МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель Министра - Главный государственный санитарный врач Республики Беларусь
_____ А.А.Тарасенко
«__14__» ____06_____ 2021 г.
Регистрационный № 003-0621

МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»; республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Тонко О.В., д.м.н., профессор Коломиец Н.Д., к.м.н., доцент Ханенко О.Н., д.б.н., доцент Дудчик Н.В., Грек Д.С.

Минск, 2021

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра —
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь

_____ А. А. Тарасенко
21.06.2021
Регистрационный № 003-0621

МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», РУП «Научно-практический центр гигиены»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. О. В. Тонко, д-р мед наук, проф. Н. Д. Коломиец, канд. мед. наук, доц. О. Н. Ханенко, д-р биол. наук, доц. Н. В. Дудчик, Д. С. Грек

Минск 2021

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Настоящая инструкция разработана для целей реализации пункта 3 Специфических санитарно-эпидемиологических требований к объектам промышленности по переработке сельскохозяйственной продукции, продовольственного сырья и производству пищевой продукции, утвержденных постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 05 марта 2019 г. № 146, санитарных норм и правил «Санитарно-эпидемиологические требования к осуществлению производственного контроля при производстве, реализации, хранении, транспортировке продовольственного сырья и (или) пищевых продуктов», утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30 марта 2012 г. № 32 (в ред. постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30 марта 2015 г. № 32 и 02 декабря 2016 г. № 121).

2. В настоящей инструкции изложен метод прогнозирования санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения пищевых производств (далее — метод).

Метод предназначен для использования при осуществлении государственного санитарного надзора при оценке эффективности программ производственного контроля на пищевых производствах, в комплексе санитарно-эпидемиологических услуг, направленных на медицинскую профилактику заболеваний населения, ассоциированных с пищевым путем передачи.

3. Настоящая инструкция предназначена для специалистов учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор, учреждений образования, имеющих кафедры по подготовке, переподготовке и повышению квалификации специалистов с высшим образованием в области эпидемиологии, микробиологии, гигиены и специалистов иных учреждений, осуществляющих разработку, проведение и оценку эффективности программ производственного контроля на пищевых производствах.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

4. Для целей настоящей инструкции используются следующие термины и их определения:

среда технологического окружения — производственные, вспомогательные и бытовые помещения, здания, сооружения, технологическое оборудование, система вентиляции, система водоснабжения, транспорт, материалы и изделия, контактирующие с пищевой продукцией;

пищевые производства — объекты промышленности по переработке сельскохозяйственной продукции, продовольственного сырья, производству пищевой продукции, объекты продовольственной торговли и общественного питания;

изготовитель — юридическое лицо, осуществляющее переработку сельскохозяйственной продукции, продовольственного сырья и производство пищевой продукции, в том числе производство продукции общественного питания;

индикаторные микроорганизмы — микроорганизмы, которые обитают на коже, в

желудочно-кишечном тракте, в верхнем отделе дыхательных путей человека и животных и являются индикаторами биологического загрязнения среды технологического окружения (далее — ИМ);

патогенные микроорганизмы — микроорганизмы, потенциально способные при попадании в организм человека или животного вызывать выраженное заболевание или носительство микроорганизмов с пищевым путем передачи (далее — ПМ).

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

5. Общие требования установлены в ГОСТ ISO 7218. Используется оборудование, расходные материалы, средства измерения микробиологической лаборатории, а также:

контактная чашка — пластиковая чашка, заполненная агаровой средой с нормируемым объемом (выбранной в зависимости от вида определяемых микроорганизмов) для отбора проб с поверхностей. Чашки могут различаться по величине диаметра или площади в зависимости от типа поверхности, с которой отбирают пробы. Агаровая среда в чашке должна иметь выпуклую форму. Допустимо использовать любое другое приспособление (питательная среда в эластичном или жестком контейнере), которое обеспечивает соприкосновение с поверхностью;

дипслайд — синтетическое предметное стекло площадью 7–10 $см^2$, обе стороны которого покрыты слоем плотной питательной среды (выбранной в зависимости от идентифицируемых микроорганизмов;

готовая сухая подложка — система с набором питательных веществ, герметично закрытая непроницаемой мембраной, которая снимается перед посевом, закрывается после него;

тампон на аппликаторе (зонд-тампон) — тампон из ваты или синтетического материала (например, альгинат или вискозное волокно) на аппликаторе, упакованный в пробирку или пакет, не содержащий ингибирующие вещества. Тампон на аппликаторе должен быть стерильным и упакованным в индивидуальную упаковку;

набор тампон с питательной средой — состоит из целлюлозного сваба, стерильно упакованного, и пробирки с питательной средой;

ткань — влажный, стерильный тканый материал, не содержащий ингибирующих веществ, упакованный индивидуально в стерильные пластиковые пакеты и используемый для отбора проб с больших поверхностей (более 100 $см^2$);

губка — влажная, стерильная, плоская, квадратной формы, не содержащая ингибирующие вещества, упакованная индивидуально в стерильные пластиковые пакеты и используемая для отбора проб с больших поверхностей (более 100 $см^2$);

тест-полоски — набор для экспресс контроля чистоты на поверхностях, основанный на определении никотинамид-аденин-динуклеотида (далее — НАД);

люминометр — системы определения внутриклеточной аденозинтрифосфорной кислоты (далее — АТФ);

тест-тампоны — тампоны одноразового использования, предназначенные для использования с люминометром;

Допускается применение оборудования, расходных материалов, средств измерения с аналогичными по назначению техническими и метрологическими характеристиками.

Перечень питательных сред и реактивов представлен в приложении 1 инструкции.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

6. Оценка эффективности программ производственного контроля на пищевых производствах. Метод предназначен для прогнозирования санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения и выявления рисков, ассоциированных с контаминацией ИМ и ПМ пищевой продукции, на основе анализа результатов микробиологического мониторинга и их трендов.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

7. Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

8. Условия выполнения испытаний в лаборатории

При выполнении испытаний в лаборатории должны быть соблюдены условия согласно ГОСТ ISO 7218.

9. Приготовление питательных сред и реактивов

Питательные среды и реактивы готовят в соответствии с приложением 1 инструкции и другими утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению и стандартами.

10. Определение контрольных точек и времени отбора проб

10.1. Объектами лабораторного контроля являются контрольные точки отбора проб со среды технологического окружения.

10.2. Контрольными точками на пищевых производствах являются: поверхности, оборудование, холодильные камеры; труднодоступные для обработки зоны; резьбовые соединения сосудов и резервуаров; резиновые и силиконовые насадки; руки работающих, перчатки, санитарная одежда; поверхности и края инвентаря, подверженные механическим нагрузкам: лезвие ножей, край пластиковых и металлических совков, разделочные доски, тара и т. д.

10.3. Отбор проб осуществляют с контрольных точек, как контактирующих, так и не контактирующих с пищевой продукцией непосредственно (например, места хранения). Перечень контрольных точек представлен в таблице 1 приложения 2 инструкции.

10.4. Контрольные точки делят на зоны по степени эпидемиологического риска на основании оценки вероятности перекрестной контаминации пищевой продукции ИМ и ПМ в процессе ее производства и анализа результатов мониторинга санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения.

10.5. Зонирование проводят с участием производственного персонала непосредственно на пищевом производстве с учетом плана участка и расстановки оборудования. Устанавливают минимально четыре зоны эпидемиологического риска. Примерный перечень контрольных точек по зонам эпидемиологического риска представлен в таблице 2 приложения 2 инструкции. Карта отбора проб в соответствии с концепцией зонирования представлена в таблице 3 приложения 2 инструкции.

10.6. Проводят регулярный анализ результатов и схемы отбора проб с контрольных точек в соответствии с методом.

10.7. Отбор проб выполняют:

до начала работы, либо во время производственного процесса после проведения обработки поверхностей для оценки эффективности программ мойки и дезинфекции;

в процессе производства, но не ранее чем через 2 ч (оптимально через 3–4 ч) после начала смены или в конце смены до проведения мойки и дезинфекции для выявления мест обитания, источников, факторов и путей передачи ИМ и ПМ;

после окончания производственного процесса (после ополаскивания (смыва) поверхностей до мойки и дезинфекции) для оценки вероятного присутствия патогенов на пищевом производстве в целом. Рекомендуемые области — водостоки и другие точки сбора воды.

10.8. При определении времени отбора проб учитывают производственный график и другие особенности производственного процесса, которые отмечают в паспортной части карты отбора проб (таблица 4 приложения 2 инструкции).

10.9. Отбор проб с контрольных точек выполняют при всех ситуациях, которые могут привести к контаминации ИМ и ПМ пищевой продукции (таблица 5 приложения 2 инструкции).

11. Площадь и количество предметов, подлежащих отбору проб

Площадь и количество предметов определяются нормативными правовыми актами в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, устанавливающих требования к микробиологической безопасности поверхностей, контактирующих с готовой пищевой продукцией.

При отсутствии нормативных правовых актов, устанавливающих требования к микробиологической безопасности других поверхностей, площадь и количество предметов, определяются в соответствии с настоящей инструкцией (приложение 3 инструкции).

12. Подготовка расходных материалов, питательных сред и реактивов к отбору проб:

расходные материалы, питательные среды и реактивы для отбора проб должны храниться и обрабатываться отдельно;

расходные элементы, используемые для отбора проб, не должны остаться в производственной зоне;

отбор проб в труднодоступных участках и с площади меньше или равной 10 х 10 см (100 $см^2$) выполняют стерильным зонд-тампоном;

системы для взятия смывов в виде губки используют для отбора проб с больших площадей;

системы для отбора проб используются сухими или увлажненными. Для увлажнения основания тампона и взятия пробы с оборудования, не содержащего остаточные количества дезинфицирующих средств, используют среды, не содержащие нейтрализатор. В контрольных точках отбора проб, где возможны остаточные количества дезинфицирующих средств, используют нейтрализующий бульон;

увлажненные зонд-тампоны готовят в асептических условиях лаборатории. Конец тампона должен слегка коснуться среды для взятия смывов, таким образом, чтобы с тампона не стекали капли влаги. Затем тампон помещают обратно в пробирку, которая плотно закрывается**.**

увлажненные губки готовят в асептических условиях в лаборатории, записывают объем среды для взятия смывов (например, 10 мл). После увлажнения системы для взятия проб закрываются в пластиковый пакет для обеспечения стерильности и влажности.

Рекомендуемые среды для отбора проб представлены в приложении 1 инструкции.

13. Выбор метода лабораторного контроля и критериев оценки санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения

13.1. Выбор метода и критериев определяются программой производственного контроля или видом оценки предприятия.

13.2. Критерии санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения пищевых производств оценивают:

при государственном санитарном надзоре;

при санитарно-эпидемиологическом аудите;

при разработке и выполнении программ производственного контроля;

при проведении оценки эффективности программ производственного контроля.

13.3. Качественными критериями санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения являются:

обнаружение ПМ (*Salmonella spp., Listeria monocytogenes* и др.);

обнаружение ИМ (бактерии порядка *Enterobacteriales,* бактерии группы кишечной палочки (колиформные бактерии) (далее — БГКП), золотистый стафилококк и др.).

13.4. Количественными критериями санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения являются:

концентрации клеток мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (далее — КМАФАнМ);

концентрации клеток бактерий порядка *Enterobacteriales*, БГКП, золотистого стафилококка и др.

13.5. Основным методом исследования микробной контаминации объектов среды технологического окружения является классический микробиологический метод, который позволяет оценить качественные и количественные критерии санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения.

13.6. Наряду с классическим микробиологическим методом рекомендуется применение альтернативных методов исследований (контактные чашки, дипслайды,

готовые сухие подложки, петрифильмы, самплеры, наборы с индикаторными питательными средами и др.).

13.7. Для проведения мониторинга общего уровня гигиены с целью получения информации об уровне чистоты в тестовой среде, в том числе для оценки эффективности процедур очистки, мойки и дезинфекции дополнительно рекомендуется использовать экспресс-методы, например, системы определения внутриклеточной АТФ, НАД и др.

13.8. Для проведения оценки санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения пищевых производств, эпидемиологического расследования, фенотипических и генотипических характеристик, наличия факторов патогенности и вирулентности микроорганизмов, маркеров резистентности к противомикробным препаратам, проведения внутривидового типирования выделенных изолятов, необходимо применение быстрых методов на основе полимеразной цепной реакции, иммунологических (например, иммуноферментный анализ, проточной цитометрии), масс-спектрометрических методов.

13.9. Определяют число репрезентативных контрольных точек отбора проб в каждой зоне эпидемиологического риска, метод их лабораторного контроля и критерии оценки (таблица 6 приложения 2 инструкции).

13.10. Метод отбора проб с помощью различных систем представлен в приложении 3 инструкции.

14. Транспортировка и хранение проб

14.1. Транспортировка проб осуществляется в сумках-холодильниках при температуре (5±3) °С.

14.2. Время доставки проб в лабораторию не должно превышать 6 ч с момента взятия, если иное не валидировано аккредитованной лабораторией в установленном порядке, как обеспечивающее достоверный результат.

14.3. При необходимости, хранить пробы в лаборатории следует при температуре (3±2) °С. Приступить к анализу необходимо, как только возможно, желательно не позднее чем через 24 ч после поступления проб в лабораторию и не позднее чем через 36 ч после отбора проб. Продолжительность времени до начала анализа должна быть указана в протоколе исследования.

15. Проведение лабораторных исследований

15.1. Проведение лабораторных исследований классическим микробиологическим методом представлено в приложении 4 инструкции.

15.2. При проведении лабораторных исследований рекомендуется использование готовых сухих подложек, контактных чашек и др., содержащих готовые и в т. ч. дегидратированные питательные среды, а так же хромогенные питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке.

15.3. Идентификация и подтверждение видовой принадлежности микроорганизмов проводится с применением биохимической лабораторной идентификации, коммерческих тест-систем идентификации, методов иммуноферментного анализа, импеданса, масс-спектрометрии, микробиологических анализаторов в соответствии с утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению и стандартами.

15.4. Лабораторные исследования методом АТФ-люминометрии проводят для оценки уровня чистоты среды технологического окружения пищевых производств с использованием люминометра и тест-тампонов в соответствии с утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению.

15.5. Лабораторные исследования методом определения НАД проводят для оценки уровня чистоты среды технологического окружения пищевых производств с использованием индикаторных тест-полосок и реактивов к ним в соответствии с утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению.

16. Оценка результатов

16.1. Результаты оцениваются по каждой пробе отдельно и по их совокупности в целом.

16.2. Оценка соответствия результатов проводится в соответствии с нормативными правовыми актами в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, устанавливающими требования к микробиологической безопасности поверхностей, контактирующих с готовой пищевой продукцией.

16.3. При отсутствии нормативных правовых актов в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, устанавливающих требования к микробиологической безопасности других поверхностей, оценка соответствия результатов проводится с учетом настоящей инструкции и критериями оценки санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения, установление которых входит в компетенцию изготовителя и основывается на анализе результатов микробиологического мониторинга и их трендов в ходе выполнения программ производственного контроля.

16.4. Критерием удовлетворительного санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения на пищевом производстве является отсутствие ПМ и ИМ в контрольных точках отбора проб до начала работы, либо во время производственного процесса после проведения обработки поверхностей.

16.5. Критерием неудовлетворительного санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения на пищевом производстве является обнаружение ПМ и ИМ в контрольных точках отбора проб 1 и 2 зон эпидемиологического риска до начала работы, либо во время производственного процесса после проведения обработки поверхностей.

17. Метод прогнозирования санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения пищевых производств

17.1. Изготовитель проводит учет, анализ результатов, сравнивает полученные данные с установленными уровнями микробной контаминации контрольных точек отбора проб различных зон эпидемиологического риска до и во время функционирования предприятия, осуществляет анализ трендов в графическом виде и прогнозирует развитие санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения.

17.2. Данные полученных результатов исследования контрольных точек необходимо документировать.

17.3. Для применения метода результаты вносятся в электронные журналы (например, формат Excel).

Ведение электронного журнала позволяет представлять результаты микробиологического мониторинга и их трендов в наглядной форме, оперативно выявлять и исключать ошибки. Это достигается за счет использования цветового кодирования результатов относительно установленного уровня микробной контаминации контрольных точек отбора проб различных зон эпидемиологического риска, возможности подсчета количества анализов.

17.4. Предлагаемый метод применяется с использованием внутренних возможностей программы Microsoft Excel 2016. Прогноз строится на основании алгоритма экспоненциального тройного сглаживания и опирается на количественные критерии санитарно-эпидемиологического состояния среды технологического окружения.

17.5. Вводятся два ряда данных, которые соответствуют друг другу:

ряд значений даты или времени для временной шкалы;

ряд соответствующих значений уровня микробной контаминации контрольных точек отбора проб (рисунок 1).

	A	B
1	Дата	ОМЧ
2	03.01.2019	400
3	17.01.2019	300
4	31.01.2019	330
5	14.02.2019	410
6	28.02.2019	250
7	14.03.2019	400
8	28.03.2019	450
9	11.04.2019	380
10	25.04.2019	310
11	09.05.2019	390
12	23.05.2019	450
13	06.06.2019	500
14	20.06.2019	440
15	04.07.2019	540
16	18.07.2019	500
17	01.08.2019	470
18	15.08.2019	540
19	29.08.2019	500
20	12.09.2019	520
21	26.09.2019	400
22	10.10.2019	410
23	24.10.2019	480
24	07.11.2019	450
25	21.11.2019	400
26	05.12.2019	370

Рисунок 1. — База данных

17.6. Для временной шкалы требуются одинаковые интервалы между точками данных. Например, это могут быть месячные интервалы со значениями на первое число каждого месяца или с периодом раз в две недели. Если на временной шкале не хватает до 30 % точек данных или есть несколько чисел с одной и той же меткой времени, это не будет влиять отрицательно на прогнозирование. Для повышения точности прогноза, данные необходимо постоянно накапливать и анализировать.

17.7. Выделяются оба ряда данных. На вкладке **Данные** в группе **Прогноз** нажимается кнопка **Лист прогноза** (рисунок 2).

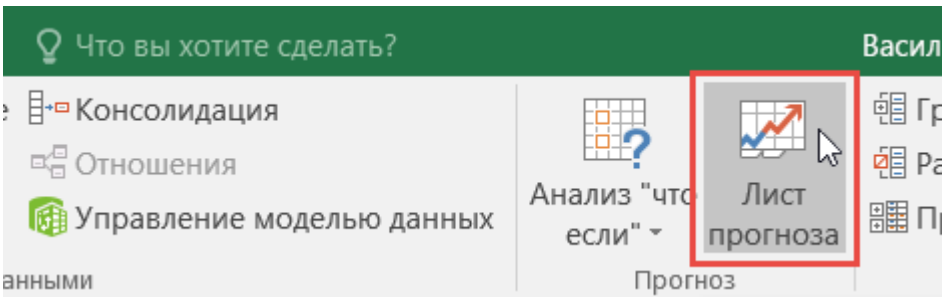

Рисунок 2. — Кнопка Лист прогноза

17.8. В окне **Создание таблицы прогноза** выбирается график для визуального представления. В поле **Завершение прогноза** выбирается запланированная дата, нажимается кнопка **Создать**. Будет создан новый лист с таблицей и диаграммой, содержащий статистические и предсказанные значения (рисунок 3).

17.9.

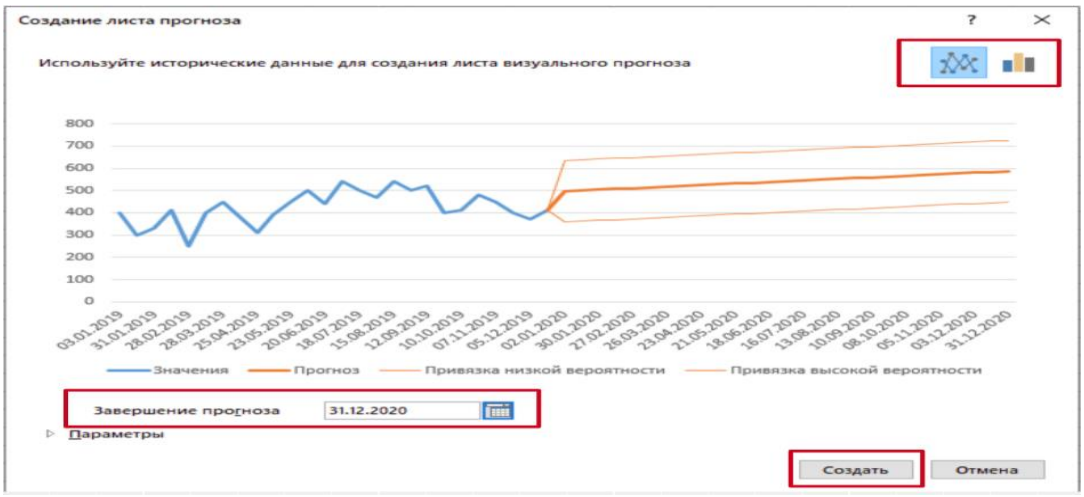

Рисунок 3. — Создание листа прогноза

17.10. Добавление критического (предельно допустимого), благоприятного (приемлемого) и желаемого (целевого) уровней показателей микробной контаминации среды технологического окружения.

17.10. Критический уровень определяется на основе предшествующих данных изготовителя. Необходимо выбрать границу, соответствующую значению, ниже которого лежат 95 % всех измерений. Для этого в листе «Прогноз» во второй ячейке первого пустого столбца вводится формула ПЕРСЕНТИЛЬ («Диапазон»; 0,95), где вместо слова «Диапазон» указывается диапазон значений в таблице, перед буквой и цифрой столбца проставляется значок «$» (рисунок 4).

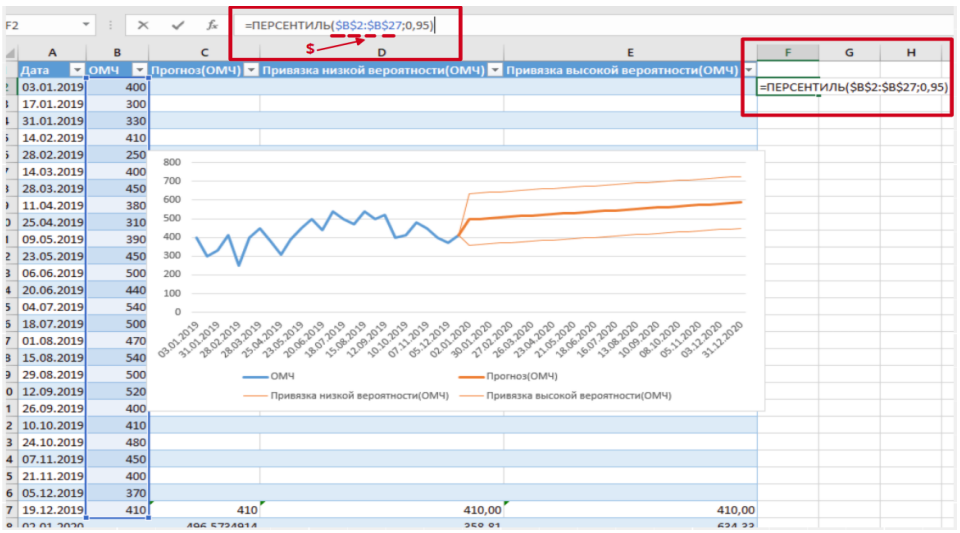

Рисунок 4. — Расчет критического уровня

17.11. Нажимается кнопка Enter. После этого весь столбец автоматически заполняется одинаковыми значениями. Столбец обозначается «Критический уровень» (рисунок 5).

17.12.

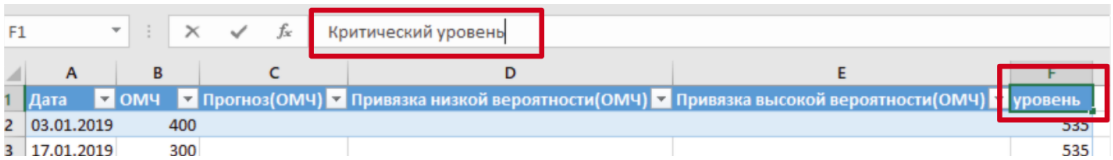

Рисунок 5. — Столбец «Критический уровень»

17.13. Благоприятный уровень задается аналогично критическому, выбрав при этом в качестве границы, например, порог в 80 %. Для этого во вторую строчку следующего пустого столбца копируется уже введенная формула, меняется значение 0,95 на 0,8. Столбец обозначается «Благоприятный уровень» (рисунок 6).

17.14.

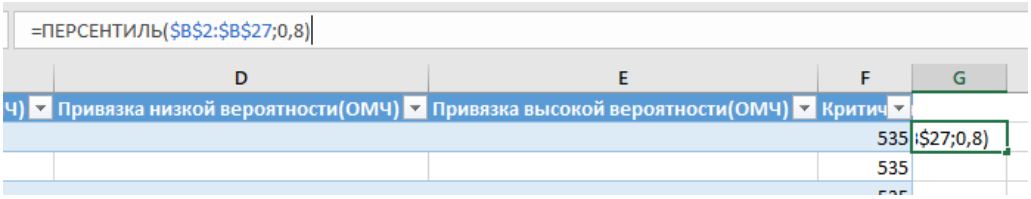

Рисунок 6. — Столбец «Благоприятный уровень»

17.13. Желаемый уровень задается в соответствии с поставленными целями и, например, равняется значению в 50 %. Для этого в следующем пустом столбце вводится значение 50 и с помощью автозаполнения «растягивается» на всю таблицу потянув за маленький квадрат. Столбец обозначается «Желаемый уровень» (рисунок 7).

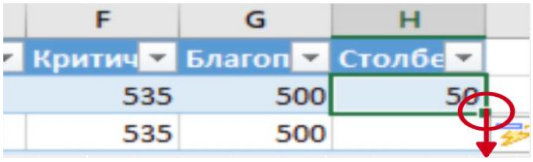

Рисунок 7. — Столбец «Желаемый уровень»

17.15. Выделяется созданная таблица целиком, нажимается Ctrl+Q или картинка в правом нижнем углу выделенной области. Выбирается вкладка «Диаграммы» и потом график «Линия» (рисунок 8).

17.16.

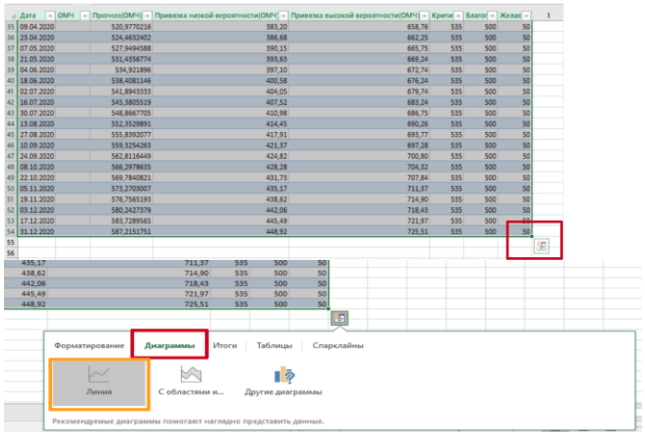

Рисунок 8. — Добавление уровней для прогноза

17.15. Построится график, где необходимо задать цвета линий в «Свойствах» дважды щелкнув по рисунку левой клавишей мыши (рисунок 9).

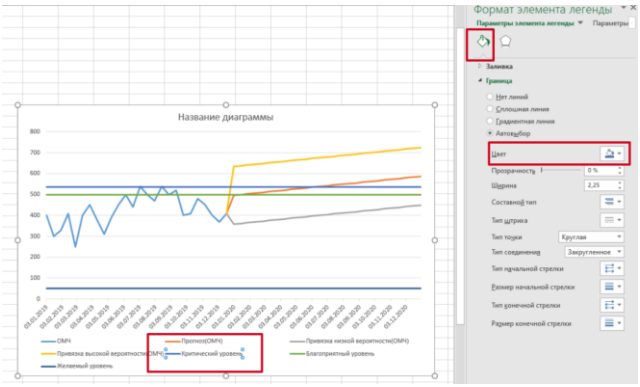

Рисунок 9. — Лист прогноза с ранжированными уровнями

17.16. Если все предсказанные значения в колонке «Прогноз» ниже критического (линия «Прогноз» ниже линии «Критический уровень»), то неблагоприятной тенденции нет, как и нет тенденции к улучшению состояния производственной среды.

17.17. Если линии прогноза и критического уровня пересекаются, наблюдается тенденция к ухудшению состояния объекта (рисунок 10).

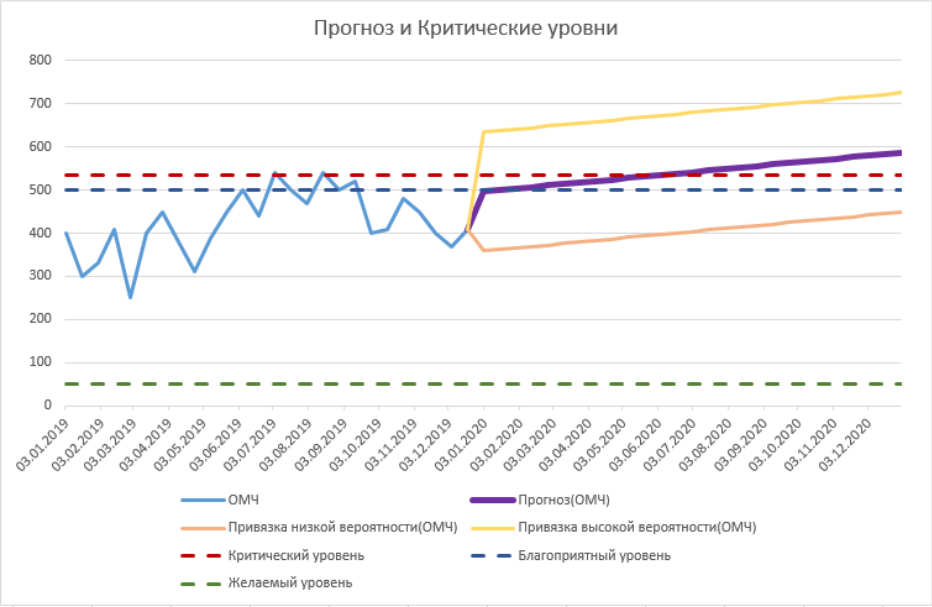

Рисунок 10. — Лист прогноза с неблагоприятной тенденцией

На рисунке 10, ориентировочно, в июне линия прогноза пересечет линию критического уровня. Цифровые данные будут отображены в основной таблице данных (рисунок 11).

36	23.04.2020	524,46324	386,68	662,25
37	07.05.2020	527,94946	390,15	665,75
38	21.05.2020	531,43568	393,63	669,24
39	04.06.2020	534,9219	397,10	672,74
40	18.06.2020	538,40811	400,58	676,24
41	02.07.2020	541,89433	404,05	679,74
42	16.07.2020	545,38055	407,52	683,24

Рисунок 11. — Прогнозируемые данные развития санитарно-эпидемиологического состояния

17.18. Если прогнозируемые значения будут меньше «Благоприятного уровня» или приближаться к «Желаемому уровню», такая тенденция демонстрирует улучшение состояния среды технологического окружения.

17.19. В случае получения результатов, превышающих допустимые, меры принимаются незамедлительно. Необходимо информировать ответственных, составить план корректирующих действий, оценить необходимость исследования готового продукта по микробиологическим показателям безопасности, производимого в этой зоне.

17.20. При получении результатов на границе допустимых значений, а также в случае обнаружения динамики роста исследуемого микроорганизма в пределах допустимых значений принимаются корректирующие меры во избежание ухудшения ситуации.

17.21. Все контаминированные пробы должны быть изучены с точки зрения причин и источников появления микроорганизмов. Необходимо взять дополнительные пробы для определения источника проблемы.

17.22. Оценка правильности и полноты выбора точек и планов отбора, данные испытаний, полученные в течение продолжительных периодов времени, должны привести к изменениям в частоте и выборе проб, что, будет способствовать совершенствованию системы контроля безопасности пищевой продукции на пищевом производстве.

Приложение 1
к инструкции по применению

Приготовление и состав питательных сред и растворов реактивов, используемых для проведения санитарно-бактериологических исследований

Для приготовления растворов реактивов и питательных сред используют дистиллированную воду, если нет специальных указаний, и реактивы квалификации «х.ч.» или «ч.д.а.».

Необходимое значение водородного показателя pH (далее — pH) растворов и питательных сред устанавливают с помощью раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 0,1 моль/дм^3 или раствора кислоты соляной объемной долей 0,1 моль/дм^3; pH растворов и питательных сред определяют с помощью pH-метра. Ориентировочное определение pH растворов и питательных сред допускается проводить с помощью индикаторной бумаги.

При подщелачивании среды щелочью значение pH после кипячения и стерилизации снижается, примерно на 0,2. Поэтому при приготовлении сред устанавливают pH на 0,2–0,4 выше заданного, кипятят, пока pH не понизится на 0,2–0,3, снова проверяют pH и стерилизуют в автоклаве. Обязательно проверяют pH после стерилизации.

Питательные среды готовят в эмалированной или стеклянной посуде. Их растворяют при перемешивании в дистиллированной воде комнатной температуры до полного растворения не менее 15 мин и затем при необходимости нагревают, если нет специальных указаний.

Готовые питательные среды хранят при комнатной температуре не более 3 сут и при температуре около 4 °С не более 1 мес., если нет специальных указаний.

Состав питательных сред

1. Пептонная вода (0,1 %)

Состав (г/л):

Пептон бактериологический — 1,00.

Калия нитрат — 1,00.

Натрия бикарбонат — 2,00.

Конечное значение pH 7,4±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм. (121±1 °С) в течение 15 мин.

2. Мясной солевой бульон

Состав (г/л):

Пептический перевар животной ткани — 10,00.

Мясной экстракт — 10,00.

Ткань бычьего сердца нейтральная — 30,00.

Натрия хлорид 100,00.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,6 ±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм. (121±1 °С) в течение 15 мин.

3. Элективно-солевой агар

Состав (г/л):

Пептон ферментативный, сухой 5,00.

Гидролизат рыбный ферментативный 5,00.

Триптон (гидролизат казеина ферментативный) 3,00.

Экстракт автолизированных дрожжей осветленный 1,40.

Натрий хлористый 85,00.

Агар микробиологический 11,00.

Натрий углекислый 0,30.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный 0,30.

Конечное значение pH 7,2±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121±1 °С) в течение 15 мин.

4. Стафилококковый агар N 110

Состав (г/л):

Гидролизат казеина 10,00.

Дрожжевой экстракт 2,50.

Желатин 30,00.

Лактоза 2,00.

D-Маннит 10,00.

Натрия хлорид 75,00.

Калия гидрофосфат 5,00.

Агар-агар 15,00.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,0±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121±1 °С) в течение 15 мин.

5. Маннитол солевой агар

Состав (г/л):

Протеозопептон 10,00.

Мясной экстракт 1,00.

Натрия хлорид 75,00.

D-Маннит 10,00.

Феноловый красный 0,025.

Агар-агар 15,00.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,4±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121±1 °С) в течение 15 мин.

6. Агар Бэйд-Паркер

Состав (г/л):

Гидролизат казеина 10,00.

Мясной экстракт 5,00.

Дрожжевой экстракт 1,00.

Глицин 12,00.

Натрия пируват 10,00.

Лития хлорид 5,00.

Агар-агар 20,00.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,0±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121±1 °С) в течение 15 мин.

Примечание: хлорид лития ядовит. Необходимо избегать контакта с ним и вдыхания его паров. В случае попадания хлорида лития на кожу немедленно промыть большим количеством воды.

7. Среда Раппапорта-Вассилиадиса

Состав (г/л):

Папаиновый перевар соевой муки 5,00.

Натрия хлорид 8,00.

Калия дигидрофосфат 1,60.

Магния хлорид (х 6 H2O) 40,00.

Малахитовый зеленый 0,04.

Конечное значение pH (при 25 °С) 5,2±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 0,7 атм (115±1 °С) в течение 15 мин.

8. Среда Кесслера

Состав (г/л):

Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей 5,0.

Питательный бульон сухой 3,5.

Д (+)-лактоза 10,0.

Желчь крупного рогатого скота очищенная сухая 4,5.

Кристаллический фиолетовый 0,015.

Натрий углекислый 0,3±0,15.

Стерилизовать автоклавированием при 0,7 атм (115±1 °С) в течение 15 мин.

9. Среда Эндо

Состав (г/л):

Бактериологический пептон 10,0.

Лактоза 10,0.

K2HPO4 3,5.

Сульфит натрия 2,5.

Бактериологический агар 10,0.

Конечная величина pH 7,5 ± 0,2 при 25 °С.

Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121±1 °С) в течение 15 мин

10. Среда питательная N 8

Состав (г/л):

Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей 20,0.

Калий сернокислый 9,0.

Натрий азотнокислый 4,0.

D-глюкоза 5,0.

Экстракт кормовых дрожжей 6,0.

Сода кальцинированная 0,4.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,3±0,2.

Стерилизовать автоклавированием при 0,7 атм (115±1 °С) в течение 15 мин.

11. Питательная среда № 9

Состав (г/л):

Панкреатический гидролизат казеина 8,0.

Панкреатический гидролизат кормовых дрожжей 1,5.

D-глюкоза 0,7.

Калий азотнокислый 10,0.

Агар микробиологический 9,7±1,0.

Натрия хлорид 0,7.

Сода кальцинированная 0,5.

Конечное значение pH (при 25 °С) 7,4±0,2.

Стерилизовать автоклавированием (112±2) °С в течение 20 мин.

Питательные среды и реактивы для выявления бактерий группы кишечной палочки (колиформные бактерии) готовят в соответствии с ГОСТ 31747, другими утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению и стандартами.

Питательные среды и реактивы для выявления бактерий рода Salmonella готовят в соответствии с ГОСТ 31659, другими утвержденными в установленном порядке методическими документами и стандартами.

Питательные среды и реактивы для выявления бактерий вида L. monocytogenes готовят в соответствии с ГОСТ 32031, другими утвержденными в установленном порядке методическими документами и стандартами.

Питательные среды и реактивы для выявления бактерий родов Proteus, Morganella, Providencia готовят в соответствии с ГОСТ 28560, другими утвержденными в установленном порядке методическими документами и стандартами.

Питательные среды и реактивы для выявления КМАФАнМ в соответствии с ГОСТ 10444.15, другими утвержденными в установленном порядке методическими документами и стандартами.

Питательные среды и реактивы для выявления стафилококков готовят в соответствии с ГОСТ 31746, другими утвержденными в установленном порядке методическими документами и стандартами.

Среды для взятия смывов

Пептонная вода в концентрации от 1 г/л, физиологический раствор пептона или раствор Рингера, разлитые в пробирки или флаконы и простерилизованные автоклавированием при 1,1 атм. (121±1 °С) в течение 15 мин.

Фосфатный буферный раствор не рекомендуется использовать.

Бульоны для селективного обогащения патогенных бактерий (например, селенитовый, Фразера) не следует использовать вместо сред для взятия смывов, так как они могут способствовать росту бактерий после отбора.

Для нейтрализации остаточного количества дезинфицирующих средств используется нейтрализующий бульон.

Состав нейтрализующего бульона (г/л):

Полисорбат 80 30.

Лецитин 3.

Тиосульфат натрия 5.

L-гистидин 1.

Сапонин 30.

Пептон 1.

Хлорид натрия 8,5 г/л.

Нейтрализатор разливается во флаконы и стерилизуется автоклавированием при 1,1 атм. (121±1 °С) в течение 15 мин.

Состав и приготовление растворов реактивов

1. Раствор реактива для определения цитохромоксидазы бактерий.

30–40 мг α нафтола растворяют в 2,5 $см^3$ ректификованного этилового спирта, прибавляют 7,5 $см^3$ дистиллированной воды и растворяют 40–60 мг диметилп-фенилендиамина.

Раствор готовят перед употреблением.

Хранить раствор не более 7 дней при температуре 2–4 °С в закрытой банке.

2. Растворы реактивов для окраски по Граму:

2.1. Карболовый раствор генцианвиолета.

Генцианвиолет 1,0 г; спирт этиловый ректификованный 10 $см^3$; фенол 5,0 г; дистиллированная вода 100 $см^3$.

2.2. Раствор Люголя

Йод металлический 1,0 г; йодистый калий 2,0 г; дистиллированная вода 300 $см^3$.

2.3. Фуксин Циля

Основной фуксин 1,0 г; спирт этиловый ректификованный 10 $см^3$; фенол 5,0 г; дистиллированная вода 100 $см^3$.

Для работы фуксин Циля развести дистиллированной водой (1:10).

При проведении исследований альтернативными методами (петрифильмы, контактные экспресс-тесты, контактные чашки, микробиологические анализаторы) питательные среды, реактивы готовят в соответствии с рекомендациями изготовителя, настоящей инструкции и другими утвержденными в установленном порядке инструкциями по применению и стандартами.

Приложение 2
к инструкции по применению

Таблица 1. — Примерный перечень контрольных точек отбора проб среды технологического окружения пищевых производств

Поверхности, контактирующие с пищевыми продуктами, которые могут служить резервуарами патогенов на предприятиях	Поверхности, не контактирующие с пищевыми продуктами, которые могут служить резервуарами патогенов на предприятиях
Сырье. Ломтерезки, измельчители, разделочные доски, блендеры. Рассольные растворы и инъекционное оборудование. Инструменты для чистки, такие как губки и щетки. Контейнеры (ведра, кадки, корзины, сумки и т. д.), используемые для хранения пищевых продуктов. Конвейерные ленты и скребки, особенно если они пористые, изношенные или в плохом состоянии. Полые ролики для конвейеров. Оборудование для розлива и упаковки. Стеллажи для перевозки готовой продукции. Лед, ледогенератор и лопата для льда. Посуда, ручной инструмент, нелатексные перчатки, фартуки и др. Металлические соединения (плохие/грубые сварные швы, щели). Упаковочные материалы и оборудование. Открытые подшипники в оборудовании. Полый металлический или пластиковый каркас. Корпус двигателя. Руки, одежда сотрудников	Стоки, вода на полу. Полы и коврики, в т. ч. полы с плохим дренажом или участки со стоячей водой. Стены, потолки, холодные места, где вода конденсируется (особенно если есть трещины, которые удерживают влагу). Изоляция на стенах или вокруг труб и охлаждающих устройств, которые стали намокшими. Тележки, погрузчики, колеса тележек. Умывальник (раковины). Инструменты для чистки (шланги, губки, щетки, скребки для пола, лезвия швабры). Инструменты для обслуживания. Весовое оборудование. Холодильные камеры. Каркас оборудования и другое оборудование в зоне готовой продукции. Потолки, надземные конструкции, подиумы. Емкости для сбора конденсата и поддоны. Ледогенератор и лопата для льда. Пылесосы (для сухой обработки). Выключатели и поверхности панелей. Резиновые уплотнители вокруг дверей, особенно в охладителях (кулерах). Болты, открытые подшипники в оборудовании. Мусорные баки, емкости для отходов или другие подобные предметы. Полый и/или ржавый металлический каркас или пластиковый каркас. Обувь сотрудников

Таблица 2. — Примерный перечень контрольных точек отбора проб среды технологического окружения пищевых производств по зонам эпидемиологического риска

Зоны	Описание зоны	Примеры поверхностей
1	Поверхности, контактирующие с пищевыми продуктами *Эти поверхности вступают в непосредственный контакт с пищей в какой-то момент во время обработки продукта.* *Эта зона может включать в себя также поверхности оборудования и сотрудников, при контакте с которыми обработанные продукты подвергаются потенциальному повторному загрязнению перед окончательной упаковкой*	Посуда, поверхности стола, ломтерезки, внутренняя часть труб, внутренняя часть резервуаров, наполнители, упаковки, конвейеры, контейнеры и т. д.
2	Поверхности, не контактирующие с пищевыми продуктами и находящиеся в непосредственной близости от пищевых продуктов и поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами *Эти поверхности тесно прилегают к контактирующим с продуктом поверхностям, но сама пища не вступает с ними в контакт*	Корпус или каркас оборудования, инструменты для обслуживания, защитные кожухи, а также некоторые стены, полы или водостоки в непосредственной близости от поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами
3	Более удаленные поверхности, не контактирующие с пищевыми продуктами, которые находятся в зонах обработки продуктов или вблизи них и могут привести к контаминации зон 1 и 2 *Участки в зоне обработки продукта, которые непосредственно не связаны с пищевыми продуктами, окружающая среда помещений и поверхности в зонах или помещениях высокого риска*	Погрузчики, ручные тележки и тележки, которые перемещаются внутри завода, некоторые стены, полы или водостоки, не находящиеся в непосредственной близости от поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами
4	Поверхности, не контактирующие с пищевыми продуктами и находящиеся в удалении, за пределами зоны обработки продуктов, из которых патогены окружающей среды могут быть занесены в зону обработки *Окружающая среда помещений и поверхности, удаленные от зон обработки продукции*	Раздевалки, кафетерии и коридоры за пределами производственной зоны, вне помещений, где сырье или готовые продукты хранятся или транспортируются

Таблица 3. — Карта отбора проб контрольных точек среды технологического окружения пищевых производств в соответствии с концепцией зонирования

Зона	Наименование точки отбора	АТФ RLU			КОЕ/ см^2		
		площадь, S см	результат	степень контаминации[3]	площадь, S см	результат	степень контаминации
1	2	3	4	5	6	7	8
1							
Заключение							
2							
Заключение							
1	2	3	4	5	6	7	8
3							
Заключение							
4							
Заключение							
Вывод							

Таблица 4. — Паспортная часть карты отбора проб контрольных точек среды технологического окружения пищевых производств

Наименование предприятия		
Наименование цеха/помещения		
Ответственный		
Наименование учреждения, должность, ФИО пробоотборщика		
Дата отбора образцов		
Отбор проб производится (выбрать из списка):	□ До начала работы □ Во время функционирования предприятия (не ранее чем через 2 ч от начала □ После ополаскивания (смыва) поверхностей оборудования и помещений водой □ После мойки с применением моющих средств (указать время, прошедшее с момента обработки) □ После дезинфекции с применением дезинфицирующих препаратов (указать время, прошедшее с момента обработки)	
Время отбора проб	начало	окончание
Примечания		

Таблица 5. — Ситуации, которые могут привести к загрязнению пищевой продукции, требующие проведение дополнительных исследований микробной контаминации объектов окружающей среды пищевых производств

1.	Линия обработки или упаковки перемещена или значительно модернизирована
2.	Установлено бывшее в употреблении оборудование со склада или другого завода
3.	В процессе производства происходит поломка оборудования и необходимо проводить ремонтные работы
4.	Ремонт, реконструкция или другие серьезные модификации производятся в зоне производства готовой продукции (например, замена холодильных агрегатов, ремонт полов, стен, строительство перегородок, модификация канализационных линий)
5.	Новый сотрудник, незнакомый с операциями и средствами контроля ПМ и ИМ, принят на работу по производству продукта или очистки оборудования в зоне производства готовой продукции
6.	Персонал, работающий с готовой к употреблению продукцией, касается поверхностей или оборудования, которые могут быть загрязнены (например, пола, мусорных баков), и не меняет перчатки и не выполняет другие необходимые процедуры перед работой
7.	Периоды интенсивного производства, которые затрудняют мойку и дезинфекцию
8.	Сырая продукция находится в зоне готовой продукции
9.	Персонал взаимозаменяемо используется в областях производства сырой и готовой продукции
10.	Увеличивается число поверхностей (оборудование, детали, ванны, экраны и т. д.), требующих влажной очистки и находящихся в том же помещении, что и линии, в (по) которых идет продукция
11.	Моют непосредственно на полу (область, которую всегда следует считать загрязненной)
12.	Инструменты (фонарики, калькуляторы, контрольные карты, трафареты для отбора проб и др.) не подвергаются надлежащей очистке и дезинфекции после прямого контакта с производственной зоной
13.	Продукт зацепился за оборудование или завис на нем
14.	Происходит частая смена продукта на упаковочной линии, частая смена этикеток, упаковочной пленки, форм упаковки

Таблица 6. — Число репрезентативных контрольных точек отбора проб в каждой зоне эпидемиологического риска и критерии оценки

Зона	Критерии оценки	Число отобранных проб по зонам от общего числа, (%)
1	Индикаторные микроорганизмы с количественной и качественной оценкой. Аденозинтрифосфорная кислота. Никотинамид-аденин-динуклеотида. Патогенные микроорганизмы (с поверхности не менее 500 $см^2$). Рекомендуется выбирать поверхности, которые не всегда подвергаются тщательной очистке и мойке (например, на нижней стороне конвейера или в стационарном желобе)	10–25
2	Патогенные микроорганизмы (с поверхности не менее 500 $см^2$, лучше с 3000 $см^2$). Индикаторные микроорганизмы. Концентрации клеток мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Аденозинтрифосфорная кислота. Никотинамид-аденин-динуклеотида. Рекомендуется выбирать области в каркасе оборудования, которые легко накапливают частицы пищи, но в то же время существуют сложности с правильной очисткой и мойкой данных поверхностей	40–50
3	Патогенные микроорганизмы. Концентрации клеток мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Аденозинтрифосфорная кислота. Никотинамид-аденин-динуклеотида. Рекомендуется выбирать области в каркасе оборудования, поверхности, не контактирующие с пищевыми продуктами/продовольственным сырьем, которые не находятся близко к поверхностям зоны 1 (стены, пол, стоки, вентиляционные установки, морозильные камеры/холодильники/сушки и т. д.)	10–25
4	Аденозинтрифосфорная кислота. Никотинамид-аденин-динуклеотида. Микробиологический мониторинг на патогенные, непатогенные и индикаторные микроорганизмы проводить по эпидемиологическим показаниям	до 10

Приложение 3
к инструкции по применению

Площадь, количество предметов и метод отбора проб

1. Площадь и количество предметов, с которых отбираются пробы

1.1. На поверхностях, контактирующих с пищевой продукцией, пробы отбираются на наличие патогенных микроорганизмов с площади не менее 500 $см^2$ (в целом) и не менее 5 объектов (ножи, краны, емкости, руки работников и иные объекты, непосредственно контактирующие с готовыми к употреблению пищевыми продуктами или руками работников в процессе производства пищевой продукции).

1.2. Пробы с крупного оборудования и инвентаря на наличие индикаторных микроорганизмов (бактерии порядка *Enterobacteriales,* БГКП, золотистый стафилококк и др.) отбираются с площади от 20 до 500 $см^2$.

1.2. Пробы для подсчета КМАФАнМ отбираются с площади до 100 $см^2$.

1.4. Пробы с мелкого оборудования и инвентаря обтираются со всей поверхности предмета, при необходимости — с нескольких единиц одноименных предметов (не менее трех одноименных объекта).

1.5. Пробы с перчаток отбираются только с наружной стороны ладонной поверхности перчатки.

1.6. Пробы с рук отбираются с ладонных поверхностей обеих рук, пальцев, межпальцевых промежутков, ногтей и подногтевых пространств

1.7. Пробы с санитарной одежды отбираются с четырех участков, каждый из которых должен быть не менее 25 $см^2$ (нижняя часть каждого рукава и две площадки с верхней и средней частей передних пол одежды).

1.8. Площадь и количество предметов, с которых отбираются пробы контактным методом (методом отпечатков) определяются размером контактной тест системы. В основном, пробы отбираются с площади 25 $см^2$ для каждого объекта, санитарной одежды и рук (рук в перчатках).

1.9. Использование шаблонов или других специальных приспособлений рекомендуется ограничить, поскольку они могут быть источниками контаминации и (или) их дезинфекция может помешать испытанию.

1.10. При необходимости используют шаблоны, изготовленные из коррозионно-стойкого материала (например, рамка из нержавеющей стали, охватывающая площадь от 20 до 500 $см^2$), которые можно легко очистить и стерилизовать.

1.11. Размер площади, подлежащей отбору, должен быть известен, хотя бы ориентировочно. Размер площади может быть увеличен и должен быть постоянным для того, чтобы можно было оценить тенденции результатов.

2. Метод отбора проб

2.1. Метод с использованием контактных чашек (дипслайд)

Контактную чашку (дипслайд) извлекают из транспортного контейнера и каждой поверхностью питательной среды надавливают на контролируемую

поверхность в течение 10 с, избегая лишних движений. Закрывают контактную чашку сразу после посева и помещают обратно в транспортный контейнер.

2.2. Метод с использованием готовых сухих подложек

С помощью пипетки на открытую подложку вносят 1,0 $см^3$ стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl), затем подложку закрывают пленкой. После 10–20 мин, необходимых для активации питательной среды, пленку снимают и влажную подложку прижимают к исследуемой поверхности. Затем подложку закрывают пленкой, не допуская образования пузырьков воздуха. Прижимают пленку по периметру подложки, избегая контакта с ее центральной частью.

При исследовании поверхностей можно использовать сухие подложки. Пленку снимают, сухую подложку прижимают к исследуемой поверхности, на которую после вносят до 1,0 $см^3$ стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl). Промежуток времени между отбором пробы на сухую подложку и внесением на нее стерильного физиологического раствора может составлять до 18 ч.

2.3. Метод с использованием зонд-тампона

Зонд-тампон извлекают из стерильной упаковки, увлажняют тампон погружением в пробирку, содержащую раствор для взятия смывов. Надавливают кончиком тампона на стенку пробирки, чтобы удалить излишек жидкости. Проводят смыв с контролируемой поверхности кончиком тампона с отбираемой площади, вращая зонд-тампон большим и указательным пальцами в двух перпендикулярных направлениях. Помещают тампон в пробирку с раствором для взятия смывов, отламывают или срезают аппликатор, чтобы закрыть пробирку пробкой.

2.4. Метод взятия смывов с использованием губки

Открывают пластиковый пакет, содержащий губку. Достают губку с соблюдением правил асептики. В качестве альтернативы губка может быть захвачена через пластиковый пакет, потянув за перевернутый пакет рукой. Протирают всю выбранную поверхность энергичным зигзагообразным движением в двух перпендикулярных направлениях меняя стороны губки. Возвращают губку в пластиковый пакет. Закрывают пластиковый пакет так, чтобы губка была защищена от загрязнения и сохранилась влажной до проведения анализа.

Приложение 4
к инструкции по применению

Проведение исследований

1. Выявление и идентификации бактерий *Listeria monocytogenes* из контрольных точек отбора проб среды технологического окружения пищевых производств выполняется в соответствии с инструкцией по применению «Метод выявления и идентификации бактерий *Listeria monocytogenes* из объектов среды технологического окружения пищевых производств» № 001-0116.

2. Выявление и идентификации бактерий рода *Salmonella* из контрольных точек отбора проб среды технологического окружения пищевых производств.

При использовании зонд-тампона

Добавить достаточный объем (не менее 9 $см^3$) забуференной пептонной воды в пробирку с зонд-тампоном так, чтобы конец тампона полностью был погружен в бульон. Тщательно перемешать содержимое пробирки, содержащей зонд-тампон, в течение 30 с.

При использовании губки

Добавить в пластиковый пакет, содержащий губку, забуференную пептонную воду в объеме в 9 раз превышающую объем от взятого объема для увлажнения губки. Губка должна полностью впитать бульон. Содержимое пластикового пакета гомогенизировать в течение 1 мин.

Выполнить исследование по обнаружению бактерий рода *Salmonella* в соответствии с ГОСТ 31659.

3. Исследования по выявлению и идентификации индикаторных групп микроорганизмов, определению концентрации клеток мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

4. После доставки проб в лабораторию зонд-тампон поместить в пробирку с 10 $см^3$ стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl), тщательно перемешать содержимое пробирки, содержащей зонд-тампон в течение 30 с (это соответствует разведению 1:10, которое необходимо учитывать при оценке результатов). В пакет с губкой 10 $см^3$ стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl) добавить только в том случае, если это не было сделано предварительно до отбора проб.

5. В зависимости от предполагаемой обсемененности 0,1–1 $см^3$ смывной жидкости из подготовленной пробы помещают на соответствующие питательные среды.

6. Для определения КМАФАнМ тампон тщательно отмывают, после чего по 1 $см^3$ смывной жидкости вносят в две параллельные чашки Петри, заливают расплавленным и остуженным до 45 °С МПА (15–20 $см^3$), размешивают. Подсчитывают колонии, видимые при увеличении в 2 раза, выросшие на питательных средах при температуре 30 °С в течение 72 ч. Предварительный учет колоний проводится через 48 ч, окончательный через 72 ч. Подсчитывают среднее арифметическое количество колоний, выросших на двух чашках, и умножают на 10 для определения количества бактерий, содержащихся на поверхности.

Результаты выражают в колониеобразующих единицах — КОЕ.

7. Для выявления и идентификации бактерий порядка *Enterobacteriales,* БГКП 0,5 $см^3$ смывной жидкости и тампон (при наличии) помещают в 5 $см^3$ среды Кесслера или Кода. Через сутки инкубирования при (37+1) °С делают пересев на среду Эндо или другие питательные среды. В случае исследования на общие колиформные бактерии (далее — ОКБ) и термотолерантные колиформные бактерии (далее — ТКБ), после взятия смыва тампон помещают на 10–15 мин в пробирку с раствором нейтрализатора в соответствии с настоящей инструкцией), затем переносят в пробирку с питательной средой, погрузив тампон в пептонную воду или другую допустимую среду и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18–24 ч. После инкубации проводят высев на среду Эндо с последующей инкубацией при температуре (37±1) °С в течение 18–24 ч.

8. Проведение и обработка результатов первичного посева проб с целью обнаружения бактерий порядка *Enterobacteriales,* БГКП:

При отсутствии на среде Эндо типичных колоний (красных и темнокрасных с металлическим блеском или без него, розовых или бледно-розовых), выдают заключение об отсутствии БГКП. При наличии на среде Эндо характерных колоний из них готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют; выполняют пробу на оксидазу.

Наличие в мазках грамотрицательных, оксидазоотрицательных палочек предполагает присутствие БГКП. Исследуемые колонии засевают на среду Гисса с лактозой или глюкозой. Инкубируют (37+1) °С 24 ч. Первичный учет проводят через 4–6 ч. При обнаружении кислоты и газа выдают положительный ответ. При выявлении на среде Эндо мелких бесцветных колоний, подозрительных на наличие возбудителей кишечных инфекций, колонии снимают и изучают на принадлежность к патогенным микроорганизмам порядка *Enterobacteriales*.

В случае исследования на ОКБ и ТКБ, после взятия смыва тампон помещают на 10–15 мин в пробирку с раствором нейтрализатора в соответствии с настоящей инструкцией), затем переносят в пробирку с питательной средой, погрузив тампон в пептонную воду или другую допустимую смачивающую среду в соответствии с настоящей инструкцией и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18–24 ч. После инкубации проводят высев на среду Эндо с последующей инкубацией при температуре (37±1)°С в течение 18–24 ч. При наличии роста на среде Эндо, проводят исследование выросших колоний на оксидазную активность и микроскопию, окрашенного по Граму препарата. В случае обнаружения оксидазоотрицательных и грамотрицательных палочек определяют ферментациию лактозы до кислоты и газа. Для подтверждения наличия ОКБ посев инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 48 ч, для подтверждения наличия ТКБ посев осуществляют в среду, предварительно прогретую до температуры (43–44) °С, и инкубируют при температуре (44±0,5) °С в течение 24 ч. При обнаружении кислоты и газа дают положительный ответ.

9. Для выделения золотистого стафилококка делают посев смывной жидкости на желточно-солевой агар или другие питательные среды. Тампон помещают в пробирку с 6–7 $см^3$ солевого мясопептонного бульона (содержание хлорида натрия 6,5 %), при отсутствии роста на чашках, высев осуществляют через 18–24 ч инкубирования (37±1) °С. Посевы на элективных средах инкубируют (37+1) °С в течение 48 ч.

10. Проведение и обработка результатов первичного посева проб с целью обнаружения золотистого стафилококка:

Подозрительные на золотистый стафилококк колонии (непрозрачные, золотистые, кремовые, эмалевые, лимонно-желтые, черные имеют форму правильных дисков от 2 до 4 мм в диаметре, слегка выпуклые с/без радужным венчиком вокруг колоний). Готовят мазки, окрашивают по Граму, микроскопируют, отсевают на скошенный мясопептонный агар и инкубируют (37±1) °С 18–24 ч. Стафилококки положительно окрашиваются по Граму, имеют шарообразную форму с диаметром 0,6–1 мк и располагаются часто в виде скоплений, напоминающих гроздья винограда. Проводят тест ферментации маннита в анаэробных условиях, определение белка А или коагуляции плазмы.