

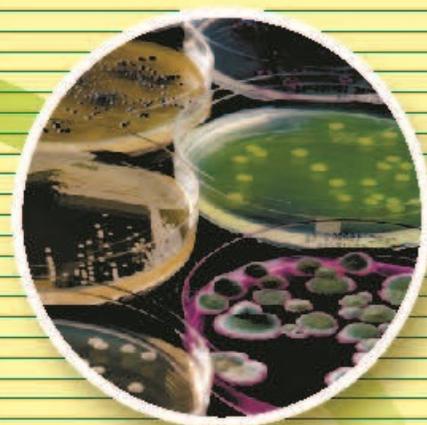
Крисмас[®]

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»

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

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

Санкт-Петербург
2025

УДК 54.06+579.6+637.07+377.5
ББК 20.17+20с5
П69

Авторы:

Наталья Александровна Правосудова, Александр Григорьевич Муравьев

Сведения об авторах:

Правосудова Н.А., доцент кафедры "Микробиология, эпидемиология и инфекционные болезни" ФГБОУ ВО "Пензенский государственный университет", автор ряда публикаций по медицинской и санитарной микробиологии, канд. биол. наук.

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

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

ISBN 978-5-89495-305-2

Пособие-практикум предназначен 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 (на примере молока), оценить уровень микробиологического загрязнения воздуха и поверхностей.

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.

Практикум является методическим пособием для педагога (преподавателя) к учебно-методическому комплексу «Микробиологическая лаборатория учебная МБЛ-У». Пособие рекомендовано также для самостоятельной подготовки школьников и студентов.

ISBN 978-5-89495-305-2

© ЗАО «Крисмас+»

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.....	35
6. Основные этапы и типовые операции в учебной практике	37
6.1. Общие правила работы	37
6.2. Подготовка к работе	38
6.3. Отбор проб для анализа (исследований)	38
6.4. Подготовка образцов для исследований (приготовление разведений)	40
6.5. Посев образцов.....	42
6.6. Маркировка посевов.....	43
6.7. Инкубация посевов и завершение работы с пробой.....	44
6.8. Оценка результатов	45
6.9. Проведение обеззараживания и утилизации использованных ЭТ....	46

7. Правила и меры безопасной работы	48
7.1. Общие правила безопасности.....	48
7.2. Проведение регулярной дезинфекции рабочей поверхности и перчаток.....	49
7.3. Порядок и правила обеззараживания использованных тестов.....	49
7.4. Меры безопасности и первой помощи при работе с препаратом для приготовления обеззараживающего раствора.....	52
7.5. Порядок действий при аварийных ситуациях.....	53
8. Практические работы	55
Работа 1. Определение общего микробного числа молока.....	55
Работа 2. Определение количества энтеробактерий в молоке	59
Работа 3. Определение общего микробного числа воды питьевой.....	63
Работа 4. Определение общего микробного числа воды открытых водоёмов	66
Работа 5. Определение количества энтеробактерий в воде открытых водоёмов	72
Работа 6. Определение общего микробного числа воздуха.....	76
Работа 7. Определение количества плесневых грибов и дрожжей в воздухе.....	79
Работа 8. Определение количества энтеробактерий на поверхностях	83
Работа 9. Определение общего микробного числа поверхностей.....	86
Работа 10. Определение количества плесневых грибов и дрожжей на поверхностях	89
Список литературы	92
Список использованных сокращений.....	94
Список латинских наименований	94
Словарь терминов	95
Приложение 1. Методика приготовления экспресс-тестов потребителем на основе готовых питательных сред.....	99
Приложение 2. Дополнительные сведения о методах обеззараживания отработанных экспресс-тестов и принадлежностей	102

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 играют не только 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 систему среднего специального профессионального образования (ССПО) микро-

1. ВВЕДЕНИЕ

биологические практикумы включены только в специализированные направления подготовки (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 распространенности 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, 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 «Петритест», «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 в 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 рук»¹.

В РФ работа с микроорганизмами регламентируется рядом нормативных документов: СП 1.2.731-99², 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 1.2.731-99 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами.

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 культивирование микроорганизмов 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 2 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 «Микробиологической экспресс-лаборатории учебной МБЛ-У», которая снабжена 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 метод*. Данный метод основан на выращивании микроорганизмов на специальных питательных субстратах (питательных средах) в течение определенного времени, с последующей постановкой тестов для определения вида выделенных микроорганизмов. При это 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 (1 колонию обычно образует 1 жизнеспособная клетка микроорганизма). Результат выражают в колониобразующих единицах (КОЕ) в определенном 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, 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 на перчатки, для предотвращения возникновения инфекций у участников эксперимента;

4) после работы должна 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) (таблица 1). В данной таблице приведены название показателей и некоторые характеристики процесса тестирования. Подробное описание всех необходимых манипуляций вы найдете в главе 8 «Практические работы».

Таблица 1

Характеристика показателей, включенных в практикум

Исследуемый материал	Определяемый показатель	Название ЭТ для определяемого показателя	Температура инкубации (°С)	Время инкубации (ч)
Молоко	ОМЧ	КМАФАнМ (ОМЧ)	36	48
	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 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 путем посева на питательные среды, с последующим подсчетом 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 сбраживающими 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 путем почкования (рисунок 1).



Рис. 1. Дрожжи

(Источник:

https://papik.pro/uploads/posts/202301/1674200553_papik-pro-p-drozhzhi-risunok-45.jpg)

⁵ Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. — 2-е изд., испр. — СПб.: Издательство «Лань», 2016. — 588 с.

Тело плесневых грибов состоит из вытянутых нитей — гифов, которые образуют мицелий, поэтому их называют мицеллярные грибы (рисунок 2).

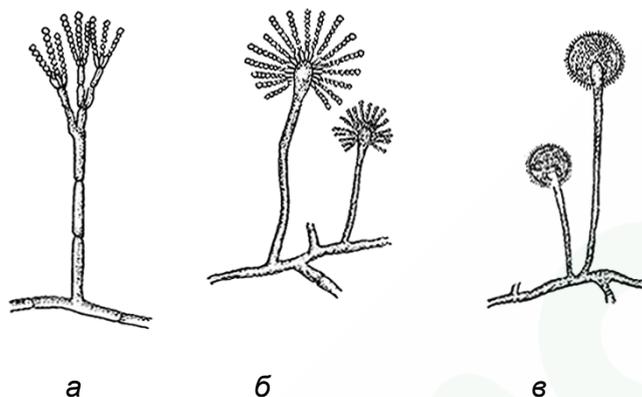


Рис. 2. Различные виды плесневых грибов:
а — пенициллиум; б — аспергиллус; в — мукор

(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, бактериями и актиномицетами быстро разрушают органические субстраты⁶.

⁶ Основы санитарной микробиологии : учеб.-метод. пособие / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников. – Пенза : Изд-во 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 определенных 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 и уметь определять специфическую микрофлору для того, чтобы отличать её 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 размножаться в них⁸.

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

⁷ СанПиН 3.3686-21.

⁸ Госманов Р.Г., Колычев Н.М., Кабиров Г.Ф., Галиуллин А.К. Санитарная микробиология пищевых продуктов: Учебное пособие. – 2-е изд., испр. – СПб.: Издательство «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 могут содержаться в молоке больных животных (стафилококки, бруцеллы, микобактерии туберкулеза). 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). Это является показателем фекального загрязнения;

3) золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*);

4) патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл;

5) для некоторых видов молочных продуктов — листерии (*Listeria monocytogenes*), плесневые грибы и дрожжи;

6) по эпидемическим показаниям проводят 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 СанПиН 2.3.2.1078-01 (табл. 2).

Таблица 2

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

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/мл (см3), не более	Масса (объем) продукта (г, мл), в которой не допускаются			
		БГКП	Патогенные, в т. ч. сальмонеллы	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Молоко сырое: высший сорт первый сорт второй сорт	3 x 10 ⁵ 5 x 10 ⁵ 4 x 10 ⁶	Не определяют	25 25 25	Не определяют	Не определяют
Молоко, сыворо- ротка молочная, пахта пастеризо- ванные (в потре- бительской таре)	1 x 10 ⁵	0,01	25	1	25

4.2. Микрофлора воды и её исследование

4.2.1. Общие сведения

В воде формируются определенные 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, озера густонаселенных районов. В закрытых водоёмах (озера, пруды) наблюдается определенная закономерность в распределении бактерий. Состав микроорганизмов различен на поверхности воды и на дне водоёмов. Наиболее 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.

⁹ Приводится на основе СанПиН 2.3.2.1078-01.

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 счет 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, тальными и сточными водами в озера 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, криптоспоридиоза и др.). Некоторые возбудители могут даже размножаться в воде (холерный вибрион, легионеллы)¹⁰.

¹⁰ Основы санитарной микробиологии : учеб.-метод. пособие / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников. – Пенза : Изд-во ПГУ, 2013. – 90 с.

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 путем 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 воде 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)
	Обобщенные колиформные бактерии (БГКП)	Отсутствие (в 100 мл)
	Колифаги	Отсутствие (в 100 мл)
	Споры сульфит-редуцирующих бактерий	Отсутствие (в 20 мл)
Вода питьевая при нецентрализованном использовании местных источников	ОМЧ	Не более 100 КОЕ/мл
	Обобщенные 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	Обобщенные колиформные бактерии (БГКП)	Отсутствие (в 100 мл)
	E.coli	Отсутствие (в 100 мл)
	Энтерококки	Отсутствие (в 100 мл)
	Pseudomonas aeruginosa	Отсутствие (в 500 мл)
	Staphylococcus aureus	Отсутствие (в 100 мл)
Обеззараженные сточные воды, допустимые к сбросу в поверхностные водные объекты	Обобщенные 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, включенные 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 населенных мест	
		Купание	Занятие водным спортом
Обобщенные колиформные бактерии (БГКП)	Не более 100 КОЕ/100 мл	Не более 500 КОЕ/100 мл	Не более 1000 КОЕ/100 мл
Колифаги	Не более 10 БОЕ/100 мл	Не более 10 БОЕ/100 мл	Не более 10 БОЕ/100 мл

Примечание. Выделены показатели, включенные в данный практикум.

¹² СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».

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

ОМЧ позволяет оценить уровень микробного загрязнения питьевой воды, дополняя показатели фекального загрязнения, а также позволяет 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* (обобщенные 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°C в течение 24 часов. 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 слоев атмосферы, а также горный и морской воздух содержит очень мало микроорганизмов. В населенных 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 микрофлора 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 снижает 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, туберкулеза, дифтерии, менингококковой инфекции, туберкулеза, ветряной оспы и др.

¹³ Основы санитарной микробиологии : учеб.-метод. пособие / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников. – Пенза : Изд-во ПГУ, 2013. – 90 с.

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). Усредненные показатели воздуха жилых помещений в таблице 5.

Таблица 5

Нормативные показатели воздуха жилых помещений¹⁵

Степень загрязнённости	Зима	Лето
Чистый воздух	ОМЧ не более 4500	ОМЧ не более 1500
Грязный воздух	ОМЧ не более 7000	ОМЧ не более 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. Дата обращения: 02.02.2025.

<https://agsvv.ru/blog/obzory-tovarov/mikroflora-vozdukha-zakrytykh-pomeshcheniy-i-normy-mikrobnogo-chisla/>

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

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО В ПРАКТИКУМЕ ОБОРУДОВАНИЯ

5.1. Назначение и области применения

Учебно-методический комплект «Микробиологическая экспресс-лаборатория учебная (МБЛ-У)» (рисунок 3, (далее – УМК МБЛ-У, изделие) предназначено 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 экспресс-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.

Подробно 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 0,1%-ном растворе 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» (рисунок 4) представляет собой сухую микробиологическую питательную среду на основе агара на

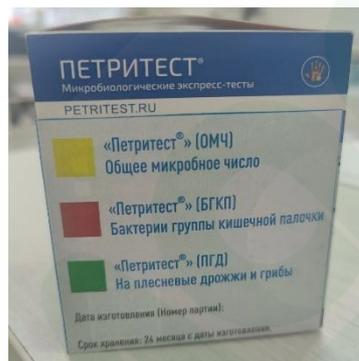
¹⁷ Методические рекомендации 4.2-022-2016. Методы микробиологического экспресс-контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием продукции «Петритест™». НПО «Альтернатива», 2022.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

пластмассовых носителях – герметично закрытых круглых подложках диаметром 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.

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

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

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 составляет (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 включены, помимо готовых экспресс-тестов на три наименования санитарно-значимых показателей, также 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.	
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

5.3. КОМПЛЕКТНОСТЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕСУРС

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
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 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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
	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 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
	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 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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 на 10 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пипетка для переноса жидкостей (Пастера, полимерная) в индивидуальной упаковке, стерильная, на 2 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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

5.3. КОМПЛЕКТНОСТЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕСУРС

Продолжение таблицы 6

№ п/п	Наименование	Количество	Характеристика использования
	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 мл или на 5 мл	1 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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
	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 мл или на 5 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИМЕНЯЕМОГО ОБОРУДОВАНИЯ

Окончание 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 мл или на 5 мл	2 шт.	Использовать сразу после вскрытия
	Пробирки 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-ФАМ)	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 мл или на 5 мл	10 шт.	Использовать сразу после вскрытия
4	Пробирки 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 Шприцом полимерным, в индивидуальной упаковке, стерильным на 2 мл.</p> <p>2. Пробирки полимерные конические мерные с крышкой (ПП), в индивидуальной упаковке, стерильный, 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 1 (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 таблице 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

¹⁹ <https://arnika-med.ru/products/microfast-coliform-count-sc-lr-1002>

²⁰ <https://mibio.ru/mikrobiologiya/mc-media-pads-kmafam/>



Важно, что вся посуда (пробирки, пипетки, ЭТ) должны быть стерильными.



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

Дополнительное оборудование, не входящее в набор МБИ, но которое 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 соблюдения 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 емкости 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 берем для изучения. Для исследования пищевых продуктов отбирают одну или несколько навесок для приготовления разведений и/или посева 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 Приводятся на основе ГОСТ 26669, ГОСТ Р 53415-2009, МУК 4.2.2942-11.

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

Транспортировать пробы необходимо 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 часов при температуре $5\pm 3^{\circ}\text{C}$. При более длительном и неправильном хранении может наступить размножение или гибель микрофлоры.

Пробу жидких и вязких пищевых продуктов отбирают стерильной пипеткой путем введения пипетки 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, спустив предварительно воду из крана в течение 10 минут.

Пробу воды из открытых водоёмов можно собрать непосредственно в стерильный контейнер (пробирку) путем погружения контейнера (пробирки), либо стерильной пипеткой, после чего поместить воду в стерильный контейнер (пробирку) и закрыть крышку.

Отбор проб воздуха в закрытых помещениях производят в нескольких точках. Отбор проб устанавливаются из расчёта на каждые 20 м^2 площади — одна проба воздуха, по типу конверта: 4 точки по углам комнаты (на расстоянии 0,5 м от стен) и 5-я точка — в центре. Пробы воздуха забираются на высоте 1,6–1,8 м от пола — на уровне дыхания в жилых помещениях. Пробы необходимо отбирать днем (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 путем погружения в физраствор. Исследуемую поверхность общей площадью 100 см^2 тщательно протрите тампоном три раза в разных направлениях. После взятия смыва тампон опустите в пробирку. Пробирки с тампонами тщательно встряхните в течение 10 с. Отожмите смывную жидкость из тампона, надавливая тампоном 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 путем разведения. Это необходимо, если материал (например, вода открытых водоёмов) содержит большое количество микроорганизмов. Это 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).

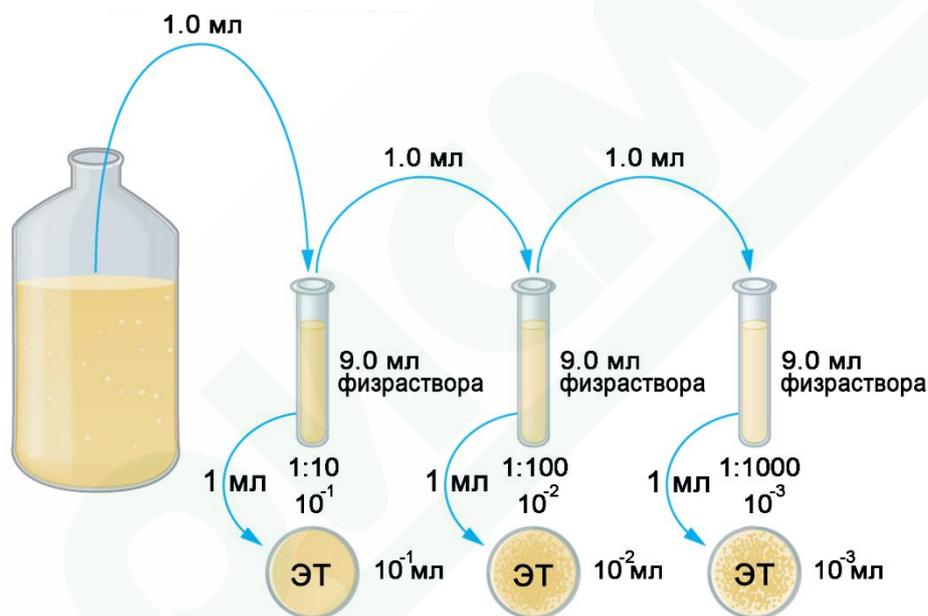


Рисунок 5. Схема приготовления разведений

(источник:

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

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

Примечание. Для маркировки (производить 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, при помощи шприца 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) (рисунок 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

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).



Рисунок 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 защелки. 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 (необходимо для определения времени окончания инкубации);
- степень разведения образца (если выполняется исследование);
- номер образца (возможно и краткую характеристику образца).

Примечание. Для маркировки (производить 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 подложки, уже нанесена информация о цели посева (определяемом показателе — ОМЧ, колиформные бактерии, грибы).

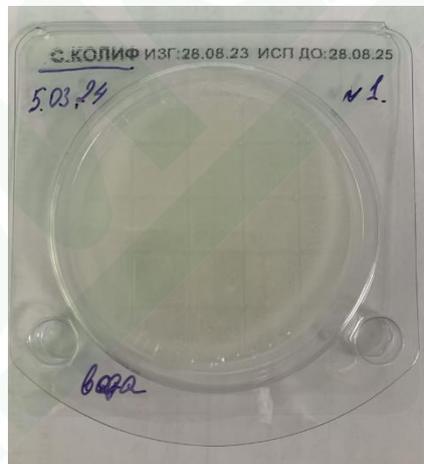


Рис. 8. Маркировка посева

6.7. Инкубация посевов и завершение работы с пробой

Посевы инкубируют при различных температурах (37 или 22 °С, как указано в инструкции на ЭТ для данного показателя). Продолжительность и температура инкубации зависит 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.

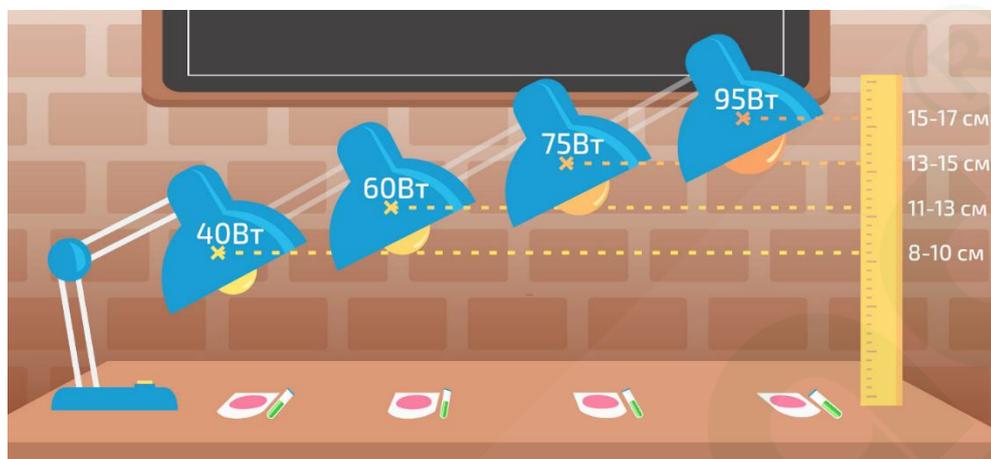
Температура 22 °С примерно соответствует комнатной температуре, и практически в работах, проводимых в условиях учебного кабинета (лаборатории), каких-либо дополнительного оборудования не требуется.

Для поддержания постоянной температуры в пределах 35-38 °С специалистами обычно используется термостат. Если нет термостата, 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. К примеру, 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 вы хотите использовать в дальнейшем пробирки и пипетки для опытов, не требующих стерильности, то вымойте их водопроводной водой 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

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>)

6.9. ПРОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ И УТИЛИЗАЦИИ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЭТ

колоний (рис. 10). При большом количестве колоний на ЭТ может наблюдаться 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 средах²³

Результаты работы внести в таблицу, размещенную в конце каждой практической работы, и сделать 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.

²³ Источники: <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

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

Приготовление обеззараживающего раствора. Для обеззараживания рекомендуется использовать 0,3%-ный раствор препарата «Дихлор» (входит в состав набора). В состав этого препарата входит активный хлор, указанная концентрация которого в обеззараживающем растворе достаточна для уничтожения даже устойчивых во внешней среде микроорганизмов (см. табл. 4 инструкции производителя²⁴). Рекомендуется приготовление раствора проводить 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 минут 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 нем, а затем утилизировать сливом в систему канализации.

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

²⁴ Инструкция № 20/11 по применению дезинфицирующего средства «ГЛАВ-ХЛОР». – М., 2011.

https://medams.ru/f/glavhlor_instrukciya.pdf?ysclid=m8mq2oifi4193822179.

7. ПРАВИЛА И МЕРЫ БЕЗОПАСНОЙ РАБОТЫ

7.1. Общие правила безопасности



Работе с соблюдением мер безопасности в настоящем практикуме следует уделять особое внимание и неукоснительно соблюдать все предписанные правила, что 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 количество микроорганизмов в окружающей среде и предотвратить контаминацию 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 «Luig», «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 практика 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 подсчете 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, проведён подсчёт колоний с соответствующими описаниями (интерпретация результатов). Важно, чтобы все данные по наблюдению были записаны, т. к. 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 зараженных 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 микроорганизмы²⁵. Приготовление раствора проводите заблаговременно перед обеззараживанием, 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

²⁵ Инструкция № 20/11 по применению дезинфицирующего средства «ГЛАВ-ХЛОР». – М., 2011.

растворите её в воде (растворяется 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.

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 (рисунок 11).

Приготовленный раствор пригоден к работе в течение до 4 суток при хранении его 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 зараженных 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 должен быть не менее 1 см. Закройте ёмкость крышкой. В растворе подложки ЭТ выдерживают не менее 60 минут при комнатной температуре.

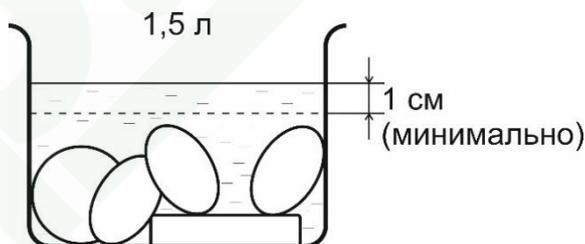


Рис. 11. Укладка отработанных экспресс-тестов и принадлежностей при обеззараживании



Обращайте внимание на то, чтобы при погружении раствором полностью смочился весь материал внутренней полости теста, 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 сливом 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 должна проводиться с использованием автоклава, так как этот метод является наиболее эффективным, либо передаваться в специализированные подразделения.

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, 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, крисмас.рф

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

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