

ГОСТ 9958—81

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ИЗДЕЛИЯ КОЛБАСНЫЕ И ПРОДУКТЫ ИЗ МЯСА

МЕТОДЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Издание официальное

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва



ГОСТ 9958-81, Колбасные изделия и продукты из мяса. Методы бактериологического анализа
Sausage products and meat products. Methods of bacteriological analysis

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ*

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Министерством мясной и молочной промышленности СССР
 2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 31.12.81 № 5965
 3. ВЗАМЕН ГОСТ 9958—74
 4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 171—81	2.1	ГОСТ 8253—79	2.1
ГОСТ 195—77	2.1	ГОСТ 9147—80	2.1
ГОСТ 245—76	2.1	ГОСТ 9284—75	2.1
ГОСТ 975—88	2.1	ГОСТ 9412—93	2.1
ГОСТ 1770—74	2.1	ГОСТ 9569—79	2.1
ГОСТ 2493—75	2.1	ГОСТ 11109—90	2.1
ГОСТ 3164—78	2.1	ГОСТ 11773—76	2.1
ГОСТ 4025—95	2.1	ГОСТ 12026—76	2.1
ГОСТ 4148—78	2.1	ГОСТ 13739—78	2.1
ГОСТ 4159—79	2.1	ГОСТ 13805—76	2.1
ГОСТ 4198—75	2.1	ГОСТ 14261—77	2.1
ГОСТ 4201—79	2.1	ГОСТ 16317—87	2.1
ГОСТ 4208—72	2.1	ГОСТ 17206—96	2.1
ГОСТ 4209—77	2.1	ГОСТ 18300—87	2.1
ГОСТ 4232—74	2.1	ГОСТ 20015—88	2.1
ГОСТ 4233—77	2.1	ГОСТ 20729—75	2.1
ГОСТ 4328—77	2.1	ГОСТ 20730—75	2.1
ГОСТ 4523—77	2.1	ГОСТ 21237—75	2.1
ГОСТ 4530—76	2.1	ГОСТ 21239—93	2.1
ГОСТ 5556—81	2.1	ГОСТ 21240—89	2.1
ГОСТ 5833—75	2.1	ГОСТ 21241—89	2.1
ГОСТ 5962—67	2.1	ГОСТ 24104—88	2.1
ГОСТ 6259—75	2.1	ГОСТ 25336—82	2.1
ГОСТ 6672—75	2.1	ГОСТ 27068—86	2.1
ГОСТ 6709—72	2.1	ГОСТ 28498—90	2.1
ГОСТ 6691—77	2.1	ГОСТ 29169—91	2.1
ГОСТ 7031—75	2.1	ТУ 27—31—2939—80	2.1

5. Ограничение срока действия снято по протоколу № 3—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)
 6. ИЗДАНИЕ (февраль 2002 г.) с Изменениями № 1, 2, утвержденными в августе 1982 г., в декабре 1987 г. (ИУС 12—83, 4—88)

Периздание (по состоянию на июль 2008 г.)

* См. примечание ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 14).

ИЗДЕЛИЯ КОЛБАСНЫЕ
И ПРОДУКТЫ ИЗ МЯСА

Методы бактериологического анализа

ГОСТ
9958—81Sausage products and meat products.
Methods of bacteriological analysis

ОКСТУ 9209*

Дата введения 01.01.83

Настоящий стандарт распространяется на колбасные изделия (фаршированные, вареные, полукопченые, варено-копченые, сырокопченые, ливерные и кровяные колбасы, мясные хлебы, сосиски, сардельки, паштеты, зельцы, студни), продукты из мяса (из свинины, говядины, баранины, из мяса других видов убойного скота и птицы) и устанавливает методы бактериологического анализа:

- определения общего количества микробов;
- определения бактерий группы кишечной палочки;
- определения бактерий из рода сальмонелл;
- определения бактерий группы протей;
- определения коагулазоположительных стафилококков;
- определения сульфитвосстанавливающих клостридий.

1. ОТБОР ПРОБ

- 1.1. Отбор точечных проб для бактериологического анализа проводят по ГОСТ 9792.
- 1.2. Пробы хранят при температуре 6—8 °С. Анализ проводят не позднее, чем через 4 ч с момента отбора проб.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения бактериологического анализа применяют следующие аппаратуру, материалы и реактивы:

- автоклав вертикальный по ТУ 27—31—2939;
- аппарат Коха;
- весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104*;
- гомогенизатор бактериологический, смеситель или аппарат для измельчения тканей;
- микроскоп марок МБИ и МБР или других аналогичных марок;
- мясорубку бытовую по ГОСТ 4025;
- потенциометр;
- термостат электрический с автоматическим терморегулятором;
- термостат или водяную баню с терморегулятором;
- холодильник электрический бытовой по ГОСТ 16317;
- шкаф сушильный лабораторный;
- бумагу парафинированную по ГОСТ 9569;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

Издание официальное

★

Перепечатка воспрещена

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 14).

© Издательство стандартов, 1982
© ИПК Издательство стандартов, 2002
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008

С. 2 ГОСТ 9958—81

вату медицинскую гигроскопическую по ГОСТ 5556;
воронки В-36—80 ХС, ВФ-1—75 ХС по ГОСТ 25336;
лупы с увеличением 3^х и 5^х ;
марлю медицинскую по ГОСТ 9412;
марлю бытовую по ГОСТ 11109;
ножницы медицинские по ГОСТ 21239;
петлю бактериологическую;
палочки стеклянные;
пинцеты медицинские по ГОСТ 21241;
пипетки Мора вместимостью 25 и 50 см³;
термометры стеклянные технические по ГОСТ 28498;
пипетки пастеровские;
пипетки 7—1—1; 7—1—2; 7—1—5; 7—1—10; 8—2—0,1 по ГОСТ 29169;
пробирки П2—10—90 ХС; П3—5 ХС по ГОСТ 25336;
скальпель медицинский по ГОСТ 21240;
стаканы В-1—250 ТС; Н-2—100 ТХС по ГОСТ 25336;
колбы К-2—250—34 ТХС; П-2—250—34 ТХС по ГОСТ 25336;
спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336;
стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;
ступки фарфоровые с пестиком по ГОСТ 9147;
флаконы Сокслета;
цилиндры 2—100; 4—100; 4—25 по ГОСТ 1770;
колбы мерные 2—100—2; 2—250—2; 2—1000—2 по ГОСТ 1770;
часы песочные на 1, 2, 5 мин;
чашка ЧБН-1—40 по ГОСТ 25336;
штативы для пробирок;
агар микробиологический по ГОСТ 17206;
агар Эндо, сухой;
белок яичный;
бриллиантовый зеленый;
воду бромную;
бромкрезолпурпур;
бульон мясо-пептонный по ГОСТ 20730;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
воду мясную по ГОСТ 20729;
генциан-виолет;
гидролизат рыбный сухой;
глюкозу кристаллическую по ГОСТ 975, х. ч.;
глицерин по ГОСТ 6259, х. ч.;
дрожжи хлебопекарные прессованные по ГОСТ 171;
диализат дрожжевой;
железо сернокислое по ГОСТ 4148;
железо хлористое;
желчь крупного рогатого скота;
йод по ГОСТ 4159;
калий йодистый по ГОСТ 4232;
калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198, ч. д. а.;
калий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 2493, ч. д. а.
кальций углекислый по ГОСТ 4530;
кислоту розоловую;
кислоту соляную по ГОСТ 14261, ос. ч., плотностью 1,19 г/см³;
кристалл-виолет;
лактозу, х. ч.;
маннит, х. ч.;
магний сернокислый по ГОСТ 4523;
магний хлористый по ГОСТ 4209, х. ч.;

масло вазелиновое медицинское по ГОСТ 3164;
 масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739;
 метиленовый голубой;
 мел химический осажденный по ГОСТ 8253;
 мочевину по ГОСТ 6691, х. ч.;
 набор адсорбированных поливалентных сывороток и монорецепторных агглютинирующих О и Н сальмонеллезных сывороток;
 натрий двууглекислый по ГОСТ 4201;
 натрия гидроокись по ГОСТ 4328;
 натрий кислый селенистокислый (без теллура);
 натрий сернистокислый безводный по ГОСТ 195;
 натрий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 245, ч. д. а.;
 натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный по ГОСТ 11773, ч. д. а.;
 натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.;
 панкреатин;
 парадиметиламидобензальдегид;
 пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805;
 песок кварцевый для тонкой керамики по ГОСТ 7031;
 плазму цитратную сухую (кроличью);
 сахарозу по ГОСТ 5833, х. ч.;
 соль закиси железа и аммония двойную сернистую (соль Мора) по ГОСТ 4208;
 спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300;
 спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962*;
 среду Вильсон-Блера (сухую);
 среду КОДА, сухую питательную;
 среду Левина сухую;
 среду Плоскирева сухую;
 среду кито-пентоно-дрожжевую, сухую (среду КПД);
 среды сухие с углеводами и индикатором «ВР» (среды Гисса);
 натрий серноватистокислый по ГОСТ 27068, х. ч.;
 фуксин (основной и кислый) для микробиологических целей;
 хинозол;
 хлороформ по ГОСТ 20015;
 Д-циклосерин.
(Измененная редакция, Изм. № 2).

3. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- 3.1. Окраску препаратов по Граму проводят по ГОСТ 21237.
- 3.2. Приготовление физиологического раствора
 8,5 г хлористого натрия растворяют в 1 дм³ водопроводной воды. Раствор стерилизуют при давлении 10⁵ Па в течение 20 мин.
- 3.3. Приготовление пептонной воды
 В 1 дм³ дистиллированной воды добавляют 10 г пептона и 5 г хлористого натрия. Жидкость подогревают до растворения пептона, фильтруют, устанавливают рН 7,2—7,4 и стерилизуют при давлении 10⁵ Па в течение 20 мин.
- 3.4. Приготовление мясо-пептонного агара (МПА)
 В 1 дм³ мясо-пептонного бульона добавляют 20 г агара-агара и кипятят при слабом нагревании, постоянно помешивая до полного растворения агара. Устанавливают рН среды 7,0—7,2.
 Охлаждают до температуры 50—55 °С и осветляют яичным белком (из расчета белок одного яйца на 1 дм³ мясо-пептонного агара). Помещают агар в автоклав (не завинчивая крышку) или в аппарат Коха на 1 ч, чтобы белок свернулся и, оседая, улек за собой взвешенные частицы. Горячий раствор фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Разливают во флаконы и пробирки и стерилизуют в автоклаве в течение 20 мин при давлении 10⁵ Па.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

С. 4 ГОСТ 9958—81

3.5. Питательная среда может быть приготовлена из сухого питательного агара.

3.6. Приготовление голодного агара

2 г агара-агара растворяют в 100 см³ водопроводной воды. Раствор стерилизуют при давлении 10⁵ Па в течение 20 мин.

3.7. Приготовление бульона Хоттингера

В 1 дм³ кипящей водопроводной воды опускают на 20 мин 1 кг мяса, освобожденного от костей, жира и сухожилий, нарезанного мелкими кусочками. Затем мясо вынимают, измельчают на мясорубке, снова кладут в тот же отвар. Добавляют 40 г измельченной поджелудочной железы, очищенной от жира и дважды пропущенной через мясорубку (вместо поджелудочной железы можно брать 5 г панкреатина), доливают 20 см³ хлороформа. Бутыль плотно закрывают пробкой и энергично встряхивают (пробку надо придерживать). Смесь оставляют для переваривания в термостате при 45 °С до 20 сут. Мясо в виде мелкозернистой массы оседает на дно бутыли. Жидкость над мясом должна быть прозрачной. Эту жидкость сливают и стерилизуют при 10⁵ Па в течение 20 мин. Готовый раствор дает положительную реакцию на триптофан с бромной водой.

3.7.1. Приготовление бромной воды

3—3,5 см³ чистого брома растворяют в 100 см³ дистиллированной (стерильной) воды.

3.8. Приготовление мясо-пептонного бульона (МПБ) на основе бульона Хоттингера

Основной раствор Хоттингера разводят в 5—10 раз (до соломенного цвета). На 1 дм³ разведенного бульона берут 10 г пептона и 5 г хлористого натрия. Затем устанавливают рН 7,3—7,4, кипятят 20 мин и фильтруют.

Режим стерилизации 20 мин при давлении 10⁵ Па.

3.9. Приготовление среды Эндо

В 100 см³ расплавленного мясо-пептонного агара добавляют 1 г лактозы, растворенной в 5 см³ водопроводной воды, прокипяченной в течение 5 мин. МПА охлаждают до температуры 60—70 °С и к нему добавляют смесь растворов основного фуксина и сернистокислого натрия. Для приготовления смеси 0,5 г сернистокислого натрия растворяют в 5 см³ стерильной воды, кипятят в течение 5 мин добавляют 1 см³ спиртового раствора 100 г/дм³ основного фуксина. После перемешивания среду разливают в чашки Петри. Среда Эндо в чашках должна иметь бледно-розовый цвет.

Среду Эндо готовят в день ее использования.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.10. Среда Эндо может быть приготовлена из сухой готовой среды.

3.11. Приготовление среды КОДА (сухая готовая) проводят согласно инструкции, утвержденной в установленном порядке.

3.12. Приготовление среды «ХБ (хинозол-бромкрезол-пурпурной)

3.12.1. Для приготовления бромкрезол-пурпура 0,8 г порошка заливают 50 см³ этилового ректифицированного спирта. Через день раствор готов к употреблению.

Раствором можно пользоваться в течение месяца со дня приготовления.

Для приготовления хинозола 0,1 г порошка растворяют в 100 см³ стерильной дистиллированной воды. При хранении свойства его не изменяются. Срок хранения не ограничен.

Краски хранить в темном месте при комнатной температуре.

3.12.2. Приготовление дрожжевого автолизата

В 600 см³ стерильной воды растворяют 1 г однозамещенного фосфорнокислого калия и 0,1 г сернистокислого магния, затем добавляют 100 г прессованных хлебных дрожжей и взбалтывают до получения суспензии. В колбу с суспензией наливают 8—10 см³ хлороформа, закрывают ватной пробкой и накрывают колпачком из парафинированной бумаги (для предотвращения испарения). Колбу помещают в термостат при температуре 45—47 °С на 10 сут. Затем ставят на водяную баню и кипятят в течение 20 мин, фильтруют и стерилизуют при давлении 5 · 10⁴ Па в течение 15 мин.

Дрожжевой автолизат хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение двух недель.

3.12.3. В 1 дм³ водопроводной воды растворяют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия и 5 г маннита, кипятят 15—20 мин, устанавливают рН 7,4—7,6, фильтруют через бумажный фильтр, вновь кипятят 10 мин и охлаждают до температуры 60 °С. Стерильно добавляют 30 см³ дрожжевого автолизата, 15 см³ желчи крупного рогатого скота, 10 см³ раствора хинозола (1:1000) и 10 см³ 1,6 %-ного спиртового раствора бромкрезол-пурпурного. Среду разливают в стерильные пробирки по 7—8 см³.

Цвет готовой среды — фиолетовый.

3.13. Приготовление среды Хейфеца

3.13.1. Для приготовления розоловой кислоты 0,5 г порошка заливают 10 см³ этилового ректифицированного спирта; через 24 ч раствор готов к употреблению. Раствором можно пользоваться в течение месяца со дня приготовления.

Для приготовления метиленового голубого 0,1 г порошка заливают 100 см³ дистиллированной воды. Через сутки раствор готов к употреблению. При хранении свойства его не изменяются, срок хранения не ограничен.

Краски хранить в темном месте при комнатной температуре.

3.13.2. В 1 дм³ водопроводной воды растворяют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия и 5 г маннита, устанавливают рН 7,4—7,6, нагревают до кипения, фильтруют, добавляют 1 см³ спиртового раствора 50 г/дм³ розоловой кислоты и 2,5 см³ раствора 1 г/дм³ метиленового голубого, стерилизуют однократно, нагревая 20 мин в аппарате Коха, или кипятят в колбе, закрытой ватной пробкой, в течение 5 мин.

Среду разливают по 7—9 см³ в стерильные пробирки размером 19×180 мм. Цвет среды в пробирках должен быть красно-фиолетовый.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.13.3. Среду Хейфеца двойной концентрации готовят аналогичным образом (п. 3.13.2), уменьшив количество водопроводной воды до объема 500 см³.

Среду разливают в пробирки по 10 см³.

3.14. Приготовление среды Кесслер (модифицированной)

В 1 дм³ дистиллированной воды помещают 10 г пептона, 50 см³ желчи, кипятят 30 мин, фильтруют через вату, добавляют 2,5 г лактозы и доводят объем дистиллированной водой до первоначального (1 дм³), добавляют 2 см³ водного раствора 10 г/дм³ цианвиолета. Среду разливают в пробирки с поплавками по 10 см³ и стерилизуют при давлении 5 · 10⁴ Па в течение 15 мин. Среда имеет фиолетовый цвет.

Допускается замена поплавков клочками стерильной ваты.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.15. Приготовление среды Мюллера

3.15.1. Приготовление раствора серноватистокислого натрия

В мерный цилиндр с 50 г тиосульфата натрия добавляют дистиллированную воду до метки 100 см³. Полученный раствор стерилизуют однократно в аппарате Коха 20 мин.

3.15.2. Приготовление раствора Люголя

В 100 см³ стерильной дистиллированной воды растворяют 25 г кристаллического йода и 20 г йодистого калия.

3.15.3. В стерильную колбу помещают 4,5 г х. ч. мела и стерилизуют сухим жаром при температуре 150 °С в течение 15 мин, наливают 90 см³ мясо-пептонного бульона (по п. 3.8), стерилизуют в течение 30 мин при давлении 10⁵ Па. В колбу с мясо-пептонным бульоном и мелом стерильно добавляют 2 см³ раствора Люголя и 10 см³ раствора серноватистокислого натрия, взбалтывают.

3.16. Приготовление среды Кауфмана

В 100 см³ стерильной среды Мюллера, приготовленной по п. 3.15, стерильно добавляют 1 см³ водного раствора 1 г/дм³ бриллиантовой зелени и 5 см³ стерильной желчи крупного рогатого скота. Смесь хорошо взбалтывают (не стерилизуют).

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.17. Приготовление среды Гисса

Для приготовления индикатора Андреде в 100 см³ дистиллированной воды растворяют 18,4 см³ 1 моль/дм³ раствора гидроокиси натрия и 0,3 г кислого фуксина. Раствор стерилизуют 5 мин при давлении 5 · 10⁴ Па и хранят в темноте.

В 100 см³ дистиллированной воды растворяют 1 г пептона и 0,5 г хлористого натрия при нагревании. Затем фильтруют до тех пор, пока раствор не станет совершенно прозрачным.

В фильтрате устанавливают рН 7,0, прибавляют 0,5 г углевода, а затем 1 см³ индикатора Андреде. Полученную смесь разливают в пробирки с поплавками по 5 см³ и стерилизуют 20 мин при давлении 5 · 10⁴ Па.

Среда должна быть бесцветной или соломенно-желтого цвета, без розового оттенка.

Допускается использовать готовые среды Гисса — сухой препарат с индикатором «ВР» и маннитом, лактозой, сахарозой, глюкозой.

3.18. Среду Плоскирева приготавливают из сухой готовой среды.

3.19. Среду Левина приготавливают из сухой готовой среды.

3.20. Среду висмут-сульфит-агар приготавливают из сухой готовой среды.

3.21. Приготовление хлористомагниевого среды «М» (модифицированной)

Среда состоит из трех растворов А, В и С.

3.21.1. Приготовление дрожжевого экстракта

В 2 дм³ дистиллированной воды растворяют 1 кг прессованных хлебопекарных дрожжей. Полученную суспензию стерилизуют 30 мин текучим паром, затем отстаивают в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 5—6 сут.

Жидкость над осадком декантируют, приливают 2,5 см³ 0,01 %-ного раствора кристалл-виолета, разливают во флаконы или пробирки и вновь стерилизуют при температуре 100 °С в течение 30 мин.

Экстракт хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение двух недель со дня приготовления.

3.21.2. Для приготовления раствора А в 90 см³ дистиллированной воды растворяют 0,42 г пептона, 0,7 г хлористого натрия, 0,15 г однозамещенного фосфорнокислого натрия, 2 см³ дрожжевого диализата. (При отсутствии дрожжевого диализата допускается заменять его дрожжевым экстрактом).

3.21.3. Для приготовления раствора В в 9 см³ дистиллированной воды растворяют 3,6 г кристаллического хлористого магния.

3.21.4. Раствор С состоит из 0,09 см³ водного раствора 50 г/дм³ бриллиантовой зелени.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

3.21.5. Для приготовления хлористомагниевого среды «М» (модифицированной) растворы А, В и С смешивают и стерилизуют 30 мин при давлении $5 \cdot 10^4$ Па.

3.22. Приготовление среды Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука

В 1 дм³ дистиллированной воды растворяют 1 г гипосульфита, 0,6 г соли Мора, 10 г мочевины, 15 г лактозы х. ч., 3,5 г сахарозы и 2 г глюкозы. Устанавливают рН среды до 7,4—7,6. Добавляют 46 г сухой среды с сахарозой и индикатором ВР. Все размешивают, кипятят в водяной бане в течение 40 мин. Разливают в пробирки по 5—6 см³. Среду, разлитую в пробирки, стерилизуют 20 мин при давлении $5 \cdot 10^4$ Па. После стерилизации среду скашивают так, чтобы в пробирке остался столбик высотой не менее 3 см.

3.23. Приготовление агара с бриллиантовым, зеленым и феноловым красным (БФА)

3.23.1. Для приготовления растворов красок:

0,5 г бриллиантового зеленого растворяют в 100 см³ дистиллированной воды;

0,4 фенолового красного, 16 см³ 0,1 моль/дм³ гидроокиси натрия — в 184 см³ дистиллированной воды.

Оба приготовленных раствора в плотно закрытых флаконах выдерживают в термостате при температуре 37 °С в течение суток. Небольшим нерастворившимся осадком можно пренебречь.

3.23.2. Для приготовления смеси красок в 200 см³ раствор фенолового красного добавляют 5 см³ бриллиантового зеленого. Смесь хранят в холодильнике. Срок хранения смеси не ограничен.

3.23.3. В 1 дм³ дистиллированной воды вносят 50 г сухого питательного агара, 10 г лактозы, 40 см³ 0,1 моль/дм³ соляной кислоты.

Смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 30 мин, затем в кипящей водяной бане не менее 1 ч, после чего на открытом огне (электроплитке) в течение 3—5 мин, фильтруют через вату (небольшой мутностью можно пренебречь).

Смесь разливают во флаконы, стерилизуют при давлении $5 \cdot 10^4$ Па в течение 30 мин и хранят в холодильнике до месяца со дня приготовления.

3.23.4. В 100 см³ среды с агаровой основой (п. 3.23.3), предварительно расплавленной и охлажденной до 45 °С, вносят 4,1 см³ смеси красок (п. 3.23.2). Среду разливают по чашкам Петри. Среда имеет цвет бутылочного стекла — зеленовато-желтый.

3.24. Приготовление молочно-солевого агара

3.24.1. Для приготовления солевого мясо-пептонного агара 65 г/дм³ в 1 дм³ расплавленного мясо-пептонного агара (пп. 3.4; 3.5) добавляют 65 г х. ч. хлористого натрия. Устанавливают рН—7,4. Стерилизуют в автоклаве в течение 20 мин при давлении 10^5 Па.

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

3.24.2. В 100 см³ расплавленного и охлажденного солевого агара до 45 °С (п. 3.24.1) добавляют 10 см³ стерильного обезжиренного молока, разливают по чашкам Петри. Среду хранят в холодильнике при температуре 4—9 °С в течение недели со дня приготовления.

3.25. Приготовление желточно-солевого агара (среды Чистов и ч)

3.25.1. Для приготовления желточного раствора в 200 см³ стерильного физиологического раствора добавляют стерильно один яичный желток и раствор взбалтывают. Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—9 °С в течение одной недели со дня приготовления.

3.25.2. В 150 см³ расплавленного и охлажденного до 45 °С солевого агара 65 г/дм³ (п. 3.24.1) стерильно добавляют 50 см³ желточного раствора, взбалтывают и разливают по чашкам Петри. Среду хранят в холодильнике при температуре 4—9 °С в течение недели со дня приготовления.

3.26. Приготовление цитратной плазмы

К 8 см³ свежей крови кролика добавляют стерильно 2 см³ лимоннокислого натрия 50 г/дм³ и отстаивают в холодильнике при температуре 4—9 °С в течение суток.

Допускается использовать готовую сухую цитратную плазму.

3.25.2; 3.26. (Измененная редакция, Изм. № 2).

3.27. Приготовление бульона Вайнберга

3.27.1. Приготовление мясной воды из сердца крупного рогатого скота

В 1 дм³ водопроводной воды добавляют 1 кг сердца крупного рогатого скота, пропущенного через мясорубку. Медленно нагревают до кипения, кипятят 20 мин, охлаждают, снимают жир, фильтруют через ватно-марлевый фильтр.

3.27.2. Приготовление пепсин-пептонной воды

В 4 дм³ водопроводной воды добавляют 400 г измельченной свежей печени крупного рогатого скота, 400 г измельченных свиных желудков, 40 г соляной кислоты (плотностью 1,19 г/см³), перемешивают, подогревают до 50 °С и оставляют при комнатной температуре на 18—24 ч. Затем кипятят в течение 10 мин, декантируют (осаждают), фильтруют, добавляют 8 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, устанавливают рН 7,4.

3.27.3. Смешивают 1 дм³ мясной воды из сердца крупного рогатого скота (п. 3.27.1) и 2 дм³ пепсин-пептонной воды (п. 3.27.2), устанавливают рН 7,8—8,2, разливают по колбам и стерилизуют 30 мин при давлении 10⁵ Па.

3.28. Приготовление сухой среды К П Д (кито-пептонно-дрожжевой)

В 1 дм³ теплой дистиллированной воды добавляют 65 г сухого порошка КПД. Устанавливают рН 7,8—8,0 и разливают в стерильную посуду с ватой. Стерилизуют 30 мин при давлении 5 · 10⁴ Па.

3.29. Приготовление циклосериновой среды (С Ц С)

В 1 дм³ питательной основы (бульон Хоттингера п. 3.7, бульон Вайнберга п. 3.27, сухая кито-пептонно-дрожжевая п. 3.28) добавляют последовательно 5 см³ раствора 100 г/дм³ сернистого железа, 10 см³ раствора 100 г/дм³ сульфита натрия (кристаллического) и 40 см³ раствора 10 г/дм³ Д-циклосерина. Все перечисленные компоненты готовят отдельно на стерильной дистиллированной воде. Не следует их смешивать вместе перед добавлением к основе, так как может образоваться осадок.

Среду хранят в холодильнике при температуре 4—9 °С не более недели со дня приготовления.

3.30. Приготовление среды Вильсон-Блера

Раствор хлористого железа готовят на стерильной дистиллированной воде; раствор сернистокислого натрия стерилизуют в течение 1 ч текучим паром.

К 100 см³ расплавленного и охлажденного до температуры 80 °С мясо-пептонного агара, приготовленного по п. 3.4 или 3.5, добавляют 1 г глюкозы (рН не ниже 7,2), 10 см³ раствора 200 г/дм³ сернистокислого натрия и 1 см³ раствора 80 г/дм³ хлористого железа. Смесь разливают в стерильные пробирки столбиком высотой по 10 см³.

3.29; 3.30. (Измененная редакция, Изм. № 2).

3.31. Приготовление мясной воды

1 кг мясного фарша, приготовленного из говядины высшего сорта, заливают 2 дм³ водопроводной воды и настаивают в холодильнике 24 ч; затем кипятят в течение 30 мин при постоянном помешивании и фильтруют через ватно-марлевый фильтр. К полученному фильтрату добавляют воду до первоначального уровня.

Режим стерилизации 20 мин при давлении 10⁵ Па.

3.32. Приготовление мясо-пептонного бульона (МПБ) из мясной воды

В 1 дм³ мясной воды добавляют 10 г пептона из 5 г хлористого натрия. Затем устанавливают рН 7,3—7,4, кипятят в течение 20 мин и фильтруют. Раствор стерилизуют 20 мин при давлении 10⁵ Па.

3.33. Подготовка проб

В зависимости от вида продукта объединенную пробу массой 50 г составляют из точечных проб следующим образом:

колбасные изделия в оболочке и продукты из свинины, баранины и говядины помещают в металлический или эмалированный тазик (тарелку), тщательно протирают ватным тампоном, смоченным спиртом, и дважды обжигают над пламенем (спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962).

Затем батоны разрезают продольно стерильным (фламбированным) ножом или скальпелем на две половинки, не рассекая оболочку противоположной стороны батона. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части и из-под оболочки обеих половинок батона;

из свиных, бараньих, говяжьих продуктов на костях и из бекона пробы вырезают стерильным инструментом из различных участков обожженного образца на глубине 2—3 см от поверхности, предпочтительно ближе к кости;

изделия без оболочки (мясные хлебы, паштеты, студни и другие изделия) исследуют с поверхности и в глубине продукта.

Для анализа поверхности изделий без оболочки, после разворачивания упаковки, с поверхности исследуемых образцов делают смыв (с каждого образца новым стерильным увлажненным ватным тампоном) с тех участков, с которыми могли соприкасаться руки упаковщика.

Тампоны помещают в пробирки, заполненные на $\frac{3}{4}$ их высоты средой «ХБ», Хейфеца или 5 см³ среды Кесслер.

Для анализа глубинных участков продукта образцы помещают в металлический или эмалированный тазик (тарелку), смачивают спиртом и обжигают. Затем делают продольный разрез и отбирают навеску методом, указанным для колбасных изделий и продуктов в оболочке, составляя из них одну объединенную пробу для каждого образца в отдельности, которую помещают в предварительно взвешенную стерильную бюксу или чашку Петри.

3.34. Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду (пергамент) навеску массой 20 г с погрешностью, не превышающей 0,1 г.

Навеску помещают в стерильную колбу (стакан) гомогенизатора для приготовления испытуемой взвеси. Для этого в колбу добавляют раствор 1 г/дм³ пептонной воды или стерильного физиологического раствора в четырехкратном количестве и гомогенизируют в электрическом смесителе; вначале измельчают материал на кусочки замедленной скоростью вращения ножей, затем при 15000—20000 об/мин в течение 2,5 мин.

Допускается при отсутствии гомогенизатора приготовление испытуемой взвеси в ступке путем растирания 20 г продукта в стерильной фарфоровой ступке с 2—3 г стерильного песка, постепенно приливая 80 см³ раствора 1 г/дм³ пептонной воды или стерильного физиологического раствора. При растирании проб вареных изделий мажущейся консистенции (ливерные, кровяные колбасы) стерильный песок можно не добавлять.

Для посевов на питательные среды стерильной градуированной пипеткой отбирают взвесь после 15 мин выдержки при комнатной температуре.

1 см³ приготовленной испытуемой взвеси содержит 0,2 г продукта.

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

4.1. Определение общего количества микробов в 1 г продукта

Метод не распространяется на сырокопченые колбасы.

4.1.1. Сущность метода заключается в способности мезофильных аэробов и факультативных анаэробов расти на питательном агаре при температуре (30 ± 0,5) °С с образованием колоний, видимых при увеличении 5 \times .

4.1.2. Проведение анализа

Питательный агар, приготовленный по пп. 3.4; 3.5, расплавляют на водяной бане и охлаждают до температуры 45 °С.

Стерильные чашки Петри раскладывают на столе, подписывают наименование анализируемого продукта, дату посева и количество посеянного продукта.

Из каждой пробы должно быть сделано не менее двух посевов, различных по объему, взятых с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. При этом на одну чашку Петри проводят посев 0,1 г, а на другую — 0,01 г продукта.

Для посева 0,1 г продукта готовят первое десятикратное разведение испытуемой взвеси: стерильной пипеткой с широким концом отбирают 5 см³ испытуемой взвеси (приготовленной по п. 3.33), переносят ее в пробирку с 5 см³ стерильного физиологического раствора или пептонной воды. Конец пипетки должен быть опущен ниже поверхности раствора, не прикасаясь к стенкам пробирки, чтобы избежать смывания бактерий с наружной стороны. 1 см³ полученного раствора содержит 0,1 г испытуемого продукта.

Другой стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки продуванием, отбирают 1 см³ и переносят в стерильную чашку Петри, слегка приоткрывая крышку.

Для посева 0,01 г продукта готовят следующее разведение: другой стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки, отбирают 1 см³ и переносят в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора. 1 см³ испытуемого раствора вторичного разведения содержит 0,01 г испытуемого продукта. 1 см³ этого раствора переносят в стерильную чашку Петри, как описано выше. При необходимости таким же образом готовят последующие разведения.

После внесения разведения анализируемой взвеси в чашки Петри чашку заливают 12—15 см³ расплавленного и охлажденного питательного агара при фламбировании краев пробирки или бутылки, где он содержится. Быстро смешивают с мясо-пептонным питательным агаром, осторожно наклоняя или вращая чашку по поверхности стола. Необходимо избегать образования пузырьков воздуха, незалитых участков дна чашки Петри, попадания среды на края и крышку чашки.

Для того, чтобы помешать развитию на поверхности агара спорообразующих микробов и бактерий группы протей в Н-форме, допускается наслоение расплавленного и охлажденного до температуры 45—50 °С голодного агара толщиной 3—4 мм.

После застывания агара чашки Петри перевертывают и помещают в термостат с температурой 30 °С на 72 ч. Через 72 ч подсчитывают общее количество колоний бактерий, выросших на чашках.

Колонии, выросшие как на поверхности, так и в глубине агара, подсчитывают при помощи лупы с пятикратным увеличением или специальным прибором с лупой. Для этого чашку кладут вверх дном на черный фон и каждую колонию отмечают со стороны дна тушью или чернилами для стекла.

4.1.1, 4.2.1. (Измененная редакция, Изм. № 2).

4.1.3. Обработка результатов

Для определения общего количества микробов в 1 г продукта подсчитанное количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта.

За окончательный результат определения количества бактерий в 1 г анализируемого продукта принимают среднearифметическое значений результатов подсчета двух чашек разной массы продукта.

4.2. Определение бактерий группы кишечной палочки в 1 г продукта

4.2.1. Сущность метода заключается в способности бактерий группы кишечной палочки расщеплять глюкозу и лактозу. При этом в средах «ХБ», Хейфеца и КОДА образуются кислые продукты, меняющие цвет индикаторов, а в среде Кесслер в поплавке образуется газ вследствие расщепления лактозы.

Цель определения этой группы бактерий — проверка соблюдения режима варки колбас или санитарно-гигиенических условий в процессе производства сырокопченых колбасных изделий.

При микробиологическом контроле колбасных изделий в производственных лабораториях можно ограничиваться обнаружением бактерий из группы кишечной палочки без их биохимической дифференциации.

4.2.2. Проведение анализа

В пробирки, содержащие по 5 см³ среды «ХБ», среды Хейфеца двойной концентрации или среды КОДА, вносят по 5 см³ испытуемой взвеси (пп. 3.33; 3.34) стерильной пипеткой вместимостью 5—10 см³ с широким концом.

Допускается применение среды Кесслер по 10 см³.

Пробирки со средой «ХБ» или Кесслер, или Хейфеца, или КОДА помещают в термостат с температурой $(37 \pm 0,5)$ °С на 18—20 ч.

Посевы смывов, отобранных тампонами с поверхности изделий без оболочки, выдерживают при температуре 43 °С (для обнаружения повторного бактериального загрязнения).

При росте бактерий группы кишечной палочки среды «ХБ» и КОДА окрашиваются в желтый цвет, среда Хейфеца приобретает также желтый цвет, который может меняться до салатно-зеленого, на среде Кесслер в поплавке образуется газ.

Для окончательного заключения о присутствии в продукте бактерий группы кишечной палочки проводят высеивание со среды Кесслер (забродившие пробирки) или Хейфеца (изменение цвета среды) в чашки Петри со средой Эндо или Плоскирева, или Левина. Чашки Петри помещают в термостат с температурой 37 °С. Через 18—20 ч посеивание просматривают. На среде Эндо бактерии группы кишечной палочки образуют темно-красные колонии с металлическим блеском или розово-красные без блеска, на среде Плоскирева — кирпично-красные с глянцевой поверхностью, на среде Левина — темно-фиолетовые колонии или фиолетово-черные блестящие. Из подозрительных колоний готовят мазки, которые окрашивают по Граму.

Специфическое изменение среды «ХБ» и КОДА не требует дальнейшего подтверждения.

При заведомо высокой обсеменности анализируемый продукт массой не более 0,25 г помещают в пустую пробирку, в которую закладывают комочек стерильной фильтровальной бумаги размером 5x5 см, и стерильной стеклянной палочкой или фламбированной проволокой проталкивают материал до дна (не уплотняя), в пробирку наливают среду «ХБ», КОДА или Хейфеца (нормальной концентрации), заполняя ее на $\frac{3}{4}$ высоты пробирки. Пробирки помещают в термостат с температурой 37 °С на 8—10 ч. При росте бактерий группы кишечной палочки на среде «ХБ» и КОДА среда изменяет свой цвет из фиолетово-пурпурного в желтый. При росте бактерий группы кишечной палочки на среде Хейфеца среда изменяет свой цвет из красно-фиолетового в желтый, который затем может меняться до салатно-зеленого.

Пробы, отобранные с поверхности изделий без оболочки тампонами, анализируют аналогично.

4.2.3. Обработка результатов

Обнаружение граммотрицательных не образующих спор палочек, специфически изменяющих цвет жидких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на элективных средах с лактозой, указывает на наличие бактерий группы кишечной палочки.

4.2.1—4.2.3. (Измененная редакция, Изм. № 2).

4.3. Определение бактерий из рода сальмонелл в 25 г продукта

4.3.1. Сущность метода заключается в определении характерного роста сальмонелл на элективных средах и установлении биохимических и серологических свойств.

4.3.2. Проведение анализа

Навеску продукта массой 25 г от объединенной пробы вносят во флакон Сокслета, содержащий 100 см³ среды обогащения (Мюллера, Кауфмана, хлористомagneйевой среды М). Жидкость во флаконе должна подняться до метки 125 см³. Флаконы тщательно встряхивают и помещают в термостат с температурой 37 °С. Через 16—24 ч после тщательного перемешивания с помощью бактериологической петли (диаметр 0,4—0,5 мм) или пастеровской пипетки проводят посев из среды обогащения в чашки Петри с предварительно подсушенной средой Эндо, БФА, Плоскирева, Левина или висмут-сульфит-агар (по выбору).

Чашки с посевами помещают в термостат с температурой 37 °С; посеивание просматривают через 16—48 ч, на висмут-сульфит-агаре — через 24—48 ч.

На среде Эндо бактерии из рода сальмонелл образуют бесцветные или с розовым оттенком колонии.

На среде БФА сальмонеллы образуют крупные, гладкие, красноватого оттенка прозрачные колонии (колонии сальмонеллы тифи сунс, как и на среде Эндо — мелкие). Бактерии группы кишечной палочки образуют колонии желто-зеленоватого цвета. Бактерии группы протей дают рост через 72 ч.

На среде Плоскирева сальмонеллы растут в виде бесцветных колоний, но колонии более плотные и несколько меньшего размера, чем на среде Эндо.

На среде Левина сальмонеллы растут в виде прозрачных, бледных, нежно-розовых или розовато-фиолетовых колоний.

На висмут-сульфитном агаре сальмонеллы растут в виде черных или коричневых колоний с характерным металлическим блеском. При этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют некоторые серологические типы из группы С, которые на этой среде растут в виде нежных светло-зеленых или крупных серовато-зеленых колоний.

Изолированные колонии, характерные для бактерий из рода сальмонелл, пересевают на трехсахарный агар Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука штрихом по скошенной поверхности и уколом в столбик. Посевы помещают на 12—16 ч в термостат с температурой 37 °С.

При росте бактерий из рода сальмонелл цвет скошенной поверхности среды Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука — розовый, столбик — желто-бурый; газообразование устанавливают по наличию трещин и разрыву столбика агара, сероводородообразующие — вызывают потемнение столбика.

Другие грамотрицательные бактерии дают следующие изменения цвета среды:

бактерии группы кишечной палочки — вся среда окрашивается в синий или сине-зеленый цвет с образованием газа или без него;

бактерии из группы протей — среда окрашивается в ярко-красный цвет, может образоваться черный осадок;

шигеллы и возбудители брюшного тифа — косяк окрашивается в розовый цвет, столбик — в синий или сине-зеленый.

Допускается вместо среды Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука посев на углеводные среды в короткий пестрый ряд, включая среды с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом и мальтозой, полужидкий агар уколом (для определения подвижности) и бульон Хоттингера для определения образования индола и сероводорода.

Для дальнейшей идентификации бактерий готовят мазки, которые окрашивают по Граму, микрокопируют и изучают серологические свойства микроорганизмов путем постановки пробной агглютинации на предметном стекле с агглютинирующей адсорбированной поливалентной сальмонеллезной О-сывороткой. При получении положительной реакции на стекле с поливалентной сывороткой проводят идентификацию с помощью монорецепторных агглютинирующих О-сывороток.

Установив серологическую группу, к которой относятся исследуемые бактерии, с помощью Н-сывороток определяют тип бактерий.

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

4.3.3. *Обработка результатов*

Обнаружение подвижных (кроме *S. pullorum* и *S. gallinarum*) грамотрицательных палочек, дающих характерный рост на элективных средах, неферментирующих лактозу и сахарозу, ферментирующих глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа (*S. typhi suis*, не ферментирует маннит), дающих положительную реакцию агглютинации с монорецепторными О- и Н-сальмонеллезными сыворотками, указывает на наличие бактерий из рода сальмонелл.

4.4. **О п р е д е л е н и е п р о т е я**

4.4.1. Сущность метода заключается в определении морфологии и роста на питательных средах, способности гидролизовать мочевины и образовывать сероводород.

4.4.2. *Проведение анализа*

Для подтверждения наличия протей в Н-форме 0,5 см³ анализируемой взвеси (приготовленной по п. 3.34) вносят в конденсационную воду свежескошенного мясо-пептонного агара, разлитого в широкие пробирки, не касаясь поверхности среды (метод Шукевича). Вертикально поставленные пробирки помещают в термостат с температурой 37 °С. Через 18—24 ч посевы просматривают. Обращают внимание на образование ползучего вуалеобразного налета с голубым оттенком; на скошенном мясо-пептонном агаре культура поднимается из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды. При появлении характерного роста микробов рода протей, микрокопируют окрашенные по Граму мазки и изучают подвижность микробов в раздавленной или висячей капле.

Для обнаружения нероящихся «О-форм» можно проводить посев на поверхность агара Плоскирева. «О-форма» протей растет на этой среде в виде прозрачных колоний, слегка подщелачивающих среду, окрашивая ее в желтый цвет. Делают посев материала из подозрительных колоний в среду Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука, где при наличии бактерий из группы протей среда окрашивается в ярко-красный цвет (вследствие расщепления мочевины) и может образовываться черный осадок с возможным разрывом агарового столбика (вследствие образования сероводорода).

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.4.3. *Обработка результатов*

Обнаружение полиморфных грамотрицательных палочек, образующих характерный рост на средах в Н-форме (подвижные) и О-форме (неподвижные), ферментирующих глюкозу и мочевины, неферментирующих лактозу и маннит, указывает на наличие бактерий из рода протей.

4.5. *Определение коагулазоположительных стафилококков*

4.5.1. Сущность метода заключается в определении морфологии, характера роста на питательных средах и в способности отдельных стафилококков продуцировать лецитиназу и коагулировать цитратную плазму крови кролика под воздействием фермента коагулазы.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

4.5.2. *Проведение анализа*

Из разведения анализируемой взвеси продукта (1:10) проводят посевы на молочно-солевой агар, содержащий 65 г/дм³ хлористого натрия, для выявления пигмента или желточно-солевой агар, содержащий 65 г/дм³ хлористого натрия, для выявления лецитиназной активности.

Взвесь наносят на поверхность агара в количестве 0,2 см³ и равномерно растирают по всей поверхности агаровой среды.

Посевы термостатируют в течение 24 ч при температуре 37 °С и 24 ч выдерживают при комнатной температуре.

На поверхности питательной среды колонии стафилококка имеют вид плоских или слегка выпуклых блестящих колоний с ровным краем. При этом на молочно-солевом агаре лучше выявляется пигмент (эмалево-белый или золотистый), а на желточно-солевом агаре колонии стафилококков могут образовывать «радужный венчик», что является одним из признаков их патогенности.

Из подозрительных колоний готовят препараты, которые окрашивают по Граму. При наличии стафилококков в препарате обнаруживаются грамположительные мелкие кокки, располагающиеся неправильными гроздьями.

Для подтверждения признаков патогенности стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции. В прибор с 0,5 см³ цитратной плазмы крови кролика, разведенной физиологическим раствором в соотношении 1:4, вносят петлю чистой суточной культуры стафилококка и ставят в термостат при температуре 37 °С. Реакцию плазмокоагуляции учитывают через 3—4 ч (не встряхивая пробирку) и оставляют в термостате на сутки для окончательного учета через 24 ч.

Для постановки реакции плазмокоагуляции можно использовать также сухую цитратную плазму крови кролика.

Реакцию считают положительной, если плазма коагулируется в сгусток.

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

4.5.3. *Обработка результатов*

Для определения количества стафилококков учитывают колонии стафилококков, давшие положительную реакцию плазмокоагуляции.

При расчете на 1 г продукта количество подсчитанных колоний умножают на степень разведения и делят на количество посевного материала.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.6. *Определение сульфитвосстанавливающих клостридий*

4.6.1. Сущность метода заключается в специфическом росте сульфитвосстанавливающих клостридий в средах СЦС или Вильсон-Блера, на которых в результате восстановления сернистокислого натрия в сернистый натрий происходит взаимодействие с хлористым железом и образуется почернение среды за счет сернистого железа.

4.6.2. *Проведение анализа на сульфитциклосериновой среде (СЦС)*

1 см³ анализируемой взвеси (1:10 по п. 4.1.2) стерильной пипеткой вносят в пробирку с 9 см³ жидкой сульфит-циклосериновой среды, затем проводят последовательные пересевы на аналогичные объемы среды, в результате чего получают возрастающие десятикратные разведения суспензии. Инкубацию проводят при 46 °С в течение 8—12 ч. При наличии роста сульфитвосстанавливающих клостридий образуется почернение среды.

4.6.1, 4.6.2. **(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).**

4.6.2а. *Проведение анализа на среде Вильсон-Блера*

В пробирки, содержащие по 9 см³ расплавленной и охлажденной до температуры 45 °С среды Вильсон-Блера, вносят стерильной пипеткой по 1 см³ десятикратных разведений (от 10⁻¹ до 10⁻⁷) взвеси испытуемого продукта. Посевной материал и среду тщательно перемешивают. Посевы поме-

щают в термостат с температурой 46 °С на 8—12 ч или 37 °С на 20 ч. Появление в среде черных колоний или почернение всей среды указывает на присутствие сульфит-восстанавливающих клостридий.

Почернение среды Вильсон-Блера могут вызвать многие энтеробактерии. Для подтверждения роста сульфитвосстанавливающих клостридий используют пересев в пробирки со средой Китта-Тароцци, предварительно прогретой в течение 25 мин в кипящей водяной бане и быстро охлажденной до 45 °С. Термостатирование посевов проводят при $(37 \pm 0,5)$ °С, ежедневно в течение 5 сут проверяя в них помутнение среды, выделение газа, появление постороннего запаха, иногда разложение кусочков печени. Сразу после появления признаков роста готовят микроскопический препарат. Материал для этого берут пастеровской пипеткой со дна пробирки. При микроскопировании отмечают грамположительные палочки, образующие овальные споры.

У спорообразующих грамположительных микроорганизмов выявляют каталазную активность с помощью раствора перекиси водорода 30 г/дм³. Отсутствие пузырьков газа при добавлении к капле культуральной жидкости такого же количества перекиси водорода позволяет считать, что в посевах присутствуют микроорганизмы из рода клостридий.

В случае отсутствия спор в микроскопическом препарате положительной пробы на каталазу, присутствия в посевах смешанной микрофлоры, 1—2 капли накопительной среды переносят в стерильную чашку Петри, заливают расплавленной и охлажденной до 45 °С средой Вильсон-Блера. Застывшую поверхность плотной среды заливают холодным агаром. Посевы термостатируют 24—48 ч при $(37 \pm 0,5)$ °С. Появление в нижнем слое агара черных или коричневых колоний свидетельствует о присутствии в посевах сульфитвосстанавливающих клостридий.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

4.6.3. *Обработка результатов*

За положительный титр клостридий (сульфит-восстановителей) принимают то максимальное разведение суспензий, в посеве которого произошло почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10^{-1} , то считают, что в исследуемом продукте будет 10 (или $1 \cdot 10^1$) клеток в 1 г; если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением 10^{-2} , то считают, что в исследуемом продукте — 100 (или $1 \cdot 10^2$) микробных клеток в 1 г.

ПРИМЕЧАНИЯ ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

1 На первой странице дополнить кодом: МКС 67.120.10 (указатель «Национальные стандарты», 2008);

2 Информационные данные. Ссылочные нормативно-технические документы:
ГОСТ 9569—79 заменен на ГОСТ 9569—2006.

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Е.Ю. Митрофанова*
Компьютерная верстка *В.Н. Романовой*

Подписано в печать 12.08.2008. Формат 60×84¹/₄. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86.
Уч.-изд. л. 1,70. Тираж 104 экз. Зак. 1035.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано в Калужской типографии стандартов на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.