

**МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И
ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ**

Метод ускоренного обнаружения сальмонелл

**МЯСА ПТУШКИ, СУБПРОДУКТЫ I
ПАУФАБРИКАТЫ ПТУШЫНЫЯ**

Метод паскоранага выяўлення сальманел

Издание официальное

БЗ 6-2008



Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 РАЗРАБОТАН государственным учреждением «Белорусский государственный ветеринарный центр» (ГУ «Белгосветцентр»)

ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 28 июня 2008 г. № 36

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

Издан на русском языке

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Отбор проб	2
4 Сущность метода	2
5 Аппаратура, материалы, реактивы	2
6 Порядок подготовки к исследованиям	3
7 Порядок проведения исследований	3
8 Требования	4
Библиография	5

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ**
Метод ускоренного обнаружения сальмонелл**МЯСА ПТУШКІ, СУБПРАДУКТЫ І ПАЎФАБРЫКАТЫ ПТУШЫНЫЯ**
Метад паскоранага выяўлення сальманел**Poultry meat, by-products and semi-finished products**
Method of the accelerated salmonellae detection

Дата введения 2008-09-01

1 Область применения

Стандарт распространяется на мясо птицы, птичьих субпродукты и полуфабрикаты и устанавливает метод ускоренного обнаружения сальмонелл с использованием автоматического бактериологического анализатора «VITEK-2 Compact» (далее – прибор).

Прибор определяет возбудителей инфекционных заболеваний по времени.

Считывание результатов прибором:

– грамотрицательные микроорганизмы – 2 – 10 ч;

– грамположительные микроорганизмы – 2 – 8 ч.

Спектр идентификации грамотрицательных аэробов, факультативных анаэробов – 160 видов, включая *Salmonella*, *E. coli*-157, *Campylobacter* и т. д.

Спектр идентификации грамположительных аэробов и анаэробов – 140 видов, включая *Listeria*, *Coryne Bacterium* и т. д.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

СТБ 1334-2003 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

СТБ 1499-2004 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4159-79 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4232-74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 5556-81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6672-75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 7702.2.0-95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьих. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284-75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412-93 Марля медицинская. Общие технические условия

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

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13739-78 Масло иммерсионное для микроскопии. Технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 13805-76 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 17206-96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 20730-75 Питательные среды. Бульон мясо-пептонный (для ветеринарных целей). Технические условия

ГОСТ 21239-2005 Инструменты хирургические. Ножницы. Общие технические требования и методы испытаний

СТБ 1891-2008

ГОСТ 21240-2005 Скальпели и ножи медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 21241-89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25051.2-82 Система государственных испытаний продукции. Камеры тепла и холода испытательные. Методы аттестации

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные.

Часть 1. Общие требования

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА) по каталогу, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Отбор проб

Методы отбора проб и подготовка к исследованиям – по ГОСТ 7702.2.0.

4 Сущность метода

Метод ускоренного обнаружения сальмонелл заключается в выявлении сальмонелл по 64 биохимическим свойствам в агаризованных культурах в течение 2 – 10 ч методом колориметрии без выделения чистой культуры.

5 Аппаратура, материалы, реактивы

Прибор «VITEK-2 Compact»:

– диспенсер-дозатор;

– набор пробирок;

– карты для идентификации грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов;

– кассеты;

– стандартный солевой раствор производства фирмы Biomeérieux (Франция).

Микроскоп световой биологический типов I, III по ГОСТ 6672.

Весы лабораторные 2-го класса точности по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г, допускаемой погрешностью 20 мг и ценой деления 10 мг.

Термостат с диапазоном рабочих температур от 37 °С до 43 °С с допускаемой погрешностью ± 1 °С по [1].

Холодильник электрический бытовой по СТБ 1499.

РН-метр по ГОСТ 25051.2.

Автоклав ВК-75 для стерилизации питательных сред, растворов по ГОСТ 25051.2; параметры первого режима стерилизации: рабочее давление – $(0,2 \pm 0,02)$ МПа, температура – (132 ± 2) °С, время стерилизационной выдержки – не менее 20 мин; параметры второго режима стерилизации: рабочее давление – $(0,11 \pm 0,02)$ МПа, температура – (120 ± 2) °С, время стерилизационной выдержки – не менее 45 мин.

Баня водяная с терморегулятором по ГОСТ 25051.2 с диапазоном измерения температур от 20° до 100 °С с погрешностью измерения ± 1 °С.

Шкаф сушильный лабораторный по ГОСТ 25051.2.

Бактериологический гомогенизатор или аппарат для измельчения тканей с частотой 8000 – 45000 об/мин.

Газовая орелка или спиртовка.

Дистиллятор-деминерализатор для воды с продолжительностью цикла регенерации не более 2,5 ч, номинальной производительностью 5 – 2,8 м³/ч.

Плитка электрическая по ГОСТ 25336.

Колбы стеклянные лабораторные по ГОСТ 1770.
Стаканы по ГОСТ 25336.
Воронки стеклянные по ГОСТ 25336.
Кюветы эмалированные по ГОСТ 25336.
Палочки стеклянные по ГОСТ 25336.
Стекля предментные по ГОСТ 9284.
Стекла покровные по ГОСТ 6672.
Пробирики стеклянные бактериологические по ГОСТ 1770.
Пинцет медицинский по ГОСТ 21241.
Скальпель медицинский по ГОСТ 21240.
Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.
Марля медицинская по ГОСТ 9412.
Пипетки разной вместимости по ГОСТ 29227.
Ступки фарфоровые с пестиком по ГОСТ 9147.
Песочные часы на 1, 2, 5 мин по ТНПА.
Флаконы вместимостью 100 – 200 см³ по ГОСТ 25336.
Чашки Петри бактериологические по ГОСТ 25336.
Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.
Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.
Спирт этиловый ректифицированный по СТБ 1334.
Масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739.

Питательные среды:

- пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805 с содержанием основного вещества 0,2 – 0,5;
- селенитовая среда по ГОСТ 7702.2.0;
- среда Мюллер-Кауфман по ГОСТ 10444.1;
- агар висмут-сульфит сухой по ГОСТ 10444.1;
- агар Эндо бактериологический сухой по ГОСТ 7702.2.0;
- агар Плоскирева бактериологический сухой по ГОСТ 7702.2.0;
- агар мясо-пептонный сухой по ГОСТ 7702.2.0;
- бульон мясо-пептонный по ГОСТ 7702.2.0.

Йод по ГОСТ 4159, х. ч.

Калий йодистый по ГОСТ 4232.

Основной фуксин для микробиологических целей по ТНПА.

Генцианвиолет по ТНПА.

Раствор Люголя по ГОСТ 10444.

Допускается применение других средств измерений аналогичного назначения с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками, а также реактивов и материалов, не уступающих указанным по качеству.

6 Порядок подготовки к исследованиям

Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов, питательных сред, применяемых в микробиологических исследованиях, – по ГОСТ 10444.1.

7 Порядок проведения исследований

7.1 Навеску продукта не менее 25 г или смыва с тушки птицы не менее 25 см³ высевают в пептонно-буферную воду, приготовленную по ГОСТ 7702.2.0 (пункт 2.4.11), в соотношении 1:5. Затем помещают в термостат и инкубируют 16 ч при температуре (37 ± 1) °С – первичное обогащение посевного материала.

7.2 Затем берут 10 см³ культуры из пептонно-буферной воды, пересевают в 90 см³ селенитовой и магниевой сред и инкубируют 18 ч при температуре (37 ± 1) °С – вторичное обогащение посевного материала.

7.3 Через 18 ч из селенитовой и магниевой сред проводят высев в чашки Петри с плотными дифференциально-диагностическими средами: агар висмут-сульфит, агар Плоскирева, агар Эндо. Для изолированных колоний высев проводят бактериологической петлей с истончающим штрихом.

Посевы в чашках Петри с агарами Плоскирева, Эндо термостатируют 18 ч, а с агаром висмут-сульфит – 36 ч при температуре (37 ± 1) °С.

7.4 Все пересевы на плотных средах после термостатирования изучают, проводят микроскопию и отбирают отдельные колонии, которые помещают в специальный солевой раствор производства фирмы Biomeieux объемом 5 см³, хорошо перемешивают, получают бактериальную суспензию.

7.5 Бактериальную суспензию доводят до оптимальной плотности по шкале МакФарленда. Оптическая плотность для грамотрицательных микроорганизмов составляет 0,5 – 0,63 McF.

7.6 Приготовленную бактериальную суспензию в объеме 3 мл переносят на карты идентификации для грамотрицательных бактерий, которые предварительно распаковывают, не касаясь руками поверхности с ячейками и заправочной трубочки.

7.7 Карты переносят в пронумерованные загрузочные кассеты.

7.8 Кассеты помещают в загрузочный барабан, и прибор проводит дальнейшие исследования образца автоматически.

7.9 Согласно руководству по эксплуатации прибора тестирование образца бактериальных культур на сальмонеллы продолжается в течение 2 – 10 ч. Процесс исследования проходит в автоматическом режиме.

7.10 На бумажном носителе выдается результат исследований, в котором указывается вид возбудителя и его полное название, дается раскладка биохимических свойств по 64 тестам в виде таблицы, указываются дата исследования, номер экспертизы, адрес заказчика.

8 Требования

8.1 К работе с прибором допускаются ветеринарные врачи, прошедшие обучение и получившие документы о соответствующей специализации.

8.2 Прибор включают за 20 мин до начала загрузки исследуемых образцов.

8.3 Диспенсер-дозатор автоклавируют один раз в неделю.

8.4 Прибор должен находиться в отдельном помещении.

8.5 Запрещается:

- смешивать эмульсии разных образцов;
- замораживать реактивы;
- использовать тест-наборы с истекшим сроком годности;
- использовать поврежденные стрип-карты.

8.6 Диагностикумы (тесты) на грамположительную и грамотрицательную микрофлору следует использовать по назначению.

8.7 Следует обращаться с образцами как с потенциально инфекционным материалом.

8.8 Прибор необходимо чистить согласно руководству по эксплуатации.

8.9 Прибор позволяет производить идентификацию, а также определение чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, находящихся в исследуемом образце.

Библиография

- [1] Технические условия Республики Беларусь
ТУ РБ 100644799.002-2001 Хладотермостаты воздушные ХТ-3/40-2, ХТ-3/70-1, ХТ-3/70-2

Ответственный за выпуск *В.Л. Гуревич*

Сдано в набор 07.07.2008. Подписано в печать 09.07.2008. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 0,7 Уч.-изд. л. 0,31 Тираж экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение
НП РУП «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
Лицензия № 02330/0133084 от 30.04.2004.
220113, г. Минск, ул. Мележа, 3.