ГОСТ Р 51448—99
(ИСО 3100-2—88)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Методы подготовки проб для микробиологических исследований

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Временным творческим коллективом с участием членов Технического комитета по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 апреля 1999 г. № 603-ст

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст международного стандарта ИСО 3100-2—88 «Мясо и мясные продукты. Отбор и подготовка проб. Часть 2: Методы подготовки проб для микробиологических исследований» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 1, 2, 5, пункты 3.1, 3.2, 3.5.3, 3.6.3)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Методы подготовки проб для микробиологических исследований

Meat and meat products.
Methods of test samples preparation for microbiological examination

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо и мясные продукты, включая мясо и продукты из мяса птицы, и устанавливает общий порядок подготовки первичных проб, отобранных по ГОСТ Р 51447, для микробиологических исследований.

Подготовка проб проводится с учетом требований ГОСТ Р 51446.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2156—76 Натрий двууглекислый. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4234—77 Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

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

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

ГОСТ Р 51426—99 (ИСО 6887—83) Микробиология. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований

ГОСТ Р 51446—99 (ИСО 7218—96) Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований

ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

3 Подготовка проб для микробиологических исследований

3.1 Общие требования

Подготовка проб для микробиологических исследований включает, при необходимости, размораживание и/или измельчение неупакованных проб, или предварительное термостатирование, стерилизацию поверхности и стерильное вскрытие проб в герметичной упаковке.

Для микробиологического исследования мясо и мясные продукты классифицируют по типам:

А — поставка или партия мяса и мясных продуктов, выработанных в виде единичных изделий или отдельных упаковок продуктов любой массы (например колбасы, сосиски; полуфабрикаты, измельченное мясо, упакованное под вакуумом; колбаса, нарезанная ломтиками; консервы из вареного окорока), или в виде мяса в кусках, или тушек (частей тушек), не превышающих по массе 2 кг;

Б — туши, части туши, мясо, подвергшееся посолу, вялению или другим способам консервации, в кусках, превышающих по массе 2 кг (например отруб бекона, беконная половинка, свежий или замороженный мясной отруб, свежее или замороженное обваленное кусковое мясо, говяжья полутуша или четвертина, свиная полутуша, баранья туша, тушка птицы, оленина), и мясо, полученное методом сепарирования, или обезвоженное мясо.

При приеме устанавливают соответствие полученных проб данным сопроводительного документа (например отчета или протокола, или акта) по ГОСТ Р 51447. Отмечают дату получения и состояние пробы, включая температуру. Делают запись, будет ли подвергнута данная проба другим исследованиям после микробиологических.

3.2 Аппаратура, материалы и реактивы

3.2.1 Общие требования

Для приготовления растворов для разведений используют сухие базовые компоненты. Допускается использование готовых покупных реактивов, при этом необходимо строго выполнять инструкции изготовителя по их применению

Все реактивы должны быть аналитического качества.

Вода должна быть дистиллированной или деионизированной и не должна содержать компоненты, влияющие на рост микроорганизмов в условиях испытания.

Измерения pH проводят с помощью pH-метра, настроенного на температуру 25 °С.

Если нет специальных указаний, то неиспользованные сразу растворы для разведений и реактивы хранят в темноте при температуре от 0 до 5 °С и в условиях, не вызывающих изменение их состава; срок хранения — не более одного месяца.

Лабораторное оборудование, инструменты и посуду, которые контактируют с растворами для разведений или с пробами, за исключением посуды, которая поставляется стерильной (в частности посуда из пластмассы), стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение не менее 20 мин или в сушильном шкафу при температуре 170—175 °С с принудительной циркуляцией воздуха в течение не менее 1 ч, или горячим воздухом в стерилизаторе без принудительной циркуляции воздуха при температуре от 180 до 185 °С в течение 15 мин или при температуре от 160 до 165 °С в течение 120 мин.

Обрабатывать инструменты допускается погружением в этиловый спирт с последующим фламбированием.

3.2.2 Аппаратура, материалы и реактивы

При подготовке проб к анализу применяют обычную лабораторную аппаратуру, а также материалы и реактивы аналитического качества (не ниже ч. д. а.):

сушильный шкаф — аппарат для сухой стерилизации, обеспечивающий режим стерилизации при температуре 170—175 °С в течение 1 ч с принудительной циркуляцией воздуха;

автоклав — аппарат для влажной стерилизации, обеспечивающий режим стерилизации при температуре (121 ± 1) °С в течение не менее 20 мин.;

мясорубку механическую лабораторную, которую можно стерилизовать, диаметром отверстий решетки не более 4 мм по ГОСТ 4025;

смеситель перистальтический типа Стомахер со стерильными пластмассовыми сумками;

термостаты для выдерживания консервов при предписанной температуре, для обнаружения дефектных банок или для быстрого оттаивания замороженных проб, диапазоном температур от 24 до 70 °С;

холодильник для хранения проб, поддерживающий температуру 2 °С;

морозильник для хранения проб, поддерживающий температуру не выше минус 24 °С;

инструменты (пригодные для стерилизации) для вскрытия упаковок мяса и для разрезания проб, например ключи для вскрытия консервных банок, ножницы, ножи и щипцы;

тампоны, изготовленные из хлопка или альгината;

пробирки вместимостью 50 см^3 или колбы вместимостью 250, 500, 1000, 2000 см^3 по ГОСТ 25336 со стеклянными шариками для встряхивания тампонов;

колбы для жидкой фазы проб вместимостью 50, 250 см^3 по ГОСТ 25336;

пипетки по ГОСТ 29227 или шприцы для удаления жидкой фазы от оттаявших или распакованных проб мяса;

pH-метр, погрешность ± 0,1 pH при температуре 25 °С;

пептон;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709 или деионизированную;

калий хлористый по ГОСТ 4234;

кальций хлористый;

натрий двууглекислый по ГОСТ 2156;

гексаметафосфат натрия;

натрий хлористый по ГОСТ 4233;

спирт этиловый 95—96 об. % по ГОСТ Р 51652;

кислоту соляную, плотностью 1,19 г/см^3 по ГОСТ 3118.

Допускается применение другого оборудования и посуды, имеющих аналогичные технические характеристики, а также реактивы по качеству не ниже вышеуказанных.

3.3 Приготовление компонентов питательных сред и растворов

3.3.1 Приготовление раствора для обработки хлопковых тампонов со смывами

Состав: пептон — 1,0 г; хлористый натрий — 8,5 г; вода — 1000 см^3.

Компоненты растворяют в воде согласно указанному составу, подогревая при необходимости. Устанавливают значение pH таким образом, чтобы после стерилизации оно равнялось 7,0 при температуре 25 °С. Раствор разливают в пробирки или колбы соответствующей емкости в таких количествах, чтобы после стерилизации каждая пробирка или колба содержала 9,0 см^3 раствора.

Затем пробирки или колбы закупоривают.

Стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение 20 мин.

3.3.2 Приготовление раствора для обработки альгинатовых тампонов со смывами

Состав: хлористый натрий — 2,25 г; хлористый калий — 0,105 г; хлористый кальций — 0,12 г; двууглекислый натрий ($NaHCO_3$) — 0,05 г; гексаметафосфат натрия (в основном $NaPO_{3(6)}$ — 10 г; вода — 1000 см^3.

Компоненты растворяют в воде, разливают в пробирки или колбы так, чтобы после стерилизации каждая емкость содержала по 10 см^3.

Допускается использование готовой сухой смеси указанного состава в виде таблеток, которые растворяют в пробирках или колбах в 10 см^3 воды.

При необходимости устанавливают значение pH таким образом, чтобы после стерилизации оно равнялось 7,0 при температуре 25 °С.

Затем пробирки или колбы закупоривают и стерилизуют в автоклаве в течение 20 мин при температуре (121 ± 1) °С.

3.3.3 Приготовление дезинфицирующего раствора

В 30 см^3 воды растворяют 60 см^3 этилового спирта и 10 см^3 соляной кислоты.

3.4 Хранение проб для микробиологических исследований

3.4.1 Общие положения

Пробы хранят при установленной температуре, защищенными от прямого попадания солнечных лучей и других источников тепла, в условиях, предотвращающих загрязнение по ГОСТ Р 51447.

Исследования начинают сразу после получения проб, но не позднее сроков, указанных в 3.4.2 и 3.4.3.

3.4.2 Хранение проб мяса и мясных продуктов типа А, не превышающих 2 кг по массе (по 3.1).

3.4.2.1 Хранение проб свежего мяса

Пробы свежего мяса сразу по получении помещают в холодильник; они должны быть исследованы в течение 24 ч.

Если требуется более долгий срок хранения, то образцы проб замораживают в морозильной камере как можно раньше.

Если образец был заморожен, это необходимо отметить в протоколе испытаний с указанием температуры и сроков хранения пробы в замороженном состоянии.

3.4.2.2 Хранение проб замороженного мяса

Пробы должны поступать в лабораторию в замороженном состоянии при температуре, установленной нормативными документами, или, в любом случае, при температуре не выше минус 24 °С. Пробы хранят в морозильной камере.

3.4.2.3 Хранение проб полуконсервированных продуктов

Пробы хранят в холодильнике.

Пробы с дефектами помещают в запечатанные контейнеры (например, в пластмассовые мешки), чтобы избежать загрязнения окружающей среды.

3.4.2.4 Хранение проб упакованных или неупакованных продуктов, не требующих особых условий хранения

Пробы должны храниться защищенными от прямого попадания солнечных лучей или других источников тепла при температуре, не превышающей 25 °С. Дефектные по внешнему виду образцы проб помещают в запечатанные контейнеры (например в пластмассовые мешки) таким образом, чтобы избежать загрязнения окружающей среды, и хранят в холодильнике.

Обезвоженное мясо хранят в воздухонепроницаемом контейнере.

Исследование начинают не позднее чем через 3 дня.

В случае сомнения поступают так, как это указано в 3.4.2.1.

3.4.3 Хранение проб мяса и мясных продуктов типа Б, превышающих по массе 2 кг (по 3.1)

3.4.3.1 Хранение проб свежего мяса по 3.4.2.1.

3.4.3.2 Хранение проб замороженного мяса по 3.4.2.2.

3.4.3.3 Хранение проб обезвоженного мяса по 3.4.2.4.

3.4.3.4 Пробы жидкой фазы хранят в холодильнике. Исследование проводят как можно раньше, но, в любом случае, не позднее дня получения.

3.4.3.5 Хранение смывов, полученных с помощью тампонов

Смывы, полученные с помощью хлопковых или альгинатовых тампонов, непосредственно после поступления помещают и хранят в холодильнике, исследования проводят в день получения как можно раньше.

3.5 Обработка проб для микробиологических исследований

3.5.1 Общие положения

Чтобы избежать любого риска загрязнения, принимают следующие меры предосторожности обращения с пробами:

а) рабочее место должно быть чистым, без сквозняков и защищено от прямого попадания на пробы солнечных лучей;

б) рабочее место обрабатывают дезинфицирующим раствором (3.3.3) как перед испытанием, так и после него;

в) заблаговременно стерилизуют контейнеры, лотки, аппараты и т. д., а также инструменты для вскрытия упаковок или консервных банок.

Если желательно или требуется выдерживать пробы в термостате (например для консервных банок), то поступают так, как это указано в 3.5.2.

Дефектные по внешнему виду пробы никогда не выдерживают в термостате. Пробы замороженных продуктов, которые еще не размораживались (3.4.2.2), или пробы, замороженные после отбора проб (3.4.2.2), обрабатывают согласно 3.5.3. Во всех других случаях — согласно 3.6.

3.5.2 Термостатирование

Термостатирование проводят при температуре и в течение срока, указанного в нормативных документах на методы микробиологических исследований конкретных видов продукции (например консервы).

Ежедневно контролируют показания прибора и проверяют состояние проб. При появлении дефектов (например бомбаж, выделение жидкости), термостатирование прекращают. Данные термостатирования регистрируют и далее поступают согласно 3.6.

Пробы, содержащие жидкую фазу, переворачивают (встряхивают) каждые 2 дня. После того, как термостатирование завершится, приступают к вскрытию упаковки согласно 3.6.

3.5.3 Размораживание в холодильнике

Невскрытие пробы размораживают в холодильнике до тех пор, пока не будет завершено оттаивание, но не более 24 ч. Когда образцам для размораживания требуется более 24 ч, используют другие методы отбора проб.

3.6 Вскрытие упаковки

3.6.1 Общие положения

Твердую или полутвердую упаковку с пробой моют снаружи мылом или моющим средством, ополаскивают чистой водой и высушивают сначала чистым полотенцем, затем насухо чистой гигроскопичной бумагой одноразового использования. Упаковку дезинфицируют в тех местах поверхности, в которых производят вскрытие. Однако когда упаковочный или оберточный материал является очень тонким и может быть поврежден в процессе очистки (обернутые порции мяса на лотках), эту процедуру не проводят. Дезинфецирование должно быть осуществлено очень осторожно.

Очистку и дезинфицирование не проводят, когда упаковка может быть удалена без какого-либо риска загрязнения пробы.

Все операции во время и после вскрытия упаковки осуществляют в стерильных условиях, предпочтительно без перерывов; если перерыв является неизбежным, то он должен быть как можно более коротким.

В течение всего перерыва продукт хранят в холодильнике.

Нормальные по внешнему виду и дефектные образцы пробы вскрывают разными способами в соответствии с 3.6.2 и 3.6.3.

3.6.2 Вскрытие нормальных по внешнему виду образцов пробы

Дезинфицирование проводят фламбированием с применением или без применения этилового спирта, избегая перегрева, или обработкой дезинфицирующим раствором, с последующим высушиванием без применения тепла.

Вскрытие упаковки порции мяса и мясных продуктов на лотках начинают путем удаления упаковочной пленки снизу лотка.

Газонепроницаемую упаковку мяса и мясных продуктов вскрывают при помощи стерильных ножа, ножниц или щипцов после дезинфицирования запаянного покрытия мяса и мясных продуктов.

Проницаемые или непроницаемые синтетические оболочки вареных или сырых колбасных изделий дезинфицируют в точке надреза, затем оболочку снимают.

Оболочку сырых созревших колбасных изделий не удаляют.

Консервные банки после очистки и дезинфицирования вскрывают ключом для вскрывания консервных банок. Для получения вторичных образцов проб (например из центра и с поверхности) консервную банку вскрывают с обоих концов и выталкивают содержимое на стерильный лоток, при этом избегают повреждения швов, которые исследуют при необходимости.

Стеклянную тару вскрывают, вырезая в крышке круглое отверстие.

3.6.3 Вскрытие дефектных единиц пробы

Дефектные единичные пробы вскрывают в специальном помещении, которое никогда не используется для проверки стерильности.

Поверхность пробы обрабатывают тампоном, смоченным дезинфицирующим раствором (3.3.3), и дают высохнуть, не применяя тепла.

Консервные банки прокалывают с большей осторожностью и вскрывают ключом для вскрытия консервных банок.

При вскрытии банок избегают загрязнения оператора и окружающей среды.

Далее поступают согласно разделам 4 или 5.

Допускается вскрытие дефектных по внешнему виду единиц пробы производить по ГОСТ 26669.

4 Отбор вторичных проб

При необходимости отбирают вторичные пробы, например жидкую фазу, тампоны со смывами или отдельные порции с различных участков каждой пробы (из центра и с поверхности).

Далее с первичными или вторичными пробами, которые необходимо измельчить, и со смывами, полученными с помощью тампонов, поступают согласно разделу 5.

5 Окончательная подготовка проб перед исследованием (при необходимости)

5.1 Измельчение

Перед измельчением крупные куски проб при необходимости нарезают на стерильной поверхности в стерильных условиях на кубики размером примерно 1 см^3.

Образцы пробы в виде целых или нарезанных кусков помещают в стерильных условиях в мясорубку, дважды пропускают через нее, при этом перед вторым смешиванием возвращают в мясорубку все капли вытекшей жидкой фазы. Далее действуют по ГОСТ Р 51426.

5.2 Обработка тампонов со смывами

Для диспергирования микроорганизмов в жидкость тампоны с предварительно обломанными деревянными аппликаторами встряхивают в небольших колбах с несколькими стеклянными шариками и с определенным количеством раствора соответствующего хлопковому (3.31) или альгинатовому (3.3.2) тампонам.

Полученная взвесь может быть разведена по системе 10-кратных разведений.

6 Последующая обработка проб

Последующую обработку испытываемых проб мяса и мясных продуктов проводят в соответствии с требованиями стандартов на конкретные виды продукции.

ОКС 67.120.10 Н19 ОКСТУ 9209, 9210

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, подготовка проб, микробиологические исследования, питательные среды, растворы