

**ГОСТ Р 50454—92  
(ИСО 3811—79)**

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

---

## **МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ**

**Обнаружение и учет предполагаемых колиформных  
бактерий и *Escherichia coli* (арбитражный метод)**

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР  
**РАБОЧИЙ  
ЭКЗЕМПЛЯР**

Издание официальное



**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ****МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ**

**Обнаружение и учет предполагаемых колиформных бактерий  
и Escherichia coli (арбитражный метод)**

**ГОСТ Р  
50454—92**

Meat and meat products. Detection and enumeration of presumptive coliform bacteria and presumptive Escherichia coli (Reference method) **(ИСО 3811—79)**

ОКС 67.120.10  
ОКСТУ 9209

**Дата введения 1994—01—01**

**1 Назначение и область применения**

Настоящий стандарт устанавливает метод обнаружения и учета предполагаемых колиформных бактерий и *Escherichia coli* (*E. coli*) в мясе и мясных продуктах.

**2 Ссылки**

ГОСТ Р 50455—92 (ИСО 3565—75) Мясо и мясные продукты. Обнаружение сальмонелл (арбитражный метод)

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

**3 Определения**

3.1 Предполагаемые колиформные бактерии — микроорганизмы, ферментирующие лактозу с образованием газа при 30 °C, обнаруженные при проведении анализа в соответствии с указанным методом.

3.2 Предполагаемые *Escherichia coli* — предполагаемые колиформные бактерии, ферментирующие лактозу с образованием газа при 44 °C и продуцирующие индол из триптофана при 44 °C, обнаруженные при проведении анализа в соответствии с указанным методом.

3.3 Подсчет предполагаемых колиформных бактерий и *Escherichia coli*, обнаруженных в 1 г мяса или мясных продуктов при проведении анализа в соответствии с указанным методом.

**4 Сущность метода**

Измельчение испытуемой пробы с последующей гомогенизацией навески в стерильном разбивителе. Приготовление из гомогената десятикратных разведений, из которых делают посев в ряд пробирок с жидкой селективной средой. По количеству пробирок, показывающих образование газа после выдерживания в термостате при температуре 30 °C, определяют наиболее вероятное число предполагаемых колиформных бактерий в 1 г продукта, используя таблицу НВЧ (см. приложение).

Для учета предполагаемых *E. coli* делают посев из положительных пробирок (т. е. пробирок, показывающих образование газа) в пробирки с жидкой селективной средой и в пробирки с триптоновой водой и выдерживают в термостате при температуре 44 °C. По количеству пробирок, показывающих образование газа в селективной среде и образование индола в триptonовой воде, определяют наиболее вероятное число предполагаемых *E. coli*, используя таблицу НВЧ (см. приложение).

**Издание официальное**

© Издательство стандартов, 1992  
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

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

## 5 Питательные среды, жидкость для разбавления и реактивы

### 5.1 Основные материалы

Для получения сопоставительных результатов рекомендуется использовать безводные компоненты питательных сред одинакового качества, химические реактивы аналитического качества или сухие готовые среды. Используемая вода должна быть дистиллированной или, по крайней мере, эквивалентной чистоты.

### 5.2 Питательные среды

#### 5.2.1 Лактозный бульон с желчью и бриллиантовым зеленым (селективная среда)

Состав:

	<i>a</i> — среда двойной концентрации	<i>b</i> — среда одинарной концентрации
пептон	20,0 г	10,0 г
лактоза	20,0 г	10,0 г
бычья желчь (сухая)	40,0 г	20,0 г
бриллиантовый зеленый по ГОСТ Р 50455	0,0266 г	0,0133 г
вода	1000 см <sup>3</sup>	1000 см <sup>3</sup>

П р и м е ч а н и е — Ввиду того, что готовая среда может не всегда давать ожидаемый результат, ее качество должно быть проверено перед употреблением.

Приготовление. Компоненты или сухую готовую среду растворяют в кипящей воде. Устанавливают pH среды раствором гидроксида натрия или раствором соляной кислоты подходящей концентрации так, чтобы после стерилизации его значение составляло ( $7,2\pm0,1$ ) при 25 °C. Среду по 10 см<sup>3</sup> переносят в бактериологические пробирки (16 × 160 мм — для среды одинарной концентрации или 20 × 200 мм — для среды двойной концентрации), в которые помещают трубки Дархема, или во флаконы с завинчивающимися пробками подобной вместимости. Стерилизуют среду при температуре ( $121\pm1$ ) °C в течение 15 мин. Над жидкостью должно быть видно не менее 1 см трубки Дархема. При наличии пузырьков их удаляют, наклоняя и постукивая пробирки. Пробирки, содержащие газовые пузырьки, не используют.

#### 5.2.2 Триптоновая вода

Состав:

триптон . . . . .	10,0 г;
хлорид натрия . . . . .	5,0 г;
вода . . . . .	1000 см <sup>3</sup> .

Приготовление. Компоненты или сухую готовую среду растворяют в горячей воде. Устанавливают pH среды раствором гидроксида натрия или раствором соляной кислоты подходящей концентрации так, чтобы после стерилизации его значение составляло ( $7,3\pm0,1$ ) при 25 °C. Среду по 5—10 см<sup>3</sup> переносят в бактериологические пробирки или флаконы с завинчивающимися пробками аналогичной вместимости и стерилизуют при температуре ( $121\pm1$ ) °C в течение 15 мин.

### 5.3 Жидкость для разбавления

Состав:

пептон . . . . .	1,0 г;
хлорид натрия . . . . .	8,5 г;
вода . . . . .	1000 см <sup>3</sup> .

Приготовление. Компоненты или сухую готовую среду растворяют в кипящей воде. Устанавливают pH раствором гидроксида натрия или раствором соляной кислоты подходящей концентрации так, чтобы после стерилизации его значение составляло ( $7,0\pm0,1$ ) при 25 °C. Часть жидкости по 100—300 см<sup>3</sup> переносят в колбы или флаконы с завинчивающимися пробками вместимостью вдвое больше объема жидкости. Остаток жидкости переносят в пробирки, маленькие колбы или маленькие флаконы с завинчивающимися пробками так, чтобы после стерилизации каждая содержала по 9,0 см<sup>3</sup>. Стерилизуют жидкость для разбавления при температуре ( $121\pm1$ ) °C в течение 15 мин.

### 5.4 Индолльный реагент (реактив Ковача)

Состав:

<i>p</i> -диметиламинобензальдегид . . . . .	5,0 г;
амиловый спирт . . . . .	25,0 см <sup>3</sup> ;

# ГОСТ Р 50454—92

соляная кислота ( $\rho_{20}$  1,18—1,19 г/см<sup>3</sup>) . . . . . 25,0 см<sup>3</sup>.

Приготовление. Альдегид растворяют в спирте при слабом нагревании на водяной бане (около 50—55 °С). Охлаждают и добавляют кислоту. Хранят при температуре около 4 °С в сосуде из темного стекла. Цвет реактива должен быть от светло-желтого до светло-коричневого.

## 6 Аппаратура и стеклянная посуда

### 6.1 Аппаратура

6.1.1 Механическая мясорубка лабораторного типа, стерильная, с решеткой, диаметр отверстий которой не более 4 мм.

6.1.2 Механический смеситель, работающий со скоростью не менее 8000 об/мин и не более 45000 об/мин, со стеклянными или металлическими смесительными стаканами разной вместимости и устойчивыми к условиям стерилизации.

6.1.3 Аппаратура для стерилизации стеклянной посуды, смесительных стаканов, питательных сред и т. п.

6.1.4 Термостат для выдерживания пробирок с посевами при температуре (30±1) °С.

6.1.5 Водяная баня для выдерживания пробирок с посевами при температуре (44±0,1) °С.

### 6.2 Стеклянная посуда

Стеклянная посуда должна быть устойчивой к повторной стерилизации.

6.2.1 Колбы и бактериологические пробирки (16 × 160 мм и 20 × 200 мм).

Допускается использовать флаконы с завинчивающимися пробками аналогичной вместимости.

6.2.2 Градуированные пипетки, откалиброванные для бактериологических целей, вместимостью 1,0 и 10,0 см<sup>3</sup> с ценой деления соответственно 0,1 и 1 см<sup>3</sup> и диаметром выходного отверстия 2—3 мм.

### 6.3 Стерилизация стеклянной посуды

Стерилизуют стеклянную посуду одним из следующих способов:

влажная стерилизация при температуре (121±1) °С не менее 20 мин;

сухая стерилизация при температуре не менее 170 °С в течение 1 ч.

## 7 Отбор проб

Пробу отбирают массой не менее 200 г по ГОСТ Р 51447.

Отобранныю пробу можно хранить в лаборатории при температуре 0—5 °С не более 1 ч.

## 8 Проведение анализа

### 8.1 Предварительная обработка проб

Пробу дважды пропускают через мясорубку, перемешивают и сразу приступают к анализу. При необходимости пробу можно хранить при температуре 0—5 °С не более 1 ч.

### 8.2 Навеска

Приблизительно 10 г измельченной пробы взвешивают с точностью 0,1 г в стерильном смесительном стакане.

### 8.3 Приготовление гомогената и разведений

8.3.1 Для приготовления гомогената (исходного разведения) к навеске продукта добавляют жидкость для разбавления в соотношении 1:9 (по массе) и гомогенизируют на смесителе не более 2,5 мин, при этом число оборотов смесителя должно составлять 15000—20000.

8.3.2 Последующие операции (8.3.3—8.3.5) выполняют одновременно на двух параллельных порциях гомогената (две серии разведений).

8.3.3 Непосредственно после гомогенизации стерильной пипеткой вместимостью 1 см<sup>3</sup> берут 1 см<sup>3</sup> гомогената и добавляют его в пробирку, содержащую 9 см<sup>3</sup> стерильной жидкости для разбавления, не касаясь пипеткой поверхности раствора.

8.3.4 Жидкости хорошо перемешивают новой стерильной пипеткой путем десятикратного наполнения и выдувания из нее содержимого пробирки. Переносят этой же пипеткой 1 см<sup>3</sup> полученного раствора (разведение 10<sup>-2</sup>) в другую пробирку, содержащую 9 см<sup>3</sup> стерильной жидкости для разбавления, не касаясь пипеткой поверхности раствора.