

Н. А. Правосудова,
А. Г. Муравьев

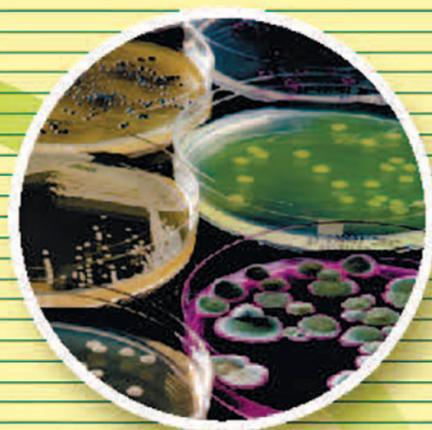
Крисмас[®]

christmas-plus.ru
крисмас.рф

ПРАКТИКУМ

по микробиологической
оценке качества
и безопасности
пищевых продуктов
и объектов окружающей
среды

Методическое пособие
к учебно-методическому комплексу
«Микробиологическая
лаборатория учебная МБЛ-У»



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Научно-производственное объединение ЗАО «Крисмас+»
Учебный центр «Крисмас»

Н. А. Правосудова, А. Г. Муравьев

**ПРАКТИКУМ
ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ
КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ
И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Методическое пособие
к учебно-методическому комплексу
«Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У»

Санкт-Петербург
2025

УДК 54.06+579.67/.69+637.075](076.5)
ББК 28.4+36-1+51.231]я72
П68

Авторы:

Наталья Александровна Правосудова, канд. биол. наук, доцент кафедры «Микробиология, эпидемиология и инфекционные болезни» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», автор ряда публикаций по медицинской и санитарной микробиологии;

Александр Григорьевич Муравьев, канд. хим. наук, руководитель учебного центра ГК «Крисмас», директор ПЛК ЗАО «Крисмас+», автор ряда монографий, практикумов, патентов.

Рецензенты:

Виктор Борисович Сбойчаков, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», заслуженный работник высшей школы РФ;

Виктор Вениаминович Закревский, д-р мед. наук, академик МАНЭБ, доцент 2-й кафедры терапии усовершенствования врачей ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»;

Елена Викторовна Смирнова, заведующий бактериологической лабораторией Восточного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области».

Правосудова, Наталья Александровна.

П68

Практикум по микробиологической оценке качества и безопасности пищевых продуктов и объектов окружающей среды : методическое пособие к учебно-методическому комплексу «Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У» / Н. А. Правосудова, А.Г. Муравьев. — СПб. : Крисмас+, 2025. — 104 с. ; ил.
ISBN 978-5-89495-305-2.

Пособие-практикум предназначено для преподавателей, учителей и специалистов, занимающихся организацией и проведением практических занятий по изучению микробиологических аспектов здоровья, оценке качества и безопасности пищевых продуктов, объектов окружающей среды, здоровья человека и т. п. Издание содержит описание практических работ, позволяющих оценить микробиологическую безопасность факторов окружающей среды (среды обитания), в том числе некоторые пищевые продукты (в частности молока, питьевой воды), уровень микробиологического загрязнения воздуха и поверхностей и др.

Практикум содержит основные мероприятия по организации занятий, методически важные элементы занятия, меры безопасной работы, утилизации; помогает познакомить учащихся с вопросами микробиологической грамотности, сформировать установки на соответствующее рациональное поведение. Он является методическим пособием для педагога (преподавателя) к учебно-методическому комплексу «Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У». Пособие рекомендовано также для самостоятельной подготовки школьников и студентов.

УДК 54.06+579.67/.69+637.075](076.5)
ББК 28.4+36-1+51.231]я72

ISBN 978-5-89495-305-2

© ЗАО «Крисмас+», 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение. Актуальность практик по изучению микробиологических показателей качества и безопасности пищевых продуктов и объектов внешней среды в системе образования.....	5
2. Основные принципы формирования практических работ санитарно-микробиологической направленности	7
3. Особенности методов микробиологического исследования в оценке состояния среды жизнедеятельности человека.....	10
4. Микрофлора пищевых продуктов и среды обитания человека (объектов окружающей среды).....	15
4.1. Микрофлора пищевых продуктов и её исследование	15
4.1.1. Общие сведения.....	15
4.1.2. Микробиологическое исследование молока и молочных продуктов	16
4.2. Микрофлора воды и её исследование.....	17
4.2.1. Общие сведения.....	17
4.2.2. Микробиологическое исследование воды.....	19
4.3. Микрофлора воздуха и её исследование	21
4.3.1. Общие сведения.....	21
4.3.2. Микробиологическое исследование воздуха.....	22
5. Характеристика применяемого в практикуме оборудования	24
5.1. Назначение и области применения	24
5.2. Методы исследования и основные характеристики изделия.....	26
5.3. Комплектность оборудования и ресурс.....	28
5.4. Дополнительная информация по оснащению работ.....	34
6. Основные этапы и типовые операции в учебной практике	36
6.1. Общие правила работы	36
6.2. Подготовка к работе	37
6.3. Отбор проб для анализа (исследований)	37
6.4. Подготовка образцов для исследований (приготовление разведений)	39
6.5. Посев образцов.....	41
6.6. Маркировка посевов.....	42
6.7. Инкубация посевов и завершение работы с пробой.....	43
6.8. Оценка результатов	44
6.9. Проведение обеззараживания и утилизации использованных ЭТ.....	45

7. Правила и меры безопасной работы	47
7.1. Общие правила безопасности.....	47
7.2. Проведение регулярной дезинфекции рабочей поверхности и перчаток.....	48
7.3. Порядок и правила обеззараживания использованных тестов.....	48
7.4. Меры безопасности и первой помощи при работе с препаратом для приготовления обеззараживающего раствора.....	51
7.5. Порядок действий при аварийных ситуациях.....	52
8. Практические работы	54
Работа 1. Определение общего микробного числа молока.....	54
Работа 2. Определение количества энтеробактерий в молоке	58
Работа 3. Определение общего микробного числа воды питьевой.....	62
Работа 4. Определение общего микробного числа воды открытых водоёмов	65
Работа 5. Определение количества энтеробактерий в воде открытых водоёмов	71
Работа 6. Определение общего микробного числа воздуха.....	75
Работа 7. Определение количества плесневых грибов и дрожжей в воздухе.....	78
Работа 8. Определение количества энтеробактерий на поверхностях	82
Работа 9. Определение общего микробного числа поверхностей.....	85
Работа 10. Определение количества плесневых грибов и дрожжей на поверхностях	88
Список литературы	91
Список использованных сокращений.....	93
Список латинских наименований	93
Словарь терминов	94
Приложение 1. Методика приготовления экспресс-тестов потребителем на основе готовых питательных сред.....	98
Приложение 2. Дополнительные сведения о методах обеззараживания отработанных экспресс-тестов и принадлежностей	101

1. ВВЕДЕНИЕ. АКТУАЛЬНОСТЬ ПРАКТИК ПО ИЗУЧЕНИЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ В СИСТЕМЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Микроорганизмы являются невидимой, но неотъемлемой частью нашей жизни. Они являются обитателями различных сред окружающей среды, а также нашего организма. Кроме того, человек использует микроорганизмы в промышленных целях для производства различных веществ (антибиотики, гормоны), в том числе продуктов питания (кисломолочные продукты, сыр, хлеб и т. д.).

Однако микроорганизмы не только играют положительную роль в нашей жизни, но также могут вызывать инфекционные заболевания у людей, животных, растений, стать причиной порчи сырья и пищевых продуктов.

Микробиологические исследования являются необходимым звеном в цепи методов оценки качества пищевых продуктов, безопасности окружающей среды и разнообразного продовольственного сырья, а также оценки экологической ситуации в целом.

Исследования микробиологических показателей непосредственно предполагают разнообразное практическое применение специальных научных методов и технологий в санитарии и ветеринарии, пищевой промышленности, медицине, сфере высоких промышленных технологий и многих других отраслях.

Практическое ознакомление учащихся с вопросами микробиологической грамотности, формирование установок на соответствующее рациональное поведение, привитие базовых знаний и умений являются целями настоящего практикума.

При проведении микробиологического практикума следует учитывать условия обучения, требующие максимально возможного (даже для демонстрационных работ) уровня безопасности, приемлемой для неспециалистов сложности проведения работ, учёта ряда действующих нормативных документов по организации работы в учреждениях образования и т. п.

Сложившаяся предметность школьного образования допускает изучение жизни на различных уровнях организации (клеточном, организменном, популяционном). При этом свойства микроорганизмов изучаются в основном теоретически, так как школьная программа до сих пор не включает в себя практические работы, позволяющие демонстрировать рост микроорганизмов. В системе среднего специального профессионального образования (ССПО) микро-

1. ВВЕДЕНИЕ

биологические практикумы включены только в специализированные направления подготовки (медико-биологический, медицинский, ветеринарный, пищевой профили). Данный практикум позволит учащимся школ, ССПО и вузов, а также в учреждениях систем повышения квалификации расширить знания о свойствах микроорганизмов, их распространённости в средах и пищевых продуктах.

Это позволяет рассматривать выполняемые эксперименты полезными как в междисциплинарной связке (с химией, биологией, экологией, технологией, безопасностью жизнедеятельности, курсами профессиональной подготовки), так и в метапредметном отношении (формируя научную картину мира, навыки рационального питания, безопасного и оправданного поведения и т. п.).

2. ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ

Проведение микробиологического практикума в школьном и профессиональном образовании стало возможным благодаря появлению на российском рынке нескольких типов серийно производимых отечественными предприятиями компонентов для микробиологического тестирования, а также соответствующих экспресс-тестов, являющихся, по сути, готовыми решениями для педагога в отношении подготовки к исследованию. Эти решения позволяют реализовать относительно несложную технологию выполнения учебных экспериментов и при соблюдении несложных мер безопасности вполне осуществимых при демонстрационном характере эксперимента и обязательной утилизации материалов при отсутствии контакта учащихся с потенциально опасными средами. Они позволяют успешно проводить соответствующие практики в старших классах школ и лицеев, в группах производственного обучения средних специальных учебных заведений. К готовым материалам для микробиологического тестирования можно отнести экспресс-тесты марок «Петри-тест», «Дип-слайд» и др. Кроме того, в продаже имеются готовые к применению жидкие питательные микробиологические среды для выращивания колоний, а также необходимые стерильные принадлежности, что позволяет использовать технологии микробиологических работ в отсутствие специализированного профессионального опыта у педагогов и специального оснащения учебных лабораторий (классов).

Благодаря применению готовых экспресс-тестов, а также стерильных материалов и принадлежностей в образовательной практике можно использовать опыты, демонстрирующие рост микроорганизмов на искусственных питательных средах. При этом практические работы предусмотрено проводить в двух вариантах:

1) *демонстрационный вариант* таких опытов позволяет показать *наличие* бактерий в различных средах или на поверхностях без использования микроскопа, что можно трактовать как доказательство материальности невидимого мира;

2) *исследовательский вариант* опытов позволяет оценить *количество* микроорганизмов в различных средах, изучить влияние физических и химических факторов на их рост, оценить санитарно-микробиологические показатели пищевых продуктов и различных сред.

При таком подходе педагог, планируя или проводя практические работы, может выбрать и последовательно реализовывать обучение на уровне и в формах, соответствующих профилю учебного заведения, его учебной программе, оснащению учебной лаборатории, располагаемому лимиту времени и т. п.

В настоящем практикуме приведены методические подходы и технологии работ по микробиологической оценке на основе экспресс-тестов типа «Петри-тест» или аналогичных, предусматривающих применение *плотных питательных сред* как решения, наиболее приближающегося к стандартным методикам микробиологических исследований. Работы проводятся по оценке наличия и показателя загрязнённости для трёх распространённых общих (социально значимых) показателей:

- 1) общему микробному числу (ОМЧ);
- 2) бактериям группы кишечной палочки (БГКП);
- 3) плесневым грибам и дрожжам (ПГД).

Важно, что указанные загрязнения *не относятся к высокоопасным инфекциям*, представляя собой распространённые бытовые загрязнения, обуславливающие широкий спектр симптомов и способные вызывать многочисленные заболевания, известные как болезни загрязнённых рук¹.

В РФ работа с микроорганизмами регламентируется рядом нормативных документов: СП 1.3.2322-08², СанПиН 3.3686-21³ и др. Так как учебные заведения не являются лицензированными организациями в этой области и персонал не обладает необходимыми квалификационными требованиями для работы с микроорганизмами, практикум не включает практические работы, направленные на манипуляции с микроорганизмами. Конструкция ЭТ позволяет учитывать результаты без контакта с выращенными колониями.

Учитывая потенциально широкую распространённость МБ-загрязнений в окружающей человека среде, в практические работы включены эксперименты по оценке различных потенциально значимых объектов — пищевых продуктов (молока), воды, поверхностей, воздуха. Выбранный для работ материал содержит в основном сапрофитные микроорганизмы, а также некоторое количество условно-патогенной микрофлоры, источником которой является человек или

¹ Указанные микробиологические загрязнения относятся к условно-патогенным инфекциям (IV группа патогенности) согласно СанПиН 3.3686-21.

² СП 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней.

³ СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней.

животные. Использовать в качестве материала для исследования образцы человека или животных не рекомендуется, так как они могут содержать не только условно-патогенную, но и патогенную микрофлору. Несмотря на то что объекты, используемые в практикуме, не содержат микроорганизмов в высоких концентрациях, важно помнить, что их культивирование на питательных средах увеличивает количество микробных клеток в тысячи раз. В связи с этим нужно уделять внимание обеззараживанию тестов после выполнения практической работы.

С технической стороны важно, что применяемые технологии (экспресс-тесты, готовые питательные среды) позволяют обеспечивать достаточно продолжительный срок годности оборудования (до двух лет) и вместе с тем не создавать значимых рисков как при практическом выполнении опытов, так и при утилизации выросших колоний микроорганизмов.

На основе готовых к применению экспресс-тестов и стерильных принадлежностей доступно типовое учебное изделие, представляющее собой учебно-методический комплект на основе комплекта «Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У», который снабжён не только набором экспресс-тестов на указанные выше санитарно-значимые показатели, но и необходимыми принадлежностями и посудой, имеющими надлежащее качество (одноразовость, стерильность). Описание такой лаборатории приведено ниже в главе 5.

3. ОСОБЕННОСТИ МЕТОДОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Многообразие микробиологических объектов, разнообразие оцениваемых параметров и технологий обуславливают необходимость реализации целей практикума через проведение практических работ по направлениям, касающимся исследования наиболее значимых и распространённых санитарно-микробиологических показателей, охватывающих состояние пищевых продуктов, поверхностей, воздушной среды, воды и др.

Для оценки качественного и количественного состава микрофлоры различных сред используют несколько методов, основным из которых является *культуральный*. Данный метод основан на выращивании микроорганизмов на специальных питательных субстратах (питательных средах) в течение определённого времени с последующей постановкой тестов для определения вида выделенных микроорганизмов. При этом в рамках культурального метода наиболее часто применяется *метод количественного посева* исследуемого материала на плотные питательные среды. Для определения делают мерные посеvy материала на питательный агар с подсчётом выросших колоний микроорганизмов (одну колонию обычно образует одна жизнеспособная клетка микроорганизма). Результат выражают в колониобразующих единицах (КОЕ) в определённом объёме или массе исследуемого субстрата — КОЕ/мл, КОЕ/г или КОЕ/м³.

Особенности методов микробиологического исследования включают необходимость соблюдения ряда следующих правил.

1. Соблюдение стерильности. Все манипуляции с исследуемым материалом, питательными средами необходимо проводить в условиях асептики (т. е. исключения попадания в материал микроорганизмов из окружающей среды, с кожи рук исследователя, одежды и т. п.).

2. Правильное взятие проб. При упаковке и транспортировке проб необходимо создавать такие условия, чтобы не нарушить правил асептики и не допустить гибели или размножения исходной микрофлоры в исследуемом объекте.

3. Проведение серийных анализов. Как правило, объекты исследования содержат разнообразные микроорганизмы, распределение которых неравномерно. Поэтому отбирают серию проб из разных участков исследуемого объекта, что позволяет получить более достоверную характеристику объекта.

4. Обеспечение безопасности. Во время манипуляций с микроорганизмами необходимо соблюдать правила безопасности (подробнее приведены в главе 7 настоящего руководства):

1) экспериментатору необходимо работать в средствах индивидуальной защиты — халате, маске, защитных перчатках (особенно если на коже рук есть повреждения) и защитных очках;

2) нельзя касаться лица, слизистых оболочек;

3) после работы необходимо продезинфицировать рабочую поверхность стола, перчатки и вымыть руки с мылом. Эта манипуляция позволяет уничтожить микроорганизмы, которые могли попасть на рабочую поверхность стола и перчатки, для предотвращения возникновения инфекций у участников эксперимента;

4) после работы должно проводиться обязательное обеззараживание выделенных культур, а также материалов, посуды и принадлежностей, контактировавших с выращенными микроорганизмами (подробнее см. в главе 7).

В настоящем практикуме приведены методики определения общего микробного числа (ОМЧ, КМАФАнМ⁴), количества бактерий группы кишечной палочки (БГКП) и количества плесневых грибов и дрожжей (ПГД). В табл. 1 приведены название показателей и некоторые характеристики процесса тестирования. Подробное описание всех необходимых манипуляций вы найдете в главе 8 «Практические работы».

Таблица 1

Характеристика показателей, включённых в практикум

Исследуемый материал	Определяемый показатель	Название ЭТ для определяемого показателя	Температура инкубации (°С)	Время инкубации (ч)
Молоко	ОМЧ	КМАФАнМ (ОМЧ)	30	72
	Колиформные бактерии	Колиформные бактерии (БГКП)	36	24
Вода питьевая	ОМЧ	КМАФАнМ (ОМЧ)	36	24
Вода открытых водоемов	ОМЧ (36)	КМАФАнМ (ОМЧ)	36	24
	ОМЧ (22)	КМАФАнМ (ОМЧ)	22	72
	Колиформные бактерии	Колиформные бактерии (БГКП)	36	24
Воздух	ОМЧ	КМАФАнМ (ОМЧ)	36 (24 ч), 22 (48 ч)	24, 48

⁴ Сокращения здесь и далее см. в Списке сокращений.

Окончание таблицы 1

Исследуемый материал	Определяемый показатель	Название ЭТ для определяемого показателя	Температура инкубации (°С)	Время инкубации (ч)
	ПГД	Грибы/дрожжи	24	72
Поверхности	ОМЧ	КМАФАнМ (ОМЧ)	36	24
	ПГД	Грибы/дрожжи	24	72
	Колиформные бактерии	Колиформные бактерии (БГКП)	36	24

Общее микробное число (ОМЧ) характеризует количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАнМ) в 1 мл (см^3) жидкости. К этой группе относятся микроорганизмы, которые могут расти в присутствии кислорода при температуре 20–37 °С. КМАФАнМ является косвенным методом и позволяет судить о *возможности* загрязнения изучаемого объекта патогенными микроорганизмами. КМАФАнМ можно определить путём посева на питательные среды с последующим подсчётом выросших колоний. ОМЧ можно определять для различных субстратов: вода, почва, воздух, пищевые продукты, смывы с различных поверхностей.

Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) относятся к семейству Enterobacteriaceae и включает рода *Escherichia*, *Citrobacter* и *Enterobacter*. Бактерии, относящиеся к этим родам, очень сходны между собой по морфологическим и биологическим свойствам. Они являются грамотрицательными, не образующими спор палочками, сбраживающими лактозу с образованием кислоты и газа при 37 °С в течение 24–48 ч или глюкозу с образованием кислоты и газа при 37 °С в течение 24 ч и не обладающие оксидазной активностью.

Обнаружение бактерий группы кишечных палочек рассматривается специалистами как показатель фекального загрязнения объекта исследования, а их количество позволяет судить о степени этого загрязнения. БГКП свидетельствуют о возможном нахождении патогенных кишечных микроорганизмов в воде, почве, на поверхности различных предметов и в пищевых продуктах. Кроме того, условно-патогенные энтеробактерии могут вызывать кишечные инфекции при их повышенной концентрации. Наличие данных микроорганизмов в продуктах питания свидетельствует либо о несоблюдении санитарно-гигиенических правил при производстве продуктов питания, либо о нарушениях температурного режима хранения и несоблюдении срока годности продукта.

Особенно опасно выделение БГКП в готовых продуктах питания, которые человек употребляет без термической обработки⁵.

Грибы (плесневые грибы и дрожжи — ПГД). Грибы относятся к эукариотическим (ядерным) организмам. Микроскопические грибы по строению делятся на одноклеточные (дрожжи) и многоклеточные (плесневые грибы). Дрожжи представляют собой клетки овальной формы, размножающиеся путём почкования (рис. 1).



Рис. 1. Дрожжи

(Источник: https://papik.pro/uploads/posts/202301/1674200553_papik-pro-p-drozhzhirisanok-45.jpg)

⁵ Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учеб. пособие / под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. 2-е изд. СПб.: Лань, 2016. 588 с.

Тело плесневых грибов состоит из вытянутых нитей — гифов, которые образуют мицелий, поэтому их называют мицелиарными грибами (рис. 2).

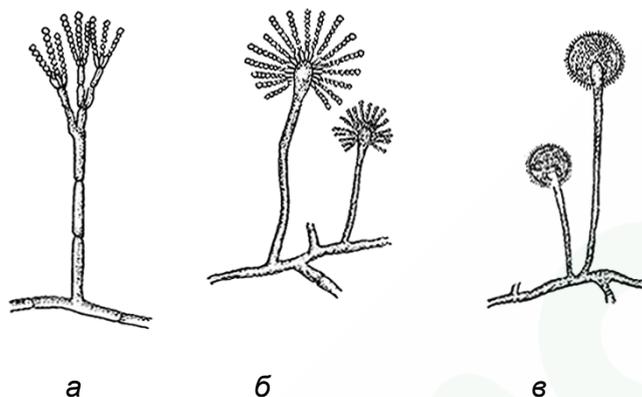


Рис. 2. Различные виды плесневых грибов:
а — пенициллиум; б — аспергиллус; в — мукор
(Источник: <https://petritest.ru/sprav/azarov-osnovy-mikrobiologii-i-pishchevoj-gigieny/aktinomitsety-plesnevye-griby>)

Грибы широко представлены в природе, участвуют в утилизации различных органических веществ. Они растут на различных питательных субстратах, особенно в средах с повышенной влажностью.

Микробиологический показатель «грибы» можно использовать при исследовании воздуха, почвы, смывов с поверхности предметов, пищевых продуктов. Присутствие этих микроорганизмов в различных субстратах интерпретируется по-разному.

Увеличение количества плесневых грибов в воздухе и на поверхностях свидетельствует о повышенной влажности. Плесневые грибы могут вызывать инфекционные заболевания, а также стать причиной аллергии.

Наличие грибов (плесневых и дрожжей) в пищевых продуктах является показателем микробной порчи.

Увеличение количества грибов в почве указывает на развитие процесса самоочищения, так как грибы вместе с нитрифицирующими бактериями, бациллами и актиномицетами быстро разрушают органические субстраты⁶.

⁶ Правосудова Н.А., Мельников В.Л. Основы санитарной микробиологии: учеб.-метод. пособие. Пенза: ПГУ, 2013. 90 с.

4. МИКРОФЛОРА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА (ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ)

4.1. Микрофлора пищевых продуктов и её исследование

4.1.1. Общие сведения

Пищевые продукты могут содержать разнообразную микрофлору. Естественная и безвредная микрофлора пищевых продуктов представляет собой сложный биоценоз, который служит биологической защитой от нежелательных микроорганизмов.

Микрофлора пищевых продуктов подразделяется на специфическую и неспецифическую. *Специфическая микрофлора* пищевых продуктов представлена микроорганизмами, которые используются для приготовления продуктов. Эти микроорганизмы формируют продукт или специально добавляются в него для придания определённых вкусовых и питательных качеств и являются обязательным звеном в технологии приготовления продуктов. Специфические микроорганизмы используют в приготовлении всех кисломолочных продуктов, хлеба, пива, вина, в квашении овощей и т. д. Контроль над чистотой этих культур и их сохранением осуществляют микробиологи лабораторий соответствующих предприятий пищевой промышленности. Микробиолог должен знать специфическую микрофлору и уметь её определять для того, чтобы отличать от неспецифической, загрязняющей продукты.

Неспецифическая микрофлора пищевых продуктов — это микроорганизмы, случайно попадающие на пищевые продукты из окружающей среды. Её составляют сапрофиты, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также виды, вызывающие порчу пищевых продуктов. Степень загрязнённости посторонней микрофлорой зависит от многих факторов: правильности заготовки самого пищевого продукта, его транспортировки, хранения, технологии последующей обработки и (на всех этапах) от соблюдения санитарного режима. Особую опасность представляет инфицирование пищевых продуктов высокопатогенными микроорганизмами⁷, многие из которых способны не только длительно сохранять жизнеспособность в продуктах, но и интенсивно в них размножаться⁸.

Исследование микрофлоры пищевых продуктов в практикуме проводится на образцах молока и молочных продуктов.

⁷ СанПиН 3.3686-21.

⁸ Санитарная микробиология пищевых продуктов: учеб. пособие / Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев, Г.Ф. Кабиров, А.К. Галиуллин. 2-е изд. СПб.: Лань, 2015. 560 с.

4.1.2. Микробиологическое исследование молока и молочных продуктов

Молоко и молочные продукты могут содержать различные микроорганизмы. При изготовлении кисломолочных продуктов в молоко после пастеризации добавляют закваску, которая характеризует специфическую микрофлору данного продукта. Неспецифическую микрофлору молока составляют гнилостные микробы, аэробные и анаэробные бациллы, плесени и многие другие. Обсеменение молока микробами происходит уже в процессе дойки, и его интенсивность зависит от соблюдения санитарно-гигиенических условий при получении молока. Плохие условия хранения молока способствуют нарастанию в нем микрофлоры. Патогенные микроорганизмы могут попадать в молоко в процессе его получения и транспортировки из окружающей среды или содержаться в молоке больных животных (стафилококки, бруцеллы, микобактерии туберкулёза). Через молоко и молочные продукты могут передаваться возбудители различных заболеваний.

При санитарно-микробиологическом исследовании молока и других молочных продуктов производят определение:

- 1) общего количества бактерий (ОМЧ) — количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 мл жидкости (КМАФАнМ);
- 2) количества бактерий группы кишечной палочки (БГКП), что является показателем фекального загрязнения;
- 3) золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*);
- 4) патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл;
- 5) для некоторых видов молочных продуктов — листерий (*Listeria monocytogenes*), плесневых грибов и дрожжей;
- 6) по эпидемическим показаниям — бактериологическое исследование для выявления возбудителя заболевания, возникновение которого связывают с употреблением данного продукта.

В условиях школьных и малообеспеченных лабораторий рекомендуется практическое определение общего количества бактерий (КМАФАнМ) и бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

Основные показатели, характеризующие нормативы качества молока и некоторых видов молочных продуктов определены в ТР ТС 033/2013 (табл. 2).

Таблица 2

**Санитарно-микробиологические нормативы
для молока и некоторых видов молочной продукции⁹**

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/мл (см ³), не более	Масса (объём) продукта (г, мл), в которой не допускаются			
		БГКП (коли-формы)	Патогенные, в том числе сальмонеллы	Стафилококки <i>S. aureus</i>	Листерии <i>L. monocytogenes</i>
Питьевое молоко, восстановленное молоко, молочный напиток (пастеризованные) в потребительской таре	1×10^5	0,01	25	1	25
Молочная сыворотка и пахта (в потребительской таре))	1×10^5	0,01	25	1	25

4.2. Микрофлора воды и её исследование

4.2.1. Общие сведения

В воде формируются определённые биоценозы с преобладанием микроорганизмов, адаптировавшихся к условиям местонахождения. Количественный и качественный состав микрофлоры воды зависит от состава и концентрации минеральных и органических веществ, температуры, рН, скорости движения воды, массивности поступления сточных вод (ливневых, фекально-бытовых и промышленных). Количество микробов прямо пропорционально степени загрязнённости водоёмов. Особенно богаты микроорганизмами пруды, ручьи, озёра густонаселённых районов. В закрытых водоёмах (озёра, пруды) наблюдается определённая закономерность в распределении бактерий. Состав микроорганизмов различен на поверхности воды и на дне водоёмов. Наиболее

⁹ Приводится на основе Технического регламента Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013).

обильно заселена микроорганизмами вода на глубине 10–100 см. В более глубоких слоях их количество значительно снижается. Ключевые воды и воды артезианских колодцев наиболее чисты.

Поступившие в водный объект вещества включаются в биохимические круговороты с участием живых организмов и факторов неживой природы. Это приводит к восстановлению природных свойств водных объектов. Процесс восстановления природных свойств воды, происходящий естественным путём в результате физико-химических, биохимических и других процессов, называется самоочищением воды.

Микрофлора воды активно участвует в процессе самоочищения от органических отходов, обеспечивая их переработку в минеральные соединения. Утилизация органических отходов связана с деятельностью постоянно обитающих в воде микроорганизмов, т. е. составляющих аутохтонную микрофлору. В пресных водоёмах находятся различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.), кокковидные (микрোকки), извитые и нитевидные (актиномицеты). На дне водоёмов, в иле увеличивается количество анаэробов. При загрязнении воды органическими веществами появляется большое количество непостоянных (аллохтонных) представителей микрофлоры воды, которые исчезают в процессе самоочищения воды.

Кроме того, самоочищение воды происходит за счёт перемешивания водных масс, действия ультрафиолетовых солнечных лучей и т. д. В связи с этим наиболее интенсивно самоочищение воды осуществляется в реках с быстрым течением в тёплый период года, когда биологическая активность в водных экосистемах наибольшая.

Вода — фактор передачи возбудителей многих инфекционных заболеваний. Вместе с загрязненными ливневыми, талыми и сточными водами в озёра и реки попадают представители нормальной микрофлоры человека и животных (кишечная палочка, цитробактер, энтеробактер, энтерококки, клостридии) и возбудители кишечных инфекций (брюшного тифа, паратифов, дизентерии, холеры, лептоспироза, энтеровирусных инфекций, криптоспориоза и др.). Некоторые возбудители могут даже размножаться в воде (холерный вибрион, легионеллы)¹⁰.

¹⁰ Правосудова Н.А., Мельников В.Л. Указ. соч.

4.2.2. Микробиологическое исследование воды

Поскольку вода используется при производстве любого вида продукции, а также непосредственно в пищу, соответствие её качества санитарно-микробиологическим показателям чрезвычайно важно. Водным путём могут передаваться кишечные инфекции — холера, брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, дизентерия, гепатит А, а также лептоспирозы, сибирская язва, туляремия, различные грибковые заболевания. В связи с этим основной целью санитарно-микробиологического исследования воды является определение наличия в ней патогенной и условно-патогенной микрофлоры и, следовательно, источника этого попадания, а также предупреждение распространения инфекционных заболеваний среди населения.

Исследованию подлежит вода централизованного водоснабжения, колодцев, открытых водоёмов, бассейнов, сточные воды.

При санитарно-микробиологическом исследовании воды определяются различные показатели в зависимости от поставленной задачи и характера исследуемого объекта (табл. 3, 4).

Таблица 3

Основные санитарно-микробиологические показатели безопасности воды¹¹

Наименование объекта контроля	Показатель	Норматив
Вода питьевая централизованных систем водоснабжения	ОМЧ	Не более 50 (в 1 мл)
	Обобщённые колиформные бактерии (БГКП)	Отсутствие (в 100 мл)
	Колифаги	Отсутствие (в 100 мл)
	Споры сульфитредуцирующих бактерий	Отсутствие (в 20 мл)
Вода питьевая при нецентрализованном использовании местных источников	ОМЧ	≤ 100 КОЕ/мл
	Обобщённые колиформные бактерии (БГКП)	Отсутствие (в 100 мл)
	Колифаги	Отсутствие (в 100 мл)

¹¹ СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания.

Окончание таблицы 3

Наименование объекта контроля	Показатель	Норматив
Вода плавательных бассейнов и аквапарков	Обобщённые колиформные бактерии (БГКП)	Отсутствие (в 100 мл)
	<i>E. coli</i>	Отсутствие (в 100 мл)
	Энтерококки	Отсутствие (в 100 мл)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Отсутствие (в 500 мл)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Отсутствие (в 100 мл)
Обеззараженные сточные воды, допустимые к сбросу в поверхностные водные объекты	Обобщённые колиформные бактерии (БГКП)	≤ 500 КОЕ / 100 мл
	Колифаги	≤ 100 БОЕ / 100 мл
	Возбудители кишечных инфекций бактериальной природы	Отсутствие (в 1 л)
	Возбудители кишечных инфекций вирусной природы	Отсутствие (в 10 л)
Примечание. Выделены показатели, включённые в данный практикум.		

Таблица 4

Основные санитарно-микробиологические показатели безопасности воды поверхностных водных объектов¹²

Показатели	Норматив для различных целей использования		
	Для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения из поверхностных водоисточников, а также для водоснабжения пищевых предприятий	В зонах рекреации, а также в черте населённых мест	
		Купание	Занятие водным спортом
Обобщённые колиформные бактерии (БГКП)	≤ 100 КОЕ / 100 мл	≤ 500 КОЕ / 100 мл	≤ 1000 КОЕ / 100 мл
Колифаги	≤ 10 БОЕ / 100 мл	≤ 10 БОЕ / 100 мл	≤ 10 БОЕ / 100 мл
Примечание. Выделены показатели, включённые в данный практикум.			

¹² СанПиН 1.2.3685-21.

В настоящем практикуме изучаются наиболее часто используемые показатели, актуальные для определения качества и безопасности воды: ОМЧ и обобщённые колиформные бактерии (БГКП) и методы их обнаружения.

ОМЧ позволяет оценить уровень микробного загрязнения питьевой воды, дополняя показатели фекального загрязнения, а также выявить загрязнение из других источников, например промышленные сбросы. Увеличение этого показателя даже в пределах норматива, выявленное повторно, служит сигналом для поиска причины загрязнения (источника промышленных или бытовых сбросов).

Показателем степени фекального загрязнения служит количество бактерий семейства Enterobacteriaceae (обобщённые колиформные бактерии, БГКП). Обнаружение в питьевой воде этих бактерий указывает на потенциальную эпидемическую опасность водопотребления из-за возможного присутствия в ней представителей патогенных кишечных бактерий. Термотолерантные колиформные бактерии способны ферментировать лактозу при температуре 44 °С в течение 24 ч. Так как это свойство быстро утрачивается, то обнаружение бактерий с такими свойствами говорит о свежем фекальном загрязнении. Определение термотолерантных колиформных бактерий в практикуме не приводится.

4.3. Микрофлора воздуха и её исследование

4.3.1. Общие сведения

Воздух является средой, не поддерживающей размножение микроорганизмов; это определяется отсутствием питательных веществ и недостатком влаги. Кроме того, в воздухе более выражено микробицидное действие солнечных лучей УФ-спектра.

Загрязнение воздуха микробами происходит из всех окружающих человека сред — почвы, воды, от животных, людей и растений. Состав микрофлоры воздуха разнообразен и значительно изменяется в зависимости от условий. Воздух верхних слоёв атмосферы, а также горный и морской содержит очень мало микроорганизмов. В населённых местах их значительно больше, особенно в летнее время. Сильно микроорганизмами насыщен атмосферный воздух над крупными городами и особенно сильно — в зонах присутствия большого количества людей (плохо вентилируемые помещения, транспорт, магазины и т. п.). Это связано с тем, что микроорганизмы в воздухе находятся во взвешенном состоянии, сорбированном витающими частицами влаги или аэрозолей.

Микрофлора атмосферного воздуха и воздуха жилых помещений различается.

Микрофлора атмосферного воздуха. Среди микроорганизмов атмосферного воздуха доминируют виды, обитающие в почве. Стафилококки и стрептококки обнаруживают лишь в 3,7% проб, взятых в местах большого скопления людей. В атмосферном воздухе в основном встречаются следующие группы микроорганизмов:

— пигментообразующие кокки в солнечные дни составляют до 70–80% всей флоры (пигмент защищает бактерии от инсоляции);

— почвенные споровые и гнилостные микроорганизмы. Их содержание резко увеличивается в сухую и ветреную погоду;

— плесневые грибы и дрожжи (ПГД). Их содержание увеличивается при повышении влажности воздуха.

В атмосферном воздухе постоянно происходят процессы самоочищения за счёт осадков, инсоляции, температурных воздействий и других факторов. В свою очередь атмосферный воздух сам по себе — фактор очищения воздуха жилых помещений.

Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна и относительно стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре. К ним можно отнести стафилококки, стрептококки, дифтерийные палочки, пневмококки, менингококки, различные вирусы и др. Уровень микробного загрязнения зависит главным образом от плотности заселения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, регулярные проветривания и влажная уборка помещений снижают обсеменённость воздуха в 30 раз (по сравнению с контрольными помещениями). Важным является то, что *самоочищения воздуха закрытых помещений не происходит*¹³.

4.3.2. Микробиологическое исследование воздуха

Воздух может служить фактором передачи респираторных вирусных заболеваний (ОРВИ), гриппа, туберкулёза, дифтерии, менингококковой инфекции, ветряной оспы и др.

¹³ Правосудова Н.А., Мельников В.Л. Указ. соч.

Санитарно-микробиологическому контролю подвергаются некоторые помещения медицинского и фармацевтического назначения (СП 2.1.3678-20)¹⁴. При оценке их санитарного состояния специалистами определяется общее микробное число.

Атмосферный воздух и воздух жилых помещений не регламентируется по микробиологическим показателям (СанПиН 2.1.3684-21 и СанПиН 1.2.3685-21). Усреднённые показатели воздуха жилых помещений приведены в табл. 5.

Таблица 5

Нормативные показатели воздуха жилых помещений¹⁵

Степень загрязнённости	Зима	Лето
Чистый воздух	ОМЧ ≤ 4500	ОМЧ ≤ 1500
Грязный воздух	ОМЧ ≤ 7000	ОМЧ ≤ 2500

В качестве показателя запылённости и отсутствия влажной уборки расценивают присутствие спорообразующих палочек, а показателем повышенной влажности — плесневых грибов.

Наиболее распространённым методом отбора проб воздуха является седиментационный метод, описанный в этом практикуме. Он широко распространён благодаря простоте и доступности, однако является неточным. Его используют *только при исследовании воздуха закрытых помещений*. Метод заключается в способности микроорганизмов под действием силы тяжести и под влиянием движения воздуха (вместе с частицами пыли и капельками аэрозоля) оседать на поверхность питательной среды на открытые поверхности¹⁶ (в открытые чашки Петри, экспресс-тесты).

¹⁴ СП 2.1.3678-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг».

¹⁵ Микрофлора воздуха закрытых помещений и нормы микробного числа. Режим доступа: <https://agsvv.ru/blog/obzory-tovarov/mikroflora-vozdukha-zakrytykh-pomeshcheniy-i-normy-mikrobnogo-chisla/> (дата обращения: 02.02.2025).

¹⁶ ГОСТ Р ИСО 16000-19-2014. Воздух замкнутых помещений. Ч. 19. Отбор проб плесневых грибов.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО В ПРАКТИКУМЕ ОБОРУДОВАНИЯ

5.1. Назначение и области применения

Учебно-методический комплект «Микробиологическая лаборатория учебная (МБЛ-У)» (далее — УМК МБЛ-У, изделие (рис. 3)) предназначен для практического изучения микробиологических загрязнений по актуальным показателям и методов их обнаружения при оценке качества и безопасности пищевых продуктов и объектов окружающей среды.

УМК МБЛ-У применяется для санитарно-микробиологического тестирования в учебных практиках в форме демонстрационных экспериментов в средней полной школе (8–11 классы), а также в учреждениях дополнительного и среднего профессионального образования.

Изделие предусматривает применение унифицированных стандартизованных технологий микробиологического тестирования при санитарно-микробиологических исследованиях образцов продуктов питания (молоко и молочные продукты) и объектов среды обитания (поверхности, воздух, вода). При выполнении работ не требуется специальных условий, эксперименты выполняются с использованием готовых к применению тестовых средств, стерильных принадлежностей и материалов в соответствии со специальным методическим пособием.

МБЛ-У обеспечено соответствующими средствами тестирования, принадлежностями, материалами, химическими реагентами, специальным методическим пособием и документацией, что обеспечивает безопасное выполнение демонстрационных экспериментов, обеззараживание материалов экспериментов и их утилизацию в условиях учебного заведения. Применяется для санитарно-микробиологического экспресс-контроля в учебной практике посредством проведения первичной типизации и ориентировочного подсчёта колоний (КОЕ/г продукта).

Предусмотренные в составе изделия средства оснащения применимы также на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами, а также при санитарной оценке микробиологических загрязнений в рабочей и жилой зонах.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ



Рис. 3. Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У:
а — в укладочной коробке-кейсе, б — общий вид в открытой укладке:
1 — готовые ЭТ «Петритест»; 2 — принадлежности для опытов в индивидуальной упаковке; 3 — препарат для обеззараживания «Дихлор»; 4 — штатив сборный и упаковка с реагентом «Дихлор» для обеззараживания; 5 — средства индивидуальной защиты

Подробнее о расположении элементов состава изделия см. в паспорте на изделие.

Лаборатория МБЛ-У (далее также — лаборатория) позволяет выполнить эксперимент по выращиванию колоний микроорганизмов относительно быстро (в течение от 12 до 72 ч), что позволяет определять бактерии при санитарно-микробиологических исследованиях на образцах продуктов питания (молоко и молочные продукты) и объектов среды обитания (поверхности, воздух, почва, вода) с применением готовых экспресс-тестов (ЭТ) марки «Петритест»¹⁷ или аналогичных, предусматривающих применение унифицированных стандартизованных технологий микробиологического тестирования. Лаборатория применима также на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами, а также при санитарной оценке микробиологических загрязнений в рабочей и жилой зонах.

Работы выполняются в форме демонстрационных экспериментов в средней полной школе (8–11 классы), а также в учреждениях дополнительного и профессионального образования. Выполнение работ не требует специальных условий и производится с готовыми к применению средствами, стерильными материалами и принадлежностями.

Эксперименты в учебно-демонстрационной работе ЭТ могут применяться:

1) при качественной оценке загрязнений — с посевом непосредственно отобранной пробы;

2) при исследовательских работах — с предварительным разведением пробы в стерильном изотоническом (физиологическом) растворе хлорида натрия или стерильном водном растворе 0,1% пептона с массовой концентрацией 0,9% с последующим высевом образца на питательную среду ЭТ.

5.2. Методы исследования и основные характеристики изделия

Метод исследования основан на посеве подготовленной пробы исследуемого продукта либо смыва с поверхности. После инкубирования ЭТ в заданных условиях на питательной среде вырастают колонии микроорганизмов, характеризующие санитарно-микробиологическое состояние объекта исследования.

Экспресс-тест в товарной форме «Петритест» (рис. 4) представляет собой сухую микробиологическую питательную среду на основе агара на пластмассовых носителях — герметично закрытых круглых подложках диаметром

¹⁷ Методические рекомендации 4.2-022-2016. Методы микробиологического экспресс-контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием продукции «Петритест™». НПО «Альтернатива», 2022.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

55 мм, на которые нанесена сетка со стороной ячейки 1 см. Подробные технические характеристики на ЭТ «Петритест» приведены в прилагаемом паспорте от производителя¹⁸.



а



б



в

Рис. 4. Экспресс-тесты «Петритест»:

а — общий вид упаковочной коробки (в коробке 10 шт. ЭТ); б — коробка со стороны маркировки; в — индивидуальные подложки с ЭТ в герметичном пакете с маркировкой

Масса навески для анализа из усреднённой пробы продукта должна быть не менее 15 г, масса навески пробы продукта, предназначенной для приготовления исходного разведения (если оно проводится), — не менее 1 г/мл.

¹⁸ Сухие микробиологические экспресс-тесты «Петритест Паспорт®»: паспорт.

5.3. КОМПЛЕКТНОСТЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕСУРС

Рабочие условия при проведении практических работ — согласно правилам для данной образовательной организации. Рабочие условия применения ЭТ (температура и относительная влажность воздуха, атмосферное давление) должны соответствовать указанным в документации на конкретные типы ЭТ.

Объём вносимой на питательную среду пробы (аликвота) — 1 мл.

Габаритные размеры изделия МБЭЛ-У составляют (ориентировочно) 420 × 310 × 130 мм, масса — не более 3,0 кг.

Срок службы изделия определяется работоспособностью имеющихся в комплекте экспресс-тестов, которые имеют сроки годности до 24 месяцев при соблюдении правил применения, транспортирования и хранения.

ЭТ «Петритест» стерилизованы при выпуске и содержат пластмассовую подложку в герметичном пакете, а также инструкцию по применению.

Подробная информация об изделии МБЛ-У и применяемых в составе лаборатории ЭТ приведена в прилагаемой сопроводительной документации и на интернет-ресурсах производителя.

Описание и порядок выполнения практических работ по разным направлениям с применением изделия «УМК МБЛ-У» приведены в главе 8 настоящего пособия.

5.3. Комплектность оборудования и ресурс

Комплектность изделия «УМК МБЛ-У» приведена в табл. 6. В состав изделия помимо готовых экспресс-тестов на три наименования санитарно-значимых показателей включён изотонический раствор, необходимый для возможных исследовательских работ, а также стерильные принадлежности для выполнения операций по подготовке проб (если такие проводятся).

Таблица 6

Комплектность изделия «УМК МБЛ-У»

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
Материалы			
1	Экспресс-тесты «Петритест» сухие стерилизованные на показатели:		Тестирование согласно п. 8 настоящего пособия и инструкции на ЭТ
	1.1. Общее микробное число (ОМЧ, КМА-ФАнМ)	20 шт.	
	1.2. Энтеробактерии (БГКП, колиформные бактерии)	10 шт.	
	1.3. Плесневые грибы и дрожжи (ПГД)	10 шт.	

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
2	Комплект самоклеящихся этикеток	1 компл.	Маркировка ЭТ и принадлежностей
3	Раствор для дезинфекции	100 мл	Обработка рук в перчатках, поверхностей
4	Раствор (реагент) для обеззараживания (таблетки дихлоризоциануровой кислоты («Дихлор»))	10 таблеток в тубе	Обеззараживание колоний. Хранить в герметично закрытом виде
Принадлежности			
5	Ножницы	1 шт.	Вскрытие упаковок
6	Маркер перманентный чёрный	1 шт.	Маркировка ЭТ и принадлежностей
7	Штатив лабораторный полимерный для пробирок ШЛПП-10	1 шт.	Размещение пробирок
8	Вата нестерильная	100 г.	Для распределения дезинфицирующего раствора по поверхности и перчаткам
9	Укладка изделия типа «контейнер/кейс»	1 шт.	Размещение средств комплектации
Материалы и принадлежности для практических работ			
Работа 1			
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	3 шт.	Использовать сразу после вскрытия
Работа 2			
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия

5.3. КОМПЛЕКТНОСТЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕСУРС

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	3 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 3		
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 4		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	3 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 5		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	3 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 6		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 7		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 8		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Зонд-тампон для отбора, транспортирования и хранения биологических проб (пластик/хлопок) стерильный, длина 15 см	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 9		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия

5.3. КОМПЛЕКТНОСТЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕСУРС

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
	Зонд-тампон для отбора, транспортирования и хранения биологических проб (пластик/хлопок) стерильный, длина 15 см	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Работа 10		
	Изотонический раствор NaCl с массовой концентрацией 0,9% стерильный в пластиковых ампулах по 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Зонд-тампон для отбора, транспортирования и хранения биологических проб (пластик/хлопок) стерильный, длина 15 см	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Шприц полимерный в индивидуальной упаковке стерильный на 10 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильная на 15 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Средства индивидуальной защиты		
15	Перчатки защитные	1 пара	Соблюдение стерильности и мер безопасности
16	Очки защитные	1 шт.	Соблюдение мер безопасности
	Документация		
17	Настоящее учебно-методическое пособие-практикум	1 экз.	Поставляется для учебных практик
18	Техническая документация (паспорта, инструкции, сертификаты)	1 компл.	Сопроводительная документация

Запасные принадлежности для дополнительной серии практических работ в варианте исследовательских работ (с разбавлением проб) приведены в табл. 7.

Таблица 7

Запасные принадлежности для дополнительной серии практических работ с разбавлением проб

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
1	Экспресс-тесты «Петритест» сухие стерилизованные на показатели:		Тестирование согласно п. 8 настоящего пособия и инструкции на ЭТ
	1.1. Общее микробное число (ОМЧ, КМА-ФАнМ)	20 шт.	
	1.2. Энтеробактерии (БГКП, колиформные бактерии)	10 шт.	
	1.3. Плесневые грибы и дрожжи (ПГД)	10 шт.	
2	Шприц полимерный, в индивидуальной упаковке, стерильный на 10 мл	12 шт.	Использовать сразу после вскрытия
3	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильная на 2 или 5 мл	10 шт.	Использовать сразу после вскрытия
4	Пробирка полимерная коническая мерная с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке, стерильная на 15 мл	18 шт.	Использовать сразу после вскрытия
5	Зонд-тампон для отбора, транспортирования и хранения биологических проб (пластик/хлопок) стерильный, длина 15 см	5 шт.	Использовать сразу после вскрытия
<p>Примечание.</p> <p>1. Пипетку для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке стерильную на 2 мл можно заменить шприцем полимерным в индивидуальной упаковке стерильным на 2 мл.</p> <p>2. Пробирки полимерные конические мерные с крышкой (ПП) в индивидуальной упаковке стерильные на 15 мл можно заменить полимерными стерильными контейнерами для сбора биоматериала.</p>			

Ресурс при выполнении анализов проб с применением ЭТ

Предусмотренные в базовой комплектности набора экспресс-тесты «Петритест» в упаковке производителя (рис. 4) либо аналогичные тесты с применением готовых питательных сред позволяют выполнять тестирование не менее

40 проб для варианта качественной оценки и 10 проб для расширенного исследовательского варианта:

1) общее микробное число (ОМЧ) — 20 тестов (минимально — 17 ЭТ «Петритест» ОМЧ для исследовательского варианта);

2) энтеробактерии (кишечная палочка, сальмонелла и др.) (БГКП) — 10 тестов (минимально — 7 ЭТ «Петритест» БГКП для исследовательского варианта);

3) плесневые грибы и дрожжи (ПГД) — 10 тестов (минимально — 7 ЭТ «Петритест» ПГД для исследовательского варианта).

Имеющийся в составе изделия набор ЭТ и принадлежностей при проведении работ в исследовательском варианте (расширенном с разбавлениями проб) — по одному разу.

Запасные принадлежности для дополнительной серии практических работ в варианте исследовательских работ (с разбавлением проб) приведены в табл. 7. Запасные принадлежности (могут приобретаться в составе изделия) позволяют выполнять исследовательское тестирование ещё для одного полного цикла экспериментов по описаниям, приведённым в главе 8.

5.4. Дополнительная информация по оснащению работ

Указанные в табл. 7 принадлежности легко доступны в продаже и при необходимости могут быть приобретены потребителем самостоятельно (например, в аптечных сетях).

В практикуме взамен ЭТ «Петритест» могут использоваться (в состав МБЛ-У не входят):

— экспресс-тесты других типов либо приготовленные потребителем самостоятельно для контроля тех же показателей¹⁹;

— подложки для микробиологических работ (простые и готовые системы с питательной средой)²⁰



Важно, чтобы вся посуда (пробирки, пипетки, ЭТ) была стерильной.

¹⁹ MicroFast Coliform Count (CC) LR 1002. Режим доступа: <https://arnika-med.ru/products/microfast-coliform-count-sc-lr-1002> (дата обращения: 02.02.2025).

²⁰ MC-Media Pads (RAC) — КМАФАнМ — Инструкция. Режим доступа: <https://mibio.ru/mikrobiologiya/mc-media-pads-kmefanm/> (дата обращения: 02.02.2025).



Принадлежности из состава МБЛ-У при израсходовании могут быть приобретены в аптеках. При необходимости вместо пробирок и пипеток можно использовать контейнеры для сбора биологического материала и шприцы медицинские. Необходимо помнить, что стерильность оборудования сохраняется благодаря полимерной упаковке, поэтому удалять её необходимо непосредственно перед использованием (проведением практической работы).

Дополнительное оборудование, которое не входит в набор МБИ, но может понадобиться при подготовке к микробиологическим исследованиям и при их проведении: термостат, автоклав.

О приготовлении готовых сред и экспресс-тестов потребителем самостоятельно см. приложение 1.

6. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ И ТИПОВЫЕ ОПЕРАЦИИ В УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ

6.1. Общие правила работы



Перед тем как приступить к работе с изделием, выполняющему демонстрации и другие работы с МБЛ-У необходимо ознакомиться с настоящим пособием и паспортом на изделие, а также практически освоить выполнение операций, обратив внимание на соблюдение указанных ниже правил. Следует иметь в виду, что несоблюдение какого-либо одного правила из изложенных ниже приведёт к получению неправильного результата при тестировании, а в отдельных случаях (помечены в тексте особо) может представлять опасность для здоровья экспериментатора (демонстратора).

- *Все операции при работе с ЭТ и (или) питательными средами и принадлежностями требуют тщательности и соблюдения правил, предусмотренных для микробиологических работ.*
- *Оператор должен изучить последовательность и характер всех манипуляций, входящих в состав работы.*
- *Оператор должен обратить внимание на соблюдение стерильности при различных манипуляциях.*
- *При применении ЭТ необходимо следовать указаниям в документации (паспорте) по подготовке, использованию, хранению и утилизации использованных тестов и растворов.*

О стерильности при микробиологических манипуляциях

Все манипуляции должны проводиться только стерильными инструментами (посуда, пипетки, среды). Для демонстрационных работ (демонстрация роста микроорганизмов на питательных средах) стерильностью можно пренебречь, но в этом случае нельзя делать выводы о соответствии изученных сред (воды, молока) микробиологическим нормативам.

Все манипуляции с пробами совершайте максимально быстро, чтобы предотвратить попадание микрофлоры воздуха в пробу и на поверхность питательной среды.

Не касайтесь руками и другими предметами питательной среды и внутренних поверхностей контейнера с исследуемым материалом, чтобы предотвратить попадание микрофлоры кожи и поверхностей в пробу и на поверхность питательной среды.

Не используйте нестерильные пипетки и ёмкости для подготовки и хранения проб.

При приготовлении разведений образцов и их последующем посеве пипетку не кладите на стол для предотвращения попадания микроорганизмов с поверхности стола или штатива в образец.

6.2. Подготовка к работе

Перед началом работы убедитесь в наличии необходимого оборудования.

Продезинфицируйте рабочую поверхность стола (спирт этиловый 70% или любые антисептики для рук и поверхностей). Для этого смочите кусочек ваты дезинфицирующим раствором и протрите перчатки и поверхности.

Разместите на рабочей поверхности необходимое для опыта оборудование.

Продезинфицируйте руки (спирт этиловый 70% или антисептики). Дезинфекция рабочей поверхности стола и рук исследователя направлена на уменьшение количества микроорганизмов в окружающей среде и предотвращение попадания их на питательные среды.

6.3. Отбор проб для анализа (исследований)²¹

Для практикума мы рассматриваем использование фасованных продуктов.

Пробой считается часть исследуемого вещества, который мы берём для изучения. Для исследования пищевых продуктов отбирают одну или несколько навесок для приготовления разведений и (или) высева в питательные среды. Навеску для посева отбирают весовым или объёмным методом непосредственно после вскрытия пробы продукта. Вскрытие проводят в условиях, исключающих загрязнение продукта микроорганизмами, стерильными инструментами.

При исследовании природных объектов (воды, воздуха) предварительно необходимо собрать информацию об объекте. Для водного объекта — наименование водоёма, водоисточника, его местонахождение; описание места отбора проб (для водоёмов — расстояние от берега и глубина), близость источников загрязнения, быстрота течения, метеорологические условия — температура воды, воздуха, наличие осадков, ветра, волн и т. д.; дата взятия пробы

²¹ Приводится на основе ГОСТ 26669, ГОСТ 31942-2012, МУК 4.2.2942-11.

(час, число, месяц, год). Для воздуха — площадь, назначение помещения, время забора пробы.

Необходимо транспортировать пробы в чистых контейнерах, предохранять от резких толчков (чтобы не замочить пробки), замерзания, действия солнечных лучей. Исследование воды должно быть проведено как можно быстрее, максимальный срок хранения проб до анализа (включая транспортировку) — 8 ч при температуре 5 ± 3 °С. При более длительном и неправильном хранении может наступить размножение или гибель микрофлоры.

Пробу жидких и вязких пищевых продуктов отбирают стерильной пипеткой путём её введения в глубину продукта. Часть продукта, оставшаяся на поверхности пипетки, оставляют стечь к острию пипетки. Образующуюся каплю удаляют прикосновением к внутренней стенке посуды или потребительской тары над поверхностью продукта. Вязкие продукты удаляют с поверхности пипетки стерильным тампоном. Навеску продукта переносят в посуду с физиологическим раствором или на питательную среду.

Пробу водопроводной воды собирают непосредственно в стерильный стакан или пробирку.

Пробу воды из открытых водоёмов можно собрать непосредственно в стерильный контейнер (пробирку) путём погружения контейнера (пробирки) либо стерильной пипеткой, после чего поместить воду в стерильный контейнер. Отбор проб проводят с использованием различных плавучих средств, мостов, помостов в местах, где глубина водоёма не менее 1,0–1,5 м. Не допускается проводить отбор проб с берега.

Отбор проб воздуха в закрытых помещениях производят в нескольких точках. Отбор проб устанавливают из расчёта на каждые 20 м² площади: одна проба воздуха по типу конверта: четыре точки по углам комнаты (на расстоянии 0,5 м от стен) и пятая — в центре. Пробы воздуха забираются на высоте 1,6–1,8 м от пола — на уровне дыхания в жилых помещениях. Пробы необходимо отбирать днём (в период активной деятельности человека) после влажной уборки и проветривания помещения.

Отбор проб с поверхностей проводят смывом с помощью ватных тампонов. Налейте в пробирку 2 мл стерильного физиологического раствора (используйте стерильный шприц). Снимите защитную упаковку с тампона, смочите его путём погружения в физраствор. Исследуемую поверхность общей площадью 100 см² тщательно протрите тампоном три раза в разных направлениях. После взятия смыва тампон опустите в пробирку. Пробирки с тампонами тщательно встряхните в течение 10 сек. Отожмите смывную жидкость из тампона, надавливая им на стенки пробирки, одновременно вращая тампон. Полученную суспензию считают исходным разведением.

6.4. Подготовка образцов для исследований (приготовление разведений)

Образцом считается часть пробы, которую мы используем для посева на питательную среду. Для исследований образцы необходимо подготовить путём разведения. Это нужно, если материал (например, вода открытых водоёмов) содержит большое количество микроорганизмов, что позволит получить изолированные колонии, удобные для подсчёта КОЕ.

Для приготовления разведений необходимо смешать пробу жидкого продукта (молоко, вода) со стерильным физиологическим раствором (0,9% NaCl). Для приготовления разведения 10^{-1} нужно смешать 9 мл стерильного физиологического раствора и 1 мл исследуемого материала. Для приготовления разведения 10^{-2} — 9 мл стерильного физиологического раствора и 1 мл разведения 10^{-1} . Подобным образом можно приготовить последующие разведения (рис. 5).

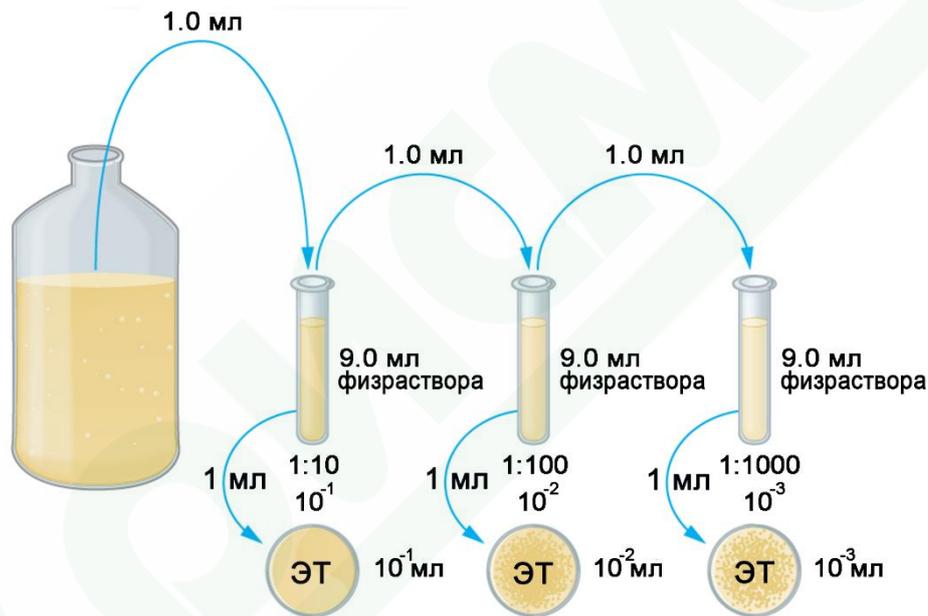


Рис. 5. Схема приготовления разведений

(Источник: https://philschatz.com/microbiology-book/resources/OSC_Microbio_09_01_serialtub.jpg)

6.4. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разведение проводят в следующем порядке. Возьмите три стерильные пробирки, маркируйте их (напишите) степень разведения: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

Примечание. Для маркировки (надписи, пометки и т. п.) на принадлежностях удобно использовать маркер и самоклеящиеся этикетки из состава лаборатории.

Откройте ампулы с физиологическим раствором. Освободите стерильный шприц от упаковки, с его помощью заберите из первой ампулы 9 мл жидкости и добавьте в первую пробирку (разведение 10^{-1}), тем же шприцом заберите 9 мл жидкости из второй ампулы и добавьте её во вторую пробирку (разведение 10^{-2}). Стерильной пипеткой внесите 1 мл образца в первую пробирку (разведение 10^{-1}), продуванием воздуха тщательно перемешайте содержимое пробирки (нажать 2–3 раза на грушу пипетки) (рис. 6). Этой же пипеткой заберите 1 мл жидкости из первой пробирки (разведение 10^{-1}) и перенесите во вторую пробирку (разведение 10^{-2}), перемешайте содержимое пробирки. Аналогично готовятся следующие разведения. Пипетку оставьте в пробирке с последним (наибольшим) разведением, чтобы потом использовать её для посева образцов из различных разведений на питательные среды.



Не кладите на стол пипетку во время любых действий для предотвращения контаминации (переноса микроорганизмов с поверхности стола или штатива в образец) или потери стерильности.

Рис. 6. Перемешивание жидкости в пробирке воздухом путём продувания

Типовая для технологий микробиологического тестирования операция фламбирования, применяемая для стерилизации термоустойчивых материалов (горлышек стеклянных бутылок, пробирок и т. п.), в настоящем практикуме не проводится ввиду применения пластмассовых изделий, разрушающихся при обработке в открытом пламени.

6.5. Посев образцов

Необходимое количество ЭТ (типа «Петритест» или аналогичных) в зависимости от цели исследования (демонстрационное тестирование или научное исследование) поместите на ровную поверхность. Поднимите верхнюю крышку первого ЭТ (либо используемой чашки Петри), 1 мл образца внесите на поверхность питательной среды (рис. 7).



Рис. 7. Посев образца на питательную среду

(Источник: <https://thumbs.dreamstime.com/z/scientist-working-petri-dish-pipette-table-closeup-solution-chemistry-151978673.jpg>)

Далее закройте крышку ЭТ на защёлки. Плавными горизонтальными движениями (из стороны в сторону), держа тест горизонтально, распределите исследуемую жидкость равномерно по поверхности питательной среды.

Оставьте ЭТ на ровной поверхности на несколько минут для набухания субстрата и образования геля.

Также проведите посев других образцов на ЭТ (при необходимости — при выполнении исследовательской работы).



Не открывайте все ЭТ одновременно. Это может привести к загрязнению среды микроорганизмами из воздуха.

6.6. Маркировка посевов

Для корректной интерпретации полученных результатов на поверхности ЭТ выполняющим эксперимент нужно нанести рабочие записи о выполняемом эксперименте. Такими сведениями могут быть (образец записей приведён на рис. 8):

- цель посева (ОМЧ, колиформные бактерии или ПГД);
- дата посева (для определения времени окончания инкубации);
- степень разведения образца (если выполняется исследование);
- номер образца (возможна краткая характеристика образца).

Примечание. Для маркировки (надписи, пометки и т. п.) на принадлежностях удобно использовать маркер и самоклеящиеся этикетки из состава лаборатории.

Этикетку следует наклеивать на той стороне подложки ЭТ, где помещена питательная среда. Так как ЭТ инкубируют в положении крышкой вниз, то удобно именно на этой части размещать информацию об образце. Этикетку необходимо наклеивать таким образом, чтобы она в дальнейшем не мешала подсчёту колоний.

На заводские подложки с ЭТ на верхней стороне уже нанесена информация о цели посева (определяемом показателе — ОМЧ, колиформные бактерии, грибы).

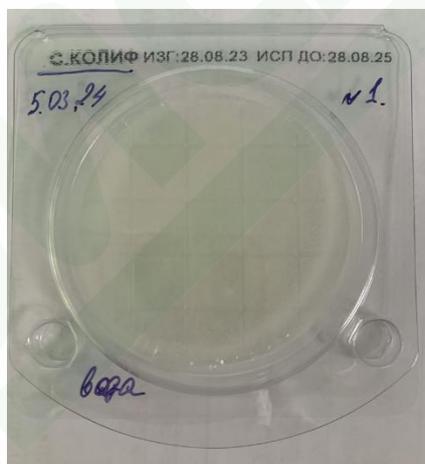


Рис. 8. Маркировка посева

6.7. Инкубация посевов и завершение работы с пробой

Посевы инкубируют при различных температурах (37 °С или 22 °С, как указано в инструкции на ЭТ для данного показателя). Продолжительность и температура инкубации зависят от исследуемого материала и цели исследования. Необходимые для проведения инкубации и завершения работы сведения указаны в описании практических работ (раздел 8).

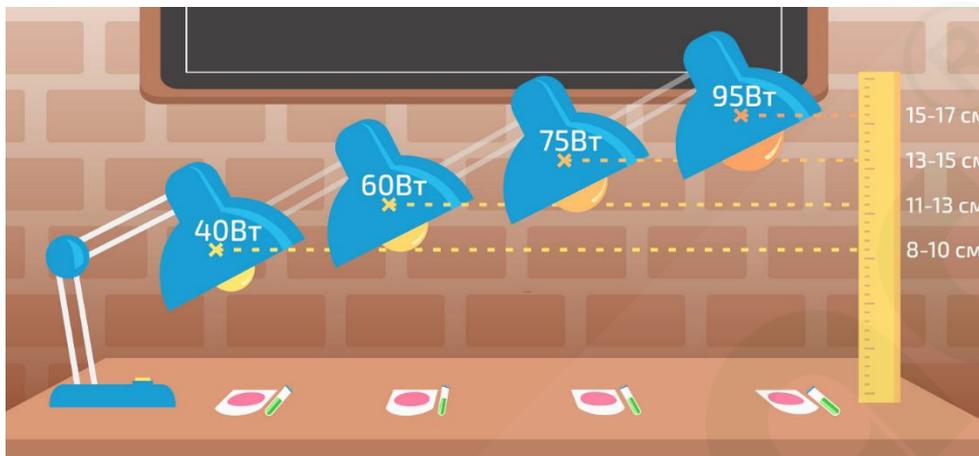
ЭТ инкубируют в горизонтальном положении крышкой вниз.

Температура 22 °С примерно соответствует комнатной температуре, и практически в работах, проводимых в условиях учебного кабинета (лаборатории), каких-либо дополнительного оборудования не требуется.

Для поддержания постоянной температуры в пределах 35–38 °С специалистами обычно используется термостат. Если его нет, то в наших работах можно использовать технологию с использованием лампы накаливания, которая в данном отношении является источником теплового излучения. При этом в зависимости от мощности лампы выбирается расстояние от плафона (рассеивателя) лампы до поверхности стола (рис. 9). В частности, для лампы накаливания мощностью 40 Вт оптимальное расстояние от до поверхности стола составляет примерно 8–10 см; 60 Вт — примерно 11–13 см; 75 Вт — примерно 13–15 см; 95 Вт — примерно 15–17 см. Необходимая температура в такой технологии достигается в среднем через 7–10 мин.

Примечание.

1. При использовании такой техники инкубирования ставить ЭТ один на другой не рекомендуется.
2. Даная технология применима только при использовании в качестве источника теплового излучения лампы накаливания. Например, исследование в тех же условиях светодиодной лампы (LED-лампы) показало, что вне зависимости от приближения LED либо какой-то подобной температура остаётся постоянной и составляет 30 °С, что недостаточно для нормального прорастания многих микроорганизмов.

Рис. 9. Оптимальное расстояние между лампочкой и ЭТ «Петритест»²²

По завершении работы продезинфицируйте рабочую поверхность стола, перчатки (спирт этиловый 70% или антисептики) и вымойте руки с мылом. Пробирки, пипетки, шприцы, ампулы с физраствором, используемые для подготовки пробы, можно утилизировать с бытовым мусором.

Если в дальнейшем вы хотите использовать пробирки и пипетки для опытов, не требующих стерильности, то вымойте их водопроводной и сполосните чистой водой. Для ополаскивания принадлежностей рекомендуется использовать прокипячённую маломинерализованную питьевую воду.

6.8. Оценка результатов

После инкубирования подсчитайте на ЭТ количество колоний, не открывая его. Нужно считать все видимые — и большие и маленькие колонии во всех квадратах. Для подсчёта отбирайте ЭТ, на которых выросло от 15 до 300 колоний (рис. 10). При большом количестве колоний на ЭТ может наблю-

²² Материал из рекомендаций производителя ЭТ (<https://petritest.ru/vopros-otvet#lampa-vmesto-termotata-v-instruktsii-k-petritestam-skazano-chto-esli-net-termotata-to-mozhno-vospolzovatsya-obychnoj-lampoj-podskazhite-kakaya-lampochka-kakoe-rasstoyanie-i-t-d>).

даться сплошной рост микроорганизмов. Иногда на ЭТ с очень большим количеством колоний в центре может не оказаться видимых колоний, а по краям будет видно множество мелких колоний. В этих случаях необходимо увеличить степень разведения образца и заново провести анализ для более точного подсчёта микроорганизмов.

Сетка, нанесенная на подложке ЭТ, позволяет провести подсчёт колоний в каждом квадрате, избегая повторного подсчёта одной и той же колонии. Для подсчёта мелких колоний рекомендуется использовать увеличительную лупу.



Рис. 10. Внешний вид колоний на различных средах

(Источник: https://avatars.mds.yandex.net/get-mpic/1937077/img_id8536588023430551074.jpeg/orig;
https://fabricators.ru/sites/default/files/announcement/foto_omch_posev.jpg;
https://avatars.mds.yandex.net/get-mpic/7981123/img_id6354127180445124893.jpeg/orig)

Результаты работы внесите в таблицу, размещенную в конце каждой практической работы, и сделайте выводы о качестве и чистоте исследуемого объекта.

6.9. Проведение обеззараживания и утилизации использованных ЭТ



Обеззараживанию по окончании посева и инкубирования подлежат все ЭТ независимо от того, наблюдается ли на них видимый рост или нет.

Пробирки, пипетки, контейнеры, которые использовались для отбора проб и приготовления образцов, обеззараживать не требуется. После промывки водопроводной и ополаскивания чистой водой это оборудование можно использовать для опытов, не требующих поддержания стерильности.

Приготовление обеззараживающего раствора. Для обеззараживания рекомендуется использовать раствор 0,3% препарата «Дихлор» (входит в состав набора). В его состав входит активный хлор, указанная концентрация которого в обеззараживающем растворе достаточна для уничтожения даже устойчивых во внешней среде микроорганизмов (см. табл. 4 инструкции производителя²³). Рекомендуется проводить приготовление раствора в требуемом количестве незадолго перед утилизацией. Необходимо использовать такой объём раствора, который будет покрывать ЭТ полностью, уровень жидкости над ЭТ должен быть не менее 1 см. Срок годности раствора — 4 суток при хранении раствора в герметичной посуде в темном месте.

Проведение обеззараживания. В кастрюлю (ёмкость) с раствором для обеззараживания необходимо погрузить экспресс-тесты. Перед погружением ЭТ, находящиеся в закрытом состоянии, поднесите ближе к поверхности раствора, после чего аккуратно приоткройте и погрузите в раствор, проводя их наполнение раствором. В растворе подложки ЭТ выдерживают не менее 60 мин при комнатной температуре.

Проведение утилизации. После обеззараживания ЭТ с выросшими колониями, пластмассовый корпус ЭТ (чашек Петри), а также израсходованные принадлежности утилизируйте как бытовой мусор. Отработанный обеззараживающий (дезинфицирующий) раствор рекомендуется оставить в открытой ёмкости на ночь для уменьшения концентрации активного хлора в нём, а затем утилизировать через слив в систему канализации.

Подробнее информация об этапах обеззараживания и мерах безопасности при работах по обеззараживанию содержится в п. 7 настоящего пособия.

²³ Инструкция № 20/11 по применению дезинфицирующего средства «ГЛАВ-ХЛОР». М., 2011. Режим доступа: https://medams.ru/f/glavhlor_instrukciya.pdf?ysclid=m8mq2oifi4193822179 (дата обращения: 02.02.2025).

7. ПРАВИЛА И МЕРЫ БЕЗОПАСНОЙ РАБОТЫ

7.1. Общие правила безопасности



Соблюдению мер безопасности в настоящем практикуме следует уделять особое внимание и неукоснительно соблюдать все предписанные правила. Это является важнейшим фактором обеспечения индивидуальной и общественной безопасности и успешного достижения поставленных целей обучения.

Применяемые в практиках экспресс-тесты типа «Петритест» и УМК МБЛ-У не содержат ядовитых, сильнодействующих и наркотических веществ или их прекурсоров.

Изделие следует хранить в недоступном для неспециалистов месте.

Во время работы с изделием в любых условиях необходимо соблюдать следующие правила и меры безопасности:

1) обращать внимание на герметичность упаковки ЭТ и других используемых средств (принадлежностей, готовых сред и др.);

2) обращать внимание на наличие хорошо и однозначно читаемых этикеток;

3) не допускать попадания проб и растворов на слизистые оболочки рта и глаз, кожу;

4) применять индивидуальные средства защиты (медицинский халат, перчатки, защитные очки), соблюдать правила личной гигиены (мыть руки после анализа и манипуляций с ЭТ);

5) соблюдать осторожность при работе со стеклянной посудой и принадлежностями во избежание порезов;

6) во время работы с тестами нельзя пользоваться сотовой связью, косметикой, принимать пищу, напитки;

7) во время работы с тестами нежелательны посторонние разговоры, торопливость, суета;

8) на рабочем месте не должно быть посторонних предметов;

9) проводить обязательную дезинфекцию поверхностей после работы (спирт этиловый 70% или антисептики), в том числе после оценки результатов;

10) не открывать ЭТ с выросшими колониями иначе как в целях обеззараживания, так как в пробах могут содержаться в том числе и патогенные микроорганизмы;

11) обязательно проводить обеззараживание используемых ЭТ для уничтожения возможных полученных культур с целью предотвращения возникновения инфекционных заболеваний и микробного загрязнения окружающей среды;

12) не использовать для проведения исследований материал, взятый у человека или животных, так как он может содержать бактерии, вызывающие инфекционные заболевания и требующие квалифицированного персонала и специализированного оборудования. В сомнительных случаях обеззараживание предположительно патогенных микроорганизмов и соответствующих принадлежностей должно проводиться с использованием автоклава как наиболее эффективного метода либо передаваться в специализированное подразделение.

7.2. Проведение регулярной дезинфекции рабочей поверхности и перчаток

До и после работы с ЭТ необходимо проводить дезинфекцию поверхностей и перчаток. Цель дезинфекции перед работой — уменьшение количества микроорганизмов в окружающей среде и предотвращение контаминации питательной среды ЭТ. Цель дезинфекции после работы — уничтожение микроорганизмов, которые могли попасть на рабочую поверхность стола и на перчатки, для предотвращения возникновения инфекций у участников эксперимента.

Для проведения дезинфекции можно использовать спирт этиловый 70% или любые антисептики, предназначенные для дезинфекции рук и поверхностей. Примером могут служить дезинфицирующие составы марок Luir, «Мистодин», Conflate и т. п.

Для проведения дезинфекции смочите кусочек ваты раствором и распределите его по перчаткам и поверхностям.

7.3. Порядок и правила обеззараживания использованных тестов

Экспресс-тесты, при использовании которых выросли колонии микробов, содержат жизнеспособные бактерии. Несмотря на то что все работы практикума основаны на выделении условно-патогенных и непатогенных бактерий, присутствующих в окружающей человека среде, во время культивирования их концентрация может увеличиваться. При нарушении техники безопасности (например, открывании ЭТ при подсчёте колоний) эти бактерии могут попасть в организм и вызвать инфекционное заболевание. Для обезвреживания ЭТ после анализа (как с выросшими колониями, так и тех, на которых колонии не выросли) проводят обязательное обеззараживание тестов.



Обеззараживание проводят всех ЭТ, которые прошли посев и инкубирование и по которым проведены наблюдения, подсчёт колоний с соответствующими описаниями (интерпретация результатов). Важно, чтобы все данные по наблюдению были записаны, так как далее полученные результаты уже не смогут быть восстановлены и проведённая работа окажется без результата.



Все операции при обеззараживании должны выполняться с соблюдением правил безопасности вне учебного помещения. Работы должны проводиться в отсутствие группы учащихся, а выполняющий обеззараживание должен использовать защитные очки, защитные перчатки и респиратор. Приготовление обеззараживающего раствора проводите в хорошо проветриваемых (вентилируемых) помещениях.

Для обеззараживания подложек ЭТ и других потенциально заражённых предметов в практикуме предусмотрено использование водного раствора таблетированного препарата «Дихлор» (дихлоризоциануровой кислоты, входит в состав изделия) в концентрации 0,3% по активному хлору (АХ). Данный препарат в указанной концентрации в воде позволяет уничтожить даже устойчивые во внешней среде патогенные микроорганизмы²⁴. Приготовление раствора проводите заблаговременно до обеззараживания с учётом его срока годности.

Следует учитывать также, что раствор с концентрацией АХ более 0,3% обладает большей обеззараживающей способностью, а менее 0,3% — соответственно меньшей способностью. Кроме того, со временем концентрация АХ в воде снижается, особенно при нагревании раствора.

Раствор для обеззараживания рекомендуется готовить порциями по 1 л. Для проведения обеззараживания подготовьте подходящую посуду (например, эмалированную кастрюлю с крышкой, пластиковые или стеклянные ёмкости с крышкой) вместимостью 2–3 л. В посуду налейте 1 л чистой воды комнатной температуры, добавьте 2 таблетки препарата «Дихлор» (около 3 г) и полностью растворите их в воде (в течение нескольких минут при периодическом перемешивании раствора).

Количество раствора, минимально необходимое для обеззараживания ЭТ и принадлежностей после завершения эксперимента, зависит от конкретного количества (суммарного объёма) обеззараживаемых принадлежностей и вместимости используемой ёмкости.

²⁴ Инструкция № 20/11 ...

Необходимо приготовить такой объём раствора с концентрацией не менее 0,3% по АХ, который будет покрывать ЭТ и принадлежности полностью, при этом уровень жидкости над ЭТ должен быть не менее 1 см (рис. 11).

Приготовленный раствор пригоден к работе до 4 суток при хранении в герметичной посуде в тёмном месте. Использованный или имеющий истёкший срок годности обеззараживающий раствор подлежит утилизации, как описано в п. 6.9.

Раствор для обеззараживания колоний на ЭТ, а также и других потенциально заражённых предметов в практикуме может быть приготовлен также из других хлорактивных и кислородактивных дезинфектантов; могут быть использованы также физические методы обеззараживания (приведены в приложении 2).



При проведении обеззараживания следует соблюдать технику безопасности: работать в перчатках, очках, халате, не трогать колонии на поверхности питательной среды.

В кастрюлю (ёмкость) с раствором для обеззараживания необходимо погрузить экспресс-тесты (чашки Петри). Перед погружением ЭТ, находящиеся в закрытом состоянии, поднесите ближе к поверхности раствора, после чего аккуратно приоткройте и погрузите в раствор, проводя их наполнение раствором. Толщина раствора над ЭТ должна быть не менее 1 см. Закройте ёмкость крышкой. В растворе подложки ЭТ выдерживают не менее 60 мин при комнатной температуре.

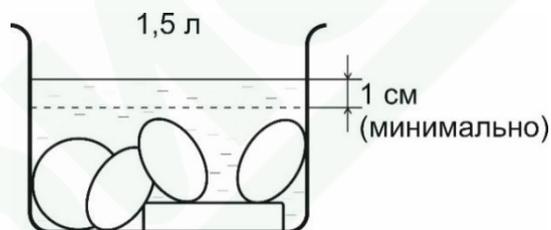


Рис. 11. Укладка отработанных экспресс-тестов и принадлежностей при обеззараживании



Обращайте внимание на то, чтобы при погружении весь материал внутренней полости теста полностью смочился раствором независимо от того, имеются там видимые колонии или нет.

После обеззараживания ЭТ, в которых проводилось выращивание колоний, пластмассовый корпус (подложку) ЭТ, а также израсходованные принадлежности утилизируйте как бытовой мусор. Отработанный раствор для обеззараживания оставьте в открытом виде в посуде в хорошо проветриваемом помещении на сутки для уменьшения концентрации активного хлора в нём и на следующий день утилизируйте через слив в бытовую канализацию.



После проведения обеззараживания вымойте с мылом руки в перчатках и продезинфицируйте поверхность стола. Снимите перчатки и вымойте руки с мылом.

Не следует использовать для проведения исследований материал, взятый у человека или животных, так как он может содержать различные условно-патогенные и патогенные бактерии, способные вызывать инфекционные заболевания и потому требующие квалифицированного персонала и специализированного оборудования. Обеззараживание предположительно патогенных микроорганизмов должно проводиться с использованием автоклава, так как этот метод является наиболее эффективным, либо передаваться в специализированные подразделения.

7.4. Меры безопасности и первой помощи при работе с препаратом для приготовления обеззараживающего раствора²⁵

Препарат «Дихлор» в таблетированном виде имеет резкий выраженный запах хлора, поэтому таблетки препарата должны храниться в герметично закрытой тубе из состава изделия. Загрязнённость воздуха хлором может вызвать отравление или иные неблагоприятные последствия, вследствие чего работать с препаратом и его растворами рекомендуется в респираторе в хорошо вентилируемом помещении.

При приготовлении рабочих растворов средства в концентрациях до 0,3% и работы с ними не требуется применение средств индивидуальной защиты. Вместе с тем работы со средством и его растворами мы рекомендуем проводить с защитой кожи рук резиновыми перчатками в закрытых защитных очках. При работе также рекомендуется использовать респиратор для защиты органов дыхания от паров хлора.

²⁵ Приведены на основе: Инструкция № 20/11 ...

Меры первой помощи при случайном отравлении препаратом. При несоблюдении мер предосторожности возможны острые раздражения органов дыхания (першение в горле, кашель, обильные выделения из носа, учащённое дыхание, возможен отёк лёгких) и слизистых оболочек глаз (слезотечение, резь, зуд в глазах). Может наблюдаться головная боль.

При появлении первых признаков острого раздражения дыхательных путей следует вывести пострадавшего на свежий воздух или в хорошо проветриваемое помещение, обеспечить покой, согревание, прополоскать рот и носоглотку, дать тёплое питьё или молоко. При необходимости обратиться к врачу.

При попадании препарата или его растворов на кожу следует смыть его проточной водой.

7.5. Порядок действий при аварийных ситуациях

Аварийной ситуацией (аварией) считается нештатная ситуация, при которой создается реальная или потенциальная возможность выделения патогенного агента в воздух производственной зоны, окружающую среду или заражения персонала.

Аварийные ситуации в настоящем практикуме связаны с возможностью контакта человека и окружающих предметов с выросшими колониями микроорганизмов. При авариях работу с ЭТ немедленно прекращают, ставят в известность учителя и под его контролем принимают следующие меры²⁶:

— все открытые части тела обрабатывают дезинфицирующим раствором или спиртом 70%;

— при попадании инфекционного материала на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают, глаза — раствором борной кислоты 1%, несколькими каплями раствора азотнокислого серебра 1% или струёй воды; в нос закапывают раствор марганцовокислого калия 0,05% или раствор борной кислоты 1%, а рот и горло прополаскивают ими.

При аварии, связанной с ранением или другим повреждением кожных покровов, перчатки (если работа проводилась в них) обрабатываются дезинфицирующим раствором и снимаются, после чего из ранки выдавливается кровь, руки обрабатываются спиртом 70%, затем моются водой с мылом, ранка смазывается раствором йода.

Проводится обеззараживание места аварии. По окончании работ защитная одежда замачивается в дезинфицирующем растворе.

²⁶ СП 1.3.2322-08.

Возможные варианты аварийных ситуаций при работе с ЭТ и порядок действия

Если оказались открытыми ЭТ с выросшими колониями (например, произошла разгерметизация корпуса тестов при проведении оценки результатов), то немедленно закройте его. Затем возьмите вату, смочите её дезинфицирующим раствором и тщательно протрите наружные поверхности ЭТ, а также стол и руки в перчатках.

Если вы дотронулись рукой в перчатке (или без перчаток — работа без перчаток не рекомендуется!) до колоний в ЭТ, то ничего не трогайте этой рукой. Чистой рукой закройте ЭТ. Чистой рукой возьмите дезинфицирующий раствор и налейте его на то место, которое контактировало с колониями, а также соседние участки, над раковиной или какой-нибудь ёмкостью (доставочно 10–15 мл раствора). Вымойте руки в перчатках с мылом. Затем возьмите вату, смочите её дезинфицирующим раствором и тщательно протрите наружные поверхности ЭТ, а также стол и руки в перчатках.

Если вы дотронулись до колоний обеими руками, то другой человек должен помочь вам с обработкой перчаток дезинфицирующим раствором, как описано выше.

Если при проведении оценки результатов вы дотронулись руками в перчатках до лица, то немедленно обработайте это место любым антисептиком для кожи (хлоргексидин, мирамистин и т. п.), затем тщательно вымойте с мылом. Если вы коснулись руками слизистых, то их необходимо обработать, как описано выше.

Если вы дотронулись до колоний микроорганизмов каким-нибудь предметом, то проведите его обеззараживание путём замачивания в растворе для обеззараживания (методика обеззараживания приведена в п. 7.3).

После устранения аварии проведите обеззараживание места аварии: обработайте дезинфицирующим раствором поверхность ЭТ, рабочее место.

Конец ознакомительного фрагмента.

Полную версию издания в печатном виде можно приобрести на официальном сайте группы компаний «Крисмас»: <https://christmas-plus.ru/catalog/dokumentatsiya/>

Если вы ранее приобретали данное издание, документацию или оборудование, в состав которого оно входило, но по каким-то причинам его утратили или нуждаетесь в обновлённой версии, вы можете связаться с нашими менеджерами, и мы направим вам полную актуальную версию издания/документа в электронном виде.

В других случаях предусмотрено предоставление актуальной версии при условии оплаты.

За дополнительной информацией обращайтесь:

+7 (800) 302-92-25 (звонок по России бесплатный)

+7 (812) 575-54-07

+7 (812) 575-50-81

+7 (812) 575-55-43

+7 (812) 575-57-91

E-mail: info@christmas-plus.ru



Оснащение учебных практик по оценке безопасности и качества продуктов питания и среды обитания

УМК
**«Микробиологическая
лаборатория учебная
МБЛ-У»**



УМК
**«Санитарно-пищевая
экспресс-лаборатория
учебная СПЭЛ-У»**



**Тест-системы,
тест-комплекты,
наборы**



ISBN 978-5-89495-305-2



9 785894 953052 >

• **Главный офис, отдел продаж:**
191119, г. Санкт-Петербург,
ул. Константина Заслонова, д. 6
Тел.: (812) 575-54-07, 575-55-43,
8 (800) 302-92-25
(бесплатный звонок по России)
E-mail: info@christmas-plus.ru
christmas-plus.ru, крисиас.рф

• **Учебный центр:**
E-mail: metodist_uc@christmas-plus.ru
u-center.info

• **Эксклюзивный дилер в Москве:**
127247, г. Москва,
Дмитровское шоссе, д. 96, корп. 2
Тел.: (917) 579-66-02
E-mail: n-chernyh@christmas-plus.ru
ecolab.ru