

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

---

- АДФ — аденозиндифосфорная кислота  
АТФ — аденозинтрифосфорная кислота  
БГКП — бактерии группы кишечной палочки  
БУВ — бактерицидные увиолевые лампы  
Вас. — Bacillus  
Васт. — Bacterium  
ВИЭВ — Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии  
ВНИИМП — Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности  
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения  
ВСЭ — Ветеринарно-санитарная экспертиза  
ГПС — глюкозопептонная среда  
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота  
ЕД — единица действия  
Ig — Immunoglobulin  
КМА — количество мезофильных аэробов  
МАФАНМ — мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы  
мкм — микрометр  
МПА — мясопептонный агар  
МПБ — мясопептонный бульон  
МПЖ — мясопептонный желатин  
МППБ — мясопептонный печеночный бульон  
МППГГА — мясопептонный печеночно-глюкозный глицериновый бульон  
нм — нанометр  
НТД — научно-техническая документация  
ПДК — предельно допустимые концентрации  
ПГГА — печеночно-глюкозный глицериновый агар  
ПГГБ — печеночно-глюкозный глицериновый бульон  
РА — реакция агглютинации  
РНК — рибонуклеиновая кислота  
РСК — реакция связывания комплемента  
СанПиН — Санитарные правила и нормы  
СПМ — санитарно-показательные микроорганизмы  
СЭС — санитарно-эпидемиологическая станция

# ВВЕДЕНИЕ

---

Для успешного решения задач, связанных с повышением качества и биологической ценности продуктов питания, необходима система мероприятий, улучшающая санитарно-гигиеническое состояние производства и условия окружающей среды.

Государственный контроль санитарно-гигиенических условий производства осуществляется органами санитарного надзора. Проблемы санитарной охраны воздуха и воды имеют государственное значение, поэтому качество воды, пищевых продуктов обеспечивается государственными стандартами, комплексными методами проверки, в том числе санитарно-микробиологическими исследованиями.

Санитарная микробиология изучает микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде, которые поражают животных и вызывают порчу пищевых продуктов.

В нашей стране санитарная микробиология как самостоятельная отрасль естественных наук сформировалась сравнительно недавно, но ее роль непрерывно возрастает, а ее достижения широко используются специалистами других отраслей науки и практики.

Санитарная микробиология базируется на основных положениях общей микробиологии, на достижениях медицинской, ветеринарной, технической и сельскохозяйственной микробиологии, а также эпидемиологии, эпизоотологии, гигиены, зоогигиены и иммунологии.

Следует отметить, что в санитарной, медицинской, ветеринарной микробиологии объект изучения один и тот же. Различие же состоит в подходе к его изучению, так как жизнедеятельность патогенных микробов в организме хозяина резко отличается от их существования в окружающей среде, где в сложных условиях многообразных биоценозов постоянно изменяются физические и химические воздействия на них.

Знание вопросов, изучаемых санитарной микробиологией, необходимо в практической деятельности не только санитарных врачей, осуществляющих контроль качества продуктов животного происхождения, но и технологов, производящих эти продукты и биологически активные препараты, получаемые из эндокринно-ферментативного сырья убойных животных.



---

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ  
МАТЕРИАЛ  
ПО САНИТАРНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ**

# ТЕМА 1. ПРЕДМЕТ, КРАТКАЯ ИСТОРИЯ И ЗАДАЧИ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

---

Санитарная микробиология — наука, изучающая микрофлору окружающей среды и процессы, вызываемые ее жизнедеятельностью, которые могут непосредственно или косвенно оказывать неблагоприятное влияние на здоровье людей и окружающую среду. Санитарная микробиология разрабатывает методы контроля за санитарным состоянием воды, воздуха, почвы, пищевых продуктов и предметов обихода.

Началом развития данной науки можно считать 1888 г., когда французский врач Е. Массе впервые предложил считать кишечную палочку показателем фекального загрязнения воды.

В настоящее время существуют научно-исследовательские специализированные институты, санитарно-гигиенические факультеты в медицинских вузах.

Основная деятельность санитарной службы направлена на создание научно-обоснованных нормативов предельно допустимых уровней воздействия различных факторов окружающей среды на здоровье человека.

В настоящее время имеется более 2 тыс. гигиенических нормативов, в которых регламентируется неблагоприятное воздействие на здоровье человека биологических, а также химических и физических факторов.

Формирование санитарной микробиологии как науки произошло главным образом в середине 1930-х гг.

Первоначально санитарная микробиология имела чисто созерцательный характер и все ее выводы и предложения явля-

лись констатацией существующего положения в области общих гигиенических норм. На ранних этапах своего развития она являлась частью медицинской микробиологии, выполняя роль прикладной дисциплины, разрешавшей задачи общей гигиены и эпидемиологии.

Сейчас санитарная микробиология — самостоятельная наука, находящаяся на стыке трех дисциплин: микробиологии, гигиены и эпидемиологии (эпизоотологии), в равной степени необходимая специалистам разных профилей. Выделение санитарной микробиологии в самостоятельную дисциплину связано с особенностями проблем, разрабатываемых ею, а также своеобразием используемых методических приемов и особыми задачами, которые она призвана решать. Развитие отечественной санитарно-микробиологической науки связано с именами А. А. Миллера, А. С. Разумова, Г. Н. Чистовича и др.

Первый учебник по санитарной микробиологии, написанный А. А. Миллером, вышел в нашей стране в 1935 г.

В середине XX в. в недрах микробиологии и вирусологии сформировалась новая отрасль медицинской науки — санитарная вирусология.

Возникновение и развитие санитарной вирусологии обусловлено требованиями времени: количество вирусных болезней растет, поэтому на сегодняшний день исследование появления и развития вирусов в окружающей среде, их индикация и идентификация, а также разработка методов профилактики вирусных болезней стали насущной проблемой.

В 1963 г. в нашей стране было утверждено «Положение о государственном надзоре», в котором были указаны основные задачи по организации деятельности санитарно-эпидемиологической службы, определены пути дальнейшего совершенствования санитарно-правового законодательства, определена структура его органов и учреждений.

Упомянутое Положение в дальнейшем было пересмотрено и добавлено, что основной задачей государственного санитарного надзора является наблюдение за проведением санитарно-гигиенических и санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение и ликвидацию загрязнения окружающей среды, а также повышение их уровня и качества с учетом научно-технических достижений в целях

обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия страны.

Основная роль в совершенствовании санитарно-гигиенических нормативов, правил и ГОСТов, а также контроля за их правильным практическим применением принадлежит санитарно-эпидемиологической службе — различным подразделениям СЭС, осуществляющих государственный санитарный надзор на подведомственных территориях.

В 1982 г. в нашей стране отмечался 60-летний юбилей санитарной службы, которая внесла большой вклад в дело ликвидации некоторых инфекционных болезней, а также в снижение заболеваемости, благодаря проведению санитарно-гигиенических мероприятий.

Государственная санитарная служба осуществляет санитарный предупредительный, текущий надзор и контроль за соблюдением норм и правил в интересах охраны здоровья людей, обеспечения оптимальных условий труда и отдыха трудящихся.

Перед современной санитарной микробиологией стоят следующие задачи:

1. *Разработка, совершенствование и оценка микробиологических методов исследования объектов окружающей среды — воды, воздуха, почвы, пищевых продуктов, предметов обихода и т. д.* При разработке методов широко используются последние достижения медицинской, ветеринарной микробиологии, гигиены, эпидемиологии, иммунологии, химии и других естественных наук, а также компьютерной техники.

2. *Оценка путей воздействия человека и животных на окружающую среду.* Эта проблема интересует санитарных микробиологов прежде всего потому, что и человек, и животные являются источниками загрязнения окружающей среды как патогенными микроорганизмами, так и другой разнообразной флорой, которая может оказывать неблагоприятное воздействие на объекты внешней среды. Постоянное попадание микробов в окружающую среду привело к созданию нормального взаимобмена микрофлорой человека и животных и окружающего мира. В результате общественной и индивидуальной деятельности людей также возможна биологическая контаминация объектов окружающей среды патогенными микроорганизмами.

При оценке путей воздействия человека особое внимание уделяется изучению нарушения процессов естественного самоочищения воды, почвы, вызванных производственной деятельностью или неправильной очисткой и обеззараживанием отходов и сточных вод. Поэтому одной из главных задач современной санитарной микробиологии является изучение природных процессов регуляции микробного состава почвы, воды, воздуха. Данное направление в настоящее время активно развивается, что объясняется возрастающей урбанизацией, развитием промышленности, приводящей к загрязнению окружающей среды и ухудшению условий жизни на Земле.

3. *Разработка ГОСТов и методических указаний, определяющих соответствие микрофлоры объектов окружающей среды гигиеническим требованиям, включая микробиологические показатели.* Предлагаемые санитарной микробиологией нормативы обязательно должны быть согласованы с общегигиеническими требованиями, так как микроорганизмы находятся в неразрывном единстве со всеми другими факторами окружающей среды.

4. *Разработка рекомендаций и мероприятий по оздоровлению объектов окружающей среды и контроль за их выполнением.* Врачи-гигиенисты активно участвуют в проведении предупредительного и текущего санитарного надзора. Предупредительный санитарный надзор необходим при проектировании и строительстве различных предприятий, населенных пунктов, при выборе источника водоснабжения и т. д., текущий — составляет повседневную работу врача-гигиениста, который проводит постоянный контроль за качеством водоснабжения, работой пищевой и торговой сети, за правильным и эффективным обеззараживанием сточных вод и отбросов.

5. *Охрана окружающей среды.* Эта задача санитарной микробиологии вытекает из предыдущих и является одной из главных, волнующих в настоящее время специалистов всех отраслей народного хозяйства и науки. Она вылилась в новое направление в гигиене — гигиену окружающей среды, которая призвана всесторонне изучать закономерности взаимодействия человека с факторами окружающей среды и разрабатывать научно обоснованные рекомендации по сохранению здоровья человека.

Охрана окружающей среды является общегосударственной проблемой. Учеными разрабатываются научно-технические прогнозы возможных изменений в биосфере на 20–30 лет вперед в результате активного вмешательства в нее человека.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Когда начала формироваться санитарная микробиология?
2. Кем был написан первый учебник по санитарной микробиологии?
3. Что изучает санитарная микробиология?
4. На что направлена деятельность санитарной микробиологии?
5. Какие задачи стоят перед современной санитарной микробиологией?
6. Принципы и методы санитарно-микробиологических исследований.

## ТЕМА 2. ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

---

Одной из задач современной санитарной микробиологии является изучение экологии микроорганизмов и связанной с ней проблемы охраны окружающей среды.

Слово «экология» образовано от *греч.* oikos, что означает дом, родина и logos — учение. Человек с самых древних времен, с начала истории своего развития, интересовался экологией с практических позиций. Для выживания необходимы были знания об окружающей среде, особенностях природных условий, о растениях и животных, которые находятся рядом с человеком. Можно считать, что цивилизация возникла, когда человек научился использовать и изменять окружающую среду.

Под экологией, т. е. экологической системой, подразумеваются совместное функционирование биоценозов («биотического» сообщества, включающего все популяции, занимающие данную изучаемую площадь) и неживой окружающей среды (биотоп). Термин «экосистема» используют в основном английские ученые, у нас был принят термин «биогеоценоз», включающий понятие биоценоза и биотопа. Изучение отдельных биогеоценозов необходимо, например, при выявлении природных очагов болезней.

Основатель учения о природной очаговости некоторых инфекционных болезней Е. Н. Павловский писал: «То, что теперь называют болезнями с природной очаговостью, в своей основе, прежде всего, подведомственно методам эколого-паразитологических и биоценологических исследований».

Как и биология в целом, экология может быть подразделена на таксономические ветви: экология растений, насекомых, животных, микроорганизмов.

С экологических позиций следует рассматривать сложный процесс паразитоценоза — взаимоотношения между различными микроорганизмами, обитающими в организме человека и животных, а также между микроорганизмами и макроорганизмами.

Становится очевидным, что экологические принципы, которыми руководствуются ученые при изучении животных и растений, в равной степени справедливы для мира микроорганизмов и простейших. С этой точки зрения микробные сообщества следует рассматривать как комплекс видов, находящихся вместе не случайно, а в результате постоянного действия каких-либо детерминирующих факторов.

Микроорганизмы являются частью биоценоза всех экологических процессов, которые наблюдаются в естественных условиях. В процессе эволюционного развития, адаптации к существованию между определенными видами и группами микроорганизмов и других форм жизни установились сложные взаимоотношения. В естественных условиях обитания (в почве, воде, организме животных, в погибших растениях) чистые культуры микробов, как правило, не встречаются, так как они находятся в тесной ассоциации в сложных сообществах — микробиоценозах, состоящих из разнообразных видов бактерий, грибов, актиномицетов, простейших и т. д. Биологическое явление, заключающееся в совместном существовании разнообразных видов в едином процессе, независимо от того, приносит это пользу или вред друг другу, получило название «симбиоз». Формы и исход симбиотических взаимоотношений, определившихся в результате длительного эволюционного развития, могут подвергаться изменениям в силу смены условий окружающей среды. Иногда трудно определить, пользу или вред приносит тот или иной симбиоз.

В настоящее время установлены следующие типы взаимоотношений между микроорганизмами.

**Нейтрализм** (от лат. *neutralis* — не принадлежащий ни тому, ни другому) — взаимоотношения, при которых микроорганизмы, развиваясь в составе одного ценоза, не оказывают друг на друга непосредственного влияния. Косвенная взаимозави-

симось организмов при этом неизбежна, поскольку они являются элементами одного сообщества.

**Конкуренция** (от *лат.* *concurrere* — сталкиваться) — взаимоотношения между организмами одного или разных видов, соревнующихся за одни и те же ресурсы внешней среды при недостатке последних.

**Симбиоз** (от *греч.* *symbiosis* — совместная жизнь) — различные формы совместного существования различных организмов, составляющих симбиотическую систему. В этих системах один из партнеров или оба в определенной степени возлагают на другого задачу регуляции своих отношений с внешней средой, в результате чего приобретают возможность выигрыша в борьбе за существование.

Выделяют три формы взаимоотношений между партнерами (симбионтами): мутуализм, комменсализм и паразитизм.

**Мутуализм** (от *лат.* *mutuus* — взаимный) — форма симбиоза, при которой отношения между партнерами характеризуются взаимовыгодностью и ни один из них не может существовать без другого.

**Комменсализм** (от *лат.* *com* — с, вместе и *mensa* — стол, трапеза), т. е. сотрапезничество, форма симбиоза, при которой один из партнеров (комменсал) возлагает на другого (хозяин) регуляцию своих отношений с внешней средой. Основой для комменсальных отношений могут быть общее пространство, субстрат, пища.

**Паразитизм** (от *греч.* *parasitos* — нахлебник) — форма антагонистических взаимоотношений двух различных организмов, при которой один из них (паразит) использует другого (хозяина) в качестве среды обитания. Однако даже в самых стабильных системах «паразит-хозяин» отношения между партнерами построены по принципу неустойчивого равновесия, нарушения которого могут привести к распаду системы и гибели одного или обоих партнеров. Паразиты принимают участие в регуляции численности популяции хозяев, а иногда определяют направленность микроэволюционных процессов.

**Хищничество** — такое отношение двух групп организмов, при котором одна использует другую в пищу. Примером может служить род *Clostridium* (патогенные виды), который сначала своими токсинами приводит к гибели животное, а затем использует труп в качестве источника питания.

**Антагонизм** (от *греч.* *antagonisma* — спор, борьба) — термин, применяемый к таким взаимоотношениям между микроорганизмами, когда один вид задерживает или полностью подавляет рост другого.

Нарушение экологического баланса между микро- и макроорганизмами, а также внутри микробных ассоциаций приводит к селекции патогенных видов и штаммов, а также способствует более интенсивному генетическому обмену у бактерий (особенно плазмид) в естественных условиях, а следовательно, и к эволюционным сдвигам.

Биоценоз микроорганизмов — явление биологическое и характеризуется особенностями развития микробов в период их пребывания в окружающей среде и в организме хозяина. Примерами нарушения экологического баланса в мире микроорганизмов могут служить проблемы сальмонеллезных инфекций, последствия широкого использования антибиотиков и применения пестицидов.

В настоящее время можно считать доказанной потенциальную опасность для человека сальмонелл всех сероваров. Сейчас, когда проблема загрязнения окружающей среды особенно актуальна, борьба с микробным загрязнением воды сальмонеллами должна стать одной из важнейших задач микробиологов, эпидемиологов и гигиенистов.

В некоторых странах принято добавлять в корм скоту **антибиотики** (как стимуляторы роста), что создает условия, благоприятствующие отбору устойчивых микроорганизмов благодаря формированию популяции бактерий с *R*-плазмидами, распространению которых через пищевые продукты также способствует применение антибиотиков при консервировании мяса и некоторых других пищевых продуктов.

Еще один пример нарушения веками сложившихся взаимоотношений системы «человек — микроорганизмы»: на протяжении всей истории иммунная система человека не подвергалась столь мощным экологическим стрессам как в наше время — в течение последнего десятилетия ежегодно в мире иммунизируется до 1 млрд человек, многие используют диагностические препараты, которые приводят к алергизации населения. Таким образом и этот экологический баланс между человеком и окружающей его средой серьезно нарушен.

Нарушение экологических взаимоотношений связано также с загрязнением окружающей среды химическими препаратами, используемыми, в частности, в сельском хозяйстве для борьбы с грызунами и насекомыми. Они действуют на экологию почвенных микроорганизмов, обуславливающих круговорот веществ в природе, оказывают значительное влияние на биологические свойства возбудителей зооантропонозных инфекций, изменяя их морфологию и антигенную структуру.

Забываясь об охране окружающей среды, санитарные микробиологи совместно с гигиенистами призваны сделать следующее:

- углубленно исследовать закономерности воздействия различных вредных факторов окружающей среды на человека;
- разработать методы индикации микробного загрязнения и критериев эпидемической безопасности различных объектов окружающей среды в условиях их химического и биологического загрязнения;
- совершенствовать методические основы нормирования разнообразного бактериального загрязнения объектов окружающей среды;
- определить особенности распространения в объектах окружающей среды микробов-продуцентов и биологически активных веществ (продуктов их жизнедеятельности) и их значение в патологии человека;
- исследовать условия процессов самоочищения объектов окружающей среды в отношении бактериального загрязнения с учетом сочетательного воздействия химических, физических и биологических факторов;
- разработать профилактические мероприятия с целью снижения бактериального загрязнения различных объектов окружающей среды;
- усовершенствовать санитарное законодательство, способствующее охране объектов окружающей среды от загрязнения.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Что подразумевают под термином «экология»?
2. Из каких организмов состоит микробиоценозы?
3. Какие формы взаимоотношений между микро- и макроорганизмами имеют отрицательное значение для человека?
4. К чему приводит нарушение экологического баланса между микро- и макроорганизмами?

### ТЕМА 3. УЧЕНИЕ О САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМАХ

---

Основными источниками распространения возбудителей большинства инфекционных болезней, поражающих человека, являются сами люди, а также теплокровные животные. Наиболее массивное выделение ими микроорганизмов в окружающую среду происходит воздушно-капельным и фекальным путями.

Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды обязано решить вопрос о наличии или отсутствии в них опасных для человека микроорганизмов. Непосредственное обнаружение возбудителя инфекционных болезней в объектах окружающей среды (несмотря на то что в настоящее время разработаны методы прямого, ускоренного и количественного их определения) имеет целый ряд трудностей.

Во-первых, патогенные микроорганизмы находятся в окружающей среде постоянно. Сравнительно легко их можно обнаружить в период эпидемий, но очень трудно в межэпидемические периоды. Основная же деятельность санитарных микробиологов направлена на предупреждение возникновения эпидемий, и поэтому вся работа ведется в межэпидемические периоды.

Во-вторых, количество патогенных микроорганизмов, попавших в окружающую среду, значительно уступает непатогенным и распространение их в загрязненных объектах неравномерно. Трудности возникают и при выделении патогенных микробов при посевах на питательные среды, даже ингибиторные,

поскольку они неизбежно страдают от конкуренции сапрофитной микрофлоры. Отрицательные результаты индикации патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды еще не говорят с достоверностью об их отсутствии. Поэтому приходится оценивать различные объекты косвенным путем, устанавливая факт загрязнения их выделениями человека или теплокровных животных. И чем обильнее это загрязнение, тем более вероятно попадание в объект патогенных микробов.

Сообщающиеся с внешним миром полости тела людей и животных обильно заселены нормальной микрофлорой довольно постоянной по качественному составу и сравнительно мало изменяющейся при инфекционных заболеваниях.

Для многих видов микроорганизмов (обитателей тела здорового человека) полость рта или кишечник являются биотопами — единственной средой обитания. Поэтому обнаружение таких микробов вне организма свидетельствует о загрязнении соответствующими выделениями. Находя в исследуемом материале представителей микрофлоры полости рта, мы вправе думать о попадании слизи из дыхательных путей, в которой могут содержаться и возбудители скарлатины, туберкулеза (см. вклейку, ил. III) и др., а, обнаруживая нормальных обитателей кишечника, мы можем сделать заключение о наличии фекального загрязнения и возможной опасности присутствия брюшнотифозных, дизентерийных палочек, возбудителей кишечных инфекций.

Выделяемые в этих случаях микробы служат показателями санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов, и поэтому названы «санитарно-показательными». Однако не все микробы, входящие в состав нормальной флоры тела человека или животных, могут быть признаны таковыми.

На основании многочисленных исследований были сформулированы требования, которым должны отвечать санитарно-показательные микроорганизмы:

1. Они должны постоянно содержаться в выделениях человека и теплокровных животных и поступать в окружающую среду в больших количествах.
2. Они не должны иметь другого природного резервуара, кроме организма человека и животных.

3. После выделения в окружающую среду они должны сохранять жизнеспособность в течение сроков, близких к срокам выживания патогенных микробов, выводимых из организма теми же путями.

4. Они не должны размножаться в окружающей среде.

5. Они не должны сколько-нибудь значительно изменять свои биологические свойства в окружающей среде.

6. Они должны быть достаточно типичными, с тем, чтобы их дифференциальная диагностика осуществлялась без особого труда.

7. Индикация, идентификация и количественный учет должны производиться современными, простыми, легкодоступными и экономичными микробиологическими методами.

Поскольку два первых признака считались решающими, то длительное время кишечную палочку признавали индикатором фекального загрязнения, а зеленеющий стрептококк — показателем воздушно-капельного загрязнения.

Кишечные палочки признали индикатором фекального загрязнения, так как многие из их свойств отвечают основным требованиям, предъявляемым к санитарно-показательным микроорганизмам: они являются постоянными обитателями кишечника человека и животных, выделяются в окружающую среду с фекалиями, их выживаемость и устойчивость в окружающей среде несколько превышает подобные свойства патогенных энтеробактерий, они не обладают способностью размножаться ни в почве, ни в воде. Преимущество кишечных палочек заключается еще и в том, что в загрязненных объектах количество их превалирует над всей остальной кишечной флорой. Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) признаются бактериологами всего мира основным показателем фекального загрязнения и, следовательно, косвенным индикатором эпидемической опасности объектов окружающей среды. Однако в ряде случаев при обнаружении превышения нормативных показателей контаминации БГКП проводятся дополнительные исследования показателей свежего фекального загрязнения (наличие кишечной палочки, энтерококков, колифагов), обнаружение энтерококков подтверждает факт свежего фекального загрязнения, так как они быстрее отмирают в окружающей среде и в то же время более устойчивы к действию пестицидов и детергентов.

В настоящее время в категорию санитарно-показательных (индикаторных) микроорганизмов включены представители кишечной микрофлоры человека: БГКП, фекальные кишечные палочки (ФКП), к которым в основном относятся *E. coli*, бактерии группы протей, клостридии (*C. perfringens*), *E. faecalis*, колифаги. Показателями биологического загрязнения воздуха помещений являются стрептококки и стафилококки.

В связи с развитием микробиологии и микробиологических методов исследования начался поиск новых индикаторных микроорганизмов. Одними из микроорганизмов, которые составляют основную анаэробную флору кишечника человека, являются бифидобактерии. Однако трудности при индикации и культивировании анаэробных бифидобактерий пока не позволяют использовать их как индикатор фекального загрязнения.

Непосредственное определение патогенных микроорганизмов в окружающей среде методически трудоемко и не всегда доступно. Поэтому правильно будет определять наличие санитарно-показательных микроорганизмов и проводить индикацию патогенных бактерий только тогда, когда этого требует эпидемическая ситуация.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Почему трудно обнаружить патогенные микроорганизмы в окружающей среде?
2. Чем являются биотопы для некоторых микроорганизмов?
3. Какие микроорганизмы относятся к санитарно-показательным?
4. Какие из микроорганизмов признаются основными показателями фекального загрязнения?

## ТЕМА 4. ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

---

Принципы, которыми руководствуются микробиологи при санитарно-микробиологических исследованиях, исходят из определения возможности присутствия в исследуемом объекте патогенных микроорганизмов или токсинов, образующихся при их жизнедеятельности, а также обнаружение и оценка степени порчи пищевых продуктов.

*Первым принципом* является правильное взятие проб для санитарно-микробиологических исследований с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта, и правил стерильности. Ошибки, допущенные при взятии проб, приводят к получению неправильных результатов, которые исправить уже нельзя. При упаковке и транспортировке проб необходимо создавать такие условия, при которых не будет допущена гибель или размножение исходной микрофлоры в исследуемом объекте, так как это может исказить результаты исследований. Поэтому одним из правил является возможно быстрое проведение исследований и, если необходимо, сохранение материала только в условиях холодильника не более 6–8 ч. Каждая проба сопровождается документом, в котором указывают название исследуемого материала, номер пробы, время, место взятия, характеристику объекта, подпись лица, взявшего пробу.

*Второй принцип* заключается в проведении серийных анализов согласно особенностям исследуемых объектов. Так, например, вода, почва, воздух и другие объекты содержат разно-

образные микроорганизмы, распределение которых неравномерно; к тому же, находясь в биоценологических отношениях, они подвергаются взаимному влиянию, что ведет к гибели одних и активному размножению других, поэтому серию проб берут из разных участков исследуемого объекта (по возможности наибольшее количество), что позволит получить более достоверную характеристику объекта. Доставленные в лабораторию пробы смешивают, затем точно отмеряют необходимое количество материала — среднее по отношению к исследуемому материалу в целом.

*Третий принцип* — повторное взятие проб. Оно необходимо для получения сопоставимых результатов. Это связано прежде всего с тем, что исследуемые объекты весьма динамичны (вода, воздух и т. п.), изменение микрофлоры в них очень велико. Патогенные микроорганизмы попадают в окружающую среду, как правило, в небольшом количестве, и распределяются в ней неравномерно. Поэтому повторное взятие проб позволяет более точно определить биологическую контаминацию объектов окружающей среды.

*Четвертый принцип* — применение стандартных и унифицированных методов, утвержденных соответствующими ГОСТами и инструкциями, что дает возможность сравнить полученные результаты.

*Пятый принцип* — использование при оценке исследуемых объектов одновременно комплекса тестов для получения разносторонней санитарно-микробиологической характеристики. Применяют **прямой** метод обнаружения патогенных микроорганизмов и **косвенный**, позволяющий судить о степени загрязнения объектов окружающей среды выделениями человека и животных. К косвенным тестам относится определение общего числа микробов, количественного и качественного состава санитарно-показательных микроорганизмов. Применение данного метода является особенностью санитарно-микробиологических исследований.

*Шестой принцип* заключается в проведении оценки исследуемых объектов по совокупности полученных результатов при использовании санитарно-микробиологических тестов других гигиенических показателей, указанных в соответствующих ГОСТах и нормативах (органолептических, химических, физи-

ческих и т. д.). Всегда необходимо учитывать, что развитие микробов тесно связано с другими факторами окружающей среды, которые могут оказывать как благоприятное, так и неблагоприятное воздействие, усиливая или ограничивая возможности размножения патогенных микроорганизмов и накопления их токсинов. Следует не забывать также о том, что почти любой объект исследования имеет собственную микрофлору, которая вызывает специфические биохимические процессы, а также изменения в самом объекте, что обуславливается воздействием посторонних микроорганизмов. Санитарный микробиолог должен хорошо знать ход биохимических процессов, происходящих в норме и в исследуемом объекте (сырье, пищевых продуктах, готовом изделии и т. д.), технологию производства, уметь определять характер вредного воздействия попавших микробов, возможные последствия такого воздействия и рекомендовать конкретные мероприятия по их предупреждению. Нередко врачу приходится прибегать к помощи специалистов в области общей, сельскохозяйственной, промышленной, ветеринарной микробиологии и решать вопрос при их непосредственном участии.

*Седьмой принцип* — ответственность врачей санитарной службы за точность обоснования выводов и заключений о состоянии исследуемых объектов. При санитарно-микробиологическом исследовании выявляется степень порчи пищевых продуктов (или других объектов), пригодность их к употреблению, возможная опасность для здоровья населения. Если пищевые продукты возможно реализовать, врач должен дать обоснованную рекомендацию о наиболее рациональном способе их обработки и употреблении. Закрытие предприятия из-за санитарного неблагополучия наносит определенный экономический ущерб. Ответственность за такое решение несет врач санитарной службы. Для большей объективности в оценке полученных результатов и заключениях врачи пользуются специальными инструкциями, нормативами, ГОСТами, разработанными профильными санитарно-микробиологическими учреждениями и утвержденными Министерством здравоохранения. Эти стандарты периодически пересматриваются и приводятся в соответствие с изменениями, которые вытекают из практического опыта, материальных возможностей, современного уровня знаний и развития техники.

## МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Современная санитарная микробиология при индикации и идентификации санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов, а также при определении общей микробной обсемененности объектов окружающей среды стремится использовать все методы, которые применяются в диагностических микробиологических лабораториях, а именно:

- *микроскопический* — при индикации и прямом подсчете микроорганизмов в исследуемом объекте;
- *бактериологический* — выделение микроорганизмов и их идентификация;
- *биологический* — заражение чувствительных животных и ускоренные методы исследований (РИФ и др.).

Для получения разносторонней и полноценной санитарно-микробиологической характеристики объектов окружающей среды, как правило, используется комплекс тестов. Это прежде всего определение общей микробной обсемененности, которое в настоящее время называется — определение количества МАФАНМ (мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов).

Общая микробная обсемененность объекта характеризуется количеством микроорганизмов в 1 мл воды, жидкости или в 1 г твердого вещества (продукта).

МАФАНМ является косвенным методом и позволяет судить о *возможности* загрязнения изучаемого объекта патогенными микроорганизмами.

Существуют два метода определения общей микробной обсемененности:

- метод прямого подсчета под микроскопом;
- определение количества микроорганизмов в исследуемом материале (продукте) методом посева в питательные среды.

*Первый метод* — метод прямого подсчета микроорганизмов в исследуемом объекте — проводится под микроскопом в счетных камерах Горяева или в камерах, специально сконструированных для подсчета бактерий. Предварительно пробу исследуемого объекта подвергают обработке, чтобы получить гомогенную

взвесь. Для лучшего учета бактерий в исследуемую суспензию добавляют краситель.

*Второй метод* — метод количественного посева исследуемого материала на плотные питательные среды — применяется чаще. Из приготовленных серийных десятикратных разведений исследуемой жидкости или суспензии по 1 мл переносят в стерильные чашки Петри. Каждое разведение проводят отдельной пипеткой, исследуемый материал заливают расплавленным и охлажденным до температуры  $+50^{\circ}\text{C}$  мясопептонным агаром (метод горячей заливки).

Следует отметить, что оба метода определения общей микробной обсемененности являются относительными. Для получения сравнимых результатов при определении общего микробного числа (количества МАФАНМ) исследования проводятся по стандартным, конкретным для каждого случая методикам, регламентированным соответствующими ГОСТами.

Выявление в каждом конкретном случае виновника порчи исследуемой продукции и объекта окружающей среды ведется по схемам и методам, разработанным для каждой группы микроорганизмов.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. К чему приводят ошибки, допущенные при взятии проб исследуемого материала?
2. Почему при взятии пробы необходимо брать большое количество проб?
3. Перечислите методы санитарно-микробиологических исследований.
4. С какой целью определяют количество МАФАНМ?

## ТЕМА 5. МИКРОБИОЛОГИЯ МЯСА, МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ, КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДСТВА МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ

---

**Мышцы и внутренние органы живых здоровых животных и птиц не содержат микробов.** Об этом свидетельствуют данные специально проведенных исследований тканей и органов здоровых животных, убитых и вскрытых с соблюдением стерильности.

Однако при убое животных в условиях мясокомбината получают мясо и мясопродукты, содержащие различное количество сапрофитных микроорганизмов (кокковые, гнилостные палочки, бактерии группы кишечной палочки, дрожжи, споры плесневых грибов и актиномицетов), а иногда и патогенные бактерии.

Известны два пути обсеменения органов и тканей животных микроорганизмами: **эндогенный и экзогенный.**

**Прижизненное эндогенное микробное обсеменение** происходит у животных, больных инфекционными, инвазионными и незаразными заболеваниями, так как их органы и ткани содержат возбудитель болезни, например, сальмонеллеза, рожи свиней, лептоспироза, листериоза.

Различные неблагоприятные внешние факторы — стрессы, утомление при транспортировке, голодание, переохлаждение, травмы — ослабляют естественную резистентность организма и приводят к **эндогенному прижизненному микробному обсеменению органов и тканей у здоровых животных.**

В результате ослабления сопротивляемости создаются благоприятные условия для проникновения микроорганизмов из

кишечника через лимфатические и кровеносные сосуды в органы и ткани.

**Посмертное эндогенное обсеменение** органов и тканей начинается в момент убоя. Кровь, вытекшая из артерий, частично засасывается обратно через вены, при этом в кровяное русло с поверхности кожи и шерсти попадают бактерии, которые распространяются по органам и мышцам животного. Обсеменение поверхности мяса происходит при снятии шкуры и разделке туши. После смерти животного стенки кишечника становятся легкопроницаемыми для микробов, которые начинают проникать в окружающие ткани. При повреждении кишечника происходит чрезвычайно сильное загрязнение мяса, подвижные микробы могут проникать в глубокие слои мяса при последующей транспортировке и хранении.

**Экзогенное загрязнение** мяса происходит при выполнении технологических операций разделки туш. Источники микробного обсеменения могут быть следующие: кожный покров животных, воздух, оборудование, руки и инструменты рабочих, а также вода, используемая для зачистки туш.

На поверхности мясных туш в основном встречаются бактерии группы кишечной палочки, стафилококки и стрептококки, различные виды гнилостных аэробных бацилл, анаэробные клостридии, молочнокислые бактерии, дрожжи и плесневые грибы.

**Изменение микрофлоры мяса при холодильном хранении.** В зависимости от температурных режимов холодильного хранения охлажденного и мороженого мяса происходят определенные изменения количественного и группового состава микрофлоры, размножение которой может вызвать порчу продукта.

На поверхности туши могут находиться микроорганизмы, имеющие неодинаковые температурные пределы роста, например, мезофилы, термофилы и психрофилы. Размножаясь при благоприятных условиях на поверхности мяса, они постепенно проникают в его толщу, что приводит к снижению его качества. На этом основано (ГОСТ 23392-78) бактериоскопическое исследование мяса, позволяющее быстро установить степень его свежести. Количество бактерий и степень распада мышечной ткани определяют микропированием окрашенных по Граму (см. вклейку, ил. I) мазков-отпечатков.

В процессе длительного хранения в охлажденной туше могут развиваться только психрофилы, так как температура мяса будет составлять 0...+4°C.

Термофилы и большинство мезофильных бактерий, не развивающихся при низких температурах, полностью приостанавливают свою жизнедеятельность, переходя в анабиоз. Однако некоторые патогенные и токсигенные бактерии из группы мезофилов длительное время могут сохранять жизнеспособность при низких температурах (возбудители листериоза, ботулизма).

Размножение микроорганизмов в мясе при низких температурах проходит ряд фаз: лаг-фазу или фазу задержки роста, логарифмическую фазу, максимальную стационарную и фазу отмирания. В начальный период хранения охлажденного мяса психрофильные бактерии, находясь в лаг-фазе, некоторое время не размножаются. В данный период количественный и качественный состав микрофлоры мяса почти не изменяется. Продолжительность фазы задержки роста зависит от скорости охлаждения, температуры и влажности воздуха при хранении мяса, а также от степени обсемененности микробами мясных туш при убойе и разделке.

По истечении лаг-фазы начинают усиленно размножаться психрофильные бактерии, которые со временем преобладают в составе продуктов, хранящихся в данных условиях.

На охлажденном мясе в аэробных условиях хранения размножаются неспоровые грамотрицательные бактерии, а также плесневые грибы и дрожжи. Активность развития той или иной группы зависит от температуры и влажности окружающей среды. Так, при неблагоприятных условиях для развития психрофильных аэробных бактерий (пониженная влажность и более низкая температура хранения) наблюдается активный рост плесневых грибов и аэробных дрожжей, которые имеют более низкие температурные пределы роста, а также менее требовательны к влажности.

В результате активного размножения микроорганизмов в конце стационарной фазы охлажденное мясо может испортиться, появятся ослизнение, гниение, кислотное брожение, пигментация, плесневение.

*Ослизнение* мяса — одно из наиболее часто встречающихся видов порчи охлажденного мяса при хранении и транспорти-

ровке. Оно появляется обычно в начальные периоды хранения, когда на поверхности мясных туш образуется сплошной слизистый налет, состоящий из различных бактерий, дрожжей и других микроорганизмов. Слизь становится заметной, когда количество бактерий на 1 см<sup>2</sup> увеличивается до 10<sup>7</sup>. При повышении температуры выше +5°C начинают размножаться микрококки, стрептококки, актиномицеты, некоторые гнилостные и другие мезофильные микроорганизмы (*E. coli*, *Proteus*, *Streptococcus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. mycoides*, *B. cereus*, *Pseudomonas*).

Гниение происходит при хранении мяса с признаками ослизнения. Данный процесс вызывают различные аэробные и факультативно-анаэробные, не образующие спор бактерии (вулгарный протей, флуоресцирующие бактерии), спорообразующие аэробные (сенная палочка, картофельная палочка) и анаэробные клостридии. Гниение может происходить в аэробных и анаэробных условиях. В процессе него под влиянием протеолитических ферментов происходит постепенный распад белков мяса с образованием неорганических конечных продуктов — аммиака, сероводорода, индола, скатола, которые приводят к накоплению токсинов, плохим органолептическим показателям и, как следствие, к непригодности продуктов для употребления. Поэтому в зависимости от результатов ветеринарно-санитарной оценки и лабораторных исследований мясо могут направить на утилизацию.

Кислотное брожение сопровождается появлением неприятного, кислого запаха, зеленовато-серой окраски на разрезе и размягчением мышечной ткани. Данному виду порчи чаще подвергается печень, в которой содержится большое количество гликогена. Кислотное брожение происходит под влиянием психрофильных дрожжей и молочнокислых бактерий, так как в результате их развития образуются кислоты. Хотя продукты брожения задерживают развитие гнилостных микробов, они создают благоприятные условия для плесневых грибов.

Так как плесневые грибы (*Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*) менее требовательны к влажности и имеют более низкие температурные пределы роста, чем аэробные бактерии, плесневение происходит при низкой температуре хранения и в условиях пониженной влажности. На поверхности мяса появляются коло-

нии плесневых грибов, окрашенных в зеленый, белый и черный цвета.

Если невозможно полностью очистить мясо от налета плесени, его направляют на утилизацию.

**Консервирование мяса.** Мясо — скоропортящийся продукт, чтобы его сохранить, применяют разные способы консервирования (физические и химические).

К физическим способам относится консервирование мяса низкой или высокой температурой.

*Консервирование мяса низкой температурой* (мороженое мясо). Пищевые продукты в замороженном виде могут сохраняться длительное время. При замораживании мяса часть микроорганизмов переходит в анабиотическое состояние, остальные погибают. Количество погибших бактерий зависит от скорости и степени понижения температуры. Чем ниже температура ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), тем больше погибает микроорганизмов. К действию низких температур устойчивы энтерококки и стафилококки, а наиболее устойчивыми оказались плесени и дрожжи. В процессе хранения мороженого мяса развитие микроорганизмов, выживших при замораживании, замедляется, но полного их отмирания не происходит, поэтому даже после длительного хранения мясо не становится стерильным и может содержать большое количество живых сапрофитных микроорганизмов — возбудителей порчи, а иногда и патогенные бактерии.

*Размораживание (дефростация) мяса.* Перед употреблением мясо размораживают при температуре  $+1...+8^{\circ}\text{C}$ . Дефростированное мясо менее стойко, так как образовавшиеся при замораживании кристаллы льда разрывают мышечную ткань, для минимизации травмирования мясо следует замораживать быстро, при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Количество микробов в дефростированном мясе быстро возрастает, поэтому такой продукт надо немедленно реализовать.

*Консервирование мяса сушкой.* Сушка — один из самых старых способов, применяемых для сохранения мяса. В настоящее время используют самый совершенный метод — сублимацию (лиофильный метод), т. е. обезвоживание в вакууме предварительно замороженных продуктов путем преобразования льда в парообразное состояние, минуя жидкую фазу. Температура сушки должна быть ниже температуры денатурации белков и на

выходе из сушилки составлять +55...+70°C. Продукты, высушенные таким способом, очень быстро (за 20 мин) восстанавливают свои первоначальные свойства и почти полностью сохраняют биологическую ценность. Содержание в мясе до 10% влаги препятствует размножению бактерий, а до 7% — создает неблагоприятные условия для развития даже плесневых грибов. Высушенное мясо следует предохранять от попадания микробов, так как с увеличением влажности они быстро начинают размножаться и приводят к порче продукта.

*Консервирование мяса высокой температурой (баночные консервы).* Для данного консервирования применяют бактериально чистое мясо. Время и температура стерилизации зависят от количества микробов (особенно спорообразующих) в продукте. Наиболее устойчивы к высокой температуре споры *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Cl. botulinum*. С увеличением числа спор в одном и том же объеме среды время стерилизации увеличивается.

Споры *Cl. botulinum* — самые опасные, так как выдерживают 3–6-часовое кипячение, а после превращения в вегетативные клетки продуцируют сильнейший токсин, который влияет на pH среды, количество жира и поваренной соли в ней.

В стерилизованных консервах все-таки остается некоторое количество спор, поэтому необходимо обязательно проводить микробиологический контроль. С этой целью до 10% продукции помещают на 10 дней в термостатную камеру при +37°C. Если в консервах сохранились бациллы, то часть их прорастает, что приведет к выделению газа, вызывающего бомбаж (вздутие) банок.

*Химические способы консервирования.* Посол — один из древнейших и широко распространенных способов сохранения мяса. Он основан на свойстве соли повышать осмотическое давление, создавать плазмолиз и тем самым ингибировать микробиологические процессы. В состав рассола, кроме соли, входят нитраты (селитра), сахар. Все данные вещества проникают в мышечную ткань и вызывают сложный физико-химический процесс, так, например, нитраты под действием денитрифицирующих бактерий переходят в нитриты, которые придают обесцвеченному солью мясу нормальный красный цвет, не исчезающий при варке.

В процессе посола из мяса в рассол диффундируют белки, экстрактивные вещества и некоторые из водорастворимых витаминов. В такой среде начинают развиваться галофилы — микробы, выдерживающие высокие концентрации поваренной соли, которые часто являются причиной порчи продукта. В рассоле может находиться до 40 видов различных микроорганизмов: *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*. Грамположительные бактерии представлены *Bacillus*, реже *Clostridium* и плесневыми грибами.

Копчение мяса проводят также с целью сохранения продукта. Кроме потери воды, мясо при копчении подвергается воздействию продуктов сухой перегонки дерева (фенол, крезол, скипидар, древесный спирт, формальдегид, смолы, низкомолекулярные кислоты — уксусная, муравьиная, пропионовая и др.), которые действуют бактерицидно.

В процессе копчения мясные продукты приобретают специфический вкус и аромат. Из всех видов самым эффективным является холодный метод копчения при температуре +18... +22°C (3–7 суток), так как в процессе него консервирующие вещества глубже проникают в мясо, чем и повышают его стойкость при хранении. Копчению можно подвергать мясо только здоровых животных, так как возбудители туберкулеза, рожи свиней под действием продуктов сухой перегонки дерева не погибают.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как происходит обсеменение органов и тканей животных микроорганизмами?
2. Какие изменения микрофлоры мяса происходят при хранении в холодильнике?
3. Какие методы консервирования мяса применяют?

## ТЕМА 6. МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

---

**Молоко и источники его загрязнения.** Молоко — секрет молочной железы млекопитающих. Состав коровьего молока следующий, %: вода — 87,5; молочный сахар — 4,7; молочный жир — 3,8; белки — 3,3; минеральные вещества — 0,7, а также витамины и ферменты.

Академик И. П. Павлов писал: «Молоко — это изумительная пища, приготовленная самой природой». Установлено, что этот продукт содержит более ста ценнейших компонентов. В состав молока входят все необходимые для жизнедеятельности организма вещества: белки, жиры, углеводы, минеральные соли, витамины.

**Происхождение микрофлоры молока. Источники загрязнения.** Молоко является хорошей средой для размножения и сохранения микроорганизмов. Получить стерильное молоко невозможно, так как в сосковом канале (сообщающемся с внешней средой) всегда находятся представители нормальной микрофлоры вымени: маммококки, микрококки, молочнокислые стрептококки и палочки.

На протяжении всего пути, от вымени до потребителя, молоко соприкасается с целым рядом источников загрязнения. Они далеко не равноценны как по обилию, так и по видовому составу бактерий.

*Микрофлора, передаваемая молоку из вымени.* Этот источник поставлен на первое место в силу его постоянства и абсолютной неизбежности. В сосковом канале всегда содержатся

следующие виды бактерий: облигатные — микрококки, маммококки (кокки вымени безвредны) и факультативные — молочнокислые стрептококки, могут быть и патогенные стафилококки. Они образуют «бактериальную пробку» соскового канала, поэтому перед доением необходимо удалить ее с первыми струйками молока, которые сдаивают в отдельный сосуд и обеззараживают. Если этого не делать, то количество бактерий в общем удое будет больше на 5%.

На бактериальное загрязнение молока при доении большое влияние также оказывает и санитарное состояние животных (кожа коров), молочного оборудования и посуды; степень чистоты рук доярок, подстилок животных.

*Кожа животного*, как источник загрязнения, содержит большое количество микроорганизмов, попадающих на нее с частицами навоза, которые весьма трудно удалить полностью. Во время дойки со шкуры животного на поверхность молока падает настоящий дождь из кишечных палочек, энтерококков, аэробов и анаэробов, дрожжей и плесневых грибов и др. (перечень этих микроорганизмов очень важен, так как именно они будут составлять нормальную микрофлору молока). Следовательно, степень бактериального загрязнения молока зависит от способа обработки кожи и вымени перед доением. Однако на практике, часто для обмывания и подсушки вымени, используют одно ведро и одно полотенце для всей группы, поэтому на  $1 \text{ см}^2$  такого полотенца может быть обнаружено до 214 млн бактерий.

При машинном доении коров могут быть исключены многие источники загрязнения, если содержать доильные аппараты в санитарном состоянии, соответствующем определенным нормам. Если данные нормы будут нарушены, то доильные аппараты станут значительным источником микробного загрязнения молока (в основном психрофильных бактерий). Например, после дезинфекции 0,2%-ным раствором хлорамина новые молочные шланги становятся почти стерильными; в отличие от них, в старых шлангах, имеющих на внутренней поверхности трещины, после такой же обработки обнаруживалось на  $1 \text{ см}^2$  до 940 тыс. бактерий. Таким образом, если молочную аппаратуру содержать в хорошем санитарном состоянии, то она будет наиболее совершенной защитой от загрязнения, в против-

ном случае загрязненная аппаратура будет отдавать молоку собственную микрофлору.

Применение в качестве подстилки прелой соломы увеличивает число микроорганизмов, особенно спорообразующих и плесневых грибов в воздухе, поэтому вместе с пылью в молоко попадают и микробы. Рекомендуется в качестве подстилки использовать свежую солому, опилки или торф, которые хорошо поглощают влагу, газы и в некоторой степени препятствуют развитию гнилостных и патогенных микроорганизмов.

Таким образом многие источники загрязнения могут быть устранены при соблюдении зоогигиенических правил содержания коров и санитарно-гигиенических условий в процессе получения молока.

Для того чтобы получить полное представление о составе микрофлоры свежего молока, необходимо ознакомиться с источниками его загрязнения.

**Изменение микрофлоры молока при хранении и транспортировке.** Количественные и качественные изменения микрофлоры молока зависят от температуры, продолжительности хранения и состава ее при получении. Так, при хранении молока при  $+10^{\circ}\text{C}$  происходит последовательная смена следующих фаз: бактерицидной, смешанной микрофлоры, молочнокислой и фазы развития дрожжей и плесени.

*Бактерицидная фаза* заключается в стабилизации, а зачастую и в уменьшении количества микроорганизмов в свежесвыдоенном молоке в процессе хранения. Этим объясняется наличие в молоке различных противомикробных веществ: лактенинов, бактериолизиннов, лизоцима и др. Продолжительность бактерицидной фазы изменяется в широких пределах и зависит от следующих факторов:

- 1) количества бактерий, попавших в молоко во время дойки;
- 2) температуры хранения и скорости охлаждения (бактерицидные свойства молока сохраняются 48 ч при температуре  $0^{\circ}\text{C}$ , 24 ч — при температуре  $+10^{\circ}\text{C}$  и только 6 ч — при температуре  $+25^{\circ}\text{C}$ );
- 3) индивидуальных свойств организма коровы и периода ее лактации.

*Фаза смешанной микрофлоры.* После окончания бактерицидной фазы, когда в молоке уже нет веществ, задерживаю-

щих развитие микробов, а температура хранения выше +10°C, в молоке начинают размножаться все оставшиеся к этому моменту микроорганизмы. В течение данной фазы, длительность которой 12–18 ч, микрофлора молока возрастает в сотни тысяч раз. С практической точки зрения фаза смешанной микрофлоры особенно важна, так как именно в этот период молоко попадает к потребителю.

*Молочнокислая фаза.* Ее началом является момент, когда в молоке обнаруживается заметное нарастание кислотности. С определенного времени перевес над всеми имеет *Str. lactis*, по мере их размножения кислотность молока становится рН 4,0, которая является неблагоприятной для стрептококков, поэтому на смену им начинают развиваться кислотоустойчивые молочнокислые палочки. Повышение кислотности оказывается губительным для гнилостной микрофлоры, а также для бактерий группы кишечной палочки. Таким образом молочнокислая фаза состоит из двух периодов, сменяющих друг друга в определенной последовательности.

Продолжительность молочнокислой фазы больше, чем какой-либо другой, и может продолжаться месяцами без заметного изменения в микрофлоре при соответствующей температуре. Но надо учитывать, что в целом молочнокислая фаза охватывает собой то состояние молока, в котором оно квалифицируется как кисломолочный продукт.

*Фаза развития дрожжей и плесени.* Эта фаза не представляет практического интереса и вряд ли придется наблюдать ее в практических условиях (она представлена для полноты картины). Обычно молоко не доживает до этой фазы, будучи потребленным в течение молочнокислой фазы. Внешняя картина ее развития следующая: еще во время молочнокислой фазы на поверхности сгустка образуются отдельные колонии *Oidium lactis*, постепенно смыкающиеся в сплошную белую пушистую пленку. В это же время можно наблюдать появление пленчатых дрожжей, позднее появляются пигментированные колонии плесневых грибов *Penicillium*, *Aspergillus*, вытесняющие *Oidium*. Молоко начинает прогоркать за счет разлагающегося жира, появляются плесневый и дрожжевой привкусы. Затем под плесневой пленкой становятся заметны первые признаки разложения и пептонизации белков в виде жидкости от светло-

желтого до темно-бурого цвета. Данный слой увеличивается за счет сгустка и, в конечном итоге, все превращается в бурую жидкость, закрытую сверху толстой пленкой плесени.

**Пороки молока микробного происхождения.** При длительном хранении сырого и пастеризованного молока в нем начинают проявляться признаки порчи, вызванные размножением попавшей микрофлоры. Характер порчи зависит от температуры хранения и вида преобладающих микроорганизмов (в сыром и пастеризованном молоке они разные).

*Аммонификаторы* (гнилостные микроорганизмы) могут размножаться при низкой температуре хранения молока, так как относятся к психрофильным бактериям. В процессе разложения белков изменяется консистенция молока, появляется горечь.

*Споры маслянокислых бактерий* при пастеризации не погибают, а при длительном хранении такого молока они расщепляют лактозу до масляной кислоты и газа, придающих молоку прогорклый вкус и неприятный запах.

*Плесневые грибы* образуют островки колоний на поверхности свернувшегося молока, придают ему горький вкус и плесневый запах. Наличие плесени свидетельствует о длительном хранении молочного продукта при низкой температуре.

*Кишечная палочка*, находящаяся в сыром молоке в больших количествах, придает ему стойловый запах, а при благоприятной температуре сбраживает лактозу с образованием кислоты и газа. Молоко, содержащее кишечную палочку, нельзя использовать для приготовления кисломолочных продуктов и сыров, так как *E. coli* вызывает в них пороки.

**Возбудители инфекционных болезней, передаваемых через молоко.** Возбудители инфекционных болезней попадают в молоко от больных животных, а также из окружающей среды во время транспортировки или переработки. Их можно разделить на две группы. В первую входят возбудители зооантропозов, которые передаются от одного вида животного к другому и от животного к человеку. К ним относятся возбудители туберкулеза и бруцеллеза (см. вклейку, ил. V), сибирской язвы, ящура и др. Во вторую группу входят возбудители антропозов — болезней, которые передаются от человека к человеку (дизентерия, дифтерия, брюшной тиф).

При попадании патогенных возбудителей от больных людей и животных в молоко в нем происходит размножение микробов и накопление токсинов, которые приводят к возникновению пищевых токсикоинфекций при употреблении данного зараженного продукта.

Дезинфекцию на молочных фермах следует рассматривать как важную меру, дополняющую пастеризацию молока и направленную на предупреждение зоонозов и зооантропонозов, которые передаются человеку через молоко. Доильные аппараты, ведра, бидоны и другие емкости следует дезинфицировать, для этого необходимо применять различные химические средства, например, кальцинированную соду и гидроксид калия.

**Сохранение молока физическими методами.** Молоко, поступающее на молочные заводы, содержит большое количество бактерий (от сотен тысяч до миллионов в 1 мл), особенно в жаркое время года. Бактериальное загрязнение может быть снижено, если на всем пути молока от коровы до потребителя будут соблюдаться санитарно-гигиенические нормы и оно будет своевременно охлаждаться. Особенно эффективно действует глубокое охлаждение непосредственно после удоя, так как этим удлиняется бактерицидная фаза, поэтому хранить молоко на ферме следует при температуре не выше  $+4^{\circ}\text{C}$ .

*Замораживание молока* несколько ограничено и проводится только в определенных географических зонах. Холод не вызывает гибель микроорганизмов, а переводит их в анабиотическое состояние, поэтому при оттаивании молока их жизнедеятельность начинается вновь. Следовательно, с помощью холода можно сохранить только бактериально чистое молоко.

*Кипячение молока* хотя и обеспечивает высокий стерилизующий эффект, но не может быть рекомендовано для молочной промышленности. Это связано с тем, что в течение данного процесса происходит разрушение витаминов, белки денатурируются, ценный кальций оседает на стенки посуды, нарушается гомогенность жировой эмульсии. Поэтому вместо кипячения в молочной промышленности применяют пастеризацию молока, после которой сохраняется биологическая ценность продукта.

Существует несколько режимов пастеризации молока от здоровых животных:

- а) длительная — при температуре  $+65^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин;
- б) кратковременная — при температуре  $+74\dots+78^{\circ}\text{C}$  в течение 15–20 с;
- в) моментальная — при температуре  $+85\dots+90^{\circ}\text{C}$  без выдержки.

При правильно проведенной пастеризации погибает около 99% бактерий, содержащихся в молоке, в том числе беспоровые патогенные виды (возбудители туберкулеза и бруцеллеза (см. вклейку, ил. V), сальмонеллеза, гноеродные кокки), кишечная палочка и молочнокислые бактерии. После пастеризации молоко необходимо охладить до температуры  $+4^{\circ}\text{C}$ , чтобы предотвратить прораствание спор и размножение сохранившейся термофильной микрофлоры.

Хранение пастеризованного молока при комнатной температуре дает возможность беспрепятственного размножения гнилостных и патогенных бактерий, если они остались в нем, так как бактерицидные свойства в пастеризованном молоке под действием высокой температуры инактивированы. Такое молоко не скисает, но может подвергнуться гнилостному разложению (пептонизации) и стать ядовитым при длительном хранении в холодильнике.

*Стерилизация молока* предусматривает полное уничтожение вегетативных и споровых форм бактерий, что позволяет хранить молоко в течение длительного срока. В настоящее время применяется *ультравысокотемпературная обработка* (УВТ) молока в трубчатых аппаратах в условиях закрытого автоматизированного процесса, суть которой заключается во введении химически чистого пара непосредственно в молоко и нагревании его до температуры  $+140^{\circ}\text{C}$  в течение 1 с. Этим устраняются окислительные процессы, приводящие к разрушению витамина С, уничтожаются летучие вещества кормового и стойлового происхождения. В результате данной обработки также погибают споры бактерий, а все полезные вещества и микроэлементы в молоке сохраняются. При изготовлении такого молока используется только высококачественное сырье, так как молоко I и II сорта (по ГОСТу) просто-напросто свернется. Специально для УВТ-молока была изобретена новая, асептическая разновидность картонной упаковки с полиэтиленовым покрытием, в которой молоко может сохраняться и при комнатной температуре.

При консервировании происходит уничтожение микробов, вызывающих порчу продуктов, или же создаются неблагоприятные условия для их жизнедеятельности.

Для приготовления консервированного сгущенного молока в банках его стерилизуют при температуре  $+115...+118^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин. При такой температуре погибают вегетативные микробы, но часть спорообразующих может остаться. Сохранившиеся споры в благоприятных условиях могут прорасти и начать разлагать продукт с образованием газов, которые вызывают бомбаж консервных банок. Для проверки качества стерилизации банки выдерживают в течение 10 суток при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ . Отсутствие бомбажа указывает на качественную стерилизацию банок, что в свою очередь позволяет хранить данный продукт длительное время при комнатной температуре.

*Сгущенное молоко с сахаром.* Для начала сырое молоко подвергают очистке и приводят содержание жира и сухих веществ к уровню, соответствующему требованиям ГОСТа. Затем молоко доводят до момента закипания и выдерживают в таком состоянии около 20 мин, в течение данного времени практически все микроорганизмы погибают, за исключением устойчивых к высокой температуре. Пастеризованное молоко сгущают до  $1/3$  первоначального объема, при этом в нем должно содержаться не более 26,5% влаги, после чего в него добавляют 43,5% сахара. При таком соотношении воды и сахара создается высокое осмотическое давление — неблагоприятное условие для развития эшерихий, молочнокислых бактерий, дрожжей и многих плесневых грибов. Но при наличии шоколадно-коричневой плесени и цветных микрококков, обладающих протеолитическими свойствами, происходит порча продукта. В этом случае срок его хранения не превышает 6–12 месяцев. Соблюдение технологии и санитарных условий в процессе производства позволяет увеличить время хранения сгущенного молока с сахаром до 2 лет.

**Санитарно-микробиологическая характеристика молока.** Для предотвращения распространения инфекционных болезней через молоко необходимо проводить строгий ветеринарный и санитарный надзор за животными и предприятиями молочной промышленности (контроль сырья и процессов производства). Молоко, поступающее на молочный завод от производителя, в

зависимости от санитарно-микробиологических и физико-химических показателей делят на три сорта (высший, I и II). При приеме молока выявляют его кислотность, механическую загрязненность, микробную обсемененность по редуктазной пробе и наличие соматических клеток, а один раз в декаду определяют наличие ингибиторов, фальсифицирующих сорт молока (показатели, по которым определяют сорт молока, находятся в лабораторных занятиях в теме 7).

Молоко высшего и I сорта должно иметь кислотность 16–18°Т (по Тернеру), микробную обсемененность по редуктазной пробе не ниже I класса и степень чистоты 1-й группы по эталону. Кислотность молока II сорта может быть в пределах 16–20°Т, микробная обсемененность по редуктазной пробе — не ниже II класса и степень чистоты по эталону — не ниже 2-й группы. К несортному молоку относят молоко с кислотностью менее 16 и более 21°Т по Тернеру. *При этом оценка сорта молока при приемке осуществляется по худшему показателю.*

Кроме перечисленных показателей, на молокозаводе в сдаваемом молоке определяют наличие соматических клеток, повышенное содержание которых свидетельствует о наличии острого воспаления вымени (мастит). Использование такого молока на пищевые цели не допускается, так как, кроме потери технологических свойств, оно содержит опасные токсины.

Кислотность молока является показателем, косвенно подтверждающим его микробное благополучие. При увеличении количества бактерий повышается и кислотность молока. Если она ниже нормы, то это свидетельствует о добавлении к нему химических веществ с целью фальсификации качества молока. Так как все вещества, применяемые для фальсификации, токсичны, то это не только незаконно, но и весьма опасно для жизни человека.

В табл. 1 указана периодичность контроля показателей качества молока, поступающего на молокозавод из хозяйств.

При обнаружении в молоке ингибирующих веществ его относят к несортному, даже если по остальным показателям оно отвечает высоким требованиям. Прием следующей партии молока, поступившей из этого хозяйства, осуществляют только после получения результатов анализа, подтверждающего отсутствие ингибирующих веществ.

При получении неудовлетворительных результатов анализов хотя бы по одному из показателей проводят повторный анализ удвоенного объема пробы, взятой из той же партии молока. Результаты повторного анализа являются окончательными и распространяются на всю партию продукта.

Антибиотики, попадающие в молоко при лечении коров, подавляют жизнедеятельность молочнокислых бактерий, очень чувствительных к ним, и тем самым нарушают технологический процесс изготовления кисломолочных продуктов. Поэтому один раз в декаду молоко, поступающее из хозяйств, должно быть проверено на наличие антибиотиков и других ингибиторов (перекиси водорода, соды и т. д.).

В табл. 2, по данным О. А. Симецкого, указаны сроки разрушения и выведения антибиотиков из организма коровы после последнего введения антибиотика с целью лечения мастита.

Таблица 1

**Периодичность контроля показателей качества молока на молокозаводе**

Контролируемый показатель	Периодичность контроля	Методы испытаний при повторном контроле, по просьбе поставщика
Органолептические показатели	Ежедневно в каждой партии	ГОСТ 28283
Титруемая кислотность, °Т	Ежедневно в каждой партии	ГОСТ 3624
Группа чистоты	Ежедневно в каждой партии	ГОСТ 8218
Бактериальная обсемененность, КОЕ/г	Не реже одного раза в 10 дней	ГОСТ 9225
Содержание соматических клеток, тыс./мл	Не реже одного раза в 10 дней	ГОСТ 23453
Наличие ингибирующих веществ	Не реже одного раза в 10 дней	ГОСТ 23454

Таблица 2

**Сроки использования молока после внутримышечного введения коровам антибиотиков**

Антибиотики	Количество, тыс. ед.	Сроки использования после последнего введения, ч
Бензилпенициллин	250	6
	500	6

Антибиотики	Количество, тыс. ед.	Сроки использования после последнего введения, ч
Бензилпенициллин	2000	12
	10 000	12
Бициллин-3	1500	30
Экмоповоциллин	4000	30
Стрептомицин	2000	30
	15 000	48

На качество молока оказывают влияние также радиоактивные вещества, гербициды, фунгициды, пестициды и другие ксенобиотики. Молоко с остаточными количествами химических веществ защиты растений и животных, а также антибиотиков подлежит выбраковке.

## МИКРОБИОЛОГИЯ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Известно, что молоко после получения быстро сквашивается. Однако в кислом молоке не так быстро происходит разложение белка и другие изменения, поэтому были созданы специальные условия для сквашивания, необходимые для создания кисломолочных продуктов.

У каждого народа были свои методы обработки молока, поэтому и получаемые продукты также отличались друг от друга. Таким образом возникло большое число кисломолочных продуктов, таких как кефир — у осетин, простокваша — у русских, катык — у татар, мацун — у армян, ряженка — у украинцев и кумыс — у народов, занимающихся коневодством. Все перечисленные продукты получают путем сквашивания молока молочнокислыми бактериями, а в некоторых одновременно с данным процессом идет и спиртовое брожение, вызванное дрожжами.

Интерес к кисломолочным продуктам возник под влиянием идей и трудов И. И. Мечникова (1907). Ученого заинтересовала причина долголетия жителей стран Балканского полуострова, которую он впоследствии объяснил регулярным потреблением ими в пищу большого количества кисломолочных

продуктов. По его мнению, молочнокислые бактерии способны приживаться в кишечнике человека и благотворно влиять на весь организм в целом.

В толстом отделе кишечника обычную микрофлору составляют гнилостные бактерии, выделяющие индол и скатол, которые, всасываясь через стенки кишечника в кровь, постепенно отравляют организм человека. Ученый пришел к выводу, что данный гнилостный процесс можно ослабить или совсем остановить, постоянно употребляя кисломолочные продукты, так как в результате жизнедеятельности молочнокислых бактерий образуется молочная кислота и реакция среды кишечника из щелочной становится кислой, а при таких условиях гнилостные бактерии не могут развиваться, поэтому устраняется и источник отравления организма. Кроме того, продукты метаболизма молочнокислых бактерий содержат антибиотические вещества (низин), губительные для гнилостных и патогенных микроорганизмов.

Данная теория Мечникова сильно стимулировала общественный интерес к кисломолочным продуктам. Впоследствии также было установлено, что кисломолочные продукты в диетическом отношении ценнее молока и, кроме того, обладают лечебными свойствами. Усвояемость кисломолочных продуктов можно увеличить за счет частичной пептонизации белков, т. е. разложения их на более простые вещества. Так, цельное молоко за 1 ч усваивается в организме на 32%, а кисломолочные продукты — на 92%. Учитывая этот факт, кефир предлагают самым маленьким детям в качестве заменителя материнского молока.

Все кисломолочные продукты делятся на две группы: *продукты молочнокислого брожения* — простокваша, ацидофильное молоко, сметана и *продукты смешанного молочнокислого и спиртового брожения* — кефир, кумыс, катык. Продукты первой группы характеризуются плотным сгустком, второй — более острым вкусом, нежным сгустком, пронизанным пузырьками углекислого газа, исчезающими при встряхивании.

На молокозаводе при обязательной пастеризации всего поступившего молока основная масса молочнокислых бактерий погибает. Поэтому для приготовления кисломолочных продуктов необходимы закваски молочнокислых бактерий. Однако

специалисты не используют «дикие штаммы», а приобретают закваски из чистых культур молочнокислых бактерий в производственных лабораториях. На каждую культуру молочнокислых бактерий имеется паспорт, в котором представлена полная характеристика микроба: название в латинской транскрипции, морфологические, культуральные, биохимические свойства и предельная кислотообразующая способность в градусах по Тернеру ( $^{\circ}\text{T}$ ). Молочнокислые закваски выпускают в двух видах: лиофильно высушенные и жидкие концентрированные, разлитые во флаконы с этикетками.

Сухие закваски готовятся по следующей методике: в стерильном молоке выращивают нужную культуру молочнокислых бактерий, вносят ее в защитную среду в количестве 30%. Смесь разливают в пенициллиновые флаконы и высушивают методом сублимации — удалением влаги из среды и клеток, находящихся в замороженном состоянии, при высоком вакууме. Срок хранения сухих заквасок — до 6 месяцев при температуре  $+5^{\circ}\text{C}$ , концентрация живых клеток/г —  $10^7$ – $10^8$ .

Бактериальные концентраты вырабатывают также путем выращивания чистых культур молочнокислых бактерий на специальных жидких питательных средах с последующим отделением клеток на центрифуге. Полученную бактериальную массу смешивают с защитной средой и высушивают, как и в случае с сухими заквасками. Срок хранения бакконцентратов — до 3 месяцев при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . Концентрация живых клеток/г составляет от  $1,5 \cdot 10^{11}$  до  $3,0 \cdot 10^{11}$ .

Для получения кисломолочных продуктов в производстве применяют два технологических метода: термостатный и резервуарный.

При **термостатном методе** после внесения закваски молоко сразу же разливают в твердую потребительскую тару (коробку) и помещают в термостат для сквашивания при нужной температуре. Как результат данного процесса образуется продукт с плотным молочным сгустком, который сохраняется до потребителя.

При использовании **резервуарного метода** молочнокислую закваску вносят в основной резервуар и выдерживают при определенной благоприятной температуре. Образовавшийся сгусток разбивают, перемешивают и только после этого продукт

разливают в мягкую потребительскую тару (пакет). Резервуарный способ экономичнее в 1,5 раза и позволяет повысить производительность труда на 37%, но готовый продукт имеет жидкую консистенцию.

У каждого из этих методов есть свои преимущества и недостатки.

При длительном использовании в молочном производстве заквасок, состоящих из одних и тех же молочнокислых бактерий, в них могут накапливаться бактериофаги-вредители. Поэтому закваски различных партий следует менять не реже чем один раз в 7–10 дней.

## ПРОДУКТЫ МОЛОЧНОКИСЛОГО БРОЖЕНИЯ

*Домашняя простокваша.* Ее готовят в домашних условиях в сельской местности и обязательно из сырого молока. Простокваша является одним из самых древних кисломолочных продуктов. Она получается путем сквашивания в результате жизнедеятельности микроорганизмов, попавших в молоко из соскового канала вымени и молочной посуды. По сути, простокваша — это молоко, находящееся в фазе молочнокислых бактерий.

*Мечниковская простокваша.* Ее готовят из пастеризованного и охлажденного до температуры +40°C молока, в которое вносят 5% закваски, состоящей из термофильного молочнокислого стрептококка и болгарской палочки (*Str. thermophilus* и *L. bulgaricum*). Через 4–6 ч молоко свертывается, кислотность продукта достигает 70°Т. Простокваша имеет плотный сгусток, сметанообразную консистенцию и кислый вкус. Чем выше температура заквашивания, тем больше показатель кислотности продукта.

*Ацидофилин.* Его готовят так же, как мечниковскую простоквашу, только закваска состоит из чистой культуры ацидофильной палочки (*Lactobact. acidophilum*), которая, в отличие от болгарской, хорошо приживается в желудочно-кишечном тракте животных, т. е. в той среде, которая является для нее естественным местом обитания, поэтому лечебная эффективность такого кисломолочного продукта выше, а его действие

**Микробиологические нормативы  
на молочнокислые продукты**

Продукт	Количество молочно- кислых бактерий, выраженное в КОЕ/г, не менее	Масса продукта, в 1 г которой не допускают наличие бактерий		
		БГКП	патогенные, в том числе сальмонеллы	<i>S. aureus</i>
Закваска для кефира	—	3,0	100	10,0
Закваски из чистых культур для производства кисломолочных продуктов	1·10 <sup>8</sup>	10,0	100	10,0
Кисломолочные продукты, в том числе йогурты со сроком годности более 72 ч	1·10 <sup>7</sup>	0,1	25	1,0
Сметана всех видов	—	0,001	25	1,0

продолжительнее. В табл. 3 представлены микробиологические нормативы на молочнокислые продукты.

**Продукты смешанного брожения.** Первое научное сообщение о кефире было сделано на заседании Кавказского медицинского общества в 1867 г. Вскоре после данного события было открыто несколько лечебниц, где основным лекарством был кефир.

*Кефир.* Отличительной особенностью данного продукта является использование кефирных грибков, представляющих собой белые белковые гроздевидные образования диаметром от 2 мм до 3 см. При гистологическом исследовании срезов тела грибков видны тесные переплетения нитей, которые составляли строму грибка, удерживающую остальные группы микроорганизмов: молочнокислые стрептококки, палочки и молочные дрожжи. По С. Королеву, кефирные грибки представляют собой прочное симбиотическое образование, ведущее себя как единый живой организм, который растет, размножается и передает свои свойства последующим поколениям. Многокомпонентность микробного симбиоза обуславливает трудности получения стабильного и оптимального состава закваски, который является обязательным для выработки стандартного кефира. Любое отклонение от принятого режима культивирования ведет

за собой изменение микробного состава закваски, что свидетельствует об исключительной способности кефирных грибов к саморегулированию микрофлоры. Например, культивирование грибов при температуре ниже +15°C способствует активизации спиртового брожения (до 0,6% спирта).

*Кумыс* является самым древним молочным напитком в нашей стране. Благодаря своим лечебным свойствам он получил широкое распространение. Напитком бодрости, веселья и долголетия называли кумыс в народе. Издавна считалось, что он укрепляет здоровье и особенно полезен для ослабленных людей.

Кобылье молоко резко отличается от коровьего по химическому составу (жира — 1,5%, сахара — 6,7%, высокое содержание альбумина, который при воздействии слабых кислот не изменяется), и это сказывается на свойствах получаемого продукта. При сквашивании кобыльего молока образуется рыхлый неплотный сгусток с мелкими хлопьями казеина, поэтому данное молоко остается жидким и не расслаивается.

Готовят кумыс из парного непастеризованного кобыльего молока. В качестве закваски раньше использовали кумыс прежней выработки. В настоящее время на молочных заводах для приготовления кумыса применяют чистые культуры *L. bulgaricum* и дрожжи рода *Torula*. В кобылье молоко вносят 1% закваски и выдерживают при температуре +30°C в течение 6–8 ч, затем разливают по бутылкам, плотно закупоривают и ставят в холодильник для созревания на 2–3 дня. Кумыс бывает слабый, содержащий 1,0% спирта, средний — до 1,75% и крепкий — до 2,5% спирта.

Специалисты много лет разрабатывали способы изготовления данного напитка из коровьего молока, который бы обладал такими же высокими питательными и вкусовыми достоинствами. Благодаря жизнедеятельности молочнокислых палочек и дрожжей кумыс из коровьего молока содержит не только спирт и молочную кислоту, но и витамины группы В.

*Бифидобактерин* — новый кисломолочный напиток, который готовят с использованием *Bifidobacterium bifidum*. Бифидобактерии относятся к нормальной микрофлоре кишечника молодняка, находящегося на молочном вскармливании. Они хорошо приживаются в естественной среде обитания, поэтому их добавляют в состав пробиотиков, нормализующих микро-

флору желудочно-кишечного тракта. Из чистых культур бифидобактерий готовят закваски в сочетании с известными молочнокислыми бактериями, которые используют для приготовления лечебных кисломолочных продуктов, таких как бифидок, бифидумпростокваша, бифидокефир.

В микробиологических лабораториях при молокозаводе регулярно контролируют качество производственной закваски на активность, продолжительность сквашивания, кислотность и бродильный титр. Под микроскопом просматривают не менее 10 полей на чистоту закваски. Проверяют качество сгустка, вкус и запах полученного кисломолочного продукта. Наличие бактерий группы кишечной палочки устанавливают путем посева 10 мл производственной закваски в 50 мл среды Кесслера.

**Микробиология масла.** Для получения масла используют 25–35% -ные свежие сливки без посторонних привкусов и запахов. Их подвергают пастеризации, в результате чего разрушаются некоторые ферменты и погибает до 99,9% микроорганизмов.

Кратковременную пастеризацию проводят при непрерывном движении сливок и нагревании их до +85°C. После пастеризации сливки охлаждают до +4...+6°C, чтобы приостановить развитие оставшейся микрофлоры. При такой температуре происходит созревание сливок — уплотнение жира, повышение вязкости. Чтобы получить масло, сливки взбивают в маслоизготовителях. В результате данного процесса жировые шарики превращаются в масляные зерна, которые необходимо отделить от пахты и обработать. Чем жирнее сливки, тем быстрее они сбиваются, оптимальная температура для сбивания — +9...+16°C.

Различают два вида сливочного масла: сладкосливочное и кислосливочное.

В сладкосливочном масле содержатся микробы, которые остаются после пастеризации сливок, а также попадают во время их созревания и сбивания. На количество микробов влияет температура хранения — чем она выше, тем больше микробов. В 1 г сладкосливочного масла допускается до 10 тыс. бактерий, при коли-титре — 0,1 г. Кислосливочное масло готовят внесением в пастеризованные сливки закваски из *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*, поэтому в 1 г такого масла со-

держатся десятки и сотни миллионов молочнокислых микробов, при таком же коли-титре — 0,1 г. Обычно микробов больше при длительном (12–16 ч) сквашивании сливок, чем при кратковременном (20–30 мин). В сладкосливочном масле нежелательных микробов больше, чем в кислосливочном.

В масло микробы попадают из аппаратуры, чистота которой зависит от качества мойки, дезинфекции и чистоты промывной воды, которая оказывает большое влияние на качество масла.

**Микробиологические процессы при хранении масла и его пороки.** Микроорганизмы, попавшие в масло в течение технологического процесса при нарушении санитарно-гигиенических требований, могут разлагать белки и жиры. В результате жизнедеятельности микроорганизмов в масле появляются следующие пороки:

1. В результате разложения белков масла протеолитическими ферментами бактерий оно становится горьким. Такой порок появляется в результате длительного хранения сладкосливочного масла при низкой положительной температуре, а также при нарушении режима пастеризации. *Прогорклый вкус* вызывают плесневые грибы, некоторые виды дрожжей, флуоресцирующие, маслянокислые и другие микробы. Они разлагают жиры на глицерин и жирные кислоты, а маслянокислые бактерии образуют масляную кислоту.

2. *Кислый вкус* появляется в масле при нарушении температурного режима и хранении его при температуре выше +10°C в результате сбраживания лактозы молочнокислыми бактериями до молочной кислоты.

3. *Плесневение* вызывают грибы *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, являющиеся строгими аэробами. Данный порок появляется при нарушении технологических процессов, наличии пустот в глубине масла, плохой герметизации упаковочным материалом. Следовательно, чем плотнее масло и ниже температура хранения, тем меньше условий для развития аэробных микроорганизмов.

Высококачественный продукт можно получить при соблюдении технологии производства масла. Готовое масло хранят при температуре –20°C, в данных температурных условиях происходит полная задержка развития микрофлоры.

**Микробиология сыроделия.** Сыр относится к молочным продуктам и является идеальным белково-жировым концентратом молока. Из 90 различных веществ молока 85% поступают в сыр в тех же пропорциях. Сыр — это молочный продукт, получаемый в результате сычужного свертывания молока, обработке сгустка, созревания с целью получения продукта со специфическим запахом, консистенцией и вкусом.

Для приготовления сыра используют только молоко высокого качества. Например, швейцарский сыр готовят только из молока коров, пасущихся на альпийских лугах, при этом данных коров нельзя кормить силосом и корнеплодами.

Если молоко медленно свертывается или совсем не свертывается, то оно является сыронепригодным. Причин сыронепригодности молока много, однако, этот вопрос еще до конца не изучен.

Микрофлора молока для сыроделия имеет первостепенное значение, так как процесс свертывания происходит под влиянием ферментов и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов в сочетании с сычужным ферментом.

Приготовление сыра состоит из следующих этапов:

1. Подготовка молока.
2. Получение казеинового сгустка.
3. Обработка сгустка для удаления влаги.
4. Формование и прессование сыра.
5. Посолка сыра.
6. Созревание сыра.

1. Первый этап начинается с проверки качества молока. Для производства сыров используют и сырое, и пастеризованное молоко. При пастеризации погибают микроорганизмы, вызывающие вспучивание сыров, молоко становится стандартным. Однако прогревание молока замедляет процесс свертывания, так как при этом происходит осаждение солей кальция. При использовании пастеризованного молока в него обязательно вносят чистые культуры молочнокислых бактерий. В состав бактериальных заквасок входят кислотообразователи (*Str. lactis*, *Str. cremoris*), микробы, образующие кислоту и ароматические вещества (*Str. diacetylactis*, *Str. paracitrovorum*). Многоштаммовые закваски молочнокислых бактерий лучше приспособляются к непостоянным условиям молочной среды. При исполь-

зовании сырого молока необходимо изменять технологический процесс, учитывая физико-химические свойства каждой партии. Молоко, применяемое для производства сыра, должно обладать определенной степенью зрелости, например, кислотностью 21°Т, поэтому нельзя использовать парное молоко. Повышение кислотности молока — главный фактор, ускоряющий и усиливающий стягивание сычужного сгустка и активное выделение из него сыворотки. Лучше, если молоко по своему микробиологическому состоянию находится на границе между двумя фазами: смешанной и молочнокислой.

2. Молочный сгусток получают двумя методами:

а) с помощью молочнокислых бактерий при выработке кисломолочных сыров;

б) с помощью молочнокислых микробов в сочетании с сычужным ферментом (получают из сычужков 2–3-недельных тел) при выработке твердых сыров.

Сычужный фермент в сочетании с молочнокислыми бактериями обладает наибольшей протеолитической активностью. Он разлагает белки молока до пептонов, а ферменты молочнокислых бактерий до аминокислот. В связи с этим усвояемость жиров и белков из сыра достигает 95–97%. Молочный сахар (лактоза) при созревании сыров сбраживается полностью.

В сыроделии применяют главным образом сычужное свертывание молока. Для этого в сырную ванну с подготовленным молоком вносят 0,5% бактериальной закваски и 2,5 г порошка сычужного фермента на 100 л молока, которое должно свернуться при температуре +40°С за 40 мин. От плотности сгустка зависит качество сыра, его выход. Сгусток, полученный из зрелого молока, легче отдает сыворотку, чем из незрелого.

3. В сырной ванне для ускорения и облегчения процесса удаления сыворотки сгусток разрезают специальным ножом в виде «лиры», при этом должны образоваться сырные зерна величиной 2–5 мм. Основная масса микробов (до 75%) остается в сгустке, остальные выходят с сывороткой.

Твердые сыры должны содержать небольшое количество влаги. Это достигается дроблением сгустка и вторым нагреванием, при котором происходит большее обезвоживание зерна и его уплотнение. Второе нагревание, проводимое при температуре +40...+55°С, создает оптимальные условия для развития

бактерий, особенно термофильных. Зерно опускается на дно ванны, и мастер приступает к следующей операции.

4. После формирования сырной головки, в зависимости от сорта его прессуют. Данный процесс происходит под давлением вышележащих слоев, это необходимо для закрепления формы, плотного соединения зерен в сплошной монолит и удаления лишней сыворотки. Чем крупнее сыр, тем дольше удерживается в нем повышенная температура. Прессовать сыр рекомендуется при температуре  $+18...+20^{\circ}\text{C}$ . Такая температура способствует развитию микроорганизмов, количество которых достигает нескольких млрд в 1 г сырной массы.

5. Посолка проводится с целью улучшения консистенции массы сыра, он становится пластичным вследствие набухания казеина, приобретает определенный вкус и аромат. При погружении в ванну с концентрированным раствором натрия хлорида (22–24%) при температуре  $+8...+10^{\circ}\text{C}$  из поверхностных слоев сыра извлекаются вещества, находящиеся в растворенном состоянии, — молочный сахар и соли молочной кислоты, а вместо них в сыр проникает соль, которая замедляет развитие не только вредных, но и полезных молочнокислых бактерий. Продолжительность посолки зависит от сорта сыра и длится от 2 до 10 дней.

6. Сыры сразу после посолки еще не пригодны к употреблению, они должны пройти определенный период созревания. Приобретение специфических свойств происходит в хранилищах, находящихся в подвалах, где сыродел управляет процессом созревания: переворачивает головки сыра, регулирует температуру и влажность. Крупные сыры имеют более длительный период созревания — 6–10 месяцев, а мелкие — только 1–2 месяца.

В закваску для крупных сыров наряду с молочнокислыми бактериями включают и пропионовокислые палочки. Стадия пропионовокислого брожения следует за стадией молочнокислого и сопровождается накоплением летучих кислот (пропионовой и уксусной) и диоксида углерода, образующихся при сбраживании лактатов.

Диоксид углерода растворяется в сырной массе и после ее насыщения образует «глазки». В эластичной массе сыра «глазки» имеют правильную округлую форму и придают определен-

ный рисунок различным сортам сыра. Пропионовокислые бактерии имеют большое значение только при производстве крупных сыров (швейцарского, советского, алтайского) с длительным периодом созревания.

В процессе приготовления мелких сыров участвуют преимущественно молочнокислые палочки (*L. casei*, *L. helveticus*) и в меньшей степени — молочнокислые и ароматообразующие стрептококки (*Str. lactis*, *Str. diacetylactis*, *Str. paracitrovorum*). В мелких сырах «глазки» образуются в первые дни ферментации в результате жизнедеятельности ароматообразующих стрептококков, когда в сыре еще содержится несброженная лактоза.

Вкус и запах сыра обуславливают продукты распада белков, молочного сахара и жира, которые образуются под воздействием ферментов молочнокислых бактерий и сычужного фермента. По мере созревания сыров наступает гибель молочнокислых микробов, вначале стрептококков, затем палочек.

При нарушении технологического процесса в сыр попадают БГКП и маслянокислые бактерии, которые образуют газы, вызывающие появление трещин и рваных глазков. Таким образом по общему рисунку на разрезе сыра в какой-то степени можно судить о течении микробиологических процессов.

#### **Пороки сыров микробного происхождения.**

*Сыр без «глазков» («слепой» сыр).* Данный порок у твердых сыров возникает в результате гибели пропионовокислых бактерий во время нагревания, т. е. при нарушении режима пастеризации.

*Сыр с большим количеством глубоких «глазков».* Данный порок появляется в результате неправильного температурного режима в процессе созревания сыра. Большое количество «глазков» появляется при преждевременном развитии газообразующих бактерий.

*Вспучивание* в начале созревания сыра могут вызвать БГКП, когда в сырной массе содержится еще несброженный молочный сахар. При этом рисунок сыра на разрезе становится неправильным, рваным. Если этот порок наблюдается в конце процесса созревания, когда уменьшается количество молочнокислых микробов и образуемых ими продуктов, происходит повышение pH среды. В таких условиях могут активизироваться маслянокислые бактерии, споры которых продолжительное время

сохраняются в сырной массе. Образующийся бактериями водород и другие газы вызывают вспучивание сыра. Для предупреждения данного порока для производства сыра необходимо применять молоко только высокого качества.

*Горький вкус* сыру придают продукты жизнедеятельности некоторых маммококков, выделяющих протеолитические ферменты и расщепляющих белки до конечных продуктов. Сырная масса приобретает также прогорклый вкус, если начали активно развиваться маслянокислые бактерии, образующие масляную кислоту.

*Изъязвление корки* вызывает осповидная плесень, которая иногда поражает и подкорковый слой. В образованные пустоты проникают гнилостные микробы, разлагающие сырную массу, которая приобретает мажущуюся консистенцию и гнилостный запах. Если в пустотах развивается зеленая плесень — пенициллиум, сыр приобретает горький вкус, так как ферменты плесени расщепляют жиры до конечных продуктов.

Для предупреждения появления пороков сыра и получения продукта высокого качества необходимо соблюдать технологический процесс, санитарно-гигиенические условия производства, проводить тщательный контроль качества применяемого сырья.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Укажите источники бактериального загрязнения молока.
2. Какие изменения микрофлоры молока происходят при хранении и транспортировке?
3. Перечислите пороки молока микробного происхождения.
4. Какие возбудители инфекционных болезней передаются через молоко?
5. Какие методы применяются для длительного хранения и консервирования молока?
6. Дайте санитарно-микробиологическую характеристику молока.
7. Перечислите отдельно продукты молочнокислого и комбинированного брожения. В чем их отличие?
8. Чем отличается сладкосливочное масло от кислосливочного?
9. Каким методом получают молочный сгусток при выработке сыров?
10. В каких случаях образуются «глазки» в сырной массе?

## ТЕМА 7. МИКРОФЛОРА ТОВАРНОЙ РЫБЫ И СЫРЬЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА РЫБНЫХ КОНСЕРВОВ

---

В настоящее время большое внимание уделяется разработке оптимальных способов транспортировки товарной рыбы. Для повышения жизнеспособности рыбы во время транспортировки, удлинения сроков хранения и улучшения ее качества используют промышленный озонатор. Он сводит к минимуму остаточное количество микроорганизмов на поверхности рыбы, предназначенной для употребления в пищу человеком. Следует помнить, что хранение рыбы при температуре  $+16...+18^{\circ}\text{C}$  способствует активизации бактериальных ферментов и быстрой порче данного продукта (спустя 4–6 ч после вылова). Замораживание рыбы почти полностью замедляет размножение бактерий. Однако некоторые психрофильные микроорганизмы продолжают жизнедеятельность.

Обработка рыбы включает охлаждение, замораживание, посол, копчение, вяление и консервирование высокой температурой. Во избежание естественного повышения температуры рыбы все технологические процессы должны проходить быстро.

В бактериальную флору свежей рыбы входят обычно одни и те же группы микробов, хотя соотношение различных видов может широко варьироваться. Это грамотрицательные бактерии *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* и *Cytophaga*, а также грамположительные *Micrococcus* и группа палочковидных бактерий (*Corynebacterium*). Если промысел рыбы ведут в непосредственной близости от берега, то в больших количествах в ней могут присутствовать и

почвенные бактерии, а также аэробные спорообразующие бактерии рода *Bacillus*. Если промысел ведут в непосредственной близости от выводов сточных вод, то в рыбе могут быть обнаружены и фекальные микроорганизмы.

Большинство нежелательных органолептических изменений, происходящих с рыбой после вылова, являются результатом размножения бактерий. Вид микробов и показатель роста зависят главным образом от температуры ее хранения. Например, при температуре +6°C карп портится в 2,5 раза быстрее, чем при 0°C. Поэтому чрезвычайно важно быстро охладить рыбу до температуры тающего льда.

Когда рыба хранится во льду и способствующие порче микрофлоры составляют бактерии рода *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, органолептические изменения наступают главным образом в результате деятельности *Pseudomonas*. При 0°C грамположительные бактерии размножаются медленно.

Согласно литературным данным прудовая рыба, выловленная из водоемов, загрязненных сточными, бытовыми и промышленными водами и органическими веществами, может быть обсеменена патогенной и условнопатогенной для человека и животных микрофлорой. Такая рыба не проявляет никаких признаков заболевания, а является только микробоносителем.

Известно, что рыба может быть носителем возбудителей чумы свиней, рожистой, туберкулезной и кишечной палочек, сальмонелл, лептоспир, параземолитического вибриона, *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*, различной кокковой микрофлоры и др.

При определенных условиях патогенные микробы, попадая из окружающей среды в кишечник рыбы, могут проникать еще при ее жизни в другие внутренние органы и мышцы. Это явление отмечается у недоброкачественной рыбы, а также у травмированной, больной, снулой, хранившейся при комнатной температуре свыше 6 ч.

Загрязнение продукта микрофлорой после тепловой обработки чаще всего связано с попаданием в него микроорганизмов от рук рабочих, производящих расфасовку и упаковку продукции в тару. Обычно таким путем в пищевые продукты попадает *Staphylococcus aureus*, а иногда также *Salmonella*, *Streptococcus*, *Shigella*, *E. coli* и др.

Патогенная микрофлора может попадать в готовую продукцию из сырья в том случае, если и сырье, и готовая продукция проходят через руки одного и того же рабочего или через одно и то же оборудование. Источником загрязнения продукции патогенной микрофлорой на предприятии также могут служить воздушные фильтры, плохо очищенное оборудование и т. д.

Высокое качество рыбной продукции возможно лишь при правильно налаженном санитарно-гигиеническом контроле на предприятии. Необходимо постоянно проверять качество поступающего сырья и вспомогательных материалов, осуществлять послеоперационные проверки технологического процесса (особенно термообработки), следить за санитарным состоянием инвентаря, оборудования, тары, помещений, производственной территории, проверять качество готовой продукции и ее соответствие требованиям ГОСТа.

Рыба, раки и другие пресноводные организмы, вылавливаемые для реализации в пищу людям и в корм животным, независимо от эпизоотического состояния водоемов обязательно должны быть подвергнуты ветеринарному осмотру на месте вылова.

Ветеринарный специалист, осуществляющий государственный ветеринарный надзор за рыбохозяйственными водоемами, обязан в соответствии с действующими правилами ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы и других гидробионтов провести необходимый осмотр водных объектов до реализации рыбы в пищу людям и в корм животным.

Рыба, поступающая на рынки, подвергается обязательно осмотру специалистами лабораторий ветсанэкспертизы на рынках. Если такой лаборатории нет, то ветсанэкспертизу должен проводить специалист местного ветеринарного учреждения.

Рыба, признанная доброкачественной, реализуется без ограничения. Доброкачественной она может считаться, если по органолептическим показателям и результатам лабораторного исследования признана пригодной в пищу людям и не является вредной или опасной для их здоровья.

Сорт и товарность при ветсанэкспертизе рыбы ветспециалисты не определяют.

При возникновении сомнений в доброкачественности рыбы и для уточнения органолептических показателей проводят лабораторные исследования, особенно с целью установления

наличия пестицидов, микрофлоры, патогенной для человека и животных, и гельминтозоонозов.

При сомнительных органолептических показателях и удовлетворительных результатах лабораторных исследований рыбу направляют на промышленную переработку или в пункты общественного питания, где работники должны быть проинструктированы о способах ее термической обработки.

Рыбу, признанную непригодной в пищу, по решению ветеринарного врача скармливают животным после термической обработки, подвергают утилизации или уничтожают.

Под термином «утилизация» понимается, что непригодная в пищу или корм рыба направляется для изготовления рыбной кормовой муки, переработки на удобрения (туки), клей или другие технические цели при соблюдении установленных правил переработки. При невозможности утилизации рыбу сжигают или закапывают в землю на глубину не менее 1 м.

При ветсанэкспертизе на месте вылова рыбы во всех случаях обнаружения ее непригодности для пищевых целей, ветеринарный врач совместно с представителем администрации хозяйства составляют акт, в котором указывается вид, количество и место лова рыбы, причины ее недоброкачества, возможные пути использования и режим термической обработки при направлении рыбы в корм животным.

В табл. 4 представлены нормативы санитарно-микробиологических показателей для рыбы и рыбопродуктов.

Таблица 4

Нормативы санитарно-биологических показателей для рыбы и рыбопродуктов по СанПиН 2.3.2.1078-01

Группа продуктов	Количество МАФАИМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой недопустимо присутствие бактерий, в г				Примечание
		БГКП (колиформы)	Staph. aureus	Salmonel	L. Monocytogenes	
Рыба живая	5·10 <sup>4</sup>	0,01	0,01	25	25	<i>V. parahaemolyticus</i> в морской рыбе не более 100 КОЕ/г

Группа продуктов		Количество МАФАИМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой недопустимо присутствие бактерий, в г				Примечание
			БГКП (колиформы)	Staph. aureus	Salmonel	L. Monocytogenes	
Рыба охлажденная, мороженая		$1 \cdot 10^3$	0,001	0,01	25	25	То же
Охлажденная и мороженая рыбная продукция	Филе рыбное	$1 \cdot 10^5$	0,001	0,01	25	25	То же. СРК не допускаются в 0,01 г продукции, упакованной под вакуумом
	Фарш рыбный	$1 \cdot 10^5$	0,001	0,01	25	25	То же
	Фарш особой кондиции	$5 \cdot 10^4$	0,01	0,1	25	25	Только сальмонеллы
Пресервы пряного и специального посола из неразделанной и разделанной рыбы		$1 \cdot 10^3$	0,01	—	0,01	25	Плесени не более 10 КОЕ/г, дрожжей не более 100 КОЕ/г
Пресервы из разделанной рыбы с добавлением растительных масел, заливок, соусов, с гарнирами и без		$2 \cdot 10^3$	0,01	1,0	0,01	25	То же
Пресервы мало-соленые пряного посола из рыбы	Неразделанной	$1 \cdot 10^5$	0,01	1,0	0,01	25	То же
	Разделанной	$5 \cdot 10^4$	0,01	0,1	0,01	25	То же
Пресервы «Пасты»	Пасты рыбные	$5 \cdot 10^3$	0,01	0,1	0,01	25	То же
	Белковые пасты	$1 \cdot 10^3$	0,1	0,1	0,1	25	То же
Пресервы из термически обработанной рыбы		$5 \cdot 10^4$	1,0	1,0	1,0	25	То же
Консервы из рыбы в стеклянной, жестяной таре		Должны удовлетворять требованиям промышленной стерильности для консервов группы «А» в соответствии с Приложением 8 к СанПиН 2.3.2.1078-01					

Группа продуктов		Количество МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой недопустимо присутствие бактерий, в г				Примечание
			ВГКП (колиформы)	Staph. aureus	Salmonel	L. Monocytogenes	
Пастеризованные полуконсервы из рыбы в стеклянной таре		Должны удовлетворять требованиям промышленной стерильности для консервов группы «Д» в соответствии с Приложением 8 к СанПиН 2.3.2.1078-01					
Рыбная продукция горячего копчения, в том числе замороженная		1·10 <sup>4</sup>	1,0	1,0	0,1	25	В упакованной под вакуумом
Рыбная продукция холодного копчения	Неразделанная	1·10 <sup>4</sup>	0,1	1,0	0,1	25	То же. <i>V. Parahaemolyticus</i> . В морской рыбе не более 100 КОЕ/г
	Разделанная, в том числе в нарезку (куском)	3·10 <sup>4</sup>	0,1	1,0	0,1	25	То же. <i>V. Parahaemolyticus</i> . В морской рыбе не более 100 КОЕ/г
	Балычные изделия холодного копчения в нарезку	7,5·10 <sup>4</sup>	0,01	1,0	0,1		В упакованной под вакуумом
	Ассорти рыбное, ветчина, фарш балычный	1·10 <sup>4</sup>	0,01	1,0	0,1	25	То же
Рыба разделанная подкопченая, малосоленая, в том числе филе		5·10 <sup>4</sup>	0,1	1,0	0,1	25	<i>V. parahaemolyticus</i> . В морской рыбе, упакованной под вакуумом, не более 10 КОЕ/г

Группа продуктов		Количество МАФАИМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой недопустимо присутствие бактерий, в г				Примечание
			БГКП (колиформы)	Staph. aureus	Salmonel	L. Monocytogenes	
Рыба соленая, пряная, маринованная, в том числе замороженная неразделанная	Разделанная соленая и малосоленая, в том числе лососевые	$5 \cdot 10^4$	0,1	—	0,1	25	В упакованной под вакуумом
	Филе в нарезку с заливками, специями, гарнирами, растительным маслом	$5 \cdot 10^4$	0,1	0,1	0,1	25	
Рыба вяленая		$5 \cdot 10^4$	0,1	—	1,0	25	Только сальмонеллы. Плесени не более 50 КОЕ/г, дрожжей не более 100 КОЕ/г
Рыба провесная		$5 \cdot 10^4$	0,1	—	1,0	25	Упаковано под вакуумом. Только сальмонеллы. Плесени не более 50 КОЕ/г, дрожжей не более 100 КОЕ/г
Рыба сушеная		$5 \cdot 10^4$	0,1	—	0,01	25	То же
Супы сухие с рыбой, требующей варки		$5 \cdot 10^4$	0,001	—	—	25	Только сальмонеллы. Плесень и дрожжи не более 100 КОЕ/г

Группа продуктов		Количество МАФАИМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта, в которой недопустимо присутствие бактерий, в г				Примечание
			БГКП (колиформы)	Staph. aureus	Salmonel	L. Monocytogenes	
Кулинарные изделия с термической обработкой	Рыба и фаршевые изделия, пасты, паштеты, запеченные, в заливках с мучным компонентом, в том числе и замороженные	$1 \cdot 10^4$	1,0	1,0	1,0	25	Упаковано под вакуумом. Только сальмонеллы, плесени и дрожжей не более 100 КОЕ/г
	Многокомпонентные изделия: солянка, пловы, закуска, тушеные морепродукты с овощами, в том числе замороженные	$5 \cdot 10^4$	0,01	1,0	1,0	25	Упаковано под вакуумом. Только сальмонеллы
	Желированные продукты: студень, рыба заливная и др.	$5 \cdot 10^4$	0,1	1,0	—	25	Только сальмонеллы

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие микроорганизмы находятся на поверхности свежей рыбы?
2. Какие микроорганизмы вызывают порчу свежей рыбы?
3. В каком случае патогенная микрофлора может попасть в готовую продукцию?
4. Что делают с рыбой, признанной непригодной в пищу?

## ТЕМА 8. МИКРОБИОЛОГИЯ ЯИЦ И ЯИЧНЫХ ПРОДУКТОВ

---

Свежеснесенное яйцо от здоровой птицы, как правило, не содержит микроорганизмов. Стерильность яиц сохраняется продолжительное время, это объясняется наличием естественного иммунитета — скорлупы, которая защищает от проникновения микробов, а содержащийся в яйце лизоцим обладает способностью растворять и убивать многие, особенно грамположительные, микроорганизмы. При продолжительном хранении яйцо высыхает, лизоцим постепенно инактивируется.

Обсеменение яиц микробами возможно эндогенным и экзогенным путями.

*Эндогенное обсеменение* происходит при формировании яйца в яичнике и яйцеводе несушек, больных сальмонеллезом (пульороз) (см. вклейку, ил. VIII), птичьим туберкулезом и другими инфекционными болезнями.

*Экзогенное обсеменение яиц* происходит при контакте с пометом птиц-бактерионосителей, при антисанитарных условиях получения и хранения яиц.

На скорость проникновения микробов через поры скорлупы в яйцо оказывает влияние окружающая среда: температура, влажность, степень свежести яиц и снижение активности лизоцима. При низкой температуре хранения скорость проникновения микроорганизмов замедляется, но психрофильные виды проходят через поры скорлупы и при нулевой температуре.

**Гниение яиц** — процесс расщепления сложных азотсодержащих органических соединений (преимущественно белков)

ферментами микробов. Гниение является одним из наиболее частых пороков бактериального разложения. В начальной стадии порчи микроорганизмы образуют на поверхности оболочек изолированные очаги в виде отдельных колоний. При размножении гнилостных микробов наступает порча яйца, внутри накапливается значительное количество газов, иногда взрывающих скорлупу. В некоторых случаях содержимое яйца приобретает серо-зеленую окраску и издает сильный запах сероводорода. При бактериологическом исследовании такого яйца обнаруживают *Pseudomonas*, *Serratia*, *E. coli*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* и *Proteus*, разжижающие содержимое и окрашивающие его в темный цвет.

**Плесневение яиц.** Поверхность скорлупы при хранении в антисанитарных условиях загрязняется различными бактериями, плесневыми грибами, актиномицетами и др. При хранении в условиях повышенной влажности гифы микроскопических грибов проникают внутрь яиц и образуют разветвленный мицелий, заполняющий всю белочную полость, при овоскопии он обнаруживается в виде темного пятна.

Из плесневых грибов чаще выделяются грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Mucor*.

Яйца с пороками бактериального и плесневого происхождения подлежат утилизации или уничтожению.

**Инфекции, передаваемые через яйцо,** нередко являются общими для человека и птицы. Наибольшую опасность для людей представляют бактерии из рода *Salmonella*. Заражение яиц этими бактериями большей частью связано с сальмонеллезами птиц, которые наиболее часто распространены среди водоплавающих птиц и вызываются преимущественно *S. typhimurium*, а у кур — *S. gallinarum*, *S. pullorum* и др.

Заражение птиц сальмонеллами происходит через корм, воду и объекты внешней среды. Болезнь поражает главным образом молодняк, у которых сальмонеллез протекает остро и приводит к высоким процентам смертности. У взрослых птиц чаще встречается латентная форма, что является особенно опасным, так как инфицированные птицы становятся бактерионосителями, от которых и происходит эндогенное заражение яиц и животноводческих помещений. Однако внедрение бактерий в яйцо, снесенное здоровыми животными, может произойти и

после кладки, при загрязнении яйца пометом бактерионосителей, т. е. заражение яиц сальмонеллами может произойти как эндогенным, так и экзогенным путями.

В целях предупреждения пищевых токсикоинфекций утиные и гусиные яйца, а также яйца кур из неблагополучных по туберкулезу фермерских хозяйств разрешается использовать только в хорошо пропекаемых изделиях из теста или сваренных вкрутую (кипятить не менее 13–14 мин). Для профилактики загрязнения пищевых предприятий яйца водоплавающих птиц следует обрабатывать в отдельном помещении с последующей его дезинфекцией.

**Хранение яиц.** Стерильность яиц сохраняется длительное время, но при продолжительном хранении его рН повышается, лизоцим постепенно инактивируется, яйцо высыхает, изменяется консистенция белка, желток становится подвижным, создаются условия для проникновения и размножения в яйце микроорганизмов. Чтобы замедлить процессы старения, яйца надо хранить в прохладных сухих помещениях.

Наряду с физическими происходят и химические качественные изменения. Замедлить порчу до 6 месяцев можно при хранении яиц при  $+2^{\circ}\text{C}$  и влажности 85%.

Для установления свежести яиц применяют овоскопирование: свежие яйца хорошо пропускают свет, у старых яиц воздушная камера (пуга) увеличена, а содержимое становится более темным.

**Консервирование яиц** представляет собой создание неблагоприятных условий для размножения микроорганизмов. Для консервирования яиц, предназначенных для длительного хранения, применяют высушивание меланжа для получения яичного порошка или замораживание.

Высушивание яичной массы проводят по следующей методике: отобранные после овоскопирования яйца моют, дезинфицируют, а затем разбивают и освобождают от скорлупы. Далее желток и белок дробят, смешивают и фильтруют для отделения частиц скорлупы, волокон и пленок. Полученный меланж поступает на быстро вращающийся диск в сушильную камеру, температура воздуха в зоне распыления яичной массы составляет около  $+50^{\circ}\text{C}$ . Микробиологическое исследование яичного порошка показало, что термический режим сушки не обеспе-

чивает нужного бактерицидного действия, в частности, в отношении кишечной палочки и протей, которыми бывает загрязнен исходный материал. Поэтому количество влаги в полученной массе должно быть снижено до 5–9%, что задержит развитие оставшейся микрофлоры. Личный порошок расфасовывают в жестяные банки с пергаментной прокладкой и хранят при температуре не выше +15°C. В дальнейшем его можно применять только после термической обработки, обеспечивающей надежную стерилизацию.

Для перевозки и долгого хранения яиц их превращают в меланж (смесь), представляющий собой смесь замороженных белков и желтков, для замораживания используют только доброкачественные куриные яйца.

Для уменьшения бактериального обсеменения меланжа отбраанные после овоскопии яйца моют, дезинфицируют, а затем разбивают и освобождают от скорлупы, белок и желток смешивают, фильтруют, разливают в жестяные банки, запаивают и замораживают. Полученную замороженную смесь хранят при температуре –5...–10°C. Готовый меланж может содержать значительное количество микроорганизмов (сотни и даже миллионы в 1 г), в нем могут быть *E. coli*, *Staphylococcus*, *Proteus* и аэробные бациллы, которые после размораживания быстро размножаются, поэтому меланж надо размораживать только перед использованием, чтобы оставшаяся микрофлора не успела активизироваться.

Меланж, имеющий хорошие органолептические показатели с коли-титром не ниже 0,1 мл, при отсутствии в нем патогенных микробов, допускается для изготовления всех продуктов, которые по технологическим условиям производства обязательно подвергаются термической обработке в условиях, обеспечивающих пастеризацию.

Учитывая особую опасность развития патогенных бактерий и возникновения пищевых отравлений, для приготовления кремов разрешается использовать только чистые целые яйца. Для этого до разрушения скорлупы яйца рекомендуется погружать в раствор аммиачного серебра 1 : 20 000 на 15 мин или 2% -ный раствор хлорной извести на 5 мин с последующим погружением в 2% -ный раствор двууглекислой соды ( $\text{NaHCO}_3$ ), после чего необходимо промыть их водой.

Меланж готовят только из куриных яиц и используют только на предприятиях пищевой промышленности, в свободную продажу меланж не поступает.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Назовите источники эндогенного и экзогенного загрязнения яиц.
2. Какие инфекции передаются через яйцо?
3. Какие методы консервирования яиц вы знаете?
4. Когда и в каких органах происходит внедрение сальмонелл в яйцо?
5. Что делают с яйцами, в которых обнаружены плесневые грибы?

## ТЕМА 9. МИКРОФЛОРА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

---

Микрофлора пищевых продуктов является самым сложным объектом санитарной микробиологии. Это объясняется следующим:

- разнообразием и обилием микрофлоры;
- использованием специфической микрофлоры при приготовлении многих пищевых продуктов;
- отсутствием полноценных методов индикации и выделения микроорганизмов.

Через пищевые продукты могут передаваться возбудители бактериальных инфекций: сальмонеллеза, эшерихиоза, ботулизма, холеры, сибирской язвы, риккетсиоза, туберкулеза и бруцеллеза (см. вклейку, ил. V); вирусных инфекций, таких как полиомиелит и ящур.

Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов проводится:

1) для определения качества сырья, из которого готовят продукт, при плановом контроле качества продукта и соответствия его ГОСТу и другим нормативным документам;

2) для контроля выполнения санитарно-гигиенического режима в процессе приготовления, хранения и реализации. Для обнаружения и выделения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и их токсинов в случае вспышки какой-либо инфекционной болезни;

3) для уточнения качества сырья или готовой продукции (по специальным показаниям).

Микроорганизмами, свидетельствующими о санитарном неблагополучии, являются: бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококки, палочки протей, клостридии. При микробиологическом исследовании пищевых продуктов и производственного оборудования проводятся **количественные** (количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов — МАФАНМ) и **качественные исследования**. Последние необходимы для определения родовой или групповой принадлежности таких микроорганизмов, как БГКП, сальмонеллы, стафилококки, клостридии, плесневые грибы, дрожжи и др.

**Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ).** Суть метода основана на количественном подсчете колоний микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде при температуре  $+30^{\circ}\text{C}$  в течение 72 ч. При микробиологическом исследовании продукта следует выбирать такие разведения, при посеве которых на чашках Петри вырастет не менее 30 и не более 300 колоний. При посеве продуктов, не требующих разведений, учитывают все колонии, выросшие в чашках.

При бактериологическом посеве цельного продукта или каждого соответствующего разведения вносят по 1 мл одновременно в три чашки Петри и заливают в каждую по 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры  $+45...+50^{\circ}\text{C}$  МПА. Содержимое чашек быстро перемешивают путем вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала, необходимого для роста изолированных колоний. После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют в течение 72 ч при  $+30^{\circ}\text{C}$ . Далее в термостате проводится подсчет количества выросших колоний, вычисляется среднее арифметическое по трем чашкам и проводится оценка качества продукта.

В некоторых случаях, при определении общей микробной обсемененности мяса, как ориентировочный метод можно использовать метод мазков-отпечатков, приготовленных из глубоких слоев исследуемого продукта, с последующим изучением их под микроскопом.

**Качественное исследование** проводят с определением родовой или групповой принадлежности таких микроорганизмов, как БГКП, сальмонеллы, стафилококки, клостридии и др.

На многие пищевые продукты установлены нормативы минимальной массы, в которой не допускается наличие кишечной палочки. Индикация присутствия ВГКП в продукте проводится бродильным методом, для посева используют то количество продукта (1 г и т. д.), в котором предусматривается отсутствие ВГКП. Для определения бродильного титра молока и рыбы лучше делать посев на среду Кесслера в пробирках, в состав которой входит лактоза, генцианвиолет, ингибирующий рост грамположительной микрофлоры, желчь, способствующая росту кишечной палочки, и поплавки для учета газообразования. Для исследования мяса и мясной продукции рекомендуется жидкая среда Хейфеца, в состав которой входят лактоза, розоловая кислота и метиловый голубой. При наличии признаков роста на средах Кесслера или Хейфеца для окончательного заключения о присутствии в исследуемом продукте ВГКП из подозрительных пробирок делают посев штрихом на агар Эндо. Дальнейшая идентификация данных колоний ведется по обычной схеме.

В настоящее время в соответствии с классификацией, утвержденной Министерством здравоохранения, пищевые отравления бактериальной природы разделены:

- 1) на пищевые токсикоинфекции;
- 2) на пищевые токсикозы:
  - а) ботулизм;
  - б) стафилококковая интоксикация:
    - пищевые отравления смешанной этиологии;
    - пищевые отравления грибковой этиологии (микотоксикоз).

Размножение возбудителей пищевых отравлений возможно при нарушении санитарных правил и норм заготовки сырья, правил транспортировки, превышении сроков хранения и при изготовлении продукции из такого сырья.

## ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ

К **пищевым токсикоинфекциям** относятся острые кишечные заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых произошло большое **размножение бактерий** и **накопление токсинов**, выделяемых при гибели мик-

робов или в процессе их жизнедеятельности. К возбудителям токсикоинфекций относятся: *E. faecalis*, *Bac. cereus*, *Proteus vulgaris* (*P. mirabilis*), *Vibrio parahaemolyticus*, *Cl. perfringens* (такие болезни, как эшерихиоз, сальмонеллез, дизентерия, иерсиниоз тоже протекают по типу токсикоинфекции, но их изучают как возбудителей самостоятельных нозологических болезней).

Пищевые токсикоинфекции различной этиологии характеризуются целым рядом общих клинических и эпидемиологических признаков. Заболевание начинается мгновенно и протекает остро после короткого инкубационного периода среди лиц, употреблявших одну и ту же пищу, как правило, приготовленную с нарушением технологии или длительное время хранившуюся перед реализацией. Эпидемиологически заболевание характеризуется взрывным началом, протекает по типу вспышки, прекращается сразу после изъятия продукта, послужившего причиной токсикоинфекции, не оставляет эпидемического хвоста.

Патогенетические изменения в организме и клиническая картина при пищевых токсикоинфекциях, вызванных различными микроорганизмами, характеризуются похожими признаками, так как их развитие зависит от действия токсических веществ микробов (эндотоксина), токсинов — продуктов распада белков пищевого продукта, а не от вида возбудителя. Одновременное проникновение большого количества бактерий и их разрушение в регионарных лимфатических образованиях кишечника ведут к освобождению значительного количества эндотоксина, который оказывает местное влияние на желудочно-кишечный тракт, вызывая воспалительный процесс, нарушение всасывающей способности кишечника.

В первые часы заболевания наступают и общетоксические явления: повышение температуры тела, головная боль, слабость.

Заболевание начинается с явлений гастроэнтерита: рвоты, жидкого стула (до 10–15 раз в сутки), болей. Продолжительность болезни 1–3 дня в легких случаях, осложнения бывают у детей и людей пожилого возраста.

Энтерококки, или фекальный стрептококк (*E. faecalis*), широко распространены в природе. В настоящее время энтеро-

кокки считаются **вторыми** после БГКП санитарно-показательными микроорганизмами (СПМ) при исследовании бассейнов, сточных вод, почвы.

Во многих странах (Англии, Франции, США, Хорватии и т. д.) энтерококки признаны дополнительным показателем фекального загрязнения питьевой воды. Они относятся к стрептококкам группы Д, обитающим в ротовой полости, кишечнике человека и животных. Их постоянно обнаруживают в фекальных массах, хотя в количественном отношении их меньше ( $10^8$ – $10^9$  в 1 г), чем кишечных палочек. У здоровых людей доминирующим видом является *E. faecalis*, однако санитарно-показательными служат и остальные виды — *E. faecium* и *E. durans*.

Энтерококки отличаются по ряду признаков от стрептококков других групп, в частности, патогенных гемолитических групп А, которые способны вызывать пищевые отравления и дисбактериозы кишечника.

**Морфология.** Слегка вытянутые кокки размером 0,6–2,5 мкм, расположенные попарно и в виде цепочек, грамположительные, спор и капсул не образуют.

**Культивирование.** Хорошо растут на простых средах, температурный оптимум +37°C (в интервале +10...+45°C), факультативные анаэробы, хемоорганотрофы (метаболизм ферментативный), пищевые потребности сложные. На МПА через сутки образуют мелкие, серовато-белые колонии, а МПБ становится мутным, на дне появляется плотный белый осадок.

**Биохимические свойства.** Расщепляют различные углеводы (чаще до кислоты) — лактозу, сахарозу, салицин, маннит, арабинозу, галактозу; проба на каталазу отрицательная, в редких случаях восстанавливают нитраты. Изменяют цвет лакмусового молока. МПЖ — не разжижают.

Дифференцирующим признаком является способность развиваться на питательных средах, содержащих 6,5% NaCl, 40% желчи и метиленовую синь.

Для выделения фекального энтерококка из исследуемого материала, обильно загрязненного сопутствующей микрофлорой, применяют селективные среды: щелочно-полимиксиновые, желчно-полимиксиновые, агар с азидом натрия.

Дифференциацию энтерококков от стрептококков проводят по следующим признакам:

Признак	Энтерококк	Стрептококк
Температурный предел	+10...+45°C	+25...+37°C
pH 9,6	рост	нет роста
40% желчи	рост	нет роста
6,5% NaCl	рост	нет роста
Рост в молоке с 1% метимновой синьки	рост	нет роста
Терморезистентность при температуре +60°C 30 мин	рост	нет роста

**Вульгарный протей.** Первого представителя *P. mirabilis* выделил из гниющего мяса Хаузер (1885), предложивший название рода, обусловленное способностью его представителей менять внешние проявления роста на твердых средах (в честь сына Посейдона — водяного божества Протея, изменяющего свой облик в различных обстоятельствах). Место их обитания — кишечник многих видов животных, почва, сточные воды, разлагающиеся органические массы. Являются **третьей** по значимости группой санитарно-показательных микроорганизмов. Наибольшее санитарно-показательное значение имеют *P. vulgaris* и *P. mirabilis*. При этом наличие *P. vulgaris* обычно рассматривают как показатель загрязнения объекта органическими веществами, а обнаружение *P. mirabilis* — как показатель фекального загрязнения.

**Морфология.** Вульгарный протей имеет форму палочки длиной 1–3 мкм. Палочки часто полиморфные, граммотрицательные, перитрихи, капсул не образуют.

**Культивирование.** Оптимальная температура +37°C (+10...+43°C), pH 7,2–7,4. Относятся к факультативным анаэробам, хемоорганотрофам, метаболизм дыхательный и ферментативный.

**Биохимические свойства.** На МПА образуют два типа колоний: О-форма, неподвижные — образуют круглые, выпуклые, серо-белые колонии; Н-форма, подвижные — для них характерен **феномен роения**, на котором основан метод выделения чистой культуры посевом в конденсационную воду скошенного агара по Шукевичу. Н-формы дают сплошной, ползучий рост с образованием концентрических колец роста по периферии, поэтому «понятие изолированной колонии» к ним неприменимо.

Уникальная способность к «феномену роения» используется как один из характерных признаков при определении вида. Наличие в питательной среде ингибиторов (солей желчных кислот, больших концентраций NaCl, мочевины, препаратов йода) обуславливает переход протей в неподвижную O-форму.

На МПБ наблюдается обильное помутнение, нежная пленка. Рост культуры сопровождается характерным гнилостным запахом.

По биохимическим свойствам данная культура очень активна: расщепляет углеводы до кислоты и газа (глюкозу, сахарозу, но не лактозу), восстанавливает нитраты, гидролизует мочевины, вызывает быстрое разжижение МПЖ (см. вклейку, ил. VI), образует индол и  $H_2S$ , ферментирует каталазу, оксидаза-отрицательна. Обычно ацетилметилкарбинол не образует. Важнейшим признаком, отличающим протей от других энтеробактерий, является способность дезаминировать фенилаланин, при разложении которого до фенилпировиноградной кислоты в присутствии  $FeCl_2$  происходит окрашивание питательной среды в зеленый цвет.

На среде Плоскирева формирует желтовато-розовые колонии, среда в зоне роста желтеет в результате подщелачивания. На висмут-сульфитном агаре через 48 ч образует серо-коричневые колонии. На агаре Эндо колонии бесцветны, так как они не расщепляют лактозу.

Антигенная структура обусловлена наличием O-, H- и K-антигенов, которые используются для серологической дифференциации при определении вида.

Основными источниками загрязнения протеем окружающей среды являются люди и животные. В 5–9% случаев протей обнаруживается в содержимом желудочно-кишечного тракта и фекалиях здоровых животных и людей.

Проникновение протей в мясо и мясные продукты происходит эндогенным и экзогенным путем. Эндогенное заражение отмечается при жизни животного, особенно при возникновении гастроэнтеритов и других болезней. Но основным путем инфицирования продуктов питания является экзогенный. Кожный покров животных — один из основных источников загрязнения мяса в процессе переработки туш скота. Применение дезинфицирующих растворов для обработки кожного покрова

(0,5–2% -ный раствор хлорной извести) значительно уменьшает его микробное загрязнение, в том числе и протеом.

Из продуктов убоя здоровых животных протей чаще всего можно выделить из печени, реже — селезенки и соматических лимфоузлов.

Присутствие его в воде, пищевых продуктах и смывах свидетельствует о неблагоприятном санитарном состоянии, загрязнении объекта разлагающимися органическими субстратами. Пищевые продукты, загрязненные протеом, обычно выбраковывают. Воду, содержащую протей, пить нельзя. При исследовании качества пищевых продуктов индикация палочки протей предусмотрена ГОСТом.

*Bac. cereus* широко распространены в природе и в большинстве случаев являются сапрофитами.

**Морфология.** Подвижные, грамположительные палочки длиной до 4,0 мкм располагаются одиночно и цепочками, образуют эндоспоры.

**Культивирование.** Аэробы, мезофилы, оптимальная температура +30°C. На МПА — колонии с зубчатыми краями. На МПБ — помутнение, нежная пленка, хлопьевидный осадок.

**Биохимические свойства.** На МПЖ — кратерообразное разжижение за 1–4 дня, обладают лецитовителазной активностью. Лакмусовое молоко не свертывают, индол не образуют. Глюкозу и сахарозу расщепляют до кислоты.

Бациллы образуют энтеротоксины только *in vivo* во время прорастания спор.

Бациллы *Bac. cereus* вызывают два типа пищевых отравлений.

*Первый тип:* инкубационный период 4–5 ч, характеризуется изнурительной рвотой, диареей. Заболевание развивается при употреблении пищи, обсемененной большим количеством микроорганизмов. Зачастую наблюдаются случаи отравления в связи с употреблением жареного риса, содержащего проросшие споры *Bac. cereus*. Эти случаи можно считать токсикозами, связанными не столько с активностью токсина, сколько с действием метаболитов, накапливающихся в пищевых продуктах.

*Второй тип* — продолжительность инкубационного периода 17 ч, патогенез полностью опосредован действием энтеротоксина, вызывающего боли в животе, диарею.

Критерии санитарной оценки продуктов, загрязненных *Bac. cereus*, окончательно не разработаны. В 1 г сырья не должно содержаться более 100 микробных клеток *Bac. cereus*. В пастеризованных консервах наличие *Bac. cereus* не допускается. Диагностическим признаком считается обнаружение *Bac. cereus* в подозрительных продуктах в количестве более  $10^5$  бактерий в 1 г/мл. Но даже накопление в продукте микроорганизмов в пределах  $10^6$ – $10^7$  и более не приводит к значительному изменению внешнего вида продукта и органолептических признаков.

*Cl. perfringens* широко распространен в природе. Основной резервуар сохранения патогенных штаммов — желудочно-кишечный тракт здоровых животных, где он размножается и попадает в почву с фекалиями. Таким образом, он входит в состав нормальной микрофлоры кишечника, количество клостридий в 1 г содержимого кишечника доходит до  $10^3$ – $10^6$  в 1 г. Микроб относится к санитарно-показательным микроорганизмам, хотя споры могут долгое время сохраняться в объектах внешней среды.

На основании антигенного строения различают шесть сероваров. Типы А и С вызывают пищевые токсикоинфекции у людей. Термолабильный протейн, выделяемый при споруляции, провоцирует рвоту, диарею и летальный исход.

**Морфология.** Толстые, неподвижные, грамположительные палочки, до 5–8 мкм длиной. Располагаются одиночно, изредка короткими цепочками.

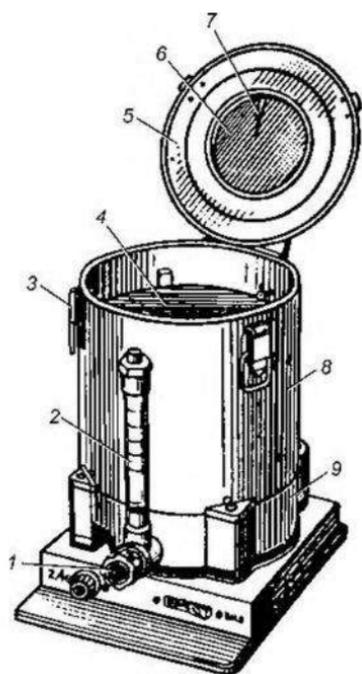


Рис. 1  
Внешний вид прибора  
для бактериологического  
анализа воздуха:

- 1 — вентиль ротаметра; 2 — ротаметр;  
3 — накладные замки; 4 — диск вращающийся; 5 — крышка; 6 — диск;  
7 — клиновидная щель; 8 — корпус;  
9 — основание.

Образуют споры клостридиального типа спороношения; очень устойчивые во внешней среде; выдерживают кипячение до 2 ч, при этом сама вегетативная клетка малоустойчива. В организме, входя в ассоциацию возбудителей, вызывающих газовую гангрену, или злокачественный отек, образует капсулу.

Культивирование возбудителя проводят в среде Китта-Тароцци, где он дает равномерную муть и газообразование уже через 4–6 ч после посева. Для выращивания посевов на поверхности среды в чашках Петри применяют анаэробостат. Возможна быстрая индикация на среде Вильсон–Блера за счет восстановления железа и появления черных колоний через 8–12 ч.

Вода, подаваемая на предприятия пищевой промышленности, должна проверяться на присутствие *Cl. perfringens*. Их количество строго контролируется: в 100 мл воды не допускается наличие ни одной клостридии.

Определение присутствия клостридий перфрингенса как возбудителя пищевых отравлений проводят и в некоторых пищевых продуктах.

Критический уровень *Cl. perfringens* в готовых блюдах равен 10 клеткам в 1 мл или 1 г продукта. Готовые консервы не должны содержать палочки и споры *Cl. perfringens*.

*Cl. perfringens* можно выявить в специях, мясном фарше. При нарушении условий хранения пищевых продуктов количество *Cl. perfringens* уже за 3 ч может увеличиться в 10 раз. Чаще всего причиной вспышек токсикоинфекций, вызванных *Cl. perfringens* типа А, являются мясные продукты, изготовленные с нарушением установленных требований гигиены и санитарии или хранившиеся при температуре выше +5°C, а также изделий из мяса птицы, свежей и соленой рыбы, реже — молока и молочных продуктов, салатов и др. Инкубационный период обычно равен 6–24, реже — 2–3 ч.

Обязательным условием возникновения токсикоинфекций является накопление в пищевом продукте большого количества (в 1 г — 10<sup>6</sup>) жизнеспособных бактерий. Энтеротоксин, образующийся в организме человека, увеличивает проницаемость кровеносных сосудов и усиливает поступление жидкости в полость кишечника.

Заболевания могут протекать в легкой и тяжелой формах. При легкой форме изменения в желудочно-кишечном тракте

небольшие, при тяжелой отмечаются резкие воспалительные и некротические процессы в кишечнике с явлениями острейшего гастроэнтерита.

В отдельных мясных продуктах (пастеризованные консервы) наличие *Cl. perfringens* не допускается. Если хотя бы в одном из посевов обнаружены мезофильные клостридии *Cl. perfringens* и/или *Cl. botulinum*, консервы оценивают как не соответствующие стандартам промышленной стерильности.

## ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОЗОВ

К пищевым токсикозам относятся бактериальные токсикозы: ботулизм, стафилококковая интоксикация.

### БОТУЛИЗМ

Ботулизм (от лат. *botulus* — колбаса) — тяжелый пищевой токсикоз, возникающий в результате употребления продуктов, зараженных палочкой ботулизма и ее экзотоксинами.

Возбудитель ботулизма широко распространен в природе (почве, навозе, воде) и часто попадает в мясо из окружающей среды. Это строгий анаэроб, который размножается и выделяет экзотоксин в консервах, соленой рыбе, колбасе, ветчине, грибах домашнего консервирования.

**Консервированные продукты, загрязненные спорами ботулизма.** При нарушении технологических процессов стерилизации или хранении консервов при температуре выше +15...+17°C в консервированных продуктах, зараженных спорами ботулизма, данные споры прорастают и вегетативные палочки ботулизма начинают продуцировать экзотоксин.

Изучено 7 сероваров экзотоксина — А, В, С, D, E, F, G, различающихся по антигенной структуре. В патологии человека имеют значение экзотоксины типа А, В, С, E (у типа А самый сильный токсин).

Типизацию токсина проводят в реакции нейтрализации с гомологичными антитоксическими сыворотками согласно прилагаемой к ним инструкции. Ботулинический токсин отличается наибольшей токсичностью из всех известных микробных экзотоксинов (0,035 мг сухого порошка токсина является смертельной дозой для человека).

Экзотоксин всасывается в желудок и кишечник, поражает черепно-мозговые нервы, приводя к атрофическому параличу мышц лица и носоглотки: появляется двойное видение, нарушается глотательный акт, исчезает голос (афония). Инкубационный период длится от нескольких часов до 10–12 суток.

В настоящее время доказано, что не только токсин, но и сам возбудитель может быть причиной отравления. Споры ботулизма, попавшие в организм, превращаются в вегетативные клетки и продуцируют экзотоксин, приводящий животное к гибели, при этом сам возбудитель выделяется из всех органов и тканей. В связи с этим мясо больных ботулизмом животных нельзя использовать в пищу.

**Морфология.** *Cl. botulinum* крупные — до 8,0 мкм, располагаются одиночно или короткими цепочками, подвижные, грамположительные палочки. Капсулу не образуют. Образуют споры через 48 ч, расположение споры субтерминальное.

**Культивирование.** Строгий анаэроб, оптимальная температура для типа А, В, С, D +34...+36°C, для Е, F, G — +28...+30°C, рН — 7,2–7,4. На специальных плотных питательных средах в глубине образует колонии в виде «чечевицы» или комочков ваты. На МПЖБ — обильное помутнение, запах прогорклого масла и газ.

**Биохимические свойства.** Расщепляют до кислоты и газа глюкозу, мальтозу, сахарозу, салицин, декстрозу и глицерин. МПЖ разжижается, кусочки печени расплавляются, мозговая среда чернеет. На кровяном агаре вызывает гемолиз эритроцитов. На поверхности кровяного агара образует колонии двух типов — S-R-колонии.

Возбудитель ботулизма очень устойчив к неблагоприятным факторам. Споры хорошо переносят абсолютный холод, в почве сохраняются десятилетиями, выдерживают кипячение в течение 3–6 ч. Устойчивы к действию дезинфицирующих средств, например, к 20%-ному формалину — 24 ч, к этиловому спирту — в течение 2 месяцев, к 5%-ной карболовой кислоте — в течение 24 ч.

Снижение рН среды позволяет уменьшить длительность обработки и температурного воздействия, даже если в этих продуктах содержатся споры ботулизма. Например, споры погибают при температуре +100°C уже через несколько минут, если

кислотность окружающей среды рН снижена до 3,5–4,5. Не удается культивирование *Cl. botulinum* в слабокислой среде — в пределах рН 4,5. Экзотоксин к высокой температуре не устойчив, он разрушается при кипячении через 15 мин, а при +80°C — через 30 мин.

### СТАФИЛОКОККОВАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ

Стафилококки широко распространены в природе. В настоящее время различают два вида стафилококков: сапрофитные и патогенные. Сапрофитные обитают в почве, воде, воздухе и на поверхности растений. Патогенные стафилококки находятся на кожном покрове, а также на слизистых оболочках глаз, носа, ротовой полости, кишечника и так далее человека и животных. Это позволяет отнести их к санитарно-показательным микроорганизмам — индикаторам воздушно-капельного загрязнения некоторых пищевых продуктов и объектов внешней среды. Основная роль в инфекционной патологии животных и человека принадлежит *S. aureus*, *S. pyogenes*.

**Морфология.** Стафилококки — округлые клетки диаметром 0,5–1,5 мкм, в препаратах располагаются в виде отдельных скоплений неправильной формы, напоминающих гроздь винограда. Грамположительные, спор и капсул не образуют, неподвижны.

**Культивирование.** Факультативные анаэробы. Хорошо растут на универсальных питательных средах при температуре +35...+40°C (возможна жизнедеятельность в интервале от +6,0 до +46°C, оптимум рН 7,0–7,5. Относятся к галофилам, способны расти в присутствии 15%-ного хлорида натрия или 40%-ной желчи, что используется при индикации и идентификации.

На МПА образуют круглые с ровными краями колонии диаметром 2–5 мм. *S. aureus* синтезирует золотистый или оранжевый пигмент, встречаются и беспигментные штаммы.

При росте в МПБ стафилококки образуют диффузное помутнение с последующим выпадением рыхлого хлопьевидного осадка. На МПЖ растут по уколу, затем образуют воронку, наполненную жидкостью. На кровяном агаре патогенные штаммы стафилококков образуют значительную зону гемолиза.

Патогенные стафилококки синтезируют и секретируют высокоактивные экзотоксины и ферменты.

Среди экзотоксинов выделяют три вида: гематоксины, лейкоцидин и энтеротоксины.

**Устойчивость.** Стафилококки — относительно устойчивые микроорганизмы, прямые солнечные лучи убивают их только через несколько часов. В жидкой среде при температуре  $+70^{\circ}\text{C}$  погибают через 1 ч, при  $+85^{\circ}\text{C}$  — через 30 мин, при  $+100^{\circ}\text{C}$  — за несколько секунд. Сухой жар убивает их за 2 ч.

Из дезинфектантов 1% -ный раствор формалина и 2% -ный раствор гидроксида натрия убивают их в течение 1 ч, 1% -ный раствор хлорамина — через 2–5 мин.

Стафилококковое пищевое отравление — типичный бактериальный токсикоз, занимающий по распространенности второе место после сальмонеллезной инфекции. Симптомы развития токсикоза обусловлены действием экзотоксина и энтеротоксина, выделяемых стафилококками и накапливающихся в продуктах. Энтеротоксин термостабилен, выдерживает кипячение до 30 мин и лишь частично разрушается после автоклавирования при 0,5 атм.

Энтеротоксины А, В, С, D, Е и F ответственны за развитие пищевых интоксикаций. Развитие болезни такое же, как при других пищевых отравлениях, проявляется рвотой, болями и диареей уже через 2–6 ч после употребления в пищу инфицированных продуктов, обычно кондитерских изделий с кремом, консервов, мясных и овощных салатов.

Все типы токсинов не разрушаются под воздействием протеолитических ферментов (трипсин, хемотрипсин), однако при низких значениях рН пепсин инактивирует стафилококковый энтеротоксин. Он устойчив к воздействию желудочного сока, хлора, формалина. Внешний вид продуктов, содержащих энтеротоксин, не изменяется.

Энтеротоксины — термостабильные полипептиды; образуются при размножении энтеротоксигенных стафилококков в питательных средах, продуктах питания (молоко, сливки, творог и др.), кишечнике. Они устойчивы к действию пищеварительных ферментов. Энтеротоксины вызывают пищевые токсикозы человека, к ним чувствительны кошки, особенно котята, и щенки собак. Установлено, что экзотоксин полностью не разрушается при получасовом или даже часовом кипячении. Наличие энтеротоксина в пищевых продуктах и культурах оп-

ределяют в РДП со стафилококковыми антисыворотками к энтеротоксинам А, В, С, D, Е, F.

**Лабораторная диагностика.** Для выделения стафилококков и обнаружения энтеротоксина молоко исследуют при маститах, кровь — при септицемии, остатки продуктов — при пищевых отравлениях.

Исследуемый материал одновременно сеют в чашки с накопительными средами: молочно-солевым и желточно-солевым агаром. На чашках с молочно-солевым агаром учитывают образование пигмента. На желточно-солевом агаре большинство патогенных стафилококков вызывают лецитовителлазную реакцию, проявляющуюся образованием вокруг колонии зоны помутнения с радужным венчиком по периферии. С выделенной культурой ставят реакцию плазмокоагуляции с цитратной плазмой крови кролика: при наличии у стафилококка фермента коагулазы плазма свертывается.

В пищевых продуктах с наличием стафилококков и их токсинов органолептические изменения не происходят. Интоксикации стафилококкового происхождения связаны с накоплением в инфицированной пище энтеротоксина. Классическое проявление поражения человека отмечается, когда в продукте (1 г) содержится  $10^5$ – $10^7$  стафилококков, вырабатывающих токсин, 1 мкг которого вызывает пищевую интоксикацию.

При подтверждении диагноза молоко коров, больных маститами, рекомендуется кипятить и использовать для кормовых целей, так как токсины и другие продукты патологического обмена ухудшают его качество и делают его совершенно непригодным в пищу. Продажа молока от маститных коров запрещена.

**Обеззараживание условно годного мяса.** При генерализованном процессе, обнаружении изменений в органах всю тушу вместе с органами направляют на техническую утилизацию.

**Пищевые отравления смешанной этиологии** обусловлены совместным действием двух и более возбудителей, например, *Bac. cereus* со *Staph. aureus* или *Bac. cereus* совместно с *E. coli*.

**Пищевые отравления грибковой этиологии** — это отравления, вызванные размножением токсигенных плесневых грибов, которые выделяют микотоксины в процессе жизнедеятельности, а также при разрушении мицелия. Известны более 200 видов грибов, способных при определенных условиях продуцировать

микотоксины. Данная проблема находится в центре внимания ВОЗ, институты питания разрабатывают **предельно допустимые концентрации (ПДК)**. Например, наличие афлотоксина допускается до 5 мг/кг, а патулина — до 50 мг/кг.

**Отбор средней пробы.** В лабораторию посылают пробу массой 500 г. Диагностика микотоксикозов особенно трудна, так как возбудитель и токсин надо обнаружить как в исследуемых продуктах, так и в организме больного.

**1. Органолептическая оценка** включает изучение внешнего вида, цвета, запаха корма, зерна, орехов, сырья, готовых продуктов питания и т. д.

**2. Микроскопическое исследование.** Видимые части мицелия, находящиеся на поверхности исследуемого продукта, вносят на предметное стекло в каплю, состоящую из равных объемов глицерина, спирта и воды, закрывают покровным стеклом, далее изучают микрокартину с увеличением в 400 раз. Обращают внимание на строение мицелия и органов спороношения, наличие перегородок. Особую трудность при идентификации представляет то, что микроскопические грибы часто имеют **различную морфологию** в естественном субстрате и искусственных питательных средах, поэтому применяются различные дополнительные исследования для определения вида и токсичности выделенных микроскопических грибов.

**3. Микологическое исследование** присланного продукта, корма проводят параллельно и одновременно в двух направлениях:

**3.1. Посев на питательные среды для определения вида** (см. вклейку, ил. IV, IX, X). Для выращивания применяют **специальные питательные среды**: Сабуро, Чапека, сусло-агар, в состав которых вводят антибиотики или ингибиторы, подавляющие развитие сопутствующей бактериальной микрофлоры. Культивирование посевов проводится при температуре +25... +28°C в течение 3–10 дней, по мере появления колоний приступают к определению рода и вида микроскопических грибов. Для этого изучают культуральные и морфологические признаки выросших грибов.

**3.2. Токсикобиологическое исследование** проводят для обнаружения микотоксина в исследуемом продукте и токсичности гриба. Для этого применяются следующие методы:

- биопроба на животных с последующим наблюдением;
- проба на простейших;
- кожная проба на кроликах;
- химический метод (тонкослойная хроматография).

**Биопроба на животных** проводится для обнаружения микотоксина в исследуемом продукте или корме. Используют 10 молодых белых мышей весом 20–25 г или морских свинок. Суточную норму корма заменяют исследуемым продуктом или кормом, который скармливают не менее 10 дней подряд. Токсикоз проявляется быстрее, если кормить подопытных животных на голодный желудок. Изучают появившиеся клинические признаки: рвота, диарея, взъерошенная шерсть. Затем животных усыпляют, исследуют внутренние органы, отмечают наличие кровоизлияний, жировое перерождение тканей печени, желудка.

Определение токсичности выделенных микроскопических грибов можно провести **пробой на простейших парамециях** — *Paramecium caudatum*.

Из культуры грибов, выращенных на среде Чапека, готовят водный экстракт по следующей методике: мицелий гриба помещают в пробирку и заливают стерильной водой в соотношении 1:1, встряхивают и экстрагируют 24 ч в холодильной камере при температуре +4°C. Каплю полученного экстракта наносят на предметное стекло и в эту же каплю вносят взвесь простейших. Если выросший гриб был токсичным, парамеции через 3–5 мин прекращают движение, а в дальнейшем происходит их гибель и лизис клеток.

Более сложный метод — это «**кожная проба на кроликах**». Для постановки данной пробы 50 г исследуемого измельченного корма или продукта, в котором определяют наличие токсического гриба, помещают в банку и заливают спирт-эфиром (1:3), так чтобы жидкость была на 2–3 см выше изучаемого продукта, экстрагируют 24 ч при комнатной температуре, периодически встряхивая. Затем полученный экстракт процеживают через фильтровальную бумагу в бюкс, который ставят в вытяжной шкаф до полного испарения растворителя. Для ускорения испарения сосуды с экстрактами ставят в водяную баню при температуре +45...+50°C. В результате этого на дне остается *токсин в виде маслянистой массы*.

Для постановки кожной пробы используют кроликов весом 2 кг с непигментированной кожей, за несколько часов до опыта выстригают участок кожи 3×6 см. Полученный токсин дважды через сутки втирают в подготовленный участок кожи кролика, затем наблюдают за появляющимися изменениями. Для предупреждения расчесывания и слизывания нанесенного экстракта на шею кролика надевают картонный воротник.

В зависимости от степени токсичности микроскопических грибов на коже кролика последовательно появляются покраснение, утолщение кожной складки, выпотевание экссудата, трещины и некроз кожи.

Для определения гемолитической активности полученного токсина применяют химический метод. На поверхности кровяного агара в чашке Петри раскладывают 5 дисков из фильтровальной бумаги, на которые наносят каплю полученного маслянистого токсина, диффундирующего в толщу агара. Если исследуемый продукт или корм содержал токсичный микроскопический грибок, происходит лизис эритроцитов и вокруг дисков появляются прозрачные зоны различного диаметра в зависимости от силы токсина. На контрольные диски наносят растительное масло, вокруг них не должно быть никаких изменений.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. С какой целью проводится санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов?
2. С какой целью проводится количественное и качественное исследование продуктов?
3. С какой целью проводится определение количества МАФАНМ?
4. Какие инфекции относятся к пищевым токсикоинфекциям?
5. В каком случае возникает пищевой токсикоз?
6. Наличие каких микроорганизмов свидетельствует о санитарном неблагополучии производства?

## ТЕМА 10. МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

---

Почва является естественной средой обитания многих микроорганизмов в природе, которые встречаются в слоях почвы различных поясов земного шара: от Крайнего Севера до тропиков. В ней микроорганизмы находят необходимые питательные вещества, влагу, кислород, также она защищает их от губительного воздействия прямых солнечных лучей и высыхания. Разнообразные микроорганизмы почвы обитают в водных и коллоидных пленках, которые обволакивают почвенные частицы.

Микрофлора почвы принимает активное участие в процессах формирования и самоочищения, а также в круговороте веществ в природе (азота, углерода, серы, железа и других соединений).

Количественный и видовой (качественный) состав микрофлоры почвы значительно изменяется в зависимости от региональных и климатических условий, времени года, температуры, химического состава и физических свойств ее влажности, реакции среды (рН), способа ее обработки и т. д. В песчаных и каменистых почвах, а также в почвах, лишенных растительности, микроорганизмов меньше, чем в пахотных и особенно удобренных почвах. Содержание микробов в почве увеличивается с севера на юг. Цвет и запах почве придают определенные виды актиномицетов и плесневых грибов.

Неодинаково микроорганизмы распространены и по слоям почвы. Мало микроорганизмов содержится в самом поверхно-

стном слое толщиной несколько мм, где они подвергаются неблагоприятному воздействию факторов внешней среды: солнечному свету, высушиванию, повышенной температуре и др.

Где больше органических питательных веществ, там создаются лучшие условия для размножения микробов многих видов. Особенно обильно населен следующий, поверхностный слой почвы толщиной 5–20 см, в нем содержится максимальное количество бактерий. Большое количество микробов обнаруживается в зоне корневой системы растений (ризосферы).

По мере углубления число микроорганизмов уменьшается. На глубине 25–30 см количество их в 10–20 раз меньше, чем в поверхностном слое толщиной 1–2 см. Начиная с глубины 1–2 м количество микроорганизмов резко уменьшается.

Почвы, богатые бактериями, биологически более активны. Между плодородием почвы и содержанием в ней микроорганизмов имеется определенная зависимость. Подсчеты показали, что на каждый га малопродуктивной почвы приходится 2,5–3,0 т микробной массы, а высокопродуктивной — до 16 т. Число микроорганизмов в 1 т почвы колеблется от  $1-3 \cdot 10^6$  до  $20-25 \cdot 10^9$ .

Микрофлора почвы представлена разнообразными видами бактерий: актиномицетами, спирохетами, простейшими, синезелеными водорослями, микоплазмами, грибами, вирусами.

С изменением глубины изменяется и видовой состав микрофлоры почвы; так в верхних слоях, содержащих много органических веществ и подвергающихся хорошей аэрации, преобладают аэробные сапрофитные организмы, способные разлагать сложные органические соединения. Чем глубже почвенные слои, тем беднее они органическими веществами. Доступ воздуха в них затруднен, поэтому здесь численность анаэробных бактерий увеличивается. Микроорганизмы почвы находятся в сложном биоценозе, характеризующемся антагонистическими и симбиотическими взаимоотношениями как между собой, так и с растениями.

К постоянным обитателям почвы относятся различные гнилостные, преимущественно спорообразующие, аэробные бактерии (*Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus* и др.) и анаэробные бактерии (*Cl. sporogenes*, *Cl. putrificum*, *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum*, *Cl. Chauvoei* и др.), а также термофильные бак-

терии, пигментные, кокковые формы; из сапрофитных кокков чаще выявляются микрококки (*Micrococcus albus*, *roseus*, *flavus*). В почве находятся нитрифицирующие, денитрифицирующие, азотфиксирующие бактерии, серо- и железобактерии, бактерии, разлагающие клетчатку, актиномицеты, плесневые грибы, дрожжи, протозойные организмы, микроскопические водоросли. Некоторые представители микрофлоры почвы при попадании в пищевые продукты могут вызвать их порчу, накапливать ядовитые продукты для организма человека. В почве непрерывно совершаются процессы, обусловленные жизнедеятельностью этих микроорганизмов: гниение, нитрификация, денитрификация, разложение клетчатки и т. д. Деятельность почвенных микроорганизмов играет большую роль в формировании плодородия почвы, так как вся масса органических веществ, которая ежегодно поступает в нее (остатки растений, трупы животных и другие загрязнения), под влиянием почвенных микроорганизмов разлагается на более простые соединения.

В аэробных условиях разложение доходит до полной минерализации остатков с образованием окисленных соединений простого состава, в анаэробных образуются газообразные вещества и промежуточные продукты в виде органических кислот.

Микрофлору почвы делят на автохтонную (от *лат.* *autochthonous* — местная, коренная), которая усваивает гумусовые вещества непосредственно из почвы, и сапрофитную, или зимогенную (от *лат.* *zimogenis* — возбуждающие брожение), которая разлагает органические соединения, поступающие в почву извне. К автохтонным относятся представители родов *Bacillus*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Bactoderma*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, а также грибы — *Penicillium*, *Aspergillus*. В составе зимогенной микрофлоры преобладают бактерии, особенно неспорообразующие формы, родовую принадлежность которых установить довольно трудно.

В качестве эктосимбионта микроорганизмы обитают в почве, непосредственно окружающей корни растений. Данные участки вместе с поверхностью корней составляют ризосферу растения. В функциональном смысле ее можно определить как область, лежащую в пределах нескольких мм от поверхности каждого корня, в которой химическая активность растения

влияет на микробную популяцию. Это влияние в основном проявляется в количественном отношении: число бактерий в ризосфере обычно превышает их число в окружающей почве в 10, а зачастую и в несколько сотен раз. Наблюдаются также и качественные изменения. В ризосфере преобладают короткие грамотрицательные палочки, тогда как грамположительные палочковидные и кокковидные формы встречаются здесь реже, чем в остальной части почвы. Однако не установлено никаких специфических ассоциаций конкретных бактериальных видов с конкретным растением.

Причина относительного обилия бактерий в ризосфере заключается в том, что корни растений выделяют органические питательные вещества, которые избирательно стимулируют рост бактерий с определенными типами питания. Однако не установлено никаких четких трофических взаимосвязей, хотя многие органические продукты, выделяемые корнями растений, уже идентифицированы. Остается также неясным, извлекает ли растение какую-либо пользу из ассоциации с микроорганизмами. При этом известно, что многие свободноживущие почвенные бактерии выполняют необходимые для растений функции, такие как фиксация азота и минерализация органических соединений. Поэтому логично предположить, что некоторые растения выигрывают от тесного контакта с микроорганизмами.

Образующиеся минеральные соединения являются питательным веществом для растений. Соединения углерода, азота, фосфора и других элементов из недоступных для растений форм преобразуются микробами в вещества, усвояемые ими. Таким образом происходит самоочищение почвы, поэтому происходящие в почве процессы распада и минерализации органических веществ имеют большое санитарное значение.

Микроорганизмам принадлежит большая роль в формировании состава почвы и почвенного гумуса (перегноя), который может образовываться из самых различных природных растительных соединений при участии различных видов бактерий (аэробов и анаэробов) и микроскопических грибов.

В почве могут находиться и патогенные микроорганизмы, которые попадают в нее с трупами животных, испражнениями, сточными водами и различными отбросами. Преимущественно

это спорообразующие бактерии, например, возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма, сибирской язвы и др.

При благоприятных условиях микробы в почве могут не только выживать, но и долго (недели, месяцы и даже годы) сохранять вирулентные свойства. Некоторые патогенные микробы размножаются (возбудители сибирской язвы, столбняка), но большинство из них не находят в ней благоприятных условий для размножения и со временем теряют болезнетворность и гибнут.

Сохраняемость бактерий в почве в зависимости от вида различна. Некоторые микроорганизмы находятся в почве в жизнеспособном состоянии довольно долго, например, туберкулезная палочка — от 5 месяцев до 2 лет, бруцеллы — до 3 месяцев, бактерии рожи свиней — до 166 дней, гноеродные кокки — до 2 месяцев. Еще дольше сохраняются в почве споровые патогенные микроорганизмы, так, споры сибирской язвы, столбняка и газовой гангрены — десятки лет.

Почва, зараженная патогенными микробами, может служить источником распространения некоторых инфекционных заболеваний. Особенно большую опасность представляет возбудитель сибирской язвы.

Микробиологическое исследование почвы имеет важное значение в ее санитарной оценке при строительстве, планировке территории для заводов пищевой промышленности, водохранилищ, а также для оценки санитарно-зоогигиенического состояния, интенсивности загрязнения почвы микроорганизмами. Пробы почвы берут из разных участков и исследуют либо каждую отдельно, либо в виде средних проб, полученных путем смешивания нескольких образцов.

Показателем санитарного состояния почвы является содержание в ней термофилов, так как в незагрязненных почвах они практически отсутствуют. Термофилы — это в основном спорообразующие грамположительные палочки и актиномицеты.

Установлена прямая связь между загрязненностью почвы фекалиями и содержанием в ней бактерий группы кишечных палочек. В почве, загрязненной фекалиями, в течение первых 2 недель преобладает *E. coli* (61,6%). Через 21 день происходит значительное уменьшение их числа и увеличение количества цитратположительных сапрофитных кишечных палочек родов энтеробактер и цитробактер.

При бактериологическом исследовании почвы термофилы, кишечные палочки и некоторые другие микроорганизмы относятся к санитарно-показательным микроорганизмам, т. е. по их присутствию и количеству судят о санитарном состоянии почвы. Установлено, что даже сильно загрязненные почвы самоочищаются от бактерий группы кишечных палочек и некоторых патогенных микроорганизмов по истечении нескольких месяцев. На данный процесс влияют следующие факторы: механический состав и рН почвы, состав постоянной почвенной микрофлоры, растительный покров почвы, температура окружающей среды, интенсивность солнечной радиации и др.

Процессы самоочищения почвы положены в основу наиболее распространенных и эффективных методов обезвреживания жидких и твердых отходов, обеспечивающих полную их минерализацию и гибель патогенной микрофлоры. При этом органическое вещество отходов, обезвреживаясь, превращается в ценное удобрение. Твердые отходы запахиваются, а чаще обезвреживаются в так называемых компостах вдали от колодцев и водоемов. Решающая роль в разогревании компостов принадлежит термофилам.

Почвенный метод обезвреживания применяют также для очистки сточных вод на специальных полях орошения, процесс которого заключается в том, что вода, попадая в почву, соприкасается с почвенной микрофлорой, которая минерализует органические вещества сточных вод.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Каков количественный состав микрофлоры почвы?
2. Каков качественный состав микрофлоры почвы?
3. Какое значение имеет микрофлора почвы в повышении плодородия земли?
4. Какие микроорганизмы длительно выживают в почве?
5. Как патогенные бактерии попадают в почву?

## ТЕМА 11. МИКРОФЛОРА ВОДЫ

---

Вода, как и почва, является естественной средой обитания для многих микроорганизмов, в которой они живут, размножаются, участвуют в процессах круговорота углерода, азота, серы, железа и других элементов. В большинстве случаев микроорганизмы попадают в воду из почвы, некоторые — из воздуха с оседающей пылью. Значительное количество микроорганизмов попадает с хозяйственно-бытовыми сточными водами, которые содержат миллионы и даже миллиарды бактерий в  $1 \text{ см}^3$ . Благодаря сточным водам в водоемы поступает также большое количество органических веществ, стимулирующих размножение микроорганизмов флуоресцирующих палочек (особенно сапрофитных) — род *Pseudomonas*, бактерий род *Aeromonas*, микрококков, сарцин и др. В чистых водоемах до 80% всей аэробной сапрофитной микрофлоры приходится на кокковые формы, остальные 20% составляют палочковидные. Кроме сапрофитных, в воде могут находиться и переживать определенные сроки различные патогенные микроорганизмы.

Атмосферная, еще не сконденсированная вода практически не содержит бактерий. В момент попадания осадков (дождь, снег, град) на поверхность земли в них зачастую уже можно обнаружить бактерии, которые разрастаются при контакте осадков с частицами пыли, находящимися в воздухе. При этом содержание бактерий может быть от менее 10 до нескольких сотен в  $1 \text{ см}^3$ . Осадки, попавшие с поверхности в сток, могут быть особенно обсеменены микробами на первом участке стока. Часто

содержание бактерий в стоках с участков земли, используемой в сельском хозяйстве, составляет от нескольких сотен до миллиона в  $1 \text{ см}^3$ .

Образующиеся потоки в зависимости от наплыва воды содержат резко отличающиеся друг от друга показатели количества бактерий. В неподвергавшихся внешнему воздействию средних и нижних слоях потоков и в бурных течениях количество бактерий снова уменьшается под влиянием многочисленных факторов: разбавление водой источников с небольшим содержанием бактерий, седиментация крупных органических частиц и гибель вегетативных форм бактерий.

Факторы самоочищения тем эффективнее, чем дольше воздействие седиментации, активности других микроорганизмов, температуры, солнечного света, токсических продуктов обмена веществ, органического запаса питательных веществ, недостатка кислорода и других возможных причин, способствующих уменьшению содержания бактерий в природных и искусственных водоемах.

Микрофлора водоема в естественных условиях вписывается в установившееся биологическое равновесие. Микроорганизмы играют важную роль в минерализации органических веществ в воде и, таким образом, являются важным звеном в круговороте веществ в природе. Количество автохтонных бактерий (самостоятельная, первоначально существующая микрофлора, для которой вода является естественной средой обитания) составляет от нескольких сотен до 1 тыс. бактерий в  $1 \text{ см}^3$  воды. Особенно большое количество бактерий находится на поверхности ила.

Различные атмосферные осадки питают подземные грунтовые воды. В результате фильтрации и адсорбции в грунте удерживаются не только проникающие бактерии, но и питательные вещества. В собственно грунтовых водах количество бактерий в  $1 \text{ см}^3$  изменяется в интервале от менее 10 до нескольких сотен. Лишь изредка встречаются грунтовые воды, полностью свободные от бактерий, в них доминируют очень медленно размножающиеся формы, которые во многих случаях обуславливают условную стерильность воды.

Вода во всех своих формах представляет вторичный биоток, в котором в естественных условиях может устанавливать-

ся биологическое равновесие. Чуждые бактерии (аллохтонные), попадающие в воду из грунта, загнивающих растений и, в особенности, из сточных вод, в виде аллохтонных намывов приобретают решающее гигиеническое значение при использовании воды в качестве питьевой или даже в хозяйственных целях.

К постоянно живущим в воде микроорганизмам относятся: *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Micrococcus roseus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bact. aquatilis*, *Proteus vulgaris*, *Spirillum* и др. Кроме сапрофитов, в воде могут быть возбудители инфекционных болезней животных и человека.

Источником патогенной микрофлоры в воде являются больные люди и животные, с выделениями которых в воду попадают патогенные и непатогенные микроорганизмы. Через воду часто передаются водные инфекции, или болезни грязной воды, — холера, брюшной тиф, дизентерия, лептоспироз, который раньше называли водной лихорадкой, полиомиелит, эпидемический гепатит, Ку-лихорадка и другие инфекции.

Обнаружить патогенные микроорганизмы в воде крайне сложно ввиду их малой концентрации и плохого роста на искусственных питательных средах. Выявлению патогенных микроорганизмов мешают также сапрофиты, присутствующие в воде в больших количествах.

В качестве объективных показателей загрязнения воды патогенными микроорганизмами используют санитарно-показательные микроорганизмы, постоянно обитающие в организме человека и животных. По наличию и их количеству в воде косвенно судят о ее возможном инфицировании патогенными микроорганизмами.

В качестве санитарно-показательных микроорганизмов при исследовании воды предложены представители нормальной микрофлоры тела человека или животных: кишечная палочка, энтерококки, клостридии, протей и др. Чем выше их концентрация, тем вероятнее присутствие патогенных бактерий, таких как сальмонеллы, возбудители холеры, дизентерии, гепатита и т. д. Определить конкретного возбудителя сложно, поэтому санитарную оценку воды дают по наличию в ней кишечной палочки (*E. coli*).

Для бактериологического исследования в стерильную бутылку отбирают 400–500 мл воды. Бутылку закрывают стериль-

ной пробкой. Из открытых водоемов пробы воды берут на глубине 10–15 см от поверхности, а из мелких — на уровне 10–15 см от дна. Пробы из водопровода берут следующим образом: предварительно в течение 10 мин спускают воду, затем обжигают кран, после чего набирают исследуемую воду в колбу, которую доставляют в лабораторию не позднее чем через 4 ч после взятия.

Общее микробное число или количество МАФАНМ определяют по количеству микроорганизмов, обнаруженных в 1 мл воды. Водопроводная вода считается пригодной для питья, если общее число микробов в 1 мл не более 100, загрязненной — 500 микробов и более. В воде колодцев и открытых водоемов в 1 мл не должно быть более 1000 микробов.

Степень биологического загрязнения оценивают по колититру и коли-индексу.

Коли-титром называется наименьший объем воды в мл или сухого вещества в г, в котором обнаруживается хотя бы одна кишечная палочка.

Бродильный титр — наименьший объем воды, при посеве которого в глюкозную среду обнаруживается газообразование. Он может соответствовать коли-титру в том случае, если сбраживание глюкозы вызывает *E. coli*, а не другие микроорганизмы.

Коли-индексом называется число кишечных палочек, обнаруженных в 1 л воды. По существующим нормативам вода считается качественной, если ее коли-индекс не более 3, а колититр не менее 300 мл. Вода шахтных колодцев должна иметь коли-индекс не более 10, а коли-титр не менее 100. Для перевода коли-титра в коли-индекс 1000 делят на показатель колититра, а для перевода коли-индекса в коли-титр 1000 делят на число, выражающее коли-индекс.

В естественных условиях даже в сильно загрязненных водоемах количество микроорганизмов в воде резко снижается, т. е. происходит самоочищение воды, под действием следующих факторов: оседание микроорганизмов и органических веществ; течение, способствующее уменьшению концентрации органических веществ в воде, что отрицательно влияет на размножение микроорганизмов; бактерицидное действие ультрафиолетовых лучей на микрофлору воды, проникающих на глубину до 3 м; развитие бактериофага; бактерицидное действие

бактерий-антагонистов, а также растений, выделяющих во внешнюю среду антибиотические вещества, задерживающие развитие сапрофитных микроорганизмов.

Степень загрязнения водоема характеризуют сапробностью водоема.

Условно различают следующие зоны сапробности:

- *полисапробная зона* — вода сильно загрязнена, богата органическими веществами, бедна кислородом, количество микроорганизмов в  $1 \text{ см}^3$  достигает десятков миллионов, в воде активно идут процессы гниения и брожения;
- *мезосапробная зона* — характеризуется интенсивной минерализацией органических веществ, преобладают процессы окисления и нитрификации, количество микроорганизмов достигает нескольких сот тысяч в  $1 \text{ см}^3$  воды;
- *олигосапробная зона* — зона относительно чистой воды, содержит мало органических веществ, количество бактерий составляет десятки тысяч в  $1 \text{ см}^3$  воды, минерализация органических веществ закончена.

Сточные воды предприятий пищевой промышленности, в том числе молочной, образуются из воды, используемой для мойки технологического оборудования, трубопроводов, тары, мытья полов, панелей производственных помещений; воды, используемой для охлаждения продуктов, работы технологических установок, а также для хозяйственно-бытовых нужд.

Количество сточных вод предприятия в среднем составляет 80–85% расхода потребляемой свежей воды.

Биологическую очистку сточных вод молочных заводов и других пищевых предприятий осуществляют на собственных или общих очистных сооружениях совместно с бытовыми стоками населенных пунктов.

Для биологической очистки сточных вод применяют активный ил, в состав которого входят бактерии, мелкие и крупные инфузории, брюхожоресничные, коловратки, нитчатые, молочнокислые и другие организмы, обуславливающие распад различных веществ, входящих в сточные воды.

Очистное сооружение представляет собой проточный водоем, в котором при участии грибов и бактерий (аэробных и анаэробных) происходит разложение органических веществ. Цель очистки сточных вод — освобождение их от твердых, жидких

минеральных и органических веществ, перед их попаданием в ручьи и реки.

Содержание органических веществ, разлагаемых микробами, оценивают по так называемому *биологическому потреблению кислорода* (БПК) — количеству кислорода, необходимого микроорганизмам для окисления органического материала в процессе дыхания. Например, БПК-5 — это количество кислорода, которое будет потреблено микроорганизмами в процессе разложения органических веществ за 5 дней. *Химическое потребление кислорода* (ХПК) — количество кислорода, необходимое для полного химического окисления органических веществ до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Для очистки сточных вод в очистных системах используют различные технические приемы, осуществление которых происходит на одних и тех же основных этапах:

- удаление относительно легко осаждаемых твердых частиц в пескоуловителе и в первичном отстойнике;
- микробиологическое окисление растворенных органических веществ с применением активного ила либо с использованием биофильтра;
- инкубация осадка, удаленного из первичного и вторичного отстойников в анаэробных условиях в метантенке, где в результате образуется метан и выпадает осадок. После обезвоживания из этого осадка можно получать компост и использовать его в качестве удобрения.

После прохождения данных этапов очищенная осветленная вода сбрасывается в реки непосредственно или через водоприемник. Такая вода содержит продукты минерализации — ионы фосфата, нитрата, аммония и др. Ее можно использовать для орошения полей и удобрения лесных почв, либо добавить еще один этап к обычной процедуре очистки и путем денитрификации освободить сточные воды от связанного азота. Дополнительно их можно очищать путем химического осветления, а именно осаждением ионов фосфата с помощью солей железа. Возможно проведение и других мероприятий по очистке сточных вод.

Для уничтожения возможных болезнетворных микроорганизмов сточные воды перед выпуском в водоем необходимо обеззараживать. С этой целью применяют хлорирование хлорной известью, газообразным хлором или гипохлоритом.

Вода, используемая на предприятиях пищевой промышленности, по микробиологическим показателям должна соответствовать требованиям Санитарных правил и норм (СанПиН 2.1.4.559-96).

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие микроорганизмы относятся к постоянно живущим в воде?
2. Какая микрофлора предложена в качестве санитарно-показательных микроорганизмов?
3. Какие методы применяются для санитарной оценки воды?
4. Что такое коли-титр воды? Что такое бродильный титр?
5. Какие требования предъявляют к питьевой воде?

Источником микрофлоры воздуха является почвенный покров, растительный и животный мир, а также производственная деятельность человека. Воздух является неблагоприятной средой для размножения микроорганизмов, так как в нем нет питательных веществ, постоянной оптимальной температуры, часто отсутствует влага, присутствует губительная для микроорганизмов солнечная энергия и т. д. Вследствие этого микрофлора воздуха не так обильна, как микрофлора почвы и воды.

Однако благодаря особой методике тонких стеклянных «нитей обрастания» (методика воспроизводит для микроорганизмов условия, практически не отличающиеся от естественных) удалось доказать возможность размножения некоторых видов микроорганизмов в воздухе. При этом на «нитях обрастания» обнаруживался ряд размножающихся организмов, отнесенных к мицелиальным формам, палочковидным бактериям, дрожжеподобным микроорганизмам. Нити обрастали довольно быстро: уже через 36 ч появлялись микроколонии, а через двое суток — мицелиальные формы.

Видовой состав микрофлоры воздуха определяется местными источниками загрязнения, в первую очередь поступлением пыли с почвы.

Основную массу микробов воздуха составляют сапрофитные виды, состав которых формируется в основном за счет почвенных микробов. В естественных условиях в воздухе обнаружено

около 1200 видов бактерий и актиномицетов, около 40 тыс. видов грибов, мхов, папоротников и др.

В поверхностных слоях атмосферы преобладают плесени, вблизи земли — бактериальные формы. Чаще из воздуха выделяют: *Bac. subtilis*, *M. flavus*, *Bac. megatherium*, *Bac. mycoides*, *Sarcina alba*, *Micrococcus candidans*, *Staphylococcus aureus*, *St. citreus*, *Torula alba*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Actinomyces* и др.

Численный и видовой состав микрофлоры воздуха существенно изменяется в зависимости от географических особенностей региона, времени года, метеорологических условий, санитарного состояния местности и ряда других факторов.

Микроорганизмы находятся в воздухе в виде капельного или пылевого микробного аэрозоля (аэрозолем называют коллоидные частицы, состоящие из воздуха и распыленных в нем твердых веществ или капелек жидкости).

Единичные клетки микроорганизмов в 1 см<sup>3</sup> обнаружены над морями, океанами, льдами Арктики, тайгой и высокими горами.

Очень много микроорганизмов в воздухе над крупными населенными пунктами и особенно промышленными городами, так как в них в результате активного движения вверх поднимается большое количество пыли.

Патогенные микроорганизмы попадают в почву с выделениями человека и животных, из трупов, разных отходов и отбросов. Подсохнув, они с пылью поднимаются в воздух.

Кроме того, при чихании, кашле в воздух выбрасывается большое количество капелек жидкости (аэрозоли), внутри которых также содержатся микроорганизмы. При одном акте чихания с каплями жидкости выделяется от 4500 до 150 тыс. живых бактерий. При оседании капли высыхают и превращаются в бактериальную пыль, которая легко увлекается воздушными течениями и постепенно оседает вновь. У частиц диаметром более 100 мкм сила тяжести превышает сопротивление воздуха, и они опускаются быстрее. Частицы с меньшим диаметром оседают очень медленно, и скорость переноса их воздухом зависит от силы воздушного потока. В витающей пыли обнаруживаются споры плесени и пигментные микробы, в осевшей — анаэробы и споровые аэробы. Воздух играет большую роль в передаче

возбудителей инфекционных болезней воздушно-капельным путем.

По мере удаления от населенных мест количество микроорганизмов в воздухе снижается. Например, содержание микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха городской улицы составляет 5 тыс., городского парка — 200, морского воздуха — 1–2, в воздухе Арктики (80° северной широты) — 0 микробов.

По мере подъема воздух становится более свободным от микроорганизмов даже над крупными промышленными городами. Большую роль в снижении численности микробов в воздухе играют зеленые насаждения. Листья деревьев и кустарников обладают значительной пылезадерживающей способностью. Кроме того, фитонциды растений оказывают на микроорганизмы губительное действие.

На микрофлору воздуха влияет также и время года. Максимальное количество микробов в воздухе обнаруживается летом (в июне–августе), минимальное — зимой (в декабре–январе). В табл. 5 представлены данные о количестве микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> на площади в центре Парижа.

Процентное содержание спорообразующих бактерий больше в зимнее время.

Ветры способствуют обогащению воздуха микробами. Воздух временно очищается от микробов, когда выпадают атмосферные осадки, так как они, проходя через воздушные слои, растворяют и адсорбируют находящиеся в воздухе взвешенные частицы с микробными клетками. В 1 мл дождевой воды, выпадающей в больших городах, содержатся тысячи бактерий. Значительное количество микроорганизмов содержит также снег.

Таблица 5

Содержание микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха на площади в центре Парижа

Время года	Содержание бактерий	Содержание плесеней
зима	4305	1345
весна	8080	2275
лето	9845	2500
осень	5665	2185

В воздухе жилых помещений были обнаружены следующие патогенные микроорганизмы: туберкулезная палочка, сибиреязвенные и столбнячные споры, пневмококки, возбудители гангрены, стрептококки, стафилококки и др. Вдыхая такой воздух, человек и животные могут заразиться той или иной болезнью.

Численный и видовой состав микрофлоры воздуха жилых и производственных помещений изменяется в широких пределах в зависимости от скопления людей, санитарно-гигиенического состояния помещений, периодичности их уборки и вентилирования, а также вида перерабатываемой продукции и характера технологических операций.

В животноводческих помещениях аэрозоли возникают при отфыркивании, быстром перемещении животных, во время раздачи кормов, особенно грубых, а также при чихании, кашле и общении обслуживающего персонала. Доказано, что в  $1 \text{ м}^3$  воздуха животноводческих помещений содержится до 2 млн микробных клеток (в том числе патогенных), а иногда и более. Степень обсемененности воздуха микроорганизмами зависит от вентиляции, скученности животных, вида помещений, способа содержания животных и раздачи сухих кормов. В помещениях с плохой вентиляцией число микробов в  $1 \text{ м}^3$  воздуха в 5–6 раз больше, чем в хорошо вентилируемых помещениях.

Санитарно-показательными микроорганизмами воздуха принято считать постоянных обитателей верхних дыхательных путей человека — зеленыщих и гемолитических стрептококков и гноеродных стафилококков. По количеству этих микроорганизмов, находящихся в воздухе, можно судить о степени обсеменения его носоглоточной микрофлорой человека и, следовательно, косвенно о санитарном состоянии воздуха.

Допустимые санитарно-бактериологические показатели для воздуха животноводческих помещений не должны превышать 500–1000 бактерий в  $1 \text{ м}^3$ .

В молочной промышленности в воздухе заводских помещений определяют общее количество бактерий, количество дрожжей и плесеней не реже 1 раза в месяц; в расфасовочных цехах сгущенного молока с сахаром — не реже 3 раз в месяц. Примерные микробиологические показатели оценки воздуха приведены в табл. 6.

Воздух холодильных камер исследуют на загрязненность спорами мицелиальных грибов. Для холодильников мясной и молочной промышленности разработаны санитарные требования, представленные в табл. 7.

Существенное влияние на численный и видовой состав микрофлоры воздуха в камерах хранения оказывает их санитарное состояние (степень обсеменения микробами стен, потолка и пола). При наличии на стенах и потолке визуально обнаруженного роста микроорганизмов, количество их на 1 м<sup>3</sup> воздуха помещения составляет сотни тысяч и даже миллионы клеток. Воздух таких помещений является источником инфицирования

Таблица 6

Микробиологические показатели для оценки воздуха помещений

Объект анализа	Отлично			Хорошо			Хорошо		
	количество колоний, выросших на чашках Петри (осаждение 5 мин)								
	бакте-рий	плесе-ней	дрож-жей	бакте-рий	плесе-ней	дрож-жей	бакте-рий	плесе-ней	дрож-жей
Воздух цеховых помещений предприятий	до 20	—	—	20–50	до 5	до 5	50–70	до 5	до 5
Воздух остальных помещений предприятий	до 30	до 5	—	30–70	5–10	до 5	70–100	до 15	5–10

Таблица 7

Санитарные требования для холодильников мясной и молочной промышленности

Оценка санитарного состояния холодильной камеры	Воздух	Стены
	Общее количество спор мицелиальных грибов, осевших на чашку Петри за 5 мин (среднее по 5 чашкам)	Общее количество спор мицелиальных грибов на 1 см <sup>2</sup> поверхности (среднее по 3 чашкам)
Хорошо	0–10	0–20
Удовлетворительно	11–50	21–100
Плохо	более 50	более 100

микроорганизмами хранящихся в них пищевых продуктов. На стенах и потолке чаще развиваются грибы родов *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, встречаются и представители родов *Mucor*, *Botrytis*, *Rhizopus*.

Микрофлора воздуха, стен, потолка камер хранения изменяется в зависимости от температуры, вида продукции и длительности ее хранения. Чем ниже температура, тем меньше микроорганизмов.

При хранении корнеплодов в 1 м<sup>3</sup> воздуха камеры хранения число спор мицелиальных грибов достигает нескольких десятков тысяч, дрожжей и бактерий — нескольких тысяч, а в 1 м<sup>3</sup> воздуха камеры хранения с яблоками могут быть обнаружены лишь единичные споры мицелиальных грибов, несколько десятков дрожжей и сотен бактерий.

С увеличением срока хранения число микроорганизмов возрастает, при этом изменяется и видовой состав микрофлоры, он становится менее разнообразным.

Способы очистки и обеззараживания воздуха можно разделить на **физические** и **химические**.

К физическим относят вентиляцию, фильтрацию, ультрафиолетовое облучение. Очистка поступающего воздуха путем фильтрации повышает эффективность вентиляции. Фильтры, пропитанные специальной пылесвязывающей жидкостью и установленные в вентиляторах, задерживают до 95% микроорганизмов и частиц пыли. Для обеззараживания воздуха производственных и других цехов ультрафиолетовыми лучами применяют бактерицидные увиолевые лампы (БУВ) разной мощности.

При химическом способе применяют дезинфицирующие препараты, которые должны быть безвредными для людей, а также не должны вызывать порчу оборудования, сырья и продуктов. Этим требованиям отвечают молочная кислота, триэтиленгликоль, хлорсодержащие препараты, которые распыляют в воздухе. Наиболее эффективны комбинированные методы очистки и дезинфекции воздуха, поэтому довольно часто используют и физические и химические способы вместе.

Для обеззараживания воздуха используют также озонирование. Бактерицидное действие озона как самого мощного в природе дезинфектанта превосходит УФ-облучение и дезинфи-

цирующие средства в 30–50 раз. Эффективность озонирования существенно зависит от концентрации озона, продолжительности обработки, численности и видового состава микрофлоры объекта. Использование озона позволяет дезинфицировать воздух в производственных помещениях с 90–99%-ной эффективностью, молокопроводы в молочной промышленности протяженностью 10–500 м. В результате озонирования камеры хранения в течение 3,5–4 ч при концентрации озона 10 мг/м<sup>3</sup> количество микроорганизмов резко снижается не только в воздухе, но и на полу и стенах. Так в воздухе гибнет до 99% всех видов микроорганизмов; количество мицелиальных грибов на поверхности стен уменьшается на 97–98%, бактерий — на 87–88%, дрожжи погибают практически все.

Высокий бактерицидный и фунгицидный эффект дает также непродолжительная, в течение 10 мин, обработка воздуха производственных помещений двуокисью азота, которая, как и озон, обладает сильными окислительными свойствами. Данный вид обработки осуществляют в соответствии с санитарными правилами только в камерах, имеющих хорошую герметизацию.

Санитарное состояние воздуха оценивается по микробному числу — количеству МАФАНМ, обнаруженных в 1 м<sup>3</sup> атмосферного воздуха, а в помещениях для животных (коровниках, свинарниках, птичниках, крольчатниках) мясо- и птицекомбинатов — по числу МАФАНМ и наличию санитарно-показательных микробов.

Бактериологическое исследование воздуха осуществляется с использованием седиментационных, аспирационно-фильтрационных (сорбционных) методов, основанных на осаждении микроорганизмов из воздуха на поверхности твердых питательных сред или задержке их в жидкой среде путем сифонирования и барботаж.

Для предотвращения развития микробов в камерах хранения необходимо регулярно проводить побелку и окраску стен и потолков, а также систематически мыть и дезинфицировать пол. В побелку целесообразно добавлять дезинфицирующие средства.

Обрабатывать производственные помещения следует до закладки продукции на хранение, а также непосредственно по-

сле освобождения складов от длительно хранившейся продукции. Предзаводская территория должна содержаться в чистоте, быть озеленена; подъездные дороги к предприятию должны быть асфальтированы; нельзя допускать во дворе наличия всевозможных отбросов, так как загрязнение воздуха цехов предприятия во многом зависит от чистоты наружного воздуха.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Укажите источники загрязнения воздуха микрофлорой.
2. Какова численность и видовой состав микрофлоры воздуха?
3. Перечислите методы определения количества микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха.
4. Какие методы обеззараживания воздуха применяются в производственных помещениях?
5. Влияет ли время года на микробную обсемененность воздуха?

## ТЕМА 13. ДЕЗИНФЕКЦИЯ, ДЕЗИНСЕКЦИЯ И ДЕРАТИЗАЦИЯ НА МЯСО- И МОЛОКО- ПЕРЕРАБАТЫВАЮЩИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

---

**Дезинфекция** (от фр. *des* — устранение и лат. *infectio* — заражение) — способ обеззараживания объектов внешней среды, направленный на уничтожение в них патогенных микроорганизмов. Воздействуя на возбудителей патогенных болезней, дезинфекция ограничивает или полностью исключает из эпизоотологического процесса его вторую биологическую движущую силу — механизм передачи возбудителя инфекции. Понятие дезинфекции (обеззараживание) следует отличать от обезвреживания — уничтожения не только патогенных микробов, но и продуктов их жизнедеятельности — токсинов, а также от стерилизации, при которой наряду с патогенными уничтожаются и все другие микроорганизмы.

Разнообразие объектов, подлежащих дезинфекции, обуславливает необходимость применения разнообразных методов и средств, обеспечивающих их обеззараживание.

Существует несколько методов обеззараживания различных объектов: **механический, физический, химический, биологический и бактериологический**. Каждый из этих методов используют в практике либо как самостоятельный, либо в сочетании с другим.

К механической дезинфекции относятся очистка, применение механических препятствий, ограждений и ловушек для насекомых.

Физический метод дезинфекции заключается в обезвреживании объектов внешней среды с помощью физических средств:

механической очистки, лучистой энергии, высушивания, высокой температуры, токов высокой частоты и ультразвука.

Химический метод дезинфекции сводится к применению различных химических средств, чаще в виде водных растворов, реже в виде твердых или сыпучих веществ, газа и аэрозоля. Химические средства наиболее доступны и широко применяются в практике для дезинфекции различных объектов, в том числе на предприятиях по переработке мясопродуктов и молокоперерабатывающей промышленности.

Биологический метод дезинфекции — это уничтожение возбудителей инфекционных болезней во внешней среде средствами биологической природы (например, с помощью микробов-антагонистов, молочнокислых, термофильных микроорганизмов).

Контроль качества дезинфекции проводится бактериологическим методом: на объекты наносят смесь тест-микробов (взвесь кишечной палочки и стафилококков), выдерживают несколько часов, а затем поверхность заливают дезинфицирующим раствором. Через 3–4 ч после дезинфекции влажными стерильными тампонами берут пробы с поверхности обработанных объектов. Далее тампоны отжимают, жидкость центрифугируют и проводят бактериологическое исследование осадка путем посева на элективные питательные среды. Дезинфекция признается удовлетворительной, если на питательных средах нет роста тест-микробов.

Передача возбудителя от зараженного животного здоровому может осуществляться как через инфицированные объекты неживой природы, так и живыми посредниками-переносчиками (насекомые, клещи, грызуны и т. д.). Поэтому в систему мер по дезинфекции входят **дезинсекция** (от *лат. des* — устранию и *insectum* — насекомое) и **дератизация** (от *лат. rattus* — крыса), направленные на уничтожение членистоногих (насекомых и клещей) и грызунов-носителей и распространителей возбудителей многих инфекционных болезней.

Обилие разнообразной пищи, надежные укрытия, сложные системы трубопроводов и канализаций и многие другие причины затрудняют борьбу с грызунами на мясоперерабатывающих и холодильных предприятиях. Поэтому соблюдение ветеринарно-санитарных и технических правил по эксплуатации произ-

водственных помещений, поддержание общесанитарного порядка на территории крайне важно.

На пищевых предприятиях с обилием сырья и вареного мяса грызуны более охотно поедают приманки из сладких каш, картофельного пюре и фруктов. В качестве ядов применяют зоокумарин, ратиндан и др. Дератизацию следует проводить всеми возможными методами и средствами в соответствии с конкретными условиями. Борьба с грызунами эффективна только в том случае, если все объекты, расположенные в хозяйстве, подвергаются обработке.

Дезинфекция, дезинсекция и дератизация как меры, направленные против распространения заразных болезней, имеют исключительно важное значение в профилактике и ликвидации инфекционных болезней животных и человека. Поэтому их проводят не только в животноводческих хозяйствах, но и на предприятиях по убою животных и переработке сырья животного происхождения (мясо- и молококомбинаты, бойни, кожзаводы и др.), а также на транспорте.

### ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДЕЗИНФЕКЦИИ, СТЕРИЛИЗАЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Дезинфекция включает работы по обеззараживанию помещений, оборудования, мебели, транспорта, посуды, белья, игрушек, изделий медицинского назначения, предметов ухода за больными, пищевых продуктов, остатков пищи, выделений, технологического оборудования по переработке сырья и продуктов, санитарно-технического оборудования, посуды изпод выделений, одежды, обуви, книг, постельных принадлежностей, питьевых и сточных вод, территории и т. д.

Обеззараживание объектов следует проводить следующими способами:

- орошением дезинфицирующим раствором всех поверхностей помещений, оборудования, мебели, транспорта и др.;
- направленным нанесением на обрабатываемые поверхности с помощью распылителей дезинфицирующих растворов в виде аэрозолей;

- обработкой дезинфицирующими аэрозолями герметичных помещений (боксы, транспорт и т. д.) объемным методом;
- протирание ветошью, смоченной дезинфицирующим раствором, поверхностей мебели, оборудования, игрушек, изделий медицинского назначения, предметов ухода за больными, пищевых продуктов и т. д.;
- погружением в дезинфицирующий раствор посуды, белья, игрушек, изделий медицинского назначения, предметов ухода за больными, пищевых продуктов и т. д.;
- обработкой дезинфицирующими средствами в виде порошков, гранул или их концентрированными растворами выделений, остатков пищи, трупов, мусоросборников, почвы и т. д.;
- обработкой в камерах паровоздушной смесью, паром, пароформалиновой смесью, горячим воздухом одежды, обуви, постельных принадлежностей, мягких игрушек и т. д.;
- облучением ультрафиолетовыми лучами воздуха помещений и поверхностей оборудования.

Выбор способа дезинфекции определяется особенностями обеззараживаемого объекта.

В качестве дезинфицирующих средств следует использовать:

- механические (фильтрация, мытье и др.);
- физические (сжигание, горячий воздух, кипячение, пар, ультрафиолетовое излучение и др.);
- химические соединения из различных групп (галоидсодержащие, кислородсодержащие, альдегиды, фенолсодержащие, поверхностно-активные вещества, гуанидины, кислоты, щелочи и др.) или композиционные препараты на их основе.

Дезинфицирующие средства должны обладать бактерицидным и/или вирулицидным, фунгицидным, спороцидным действием. Не допускается применение средств, обладающих статическим действием, т. е. только задерживающим рост микроорганизмов.

При выборе дезинфицирующих средств необходимо учитывать:

- особенности обрабатываемого объекта (материал, форма, размер, наличие загрязнений органической и неорганической природы и др.);

- биологические свойства микроорганизма (устойчивость к физическим и химическим дезинфицирующим агентам и длительность выживания на объектах внешней среды, вид и форма существования);
- особенности дезинфицирующих средств (спектр антимикробного действия, действующее вещество и его концентрация, растворимость в воде, способы применения, токсичность, влияние на обрабатываемые объекты и окружающую среду и др.).

Дезинфицирующие средства, предназначенные для обеззараживания изделий медицинского назначения, обязательно должны обладать вирулицидным действием.

Все изделия медицинского назначения после использования необходимо обеззараживать, независимо от того, будут ли они подвержены последующей стерилизации или нет.

## СТЕРИЛИЗАЦИЯ

Стерилизация включает работы по предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

Предстерилизационную очистку разрешается проводить следующими способами:

- ручным — путем предварительного ополаскивания изделий под проточной водой, замачивания (кипячения) в моющем растворе, ополаскивания в проточной, а затем в дистиллированной воде и сушки горячим воздухом;
- механизированным — с использованием специального оборудования по заложенной в нем технологии.

В качестве средств для предстерилизационной очистки следует использовать моющие (ферментсодержащие, синтетические) средства, дезинфицирующие средства с моющим эффектом и др.

Средства для предстерилизационной очистки должны обладать хорошим моющим эффектом, низким пенообразованием, хорошей растворимостью в воде, отсутствием повреждающего действия на очищаемые изделия.

При выборе средства для предстерилизационной очистки необходимо учитывать:

- особенности обрабатываемых изделий (материал, размер, форма, массивность загрязнений и др.);
- особенности средств (действующее вещество и его концентрация, растворимость в воде, способы применения, токсичность, влияние на обрабатываемые изделия и окружающую среду и др.).

Стерилизацию изделий медицинского назначения разрешается проводить следующими способами:

- обработкой в стерилизаторах (паровой, воздушный, газовый и др.);
- ионизирующим облучением;
- погружением объектов в растворы стерилизующих средств. В качестве стерилизующих средств следует использовать:
  - сухой и горячий воздух, пар под избыточным давлением, ионизирующие излучения и др. (физические методы);
  - химические соединения из различных групп в виде растворов (хлорсодержащие, кислородсодержащие, альдегиды, композиционные препараты на их основе) и газов (альдегиды, окиси и др.).

Для стерилизации не разрешается применять средства, не обладающие спороцидным действием. При выборе стерилизующих средств необходимо учитывать:

- особенности стерилизуемых изделий (материал, форма, размер и др.);
- особенности стерилизующих средств (действующий агент и его концентрация или доза, способы применения, токсичность, влияние на стерилизуемые изделия и окружающую среду и др.).

Изделия, стерилизуемые термическим (паровой, воздушный), газовым и радиационным методами, предварительно следует упаковывать в соответствии с действующими нормативными документами. В ряде случаев допускается стерилизация без упаковки при условии использования изделия в сроки, регламентированные инструктивно-методическими документами на конкретный вид оборудования.

Материалы, используемые в качестве упаковки, должны отвечать следующим основным требованиям:

- не снижать эффективности стерилизации упакованных изделий медицинского назначения;

- быть непроницаемыми для микроорганизмов;
- сохранять прочность после стерилизации соответствующим методом;
- быть проницаемыми для стерилизующего агента.

Следует использовать только упаковки, разрешенные для данной цели в установленном порядке.

## ДЕЗИНСЕКЦИЯ

Дезинсекционные мероприятия — это комплекс санитарно-технических, гигиенических и истребительных мероприятий, направленных на защиту населения от нападения членистоногих (насекомых, клещей) в населенных пунктах (здания и прилегающая территория) и в открытой природе.

Дезинсекцию разрешается проводить путем:

- орошения растворами инсектицидов поверхностей в помещениях, оборудования, мебели, транспортных средств и т. д.;
- нанесения растворов инсектицидов в виде аэрозолей на поверхности, насыщения аэрозолями инсектицидов или репеллентов во всем объеме помещений и транспортных средств;
- фумигации аэрозолями, дымами, туманами инсектицидов герметизированных помещений и транспортных средств;
- нанесения инсектицидов в виде лаков, дустов, гелей или других инсектицидных покрытий на поверхности;
- применения инсектицидных приманок локально в местах скопления, укрытия и перемещения членистоногих;
- импрегнации растворами инсектицидов или репеллентов поверхности одежды, штор, пологов, палаток и др.;
- обработки дустами инсектицидов одежды, постельных принадлежностей и др.;
- нанесения инсектицидов и репеллентов в форме шампуней, лосьонов, дустов, мазей и тому подобное на различные части тела людей;
- обработки в специальных камерах паровоздушной смесью, паром, сухим горячим воздухом одежды, обуви, постельных принадлежностей, мягких игрушек;
- обработки водными растворами, водными суспензиями, аэрозолями, ультрамалообъемным опрыскиванием, дымами, туманами инсектицидов или биологических препаратов

при помощи специальной распыляющей аппаратуры (как авиа-, так и наземной) растительности, водных поверхностей, строений, в том числе на территории природно-очаговых инфекций, и по эпидпоказаниям.

Выбор способа дезинсекции определяется особенностями обрабатываемого объекта.

В качестве дезинсекционных методов следует использовать:

- физические (сжигание, сухой или влажный горячий воздух, горячая вода, пар, низкие температуры, генераторы звуковых колебаний);
- механические (ловушки, клеевые поверхности);
- химические соединения из различных групп (фосфорорганические, карбаматы, пиретроиды и др.) или композиционные препараты на их основе;
- биологические средства (синтетические регуляторы развития, возбудители болезней членистоногих — бактерии, вирусы, грибы, простейшие, гельминты, а также хищники-энтомофаги и др.);
- репелленты и аттрактанты.

Дезинсекционные средства должны обладать инсектицидным и/или акарицидным (овициды, имагоциды, ларвициды), или репеллентным действием. При выборе дезинсекционных средств необходимо учитывать:

- особенности обрабатываемых объектов (тип, санитарно-техническое состояние);
- биологические особенности членистоногих (вид, стадия развития, устойчивость к инсектицидам);
- особенности дезинсекционных средств (действующее вещество и его концентрация, спектр инсектицидного или репеллентного действия, форма и способ применения, токсичность для людей и животных, влияние на обрабатываемые объекты и окружающую среду и др.).

## ДЕРАТИЗАЦИЯ

Дератизационные мероприятия — это комплекс санитарно-гигиенических, инженерно-технических и истребительных мероприятий. Дератизация включает работы по истреблению синантропных грызунов в населенных пунктах и

на транспорте, а по эпидпоказаниям — грызунов-носителей и очагов инфекционных заболеваний человека и животных в открытой природе.

Дератизацию объектов разрешается проводить следующими методами:

- раскладкой пищевых отравленных приманок в местах концентрации и перемещения грызунов в помещениях (коммуникациях) и открытых станциях;
- опылением входов в норы и путей перемещения грызунов;
- применением механических средств отлова (капканы, живоловки, клеевые покрытия) в помещениях и открытых станциях в населенных пунктах;
- применением липких ядовитых покрытий в местах перемещения грызунов и у входов в норы;
- газацией изолированных складских помещений и транспорта;
- подачей газообразных ядов (газация) или порошкообразных родентицидов (опыливание) в норы грызунов в открытой природе на территориях природно-очаговых инфекционных заболеваний человека и животных при помощи специальной аппаратуры;
- применением ультразвуковых установок для отпугивания грызунов.

В качестве дератизационных средств следует использовать:

- физические (генераторы ультразвуковых колебаний и т. п.);
- механические (капканы, ловушки, живоловки, клеевые покрытия);
- химические (яды острого действия, антикоагулянты, препараты на основе витамина D и др.);
- биологические (микроорганизмы, вызывающие инфекционные заболевания грызунов и др.).

Дератизационные средства должны обладать родентицидным или репеллентным действием. При выборе дератизационных средств необходимо учитывать:

- особенности обрабатываемого объекта (тип, категория, санитарно-техническое состояние);
- биологические особенности грызунов (вид, особенности размещения, устойчивость (и чувствительность) к дератизационным средствам и др.);

- особенности роденгицидов (действующее вещество и его концентрация, острое или хроническое действие, форма и способ применения, токсичность для людей и животных, влияние на обрабатываемые объекты, окружающую среду и др.).

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. В чем заключается суть физического, химического и биологического методов дезинфекции?
2. Какие методы дезинсекции вы знаете?
3. Какие методы дезинфекции применяются в производственных условиях?
4. Назовите цель и методы стерилизации, применяемой в производственных условиях.
5. Назовите цель и методы дезинсекции, применяемой в производственных условиях.
6. Назовите цель и методы дератизации, применяемой в производственных условиях.

---

**ЛАБОРАТОРНЫЕ  
ЗАНЯТИЯ  
ПО САНИТАРНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ**

**Микробиологические исследования  
по всем лабораторным темам  
проводятся согласно ГОСТам РФ.**

# ТЕМА 1. ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОТБОРА ПРОБ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

---

**Цель занятия.** Ознакомить студентов с общими правилами отбора, консервирования, транспортировки и хранения материалов для микробиологических исследований. Отбор проб регламентирован ГОСТ 21237-75 и ГОСТ Р 51447-99.

## ОТБОР ПРОБ

В зависимости от предполагаемого диагноза и характера патолого-анатомических изменений в микробиологический или бактериологический отдел производственной лаборатории от каждой туши направляют пробы следующих мышц, лимфатических узлов и внутренних органов:

- часть мышцы сгибателя или разгибателя передней и задней конечности туши, покрытую фасцией, длиной не менее 8 см или части другой мышцы размером не менее 8×6×6 см;
- лимфатические узлы от крупного рогатого скота — поверхностный шейный и наружный подвздошный вместе с окружающей их соединительной и жировой тканью; от свиней — поверхностный или шейный дорсальный, либо подкрыльцовый первого ребра, коленной складки и подчелюстной (1 или 2);
- долю печени с печеночным лимфатическим узлом или желчным пузырем, освобожденным от желчи, почку и селезенку; если для исследования отбирают часть печени, почки, селезенки, то поверхность разреза прижигают.

Для бактериологического исследования при подозрении на листериоз направляют головной мозг, долю печени и почку. При подозрении на сибирскую язву, эмкар и злокачественный отек на анализ направляют лимфатический узел пораженного органа или лимфатический узел, собирающий лимфу с места локализации подозрительного фокуса, отечную ткань, ухо, а у свиней, кроме того, подчелюстной лимфатический узел. При подозрении на рожу свиней, помимо проб мышц, лимфатических узлов и внутренних органов, в лабораторию направляют трубчатую кость.

Для исследования полутуш или четвертин туш берут часть мышцы, лимфатические узлы и трубчатую кость. Для исследования соленого мяса, находящегося в бочках, отбирают пробы мышц и лимфатических узлов (из верхнего слоя, середины и со дна бочки), а также при наличии трубчатую кость и рассол (около 500 см<sup>3</sup>).

При исследовании мяса мелких животных (кроликов, нутрий) в лабораторию направляют целые тушки вместе с внутренними органами.

Для определения микробиологических показателей в соответствии с медико-биологическими требованиями (МБТ) № 5061-89 отбирают часть мышцы без кости и жира массой 1000 г.

Следует учитывать, что никакая единичная проба, взятая от туши или другого большого куска мяса, не может быть показательной для продукта в целом. Однако на целой туше или большом куске мяса проведение исследований невозможно, поэтому способ взятия первичных или вторичных проб зависит от их назначения.

Единичные пробы с поверхности (например, для обнаружения БГКП или сальмонелл) отбирают путем обтирания всей поверхности (или выбранных участков) большими влажными тампонами, а для проведения количественных микробиологических исследований путем разметки с помощью шаблона (трафарета) участков, из которых затем вырезают пробу, а для замороженного мяса — соскабливают с поверхности.

Пробу мышц для микробиологического исследования (определение причин порчи мяса у кости) отбирают от пораженной части туши при помощи инструмента из нержавеющей ста-

ли для рассечения мышцы; из образцов замороженного мяса — с помощью терки.

Единичные пробы, например, из замороженного мяса, упакованного под вакуумом, отбирают асептически с применением стерильных шприцев, колб и банок через фольгу либо после вскрытия упаковки.

Вторичную пробу отбирают от первичной, взятой для химического или микробиологического исследования, со стороны поверхности свежего среза с минимальным повреждением ткани.

Взятые пробы упаковывают по отдельности в пергамент или полиэтиленовую пленку и помещают в общий бумажный пакет, на котором ставят дату отбора образцов, номер туши, после чего направляют в лабораторию в общей таре.

В сопроводительном документе указывают:

- наименование продукта с указанием вида мяса, от которого взят образец, и его количество;
- номера образцов;
- наименование и адрес предприятия или хозяйства, где отобран образец; эпизоотическое состояние данного предприятия или хозяйства по инфекционным заболеваниям;
- причину направления образцов на исследование;
- результаты предубойного осмотра животного, краткие патолого-анатомические данные и предполагаемый диагноз;
- дату взятия образцов и подпись направившего их на исследование.

При отправке материала для бактериологического исследования в теплое время года или на дальние расстояния пробы рекомендуются законсервировать. С этой целью используют 30% -ный водный раствор глицерина или стерильное вазелиновое масло.

Пробы можно обрабатывать спиртом и обжигать на пламени горелки, а также перед упаковкой выдержать 30–40 с в кипящей воде.

Пробы направляют на исследование в лабораторию непосредственно после отбора. Их температура должна соответствовать температуре хранения продукта. Пробы охлажденных продуктов транспортируют при температуре от 0 до +2°C, если исследование будет проведено в течение 24 ч. При температуре не

выше  $-24^{\circ}\text{C}$ , если исследование будет проводиться не ранее чем через 24 ч.

Образцы для физического или органолептического анализа обычно не замораживают.

При транспортировке образцов необходимо принять меры для предотвращения воздействия прямых солнечных лучей на отобранные пробы, которые должны быть доставлены в лабораторию в неповрежденном состоянии, без нарушения целостности упаковки и изоляции (пломбы, печати).

На мясоперерабатывающих предприятиях, убойных пунктах хозяйств тушу и другие продукты убоя в период после взятия проб и до получения результатов бактериологического анализа следует хранить в отдельных камерах при низкой положительной температуре ( $+4\dots+6^{\circ}\text{C}$ ). На рынках всю тушу и внутренние органы после взятия проб помещают в рыночный холодильник-изолятор при температуре  $0\dots+4^{\circ}\text{C}$ . До получения результатов исследования реализация мяса не разрешается, запрещено также возвращать тушу владельцу.

Пробы мяса, предназначенные для микробиологического анализа, исследуют непосредственно после поступления их в лабораторию. Если это невозможно, то сразу после получения их помещают в холодильник и исследуют в течение 24 ч. При более длительном сроке хранения образцы замораживают при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ .

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. От каких обстоятельств зависит выбор образцов мышц, лимфатических узлов и внутренних органов?
2. Какой массы должен быть образец для проведения медико-биологических исследований?
3. Каковы правила упаковки проб, направляемых для исследования?
4. Какие сведения должны быть указаны в сопроводительном документе?
5. При какой температуре должны транспортироваться и храниться отобранные пробы?

## ТЕМА 2. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ПРОМЫСЛОВЫХ ЖИВОТНЫХ

---

**Цель занятия.** Обучить студентов методам бактериологического исследования сырого мяса животных. Провести исследование на индикацию возбудителя сибирской язвы, сальмонеллеза и наличие кишечной палочки.

**Материальное оснащение.** Образцы мяса различной степени свежести. Предметные стекла, набор красок для окраски по Граму, пинцеты, ножницы, скальпель, спиртовки, микроскопы. Для бактериологического исследования мяса: петли, чашки Петри с МПА, среды обогащения, селективные среды Эндо, Левина, Плоскирева, ВСА. Специфические поливалентные и монорецепторные О- и Н-агглютинирующие сальмонеллезные сыворотки.

**Таблица.** Микроскопическое исследование мяса.

Бактериологическое исследование мяса и мясных продуктов проводят в соответствии с ГОСТ 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа» и другими нормативными документами, утвержденным Госэпиднадзором и Департаментом ветеринарии МСХ РФ.

Мышцы здоровых животных и птиц не содержат микроорганизмы. Загрязнение мяса микробами начинается в момент убоя. Кровь, вытекающая из артерий, отчасти засасывается вновь через вены, зияющие в ране и имеющие отрицательное давление. Обсеменение поверхности мяса происходит при снятии шкуры и разделке туши. Особенно обильно загрязняется мясо, если при обработке туши повреждают кишечник. Дальнейшее загрязнение поверхности мяса происходит при нарушении норм и правил транспортировки и хранения. Микроорганизмы, попавшие в мясо, при благоприятной температуре

могут размножаться. Поскольку этот продукт является хорошей питательной средой, то их количество на 1 см<sup>2</sup> поверхности мяса может достигать нескольких миллионов.

Гарантией доброкачественности и эпидемической безопасности мяса и мясных продуктов на этапе их продвижения от предприятия к потребителю является ветеринарный и санитарно-микробиологический контроль. Бактериологическое исследование мяса проводят во всех случаях, предусмотренных НТД (научно-технической документацией) и правилами ВСЭ, а именно:

- при вынужденном убое животных независимо от причин убоя;
- при желудочно-кишечных болезнях и тяжело протекающих заболеваниях органов дыхания;
- при подозрении в обсеменении мяса возбудителями зооантропонозов или пищевых токсикоинфекций и токсикозов;
- при удалении кишечника из туши позже 2 ч после убоя животного.

На бактериологическое исследование направляют мясо, если невозможно определить его пригодность в пищу по результатам органолептического исследования, а также по ряду физико-химических показателей; при наличии обильного микробного обсеменения, установленного в результате микроскопии мазков-отпечатков, т. е. при сомнении в отношении пригодности мяса и невозможности определить пригодность его в пищу путем ветеринарно-санитарного осмотра.

Чаще на поверхности мясных туш находятся бактерии группы кишечных палочек, стафилококки и микрококки, молочнокислые бактерии, различные виды гнилостных аэробных бацилл и анаэробных клостридий, дрожжи и споры плесневых грибов.

**Отбор проб.** В зависимости от предполагаемого диагноза и характера патолого-анатомических изменений в микробиологический отдел от каждой туши направляют пробы мышц, лимфатических узлов и внутренних органов.

Взятые пробы упаковывают по отдельности и помещают в общую упаковку, на которой ставят дату отбора образцов, номер туши. Тару с образцами опечатывают.

В сопроводительном документе указывают вид и количество мяса, номера образцов, адрес хозяйства, причину исследова-

ния, дату, также в документе должна быть подпись направившего. Пробы охлажденных продуктов транспортируют при температуре 0...+2°C.

Пробы мяса, предназначенные для микробиологического анализа, исследуют непосредственно после поступления их в лабораторию.

Микробиологический контроль мяса и мясопродуктов проводят для определения количества МАФАНМ, бактерий группы кишечных палочек, возбудителей зооантропонозов, обнаружения сальмонелл, палочки протей, токсичных стафилококков и патогенных анаэробов в случае сомнений в отношении пригодности мяса и невозможности определить пригодность его в пищу путем ветеринарно-санитарного осмотра.

Исследование мяса состоит из следующих этапов:

1. Органолептическая оценка мяса.
2. Микроскопическое исследование препаратов, приготовленных из мяса, окрашенных по Граму, на капсулу и споры.
3. Первичный посев на МПА, МПБ, селективные и специальные среды, среды обогащения.
4. Идентификация выделенных культур по морфологическим, культурально-биохимическим и антигенным свойствам.
5. Заражение лабораторных животных в необходимых случаях.

Продолжительность бактериологического исследования мяса 3 суток, при постановке биопробы до 10 суток. Исследуемые туши после взятия проб помещают в холодильник-изолятор при температуре 0...+4°C.

**1. Органолептическая оценка мяса.** Свежее доброкачественное мясо при подсыхании образует корочку бледно-красного цвета; на разрезе оно плотное, эластичное, ямка после надавливания быстро исчезает. Несвежее мясо (сомнительной свежести) покрыто плотной, темно-красной или ослизненной корочкой; консистенция его мягкая, несколько дряблая, образующаяся при надавливании ямка восстанавливается. Поверхность несвежего, непригодного в пищу мяса ослизненная, консистенция дряблая, мажущаяся, жир слизистый с прогорклым запахом — такое мясо бракуют.

2. Для микроскопического исследования мяса из каждой пробы готовят препараты-отпечатки для окрашивания по Гра-

му, на наличие капсул — по Ольту или Михину (см. вклейку, ил. I). В каждом препарате изучают не менее 25 полей зрения.

Для приготовления препарата-отпечатка стерильными ножницами вырезают из середины каждого образца кусочек размером 1,5×2×2,5 см и прикладывают к предметному стеклу местом свежего среза. Делают по три отпечатка на 2–3 предметных стеклах. Мазки высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем горелки. Их можно фиксировать физическим или химическим методом. При химическом методе фиксации препараты погружают в метанол на 5 или 15 мин в смесь Никифорова (равные объемы спирта и эфира), окрашивают по Граму и подсчитывают количество микроорганизмов в каждом поле зрения, учитывая отдельно шаровидные и палочковидные (табл. 8).

Мясо считается свежим, если в мазках-отпечатках не обнаружена микрофлора или в поле зрения препарата видны единичные (до 10 клеток) кокки и палочковидные бактерии и нет следов распада мышечной ткани.

Препарат-отпечаток из мяса сомнительной свежести окрашивается удовлетворительно, видны следы распада мышечной ткани, ядра мышечных волокон в состоянии распада. При просмотре в каждом поле зрения обнаруживается не более 30 кокков или палочек.

Препарат-отпечаток из мяса, непригодного в пищу, хорошо окрашивается.

В поле зрения в препаратах, как из поверхностных, так и из глубинных слоев, преобладают палочки. При сильном раз-

Таблица 8

Оценка свежести мяса  
микроскопическим методом

Степень свежести мяса	pH мяса	Микроскопические показатели
Свежее	5,8–6,2	Единичные кокки или палочки. На стекле нет остатков ткани
Сомнительной свежести	6,3–6,5	До 20–30 кокков, единичные палочки. На стекле следы распада мышечной ткани
Несвежее, непригодное в пищу	6,7 и выше	Множество палочек. На стекле распавшаяся мышечная ткань

ложении мяса кокки почти отсутствуют, все поле зрения состоит из палочек. Среди них могут быть кишечные палочки, флуоресцирующие бактерии, спорообразующие бактерии. Из аэробных спорообразующих бактерий — *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, из факультативно-анаэробных — *Proteus vulgaris*, из анаэробных — *Cl. putrificus*, *Cl. sporogenes*.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МАФАНМ

**Методика.** Исследуемый образец мяса перед посевом освобождают от видимой жировой и соединительной ткани, погружают на 2–3 мин в этиловый спирт и обжигают поверхность. Затем стерильными ножницами из глубины различных мест каждого образца вырезают кусочки размером не менее 2,0×1,5×2,5 см. Лимфатические узлы разрезают пополам.

Все кусочки измельчают с соблюдением правил асептики, для посева составляют две пробы по 15 г каждая. Одна проба состоит из кусочков мышц и лимфатических узлов, а вторая — из кусочков паренхиматозных органов (печени, почки и селезенки).

Каждую пробу в отдельности помещают в стерильный стакан гомогенизатора, добавляют по 15 мл физиологического раствора и гомогенизируют не более 2–3 мин (при этом 1 мл приготовленной взвеси содержит 0,5 г продукта). При отсутствии гомогенизатора взвесь готовят в фарфоровых ступках, растирая пестиком измельченные ножницами образцы в течение 2–3 мин.

Полученную взвесь отстаивают 10 мин. Из верхней части надосадочной жидкости готовят ряд последовательных разведений 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000. 1 г мяса и по 1 мл из каждого разведения вносят параллельно в 2 чашки Петри, заливают расплавленным и охлажденным до температуры +50°С МПА (метод горячей заливки). Каждую чашку тщательно и осторожно перемешивают, охлаждают, переворачивают вверх дном и инкубируют в термостате 24–48 ч при температуре +30°С. Чтобы определить количество мезофильных бактерий в 1 г мяса, подсчитывают количество колоний в двух параллельных посевах, определяют среднеарифметическое число и умножают на степень разведения.

Для вычисления среднего арифметического нельзя использовать посева, где количество выросших колоний на чашках менее 3 и более 300. При этом используются следующие формулировки в зависимости от результата:

- при отсутствии роста колоний — «Количество микроорганизмов менее одного»;
- если оказалось, что при посеве из всех разведений на поверхности агара выросло менее 30 колоний, рекомендуется написать: «Рост единичных колоний при посеве (указать количество засеянного продукта)»;
- если на изучаемых чашках более чем на половине их площади имеется расплывающийся рост спорообразующих микроорганизмов и подсчет изолированных колоний невозможен, в результате анализа следует написать: «Рост спорообразующих микроорганизмов».

Результаты исследований выражают в **КОЕ** — колонии образующих единиц в г/мл.

**Указанные методы подсчета колоний относятся ко всем нижеперечисленным продуктам и методам.**

Чашки с первичными посевами на плотных питательных средах просматривают визуально, а при необходимости и через лупу. Обращают внимание на колонии, характерные для возбудителей сибирской язвы, рожи свиней, пастереллеза, листериоза, кокковых инфекций, а также напоминающих рост микроорганизмов, вызывающих пищевые отравления у людей.

Мясо оценивают в соответствии с Санитарными правилами и нормами (СанПиН), в 1 г парного мяса допускается не более 10 КОЕ/г МАФАНМ (колонии образующих единиц), в охлажденных и переохлажденных отрубках не более 1000 КОЕ/г МАФАНМ.

## ИНДИКАЦИЯ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

Для выявления БГКП в определенном навеске мяса готовят исходное и ряд 10-кратных разведений на физрастворе с таким расчетом, чтобы в посевах на плотных питательных средах получить изолированные колонии. Затем по 1 мл различных разведений вносят в жидкие селективные питательные среды (в бульон лактозный с бриллиантовым зеле-

ным и желчью или в среду Кесслера). Посевы выдерживают в термостате при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ , предварительный учет проводят через 24 ч, окончательный — через 48 ч по интенсивному росту микроорганизмов, признаками которого являются помутнение среды, образование газа, изменение цвета индикатора в результате подкисления рН.

Для подтверждения принадлежности микроорганизмов к БГКП проводят высеv 0,1 мл культуральной жидкости на одну из дифференциально-диагностических сред (Эндо, Смирнова). Инкубируют в термостате в течение 24 ч. На агаре Эндо они образуют красные колонии с металлическим блеском (и без), на среде Смирнова — желтые колонии с изменением среды в тот же цвет.

Для более быстрого получения результатов разрешено проводить первичный посев 0,1 мл исходного или 10-кратного разведения непосредственно на плотные питательные среды, что позволяет сделать заключение о наличии (отсутствии) БГКП в определенном навеске продукта через 24 ч. Для этого отбирают чашки с посевами, на которых выросло от 15 до 150 характерных колоний. Не менее чем из пяти колоний готовят мазки, окрашивают по Граму, изучают морфологические и тинкториальные свойства.

Одновременно с изучением морфологических, культуральных, ферментативных свойств проводят серологическую типизацию культур эшерихий при помощи набора типоспецифических агглютинирующих О-коли сывороток. По классификации, утвержденной Международным номенклатурным комитетом в 1964 г., род эшерихий представлен одним видом *E. coli*, который насчитывает около 160 сероваров.

В 1 г парного мяса в соответствии с Санитарными правилами и нормами бактерии группы кишечной палочки не допускаются.

При идентификации выделенных культур следует иметь в виду, что эшерихии — грамтрицательные палочки; спор и капсул не образуют; подвижны; ферментируют лактозу и маннит; не разжижают желатин; не выделяют сероводород; образуют индол; не утилизируют цитраты и не растут на среде Симмонса; дают положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную — Фогеса-Проскауэра; не расщепляют мочевины.

## ИНДИКАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ПАЛОЧКИ

На основании результатов анализа определяют наличие (отсутствие) сальмонелл и их количество в навеске продукта массой 25 г. Для этого готовят измельченную навеску массой 25 г, вносят ее в колбу с 225 мл среды обогащения (селенитовый бульон, тетратионатная среда) с последующим выдерживанием в термостате (соответственно при температуре +37 или +42°C) в течение 24–48 ч.

Следует иметь в виду, что на селенитовом Ф-бульоне *S. typhi suis* и *S. cholerae suis*, как правило, не растут. *S. cholerae suis* растет лучше на среде Киллиана.

При появлении роста на средах обогащения из них делают пересев на плотные селективно-диагностические среды в чашках Петри (агар Эндо, Левина, ВСА) по секторам для получения изолированных колоний.

Посевы выдерживают в термостате 24 ч при температуре +37°C, исследуют на наличие колоний, подозрительных по своим характеристикам — на сальмонеллы.

Сальмонеллы, как не ферментирующие лактозу микроорганизмы, в подавляющем большинстве дают типичный рост на дифференциально-диагностических средах:

- Эндо (фуксин-сульфитный агар) — круглые, бесцветные колонии;
- Левина — прозрачные, нежно-розовые колонии;
- Смирнова — прозрачные, серовато-фиолетовые колонии;
- Плоскирева — бесцветные колонии, но более плотные и меньшего размера, чем на среде Эндо;
- висмут-сульфитном агаре (ВСА), который применяется для **целенаправленного выделения сальмонелл**, — как правило, черные или коричневые колонии с характерным металлическим блеском. При этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией. Исключение составляют некоторые серологические типы из группы С, в частности, *S. typhisuis*, растущие на ВСА в виде светло-зеленых колоний.

Из колоний, подозрительных на сальмонеллы, готовят мазки, окрашивают по Граму, изучают культуральные и фермен-

тативные свойства. У всех подозрительных культур определяют антигенную структуру, устанавливают род и идентифицируют до вида.

Сальмонеллы — грамотрицательные палочки; подвижные, за исключением *S. pullorum-gallinarum*; не ферментируют лактозу и сахарозу; расщепляют глюкозу и маннит; выделяют сероводород; не образуют индол.

В заключении указывают, обнаружены или отсутствуют сальмонеллы в 25 г исследуемого мяса.

В табл. 9 представлены микробиологические показатели мяса и мясопродуктов.

Качество мяса и мясопродуктов после проведения микробиологического анализа оценивают в соответствии с Санитарными правилами и нормами (СанПиН), по которым в 25 г мяса

Таблица 9

**Микробиологические показатели  
мяса и мясопродуктов**

Группа продуктов	МАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускают наличие бактерий		
		БГКП	СРК	патогенные МО, в том числе сальмонеллы
<b>Мясо свежее (все виды убойных животных)</b>				
Парное в отрубях (полутуши, четвертины)	10	1,0	—	25
Охлажденное и переохлажденное в отрубях	$1 \cdot 10^3$	0,1	—	25
<b>Мясо замороженное (все виды убойных животных)</b>				
В отрубях (полутуши)	$1 \cdot 10^4$	0,01	—	25
Блоки из жилованного мяса (говядина, свинина, баранина)	$5 \cdot 10^5$	0,001	—	25
<b>Полуфабрикаты мясные натуральные</b>				
Фарш свежий	$5 \cdot 10^6$	0,001	—	25
<b>Субпродукты убойных животных (охлажденные, замороженные)</b>				
Печень, почки, язык, мозги, сердце	—	—	—	25

не допускается присутствие патогенных бактерий, в том числе сальмонелл и листерий.

**Обеззараживание условно годного мяса.** Данную процедуру проходят мясо и мясопродукты, которые не могут быть выпущены без предварительной обработки. Способ их обеззараживания следующий: варят кусками массой не более 2 кг и толщиной до 8 см в открытых котлах в течение 3 ч, а в закрытых котлах при температуре  $+112^{\circ}\text{C}$ , в течение 2,5 ч. Мясо считается обеззараженным, если в толще куска температура достигла  $+80^{\circ}\text{C}$ .

Во всех случаях, когда перерабатывают мясо, подлежащее обеззараживанию, по окончании работы тщательно дезинфицируют помещение, оборудование и тару. Аппаратуру, использованную при переработке мяса, промывают горячим 5% -ным раствором соды кальцинированной или другими препаратами согласно действующим инструкциям.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Приготовить препарат-отпечаток из исследуемого мяса, окрасить по Граму, изучить под иммерсионным объективом, оценить качество мяса.

2. Сделать посевы исследуемого мяса для определения количества МАФАНМ, а также для индикации ВГКП и сальмонелл.

3. На следующем занятии изучить культуральные свойства колоний, появившихся после посева. Обратит внимание на колонии, характерные по культуральным свойствам на возбудителя сибирской язвы, рожи свиней, листериоза, возбудителей кокковых инфекций.

4. На следующем занятии провести идентификацию колоний, типичных для сальмонелл, путем постановки РА на предметном стекле с поливалентными O- и H-агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. В каких случаях проводят бактериологическое исследование мяса?
2. Какие микроорганизмы чаще находятся на поверхности мясных туш?

3. С какой целью проводится микробиологический контроль мяса?
4. Перечислите основные этапы исследования мяса.
5. Опишите микрокартину несвежего мяса.
6. Какое количество микроорганизмов допускается в 1 г парного мяса?
7. Какие дифференциально-диагностические среды применяются для индикации кишечной палочки?
8. С какой целью применяется ВСА при исследовании мяса?
9. Какие методы применяются для обеззараживания условно годного мяса?

### ТЕМА 3. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА ПТИЦ

---

**Цель занятия.** Обучить студентов методам бактериологического исследования мяса кур. Провести бактериологический контроль качества полуфабрикатов из мяса кур.

**Материальное оснащение.** Тушки или окорочка куриного мяса, скальпели, пинцеты. Весы. Спиртовки, стерильный физраствор в колбах по 500 мл и в пробирках по 9 мл, стерильные пипетки на 1,2 мл, стерильные мензурки на 100 мл. Бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, предметные стекла, микроскопы, иммерсионное масло. Питательные среды: МПА, агар Эндо и Левина, ВСА в чашках Петри.

**Бактериологическое исследование мяса птицы** регламентировано ГОСТом. Подготовку проб к исследованию проводят общепринятыми методами по ГОСТ 26668-85, ГОСТ 26669-85 и дополнениями по ГОСТ Р 50396.0-92. Количество МАФАНМ определяют в соответствии с ГОСТ Р 50396.1-92 и ГОСТ 7702.2.1-95.

Для анализа мяса здоровой птицы от партии отбирают не менее трех тушек.

Каждую тушку упаковывают по отдельности в полиэтиленовую пленку или пергаментную бумагу, опечатывают и составляют акт с указанием наименования предприятия, вида птицы, размера партии и других данных. С момента отбора и до начала исследования образцы хранят при температуре  $0...+2^{\circ}\text{C}$  не более 24 ч.

Отбор проб от каждой тушки проводят одним из трех методов:

- вырезанием кусочков мышц из различных участков;

- смыва со всей поверхности тушки смывной стерильной водой;
- смыва с поверхности тушки тампоном.

**Метод вырезания кусочков мышц** используют для выявления сальмонелл, а также для определения других микробиологических показателей тушки.

Из грудной части, голени и бедра вырезают на всю глубину мышцы в равных количествах. Масса отобранной пробы должна быть 100–150 г. Всю пробу измельчают ножницами с соблюдением правил асептики, растирают в фарфоровой ступке пестиком, перемешивают и получают объединенную пробу одной тушки или полутушки. 25 г продукта используют для исследования на сальмонеллы, а 10 г продукта — для приготовления серии 10-кратных разведений для определения количества МАФАНМ.

Для оценки санитарного состояния производства используют метод смыва со всей поверхности тушки стерильной водой и метод смыва тампоном. В смывах определяют количество МАФАНМ, споры клостридий и бацилл, а также другие микроорганизмы по показаниям производства (наличие сальмонелл в смывах не определяют).

**Отбор проб методом смыва со всей тушки** проводят следующим образом: тушку массой не более 1,5 кг помещают в стерильный пакет из полимерных материалов, наливают стерильную воду в количестве, равном массе тушки (1500 мл), встряхивают содержимое пакета в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом, из которого готовят серию 10-кратных разведений.

**Отбор проб методом смыва стерильным тампоном** применим к потрошенным тушкам любой массы. Смыв осуществляют с разных участков.

Общая площадь смывной поверхности тушек крупной птицы должна составлять 100 см<sup>2</sup> (по трафарету), смыв проводят 2–5 тампонами, которые помещают в колбу со 100 мл стерильной жидкости и встряхивают в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом для приготовления последовательных 10-кратных разведений. Расчет количества микроорганизмов проводят на 1 см<sup>2</sup> поверхности тушки.

Отбор проб потрохов и бескостного кускового мяса проводят следующим методом: от партии продукта каждого наименования отбирают точечные пробы (по 10–50 г), среднюю пробу массой не менее 150 г помещают в стерильную посуду. Измельчают, тщательно перемешивают и взвешивают навесок: 25 г для посева на сальмонеллы и 10 г для приготовления 10-кратных разведений (для приготовления первого разведения к 10 г измельченной массы добавляют 90 мл стерильной воды).

При микробиологическом исследовании мышечных желудков и кускового мяса, кроме выделения сальмонелл, рекомендуется сделать отбор проб методом смыва в полимерном пакете. Для этого среднюю пробу продукта одного наименования массой не менее 150 г помещают в новый пакет, взвешивают и добавляют стерильную смывную воду в количестве, равном массе пробы. Встряхивают 2 мин, а 1 мл смывной жидкости используют для серии последовательных 10-кратных разведений.

Расчет количества микроорганизмов определяют в 1 г продукта или в 1 мл смывной жидкости по массе, равной массе пробы продукта.

Для выделения микроорганизмов из мяса птицы, субпродуктов и полуфабрикатов используют верхний слой надсадочной жидкости, а для определения их количества используют взвесь исходного разведения.

Микробиологический анализ проводят на наличие мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ), бактерий группы кишечных палочек (БГКП), сальмонелл, сульфитредуцирующих клостридий (СРК), протей, золотистого стафилококка, микробиологические показатели по которым для птицеводческой продукции регламентированы СанПиНом.

Определение количества МАФАНМ методом смыва со всей тушки проводят следующим образом: тушку массой не более 1,5 кг помещают в стерильный пакет из полимерных материалов, наливают стерильную воду в количестве, равном массе тушки (т. е. 1500 мл), встряхивают содержимое пакета в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом, из которого готовят серию 10-кратных разведений по общепринятой методике, для определения количества МАФАНМ в 1 мл смыва. Из соответствующих разведений делают посев по

1 мл одновременно в две чашки Петри, заливают 15 мл расплавленного, охлажденного до температуры +50°C МПА с глюкозой (метод горячей заливки). Питательную среду тщательно размешивают круговыми движениями чашки по поверхности стола для равномерного распределения посевного материала и получения изолированных колоний. Чашки с посевами помещают в термостат вверх дном, чтобы предотвратить размывание выросших колоний конденсатом, образующимся на внутренней поверхности крышки и выдерживают в термостате при температуре +30°C в течение 72 ч.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. При этом подсчитывают все выросшие колонии, учитывают чашки, в которых количество колоний составляет 30–300.

По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение количества колоний из всех посевов одного разведения.

Количество микроорганизмов в 1 г продукта или 1 мл смывной жидкости определяют по формуле

$$X = a \cdot 10^n \frac{(m + V)}{m \cdot V},$$

где  $a$  — среднее арифметическое количество колоний в посевах;  $n$  — число 10-кратных разведений навески продукта;  $m$  — масса (объем) навески продукта (смыва), взятая для приготовления исходного разведения, г или мл;  $V$  — объем жидкости, взятый для приготовления исходного разведения навески продукта (смыва), г или мл.

Количество микроорганизмов на 1 см<sup>2</sup> поверхности продукта определяют по формуле

$$X_1 = a \cdot 10^n \frac{V}{S \cdot V_1},$$

где  $S$  — общая площадь анализируемой поверхности, см<sup>2</sup>;  $V_1$  — объем инокулята, внесенного в чашку Петри, мл.

Результаты вычисления количества микроорганизмов в 1 г продукта (в 1 мл смыва с продукта смывной жидкостью или на 1 см<sup>2</sup> поверхности продукта при смыве тампоном) выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) от 1,0 до 9,9, умноженным на 10<sup>*n*</sup>, т. е. степень разведения.

При показателе МАФАнМ более  $1,0 \times 10^7$  КОЕ/г и при отсутствии признаков органолептической порчи вышеперечисленные продукты не подлежат хранению в охлажденном состоянии. Их срочно отправляют на изготовление термически обработанных продуктов или заморозку.

Реализация продуктов в охлажденном состоянии возможна в течение 4–6 ч.

Партию продукта с показателем МАФАнМ более  $1,0 \times 10^7$  КОЕ/г и признаками органолептической порчи направляют на утилизацию.

В соответствии с Санитарными правилами и нормами количество МАФАнМ в 1 г охлажденного и замороженного мяса птицы не должно превышать 100 тыс. КОЕ/г.

## ИНДИКАЦИЯ БГКП В МЯСЕ ПТИЦЫ

Индикация и определение количества бактериальной группы кишечных палочек в мясе птицы основаны на высеве определенного количества продукта в жидкие селективные лактозосодержащие среды (среду Кесслера), выращивание посевов при температуре  $+37^\circ\text{C}$  в течение 48 ч, подтверждении принадлежности выросших микроорганизмов по сбраживанию лактозы с образованием кислоты и газа и морфологическим признакам, характерным для БГКП.

Заключение об обнаружении микроорганизмов, относящихся к БГКП, дают на основании выявления в посевах грамотрицательных, не образующих спор палочек, сбраживающих лактозу до кислоты и газа при температуре  $+37^\circ\text{C}$ , указывая навеску продукта (г), объем (мл) или площадь смыва ( $\text{cm}^2$ ).

## ИНДИКАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛ

Индикация сальмонелл в мясе птицы основана на высеве определенного количества продукта (или смывов с его поверхности) на жидкие селективные питательные среды с выделением чистых культур на дифференциально-диагностических средах, изучении морфологических и культурально-биохимических признаков сальмонелл, с дальнейшей их серологической типизацией (идентификацией).

**Методика.** Берут навесок продукта 25 г (или смыв не менее 25 см<sup>3</sup>) и высевают в пептонно-буферную воду в соотношении 1 : 5. Просевы инкубируют 24 ч при температуре +37°C. Затем 10 мл культуральной жидкости из пептонно-буферной воды пересевает в 90 мл одной из сред обогащения (Мюллера, Кауфмана, селенитовую, магниевую) и инкубируют в термостате при температуре +37°C. Через 24 и 48 ч из среды обогащения делают пересев на две любые дифференциальные среды (Эндо, Левина и др.) по выбору и инкубируют в термостате 24 ч, а если это ВСА, то 48 ч.

При отсутствии подозрительных колоний на дифференциальных средах работу с посевами прекращают. Подозрительные колонии используют в дальнейших исследованиях, для этого отбирают не менее 5 типичных колоний. Изучают морфологические, тинкториальные, культуральные и ферментативные свойства; определяют способность расщеплять лактозу, глюкозу, сахарозу, маннит, мочевины; изучают образование сероводорода и индола, ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса-Проскауэра), утилизацию цитрата.

К бактериям рода сальмонелла относят культуры, не ферментирующие лактозу, сахарозу, расщепляющие глюкозу и маннит, образующие сероводород и не образующие индол, утилизирующие цитрат и не расщепляющие мочевины.

При обнаружении сальмонелл в партиях тушек птицы, в партиях бескостного кускового мяса вся партия должна быть направлена на изготовление консервов в соответствии с «Правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарной экспертизы мяса и мясных продуктов».

Результаты исследований записывают следующим образом: сальмонеллы обнаружены или не обнаружены в 25 г продукта (или в смыве продукта с указанием исследуемой площади в см<sup>2</sup>).

## ВЫЯВЛЕНИЕ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

Индикация стафилококка в мясе птицы основана на высеве навески мяса (смывов с его поверхности или их разведений) на элективные питательные среды с повышенным содержанием натрия хлорида или добавлением лития хлорида

и принадлежности выросших микроорганизмов к *Staph. aureus* по морфологическим, культурально-ферментативным свойствам и коагуляции плазмы крови кролика.

Для выявления стафилококка в мясе птицы 1 г продукта измельчают, готовят исходное и ряд 10-кратных разведений до 1 : 100. Из всех разведений делают посев по 1 мл в солевой бульон в соотношении к питательной среде 1 : 10. При выделении стафилококка из 1 г продукта используют 10 мл его первичного разведения. При появлении роста в солевой среде делают посев на поверхность агара Байрда-Паркера, яично-желточный солевой или яично-желточный азидный агар. Посевы на агаризированных средах просматривают после 18–24 ч инкубирования при температуре +37°C. На среде Байрда-Паркера стафилококки растут в виде черных блестящих выпуклых колоний диаметром 1–2 мм, окруженных зоной лецитиназной активности в виде кольца шириной 1–3 мм. На яично-желточном солевом и азидном агарах стафилококки растут в виде колоний различных оттенков желтого цвета, окруженных зоной лецитиназной активности.

Для подтверждения принадлежности обнаруженных микроорганизмов к стафилококкам изучают морфологические, тинкториальные свойства не менее чем из 5 колоний. Устанавливают ее способность коагулировать плазму крови кролика.

Таблица 10

Микробиологические показатели мяса птицы

Группа продуктов	МАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются следующие виды бактерий			
		БГКП	СРК	<i>S. aureus</i>	Патогенные МО, в том числе сальмонеллы
1. Птица охлажденная, замороженная	1·10 <sup>5</sup>	—	—	—	—
2. Мясо птицы бескостное, кусковое, окорочка	2·10 <sup>5</sup>	—	—	—	25
3. Пoultry (печень, мышечные желудки, сердце)	1·10 <sup>6</sup>	—	—	—	25

При обнаружении стафилококков дают заключение о наличии *Staph. aureus* в исследуемой пробе продукта с указанием массы навески (г), площади (см<sup>2</sup>) или смыва (мл).

При проведении бактериологического анализа на выявление в пробах стафилококков следует обратить внимание на возможное присутствие в них стрептококков, которые на МПА образуют мелкие круглые плоские колонии вначале прозрачные, затем мутнеющие.

В табл. 10 представлены микробиологические показатели мяса и субпродуктов из птицы.

### ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Приготовить препарат-отпечаток из исследуемого мяса кур, окрасить по Граму, изучить под иммерсионным объективом, оценить качество мяса по количеству бактерий.

2. Сделать посеы исследуемого куриного мяса для определения количества МАФАНМ, а также для индикации БГКП и сальмонелл в МПА на агар Эндо в чашках Петри.

3. На следующем занятии подсчитать количество МАФАНМ, изучить культуральные свойства колоний, появившихся после посева. Обратить внимание на колонии, похожие по культуральным свойствам на возбудителей сальмонеллеза, кокковых инфекций.

4. На следующем занятии провести идентификацию колоний, типичных для бактерий рода сальмонелл путем постановки РА на предметном стекле с поливалентными, Н- и О-агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие особенности отбора проб мяса кур для исследования в лаборатории вы знаете?
2. Перечислите, индикация каких бактерий проводится в исследуемых образцах мяса кур.
3. Что делают с партией мяса кур, если показатель количества МАФАНМ более  $10^7$  КОЕ/г?
4. Каким серологическим методом можно быстро определить вид выделенных сальмонелл?
5. Какие меры принимают при обнаружении партии тушек кур, загрязненных сальмонеллами?

## ТЕМА 4. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСНЫХ КОНСЕРВОВ И СЫРЬЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КОЛБАС, ФАРША И ДРУГИХ ВИДОВ МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ

---

**Цель занятия.** Обучить студентов методам бактериологического исследования мясных консервов с целью определения их качества, индикации возбудителей пищевых токсикозов и токсикоинфекций, а также возбудителей порчи.

**Материальное оснащение.** Образцы исследуемых консервных банок. Питательные среды: горячий МПА столбиком, среда Вильсон–Блера в пробирках высоким столбиком, чашки Петри с агаром Эндо, Левина, Плоскирева, Смирнова. Стерильный физраствор в колбах по 300 и 9 мл в пробирках, стаканы с делениями, мензурки, стерильные пипетки на 1, 10 мл; среды обогащения и накопления для сальмонелл. Ступки с пестиком, ножницы, скальпели, пинцеты, спирт для обжигания, спиртовки, бактериологические петли, банки с дезраствором, чашки Петри со стеклянной пластинкой 6×6 см, положенной на 2 спички для посева анаэробов по Перетцу, пустые стерильные пробирки.

**Бактериологическое исследование мясных и мясорастительных консервов.** Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 26668-85 и ГОСТ 51446-99. Промышленную стерильность консервов оценивают по ГОСТ 30425-97.

**Консервы** — пищевые продукты, предназначенные для длительного хранения, специально обработанные и герметично упакованные в тару, которая защищает их от проникновения микроорганизмов во время хранения и транспортировки.

Основным сырьем для выработки мясных баночных консервов служит мясо животных и субпродукты, которые в той или иной степени обсеменены различными сапрофитными микробами, в том числе возбудителями порчи консервов (анаэробными клостридиями и термофильными бациллами), а иногда и токсигенными и патогенными микроорганизмами (токсигенные

стафилококки, сальмонеллы и др.). Для выработки мясных консервов можно использовать мясо и субпродукты только от здоровых и упитанных животных. Нельзя применять сырье плохо обескровленное, загрязненное, дважды замороженное, условно годное. Степень обсеменения подготавливаемого сырья микроорганизмами находится в прямой зависимости от санитарно-гигиенических условий производства. При этом источниками обсеменения могут быть руки рабочих или оборудование, а также вспомогательные материалы (пряности, соль, сахар, жир-сырец), содержащие микроорганизмы.

Стерилизация консервов — заключительный этап технологического процесса консервирования. Под ней подразумевается различная степень нагревания продукта, приводящая к получению микробиологически стабильного консервированного продукта, не содержащего микроорганизмы, которые могли бы развиваться в нем при хранении в определенных температурных условиях. Основная цель стерилизации консервов — уничтожение патогенных и токсигенных микроорганизмов, способных вызывать порчу продукта. Режим стерилизации устанавливают в зависимости от вида консервов, для мясных консервов это —  $+112...+120^{\circ}\text{C}$ . Однако, несмотря на воздействие высоких температур, в консервах могут сохраняться жизнеспособные микробные клетки, т. е. не всегда достигается полная стерилизация всех банок.

Эффективность стерилизации консервов зависит не только от продолжительности и температуры нагревания, но и от количественного состава микрофлоры, рН среды, содержания в нем жира, поваренной соли и сахара.

Споры различных видов микроорганизмов обладают неодинаковой устойчивостью к высоким температурам. Так, споры многих мезофильных аэробных бацилл отмирают уже при температуре  $+100^{\circ}\text{C}$ , в то же время *Bac. subtilis* могут сохранять жизнеспособность при температуре  $+130^{\circ}\text{C}$ , а споры анаэробных микроорганизмов отмирают при высоких температурах медленнее, чем споры аэробов.

В большей степени на результаты стерилизации влияет количественный состав микрофлоры: чем выше начальная микробная обсемененность сырья, тем больше времени требуется для полного уничтожения микроорганизмов и тем больше их

может выжить при стерилизации. Кислая среда ускоряет коагуляцию белков и отмирание микроорганизмов, а также вызывает снижение термоустойчивости вегетативных клеток и их спор.

Микроорганизмы, которые в процессе стерилизации консервов сохранили свою жизнеспособность, принято называть **остаточной микрофлорой**. Ее состав в стерилизованных консервах, как правило, представлен споровыми микроорганизмами. Наличие в готовых консервах таких бактерий указывает на **нарушение температурного режима**. В таких случаях, кроме спорообразующих микробов, в консервах обнаруживают также стафилококки, кишечную палочку и протей.

В соответствии с положением о порядке санитарно-технического контроля на производственных предприятиях, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания все консервы в зависимости от состава сырья, термической обработки и величины рН подразделяют на 6 групп (А, Б, В, Г, Д, Е).

**Группа А** — полные консервы (говядина, свинина, конина, мясо птицы с растительными наполнителями или без них), простерилизованные в автоклавах при температуре  $+110...+120^{\circ}\text{C}$ , со сроком хранения от 9 месяцев до 2 лет при температуре не выше  $+30^{\circ}\text{C}$ .

**Группы Б, В, Г, Е** — растительные консервы (овощи, фрукты, плодово-ягодные компоты, соки).

**Группа Д** — полуконсервы (ветчина, бекон, сосиски), стерилизованные при температуре  $+100...+110^{\circ}\text{C}$ . Их безопасность и сохранность гарантируются при хранении при температуре  $+2...+15^{\circ}\text{C}$ .

Особая группа консервов — **пресервы** — пастеризованные консервы, производимые из говядины, свинины, мяса птицы, рыбы и подвергаемые тепловой обработке при температуре не выше  $+100^{\circ}\text{C}$ , а в случае асептического консервирования — при температуре  $+130^{\circ}\text{C}$ . Сохранность таких консервов гарантируется хранением при температуре не выше  $+5^{\circ}\text{C}$ .

### ПРАВИЛА ОТБОРА ПРОБ

Для контроля качества консервов от партии отбираются три единицы потребительской тары для продукции вместимостью до 1 л включительно и одна единица, если вместимость больше 1 л. Образцы консервных банок направляют в лабораторию

с сопроводительным документом, в котором указывается дата и показатели, необходимые для исследования, размеры партии, от которой отобран средний образец, сорт и дата выработки продукта; также должны быть написаны должность и фамилия лиц, отобравших образец.

Доставленные образцы осматривают и проверяют герметичность по следующей методике: банки освобождают от этикеток, помещают в один ряд в предварительно нагретую до кипения воду, слой воды над банками должен быть не менее 3 см. Появление струйки пузырьков указывает на негерметичность. Банки выдерживают не менее 5–7 мин сначала на дне, потом на крышке. Для бактериологического исследования отбирают только герметичные банки.

В зависимости от явных и скрытых дефектов различают физический, химический и микробиологический брак. Дефектами внешнего вида тары с фасованной в нее продукцией считают видимые невооруженным глазом признаки негерметичности — пробоины, подтеки или следы продукта, вытекающего из банки, а также бомбаж — вздутие консервной банки. К дефектам консервированного продукта относятся видимые невооруженным глазом признаки развития микроорганизмов, такие как брожение, заплесневение.

Перед микробиологическим анализом консервные банки подвергают термостатированию, но только герметично закупоренные, бездефектные по внешнему виду, предназначенные для определения промышленной стерильности. Консервы, предназначенные для выявления ботулинических токсинов, бомбажные, с признаками микробиологической порчи и негерметичные, термостатированию не подлежат.

Для проявления жизнедеятельности МАФАНМ консервы термостатируют при температуре +30...+37°C в таре до 1 л включительно не менее 5 суток, а в таре больше 1 л — не менее 7 суток. Для термофильных микроорганизмов — термостатируют в любой таре не менее 3 суток. Ежедневно консервы осматривают. При появлении дефектов, банки удаляют из термостата, выдерживают при комнатной температуре 24 ч, и если консервы принимают прежний вид, то их считают бездефектными и продолжают термостатирование. По истечении срока инкубирования консервы извлекают из термостата и оставляют при

комнатной температуре на сутки. Отмечают дефекты тары, видимые невооруженным глазом, признаки развития микроорганизмов в самом продукте в стеклянных банках — брожение, плесневение, в металлической таре — бомбаж.

### **ПОДГОТОВКА К МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ**

Банки тщательно моют теплой водой и вытирают. Затем крышку банки протирают смоченным в спирте тампоном, фламбируют и вскрывают консервным ножом. Проводят органолептическое исследование: определяют внешний вид, цвет, запах и состояние содержимого. Органолептические признаки специфичны для каждого вида консервов, они должны отвечать требованиям стандартов и техническим условиям.

Из каждой консервной банки отбирают один или несколько навесков, предназначенных для непосредственного высева и приготовления последовательных разведений для проведения всех видов исследования. Навесок для посева отбирают **весовым или объемным методом** после вскрытия банки в условиях, **исключающих микробное загрязнение**. В отобранном образце должны быть представлены все компоненты и в том же соотношении, что и в продукте.

**Стерильность консервов** определяют в случаях, когда они выработаны по специальным заказам и для поставок экспедициям, космонавтике и лечебным учреждениям. Под стерильностью консервов понимают отсутствие жизнеспособных микроорганизмов в консервированном продукте. При определении стерильности консервов по 1 мл (г) исходного продукта без разведения вносят параллельно в две чашки Петри, заливают расплавленным и охлажденным до температуры  $+50^{\circ}\text{C}$  МПА, тщательно перемешивают содержимое чашки, охлаждают и помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ . Через 72 ч подсчитывают количество выросших колоний и определяют количество микроорганизмов в  $1\text{ см}^3$  или в 1 г продукта.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОМЫШЛЕННОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ**

При определении промышленной стерильности в каждой упаковочной единице устанавливают наличие или отсутствие тех микроорганизмов, показатели которых оговариваются в

нормативном документе. Поэтому при выработке различных видов консервов ориентируются обычно на консервированный продукт, соответствующий требованиям *промышленной стерильности*.

В консервированном продукте *промышленной стерильности* допускается наличие только ограниченного числа видов спорообразующих микроорганизмов. В нем должны отсутствовать микроорганизмы и токсины микробного происхождения, опасные для здоровья людей, а также микроорганизмы, способные развиваться и вызывать порчу продукта при температуре хранения, установленной для данного вида консервов (для потребителя температура указана на этикетке).

Из пробы консервированного продукта, подготовленного для анализа, готовят исходное и ряд 10-кратных разведений на физрастворе, обычно готовят разведения до  $10^4$ . Из каждого разведения по 1 мл вносят в две чашки Петри, заливают горячим, охлажденным до температуры  $+50^\circ\text{C}$  МПА, термостатируют 24 ч при температуре  $+37^\circ\text{C}$ , подсчитывают среднее арифметическое количество колоний. Расчет ведут по формуле

$$X = \frac{a \cdot 10^n (V_{\text{пр}} + V_{\text{вод}})}{V_{\text{пр}} \cdot q}, \quad (1)$$

где  $a$  — количество колоний на поверхности среды в чашке;  $n$  — степень разведения продукта при приготовлении разведений;  $V_{\text{вод}}$  — объем воды, использованный для приготовления пробы;  $V_{\text{пр}}$  — объем продукта, использованного для приготовления пробы;  $q$  — объем посевного материала, внесенного в чашку Петри.

При анализе сливов с продукта расчет ведут по формуле

$$X = \frac{a \cdot 10^n \cdot V_{\text{вод}}}{V_{\text{пр}} \cdot q}. \quad (2)$$

Из параллельных посевов определяют среднеарифметическое число колоний на чашках, умножают его на соответствующее разведение и находят количество микроорганизмов в 1 мл или 1 г продукта по формуле (1). При анализе сливов с продукта расчет ведут по формуле (2).

После подсчета колоний определяют родовую и видовую принадлежность выделенного микроба.

В нормативном документе на промышленно-стерильные консервы регламентированы видовой состав и допустимое количество микроорганизмов, а также внешний вид, результаты микроскопии и показатель рН.

Если хотя бы в одном из посевов обнаружены мезофильные клостридии *Cl. botulinum* и/или *Cl. perfringens*, консервы оценивают как не отвечающие требованиям промышленной стерильности.

Индикация БГКП предусматривает установление наличия БГКП в определенном навеске продукта и подсчет их количества.

По микробиологическим нормативам не допускается наличие БГКП в 1 г консервированного мяса.

Методика. Для индикации БГКП проводят посев по 1 г натурального продукта и по 1 мл из разведений 1:10, 1:100 в среду Кесслера. Посевы культивируют 24 ч в термостате при температуре +37°C, предварительный учет проводят через 24 ч, окончательный — через 48 ч. При отсутствии признаков роста делают заключение об отсутствии БГКП в исследуемом продукте.

При появлении роста, признаками которого являются помутнение среды и образование газа, проводят дальнейшие исследования. Для подтверждения принадлежности микроорганизмов к бактериям группы кишечной палочки из проросших пробирок делают высев 0,1 мл культуральной жидкости на одну из дифференциально-диагностических сред — агар Эндо или агар Смирнова (характерно появление желтых колоний). Посевы инкубируют в термостате при температуре +37°C в течение 24 ч. Из изолированных колоний по своим культуральным признакам, характерным для кишечной палочки, делают препараты, окрашивают по Граму, изучают морфологические и тинкториальные признаки.

В некоторых случаях можно проводить первичный посев 0,1 мл исходного продукта или из 10-кратного разведения непосредственно на поверхность дифференциально-диагностических сред (Эндо), что позволит дать заключение о наличии (или отсутствии) БГКП в определенном навеске продукта уже через 24 ч. Не менее чем в 5 колониях изучают морфологию микроорганизмов в мазках, окрашенных по Граму.

Обнаружение коротких с закругленными концами грамотрицательных палочек, специфически изменяющих цвет, жидких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на элективных средах с лактозой, указывает на наличие БГКП.

В заключении указывают, что обнаружены или отсутствуют БГКП в 1 г исследуемого продукта.

**Индикация сальмонелл** проводится всего в четыре этапа в связи с тем, что они присутствуют в консервах в небольшом количестве:

- предварительное обогащение — выдерживание пробы в термостате в жидкой неселективной среде (буферная, пептонная вода, МПБ) при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ ;
- обогащение — посев предварительно обогащенной среды в две жидкие селективные среды (селенитовый бульон, тетратионатная среда) с последующим выдерживанием в термостате соответственно при температуре  $+37$  или  $+42^{\circ}\text{C}$  в течение 24–48 ч (в этих средах происходит накопление энтеробактерий и подавление сопутствующей микрофлоры);
- пересев с двух обогащенных сред на плотные селективно-диагностические среды в чашках Петри (БФ-агар, среда Эндо), которые после выдерживания в термостате при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  исследуют на наличие колоний, по своим характеристикам подозрительных на сальмонеллы;
- идентификация — пересев подозрительных на сальмонеллы колоний и определение культурально-биохимических и антигенных свойств выделенных микроорганизмов.

**Методика.** Для проведения исследования измельчают навесок продукта массой 25 г с соблюдением правил асептики. Затем его гомогенизируют в 225 мл буферной пептонной воды (получается разведение 1 : 10), помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 16–20 ч. После этого по 10 мл пептонной воды пересевают в две колбы со 100 мл среды (в первой колбе тетратионатная среда, во второй — селенитовая). Колбы помещают в термостат: первую при температуре  $+42^{\circ}\text{C}$ , вторую — при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ .

Через сутки из проросших колб бактериологической петлей проводят пересев на БФ-агар или висмут-сульфитный агар (чаще используют агар Эндо), чтобы получить изолированные

колонии. В дальнейшем из подозрительных колоний готовят мазки, окрашивают по Граму, определяют подвижность в препарате «висячая» или «раздавленная» капля.

Далее изучают ферментативную активность, антигенную структуру, устанавливают род и вид сальмонелл.

В заключении указывают, обнаружены или отсутствуют сальмонеллы в 25 г исследуемого продукта.

Индикация сульфитредуцирующих кластридий (СРК) основана на высеве навеска и его разведений либо культуральной жидкости в железосульфитсодержащие среды и подтверждении принадлежности выросших при температуре +37°C в течение 72 ч микроорганизмов к СРК по морфологическим и культурально-биохимическим признакам. Наличие СРК в соответствии с санитарными правилами и нормами не допускается в 0,1 г консервированного продукта.

Исследование проводят для анализа микрофлоры посевов (культуральной жидкости), в которых при определении промышленной стерильности обнаружены мезофильные кластридии; также необходимо подтверждение присутствия в посевах *Cl. perfringens*.

**Методика.** По 1 г подготовленной пробы продукта (или его разведения) вносят параллельно в две чашки Петри и заливают расплавленной и охлажденной до температуры +50°C средой Вильсон-Блера (или сульфит-полимиксин-неомициновый агар), равномерно перемешивают с посевным материалом, а после застывания заливают слоем голодного агара. Чашки выдерживают в анаэробных условиях при температуре +37°C в течение 24 ч. Посевы просматривают, отбирают те чашки, в которых выросло от 15 до 150 характерных черных колоний, подсчитывают их количество.

Для подтверждения принадлежности обнаруженных колоний к *Cl. perfringens* отбирают не менее 5 с характерными признаками и пересевают их в МППБ для мезофильных анаэробных микроорганизмов. Посевы культивируют в термостате 24 ч при температуре +37°C и изучают морфологические и биохимические свойства выделенной культуры.

*Cl. perfringens* — крупные грамположительные палочки, расположенные одиночно или в виде коротких цепочек. Споры овальные, расположенные субтерминально. Каталазу не обра-

зуют; ферментируют лактозу; разжижают МПЖ; в лакмусовом молоке образуют губчатый сгусток красновато-сиреневого цвета. Для них характерен анаэробный рост.

#### **Выявление ботулинического токсина в консервах.**

**Методика.** Продукт измельчают, растирают в стерильной ступке до однородной консистенции, добавляя физраствор до соотношения 1 : 1. Полученную смесь экстрагируют в холодильнике в течение 2 ч. Затем процеживают через ватно-марлевый фильтр. Полученный фильтрат переносят в две пробирки по 3 мл, в третью — 2,7 мл фильтрата, в который добавляют 0,3 мл раствора трипсина, устанавливают рН 6,0 и помещают в термостат на 1 ч, периодически перемешивая.

Содержимое первой пробирки оставляют без обработки, а второй кипятят в водяной бане 10 мин для разрушения ботулинического токсина и охлаждают до комнатной температуры.

Биопробу ставят на белых мышах массой 15–20 г, которым вводят внутривентрально по 0,5 мл исследуемых фильтратов. Наблюдение за животными проводят через 1, 2, 4, 12 ч, далее — 2 раза в день в течение 3 суток. Клинические симптомы ботулинической интоксикации появляются через 10–12 ч, токсином типа E — через 2–4 ч. При этом у мышей шерсть взъерошена, дыхание затруднено, мышцы брюшной стенки ослаблены и западают («осиная талия»), наблюдаются судороги, паралич задних конечностей. Гибель животных наступает через 4–6 ч, а при высоких концентрациях токсина — в течение 1–2 ч без характерных признаков, в этих случаях биопробу повторяют с разведением исходной жидкости 1 : 10–1 : 100.

При наличии в материале ботулинических токсинов вначале болеют и погибают те животные, которым введена непрогретая исходная жидкость или обработанная протеолитическим ферментом. После инъекции прокипяченной жидкости мыши остаются здоровыми на протяжении всего опыта.

**Для индикации и определения количества золотистого стафилококка** делают посев исследуемых консервов с использованием селективно-диагностических сред по следующей схеме: высев навеска; подсчет колоний с характерными для стафилококка признаками; идентификацию выделенных культур. Если в посевах обнаружены грамположительные кокки, способные коагулировать плазму крови, образующие каталазу, фермен-

**Микробиологические нормативы  
мясных консервов**

Группа продуктов	МАФАнМ КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются следующие виды бактерий			
		БГКП	СРК	<i>S. aureus</i>	Патогенные МО, в том числе саль- монеллы
Консервы пастеризованные из говядины и свинины	$2 \cdot 10^2$	1	0,1	1	25
Консервы стерилизованные из говядины и свинины	Должны удовлетворять требованиям промышленной стерильности для консервов группы А				

тирующие мальтозу в анаэробных условиях, то выявленные микроорганизмы относят к *Staph. aureus*.

При определении потенциальной энтеротоксичности выделенных культур *Staph. aureus* устанавливают их способность образовывать термостабильную нуклеазу по следующей методике:

- готовят суточную культуру изучаемого стафилококка в МПБ и прогревают ее 15 мин в кипящей бане;
- готовят чашки Петри с МПА, содержащим ДНК, асептически вырезают «колодцы» диаметром 4 мм на расстоянии 7–8 мм друг от друга;
- в данные колодцы вносят по 1–2 капли прогретой бульонной культуры *Staph. aureus*;
- чашки помещают в термостат, результаты учитывают через 1, 2 и 5 ч. При наличии термостабильной нуклеазы вокруг «колодцев» появляется ярко-розовая зона на синем фоне среды.

Микробиологические показатели консервов в соответствии с санитарными правилами и нормами представлены в табл. 11.

**ЗАДАНИЯ  
ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести вскрытие консервной банки с соблюдением правил асептики и взять пробу из содержимого банки для бактериологического исследования.

2. Сделать посев пробы для определения МАФАнМ в 1 г консервов.

3. Сделать посев пробы исследуемых консервов в МППБ и среды Вильсон–Блера для обнаружения анаэробных бактерий.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие требования предъявляются к мясу для выработки мясных консервов?
2. На что указывает наличие в готовых консервах вегетативных клеток бактерий?
3. Каковы особенности бактериологического исследования консервов?
4. Как готовят консервные банки к бактериологическому исследованию?
5. Какие требования предъявляются при определении промышленной стерильности консервов?
6. Какие признаки роста бактерий появляются в питательных средах при наличии возбудителя порчи в исследуемом продукте?
7. Каким методом можно выявить ботулинический токсин в консервах?

## ТЕМА 5. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ И ПРОДУКТОВ ИЗ МЯСА

---

**Цель занятия.** Обучить студентов методам бактериологического исследования колбас и колбасных изделий с целью определения их качества и индикации возбудителей пищевых токсикозов и токсикоинфекций, а также возбудителей порчи.

**Материальное оснащение.** Образцы вареных и копченых видов колбас. Стерильные чашки Петри, скальпели, ножницы, пинцеты, весы с разновесками, ступки с пестиком, стерильный песок. Чашки Петри с питательными средами — агаром Эндо, Левина, Плоскирева, пробирки со средой Крумвиде-Олькеницкого. Стерильный физраствор в колбах по 90 мл, в пробирках по 9 мл, стерильные пипетки на 1, 10 мл, стерильные мензурки.

**Бактериологическое исследование колбасных изделий и продуктов из мяса.** Отбор проб проводят в соответствии с ГОСТ 9792-73, ГОСТ Р 51447-99, ГОСТ 26668-85.

**Колбасные изделия** — продукты переработки мяса, употребляемые в пищу без дополнительной подготовки, так как мясо, используемое для их приготовления, подвергают специальной механической, физико-химической и термической обработке. К этим изделиям относятся фаршированные, вареные, полукопченые, варено-копченые, сырокопченые, ливерные и кровяные колбасы, мясные хлебцы, сосиски, сардельки, студни.

Колбасные изделия представляют собой благоприятную среду для развития различных микроорганизмов, вызывающих микробную порчу: термофильных молочнокислых бактерий (закисание), плесневых грибов и протеолитических бацилл (гниение). Быстро портятся варено-копченые и вареные колбасные

изделия с влажностью более 40–50%, особенно при нарушениях температурно-влажностного режима хранения. В меньшей степени подвержены порче сырокопченые изделия из-за низкого содержания влаги (20–30%).

Степень исходной микробной обсемененности колбасного фарша зависит от санитарно-гигиенических условий производства и соблюдения технологических режимов. В процессе приготовления колбасных изделий мясной фарш обсеменяется различными микроорганизмами, попадающими в него из вспомогательных материалов — молочные, яичные, мучные продукты, белковые стабилизаторы, посолочные смеси (соль, сахар, нитраты), пряности, лук, чеснок и т. д.

Бактериологическое исследование колбасных изделий направлено на определение количества МАФАНМ, БГКП, индикацию сальмонелл, бактерий родов *Proteus*, микроорганизмов порчи, в основном это дрожжи и плесневые грибы.

## ОТБОР, ПОДГОТОВКА ПРОБ И ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пробы продуктов для микробиологического исследования отбирают раньше проб для физико-химического и органолептического исследований с соблюдением правил асептики, в стерильную посуду, с применением стерильных инструментов. Масса пробы установлена НТД на конкретный вид продукции, достаточной для проведения полного микробиологического анализа.

От кусковой продукции массой нетто до 1000 г отбирают точечные пробы ложкой, пинцетом или другими инструментами в зависимости от вида и размера куска и помещают в посуду или упаковывают в фольгу. Пробы скоропортящихся продуктов транспортируют при температуре +5°C не более 6 ч.

От кусковой продукции массой нетто более 1000 г пробы отбирают одним из следующих методов:

- отрезают или вырезают часть продукта ножом или пилой. У изделий квадратной формы разрез делают продольной формы перпендикулярно к продольной оси;
- продукт в нескольких местах режут ножом и с поверхности данного разреза и из глубины продукта скальпелем берут

необходимое количество кусков, которые пинцетом переносят в стерильную посуду;

- срезают поверхностный слой продукта толщиной от 0,5 до 1 см ножом, при помощи буравчика или зонда и выдавливают продукт в посуду. При отборе пробы из глубины продукта его просверливают в разных местах не менее чем до половины высоты.

Каждую отобранную пробу маркируют этикетками с указанием наименования продукта, предприятия-изготовителя, номера партии, даты отбора продукта, цели микробиологического анализа, также должны быть поставлены подписи лиц, отбиравших пробу. Пробы, предназначенные для исследования вне предприятия, пломбируют, печатают и транспортируют в лабораторию.

В зависимости от вида продукта объединенную пробу массой 50 г составляют из точечных проб следующим методом: колбасные изделия в оболочке, продукты из говядины, свинины, баранины помещают в эмалированный поддон, тщательно протирают спиртовым тампоном и дважды обжигают над пламенем спиртовки. Затем батоны разрезают продольно стерильным ножом на две половины, не рассекая оболочку противоположной стороны. Пробу отбирают из нескольких участков центральной части батона и из-под оболочки обеих его половинок.

Изделия без оболочки (мясные хлебцы, студни и др.) исследуют с поверхности и в глубине. Для этого после разворачивания упаковки с каждого из исследуемых образцов делают смыв новым стерильным увлажненным ватным тампоном с тех участков продукта, с которыми могли соприкоснуться руки упаковщика. Тампоны помещают в пробирки, заполненные на 3/4 одной из сред: ХБ, Хейфеца или Кесслера. Для анализа глубинных участков образцы изделий без оболочки помещают на стерильный эмалированный поддон, смачивают спиртом и обжигают. Далее делают продольный разрез и отбирают навесок методом, указанным для колбасных изделий в оболочке. Составляют одну объединенную пробу для каждого образца в отдельности и помещают ее в предварительно взвешенную стерильную чашку Петри.

Из объединенной пробы каждого образца берут в стерильную посуду (или пергаментную бумагу) навесок массой 20 г, который помещают в стерильный стакан гомогенизатора,

добавляют 4-кратное количество стерильного физраствора и гомогенизируют в электрическом смесителе (можно магнитной мешалке). Вначале материал измельчают на кусочки при замедленной частоте вращения ножей, затем — при 15–20 тыс. об/мин в течение 2–3 мин.

При отсутствии гомогенизатора допускается приготовление исследуемой взвеси в ступке: 20 г продукта растирают в стерильной фарфоровой ступке с 2–3 г речного песка, постепенно приливая 80 мл стерильного физраствора.

И в том и в другом случае в 1 мл приготовленной взвеси (разведение 1 : 5) содержится 0,2 г исследуемого продукта.

Взвесь 15 мин выдерживают при комнатной температуре и делают высев для определения количества МАФАНМ, БГКП, бактерий рода сальмонелла и протей, сульфитредуцирующих клостридий.

**Методика определения МАФАНМ.** Из каждой пробы колбасных изделий делают не менее двух различных по объему посевов, взятых с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. В одну чашку Петри вносят 0,1 г, в другую — 0,01 г продукта.

Предварительно готовят первое 10-кратное разведение исследуемой взвеси. Стерильной пипеткой переносят 0,5 мл приготовленной взвеси в пробирку с 5 мл стерильного физраствора, чтобы получить разведение 1 : 10. Другой стерильной пипеткой содержимое пробирки тщательно перемешивают продуванием, затем набирают 1 мл и вносят в стерильную чашку Петри (т. е. провели посев 0,1 г продукта).

Для посева 0,01 г продукта готовят второе разведение — 1 : 100. Для этого стерильной пипеткой тщательно перемешивают содержимое пробирки с первым разведением, набирают 1 мл и переносят в пробирку с 9 мл стерильного физраствора, теперь, когда в 1 мл этого разведения содержится 0,01 г исследуемого продукта, его и вносят в чашку Петри. Обе чашки заливают 15 мл МПА, расплавленного и охлажденного до температуры +50°C, тщательно перемешивают, чтобы выросли изолированные колонии. После застывания агара чашки помещают в термостат при температуре +37°C, через 48 ч подсчитывают общее количество колоний, выросших на поверхности и в глубине агара, умножают на степень разведения исследуемого

продукта по каждой чашке и выводят среднее арифметическое результатов подсчета двух чашек с разной массой посеянного продукта.

**Методика индикации БГКП.** Цель индикации бактерий этой группы — проверка соблюдения режима термической обработки колбас или санитарно-гигиенических условий в процессе производства сырокопченых колбасных изделий. Исследование на БГКП проводят по общепринятой методике с использованием сред, содержащих углеводы (лактоза, глюкоза). К ним относятся среды Хейфеца, ХБ, Кода, Кесслера. БГКП ферментируют глюкозу и лактозу, поэтому в перечисленных средах образуются кислые продукты, меняющие цвет индикатора, а в среде Кесслера можно наблюдать появление в поплавах пузырьков газа (без изменения цвета среды).

При микробиологическом контроле колбасных изделий в производственных лабораториях можно ограничиться обнаружением БГКП без их биохимической дифференциации. Для выявления БГКП в пробирки с 5 мл среды ХБ или Хейфеца двойной концентрации вносят по 5 мл исследуемой взвеси стерильной пипеткой с широким концом. Допускается применение среды Кесслера по 10 мл. Посевы термостатируют при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 18–20 ч. Посевы смывов, отобранных тампонами с поверхности изделий без оболочки, выдерживают при температуре  $+43^{\circ}\text{C}$  для обнаружения повторного бактериального загрязнения. При росте БГКП среда ХБ окрашивается в желтый цвет, среда Хейфеца — в салатно-зеленый, на среде Кесслера в поплавах образуется газ без изменения цвета среды.

Для окончательного заключения о присутствии в колбасе БГКП проводят высев со среды Кесслера (из забродивших проб) или Хейфеца (если произошло изменение цвета среды) в чашки Петри со средой Эндо (Плоскирева, Левина), которые помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 18–20 ч. На среде Эндо БГКП образуют темно-красные колонии с металлическим блеском, на среде Плоскирева — кирпично-красные, на среде Левина — темно-фиолетовые. Из колоний, в которых подозревают наличие БГКП, готовят мазки и окрашивают по Граму для обнаружения грамотрицательных палочек.

Обнаружение коротких с закругленными концами грамотрицательных палочек, специфически изменяющих цвет жид-

ких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на элективных средах с лактозой, указывает на наличие ВГКП.

**Среды для индикации бактерий группы кишечных палочек.**

**Среда Хейфеца.** Выпускается в сухом виде. В состав, кроме основных питательных компонентов (вода, пептон, маннит, натрия хлорид), входят розоловая кислота, раствор метиленового синего. Готовая среда красно-фиолетового цвета, при росте кишечной палочки рН сдвигается в кислую сторону, и среда приобретает зеленоватую окраску.

**ХБ.** В 1000 мл воды растворяют 10 г пептона, 5 г маннита, 5 г хлорида натрия. Приготовленную смесь кипятят 15–20 мин, устанавливают рН 7,4–7,6, процеживают через бумажный фильтр, кипятят фильтрат 10 мин, охлаждают до температуры +60°C, после чего прибавляют 30 мл дрожжевого диализата, 15 мл желчи, 10 мл раствора хинозола и 10 мл 1,6% -ного спиртового раствора бромкрезола пурпурного. Среду разливают в стерильные пробирки по 7–8 мл.

**Среда Кесслера.** К 1000 мл дистиллированной воды добавляют 10 г пептона и 50 мл бычьей желчи. Смесь кипятят на водяной бане при помешивании в течение 20–30 мин, фильтруют через вату, добавляют 2,5 г лактозы, доводят объем дистиллированной воды до 1000 мл, устанавливают рН 7,4–7,6, добавляют 2 мл 1% -ного водного раствора генцианвиолета, разливают в пробирки с поплавками по 8–10 мл и стерилизуют при температуре +121°C в течение 10 мин. Готовая среда имеет темно-фиолетовый цвет.

**Индикация сальмонелл.** Навесок колбасы массой 25 г от объединенной пробы, тщательно измельченный ножницами, вносят во флакон, содержащий 100 мл среды обогащения (Мюллера, Кауфмана, хлористо-магниевого) или 225 мл селенитового бульона. Флакон встряхивают и помещают в термостат при температуре +37°C, через 24 ч петлей или пастеровской пипеткой проводят высеивание из среды обогащения в чашки Петри со средой Эндо, Плоскирева, Левина или ВСА. Посевы помещают в термостат при температуре +37°C на 16–24 ч.

На среде Эндо, Плоскирева и Левина бактерии из рода сальмонелл образуют бесцветные колонии. На ВСА сальмонеллы образуют черные или коричневые колонии с металлическим

блеском, при этом участок среды под агаром чернеет. Не менее 5 изолированных колоний, характерных для сальмонелл, пересеваяют на трехсахарный агар Крумвиде-Олькеницкого в модификации Ковальчука штрихом по скошенной поверхности и уколом в столбик и инкубируют при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 12–16 ч.

При росте сальмонелл на трехсахарном агаре цвет скошенной поверхности среды розовый, столбик — желто-бурый. Газообразование устанавливают по наличию трещин и разрыву столбика агара, при образовании сероводорода питательная среда чернеет.

Другие грамотрицательные бактерии семейства энтеробактерий дают следующие изменения цвета трехсахарного агара:

- БГКП окрашивает среду в синий или сине-зеленый цвет с образованием газа или без него;
- палочка протей окрашивает среды в ярко-красный цвет (вследствие расщепления мочевины), в случае выделения  $\text{H}_2\text{S}$  может появиться черный осадок с возможным разрывом агара.

Для дальнейшей идентификации бактерий готовят мазки, которые окрашивают по Граму, микроскопируют, а также изучают антигенные свойства путем постановки РА на предметном стекле с поливалентной (или комплексной) сальмонеллезной агглютинирующей сывороткой. Далее проводят идентификацию с помощью монорецепторных О- и Н-агглютинирующих сальмонеллезных сывороток.

Обнаружение подвижных (кроме *S. gallinarum* и *S. pullorum*) грамотрицательных палочек, дающих характерный рост на элективных средах, не ферментирующих лактозу и сахарозу, сбраживающих глюкозу и маннит до кислоты и газа (*S. typhi suis* маннит не ферментирует), образующих  $\text{H}_2\text{S}$  и не образующих индол, дающих положительную реакцию агглютинации с комплексными, монорецепторными О- и Н-агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками, указывает на выделение бактерий из рода сальмонелл.

Индикация протей в Н-форме проводится внесением исследуемого продукта в конденсат свежескошенного МПА (метод Щукевича). Посевы помещают в термостат на 18–24 ч при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ . При наличии в исследуемом продукте протей

подвижная палочка поднимается вверх по скошенной поверхности агара, образуя вуалеобразный голубоватый налет. Культура издает характерный гнилостный запах.

Обнаружение полиморфных грамотрицательных палочек, подвижных, сбраживающих глюкозу и мочевины, не ферментирующих лактозу и маннит, указывает на наличие в продукте бактерий из рода протей.

**Индикация стафилококка** в исследуемом продукте основана на изучении морфологии, культуральных свойств и способности некоторых стафилококков ферментировать лецитиназу и коагулировать цитратную плазму крови кролика под воздействием фермента коагулазы.

Вначале исследуемый продукт разводят 1 : 10, вносят в МПБ, содержащий 6,5% натрия хлорида. Через сутки после инкубирования в термостате проводят пересев на молочно-солевой агар для изучения наличия пигмента и на желточно-солевой агар для выявления лецитиназной активности.

Посевы выдерживают 24 ч в термостате и сутки при комнатной температуре, затем учитывают результат: на поверхности питательной среды стафилококки образуют слегка выпуклые круглые колонии с ровными краями, т. е. S-формы; на желточно-солевом агаре вокруг колоний стафилококков появляется «радужный венчик», что является одним из признаков их патогенности (лецитовителизная активность).

Не менее чем из 5 типичных колоний готовят препараты, которые окрашивают по Граму и микроскопируют. При наличии стафилококков обнаруживают грамположительные кокки, располагающиеся в виде беспорядочных кучек и гроздьев винограда.

Для подтверждения патогенности выделенных стафилококков ставят реакцию плазмокоагуляции по следующей методике: в пробирку с 0,5 мл цитратной плазмы крови кролика, разведенной физраствором (1 : 5), вносят петлю чистой суточной культуры стафилококка и помещают в термостат при температуре +37°C. Реакцию плазмокоагуляции предварительно учитывают через 3–4 ч (осторожно наклоняя, не встряхивая пробирку). В сомнительных случаях пробирку оставляют в термостате для окончательного учета через 24 ч. Реакцию считают положительной, если плазма коагулирует в сгусток (реакцию

оценивают по степени плотности сгустка от одного до четырех плюсов).

**Индикация сульфитредуцирующих кластридий (СРК) в колбасе** основана на учете специфического роста кластридий в железосульфитсодержащих средах. При взаимодействии натрия сульфита с хлоридом железа образуется сульфат железа, который вызывает почернение питательной среды.

Для выявления СРК 1 мл исследуемой взвеси стерильной пипеткой вносят в пробирку с 9 мл жидкой сульфит-циклосериновой среды или среды Вильсон-Блера. Затем проводят последовательные пересевы на аналогичные объемы среды и получают возрастающие 10-кратные разведения суспензии. Посевы выдерживают 18–20 ч при температуре +37°C, при наличии СРК среда чернеет.

Для подтверждения принадлежности выделенных культур к кластридиям проводят пересев на поверхность агаризованной плотной среды Вильсон-Блера и инкубируют в анаэробных условиях при температуре +37°C в течение 24–48 ч. Отбирают типичные колонии и изучают микроорганизмы по морфологическим и некоторым культурально-ферментативным свойствам, в частности, по отрицательной реакции на каталазу.

Если в посевах (в 4 колониях из 5) обнаружены СРК, споробразующие палочки, грамположительные, каталаза-отрица-

Таблица 12

**Микробиологические нормативы колбасных изделий и продуктов из мяса животных и птиц**

Группа продуктов	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается наличие			
		ББГКМ	ССРК	<i>S. aureus</i>	Патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонеллы
Колбаса сыро-копченая	—	0,1	0,01	1	25
Вареные колбасные изделия, сардельки, сосиски:					
высшего и I сорта	1·10 <sup>3</sup>	1	0,01	1	25
II сорта	2,5·10 <sup>3</sup>	1	0,01	1	25

тельные, способные расти в анаэробных условиях, то делают заключение о наличии в продукте СРК по максимальному разведению суспензии, в посеве которого наблюдается почернение среды. Например, если характерные изменения наблюдаются в пробирках с разведением  $10^{-1}$ , то считают, что в 1 г исследуемого продукта содержится 10 клеток, при аналогичных изменениях в пробирках с разведением  $10^{-2}$  — 100 клеток.

При получении неудовлетворительных результатов микробиологического анализа готовой продукции по требованию контролирующих организаций проводят исследование вспомогательных материалов при постоянном входном контроле.

Микробиологические показатели колбасных изделий и продуктов из мяса, регламентированные санитарными правилами и нормами, представлены в табл. 12.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести бактериологическое исследование вареной колбасы для определения количества МАФАИМ.
2. Провести бактериологическое исследование вареной колбасы для определения наличия БГКП.
3. Провести бактериологическое исследование вареной колбасы для индикации сальмонелл.
4. Провести бактериологическое исследование вареной колбасы для индикации клостридий.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Какие особенности отбора проб колбасы для бактериологического исследования вы знаете?
2. Назовите источники микробного обсеменения колбасы в процессе приготовления.
3. Какие виды микроорганизмов определяют в исследуемой колбасе?
4. С какой целью проводят индикацию БГКП в исследуемой колбасе?
5. Какие элективные среды применяют при индикации БГКП?
6. О чем свидетельствует наличие протей в исследуемой колбасе?

## ТЕМА 6. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЯИЦ И ЯИЧНЫХ ПРОДУКТОВ

---

**Цель занятия.** Обучить студентов методам бактериологического контроля качества яиц и яйцепродуктов.

**Материальное оснащение.** Куриные яйца, яичный порошок, 0,5% -ный раствор кальцинированной соды, 70% -ный спирт, стерильный физраствор в колбах по 200–300 мл, в пробирках по 9 мл, стерильные пипетки, стерильные марлевые тампоны 5×5 см в чашках Петри, стерильные ступки, чашки Петри, МПА столбиком в пробирках по 12 мл, среды Кесслера, Кауфмана, среды обогащения, Крумвиде–Олькеницкого, Клиглера, стерильные мензурки.

**При бактериологическом исследовании яиц** руководствуются СТСЭО ГОСТ 30364.2.96.

**Микробиологические показатели яиц и яичных продуктов** оценивают в соответствии с СанПиН 2.3.2.560-96.

Санитарно-микробиологическому контролю подвергают поступающее сырье (яйца куриные), готовые продукты: яичный меланж, яичный порошок. Осуществляется контроль соблюдения технологических и санитарно-гигиенических режимов производства яйцепродуктов.

Яйца для микробиологического анализа отбирают из разных мест партии методом случайной выборки в количестве 30 шт. Отобранную пробу упаковывают в чистую тару и транспортируют в условиях, исключающих их повреждение и вторичную контаминацию (загрязнение).

Особенность санитарно-микробиологического исследования яиц и продуктов их переработки заключается в одновременном исследовании микрофлоры на поверхности скорлупы и в содержимом яйца.

При микробиологическом исследовании поверхности скорлупы яиц делают смывы, полученные методом использования тампона, методом ополаскивания или методом измельчения.

При получении смыва методом использования тампона в ступку, содержащую 10 мл стерильного физраствора, погружают яйцо и с помощью стерильного тампона обмывают поверхность яйца в течение 2–3 мин, полученный смыв исследуют.

При получении смыва методом ополаскивания в стерильную посуду или полиэтиленовый пакет наливают 10 мл стерильной жидкости, в которую погружают яйцо и встряхивают 5 мин. Полученный смыв исследуют.

При получении смыва методом измельчения скорлупу и подскорлупную оболочку от трех яиц отделяют от содержимого и помещают в стерильные ступки. Содержимое растирают пестиком, заливают 90 мл стерильной жидкости. После 3–5 мин отстаивания надсадочную жидкость исследуют без разведения или готовят 10-кратные разведения в зависимости от степени загрязнения поверхности скорлупы.

Математически поверхность яйца вычисляют по формуле

$$S = n \cdot \frac{B \cdot P}{2},$$

где  $S$  — площадь поверхности;  $B$  — ширина яйца, см;  $P$  — длина окружности, см;  $n$  — 3,14.

Общую бактериальную обсемененность поверхности яиц (количество МАФАНМ) определяют общепринятыми методами путем посева 1 мл смыва или его 10-кратных разведений параллельно в две чашки Петри, которые заливают 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры +50°C МПА, культивируют в термостате 48–72 ч при температуре +30°C. Подсчитывают все колонии, выросшие в глубине и на поверхности плотной питательной среды, определяют среднее арифметическое число колоний по двум чашкам одного разведения, умножают на величину разведения и делят на площадь поверхности скорлупы яиц. В результате получают количество микроорганизмов (КОЕ/см<sup>2</sup>) на 1 см<sup>2</sup> скорлупы яиц.

Перед микробиологическим исследованием содержимого яиц поверхность скорлупы обмывают теплым 0,2%-ным раствором каустической соды или 0,5%-ным раствором кальцини-

рованной соды в течение 2 мин. После мойки яйцо ополаскивают водопроводной водой, дают стечь и погружают в 70%-ный спирт на 10 мин, после чего обжигают в пламени.

На остром конце яйца делают отверстие диаметром около 1 см и снова обжигают. Содержимое одного или нескольких яиц выливают в колбу и гомогенизируют с помощью бус или пипеток до однородной консистенции. Исследование проводят сразу, для этого 10 мл яичной массы переносят в колбу, содержащую 90 мл стерильного физраствора (исходное разведение 1 : 10), из которого переносят 1 мл в пробирку с 9 мл физраствора, получая разведение 1 : 100, 1 : 1000 и так далее до нужного конечного разведения.

Микробиологическое исследование содержимого яиц сводится к определению МАФАнМ, выявлению БГКП, золотистого стафилококка, протей, сальмонелл и в некоторых случаях *B. cereus*.

Для определения МАФАнМ (КОЕ/г или КОЕ/мл) по 1 мл полученных разведений вносят параллельно в чашки Петри (по две чашки на каждое разведение) и заливают расплавленным и охлажденным до температуры +50°C МПА. Тщательно перемешивают и после застывания инкубируют при температуре +30°C в течение 72 ч. Подсчитывают все выросшие колонии. По результатам подсчета определяют среднее арифметическое значение числа колоний из всех посевов одного разведения.

Количество КОЕ в 1 г яичных продуктов определяют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 10^n}{V},$$

где  $a$  — среднее арифметическое число колоний в чашке;  $n$  — степень 10-кратного разведения продукта;  $V$  — объем посевного материала, внесенного в чашку.

Результаты исследований записывают следующим образом: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов 1,0·10 КОЕ/г.

Для выявления БГКП проводят посев по 1 мл натурального продукта и из разведений 1 : 10, 1 : 100 в среду Кесслера; посеvy культивируют 24 ч в термостате при температуре +37°C. Из пробирок с признаками роста делают посев на среду Эндо и выдерживают 24 ч при температуре +37°C. Затем посеvy просмат-

ривают и отмечают рост колоний, характерных для БГКП. Не менее чем из трех характерных колоний готовят препараты, окрашивают их по Граму и микроскопируют. Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. Обнаружение на среде Эндо колоний с характерными признаками роста, наличие в мазках грамотрицательных палочек, сбразивающих лактозу, указывает на присутствие в продукте БГКП.

Результат записывают следующим образом: не обнаружены (или обнаружены) БГКП в 0,1 мл жидких (в 0,1 г сухих) яичных продуктов.

Для индикации сальмонелл 25 мл натурального продукта вносят в колбу, содержащую 225 мл среды обогащения (Кауфмана, магниевой или селенитовой), встряхивают, термостатируют при температуре +37°C в течение 20 ч. Затем из среды обогащения бактериологической петлей проводят высев в чашки Петри с ВСА (или средой Плоскирева, Левина), выдерживают в термостате. Учет результатов проводят на ВСА через 48 ч, а на средах Плоскирева, Левина — через 24 ч. Из типичных для сальмонелл колоний выбирают не меньше трех, переносят их в пробирки с МПА, МПБ и на дифференциальную среду Крумвиде-Олькеницкого или Клигlera, которые далее засевают штрихом на скошенную поверхность, а затем уколом в глубину столбика. Посевы инкубируют в термостате при температуре +37°C в течение 24 ч.

Выросшие колонии с поверхности дифференциальных сред используют для постановки РА и приготовления мазков.

Таблица 13

**Нормативы микробиологических показателей яиц и яичных продуктов**

Группа продуктов	МАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается наличие следующих бактерий			
		БГКП	<i>S. aureus</i>	протей	сальмонелла
Яйца куриное, перепелиное, диетическое	5·10 <sup>3</sup>	0,1	—	—	25
Яйца куриное, столовое	5·10 <sup>5</sup>	0,01	—	—	25
Меланж яичный, мороженный	5·10 <sup>5</sup>	0,1	1	1	25

У полученных культур изучают морфологические, тинкториальные, ферментативные свойства, способность образовывать сероводород и другие свойства, характерные для бактерий рода *Salmonella*.

Микробиологические показатели яиц и яичных продуктов, регламентированные санитарными правилами и нормами, представлены в табл. 13.

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЯИЧНЫХ ПРОДУКТОВ

При микробиологическом исследовании **яичных мороженных продуктов** (меланжа, белка, желтка) для проверки соответствия их качества требованиям действующей нормативно-технической документации из разных мест партии отбирают 3% ящичков, но не менее 6 шт. Из каждого ящичка выбирают по одному пакету/банке. Из разных мест каждого пакета/банки стерильным масляным щупом отбирают не менее 4 столбиков продукта в стерильную посуду. Перед проведением микробиологического исследования продукты размораживают в водяной бане при температуре не выше +45°C с условием, чтобы температура внутри пробы была не выше +1...+5°C.

Отобранные пробы соединяют, тщательно перемешивают и получают объединенную пробу массой не более 0,5 кг, которую помещают в стерильную посуду с притертой пробкой. Из объединенной пробы берут 100 г продукта для проведения микробиологического анализа, остальную часть используют для органолептического и физико-химического анализов.

Для оценки санитарно-микробиологического качества **яичных сухих продуктов** из разных мест исследуемой партии отбирают 3% единиц упаковки, но не менее 3 экземпляров. Из разных мест отобранной в выборку упаковочной единицы отбирают не менее 3 точечных проб, взятых в равном количестве.

Отбор проб осуществляют щупом, черпаком, ложкой, металлической трубкой, шпателем или другим приспособлением, заранее проавтоклавированным или стерилизуемым фламбированием перед каждым применением.

Масса пробы, отобранной из каждой бочки, мешка, ящичка или банки, должна быть не менее 200 г. От партии сухого яич-

ного продукта, фасованного в пакеты, отбирают из разных мест каждого выбранного ящика по 3 пакета. Пробы соединяют, тщательно перемешивают, подвергают квартованию и получают объединенную пробу массой 0,5 кг.

Объединенную пробу яичного порошка делят на две равные части, которые помещают в чистые стерильные стеклянные банки с притертыми пробками или полиэтиленовые пакеты.

Одну часть пробы направляют в лабораторию для исследования, другую пломбируют, снабжают этикеткой и хранят 1 месяц при температуре не выше +20°C и относительной влажности 65–75% на случай разногласий при определении качества сухого яичного продукта.

На этикетке указывают: наименование предприятия-изготовителя, наименование продукта, дату выработки, номер и размер партии, дату и место отбора проб, фамилию лиц, отбравших пробу, обозначение действующего нормативно-технического документа.

Из объединенной пробы в стерильную посуду отбирают 100 г сухого яичного продукта для проведения анализа, остальную смесь используют для проведения органолептических и физико-химических анализов.

Для приготовления разведений навесок сухих яичных продуктов массой 10 г вносят в колбочку с 90 мл стерильного физраствора, соблюдая правила асептики, и готовят серию 10-кратных разведений яичных продуктов в зависимости от предполагаемого обсеменения продукта.

При несоответствии качества яиц и яйцепродуктов по микробиологическим показателям их направляют на выработку термически обрабатываемых продуктов.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести бактериологическое исследование скорлупы исследуемых яиц.
2. Провести бактериологическое исследование содержимого яиц для определения количества МАФАНМ методом горячей заливки.
3. Провести индикацию БГКП в содержимом яиц.
4. Провести индикацию сальмонелл в содержимом яиц.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Каковы правила отбора проб яиц для бактериологического исследования?
2. Назовите источники эндогенного и экзогенного загрязнения яиц.
3. Перечислите, какие виды бактерий определяют при бактериологическом исследовании яиц.
4. В какой массе продукта определяют наличие сальмонелл?
5. Какие меры принимают при несоответствии качества яиц и яйцепродуктов по микробиологическим показателям?

## ТЕМА 7. САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОКА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МАФАНМ. РЕДУКТАЗНАЯ ПРОБА. КОЛИ-ТИТР МОЛОКА

---

**Цель занятия.** Ознакомить студентов с показателями санитарно-бактериологической оценки молока для определения сорта. Дать представление о микробиологических методах исследования сырого и пастеризованного молока.

**Материальное оснащение.** Для определения МАФАНМ в 1 мл: пробы сырого и пастеризованного молока, пробирки со стерильным физраствором по 9 мл для метода серийных разведений, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1, 2 мл, пробирки с МПА столбиком. Среда Кесслера по 5 мл в пробирках.

Для изучения механической загрязненности молока используются специальные круглые фильтры для молока.

Для постановки редуктазной пробы необходима метиленовая синь в пробирках с пипетками, исследуемое молоко по 10 мл и редуктазник.

Для обнаружения ингибирующих веществ (антибиотиков) в молоке необходимо следующее: исследуемое молоко, рабочий раствор резазурина в пробирках с пипетками, культура термофильного молочнокислого стрептококка в пробирках с пипетками, водяная баня с термометром или редуктазник.

Исследование молока и молочных продуктов поводят по ГОСТ 9225-84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа». ГОСТ 13928-84 «Молоко и сливки заготавливаемые. Правила приема, методы отбора проб и подготовка их к исследованию».

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОКА

Сорт молока зависит от количеств МАФАНМ в 1 мл молока, по санитарным правилам и нормам (СанПиН 2.3.2.1078-01) сырое молоко подразделяют на:

- на молоко сырое, высший сорт — не более 300 тыс. бактерий в 1 мл;
- на молоко сырое, I сорт — не более 500 тыс. бактерий в 1 мл;
- на молоко сырое, II сорт — не более 4 млн бактерий в 1 мл.

Для определения количества бактерий в молоке проводят бактериологическое исследование по следующей методике: 1 мл сырого молока вносят в пробирку с 9 мл стерильной воды для получения первого разведения  $1:10$  ( $10^{-1}$ ), из которого 1 мл переносят во вторую пробирку с 9 мл стерильной воды — получается разведение  $1:100$  ( $10^{-2}$ ) и так далее до разведения  $1:10^6$ . Из двух последних разведений ( $10^{-5}$  и  $10^{-6}$ ) по 1 мл вносят в две чашки Петри, каждую заливают 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры  $+50^{\circ}\text{C}$  МПА, перемешивают путем легкого вращательного покачивания и после застывания агара их помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 24–48 ч. После этого подсчитывают количество выросших колоний в каждой чашке, определяют среднеарифметическое число. При этом для подсчета берут те чашки, количество колоний в которых не менее 30 и не более 500.

Число колоний, выросших в каждой чашке, пересчитывают на 1 мл или 1 г продукта с учетом разведения и определяют количество бактерий в 1 мл исследуемого молока. Следовательно, бактериологическим методом сорт молока можно установить лишь через сутки после его приема на молокозаводе. **Никакое производство не может себе этого позволить.** Поэтому на молокозаводе сорт молока определяют быстро, но косвенным путем. Для этого при приеме молока учитывают следующий комплекс признаков (табл. 14): кислотность молока, редуктазную пробу и степень чистоты по эталону, наличие соматических клеток.

На все показатели, по которым производится контроль качества принимаемого молока, следует обращать внимание, так как оценка молока при сдаче осуществляется по худшему из них. Например, если по редуктазной пробе молоко относится к I классу, по степени чистоты — к 1-й группе, а кислотность при этом повышена до  $20^{\circ}\text{T}$ , то молоко будет отнесено ко II сорту.

**Кислотность молока** служит одним из основных показателей санитарного качества, по которому при приеме осуществляется сортировка молока. Она напрямую связана с бактери-

Показатели сорта молока

Показатели	Норма для сорта			
	высший	I	II	несортовой
Кислотность молока, °Т	16–18°	16–18°	16–20°	не более 21°
Степень чистоты по эталону	1	1	2	3
Бактериальная обсемененность по редуцтазной пробе	1	1	2	3
Соматические клетки	до 500 т	свыше 500	до 1 млн	—
Температура молока	Должна быть ниже +10°С			

альной обсемененностью. Свежее молоко имеет нейтральную реакцию и почти не содержит молочной кислоты.

Кислотность молока обозначают в условных градусах Тернера (°Т). Под условными градусами понимают количество мл 0,1 М раствора едкого натра (калия), необходимых для нейтрализации 100 мл молока, разбавленного вдвое дистиллированной водой в присутствии индикатора фенолфталеина.

Показатель титруемой кислотности позволяет установить повышение кислотности в результате размножения молочнокислых бактерий, сбраживающих лактозу до молочной кислоты.

Чем дольше хранится молоко в неохлажденном состоянии при температуре выше +10°С, тем больше в нем размножаются молочнокислые бактерии и тем выше его кислотность.

Нормальная кислотность свежего молока колеблется от 16 до 18°Т. При кислотности выше 21°Т начинается первая стадия порчи молока — прокисание. Такое молоко не выдерживает тепловой обработки и не может быть сырьем для выработки стандартных молочных продуктов.

**Определение степени чистоты.** Показателем санитарных условий получения молока является определение степени его чистоты, которая характеризуется наличием механических примесей.

**Методика.** Через специальный фильтр процеживают 250 мл молока и сравнивают полученный осадок на фильтре с эталонами 1, 2 и 3-й групп.

Молоко по степени загрязненности делят на группы:

1-я — на фильтре нет частиц механической примеси;

2-я — на фильтре отдельные частицы механической примеси;

3-я — на фильтре заметный осадок (волоски, частицы сена, песка).

**Проба на редуктазу** является косвенным методом определения общей микробной обсемененности молока, основанным на изменении биохимических показателей данного продукта. Преимущество этого метода — **простота и быстрота проведения анализа** по сравнению с бактериологическим исследованием.

Суть метода заключается в том, что микроорганизмы, попавшие в молоко, в процессе жизнедеятельности выделяют в окружающую среду наряду с другими окислительно-восстановительными ферментами анаэробные дегидразы, которые по старой классификации называются *редуктазами*. Существует прямая зависимость между общим количеством бактерий в молоке и содержанием в нем редуктазов (чем больше бактерий, тем больше редуктазов), что позволяет использовать редуктазную пробу как косвенный показатель степени бактериальной обсемененности сырого молока.

Фермент редуктаза обладает способностью восстанавливать метиленовую синь, которая при этом наглядно обесцвечивается.

**Методика.** В пробирки наливают 20 мл исследуемого молока и 1 мл рабочего раствора метиленовой сини, закрывают резиновой пробкой, смешивают путем трехкратного переворачивания пробирки (молоко при этом окрашивается в синий цвет). Далее пробирки помещают в водяную баню при температуре +40°C (на лабораторных занятиях можно внести изменения: наливать 10 мл исследуемого молока и добавлять 0,5 мл метиленовой сини).

Снимают показатели изменения окраски через 20 мин, через 2 ч, через 5 ч 30 мин после начала анализа. В бактериально чистом молоке фермента редуктазы содержится очень мало, поэтому оно обесцвечивается медленно.

В зависимости от времени обесцвечивания метиленовой сини молоко относится к одному из четырех классов в соответ-

## Классификация молока по редуктазе

Класс молока	Оценка качества молока	Продолжительность обезвечивания	Количество бактерий в 1 мл молока
1	хорошее	свыше 5 ч 30 мин	менее 500 тыс.
2	удовлетворительное	свыше 2 ч до 5 ч 30 мин	от 500 тыс. до 4 млн
3	плохое	свыше 20 мин до 2 ч	от 4 до 20 млн
4	очень плохое	20 мин и менее	20 млн и выше

ствии с ГОСТом. Показатели классификации молока по редуктазе представлены в табл. 15.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ ИНГИБИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В МОЛОКЕ

Молочные предприятия не принимают молоко с нейтрализующими, консервирующими веществами, содержащее антибиотики и другие ингибирующие вещества, так как они задерживают или подавляют (ингибируют) развитие молочнокислых микроорганизмов, применяемых для выработки кисломолочных продуктов.

Для определения наличия в молоке антибиотиков, формалина, перекиси водорода и других ингибиторов предложена резазуриновая проба. Сущность метода заключается в том, что молочнокислые микроорганизмы *Str. thermophilus* (очень чувствительные к ингибирующим веществам), размножаясь, выделяют молочную кислоту, восстанавливающую резазурин.

#### Методика обнаружения антибиотиков в молоке.

К 10 мл молока добавляют 1 мл рабочего раствора резазурина и 3–4 капли термофильного стрептококка (*Str. thermophilus*), чувствительного к антибиотикам. Содержимое пробирок перемешивают, молоко окрашивается в фиолетовый цвет. Пробирки ставят в водяную баню при температуре +40°C на 45 мин.

Заключение о качестве молока делают по следующим изменениям:

- сине-стальной или фиолетовый цвет исследуемого молока в пробирке указывает на наличие в нем антибиотиков (инги-

бирующих веществ). Наблюдается ингибирование размножения молочнокислого стрептококка, поэтому молочная кислота не выделяется и цвет индикатора не изменяется;

- окрашивание содержимого пробирки в белый или розовый цвет указывает на отсутствие в молоке антибиотика, таким образом молочнокислый стрептококк беспрепятственно размножается, поэтому образовавшаяся молочная кислота обесцвечивает резазурин.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАСТЕРИЗАЦИИ

В торговую сеть молоко поступает в пастеризованном виде. Цель пастеризации — уничтожить гнилостные и молочнокислые бактерии, чтобы продлить срок хранения молока. Режимы пастеризации, принятые в молочной промышленности, обеспечивают полное уничтожение возбудителей туберкулеза, бруцеллеза, условно патогенных микроорганизмов и кишечной палочки. На производстве применяются несколько режимов пастеризации молока:

- кратковременная — при температуре  $+74\dots+76^{\circ}\text{C}$  в течение 20 с;
- моментальная — при температуре  $+85\dots+90^{\circ}\text{C}$  без выдержки.

После пастеризации молоко и сливки необходимо охладить до температуры  $+4^{\circ}\text{C}$ , так как это будет препятствовать прорастанию спор и развитию оставшейся термофильной микрофлоры. Микробиологический контроль эффективности пастеризации молока проводят в соответствии с действующей инструкцией, при этом определяют:

- общее микробное число в 1 мл (МАФАНМ);
- коли-титр и бродильный титр.

Количество МАФАНМ определяют в 1 мл исследуемого молока или молочных продуктов. Для этого готовят последовательные разведения сырого молока до  $10^{-6}$  и пастеризованного молока до  $10^{-3}$  на стерильной воде.

По 1 мл из 2–3 последних разведений вносят в стерильные чашки Петри и заливают расплавленным и охлажденным до температуры  $+50^{\circ}\text{C}$  питательным агаром (из каждого разведе-

ния делают посев параллельно в 2–3 чашки). Содержимое чашек тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания. После застывания среды чашки помещают в термостат при температуре +30°C на 48 ч, далее подсчитывают количество выросших колоний в каждой чашке, определяют среднее арифметическую по последним разведениям. При этом для подсчета берут те чашки, количество колоний в которых не менее 30 и не более 300. Общее микробное число в 1 мл молока определяют умножением количества колоний на степень разведения.

Микробиологические показатели молока в соответствии с действующим стандартом Санитарных правил и норм (СанПиН) представлены в табл. 16.

В кисломолочных продуктах количество МАФАНМ не определяют из-за наличия специфической флоры, используемой для их изготовления, но обязательно контролируют состав молочнокислой микрофлоры.

При определении санитарно-показательных микроорганизмов в молоке учитывают наличие и количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

БГКП являются постоянными обитателями желудочно-кишечного тракта человека и животных, они также находятся на коже животного, в кормах и подстилке, поэтому получить молоко без кишечной палочки довольно сложно. При попадании

Таблица 16

Микробиологические нормативы показателей молока

Продукт	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются БГКП/дистер. сальмонеллы		Примечание
Молоко пастеризованное в потребительской таре	100 000	0,01	25	<i>S. aureus</i> в 1 г не допускаются
Молоко пастеризованное во флягах	200 000	0,01	25	то же
Сливки пастеризованные в потребительской таре	100 000	0,01	25	то же
Сливки пастеризованные во флягах	200 000	0,01	25	то же

в молоко эти бактерии вызывают различные пороки, изменяя его вкус, запах и консистенцию. Также они являются индикатором фекального загрязнения, свидетельствующем о возможном присутствии в молоке патогенных бактерий.

Для характеристики санитарно-гигиенических условий производства и реализации молока устанавливают степень обсеменения продукта бактериями группы кишечной палочки, т. е. определяют коли-титр.

**Титр** — это наименьшее количество продукта, выраженное в мл (г), в котором обнаружены БГКП. Согласно ГОСТу титр кишечных палочек в молоке и молочных продуктах определяют трехэтапным бродильным методом. При этом учитывают цитратотрицательные разновидности кишечных палочек, которые не растут на средах Козера или Симонсона.

*Первый этап* — постановка первой бродильной пробы, заключается в посеве исследуемого продукта на среду Кесслера.

**Примечание.** В состав среды Кесслера входят следующие компоненты: 5% желчи, 1% пептона, 0,25% глюкозы, в качестве ингибитора добавляют краску генцианвиолет, которая подавляет размножение грамположительной микрофлоры (кишечная палочка грамотрицательная). Среду Кесслера разливают в пробирки по 5 мл с поплавками. Готовая среда окрашена в фиолетовый цвет (в результате роста БГКП среда становится мутной, а в поплавках появляется газ). Кисломолочный продукт исследуют по этой же схеме, но перед посевом нейтрализуют. Для этого стерильной пипеткой вносят 10 мл исследуемого продукта в стерильную пробирку и добавляют 1 мл 10%-ного раствора пищевой соды.

Для определения коли-титра посев молока проводят мелко в объеме 3,3 мл в шесть пробирок. Для этого в три пробирки со средой Кесслера вносят по 1 мл молока, а в три оставшиеся — по 0,1 мл молока. Посевы помещают в термостат при температуре +43°C на 24 ч (при такой температуре растет кишечная палочка только теплокровных).

Пробирки с посевами просматривают, отмечают изменения: появление помутнения среды и газа в поплавках. По сумме признаков устанавливают бродильный титр, т. е. наименьший объем продукта, в котором обнаружены БГКП.

*Второй этап.* Из каждой забродившей пробирки для подтверждения принадлежности к БГКП проводят пересев на среду Эндо с таким расчетом, чтобы получить изолированные колонии, для чего петлей берут минимальное количество посевного материала и проводят посев частым штрихом.

Перед посевом дно чашки с агаром Эндо делят на четыре сектора. Посев из каждой забродившей пробирки со средой Кесслера проводят в отдельный сектор. Чашки с посевами помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 24 ч.

*Третий этап.* При отсутствии на среде Эндо колоний, типичных для БГКП (красных с металлическим блеском, розовых), продукт считают не загрязненным кишечной палочкой.

При наличии на среде Эндо колоний, типичных для БГКП, а также бесцветных их изучают следующим образом: готовят препарат из изолированных колоний, окрашивают по Граму и микроскопируют. Если в препарате обнаружены грамотрицательные палочки, то ставят *вторую бродильную пробу*.

**Вторая бродильная проба.** Для ее проведения проверенные и выбранные с каждого сектора агара Эндо колонии отсеивают на цитратную среду Симмонса и глюкозопептонную среду (ГПС). Бактерии культивируют 24 ч в среде Симмонса в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ , а в ГПС — при температуре  $+43^{\circ}\text{C}$ .

*Примечание.* Среда Симмонса содержит цитрат натрия и индикатор бромтимолблау, готовая среда имеет травянисто-зеленый цвет. Эшерихии, не утилизирующие цитраты, на этой среде не растут, поэтому цвет среды не изменяется. При росте на данной среде цитратположительных бактерий, которые не учитываются, она изменяет свой цвет с зеленого на синий.

Учет результатов посева колоний с агара Эндо на среду Симмонса следующий:

- отсутствие роста на цитратной среде Симмонса указывает на наличие в исследуемом продукте цитратотрицательных разновидностей БГКП, которые необходимо учитывать;
- изменение зеленого цвета среды на синий свидетельствует о том, что обнаруженные бактерии относятся к цитратположительным разновидностям БГКП, которые не учитываются.

Учет результатов посева колоний с агара Эндо на глюкозопептонную среду следующий:

- если в ГПС при температуре  $+43^{\circ}\text{C}$  нет брожения, то считают, что в продукте БГКП отсутствуют;
- если в ГПС произошло брожение и одновременно отсутствует рост на среде Симмонса, то считают, что в продукте присутствуют БГКП.

После учета результатов на ГПС и среде Симмонса вычисляют коли-титр исследуемого молока и молочных продуктов по табл. 17.

Коли-титр молока и молочных продуктов

Варианты	Кишечная палочка обнаружена в следующих объемах молока, мл						Вычисленные коли-титры, мл
	1	1	1	0,1	0,1	0,1	
а	—	—	—	—	—	—	Более 3,0
б	+	—	—	—	—	—	Равен 3,0
в	+	+	+	+	+	—	Менее 0,3
	+	+	—	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	

а) если ни в одном из засеянных объемов продукта не обнаружено кишечной палочки, то считают коли-титр более 3,0 мл;

б) если в одном из засеянных объемов по 1 мл продукта обнаружена кишечная палочка, то считают, что коли-титр равен 3,0 мл;

в) если кишечная палочка обнаружена в пяти посевах или во всех объемах продукта, то считают коли-титр менее 0,3 мл;

г) во всех остальных случаях считают коли-титр равным 0,3 мл.

Результаты бактериологического исследования качества готовой продукции не могут быть использованы для задержки выпуска молочной продукции, так как на их проведение требуется много времени, но по ним судят о санитарно-гигиеническом благополучии предприятия.

### ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Провести постановку редуктазной пробы с молоком различной бактериальной загрязненности. Оценить качество различных проб молока.

2. Провести постановку резазуриновой пробы и определить наличие ингибиторов в различных пробах молока.

3. Провести бактериологическое исследование сырого и пастеризованного молока.

4. Ознакомиться с демонстрационными посевами молока на средах Симмонса и ГПС, обратить внимание на изменение цвета среды и пузырьки газа в поплавах.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Почему возникла необходимость в определении количества бактерий в молоке косвенным путем?
2. Каким методом определяют количество МАФАнМ в 1 мл молока?
3. Какие показатели изучают при определении сорта молока?
4. В чем преимущество редуктазной пробы при определении сорта молока?
5. На чем основано определение наличия ингибиторов в молоке?

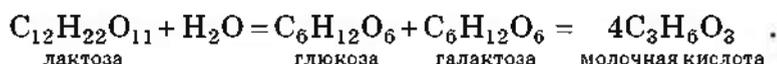
## ТЕМА 8. ИЗУЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

---

**Цель занятия.** Сформировать у студентов представление о микроскопических методах исследования продуктов молочнокислого брожения, научить определять наличие посторонней микрофлоры.

**Материальное оснащение.** Набор продуктов молочнокислого брожения: кефир, кефирные грибки в колбе, законсервированные формалином, катык, кумыс, ацидофилин, сметана и другие продукты, применяемые в этой географической зоне. Микроскопы, метиленовая синь, иммерсионное масло, спиртовки, бактериологические петли, предметные стекла.

**Общим признаком** всех кисломолочных продуктов является молочнокислое брожение, вызванное молочнокислыми бактериями. Микроорганизмы выделяют фермент — лактазу, расщепляющую дисахарид лактозу на 2 молекулы моносахаридов — глюкозу и галактозу.



Таким образом, из одной молекулы сахара лактозы образуются четыре молекулы молочной кислоты. В молоке повышается кислотность, содержащийся в нем казеин свертывается и образует сгусток.

В некоторых кисломолочных продуктах наряду с молочнокислым брожением протекает и спиртовое брожение. В связи с этим различают следующие виды продуктов:

- продукты молочнокислого брожения: сметана, простокваша, ацидофильное молоко;
- продукты смешанного (молчнокислого и спиртового) брожения: кумыс, кефир, катык и др.

## ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

После пастеризации молоко охлаждают до температуры сквашивания кисломолочного продукта. В зависимости от вида приготавливаемого продукта применяют различную температуру при сквашивании:

- для мезофильных микроорганизмов —  $+30...+35^{\circ}\text{C}$ ;
- для термофильных микроорганизмов —  $+40...+42^{\circ}\text{C}$ .

Для получения кисломолочного продукта желательной консистенции с выраженным вкусом и ароматом необходима хорошая закваска. На молокозаводах применяют закваски, состоящие из чистой культуры молочнокислых бактерий, полученных из ВНИИМП (Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности).

Каждая культура должна иметь паспорт, в котором указаны морфологические и тинкториальные свойства, температурный оптимум, способность ферментировать молочную кислоту до 110 или  $300^{\circ}\text{T}$ , а также выделять ароматические соединения.

Чаще применяются следующие виды молочнокислых микроорганизмов:

1) молочнокислый стрептококк — *Streptococcus lactis*, *Str. thermophilus*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*;

2) молочнокислые палочки — *Lactobacterium bulgaricum*, *L. acidophilus*.

Для каждого кисломолочного продукта применяется своя специфическая закваска. Отличие между ними в том, что в каждой закваске находится один или несколько видов микроорганизмов, которые, развиваясь в продукте, придают ему нужные, характерные свойства.

Чистоту закваски, а также количественное соотношение между ее компонентами проверяют ежедневно путем приготовления из готовых кисломолочных продуктов препаратов на предметном стекле, окрашиванием и изучением их под иммерсионным микроскопом.

После заквашивания кисломолочный продукт разливают в потребительскую тару, охлаждают до температуры  $+4...+6^{\circ}\text{C}$  и отправляют на склад.

## ПРОДУКТЫ МОЛОЧНОКИСЛОГО БРОЖЕНИЯ

**Ацидофильное молоко** относится к продуктам молочнокислого брожения, для приготовления которого применяется ацидофильная палочка. Она, в отличие от других молочнокислых бактерий, хорошо приживается в желудочно-кишечном тракте, так как относится к постоянным обитателям желудочно-кишечного тракта молодняка и детей, находящихся на молочном вскармливании. При переходе на смешанное кормление она заменяется другими микроорганизмами. Ацидофильная палочка образует больше молочной кислоты, антибиотических веществ, чем другие молочнокислые бактерии, которые губительно действуют на гнилостные, болезнетворные виды бактерий.

Именно поэтому рекомендуют использовать ацидофильные препараты в качестве пробиотиков для профилактики и лечения болезней желудочно-кишечного тракта при дисбактериозе, а также для ускорения восстановления полезной микрофлоры кишечника после приема антибиотиков.

Для приготовления *ацидофильного молока* в пастеризованное и охлажденное до температуры  $+42^{\circ}\text{C}$  молоко вносят 3% закваски, содержащей чистую культуру *L. acidophilum*, перемешивают и помещают в термостат при температуре  $+42^{\circ}\text{C}$ , сгусток образуется через 6–8 ч. Он должен иметь однородную, тягучую консистенцию.

Для контроля чистоты закваски из готового продукта бактериологической петлей берут каплю и наносят на предметное стекло, готовят мазок, окрашивают метиленовой синью.

При микроскопии препаратов из ацидофильного молока обнаруживаются крупные палочки, расположенные одиночно или в виде коротких цепочек, без присутствия посторонней микрофлоры.

**Сметана.** В пастеризованные и охлажденные до температуры  $+30^{\circ}\text{C}$  сливки вносят 0,5–3% закваски, состоящей из чистой культуры *Str. lactis* или *Str. cremoris*. Заквашивание происходит в течение 8–10 ч.

При микроскопии препаратов, приготовленных из сметаны, должны быть видны молочнокислые стрептококки, распо-

ложенные парно или в виде коротких цепочек без присутствия посторонней микрофлоры.

**Простокваша.** В домашних условиях для приготовления простокваши сырое молоко без внесения закваски ставят в теплое место на 6–8 ч. В нем последовательно проходят все фазы — от бактерицидной до молочнокислой, при этом накапливается молочная кислота и образуется сгусток. Молоко в фазе молочнокислого брожения называется «простоквашей», которую для предотвращения повышенной кислотности ставят в холодное место для созревания. При микроскопии препаратов, приготовленных из простокваши, преобладают молочнокислые стрептококки.

## ПРОДУКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО БРОЖЕНИЯ

**Кефир** — кисломолочный продукт смешанного брожения, для приготовления которого используются кефирные грибки. Они имеют определенную структуру и ведут себя биологически, как живой саморегулирующийся организм: растут, делятся и обладают наследственностью.

При гистологическом исследовании срезов видны переплетения нитей, которые образуют строуму грибка, удерживающую остальную группу микроорганизмов, состоящую из:

- 1) из мезофильных молочнокислых стрептококков (*Str. lactis*);
- 2) из мезофильных молочнокислых палочек (*Beta*- и *Streptobacterium*);
- 3) из термофильных молочнокислых палочек (*L. casei*);
- 4) из молочных дрожжей, прочно связанных со строумой гриба.

Молочнокислые бактерии, гидролизуют лактозу, снабжают молочные дрожжи кислотой, необходимой им для жизнедеятельности, а дрожжи, вызывая спиртовое брожение, насыщают продукт углекислотой, что придает кефиру особый вкус.

**Методика приготовления грибковой кефирной закваски:** в пастеризованное и охлажденное до температуры +20°C молоко вносят 5% кефирных зерен, заквашивание происходит в течение 10–12 ч. Затем грибковую закваску процеживают через сито и используют как производственную закваску для приготовления

ния потребительского кефира, у которого определяют вкус, запах и качество сгустка.

Качество закваски регулярно проверяют, определяют активность (скорость сквашивания, кислотность), органолептические качества, наличие посторонней микрофлоры путем просмотра микроскопического препарата в 10 полях зрения микроскопа.

**Кумыс** (кисломолочный напиток) готовят из кобыльего молока, которое сильно отличается от коровьего по химическому составу (жира — только 1,5–2,0%, сахара — до 6% и высокое содержание альбумина).

В молоке кобылиц преобладает белок альбумин, который при воздействии молочной кислоты образует неплотный сгусток с мелкими хлопьями, благодаря этому сквашенное кобылье молоко остается однородным, без осадка.

Кумыс, как и кефир, является продуктом смешанного брожения. В результате большого содержания молочного сахара деятельность дрожжей активизируется, а количество спирта у зрелого кумыса доходит до 2,5%.

При получении кобыльего молока необходимо строго соблюдать все санитарно-гигиенические требования, так как его нельзя пастеризовать (при пастеризации оно свертывается).

*Методика приготовления кумыса.* В парное молоко вносят закваску, состоящую из болгарских молочнокислых палочек и дрожжей рода *Torula*. Оптимальная температура сквашивания +26°C (при высокой температуре происходит молочнокислое брожение, при низкой — спиртовое), сквашивание происходит за 6–8 ч. Сквашенное молоко помещают при температуре +4°C для созревания.

При получении кумыса в домашних условиях в качестве закваски применяют кумыс прежней выработки.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести органолептическое исследование простокваши, кефира, катыка, ацидофилина.
2. Приготовить препараты из перечисленных продуктов, окрасить метиленовой синью, провести микроскопию под иммерсией.

3. Изучить микрофлору различных кисломолочных продуктов, микрокартину зарисовать. Обратит внимание на наличие посторонней микрофлоры.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Что является общим признаком всех кисломолочных продуктов?
2. В каких кисломолочных продуктах происходит одновременно молочнокислое и спиртовое брожение?
3. Какими свойствами отличаются ацидофильные молочнокислые бактерии?
4. Из какого молока готовят кумыс, чем оно отличается от коровьего?
5. Назовите источники молочнокислых стрептококков, попавших в молоко.

## ТЕМА 9. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СВЕЖЕЙ РЫБЫ И МОРЕПРОДУКТОВ

---

**Цель занятия.** Сформировать у студентов представление о методах бактериологического исследования рыбы и морепродуктов.

**Материальное обеспечение.** Свежая рыба средних размеров, МПА и МПБ в пробирках, МПА высоким столбиком, стерильные чашки Петри, чашки Петри с агаром Эндо, спиртовки, петли, предметные стекла, набор красок по Граму, фуксин 1 : 5; инструменты: пинцеты, скальпели, ножницы. Весы лабораторные, разновески, градуированный стакан, мензурка, 200 мл стерильной воды в колбе и по 5 мл в пробирках, пипетки на 1 мл.

*Для демонстрации* необходимы пробирки с положительной и отрицательной реакцией плазмокоагуляции, чашки Петри с изолированными колониями золотистого стафилококка на желточно-солевом агаре, на кровяном агаре с зоной гемолиза.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СВЕЖЕЙ, ОХЛАЖДЕННОЙ, МОРОЖЕНОЙ РЫБЫ И МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Мышцы рыб в нормальных условиях стерильны. Порча продукта наступает после гибели рыбы. В отличие от мяса теплокровных животных, порчу которых вызывают преимущественно мезофильные гнилостные микроорганизмы, возбудителями гнилостного разложения рыбы чаще являются психрофильные бактерии, активное размножение которых происходит при низкой температуре. Поэтому изготовленные из рыбы продукты еще более подвержены порче, чем изготовленные из мяса животных и птиц.

Микроорганизмы попадают через жабры, кишечник, особенно в период агонии. Микроорганизмы, находящиеся на поверхности тела рыбы, покрытой слизью, являющейся хорошим питательным субстратом для их развития, быстро размножаются и со временем проникают в глубь мягких тканей. Особенно обильно загрязняется рыба при вскрытии брюшка, так как при этом неизбежно повреждается кишечник.

Существуют следующие методы оценки качества поступившей рыбы:

- визуальная и органолептическая;
- микроскопическое исследование, которое проводят для объективной оценки, если доброкачественность рыбного сырья вызывает сомнение;
- микробиологическое исследование, которое проводят при стойкой повышенной обсемененности готовой продукции. Микробиологический анализ проводят для определения количества бактерий в 1 г продукта, он основан на подсчете количества колоний, выросших на питательных средах после посева пробы из исследуемой рыбы.

Свежая рыба имеет красные жабры, светлые выпуклые глаза, специфический запах. На разрезе мышечная ткань эластична, плотной консистенции, ямка от надавливания быстро выравнивается и исчезает. Несвежая рыба имеет темно-бурые жабры, мутные запавшие глаза, дряблую консистенцию, неприятный гнилостный запах, распавшиеся внутренние органы, лизированный кишечник.

Перед микроскопическим исследованием рыбы кожу посередине спины или ближе к голове освобождают от чешуи и прижигают раскаленным скальпелем. Затем стерильным скальпелем вырезают кусочки мышечной ткани рыбы площадью около 1,5 см<sup>2</sup> и толщиной 1,5–2,0 см: один из них берут из поверхностных слоев мышц, расположенных под кожей, другой — из мышечной ткани глубоких слоев, находящихся около позвоночника. Вырезанным кусочком делают препарат-отпечаток на предметном стекле, препарат фиксируют в пламени горелки, окрашивают простым методом и просматривают не менее 10 полей зрения под иммерсией:

- в препаратах-отпечатках, приготовленных из свежей рыбы, не заметны остатки разложившейся мышечной ткани; при

микроскопии препаратов из поверхностных слоев бактерий нет или видны единичные кокки и палочки;

- у рыбы сомнительной свежести в мазках из поверхностных слоев мышц находят 30–60 кокков и палочек; в препаратах из глубоких слоев — 10–20 бактерий в одном поле зрения. На стекле заметны следы распавшейся ткани мышц; препарат окрашен удовлетворительно;
- в рыбе, непригодной в пищу, в поле зрения как из поверхностных, так и из глубинных слоев, видны сотни палочек. Среди них могут быть спорообразующие палочки, флуоресцирующие бактерии, кишечная палочка, вульгарный протей и т. д. Препарат хорошо окрашен, на стекле много следов распавшейся мышечной ткани.

При стойкой повышенной обсемененности готовой продукции для выявления источников обсеменения проводят микробиологическое исследование сырья. Контроль включает определение в сырье количества МАФАНМ, дополнительно определяют наличие БГКП, золотистых стафилококков, сальмонелл, а в морской рыбе — наличие паразитического вибриона. Микробиологические анализы морских беспозвоночных (устриц, мидий и др.), подготовленных к реализации в живом виде,

Таблица 18

**Микробиологические нормативы  
свежей рыбы и морских беспозвоночных**

Наименование продукта	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются следующие виды бактерий		
		БГКП	золотистый стафилококк	патогенные, в том числе сальмонеллы*
Рыба свежая, охлажденная, мороженая	$5 \cdot 10^4$	0,001	0,01	25
Морские беспозвоночные	$1 \cdot 10^5$	0,001	0,01	25
Икра осетровых	$1 \cdot 10^4$	1,0	—	—

\* Паразитарный вибрион и листерии должны отсутствовать в 25 г морских беспозвоночных, подготовленных к реализации в живом виде.

проводятся систематически, при этом контролируется каждая новая партия. В табл. 18 приведены микробиологические нормативы количества МАФАНМ, БГКП, золотистого стафилококка и сальмонелл.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МАФАНМ

**Отбор проб.** Исследуемую рыбу и крупные экземпляры нерыбных объектов морского промысла отбирают в количестве не более 3 шт. От каждого экземпляра из нескольких мест вырезают кусочки с кожей и мышцами, не затрагивая кишечник (за исключением отбора проб на определение наличия паразитических вибрионов), площадью около  $4 \text{ см}^2$ , толщиной 4–5 мм. Эти кусочки помещают во взвешенный стакан; вновь взвешивают и по разности весов устанавливают массу отобранной пробы. Пробу измельчают и заливают стерильной жидкостью так, чтобы получить конечное разведение 1 : 10.

Подготовленную пробу тщательно перемешивают, взвесь отстаивают в течение 5 мин. Надосадочную жидкость используют для приготовления последующих разведений. Для этого 1 мл из исходного разведения ( $10^{-1}$ ) переносят в пробирку с 9 мл стерильного раствора для дальнейшего разведения, не прикасаясь к поверхности жидкости в этой пробирке, перемешивают новой стерильной пипеткой, и содержимое в количестве 1 мл переносят в следующую пробирку. В результате исследуемый продукт оказывается разведенным в 10, 100 и более раз. Степень разведения навески для высева на плотные питательные среды выбирают так, чтобы общее количество колоний, выросших на чашке, колебалось в пределах от 30 до 300.

Посев проводят по следующей методике: из двух последних разведений в чашки Петри вносят по 1 мл разведенного материала, заливают 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры  $+50^\circ\text{C}$  агара, перемешивают (из каждого разведения делают одновременно посев в 2–3 чашки). После застывания МПА чашки переворачивают вверх дном и помещают в термостат при температуре  $+30^\circ\text{C}$  на 72 ч.

В некоторых случаях допускается предварительный учет колоний через 48 ч с последующим подсчетом через 72 ч. Коли-

чество микроорганизмов в 1 г (1 мл) продукта определяют по формуле

$$K = a \cdot b \cdot c,$$

где  $K$  — количество микроорганизмов в 1 г, КОЕ/г;  $a$  — среднее арифметическое число колоний в чашке;  $b$  — степень разведения;  $c$  — масса, объем, поверхность (г, мл).

## ИНДИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК

Метод основан на способности бактерий группы кишечных палочек сбраживать в среде Кесслера лактозу с образованием кислоты и газа. Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) — это аэробные и факультативно-анаэробные, грамотрицательные, не образующие спор палочки, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч (бродильная проба), не обладающие окислительной способностью.

Для индикации БГКП в исследуемом материале 10 г продукта и 10 мл исходного разведения продукта помещают во флаконы со 100 и 50 мл питательной среды соответственно. По 1 и 0,1 мл и так далее исходного разведения продукта вносят в пробирки с 5 мл питательной среды.

*По действующим нормативам обязательно засеивается то количество продукта, в котором нормируется отсутствие бактерий группы кишечных палочек. Допускается засеивать 1 г продукта в 10 мл питательной среды.*

Для индикации БГКП в смывной жидкости с оборудования и рук тампоны или марлевые салфетки погружают в пробирки с 5 мл среды Кесслера. Посевы помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 24 ч, затем из пробирок и колб с признаками роста бактерий делают посев на плотную дифференциальную среду Эндо.

Через сутки после инкубирования в термостате проводят учет. При наличии на среде Эндо колоний (розовых, красных с металлическим блеском и без него), характерных для БГКП, проводят их изучение. Из изолированных колоний готовят препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют. При нали-

чие граммотрицательных палочек без спор делают заключение о присутствии БГКП. Для уточнения при обнаружении граммотрицательных, не образующих спор палочек надо провести оксидазный тест: часть колонии со среды Эндо наносят штрихом на фильтровальную бумагу, предварительно смоченную реактивом для определения цитохромоксидазы. Оксидазный тест у кишечной палочки отрицательный, и индикаторная бумага не должна изменять цвет, если бумага синее — оксидазный тест положительный.

## ИНДИКАЦИЯ НАЛИЧИЯ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

Метод основан на выявлении характерного роста бактерий на элективных средах, изучении морфологических свойств, наличии ферментов плазмокоагулазы и гемотоксина, являющихся факторами патогенности золотистого стафилококка.

1 г продукта и 1 мл разведения ( $10^{-1}$ ) засевают в пробирку с 6–7 мл среды обогащения (солевого рыбобептонного бульона, содержащего 7% NaCl). При исследовании соленых продуктов (свыше 5%) дополнительно проводят посев в 1%-ный глюкозный РПБ. Посевы помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на 24 ч. Из сред обогащения (солевого, глюкозного бульонов) проводят посев на элективные среды: желточно- или молочно-солевой агар или среду Байрд–Паркер. Посевы выдерживают при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч.

Из типичных для стафилококков колоний (на молочно- и желточно-солевом агаре с радужным венчиком вокруг колоний; на среде Байрд–Паркер — черные, блестящие с узким белым ободком, окруженные прозрачной зоной) готовят препараты, затем окрашивают по Граму, микроскопируют, отсеивают на скошенный агар в пробирках для получения чистой культуры и инкубируют при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч. С суточной культурой ставят реакцию плазмокоагуляции.

**Реакция плазмокоагуляции.** В пробирку с 0,5 мл кроличьей плазмы, разведенной физраствором в соотношении 1 : 5 (1 мл плазмы + 4 мл физраствора), вносят петлю суточной культуры стафилококка. Для контроля одну пробирку с плазмой остав-

ляют незасеянной. Пробирки помещают в термостат при температуре +37°C. Учет реакции плазмокоагуляции проводят через 2, 4 ч. Реакция считается положительной, если сгусток образовался в течение 24 ч.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ БАКТЕРИЙ РОДА САЛЬМОНЕЛЛА

Метод основан на способности бактерий рода сальмонелла расти на дифференциально-диагностических средах (см. вклейку, ил. II) и давать реакцию агглютинации со специфическими сальмонеллезными сыворотками.

Навесок продукта в количестве 25 г засевают в 100 мл среды обогащения (магниевую или селенитовый бульон). Посевы помещают на 18–20 ч в термостат при температуре +37°C.

На второй день исследования из сред обогащения делают высев в чашки Петри на плотные дифференциально-диагностические среды: висмут-сульфитный агар (ВСА), среду Плоскирева, Левина или Эндо. Перед посевом среду необходимо подсушить в термостате, чтобы выросли изолированные колонии. Посевы на средах Эндо и Плоскирева термостатируют в течение 15–18 ч, на среде ВСА — 48 ч при температуре +37°C.

На ВСА сальмонеллы образуют черные с металлическим блеском колонии, цвет питательной среды под колониями также черный. Исключение составляют *S. paratyphi*, *S. cholerae suis* и ряд других, растущих в виде мелких серовато-зеленых колоний с черным центром и без него. Кишечная палочка на ВСА образует бесцветные, зеленоватые или серые колонии или не дает роста.

На среде Эндо колонии сальмонелл бесцветные, бледно-розовые, выпуклые. На средах Плоскирева и Левина колонии прозрачные, голубоватые, бледные или нежно-розовые.

С дифференциально-диагностических сред отсевают несколько колоний на трехсахарный агар с мочевиной или в пробирки со средой Клиглера с мочевиной: посевы делают сначала штрихом по скошенной поверхности, а затем уколом в столбик, после этого выдерживают в термостате при температуре +37°C 24 ч. На этих средах учитывают способность культуры ферментировать глюкозу, лактозу и мочевины. Для сальмонелл

характерно разложение глюкозы с образованием газа, лактозу и мочевины они не расщепляют. Свежая среда — трехсахарный агар с мочевиной, — имеет розовый цвет. Отсутствие изменения цвета скошенной поверхности после посева указывает на то, что лактоза и сахароза не разлагаются изучаемой культурой. Окрашивание столбика в желтый цвет, образование газа (разрывы в глубине агара) и сероводорода (почернение) указывают на рост бактерий из рода сальмонелл.

Желательно выросшую культуру со среды Клигlera или с трехсахарного агара отсеять на скошенный МПА, короткий пестрый ряд, включающий среды Гисса с лактозой, глюкозой, маннитом, сахарозой, мальтозой. Для определения индола и сероводорода посев делают на рыбо- или мясопептонный бульон, после чего над посевом между пробкой и стенкой пробирки закрепляют узкую полоску фильтровальной бумаги, смоченную уксуснокислым свинцом для определения сероводорода и раствором щавелевой кислоты для определения индола. Посевы термостатируют при температуре +37°C в течение 24 ч.

Таким образом, к сальмонеллам относятся бактерии, не разлагающие лактозу, сахарозу и мочевины, ферментирующие глюкозу, маннит и мальтозу с образованием газа, продуцирующие сероводород и не образующие индол.

Для окончательного заключения с выделенной культурой ставят РА на предметном стекле с поливалентной, О- и Н-агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками. В случае положительной реакции агглютинации на предметном стекле делают окончательный вывод о присутствии в исследуемом продукте сальмонелл.

## ИНДИКАЦИЯ ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ВИБРИОНА

Метод основан на выявлении типичных колоний на дифференциально-диагностическом агаре (ДДА) определенного состава и установления принадлежности бактерий к парагемолитическим вибрионам по морфологическим и биохимическим свойствам. Для исследования на сальмонеллы, листерии и парагемолитический вибрион пробы сырья отбирают с частью кишечника и жабер. Из усредненной пробы отбирают

навесок в 25 г. Парагемолитические вибрионы, листерии должны отсутствовать в 25 г морских беспозвоночных, подготовленных к реализации в живом виде.

Для установления наличия парагемолитических вибрионов, пробу в количестве 25 г переносят в 100 мл жидкой среды обогащения. Посевы помещают в термостат при температуре +37°C, через 24 ч проводят пересев на поверхность плотного ДДА. Чашки инкубируют при температуре +37°C в течение 24 ч, выявляют типичные колонии парагемолитических вибрионов.

Для подтверждения принадлежности выделенных на ДДА микроорганизмов к парагемолитическим вибрионам проводят изучение морфологических и ферментативных свойств.

Парагемолитические вибрионы — мезофильные грамотрицательные палочки, прямые или слегка изогнутые, не образующие спор, активно подвижные, содержат цитохромоксидазу, не расщепляют лактозу и сахарозу, растут на питательных средах с содержанием хлорида натрия от 3 до 8%, декарбоксилируют лизин, образуют индол, ферментируют (без газообразования) арабинозу, глюкозу, мальтозу, не образуют ацетилметилкарбинол.

Для идентификации бактерий делают пересев с ДДА в 1%-ную пептонную воду с 3% хлорида натрия, на которой при наличии парагемолитического вибриона появляется помутнение с образованием нежной голубой пленки.

Готовят мазки, окрашивают их по Граму, а также фуксином 1 : 5 и изучают морфологию клеток.

Подвижность изучают под фазово-контрастным микроскопом в раздавленной капле или при посеве в полужидкий МПА (0,25% агара), содержащий 3% хлорида натрия. Засевают суточную бульонную культуру в полужидкий МПА и инкубируют при температуре +37°C в течение 24 ч. Подвижные формы образуют диффузное помутнение, слабоподвижные — вырастают по ходу укола.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести органолептическую оценку исследуемой рыбы.
2. Провести посев исследуемой рыбы с целью определения количества МАФАНМ.

3. Провести посев исследуемой рыбы с целью индикации БГКП и сальмонелл.

4. Провести определение наличия параземолитических вибрионов в исследуемой рыбе.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. По каким показателям оценивают качество поступившей рыбы?
2. С какой целью готовят препараты-отпечатки и изучают их под микроскопом?
3. Каким методом определяют количество бактерий в 1 г исследуемой рыбы?
4. Какие питательные среды применяют для индикации БГКП?

## ТЕМА 10. САНИТАРНО– МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

---

**Цель занятия.** Сформировать у студентов представление о микрофлоре воздуха, источниках загрязнения, о методах бактериологического исследования микрофлоры воздуха (методами Коха и Кротова).

**Материальное обеспечение.** Для исследования воздуха необходимы следующие приборы: аппарат Кротова, чашки Петри с МПА и средой Чапека.

С санитарно-микробиологической точки зрения воздух представляет собой среду, в которой микроорганизмы не способны размножаться, так как в нем нет питательных веществ и влаги, а солнечные лучи оказывают бактерицидное действие. Тем не менее в воздухе постоянно присутствуют пигментообразующие кокки, споры бактерий, плесеней и актиномицетов. Микробная загрязненность воздуха имеет непостоянный характер и зависит от многих факторов. Так, болезнетворные микробы попадают в воздух с пылью из почвы и выделениями больных людей и животных. Воздух помещений загрязняется во время сухой уборки, чихания и кашля. При этом капли аэрозоля, находящиеся в воздухе, служат источником аэрогенного заражения окружающих. Скорость оседания капель зависит от диаметра аэрозоля.

Бактериальные аэрозоли делят на три фазы:

1. **Крупнокапельная фаза** с диаметром частиц аэрозоля более 0,1 мм; длительность пребывания таких частиц в воздухе несколько секунд, капли оседают быстро.
2. **Капельно-ядерная фаза**, имеющая диаметр частиц 0,1 мм и менее. Частицы находятся в воздухе длительное время и рас-

сеиваются на большие расстояния с потоками воздуха, вместе с которыми распространяются различные микроорганизмы, в том числе и болезнетворные.

**3. Фаза бактериальной пыли** имеет частицы разного диаметра от 1 до 0,01 мм. Эта фаза имеет наибольшее эпизоотологическое и эпидемиологическое значение, так как она глубоко проникает в дыхательные пути. Аэрогенным способом инфекционные заболевания передаются в основном в закрытых помещениях.

Выживаемость патогенных микроорганизмов, находящихся во взвешенном состоянии, зависит от биологических свойств возбудителя, а также температуры и влажности воздуха. Например, возбудители туберкулеза, сибирской язвы, хорошо переносящие высушивание, длительное время сохраняются в окружающей среде.

Микробиологическое исследование воздуха проводят для определения количества МАФАНМ, т. е. общего микробного числа и количества санитарно-показательных микроорганизмов. Количество МАФАНМ в воздухе определяют посевом на поверхность МПА; количество санитарно-показательных микробов определяют посевом на кровяной агар, желточно-солевой агар. Для определения наличия спор плесеней и дрожжей используют сусло-агар или среду Сабуро, Чапека. Существует много методов бактериологического исследования воздуха, самыми доступными являются методы Коха и Кротова.

**Седиментационный метод Коха** (лат. *sedimentum* — осадок). Суть метода заключается в осаждении микробных частиц и капель аэрозоля на поверхность плотной питательной среды под действием силы тяжести.

**Методика.** Чашки Петри с МПА, средой Сабуро оставляют открытыми на 5–20 мин в исследуемом помещении (классе, в цехах молокозавода, мясокомбината и т. д.). Затем чашки закрывают и помещают в термостат при температуре +30°C, если это МПА или кровяной агар, после чего культивируют в течение 48 ч; если это среда Сабуро — культивируют при температуре +25°C в течение 4–7 суток. Затем проводят подсчет выросших колоний во всей чашке.

После подсчета выросших колоний в чашке Петри определяют количество микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха по формуле

Омелянского, согласно которой в чашки с питательной средой площадью  $100 \text{ см}^2$  в течение 5 мин оседает столько микробных клеток, сколько их содержится в 10 л воздуха:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{b \cdot 10 \cdot T},$$

где  $X$  — количество микробов в  $1 \text{ м}^3$  ( $1000 \text{ л}$ ) воздуха;  $a$  — количество выросших колоний в чашках;  $b$  — площадь чашки ( $80 \text{ см}^2$ ); 5 — время экспозиции по правилу Омелянского;  $T$  — время, в течение которого чашка была открыта; 10 — 10 л воздуха по правилу Омелянского; 1000 —  $1 \text{ м}^3$  воздуха; 100 —  $100 \text{ см}^2$  питательной среды.

**Аспирационный метод Кротова** является более точным, так как прибор снабжен микроманометром, показывающим количество (объем) литров посеянного воздуха. Аппарат Кротова — это цилиндрический прибор, внутри которого имеется электродвигатель с центробежным вентилятором. При вращении вентилятора из исследуемого помещения воздух засасывается через узкую клиновидную щель в крышке прибора, под которой находится вращающаяся платформа с чашкой Петри, струя воздуха ударяется о влажную поверхность питательной среды, микроорганизмы из воздуха оседают. Чашки с посевами помещают в термостат на 24–48 ч при температуре  $+30^\circ\text{C}$ . Подсчет колоний производят так же, как и при седиментационном методе. В дальнейшем число микробов в  $1 \text{ м}^3$  воздуха определяют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 1000}{b},$$

где  $X$  — число микробов в  $1 \text{ м}^3$  воздуха;  $a$  — число выросших колоний; 1000 л —  $1 \text{ м}^3$  воздуха;  $b$  — количество посеянного воздуха.

Требования, предъявляемые к микробиологическим показателям воздуха, представлены в табл. 19 (исследуют один раз в месяц).

В каждой бактериологической лаборатории имеется бокс для проведения посевов и пересевов, воздух в боксе следует проверять на бактериальную загрязненность не менее двух раз в неделю, к качеству воздуха в боксе предъявляются особые требования. Для проведения исследования чашки Петри с МПА и

**Микробиологические нормативы  
санитарного состояния воздуха  
производственных помещений**

Метод исследования	МАФАНМ, КОЕ, не более	Плесневые грибы, КОЕ, не более
Метод Коха	200 колоний за 20 мин	20 колоний за 20 мин
Метод Кротова	150 колоний в 100 л	15 колоний в 100 л

средой Сабуро оставляют открытыми в боксе на 15 мин, затем чашки со средой МПА выдерживают в термостате 48 ч при температуре +37°С, чашки со средой Сабуро — 96 ч при температуре +25...+27°С. Допускается наличие 5 колоний плесени в чашках.

**ЗАДАНИЯ  
ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести посев воздуха класса в чашки с МПА методом Коха для определения количества МАФАНМ.

2. Провести посев воздуха класса методом Кротова для определения количества МАФАНМ в 1 м<sup>3</sup>. Чашки с посевами поставить в термостат.

3. На следующем занятии провести подсчет выросших колоний и определить количество МАФАНМ в 1 м<sup>3</sup>.

4. Результаты посева воздуха в чашках Петри, полученные разными методами исследования, сравнивают и анализируют.

**КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. В чем заключается сущность исследования воздуха методом осаждения по Коху?
2. В чем заключается преимущество метода Кротова?
3. Какие микроорганизмы, находящиеся в воздухе, относятся к санитарно-показательным?
4. С какой целью применяется питательная среда Сабуро?

## ТЕМА 11. САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ

---

**Цель занятия.** Сформировать у студентов общее представление о микрофлоре почвы, источниках загрязнения; обучить различным методам бактериологического исследования почвы.

**Материальное обеспечение.** Образцы почвы в пакетиках по 1 г, стерильный физраствор по 9 мл в пробирках, стерильные пипетки по 1 мл, стерильные чашки Петри, расплавленный МПА в пробирках столбиком, пробирки со средой Кесслера, агар Эндо в чашках Петри.

**Почва** является естественной средой обитания многих видов микроорганизмов. В ней имеются все условия для их благоприятного развития: достаточное количество влаги, органических и минеральных веществ. Почвенные микроорганизмы участвуют в минерализации органических отходов, самоочищении почвы, в круговороте веществ в природе.

В почву с выделениями больных, а также с трупами животных, погибших от инфекционных болезней, со сточными водами попадают патогенные микроорганизмы. В связи с этим почва может служить источником распространения возбудителей инфекционных болезней, через нее загрязняются объекты окружающей среды, может происходить обсеменение сапрофитными и болезнетворными микроорганизмами сырья животного происхождения, пищевых продуктов, кормов.

В почве могут быть патогенные бактерии, продолжительность их выживания зависит от вида и условий внешней среды. Особое место занимают спорообразующие возбудители почвенных инфекций (сибирской язвы, злокачественного отека, эмфизематозного карбункула, столбняка, ботулизма), которые

сохраняются в почве годами, а возбудитель сибирской язвы — десятки и сотни лет.

Краткий санитарно-микробиологический анализ почвы включает определение следующих показателей:

- количество МАФАнМ в 1 г;
- коли-титр почвы;
- в отдельных случаях в почве определяют наличие возбудителей сибирской язвы, для исключения старых сибиреязвенных захоронений. Например, при строительстве детских оздоровительных лагерей, новых животноводческих помещений и т. д.

*Отбор проб почвы.* На обследуемой территории до 1 тыс. м<sup>3</sup> выделяют два участка по 25 м<sup>2</sup> каждый: один участок выбирают вблизи, другой — вдали от источника загрязнения. С каждого отбирают среднюю пробу, составленную из 5 образцов, взятых по диагонали. Образцы берут на глубине до 20 см, при исследовании почвы скотомогильников — ниже глубины захоронения не менее чем на 25 см. Пробы отбирают стерильной железной лопатой или специальным буром в стерильные широкогорлые банки, которые закрывают ватными пробками. К банке приклеивают этикетку с датой и номером образца.

Масса каждого образца должна быть 200–300 г, а смешанного — не менее 1 кг. Отобранные пробы почвы направляют в лабораторию и исследуют сразу же или не позднее 12–18 ч при обязательном хранении в холодильнике.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МАФАнМ В 1 Г ПОЧВЫ МЕТОДОМ СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

**Методика.** В производственных лабораториях в колбу емкостью 500 мл наливают 270 мл стерильной водопроводной воды и вносят 30 г исследуемой почвы, затем колбу с содержимым встряхивают в течение 10 мин. Из полученного разведения почвы  $1 : 10^{-1}$  готовят последующие 10-кратные разведения: для чистых почв от  $1 : 10^{-2}$  до  $1 : 10^{-4}$ , для загрязненных — до  $1 : 10^{-6}$  и больше.

В учебном классе удобнее делать разведения в пробирках, для этого первое разведение готовят внесением 1 г исследуемой

почвы в пробирку с 9 мл стерильной воды, из полученного первого разведения 1 : 10 переносят 1 мл во вторую пробирку с 9 мл воды, получается разведение 1 : 10<sup>2</sup> и так далее до 10<sup>6</sup> (в результате этих разведений уменьшается концентрация бактерий и при посеве в чашки Петри появятся изолированные колонии, подсчет которых облегчается и становится точным).

Из двух последних разведений почвы (10<sup>-5</sup> и 10<sup>-6</sup>) берут по 1 мл и переносят в стерильные чашки Петри (не менее двух чашек на каждое разведение), которые заливают 13–15 мл расплавленного и охлажденного до температуры +50°С МПА, тщательно перемешивают (метод горячей заливки). Посевы культивируют в термостате 24–48 ч при температуре +30°С.

Учету подлежат чашки Петри, в которых выросло от 30 до 300 колоний. Колонии считают в каждой чашке отдельно, определяют среднеарифметическое число по двум чашкам. Полученное число умножают на степень разведения исследуемой почвы и получают число бактерий в 1 г почвы.

Результаты выражают в «колонии образующих единицах» — КОЕ/мл, г.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИ-ТИТРА ПОЧВЫ МЕТОДОМ БРОДИЛЬНЫХ ПРОБ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕДЫ КЕССЛЕРА

Исследования проводят в три этапа. *На первом этапе* готовят следующие разведения: для чистых почв — от 1 : 10<sup>-1</sup> до 1 : 10<sup>-4</sup>; для загрязненных — от 1 : 10<sup>-3</sup> до 1 : 10<sup>-6</sup>. После тщательного перемешивания 1 г почвы по 1 мл полученной суспензии из различных разведений переносят в пробирки со средой Кесслера с поплавками. Посевы культивируют при температуре +43°С в течение 48 ч (при такой температуре дает рост *E. coli* только теплокровных).

*На втором этапе* исследования просматривают посевы на среде Кесслера.

Для установления показателя коли-титра почвы находят пробирку с наибольшим разведением почвы, в результате посева которой появились признаки брожения. Из пробирок с помутнением и газом делают высев на агар Эндо штрихом. Посевы сутки культивируют при 37°С.

На третьем этапе исследуют колонии, выросшие на среде Эндо. Для этого выбирают изолированные колонии, типичные для бактерий БГКП, готовят из них мазки, красят по Граму, микроскопируют. При обнаружении в мазках коротких грамотрицательных палочек проводят высеv на среду Кесслера для подтверждения газообразования в чистой культуре.

В табл. 20 приведены санитарно-микробиологические показатели почвы, имеющей различную микробную загрязненность.

Особую трудность представляет выделение сибиреязвенных спор из почвы, так как в ней находится огромное количество различных микроорганизмов, в том числе спорообразующих сапрофитных аэробов. Существующие бактериологические методы не всегда позволяют выделить возбудителя сибирской язвы из почвы. Основная трудность состоит в отделении спор от частиц почвы.

Из многих известных методов более надежным является метод предварительной подготовки пробы почвы по следующей технологии:

- 1) 100 г исследуемой почвы заливают 5–10-кратным объемом стерильного фосфатного буфера или воды;
- 2) шуттелируют взвесь в течение 20–30 мин, с последующим 5–8-минутным отстаиванием;
- 3) проводят фильтрование через 2–3 слоя марли;
- 4) прогревают полученную суспензию в водяной бане в течение 30 мин при температуре +70°C для уничтожения сопутствующей вегетативной микрофлоры;

Таблица 20

Санитарно-бактериологические  
показатели почвы

Почва	Количество МАФАИМ, млн в 1 г	Титр кишечной палочки	Титр анаэробов ( <i>Cl. perfringens</i> )
Чистая	1–1,5	1,0 и выше	0,2 и выше
Слабо загрязненная	2	0,1–0,01	0,1–0,01
Умеренно загрязненная	2,5–3	0,01–0,001	0,01–0,0001
Сильно загрязненная	Свыше 3–5	0,001 и ниже	0,0001 и ниже

5) переносят суспензию на поверхность МПА в чашках Петри для получения изолированных колоний, а из них чистой культуры;

6) полученной культурой заражают 5–10 белых мышей подкожно в дозе 0,1–0,2 мл;

7) проводят вскрытие павших мышей и выделяют чистую культуру возбудителя сибирской язвы из органов трупа (см. вклейку, ил. VII).

В настоящее время в бактериологии предложены и применяются менее трудоемкие методы, которые основаны на применении селективных питательных сред. В них вводят 200–500 ЕД/мл полимиксина в сочетании с триметопримом, которые подавляют рост сопутствующей микрофлоры, грамположительных и грамотрицательных бактерий (*B. subtilis*, *B. cereus* и *E. coli*).

### ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

1. Провести бактериологическое исследование различных образцов почвы методом серийных разведений для определения количества МАФАНМ посевом в чашки Петри. Чашки поставить в термостат.

2. На следующем занятии провести подсчет количества выросших колоний, определить количество МАФАНМ в 1 г исследуемой почвы.

3. Провести демонстрацию посева исследуемых образцов почвы в среды Кесслера для определения коли-титра.

4. Ознакомиться с компонентами селективной среды для выделения *Bac. anthracis*.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Перечислите правила отбора проб почвы.
2. В чем заключается суть метода серийных разведений при определении количества МАФАНМ?
3. В чем заключается суть определения коли-титра исследуемой почвы?
4. С какой целью добавляют в питательные среды полимиксин и триметоприм при выделении чистой культуры сибирской язвы?

## ТЕМА 12. САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИ-ТИТРА И КОЛИ-ИНДЕКСА ВОДЫ

---

**Цель занятия.** Сформировать у студентов представление о различных методах исследования количественного и качественного состава микрофлоры воды.

**Материальное обеспечение.** Пробы водопроводной и речной воды, чашки Петри, расплавленный МПА в пробирках высоким столбиком, стерильные пипетки на 1 мл, стерильный физраствор по 9 мл. Для демонстрации необходима следующая аппаратура: прибор Зейтца с колбой Бунзена, водоструйный вакуумный насос, мембранные фильтры № 3, среда Эндо в чашках, глюкозопептонные среды (ГПС) с индикатором и поплавками, разлитые в пробирки и колбы. Колбы и пробирки с ГПС с посевами воды для демонстрации метода бродильных проб с положительными результатами.

**Таблицы.** Схема определения коли-титра воды.

**Вода** является естественной средой обитания многих микроорганизмов. Особую опасность для здоровья человека и животных представляют патогенные бактерии, которые могут содержаться в ней.

Источниками загрязнения воды патогенными микроорганизмами являются выделения больных животных и людей, трупы животных, сточные воды, особенно с предприятий, перерабатывающих животное сырье и др.

Длительность выживания патогенных микробов в воде зависит от их вида, условий окружающей среды и может составлять от нескольких часов до нескольких лет. Так, возбудитель сибирской язвы может сохраняться в воде до 3 лет, возбудитель туберкулеза — до 1 года, возбудитель бруцеллеза — до 100 дней.

Имеется группа болезней, для которых характерен водный путь распространения (паратифы, лептоспирозы).

Таким образом, вода может стать источником распространения инфекционных болезней, возникновения эпидемий и эпизоотий. Для санитарно-бактериологической оценки воды проводят следующие исследования:

- 1) определение количества МАФАНМ в 1 мл;
- 2) определение коли-титра (КТ) и коли-индекса (КИ);
- 3) обнаружение в воде патогенных микроорганизмов проводят по эпидпоказаниям.

Для санитарно-микробиологического исследования пробы воды отбирают из источника в объеме не менее 500 мл. Из открытых водоемов их набирают батометром. Батометр — стерильная емкость с пробкой, в металлическом каркасе и со свинцовым грузилом. На нужной глубине пробку открывают, подтягивая ее за веревочку. Воду из рек, озер отбирают с глубины 10–15 см от поверхности, а при небольшой глубине — на расстоянии 10–15 см от дна.

Для отбора проб водопроводной воды из крана набирают 500 мл в стерильные колбы с ватной пробкой с соблюдением правил асептики. Кран предварительно стерилизуют горячим спиртовым тампоном, затем в течение 10 мин спускают воду и только потом берут пробы, которые исследуют сразу или не позднее 2 ч с момента взятия. Если это невозможно, то их хранят не более 6 ч обязательно при температуре +1...+5°C в холодильнике.

*Определение количества МАФАНМ в водопроводной воде.* В чашку Петри с соблюдением правил асептики вносят 1 мл водопроводной воды без предварительного разведения, заливают расплавленным и охлажденным до температуры +50°C МПА (методом горячей заливки). Посевы инкубируют 24–48 ч в термостате при температуре +30°C. После указанного срока приступают к подсчету количества колоний, выросших как на поверхности, так и в глубине агара. Учитывают только те разведения, при посеве которых на чашках вырастает от 30 до 300 колоний. При посеве воды без разведений количество бактерий в 1 мл воды будет равно количеству выросших колоний.

*При определении количества МАФАНМ в воде открытых водоемов* исследуемую воду предварительно разводят стериль-

**ной водой** в зависимости от предполагаемого загрязнения от  $1:10^{-1}$  до  $1:10^{-4}$ , из двух последних разведений вносят по 1 мл в стерильные чашки и заливают расплавленным и охлажденным до температуры  $+50^{\circ}\text{C}$  МПА. После инкубирования при температуре  $+30^{\circ}\text{C}$  в термостате в течение 24–48 ч подсчитывают количество колоний, умножают на степень разведения воды и определяют количество бактерий в 1 мл воды открытых водоемов. Учету подлежат чашки Петри, в которых выросло от 30 до 300 колоний. Колонии считают в каждой чашке отдельно, определяют среднеарифметическое число по двум чашкам. Полученное число умножают на степень разведения исследуемой воды и получают число бактерий в 1 мл воды.

*Определение коли-титра (КТ) и коли-индекса (КИ) воды.*

**Коли-титром** называют наименьший объем воды, в котором обнаружена одна кишечная палочка.

**Коли-индекс** показывает число кишечных палочек в 1000 мл воды.

Кишечная палочка является постоянным обитателем кишечника человека и животных, следовательно, ее присутствие в питьевой воде является индикатором фекального загрязнения, поэтому она отнесена к санитарно-показательным микроорганизмам. Чем выше концентрация бактерий группы кишечной палочки, тем вероятнее присутствие в исследуемой воде патогенных бактерий, таких как сальмонеллы, возбудители дизентерии и холеры. Показатели КТ и КИ указывают на санитарное состояние воды, ее пригодность в качестве питьевой.

Коли-титр и коли-индекс определяют двумя методами:

- 1) метод бродильных проб;
- 2) метод мембранных фильтров.

При исследовании чистой воды удобнее пользоваться **методом мембранных фильтров**. Если вода содержит механические частицы, затрудняющие процесс фильтрации, лучше пользоваться **бродильным методом**.

**Метод бродильных проб.** Суть этого метода заключается в посеве определенных объемов исследуемой воды в питательные среды накопления с индикатором и поплавками, инкубации ее при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ , с последующим пересевом из забродивших пробирок на среду Эндо, дифференциацией выросших колоний и вычислении коли-титра воды по нормативам.

Данный метод основан на ферментативной способности БГКП расщеплять при помощи ферментов лактозу или глюкозу до кислоты и газа. Исследуемая вода засеивается в различных объемах в глюкозопептонную среду с индикатором и поплавками, при наличии кишечной палочки появляется помутнение, меняется цвет индикатора (**желтый цвет переходит в красный**) и появляются пузырьки газа в поплавках. Воду методом бродильных проб исследуют в три этапа (три дня):

**Первый день.** Засеивают водопроводную воду в объеме 333 мл (три объема по 100 мл, три — по 10 мл и три — по 1 мл). При этом вода в объемах по 100 и 10 мл засеивается в колбы и пробирки соответственно — с 10 и 1 мл концентрированной ГПС, а посев воды в объеме 1 мл — в пробирки с 10 мл среды с нормальной концентрацией (готовят как концентрированную, но количество всех ингредиентов, кроме воды, уменьшают в 10 раз). Посевы исследуемой воды в средах ГПС культивируют в термостате 24 ч при температуре +37°C.

**Второй день.** Ведется учет результатов посева разных объемов воды, при котором:

- отсутствие помутнения, образования кислоты и газа в колбах и пробирках после посева воды свидетельствуют об отсутствии кишечной палочки в исследуемом объеме воды;
- помутнение питательной среды, изменение цвета индикатора на красный и появление газа в поплавках говорят о наличии кишечной палочки. Из каждого забродившего посева петлей делают пересев штрихом на агар Эндо, разделенный на сектора в чашках Петри, таким образом, чтобы появились изолированные колонии. Посевы культивируют 24 ч при температуре +37°C.

**Третий день.** Ведется учет результатов посева на агаре Эндо, при котором:

- отсутствие роста на агаре Эндо или наличие колоний, не характерных для БГКП, говорит о том, что кишечной палочки в посевах нет;
- из колоний, характерных для бактерий БГКП (красных с металлическим оттенком), готовят мазки, окрашивают по Граму, микроскопируют. Идентифицируют культуру по оксидазному тесту, положительную реакцию на этот тест дают БГКП, которые не учитываются. Наличие в мазках

граммотрицательных бактерий с отрицательной реакцией на оксидазный тест позволяет дать положительный ответ на присутствие БГКП в исследуемом объеме воды. Полученные результаты сравнивают с нормативами на питьевую воду (табл. 21).

Таблица 21

**Определение коли-титра и коли-индекса  
бактерий кишечных палочек  
при исследовании воды**

Количество положительных результатов анализа воды			Коли-индекс	Коли-титр
из трех флаконов по 100 мл	из трех флаконов по 10 мл	из трех флаконов по 1 мл		
0	0	0	< 3	> 333
0	0	1	3	333
0	1	0	3	333
1	0	0	4	250
1	0	1	7	143
1	1	0	7	143
1	1	1	11	91
1	2	0	11	91
2	0	0	9	111
2	0	1	14	72
2	1	0	15	67
2	1	1	20	50
2	2	0	21	48
2	2	1	28	86
3	0	0	23	43
3	0	1	39	26
3	0	2	64	16
3	1	0	43	23
3	1	1	75	13
3	1	2	120	8
3	2	0	93	11
3	2	1	150	7

Количество положительных результатов анализа воды			Коди-индекс	Коди-титр
из трех флаконов по 100 мл	из трех флаконов по 10 мл	из трех флаконов по 1 мл		
3	2	2	210	5
3	3	0	240	4
3	3	1	460	2
3	3	2	1100	0,9
3	3	3	> 1100	< 0,9

Для установления свежего фекального загрязнения делают посев воды в желчно-лактозную среду с бриллиантовым зеленым. Посевы культивируют при температуре +43°С для дифференциации кишечной палочки от хладнокровных, не растущих при такой высокой температуре. Наличие мути и газа указывает на присутствие в воде бактерий — показателей свежего фекального загрязнения.

## МЕТОД МЕМБРАННЫХ ФИЛЬТРОВ

Суть данного метода заключается в концентрировании бактерий из определенного объема исследуемой воды на поверхности мембранных фильтров и выращивании их на поверхности агара Эндо с последующим учетом количества БГКП в 1 л воды. Метод мембранных фильтров экономичнее и дает возможность узнать ответ на 2-й день.

**Первый день.** Готовят прибор Зейтца: предварительно его автоклавируют или протирают спиртовым тампоном, далее в пламени спиртовки обжигают металлические детали. Готовят мембранные фильтры № 3 из нитроцеллюлозы, с диаметром пор 0,7 мкм, которые задерживают на своей поверхности БГКП. Фильтры осторожно, не допуская скручивания, кипятят 10–15 мин в дистиллированной воде, затем с соблюдением правил асептики помещают на сетку фильтрационного прибора Зейтца матовой поверхностью вверх (можно заранее поставить на этой стороне точку карандашом).

В воронку прибора наливают исследуемую воду, а в приемной колбе Бунзена создают вакуум при помощи водоструйного

насоса. Исследуемая вода процеживается через мембранный фильтр и бактерии, находившиеся в ней, остаются на поверхности. После окончания фильтрации воды мембранный фильтр переносят на поверхность агара Эндо в чашках Петри. Чашки помещают в термостат при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  на сутки. Через поры мембранного фильтра происходит диффузия питательных компонентов среды Эндо, вследствие этого оставшиеся БГКП размножаются и за сутки на поверхности фильтра каждая палочка образует типичные колонии — красные с металлическим оттенком, количество которых обязательно подсчитывают.

**Второй день.** Учитывают наличие или отсутствие колоний на поверхности фильтров, находящихся на агаре Эндо в чашках Петри:

- отсутствие колоний на поверхности фильтра или наличие колоний, не характерных для БГКП, позволяет дать отрицательный ответ на присутствие кишечной палочки в исследуемом объеме воды;
- при наличии на фильтре красных с металлическим блеском колоний их количество подсчитывают и из них готовят препараты, окрашивают по Граму, микроскопируют. При обнаружении грамотрицательных палочек ставят оксидазную пробу (методика постановки описана в теме 8).

Отрицательная проба на оксидазу свидетельствует о наличии в воде кишечной палочки, которая учитывается.

В этом случае вычисляют коли-титр и коли-индекс исследуемой воды.

Зная показатель коли-титра, можно определить коли-индекс: для перевода коли-титра в коли-индекс 1000 делят на по-

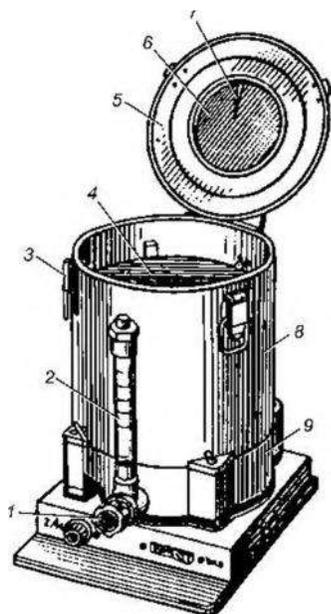


Рис. 2  
Смонтированный фильтр  
Зейтца:

1 — отводная трубка колбы к вакуумному насосу; 2 — держатель фильтра; 3 — фильтр; 4 — колба Бунзена.

казатель коли-титра, а для перевода коли-индекса в коли-титр 1000 делят на число, выражающее коли-индекс.

Например, при исследовании пробы воды профильтровано 3 объема по 100 мл. На первом фильтре выросло 3 колонии, на втором фильтре — 2, на третьем — 10, т. е. в общей сложности на трех фильтрах выросло 15 колоний.

Коли-титр этой воды будет равен:

$$\frac{300}{15} = 20 \text{ мл,}$$

т. е. 20 мл — это наименьший объем воды, в котором находится одна кишечная палочка.

Теперь, зная коли-титр, мы определяем коли-индекс по формуле:

$$\text{коли-индекс воды} = \frac{1000}{\text{коли-титр}} = \frac{1000}{20} = 50;$$

$$\text{коли-титр воды} = \frac{1000}{\text{коли-индекс}} = \frac{1000}{50} = 20.$$

Таким образом, коли-индекс исследуемой воды равен 50, т. е. в 1000 мл воды находится 50 кишечных палочек. Такой водой пользоваться нельзя, так как коли-индекс питьевой воды должен быть не более 3. Требования к санитарно-микробиологическому состоянию воды представлены в табл. 22.

Санитарными правилами и нормами (СанПиНом) для питьевой воды установлены следующие нормативы бактериологических показателей:

- количество МАФАНМ в 1 мл — не более 100;
- коли-титр — не менее 333;
- коли-индекс не должен превышать 3 кишечных палочек в 1000 мл.

Таблица 22

#### Микробиологические нормативы питьевой воды

Объект контроля	Количество МАФАНМ, КОЕ в 1 мл, не более	Коли-титр, не менее	Коли-индекс, не более	Периодичность контроля
Вода водопроводная	100	333	3	один раз в месяц
Вода открытых водоемов	1000	111	9	—

Вода открытых водоемов считается доброкачественной, если:

- количество МАФАНМ в 1 мл — не более 1000;
- коли-титр — не менее 111;
- коли-индекс — не более 9.

Наличие в воде патогенных бактерий устанавливают путем посева на дифференциально-диагностические и элективные питательные среды с последующей их идентификацией методами, принятыми в бактериологии.

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

1. Провести отбор воды из водопроводного крана в учебном классе.

2. Сделать посев водопроводной и речной воды методом горячей заливки в чашки Петри для определения количества МАФАНМ в 1 мл.

3. Провести демонстрацию посева водопроводной воды в ГПС для определения коли-титра воды методом бродильных проб.

4. Провести демонстрацию процесса фильтрации 4 различных проб воды на приборе Зейтца через четыре мембранных фильтра, разложить эти фильтры на равном расстоянии друг от друга на поверхности агара Эндо и поставить в термостат. В одну из порций фильтруемой воды можно внести кишечную палочку, чтобы наглядно выросли красные колонии на фильтре.

5. На демонстрационных посевах на агаре Эндо провести определение коли-титра и коли-индекса исследуемой водопроводной воды.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Назовите источники загрязнения воды патогенными микроорганизмами.
2. Почему кишечная палочка отнесена к санитарно-показательным микроорганизмам?
3. В чем суть определения коли-титра воды методом бродильных проб?
4. В чем суть определения коли-титра и коли-индекса воды методом мембранных фильтров?
5. На чем основано исследование воды методом бродильных проб?

**ПРИЛОЖЕНИЕ. ДЕЙСТВУЮЩИЕ  
ГОСТЫ И САНПИНЫ  
ПРИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЯХ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ  
ПРОДУКЦИИ**

---

**1. ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ**

1	ГОСТ Р 26668-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологического анализа»	Госстандарт СССР	1985
2	ГОСТ Р 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологического анализа»	Госстандарт СССР	1985
3	ГОСТ Р 26670-91 «Продукты пищевые и вкусовые. Методы культивирования микроорганизмов»	Госстандарт СССР	1991
4	ГОСТ 10444.7-вб «Продукты пищевые»	Госстандарт СССР	1986
5	ГОСТ 10444.8-88 «Продукты пищевые. Метод определения <i>Bacillus cereus</i> »	Госстандарт СССР	1988
6	ГОСТ 10444.9-88 «Продукты пищевые. Метод определения <i>Clostridium perfringens</i> »	Госстандарт СССР	1988
7	ГОСТ 10444.12-88 «Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов»	Госстандарт СССР	1988
8	ГОСТ 10444.11-89 «Продукты пищевые. Метод определения молочнокислых микроорганизмов»	Госстандарт СССР	1989
9	ГОСТ 28560-90 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Moiganella</i> , <i>Providencia</i> »	Госстандарт СССР	1990
10	ГОСТ 28566-90 «Продукты пищевые. Метод выявления и определения количества энтерококков»	Госстандарт СССР	1990

11	ГОСТ 29185-91 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий»	Госстандарт СССР	1991
12	ГОСТ 20438-75 «Водоросли, травы морские и продукты их переработки. Правила приемки. Метод органолептической оценки качества. Методы отбора проб для лабораторных испытаний»	Госстандарт СССР	1975
13	ГОСТ Р 52174-03 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечной палочки (колиформных бактерий)»	Госстандарт РФ	1993
14	ГОСТ 1994 Р 50480-93 «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода <i>Salmonella</i> »	Госстандарт РФ	1993
15	ГОСТ 10444.2-94 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения <i>S. aureus</i> »	Госстандарт РФ	1994
16	ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов»	Госстандарт РФ	1994
17	ГОСТ Р 51446-99 (ИСО 7218-96) «Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований»	Госстандарт РФ	1999
18	ГОСТ Р 30726-01 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида <i>E. coli</i> »	Госстандарт РФ	2001
19	ГОСТ Р 51921-02 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий <i>Listeria monocytogenes</i> »	Госстандарт РФ	2002
20	ГОСТ 52173-03 «Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников растительного происхождения»	Госстандарт РФ	2003
21	ГОСТ Р 52174-03 «Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации ГМИ растительного происхождения с применением биологического микрочипа»	Госстандарт РФ	2003

22	ГОСТ Р 52427-05 «Продукты пищевые. Термины и определения»	Госстандарт РФ	2005
23	ГОСТ 8756.18-70 «Продукты пищевые консервированные. Метод определения внешнего вида, герметичности тары и состояния внутренней поверхности металлической тары»	Госстандарт СССР	1970
24	ГОСТ 8756.0-70 «Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию»	Госстандарт СССР	1970
25	ГОСТ 8764-73 «Консервы молочные. Методы контроля»	Госстандарт СССР	1973
26	ГОСТ 8756.1-79 «Продукты пищевые консервированные. Методы определения органолептических показателей, массы нетто или объема и массовой доли составных частей»	Госстандарт СССР	1979
27	ГОСТ 10444.1-84 «Консервы. Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе»	Госстандарт СССР	1984
28	ГОСТ 26188-84 «Продукты переработки плодов и овощей. Консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH»	Госстандарт СССР	1984
29	ГОСТ 26671-85 «Продукты переработки плодов и овощей. Консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов»	Госстандарт СССР	1985
30	СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы» с изменениями СанПиН 2.3.2.1280-03	Главный государственный санитарный врач РФ	14.11. 2001
31	ГОСТ 30425-97 «Консервы. Метод определения промышленной стерильности»	Госстандарт РФ	1997
32	СанПиН 2.3.2.1324-03 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования к срокам годности и условиям хранения пищевых продуктов»	ГСЭН РФ	2003

33	«Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных». Методы выявления и определения в продуктах паразитических вибрионов — возбудителей пищевых отравлений	Министерство рыбного хозяйства СССР	18.01. 1991
34	«Инструкция по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в мясе, птице, яйцах и продуктах их переработки»	Департамент МСХ РФ	27.06. 2000

## 2. МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

35	ГОСТ 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа»	Госстандарт СССР	1975
36	ГОСТ 7269-79 «Мясо. Органолептические методы определения свежести»	Госстандарт СССР	1979
37	ГОСТ 28825-90 «Мясо птицы. Приемка»	Госстандарт РФ	1990
38	ГОСТ Р 50454-92 «Мясо и мясные продукты. Обнаружение и учет предполагаемых колиформных бактерий и эшерихий коли (арбитражный метод)»	Госстандарт РФ	1992
39	ГОСТ Р 50455-92 «Мясо и мясные продукты. Обнаружение сальмонелл (арбитражный метод)»	Госстандарт РФ	1992
40	ГОСТ 7702.2.2-93 «Мясо птицы, методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий родов <i>Escherichia</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Serratia</i> )»	Госстандарт РФ	1993
41	ГОСТ 7702.2.3-93 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Метод выявления сальмонелл»	Госстандарт РФ	1993
42	ГОСТ Р 51448-99 (ИСО 3100-2-88) «Мясо и мясные продукты. Методы подготовки проб для микробиологических исследований»	Госстандарт РФ	1999

43	ГОСТ 7702.2.4-93 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Метод выявления и определения количества стафилококков»	Госстандарт РФ	1993
44	ГОСТ 7702.2.6-93 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Метод выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий»	Госстандарт РФ	1993
45	ГОСТ 7702.2.1-95 «Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса»	Госстандарт РФ	1995
46	ГОСТ 7702.2.1-95, ГОСТ Р 50396.1-92 «Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса»	Госстандарт РФ	1995
47	ГОСТ 7702.2.7-95, ГОСТ Р 50396.7-92 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Метод выявления бактерий рода <i>Proteus</i> »	Госстандарт РФ	1995
48	ГОСТ 7702.2.0-95, ГОСТ Р 50396.0-92 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям»	Госстандарт РФ	1995
49	ГОСТ 20235.0-74 «Мясо кроликов. Методы отбора образцов. Органолептические методы определения свежести»	Госстандарт СССР	1974
50	ГОСТ 20235.1-74 «Мясо кроликов. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса»	Госстандарт СССР	1974
51	ГОСТ Р 51447-99 (ИСО 3100-1-91) «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб»	Госстандарт РФ	1999
52	ГОСТ 20235.2-74 «Мясо кроликов. Методы бактериологического анализа»	Госстандарт СССР	1974
53	ГОСТ 9792-73 «Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб»	Госстандарт СССР	1973
54	ГОСТ 4288-76 «Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса. Правила приемки и методы испытаний»	Госстандарт СССР	1976

55	ГОСТ 9958-81 «Изделия колбасные и продукты из мяса. Методы бактериологического анализа»	Госстандарт СССР	1981
56	ГОСТ 9959-91 «Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки»	Госстандарт СССР	1991
57	«Правила ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов»	ГУВ Госагро- прома СССР и ГСЭУ МЗ	Изменена и дополнена

### 3. РЫБА И ПРОДУКТЫ ИЗ РЫБЫ

58	ГОСТ 7368-79 «Икра лососевая осетровых рыб. Технические условия, продукты их переработки. Методы анализа»	Госстандарт СССР	1979
59	ГОСТ 7442-79 «Икра зернистая осетровых рыб баночная»	Госстандарт СССР	1979
60	ГОСТ 7631-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний»	Госстандарт СССР	1985
61	ГОСТ 1168-86 «Рыба мороженая» ТУ	Госстандарт СССР	1986
62	ГОСТ 26664-85 «Консервы и пресервы из рыбы и морепродуктов. Методы определения органолептических показателей, массы нетто и массовой доли составных частей»	Госстандарт СССР	1985
63	ГОСТ 28972-91 «Консервы и продукты из рыбы и нерыбных объектов промысла. Метод определения кислотности (рН)»	Госстандарт СССР	1991
64	ГОСТ 20414-93 «Кальмар и каракатица мороженые. Технические условия»	Госстандарт РФ	1993

65	ГОСТ 20057-96 «Рыба океанического промысла мороженая»	Госстандарт РФ	1996
66	ГОСТ 1629-97 «Икра лососевая зернистая бочковая» ТУ	Госстандарт РФ	1997
67	ГОСТ 30812-2002 «Метод идентификации икры рыб семейства осетровых»	Госстандарт РФ	2002
68	ГОСТ 1368-2003 «Рыба всех видов обработки. Длина и масса»	Госстандарт РФ	2003
69	«Правила ветеринарно-санитарной экспертизы пресноводной рыбы и раков»	ГУВ Госагропрома СССР	17.06. 1988

#### 4. МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

70	ГОСТ 3622-68 «Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию»	Госстандарт СССР	1968
71	ГОСТ 3623-73 «Молоко и молочные продукты. Метод определения пастеризации»	Госстандарт СССР	1973
72	ГОСТ 23454-79 «Молоко. Метод определения ингибирующих веществ»	Госстандарт СССР	1979
73	ГОСТ 24065-80 «Молоко. Метод определения соды»	Госстандарт СССР	1980
74	ГОСТ 24066-80 «Молоко. Метод определения аммиака»	Госстандарт СССР	1980
75	ГОСТ 24067-80 «Молоко. Метод определения перекиси водорода»	Госстандарт СССР	1980
76	ГОСТ 25228-82 «Молоко и сливки. Метод определения термоустойчивости по алкогольной пробе»	Госстандарт СССР	1982
77	ГОСТ 13928-84 «Молоко и сливки заготавливаемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу»	Госстандарт СССР	1984
78	ГОСТ 29245-91 «Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей»	Госстандарт СССР	1991
79	ГОСТ 9225-84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа»	Госстандарт СССР	1984

80	ГОСТ 26781-85 «Молоко. Метод измерения pH»	Госстандарт СССР	1985
81	ГОСТ 26754-85 «Молоко. Метод измерения температуры»	Госстандарт СССР	1985
82	ГОСТ 26809-86 «Молоко и молочные продукты, правила приемки, методы отбора проб и подготовка проб к анализу»	Госстандарт СССР	1986
83	ГОСТ 27930-88 «Молоко и молочные продукты. Биокалометрический метод определения общего количества бактерий»	Госстандарт СССР	1988
84	ГОСТ 8218-89 «Молоко. Методы определения чистоты»	Госстандарт СССР	1989
85	ГОСТ 28283-89 «Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса»	Госстандарт СССР	1989
86	ГОСТ 23453-90 «Молоко. Методы определения количества соматических клеток»	Госстандарт СССР	1990
87	ГОСТ 25179-90 «Молоко. Методы определения белка»	Госстандарт СССР	1990
88	ГОСТ 25102-90 «Молоко. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных бактерий»	Госстандарт СССР	1990
89	ГОСТ 30347-97 «Молоко и молочные продукты. Методы определения <i>S. aureus</i> »	Госстандарт РФ	1997
90	ГОСТ 51600-2000 «Молоко и молочные продукты. Методы определения антибиотиков»	Госстандарт РФ	2000
91	ГОСТ Р 52054-03 «Молоко натуральное коровье сырое»	Госстандарт РФ	2003
92	«Правила ветеринарно-санитарной экспертизы молока и молочных продуктов на рынках»	ГУВ МСХ СССР	01.07. 1976

## 5. ЯЙЦА И ЯИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

93	ГОСТ 30363-96 «Продукты яичные. Общие технические условия»	Госстандарт РФ	1996
94	ГОСТ 30364.2-96 «Продукты яичные. Методы микробиологического контроля»	Госстандарт РФ	1996

95	ГОСТ 30364.0-97 «Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа»	Госстандарт РФ	1997
96	ГОСТ 52121-03 «Яйца куриные пищевые. Технические условия»	Госстандарт РФ	2003
97	«Правила ветеринарно-санитарной экспертизы яиц куриных, утиных и гусиных»	ГУВ МСХ СССР	01.08.1981
98	«Ветеринарно-санитарные правила для предприятия переработки птицы и производства яйцепродуктов»	Госагропром и МЗ СССР	1986

## 6. МЕД

99	«Правила ветеринарно-санитарной экспертизы меда на рынках»	Главный ветеринарный инспектор РФ. Согласовано заместителем главного государственного санитарного врача	№ 19-7/549 от 16.06.1988
100	ГОСТ 19792-2001 «Мед натуральный. Технические условия»	Госстандарт РФ	2001

## 7. ВОДА ПИТЬЕВАЯ

101	ГОСТ 18963-73 «Вода питьевая. Методы бактериологического анализа»	Госстандарт СССР	1973
102	МУК 2.1.5.800-99 «Организация Госсанэпиднадзора за обеззараживанием сточных вод»	ГСЭН РФ	1999
103	МУК 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения»	ГСЭН РФ	2001
104	МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды»	ГСЭН РФ	2001
105	МУК 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников»	ГСЭН РФ	2002

106	СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества»	ГСЭН РФ	2001
107	«Методические указания по ускоренным методам микробиологического исследования сточных вод свиноводческих промышленных комплексов»	ГУВ МСХ СССР	115-6а 09.12. 1997

## 8. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

108	«Методические указания по лабораторной диагностике ботулизма»	ГУВ МСХ СССР	02.11.1982
109	МУ 3049-84 «Методические указания по определению содержания антибиотиков в мясомолочных продуктах и яйцепродуктах»	МЗ СССР	1984
110	«Методические указания по ускоренному выделению санитарно-показательных микроорганизмов с поверхностей животноводческих объектов для контроля качества дезинфекции»	ГУВ МСХ СССР	432-5 02.07.1986
111	«Методические указания по контролю качества дезинфекции объектов, подлежащих ветеринарному надзору»	ГУВ МСХ СССР	432-3 16.05.1988
112	МУК 4.2.026-95 «Экспресс-метод определения содержания антибиотиков в пищевых продуктах»	Госкомсанэпиднадзор России. Главный государственный санитарный врач РФ	29.03.1995
113	«Методические указания по постановке реакции коагуляции для экспресс-диагностики сальмонеллезов животных, обнаружению сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды»	Департамент ветеринарии МСХ РФ	13-7-2/247 15.02.1995

114	МУК 4.2.590-96 «Бактериологические исследования с использованием экспресс-анализатора «Бак-Трак 4100»	МЗ РФ и МСХ РФ	1996
115	«Методические указания по ускоренной идентификации видовой принадлежности мяса и мясосопродуктов посредством полимеразной цепной реакции»	МСХ РФ	13-5-2/195 14.09.2000
116	«Правила бактериологического исследования кормов. Минсельхоз СССР»	ГУВ МСХ СССР	10.06.1975
117	«Методика индикации бактерий рода <i>Proteus</i> в кормах животного происхождения»	ГУВ МСХ СССР	21.05.1981
118	ГОСТ 17681-82 «Мука животного происхождения. Методы испытаний»	Госстандарт СССР	1982
119	ГОСТ 25311-82 «Мука кормовая животного происхождения. Методы бактериологического анализа»	Госстандарт СССР	1982
120	«Методика бактериологического исследования кормов на энтерококки»	Госагропром СССР	21.03.1986
121	ГОСТ 27262-87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб»	Госстандарт СССР	1987
122	По ускоренной санитарно-микробиологической индикации общего микробного числа (ЖМА-ФАНМ), <i>E. coli</i> , колиформ (БГКП), сальмонелл, стафилококков ( <i>S. aureus</i> ), дрожжей и плесеней в продуктах животного происхождения, кормах и объектах внешней среды с применением подложек серии RIDA®Count	Управление ветеринарии Федерального агентства по сельскому хозяйству	5-1-14/977 03.10.2005
123	По определению видовой принадлежности мяса с помощью реакции преципитации в геле	Управление ветеринарии Федерального агентства по сельскому хозяйству	5-1-14/1004 11.10.2005

124	МУК 4.2.2046-06 «Методы выявления и определения параземолитических вибрионов в рыбе, нерыбных объектах промысла, продуктах, вырабатываемых из них, в воде поверхностных водоемов и других объектах»	МЗ РФ	2006
125	«Методические указания по ускоренному санитарно-бактериологическому контролю сырья и продукции животного и растительного происхождения на наличие сальмонелл, энтеропатогенных эшерихий и иерсиний»	МСХ РФ	13-7-2/2160 25.10.2000
126	МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления бактерий <i>Listeria monocytogenes</i> в пищевых продуктах»	МЗ РФ. Главный государственный санитарный врач РФ	22.04.2002
127	«Методическое руководство по санитарно-микробиологическому контролю мясных и молочных продуктов на наличие листерий»	Межгосударственный технический комитет по стандартизации «Мясо и мясные продукты» ТК 226	27.02.2004
128	В дополнение в «Методические указания по лабораторной диагностике сальмонеллезов человека и животных, обнаружению сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды» (1990)	Департамент ветеринарии МСХ РФ	13-5-2/914 02.02.2004
129	МУК 4.2.1902-04 «Определение генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения методом полимеразной цепной реакции»	МЗ РФ	2004
130	МУК 4.2.1913-04 «Методы количественного определения генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения в продуктах питания»	МЗ РФ	2004

131	МУ 2.3.2.1917-04 «Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из/ или с использованием сырья растительного происхождения, имеющего генетически модифицированный анализ»	ГСЭН РФ	2004
-----	---	---------	------

## 9. КОРМА

132	«Методика бактериологического исследования кормов на пастереллы»	ГУВ Госагропром СССР	16.07.1987
133	ГОСТ 28178-89 «Дрожжи кормовые. Методы испытаний»	Госстандарт СССР	1989
134	«Методические указания об оценке санитарного качества кормов животного происхождения»	ДВ МСХ СССР	42-17 08.10.1990
135	ГОСТ 30134-97 «Дрожжи кормовые. Метод ускоренного обнаружения сальмонелл»	Госстандарт РФ	1997
136	ВСТШЗ-7-2/1010 «Ветеринарно-санитарные требования к кормам для непродуктивных животных»	Департамент ветеринарии МСХ РФ	15.07.1997
137	«О ветеринарно-санитарной оценке кормов, обсемененных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , патогенными штаммами бактерий родов <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> »	Департамент ветеринарии МСХ РФ	13-7-11/115 12.02.1998
138	«Указание о лабораторных исследованиях импортных кормов и кормовых добавок»	ГУВ МСХ РФ	21.01.1998
139	«О ветеринарно-санитарной оценке кормов обсемененных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> »	ГУВ МСХ РФ	13-7-11/115 12.08.1998
140	«Указание о внесении изменений в Ветеринарно-санитарные нормы и требования к качеству кормов для непродуктивных животных», 13-7-2/1010	Департамент ветеринарии МСХ РФ	13-5-2/1600 06.05.1999
141	ГОСТ Р 51426-99 «Микробиология. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Общее руководство по приготовлению разведений для микробиологических исследований»	Госстандарт СССР	1999

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

---

1. *Артемьева, С. А.* Микробиологический контроль мяса животных, птиц, яиц и продуктов их переработки : справочник / С. А. Артемьева [и др.]. — М. : КолосС, 2002. — 288 с.
2. Ветеринарно-санитарная экспертиза, стандартизация и сертификация продуктов : в 2 т. / под ред. К. Е. Елемасова, Н. Ф. Шуклина. — Алма-Ата : Издат. дом «Credo», 2002. — Т. 1 437 с; Т. 2. — 531 с.
3. *Госманов, Р. Г.* Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / Р. Г. Госманов, Н. М. Колычев, А. А. Барсков. — Омск : ОмГАУ, 2008. — 312 с.
4. *Госманов, Р. Г.* Ветеринарная санитарная микробиология / Р. Г. Госманов, А. И. Ибрагимова. — Казань : 2006. — 231 с.
5. *Калина, Г. П.* Энтерококки // Методы санитарно-бактериологических исследований внешней среды. — М. : Медицина, 1966. — С. 53.
6. *Кочемасова, З. Н.* Санитарная микробиология и вирусология / З. Н. Кочемасова [и др.]. — М. : Медицина, 1987. — 352 с.
7. *Колычев, Н. М.* Ветеринарная микробиология и иммунология / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. — М. : КолосС, 2006. — 432 с.
8. *Крупина, А. П.* Дифференциация стрептококков, встречающихся в пищевых продуктах // Лаб. дело. — Л. : 1963. — № 1. — С. 47–48.
9. Санитарная микробиология / под ред. С. Я. Любашенко. — М. : Пищевая пром-сть, 1980. — 352 с.
10. Санитарная микробиология сырья и продуктов животного происхождения / под ред. Р. П. Корнелаевой [и др.]. — М., 2006.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

---

Список сокращений .....	5
Введение .....	6

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ПО САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

<b>Тема 1. Предмет, краткая история и задачи санитарной микробиологии .....</b>	<b>10</b>
Контрольные вопросы .....	14
<b>Тема 2. Экология микроорганизмов .....</b>	<b>15</b>
Контрольные вопросы .....	19
<b>Тема 3. Учение о санитарно-показательных микроорганизмах .....</b>	<b>20</b>
Контрольные вопросы .....	23
<b>Тема 4. Принципы и методы санитарно-микробиологических исследований .....</b>	<b>24</b>
Методы санитарно-микробиологических исследований .....	27
Контрольные вопросы .....	28
<b>Тема 5. Микробиология мяса, мясных продуктов, контроль производства мяса и мясных продуктов .....</b>	<b>29</b>
Контрольные вопросы .....	35
<b>Тема 6. Микробиология молока и молочных продуктов .....</b>	<b>36</b>
Микробиология молочных продуктов .....	46
Продукты молочнокислого брожения .....	49
Контрольные вопросы .....	58
<b>Тема 7. Микрофлора товарной рыбы и сырья для производства рыбных консервов .....</b>	<b>59</b>
Контрольные вопросы .....	66
<b>Тема 8. Микробиология яиц и яичных продуктов .....</b>	<b>67</b>
Контрольные вопросы .....	71

<b>Тема 9. Микрофлора пищевых продуктов</b> . . . . .	72
Возбудители пищевых токсикоинфекций . . . . .	74
Возбудители пищевых токсикозов . . . . .	82
Ботулизм . . . . .	82
Стафилококковая интоксикация . . . . .	84
Контрольные вопросы . . . . .	89
<b>Тема 10. Микрофлора почвы</b> . . . . .	90
Контрольные вопросы . . . . .	95
<b>Тема 11. Микрофлора воды</b> . . . . .	96
Контрольные вопросы . . . . .	102
<b>Тема 12. Микрофлора воздуха</b> . . . . .	103
Контрольные вопросы . . . . .	110
<b>Тема 13. Дезинфекция, дезинсекция и дератизация на мясо- и молокоперерабатывающих предприятиях</b> . . . . .	111
Гигиенические требования при проведении дезинфекции, стерилизации, дезинсекции и дератизации . . . . .	113
Стерилизация . . . . .	115
Дезинсекция . . . . .	117
Дератизация . . . . .	118
Контрольные вопросы . . . . .	120

### **ЛАБОРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ ПО САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

<b>Тема 1. Общие правила отбора проб продуктов животного происхождения</b> . . . . .	123
Отбор проб . . . . .	123
Контрольные вопросы . . . . .	126
<b>Тема 2. Бактериологическое исследование мяса сельскохозяйственных и промысловых животных</b> . . . . .	127
Определение количества МАФАНМ . . . . .	131
Индикация кишечной палочки . . . . .	132
Индикация сальмонеллезной палочки . . . . .	134
Задания для лабораторной работы . . . . .	136
Контрольные вопросы . . . . .	136
<b>Тема 3. Бактериологическое исследование мяса птиц</b> . . . . .	138
Индикация БГКП в мясе птицы . . . . .	142
Индикация сальмонелл . . . . .	142
Выявление золотистого стафилококка . . . . .	143
Задания для лабораторной работы . . . . .	145
Контрольные вопросы . . . . .	145
<b>Тема 4. Бактериологическое исследование мясных консервов и сырья для изготовления колбас, фарша и других видов мясной продукции</b> . . . . .	146
Правила отбора проб . . . . .	148
Подготовка к микробиологическому исследованию . . . . .	150
Определение промышленной стерильности . . . . .	150

	Задания для лабораторной работы . . . . .	156
	Контрольные вопросы . . . . .	157
<b>Тема 5. Бактериологическое исследование колбасных изделий и продуктов из мяса . . . . .</b>		<b>158</b>
	Отбор, подготовка проб и проведение исследования . . . . .	159
	Задания для лабораторной работы . . . . .	167
	Контрольные вопросы . . . . .	167
<b>Тема 6. Бактериологическое исследование и оценка качества яиц и яичных продуктов . . . . .</b>		<b>168</b>
	Бактериологическое исследование яичных продуктов . . . . .	172
	Задания для лабораторной работы . . . . .	173
	Контрольные вопросы . . . . .	174
<b>Тема 7. Санитарно-микробиологическое исследование молока. Определение количества МАФАНМ. Редуктазная проба. Коли-титр молока . . . . .</b>		<b>175</b>
	Бактериологическое исследование молока . . . . .	175
	Определение наличия ингибирующих веществ в молоке . . . . .	179
	Определение эффективности пастеризации . . . . .	180
	Задания для лабораторной работы . . . . .	184
	Контрольные вопросы . . . . .	185
<b>Тема 8. Изучение микрофлоры кисломолочных продуктов . . . . .</b>		<b>186</b>
	Технология производства кисломолочных продуктов . . . . .	187
	Продукты молочнокислого брожения . . . . .	188
	Продукты комбинированного брожения . . . . .	189
	Задания для лабораторной работы . . . . .	190
	Контрольные вопросы . . . . .	191
<b>Тема 9. Бактериологическая оценка качества свежей рыбы и морепродуктов . . . . .</b>		<b>192</b>
	Контроль качества свежей, охлажденной, мороженой рыбы и морских беспозвоночных . . . . .	192
	Определение количества МАФАНМ . . . . .	195
	Индикация бактерий группы кишечных палочек . . . . .	196
	Индикация наличия золотистого стафилококка . . . . .	197
	Определение наличия бактерий рода сальмонелла . . . . .	198
	Индикация параземолитического вибриона . . . . .	199
	Задания для лабораторной работы . . . . .	200
	Контрольные вопросы . . . . .	201
<b>Тема 10. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха . . . . .</b>		<b>202</b>
	Задания для лабораторной работы . . . . .	205
	Контрольные вопросы . . . . .	205

<b>Тема 11. Санитарно-микробиологическое исследование почвы</b> . . . . .	206
Определение количества МАФАНМ в 1 г почвы методом серийных разведений . . . . .	207
Определение коли-титра почвы методом бродильных проб с использованием среды Кесслера . . . . .	208
Задания для лабораторной работы . . . . .	210
Контрольные вопросы . . . . .	210
<b>Тема 12. Санитарно-микробиологическое исследование воды.</b>	
<b>Определение коли-титра и коли-индекса воды</b> . . . . .	211
Метод мембранных фильтров . . . . .	216
Задания для лабораторной работы . . . . .	219
Контрольные вопросы . . . . .	219
<b>Приложение</b> . . . . .	220
1. Продукты пищевые . . . . .	220
2. Мясо и мясные продукты . . . . .	223
3. Рыба и продукты из рыбы . . . . .	225
4. Молоко и молочные продукты . . . . .	226
5. Яйца и яичные продукты . . . . .	227
6. Мед . . . . .	228
7. Вода питьевая . . . . .	228
8. Лабораторная диагностика возбудителей . . . . .	229
9. Корма . . . . .	232
<b>Список литературы</b> . . . . .	233

*Рауис Госманович ГОСМАНОВ*  
*Али Харисович ВОЛКОВ*  
*Альберт Камилевич ГАЛИУЛЛИН*  
*Альфия Исламовна ИБРАГИМОВА*

**САНИТАРНАЯ  
МИКРОБИОЛОГИЯ**  
*Учебное пособие*

Зав. редакцией ветеринарной  
и сельскохозяйственной литературы *О. А. Шаповалова*  
Художественный редактор *С. Ю. Малахов*  
Корректоры *Т. А. Кошелева, В. С. Герасименко*  
Подготовка иллюстраций *Н. Г. Брусянина*  
Верстка *Е. Е. Егорова*  
Выпускающие *Е. А. Петрова, Т. В. Ананченко*

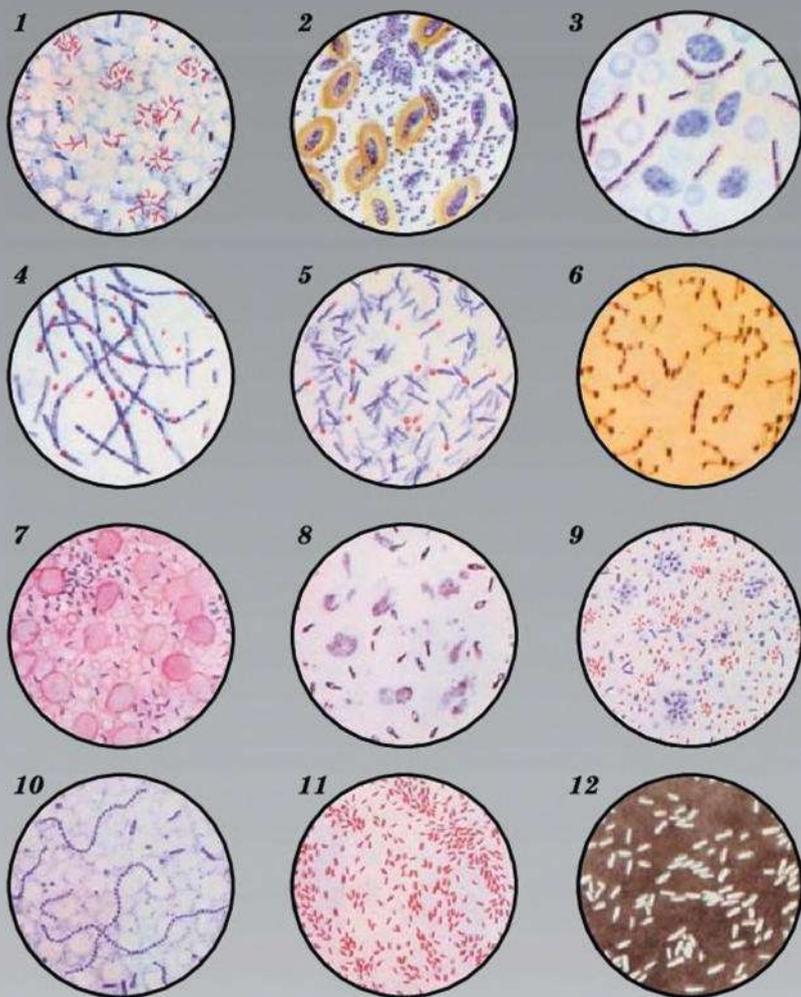
ЛР № 065466 от 21.10.97  
Гигиенический сертификат 78.01.07.953.П.007216.04.10  
от 21.04.2010 г., выдан ЦГСЭН в СПб

Издательство «ЛАНЬ»  
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com  
192029, Санкт-Петербург, Общественный пер., 5.  
Тел./факс: (812) 412-29-35, 412-05-97, 412-92-72.  
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 20.07.10.  
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 84×108<sup>1/32</sup>.  
Печать офсетная. Усл. п. л. 12,60. Тираж 1000 экз.

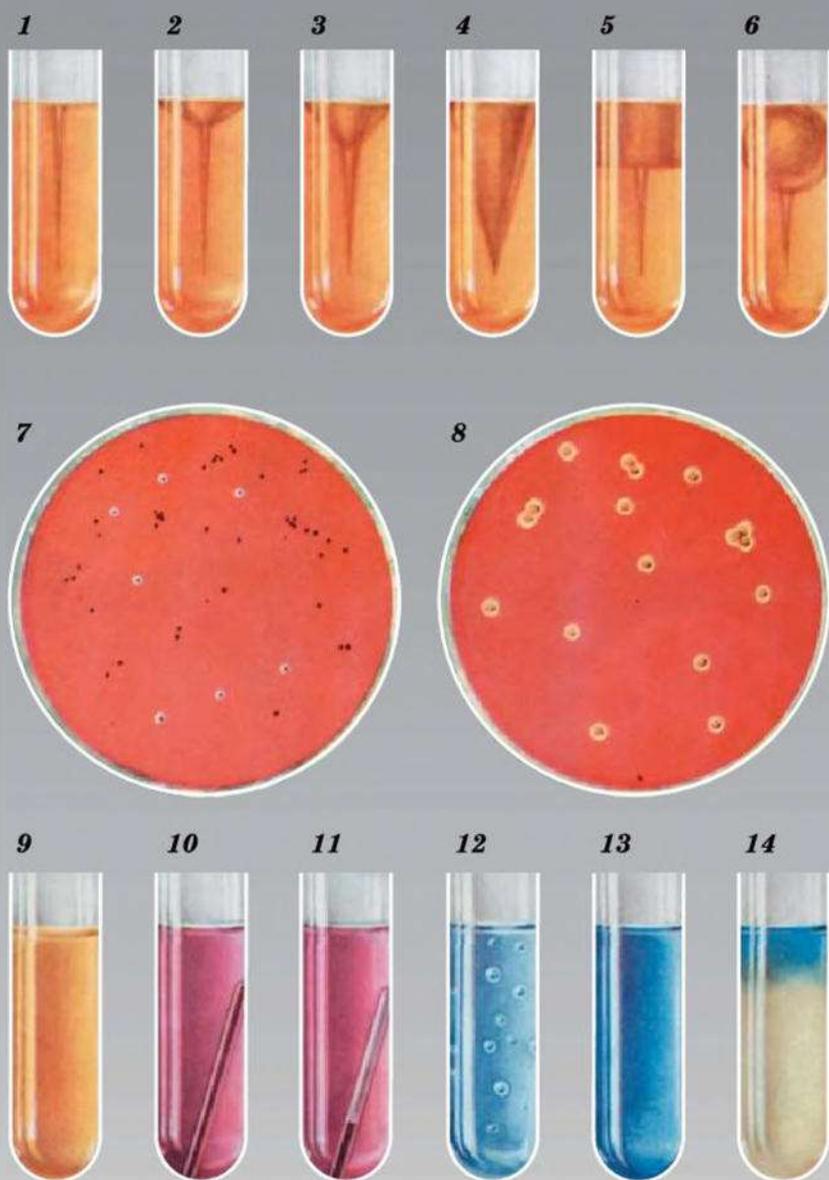
Заказ №

Отпечатано в полном соответствии  
с качеством предоставленных диапозитивов  
в ОАО «Издательско-полиграфическое предприятие «Правда Севера».  
163002, г. Архангельск, пр. Новгородский, д. 32.  
Тел./факс (8182) 64-14-54; www.ippps.ru



**Ил. 1. Микроорганизмы, окрашенные различными методами:**

1 — туберкулезные бактерии в молоке (окраска по Цилю-Нельсену); 2 — пастереллы в крови птиц (окраска по Романовскому-Гимзе); 3 — капсулы сибиреязвенных бацилл (окраска по Михлину); 4 — споры сибиреязвенных бацилл (окраска по Ожешко); 5 — споры столбнячных бацилл в культуре (окраска по Мюллеру); 6 — зерна волютина в дифтерийных коринебактериях (окраска по Граму); 7 — бактерии рожи свиней в печени (окраска по Граму); 8 — *Clostridium chauvoei* в мазке из некротизированной мышцы (окраска генцианвиолетом); 9 — бруцеллы в смешанной культуре (окраска по Шуляку и Шину); 10 — агалактичный стрептококк в молоке (окраска метиленовой синью Лефлера); 11 — кишечная палочка в мазке из агаровой культуры (окраска по Граму); 12 — азотобактерии (негативная окраска по Дорнеру).



**Ил. II. Дифференциально-диагностические среды:**

1...6 — формы расщепления желатины; 7 — кровяная среда с теллуридом калия; 8 — зона гемолиза вокруг колоний на кровяном агаре; 9...11 — жидкая среда с углеводом и индикатором Андраде (9 — отсутствие ферментации; 10 — ферментация с образованием кислоты; 11 — ферментация с образованием кислоты и газа); 12 — ферментация с образованием кислоты и газа на полужидкой среде с углеводом и индикатором ВР; 13, 14 — молоко с метиленовым синим (13 — отсутствие редукции; 14 — редукция).



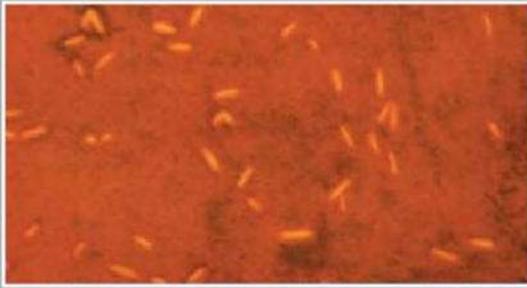
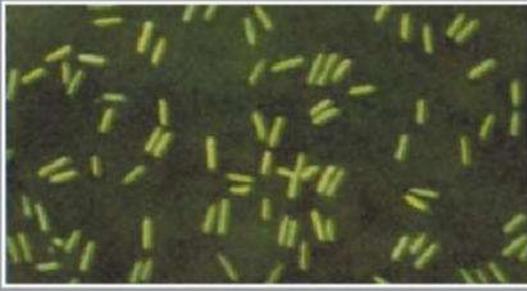
Ил. III. Туберкулез:

1 — туберкулезные микробы под микроскопом (окраска по Цилю-Нельсону); 2 — рост туберкулезных культур на среде Петри-ньяни (а — тип *bovinus*, б — тип *humanus*, в — тип *avium*); 3 — положительная реакция на туберкулин (а и б — глазная и внутрикожная у коровы, в и г — внутрикожная у курицы и свиньи, д — глазная у лисицы).



**Ил. IV. Культуры грибов рода *Actinomyces*  
на питательных средах:**

1 — *A. indigocolor*; 2 — *A. globishorus*; 3 — *A. viridans*; 4 — *A. aurantiacus*; 5 — *A. aureovercillatus*; 6 — *A. fluorescens*; 7 — *A. violaceus niger*; 8 — *A. violaceus*; 9 — *A. violaceo-chromogenes*; 10 — *A. viridis*; 11 — *A. lavendulae*; 12 — *A. griseus*.

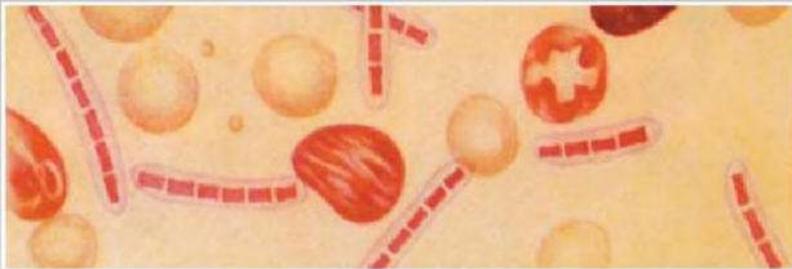


**Ил. V. Возбудители туберкулеза и бруцеллеза:**

- 1 — *Myc. avium* при туберкулезе птиц;  
2 — *B. abortus bovis* при бруцеллезе.



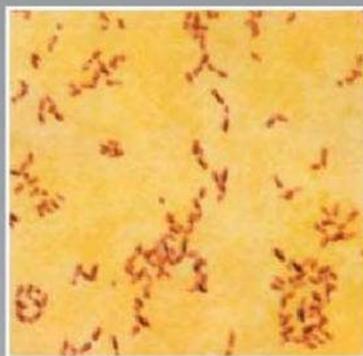
**Ил. VI. Характерный рост *Bac. anthracis* в мясо-пептонной желатине (суточная культура).**



**Ил. VII. Бациллы сибирской язвы, выделенные из трупа. Окраска по Гинсу.**



2



3



4



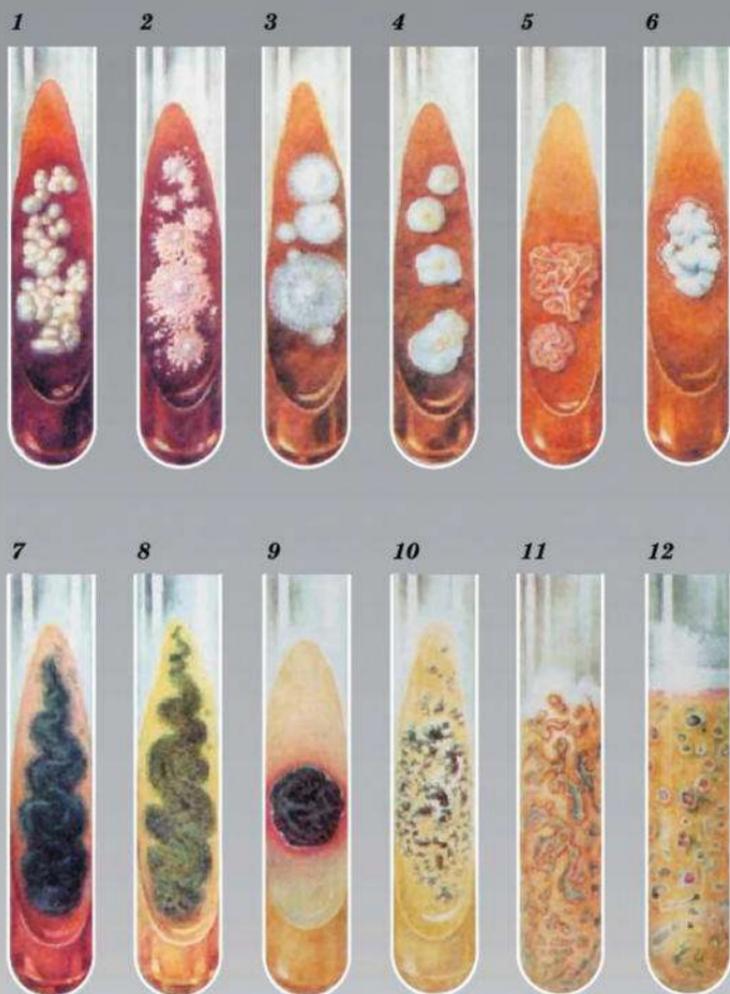
**Ил. VIII. Пуллороз:**

1 — цыплята, больные пуллорозом; 2 — 48-часовая культура *Salmonella pullorum-gallinarum* (окраска по методу Грама;  $\times 630$ ); 3 — увеличение и припухлость сережки при внутривенном введении пуллорина (положительная аллергическая реакция); 4 — сыровоточно-капельная отрицательная (слева) и положительная (справа) реакция агглютинации.



**Ил. IX. Культуры грибов рода *Aspergillus* на агаре Чапека:**

1 — *A. fumigatus*; 2 — *A. candidus*; 3 — *A. niger*; 4 — *A. versicolor*;  
 5 — *A. terreus*; 6 — *A. flavites*; 7 — *A. repens*; 8 — *A. flavus*; 9 —  
*A. wentii*; 10 — *A. clavatus*; 11 — *A. nidulans*; 12 — *A. ochraceus*.



**Ил. X. Культуры патогенных и токсичных грибов на питательных средах (по Саркисову):**

грибы патогенные: 1 — *Trichophyton verrucosum*; 2 — *Trichophyton gypseum*; 3 — *Microsporium lanosum*; 4 — *Candida albicans* (культуры на сусло-агаре); 5 — *Histoplasma farciminosum* (культура на МПА с 2% глюкозы); 6 — *Actinomyces bovis*, аэробная форма (культура на МПА с 1% глюкозы); 7 — *Aspergillus fumigatus* (культура на агаре Чапека); грибы токсичные: 8 — *Aspergillus flavus*; 9 — *Penicillium notatum*; 10 — *Dendrodochium toxicum* (культуры на агаре Чапека); 11 — *Fusarium sporotrichioides*; 12 — *Fusarium graminearum* (культуры на зернах риса).