

Редакція:

05.10.1992

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ГЛАВНОЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ УПРАВЛЕНИЕ
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по санитарно-бактериологическому контролю производства кондитерских
изделий с кремом

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного государственного
санитарного врача Украины

М. С. Мухарский

5 октября 1992 г.

Методические указания распространяются на все бактериологические лаборатории, осуществляющие исследования кондитерских изделий с кремом по ходу технологического процесса (сырье, полуфабрикаты, готовые изделия), смывов с рук, санодержки персонала, инвентаря и оборудования.

Результаты санитарно-бактериологического контроля позволят объективно оценить уровень санитарного состояния предприятия, выявить возможные нарушения технологического процесса, условий хранения продуктов, личной гигиены персоналом, эпидемиологической безопасности готовой продукции.

Кондитерские изделия с кремом представляют благоприятную питательную среду для микроорганизмов, которые при наличии оптимальных температурных условий интенсивно размножаются. При условии возможного бактериального обсеменения кремов, бактерии могут длительное время сохраняться, размножаться и выделять токсины. Органилептические свойства продукта при этом не изменяются.

1. Микробиологические критерии оценки качества кондитерских изделий с кремом

а) Микробиологические показатели кондитерских изделий с кремом зависят от ряда факторов: качества сырья и компонентов, соблюдения рецептуры, технологических режимов, качества мойки и дезинфекции инвентаря и оборудования, соблюдения правил личной гигиены персоналом и др.

б) В готовой продукции нормируется общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАМ), что соответствует прежнему показателю ОМЧ, их содержание выражается количеством колониобразующих единиц - КОЕ/

г. Другие группы микроорганизмов - бактерии группы кишечных палочек (БГКП) - колиформы, коагулазоположительные стафилококки, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, не должны обнаруживаться в определенной массе продукта.

в) Кондитерские изделия с кремом, изготовленные на предприятиях, при строгом соблюдении санитарно-гигиенических правил, технологических режимов производства, условий хранения и сроков реализации должны соответствовать требованиям ТУ 10.04.08.13-88 "Торты и пирожные. Технические условия", "Медико-технологическим требованиям и санитарным нормам качества продовольственного сырья и пищевых продуктов", Москва, 1990 г. и представлены в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателей	Нормативы для тортов и пирожных	
	со сливочным кремом	с фруктовым отделочным полуфабрик.
Мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФАМ), КОЕ в 1 г не более	5,0 x 10 в степ. 4	5,0 x 10 в степ. 2
Бактерии группы кишечных палочек (колиформные бактерии) в 0,01 г	не допускаются	не допускаются
Коагулазоположительные стафилококки	в 0,01 г не допускаются	в 0,1 г не допускаются
Патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы в 25 г	не допускаются	не допускаются

В смывах с контролируемых объектов бактерии группы кишечных палочек и коагулазоположительные стафилококки должны отсутствовать.

При исследовании полуфабрикатов определяют полиформные бактерии и коагулазоположительные стафилококки. Показатели качества полуфабрикатов не должны превышать установленных нормативов для готовых изделий с кремом.

2. Объекты, подлежащие исследованию

При осуществлении бактериологического контроля на предприятиях, вырабатывающих кондитерские изделия с кремом, исследованию подлежат:

2.1. Сырье: яичная масса, масло сливочное, молоко сгущенное, сиропы натуральные, повидло, джем, цукаты и др.

2.2. Полуфабрикаты: кремы всех видов, суфле, зефирные и суфлейные массы, молочно-сахарный сироп, белок для кремов, сиропы для пропитки, крошка для обсыпки, рабочие растворы красителей.

2.3. Готовая продукция: торты, пирожные.

2.4. Смывы с посуды, инвентаря, оборудования, рук и санитарной одежды.

2.5. Смывы из слизистой зева и носа на наличие патогенного стафилококка.

2.6. Вода питьевая.

2.7. Воздух производственных помещений.

При поступлении на предприятие сырье подлежит бактериологическому исследованию. Все сырье, используемое для изготовления изделий с кремом, должно соответствовать требованиям действующих нормативных документов. Если в процессе хранения возникает сомнение в качестве сырья, проводят дополнительные исследования.

Полуфабрикаты и готовая продукция контролируется ведомственной лабораторией 1 - 3 раза в неделю в каждой смене. Периодичность санитарно-бактериологического контроля для каждого предприятия согласовывается с местной санитарно-эпидемиологической службой в зависимости от мощности и санитарно-технического состояния предприятия, сменности работы и штата бактериологов в лаборатории.

Контроль санитарно-гигиенического состояния производственного оборудования, рук, спецодежды работников осуществляется путем взятия смывов не реже 1 раза в неделю в каждой смене на наличие бактерий группы кишечных палочек и коагулазоположительных стафилококков.

Питьевая вода, подаваемая на бытовые и производственные нужды, должна подвергаться бактериологическому анализу не реже 1 раза в месяц.

Воздух производственных помещений контролируется не реже 1 раза в месяц.

Лаборатории санэпидстанций осуществляют выборочный контроль на всех стадиях технологического процесса не реже 1 раза в квартал.

Анализ на патогенные микроорганизмы, в т. ч. сальмонеллы, лаборатории санэпидстанций проводят в порядке осуществления госнадзора или по договорам с предприятиями.

3. Методы отбора проб сырья, компонентов готовой продукции

3.1. Отбор проб для микробиологического анализа проводят по ГОСТ 26668-85 "Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологического анализа".

3.2. Пробы для микробиологических исследований отбирают до отбора проб для физико-химических и органолептических анализов асептическим способом, исключая микробное загрязнение продукта из окружающей среды.

3.3. Посуду, инструменты и материалы, используемые для отбора проб, стерилизуют в автоклаве 30 минут при температуре + 121 град. С или в сухожаровом шкафу 60 минут при температуре + 170 град. С.

3.4. Масса (объем) пробы устанавливается в соответствии с НТД на конкретный вид продукции, она должна быть достаточной для проведения микробиологических анализов. От продукции, масса которой превышает массу пробы, от неупакованной продукции или в специализированных транспортных средствах отбирают среднюю пробу в одну посуду, путем взятия точечных проб из разных мест и с различной глубины, а также с поверхностных слоев, соприкасающихся с тарой. Время доставки проб в лабораторию не более 6 часов при температуре + 5 град. С.

3.5. Масло сливочное. Пробу масла из монолита отбирают стерильным щупом на расстоянии 3 - 5 см от края, направляя щуп к противоположной стороне и опуская на 3/4 его длины. Из столбика масла на щупе отбирают стерильным шпателем 15 - 20 г масла в стерильную посуду. Пробы масла отбирают отдельно от каждой партии и каждой сбивки. После измельчения отбирают стерильным шпателем 15 - 20 г масла путем взятия точечных проб в стерильную посуду. При исследовании масла на патогенную микрофлору объем пробы составляет 50 г.

3.6. Молоко сгущенное в транспортной таре. Герметично укупоренную тару моют, ополаскивают и высушивают в подготовительном отделении. Место вскрытия тары фламбруют, вскрывают и отбирают на анализ 40 - 50 г стерильной трубкой или черпаком с различной глубины не менее чем из трех слоев в стерильную посуду. После отбора тару закрывают для предотвращения загрязнения из окружающей среды.

3.7. Яичная масса, белок для кремов, сиропы, рабочие растворы красителей. Перед отбором пробы содержимое емкости тщательно перемешивают. Пробу в количестве 50 куб. см отбирают стерильной пипеткой, стеклянной трубкой или черпаком в стерильную посуду.

3.8. Кремы всех видов, суфле, зефирные и суфлейные массы, повидло, джем. Пробы отбирают с различной глубины (поверхностного, среднего и нижнего слоев) в стерильную посуду в количестве 50 куб. см.

3.9. Крошка для обсыпки. Пробу отбирают после тщательного перемешивания в количестве 50 г в стерильную посуду.

3.10. Торты, пирожные. Пробу отбирают таким образом, чтобы в нее входили все компоненты в соотношениях, в которых они находятся в готовом продукте. Допускается, в зависимости от цели анализа, отбирать только крем.

4. Подготовка к анализу

4.1.1. Из каждой пробы продукта в зависимости от определяемых показателей отбирают одну или несколько навесок (объемов) для приготовления разведений или высева в питательные среды. Навеску (объем) продукта для посева отбирают весовым или объемным методом так, чтобы с ней были представлены все его компоненты и в том же соотношении, что и в анализируемой пробе.

4.1.2. Для приготовления разведений продукта используется пептонно-солевой раствор.

4.1.3. Навеску 10 куб. см от пробы жидких и вязких продуктов отбирают стерильной пипеткой с ватной пробкой. Часть продукта, оставшуюся на поверхности пипетки, оставляют стечь к острию пипетки. Образовавшуюся каплю удаляют прикосновением к внутренней стенке посуды. Вязкие продукты удаляют с поверхности пипетки стерильным ватным тампоном.

4.1.4. Навеску 10 г от пробы сыпучих, твердых продуктов взвешивают в стерильной посуде с крышкой.

4.1.5. Навеску нерастворимых в воде твердых продуктов гомогенизируют в гомогенизаторах при 3000 оборотов в минуту в течение 5 минут. Допускается гомогенизацию продукта проводить путем растирания в стерильной ступке с соблюдением условий асептики.

4.1.6. Жиры предварительно растапливают на водяной бане при температуре не выше 45 град. С.

4.2. Приготовление разведений продукта для посева.

4.2.1. Навеску продукта переносят в посуду с 90 куб. см пептонно-солевого раствора для приготовления основного разведения таким образом, чтобы при этом пипетка не касалась поверхности пептонно-солевого раствора. Основные разведения твердых продуктов готовят путем добавления к навеске 90 куб см пептонно-солевого раствора в гомогенератор или фарфоровую ступку. Жиры, после растапливания, отбирают подогретой лопаткой 10 куб. см и переносят в посуду с 90 куб. см пептонно-солевого раствора, предварительно подогретого до 40 - 45 град. С. Основное разведение содержит в 1 куб. см - 0,1 г продукта.

4.2.2. Стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое основного разведения и переносят 1 куб. см его в пробирку с 9 куб. см пептонно-солевого раствора, не касаясь пипеткой поверхности раствора. Получаем второе разведение, 1 куб. см которого содержит 0,01 г продукта. Содержимое пробирки второго разведения перемешивают новой стерильной пипеткой, отбирают 1 куб. см и вносят в 9 куб. см пептонно-солевого раствора, не касаясь поверхности раствора. Перемешивают новой стерильной пипеткой. Содержание продукта в 1 куб. см третьего разведения - 0,001 г. Последующие разведения при необходимости готовят аналогичным способом.

5. Методы анализа

5.1. Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Используется метод глубинного посева, основанный на высеве разведений продукта в агаризованную питательную среду, культивировании посевов при 30 град. С $\pm$ 1 в течение 72 часов и подсчете всех мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов с последующим пересчетом на 1 г/куб. см продукта.

Для посева используют также разведения продукта, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний.

В зависимости от предполагаемой степени микробной обсемененности, используют не менее двух разведений из приготовленных (10 в степ. минус 1, 10 в степ. минус 2, 10 в степ. минус 3).

По 1 куб. см из каждого разведения вносят на дно двух стерильных чашек Петри, слегка приоткрывая их. Затем в каждую чашку заливают по 15 - 20 куб. см расплавленного и остуженного до 45 град. С питательного агара с дрожжевым экстрактом и глюкозой, перемешивают чашку круговыми движениями по поверхности стола. После застывания агара чашки помещают вверх дном в термостат при 30 $\pm$ 1 град. С на 72 часа.

При учете результатов подсчитывают все виды колоний невооруженным глазом или с помощью линзы с шестикратным увеличением, а также с помощью прибора для счета колоний. Считают те разведения, где количество колоний находится в пределах от 30 до 300 и по результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое число колоний из всех посевов одного разведения.

Полученный результат округляют:

- если на чашке до 100 колоний, то округляют до числа 5;
- если более 100 и оканчиваются на цифру 5, то округляют до числа кратного 20;
- если более 100 и не оканчивается на цифру 5, то округляют до числа кратного 10.

Количество МАФМ в 1 г продукта вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a \times 10 \text{ в степ. п}}{\text{-----}}, \quad \text{где}$$

$$\text{-----}$$

$$- q$$

a - округленное среднее арифметическое число колоний;

q - объем посеянного материала;

п - степень десятикратного разведения продукта.

5.2. Определение бактерий группы кишечных палочек (колиформные бактерии).

Бактерии группы кишечной палочки - грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу на среде Кесслер с образованием кислоты и газа при 37 град. С $\pm$ 1. К ним относятся бактерии родов Эшерихия, Клебсиеллы, Энтеробактер, Дитробактер и Серрация.

Из разведения 10 в степ. минус 2 проводят высев 1 куб. см (0,01 г продукта) в пробирку, содержащую 9 куб. см среды Кесслер с поплавком.

Посевы инкубируют при 37 град. С $\pm$ 1 и в течение 48 часов с обязательным просмотром посевов через 24 часа инкубации.

Через 24 часа из пробирок с наличием газа проводят высев на плотную дифференциально-диагностическую среду Эндо. Пробирки со средой Касслер без газообразования оставляют в термостате еще на 24 часа, после чего, независимо от наличия газа, проводят высев на среду Эндо, инкубация при 37 град. С $\pm$ 1 в течение 18 - 24 часов.

Учет посевов на среде Эндо.

1. Рост микроорганизмов отсутствует - выдается ответ об отсутствии БГКП в засеянном объеме (0,01 г) продукта.

2. При наличии колоний (красных, красных с металлическим блеском, розовокрасных, бледнорозовых) проводят микроскопию. Для этого готовят не менее 5 мазков из каждой разновидности колоний, препараты окрашивают по Граму и микроскопируют. При обнаружении хотя бы в одном мазке грамотрицательных палочек, выдают ответ об обнаружении БГКП (колиформных бактерий) в данном объеме (массе) продукта.

Приготовление и окраска мазков.

На обезжиренное предметное стекло наносят одну каплю стерильной дистиллированной (водопроводной) воды и в ней растирают материал, взятый петлей из характерной колонии на плотной среде (или из жидкой среды). Мазок высушивают на воздухе, фиксируют трехкратным проведением над пламенем горелки. На фиксированный препарат укладывают фильтровальную бумагу, на которую наносят карболовый раствор генцианвиодата (можно использовать заранее приготовленные бумажки по Синеву) на одну минуту, затем краску сливают и, не промывая водой, наливают раствор Люголя на 30 - 40 секунд (до почернения), стекло промывают в спирте до отхождения синей краски (30 - 40 сек.), промывают водой и докрашивают 1 - 2 минуты разведенным перед окраской фуксином Циля (1 куб. см фуксина Циля и 9 куб. см дистиллированной воды). После докрашивания препарат тщательно промывают водопроводной водой, высушивают на воздухе или фильтровальной бумагой и микроскопируют с использованием иммерсионной системы.

Микроорганизмы, красящиеся по Граму, окрашиваются в сине-фиолетовый цвет основного красителя, не красящиеся по Граму - в розовый цвет дополнительного красящего раствора.

5.3. Определение коагулазоположительных стафилококков.

Метод основан на определении наличия коагулазоположительных стафилококков в определенном объеме (массе) продукта.

Коагулазоположительные стафилококки - грамположительные, каталазоположительные кокки, имеющие при микроскопии вид виноградных гроздьев и образующие на дифференциально-диагностической среде (желточно-солевом агаре) белые, лимонно-желтые, желтые, кремовые круглые колонии с ровным краем, слегка возвышающиеся над поверхностью агара, с наличием радужного венчика или без него и вызывающие коагулирование плазмы.

Для посева используют разведение 10 в степ. минус 1 для изделий с фруктовым отделочным полуфабрикатом и 10 в степ. минус 2 для изделий со сливочным кремом. По 1 куб. см соответствующих разведений засевают в пробирку с 9 куб. см солевого бульона, инкубируют при 37 град. С в течение 18 - 24 часов, после чего проводят высев на плотную питательную среду для получения изолированных колоний. Посевы инкубируют при 37 ± 1 град. С в течение 48 часов с обязательным просмотром чашек через 24 часа.

Подозрительные колонии отливают на скошенный мясопептонный агар, инкубируют при 37 град. С ± 1 в течение 18 - 24 часов для накопления культуры. Готовят мазки, окрашивают их по Граму, микроскопируют. При наличии в мазке грамположительных кокков проводят пробу на наличие фермента каталазы, для чего в каплю 3 % перекиси водорода на предметном стекле вносят петлю используемой культуры. В положительном случае появляются пузырьки газа. Перекись водорода хранят в посуде из темного стекла не более 7 суток.

Культуры, дающие положительную пробу на каталазу, испытывают в реакции плазмокоагуляции, для чего используют сухую цитратную кроличью плазму в разведении 1 : 4. В стерильные пробирки с соблюдением правил асептики наливают по 0,5 куб. см разведенной плазмы, в которую вносят по одной петле исследуемых суточных культур и инкубируют при 37 град. С ± 1 . Предварительный учет проводят через 2 - 4 часа инкубации. Если коагуляция плазмы не произошла, инкубацию продолжают до 24 часов, после чего проводят окончательный учет. Пробу проводят с обязательной постановкой контроля с заведомо положительной культурой стафилококка и контроля плазмы, оставляя незасеянной одну пробирку. Реакцию считают отрицательной в тех случаях, когда в плазме не образуются отдельно нити или сгустки.

При получении положительной реакции плазмокоагуляции считают, что в засеянной массе продукта обнаружен патогенный стафилококк.

5.4. Определение патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл.

При исследовании плотных пищевых продуктов подготовленную навеску (25 г) засевают в среду обогащения в соответствии 1 : 4, т. е. на 25 г навески берут 100 куб. см среды обогащения - селенитовый бульон, магниевая среда, среда Мюллера, Кауфмана. Жидкие и полужидкие пищевые продукты засевают в среду обогащения в количестве 25 куб. см, при этом пользуются средой двойной концентрации в соотношении 1 : 1. Посевы инкубируют при температуре 37 ± 1 град. С в течение 18 - 20 часов.

Из сред обогащения производят высев на плотные питательные среды (Эндо, Плоскирова, висмут сульфитный, агар), и инкубируют при температуре 37 ± 1 град. С в течение 18 - 20 часов.

На среде Эндо патогенные микроорганизмы растут в виде круглых, безцветных или слегка розоватых прозрачных нежных колоний. На среде Плоскирова колонии также бесцветные, но более плотные и несколько меньших размеров. На висмут сульфитном агаре сальмонеллы, как правило, растут в виде черных колоний с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют сальмонеллы паратифа А и некоторые сероварианты из группы С и других групп, которые на этой среде образуют нежные светло-зеленоватые колонии. Посевы на висмут сульфитном агаре просматривают дополнительно через 48 часов инкубации.

Если на чашках подозрительные колонии отсутствуют, выдается отрицательный ответ.

Из 3 - 5 подозрительных колоний производят пересев в пробирки с комбинированными средами (трехсахарный агар с мочевиной - Олькеницкого, Клиглера). Посев делают сначала штрихами по скошенной поверхности, а затем уколом вглубь столбика и инкубируют при 37 ± 1 град. С в течение 18 - 20 часов.

На третий день исследования проводят микроскопию (окраска по Граму) и идентификацию культур, высеванных накануне в комбинированную среду.

Если культура в препарате имеет вид грамотрицательных палочек, не ферментирует лактозу, не расщепляет мочевины, но ферментирует глюкозу с образованием газа или без него, ее подвергают дальнейшему изучению.

Все подозрительные культуры изучают по биохимическим и серологическим свойствам в соответствии с "Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями", М., 1984 г.

На четвертый день исследования проводят учет биохимических свойств, серологическую идентификацию выделенных культур и выдачу результата.

5.5. Исследование смывов с инвентаря и оборудования.

5.5.1. Взятие смывов. Смывы с оборудования и инвентаря производят до начала работы или после санитарной обработки.

Смывы с рук отбирают перед началом производственного процесса, после пользования туалетом. Смывы на патогенный стафилококк допускается проводить во время работы для вспомогательного контроля технологического процесса.

Смывы берут стерильными ватными тампонами. Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют пептонно-солевым раствором, разлитым по 2 куб. см в стерильные пробирки. После взятия смыва тампон помещают в ту же пробирку, из которой проводили увлажнение. При контроле жирных поверхностей пользуются сухими тампонами. Смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с поверхности 100 кв. см в разных местах исследуемого предмета. При взятии смывов с мелких предметов обтирают всю рабочую поверхность предмета, причем одним тампоном протирают три одноименных предмета. Смывы с рук отбирают увлажненным тампоном, проводя не менее 5 раз по ладоням и пальцам, затем протирают участки между пальцами, ногти и под ногтями.

При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 кв. см с нижней части каждого рукава и с выступающих поверхностей передней части спецовки.

Допускается отбор смывов непосредственно на дифференциально-диагностические среды (Кесслер, КОДА, солевой бульон).

5.5.2. Методика исследования смывов.

Отобранные смывы встряхивают. Для выявления коагулоположительных стафилококков тампон погружают в солевой бульон, используемый в качестве среды накопления, разлитый в пробирки по 5 куб. см и содержащий 6,5 % хлористого натрия.

Для выявления бактерий группы кишечных палочек в разлитую по 5 куб. см среду КОДА или Кесслер с поплавками пипеткой переносят остатки смывной жидкости. Посевы выдерживают в термостате 18 - 24 часа при 37 ± 1 град. С.

Из солевого бульона производят высевы на сектора чашки с ЖСА, со среды Кесслер на плотную дифференциально-диагностическую среду Эндо, со среды КОДА высевают в случаях изменения окраски среды или ее помутнения.

Дальнейшее исследование проводят по п. 5.2 и 5.3.

5.6. Исследование смывов из зева и носа на наличие патогенного стафилококка.

Исследованию подвергают слизь из передних отделов носа, исследование слизи из зева проводят по показаниям при наличии воспалительных процессов в зеве.

Забор материала из передних отделов носа осуществляют одним стерильным ватным тампоном из обеих половин носа. Сбор материала из зева проводят с поверхности миндалин стерильным ватным тампоном.

Посев материала на питательные среды должен производиться не позже, чем через 2 часа после его забора.

Посев проводят тампоном, которым забирали материал на плотную среду ЖСА. Тампон следует многократно поворачивать, чтобы перенести на питательную среду максимальное количество взятого материала. Посевы выдерживают в термостате при 37 ± 1 град. С 48 часов, предварительно просматривая их через 24 часа.

Дальнейший ход исследования на обнаружение коагулазоположительных стафилококков производят как указано в соответствующем разделе.

Массивность обсеменения, выражающаяся показателем 10 в степ. 2 микробных клеток, снимаемых на тампон, является показателем умеренной обсеменности верхних дыхательных путей. При таком обсеменении выделение возбудителя во внешнюю среду, как правило, не имеет места.

Обсемененность, выражающаяся показателем 10 в степ. 3 и более микробных клеток, снимаемых на тампон, является показателем высокой обсемененности, при которой происходит выделение возбудителя во внешнюю среду как при различных экспираторных актах, так и при спокойном дыхании.

В качестве ориентировочного определения массивности обсеменения верхних дыхательных путей можно пользоваться оценкой роста колоний на чашках при прямом посеве, в крестах обозначая:

+ + + + сливной рост

+ + + сплошной рост изолированных колоний

+ + значительный рост (до 100 колоний)

+ единичные колонии.

Сливной и сплошной рост соответствует, как правило, массивности обсеменения 10 в степ. 3 и выше микробных клеток, снимаемых на тампон.

5.7. Исследование питьевой воды.

Отбор проб воды, хранение и проведение исследований осуществляют по ГОСТ 18963-73 "Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа". Оценка результатов исследования для питьевой воды централизованного водоснабжения по ГОСТ 2874-82 "Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством".

В 1 куб. см питьевой воды не должно содержаться более 100 бактерий, число бактерий группы кишечных палочек в 1 куб. дм воды (коли-индекс) не более 3.

5.8. Исследование воздушной среды.

Пробы воздуха отбирают в производственных помещениях перед началом работы. Форточки и двери должны быть закрыты. Уровень высоты отбора проб соответствует высоте рабочего стола.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью приборов для бактериологического анализа воздуха.

Для определения общего количества бактерий отбирают 100 литров, для определения золотистого стафилококка - 250 л воздуха.

Допускается использовать садиментационный метод, время экспозиции 30 минут.

Для определения общего содержания бактерий отбор производят на 2 % питательный агар, разлитый в чашки по 15 куб. см. Для определения золотистого стафилококка используют желточно-солевой агар.

Чашки с посевами на питательном агаре инкубируют при 37 ± 1 град. С 24 часа, на среде ЖСА при 37 ± 1 град. С 48 часов.

Посевы просматривают, подсчитывают количество выросших колоний. Колонии, подозрительные на золотистый стафилококк, подсчитывают и проводят идентификацию.

Воздух считается практически чистым, если на чашках с питательным агаром выросло не более 100 КОЕ, на среде ЖСА - золотистый стафилококк отсутствует.

6. Питательные среды и реактивы

6.1. Питательные среды и реактивы общего назначения

6.1.1. Пептонно-солевой раствор.

8,5 г хлористого натрия и 1,0 г пептона растворяют в 1 куб. дм дистиллированной воды при медленном нагревании. Полученный раствор при необходимости фильтруют через бумажный фильтр, устанавливают pH $7,0 \pm 0,1$, разливают в колбы по 90 куб. см, пробирки по 9 куб. см или в другую посуду, укупоривают и стерилизуют при температуре 121 град. С в течение 30 минут.

6.1.2. Для приготовления жидкого дрожжевого экстракта в кастрюлю вместимостью 3 куб. дм нарезают небольшими кусочками 100 г пекарских прессованных дрожжей и заливают 0,5 куб. дм воды. Смесь ставят в термостат, выдерживают при 58 - 60 град. С в течение 2 суток, встряхивая 1 - 2 раза в сутки. Конец автолиза устанавливают по полному разжижению дрожжей. Экстракт должен иметь коричневый оттенок и приятный запах. Приготовленный жидкий дрожжевой экстракт переносят в колбы и стерилизуют при 112 ± 2 град. С в течение 20 минут. 0,005 куб. дм приготовленного дрожжевого экстракта равноценно 1 г дрожжевого экстракта в порошке.

6.1.3. Мясопептонный агар готовится согласно прописи на этикетке.

6.1.4. Растворы реактивов для окраски микропрепаратов по Граму.

Карболовый раствор фиолетового генциана

фиолетовый генциан	-	1,0 г
фенол	-	5,0 г
этиловый спирт с массовой долей 95 %	-	10,0 куб. см

В фарфоровую ступку вместимостью 300 куб. см наливают 10 куб. см спирта, добавляют 1 г фиолетового генциана и 5 г фенола, смесь тщательно растирают, переносят в мерную колбу вместимостью 100 куб. см и доводят водой до метки.

Приготовленный раствор хранят во флаконе из темного стекла с притертой пробкой.

Раствор Люголя

йод	-	1,0 г
йодистый калий	-	2,0 г

Во флакон из темного стекла с притертой пробкой вместимостью 500 куб. см вносят 1 г йода, 2 г йодистого калия и наливают 300 куб. см воды.

Фуксин Циля

Фенол	-	5,0 г
Основной фуксин	-	1,0 г
Этиловый спирт с массовой долей 96 %	-	10,0 куб. см

В фарфоровую ступку вместимостью 300 куб. см вносят 5 г фенола, 10 куб. см спирта и 1 г основного фуксина, тщательно растирают и добавляют 80 куб. см воды. Смесь переносят в мерную колбу вместимостью 100 куб. см и доводят водой до метки.

Приготовленный раствор хранят во флаконе из темного стекла с притертой пробкой.

6.2. Специальные питательные среды и реактивы

6.2.1. Среда для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

6.2.1.1. Бульон мясопептонный с агаром, глюкозой и дрожжевым экстрактом. В кастрюлю вместимостью 2 куб. дм наливают 1 куб. дм раствора бульона или мясной воды (для приготовления мясной воды в кастрюлю вместимостью 2 куб. дм помещают 500 г мяса, освобожденного от костей, сухожилий и жира, пропущенного через мясорубку, приливают 1 куб. дм водопроводной воды, нагревают до кипения и кипятят на слабом огне 1,5 часа, периодически помешивая и добавляя водопроводной водой до первоначального объема). Для определения готовности смеси, фильтруют сначала небольшое количество ее в пробирку через бумажный фильтр, если жидкость прозрачная, кипячение прекращают. Приготовленную смесь охлаждают, фильтруют через ткань и доводят pH смеси до $7,1 \pm 0,1$. Добавляют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия, 1 г глюкозы и 2 г дрожжевого экстракта в порошке или 10 куб. см жидкого дрожжевого экстракта, кипятят на слабом огне 1 - 2 минуты, периодически помешивая. Смесь фильтруют через бумажный фильтр в цилиндр вместимостью 1 куб. дм, доводят объем смеси водой до 1 куб. дм, устанавливают pH до $7,1 \pm 0,1$, добавляют 15 - 20 г агара, доводят до кипения и кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара.

Приготовленную среду стерилизуют при 121 ± 2 град. С в течение 20 минут.

6.2.2. Среда для обнаружения бактерий группы кишечных палочек.

6.2.2.1. Среда Кесслера. К 1 куб. дм водопроводной воды добавляют 10 г пептона и стерильной бычьей желчи 50 куб. см, растворяют нагреванием на водяной бане при 80 - 85 град. С в течение 20 - 30 минут при постоянном помешивании смеси. Затем смесь фильтруют через ватно-марлевый фильтр в колбу и добавляют 2,5 г лактозы, переносят в цилиндр вместимостью 1 куб. дм и доводят объем водопроводной водой до метки, устанавливают pH $7,4 \pm 0,2$, добавляют 4 куб. см 1 % водного раствора кристаллического фиолетового. Приготовленную среду разливают по 90 куб. см во флаконы и по 9 куб. см в пробирки с поплавками и стерилизуют при 121 ± 2 град. С в течение 10 минут.

Среда после стерилизации должна быть темно-фиолетового цвета, в поплавах должны отсутствовать пузырьки воздуха.

Для приготовления среды используют также сухую питательную среду Кесслер производственного изготовления (состав и способ приготовления на этикетке).

6.2.2.2. Среда КОДА.

Среду готовят по прописи на этикетке. Разливают по 5 куб. см в пробирки без поплавков.

6.2.2.3. Среда Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар.

Среды готовят согласно прописи на упаковке. Изготовленные и разлитые в стерильные чашки Петри среды можно хранить в холодильнике при температуре 6 ± 2 град. С не более 10 суток.

6.2.3. Среды и реактивы для обнаружения бактерий рода Сальмонелла.

6.2.3.1. Магниева среда. Среду готовят из трех растворов.

Раствор I

Пептон	-	4,2 г
Натрий хлорид	-	7,15 г
Калий дигидрофосфат (KH ₂ PO ₄)	-	1,43 г
Дрожжевой диализат	-	9 куб. см
Вода дистиллированная	-	890 куб. см

Раствор II

Магний хлорид (MgCl ₂ × 6H ₂ O)	-	36,7 г
Вода дистиллированная	-	90 куб. см

Раствор III

Бриллиантовый зеленый 0,5 % водный раствор	-	0,9 куб. см
--	---	-------------

Все три раствора смешивают, разливают определенные объемы в колбы, флаконы или пробирки, стерилизуют при 112 град. С 30 минут.

6.2.3.2. Среда Мюллера

Мел, стерилизованный сухим жаром, или	-	45 г
Кальций карбонат (CaCO ₃), сухой, стерильный	-	23 г
Бульон Хоттингера, содержащий 1,2 - 1,3 % аминного азота	-	900 куб. см
Раствор Люголя	-	20 куб. см
Натрий серноватистый (гипосульфат) 50 % стерильный раствор	-	100 куб. см

В стерильные флаконы помещают по 4,5 г мела, стерилизуют сухим жаром, после чего в каждый флакон наливают 90 куб. см бульона Хоттингера. Стерилизуют 30 минут при температуре 121 град. С (pH 7,2 - 7,4). В каждый флакон ex tempore добавляют 2 куб. см раствора

Люголя и 10 куб. см раствора гипосульфита с соблюдением правил асептики, хорошо смешивают и разливают по пробиркам. Последующая стерилизация не требуется.

6.2.3.4. Селенитовый бульон. Готовится из сухого порошка по прописи на упаковке. При отсутствии порошка готовится следующим образом:

Натрий гидроселенит (NaHSeO_3) без примеси теллура	-	4 г
Пептон (желательно венгерский "Рихтер" или чехословацкий "Спофа")	-	5 г
Натрий гидрофосфат безводный (NaHPO_4)	-	7 г
Натрий дигидрофосфат безводный (NaH_2PO_4)	-	3 г
Лактоза	-	4 г
Вода дистиллированная	-	1 куб. дм

Среду готовят из двух растворов. I раствор. Предварительно определяют количественные соотношения фосфатов при данном образце пептона (гидросаленита натрия) с тем, чтобы готовая среда имела pH 6,9 - 7,1. Такая подтитровка нужна всегда при изменении серии любого из входящих в среду основных ингредиентов.

После установления количественных соотношений фосфатов к раствору добавляют пептон и лактозу. Разливают во флаконы по 50 куб. см и стерилизуют текучим паром два дня по 30 минут или такой же срок при 112 град. С. Количество фосфатов в рецепте среды дано в расчете на безводные препараты. При отсутствии таковых заранее заготовленные навески "выветривают" в термостате в течение 15 - 16 суток.

II раствор. 10 % раствор натрия гидроселенита готовят на стерильной дистиллированной воде *ex tempore*.

Перед началом работы в каждый флакон с 50 куб. см основного (I) раствора добавляют 1 куб. см раствора натрия гидроселенита (раствор II), асептически разливают по 5 - 7 куб. см в стерильные пробирки и закрывают плотно пробками. Дальнейшая стерилизация не требуется. Основной (I) раствор среды можно хранить в холодильнике 1 - 2 мес. Для приготовления среды следует использовать высококачественный пептон.

6.2.3.4. Агар Клингера.

Бульон мясной	-	1 куб. дм
Пептон	-	20 г
Лактоза	-	10 г
Глюкоза	-	1 г
Натрий хлорид	-	5 г
Натрий сульфит (Na_2SO_3)	-	0,4 г
Натрий тиосульфит ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$)	-	0,08 г
Железо (II) сульфат ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$)	-	0,5 г
Агар	-	20 г

Феноловый красный (0,2 % раствор в 50 % этиловом спирте)	-	12 куб. см
--	---	------------

К мясному бульону последовательно добавляют пептон, соли натрия, агар и кипятят до полного расплавления агара; устанавливают pH 7,8, снова кипятят, фильтруют через вату и затем добавляют остальные ингредиенты; сульфат железа предварительно растворяют в малом количестве воды. Готовую среду разливают в пробирки по 6 - 7 куб. см и стерилизуют при 112 град. С 30 минут. Смешивают так, чтобы оставить столбик высотой 2 - 2,5 см.

6.2.3.5. Трехсахарный агар с мочевиной (ср. Олькеницкого).

Агар питательный сухой	-	25 г
Лактоза	-	10 г
Сахароза	-	10 г
Глюкоза	-	1 г
Аммоний-железо (II) сульфат Соль Мора	-	0,2 г
Натрий гиосульфат (гипосульфит)	-	0,3 г
Мочевина	-	10 г
Феноловый красный (0,4 % водный раствор)	-	4 куб. см
Вода дистиллированная	-	1 куб. дм

Соли предварительно растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды. Углеводы и мочевину растворяют таким же образом, но при подогревании в водяной бане. Сухой питательный агар расплавляют в остальной воде при нагревании на огне и помешивании. Затем все ингредиенты соединяют, перемешивают с расплавленным агаром, фильтруют через марлевый фильтр, устанавливают pH 7,2 - 7,4. Добавляют индикатор, хорошо перемешивают, разливают в пробирки по 6 - 7 куб. см. Стерилизуют текущим паром 3 дня подряд по 20 минут. Смешивают, оставляя столбик 2 - 2,5 см.

Готовая среда бледно-розового цвета.

6.2.4. Среда и реактивы для обнаружения стафилококков.

6.2.4.1. Солевой бульон. К 1 куб. дм мясопептонного бульона с pH 7,2 ± 0,1 добавляют 65 г хлористого натрия, разливают в пробирки и флаконы. Стерилизуют в автоклаве при 120 град. С 20 минут.

6.2.4.2. Желточно-солевой агар. Куриное яйцо тщательно моют водопроводной водой щеткой с мылом, протирают поверхность 70 % этиловым спиртом, желток отделяют, соблюдая правила асептики, и вносят в колбу вместимостью 250 куб. см, добавляют 100 - 150 куб. см стерильного физиологического раствора. Взвесь тщательно перемешивают встряхиванием.

Основа - солевой агар: к 1 куб. дм мясо-пептонного бульона с pH 7,2 - 7,4 добавляют 20 г агара и 65 г хлористого натрия, расплавляют, при необходимости фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в колбы и стерилизуют при 121 град. С 30 минут.

Вместо мясо-пептонного бульона можно использовать сухой питательный агар, добавив к нему 6,5 хлористого натрия.

К 80 куб. см стерильного расплавленного и остуженного до 45 град. С солевого агара добавляют 20 куб. см эмульсии яичного желтка. После полного размешивания ЖСА разливают в стерильные чашки Петри по 20 - 25 куб. см и хранят в холодильнике по 5 - 7 дней.

Примечание:

При необходимости использования сред двойной концентрации масса (объем) всех ингредиентов, кроме воды, удваивается.

Приложение 1

ФОРМА ЖУРНАЛА
исследований сырья, полуфабрикатов и готовых кремовых кондитерских изделий

N п/п	Дата отбора проб	Мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы			БГКП			
		Засеваемый объем	Количество выросших колоний	Число МАФАМ	Засеваемый объем	Среда Кеслер	Среда Эндо	Микроскопи
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Продолжение

в том числе сальмонеллы											Результат исследования	Дата окончания подписи лица, проводящего исследование	
Биохимические тесты идентификации										фаголизис			агглютинация с поливал. О и Н сыворотк.
23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36

Примечание: Для ведомственных лабораторий графы 16 - 34 опустить.

Приложение 2

ФОРМА ЖУРНАЛА
исследований смывов с инвентаря, оборудования и рук

N п/п	Дата отбор. смыв.	Место отбора смыв.	Исследования на БГКП			Исследования на стафилококк				
			ср. Кессл.	ср. Эндо	микроскопия	Солев. бульон	ЖСА	Микроскопия	Каталаза	т
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	