды наносят 3—4 капли хлорного железа. Появление зеленой окраски среды — положительная реакция, цвет среды не изменяется — отрицательная реакция. Сальмонеллы дают отрицательную реакцию.

2.3. Для выявления подвижности культуру высевают методом укола в пробирку со столбиком полужидкого агара по ГОСТ Р 50396.0 п. 2.4.29. Посевы инкубируют при температуре (37±1)°С в течение (24±1) ч.

О наличии подвижности свидетельствуют диффузный рост вокруг линии укола и помутнение столбика агара.

2.4. Серологические реакции проводят с суточной культурой, выросшей на агаризованной среде по ГОСТ Р 50396.0 пп. 2.4.1; 2.4.4.

Определяют чистые колонии на способность самоагглютинации и на присутствие О, Vi, Н — антигенов сальмонелл.

При этом на предметное стекло помещают каплю физиологического раствора, а рядом каплю одной из антисальмонеллезных сывороток (поливалентную О-сыворотку, отдельных О-групп и другие).

Растирают в капле некоторое количество исследуемой культуры до получения однородной мутной суспензии. Покачивают стекло в течение 30—60 с, затем помещают его на темный фон и рассматривают. При агглютинации образуются хлопья. комочки.

Штаммы считаются самоагглютинирующими при образовании хлопьев, комочков в капле физиологического раствора, и они серологическому подтверждению не подлежат.

При получении положительной реакции с поливалентной О-сывороткой культуру испытывают с сыворотками к антигенам отдельных О-групп, входящими в поливалентные сыворотки.

Для выявления Vi-антигена исследуемую культуру испытывают с моновалентной Vi-сывороткой; Н-антигенов — с моновалентными Н-сыворотками.

Для выявления Н-антигена в реакции агглютинации следует использовать культуру с нижней, более влажной части скошенного агара, в которой лучше развит Н-антиген.

Положительная реакция — агглютинация бактерий, отрицательная реакция — отсутствие агглютинации. Сальмонеллы дают положительную реакцию.

На основании серологических исследований подтверждают или исключают принадлежность выделенной культуры к роду сальмонелл.

3 ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Результаты исследований оценивают по каждой пробе в отдельности.

3.2. К бактериям рода сальмонелл относят те культуры, которые дали типичные биохимические и серологические реакции.

3.3. Результаты исследований записывают следующим образом: сальмонеллы обнаружены или не обнаружены в 25 г продукта или в смыве с продукта с указанием исследуемой площади в квадратных сантиметрах.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Научно-производственным объединением птицеперерабатывающей промышленности «Комплекс», Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

   РАЗРАБОТЧИКИ:

   А. А. Гусев, д-р вет. наук (руководитель темы); **Г. Г. Чернова**, канд. биол. наук; **М. М. Павликова, Г. А. Степанова**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Госстандарта России от 18.11.92 № 1496

3. **Срок проверки — 1997 г.; периодичность проверки — 5 лет**

4. **ВЗАМЕН ГОСТ 7702.2—74 в части метода выявления сальмонелл**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 28560—90	2.2.3
ГОСТ Р 50396.0—92	1, 2.1; 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3; 2.2.4; 2.2.5, 2.2.6; 2.2.7; 2.3; 2.4

Редактор *Т. И. Василенко*
Технический редактор *В. Н. Прусакова*
Корректор *Е. И. Морозова*

Сдано в наб 07.12.92 Подп в печ 16.02.93 Усл печ. л. 0.5 Усл кр.-отт 0,5 Уч.-изд л 0,40. Тир 1107 экз.

...четах» Издательство стандартов 107076 Москва Колодезный пер., 14. ...ний «Московский печатник» Москва, Лялин пер., 6 Зак 1722

gost.e-ecolog.ru