ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
(ГОСАГРОПРОМ СССР)
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ
ВЕТЕРИНАРИИ С ГОСУДАРСТВЕННОЙ
ВЕТЕРИНАРНОЙ ИНСПЕКЦИЕЙ
121019, Москва, Б-19, Проспект Калинина,
Для телеграмм: Москва-19,
Главк ВЕТЕРИНАРИЯ
Телетайп: 112548 «Лабиринт»
Телефон: 2[illegible]7 59-17

432-3 № _____

На № _____

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель начальника Главного управления ветеринарии Госагропрома СССР
_____ В.С.Осетров
"10" июля 1988 г.

Рекомендации

по санитарно-бактериологическому исследованию смывов с поверхностей объектов, подлежащих ветеринарному надзору

I. Общие положения

I.I. Санитарное состояние технологического оборудования производственных цехов мясокомбинатов, птицефабрик, инкубационно-птицеводческих станций, а также оборудования и инструментов станций и пунктов искусственного осеменения, молочно-товарных ферм, кормокухонь, колхозных рынков оценивают визуально и по наличию микрофлоры на поверхностях оборудования, установок, тары и различных инструментов.

I.2. Визуальный контроль санитарного состояния инвентаря и оборудования проводится ежедневно ветеринарными специалистами, отвечающими за данный объект. При контроле санитарного состояния оборудования, в первую очередь, обращают внимание на участки труднодоступные для санитарной обработки. Чистоту проверяют путем протирания этих поверхностей тампонами.

I.3. Бактериологический контроль санитарного состояния объектов ветеринарного надзора с целью проверки соблюдения ветеринарно-санитарных требований, установления эффективности санитарной обработки и при снижении качества продукции осуществляют ветеринарные лаборатории путем исследования смывов на следующие показатели:

- общее количество микробных клеток на I00 $см^2$ поверхности обследуемого предмета;

gost.e-ecolog.ru

- количество кишечной палочки коли-титр),

- наличие патогенных бактерий сальмонелл, энтеропатогенных сероваринтов эшерихий, анаэробов).

Перечень объектов, подлежащих обследованию, а также кратность проведения исследований, приведены в таблице I.

I.4. Взятие смывов для исследования проводят в сроки, предусмотренные графиком, утвержденным директором лаборатории и главным ветеринарным врачом хозяйства или предприятия.

2. Отбор проб для исследования

2.I. Смывы с технологического оборудования, аппаратуры производственных цехов, тары и различной посуды (не менее 4), а также с инструментов, применяемых в работе, берут с поверхностей, соприкасающихся с продукцией.

Смывы берут с площади I00 $см^2$ стерильными ватными тампонами или марлевыми салфетками в момент, когда инвентарь и оборудование подготовлены к работе. Сложное технологическое оборудование и узлы необходимо разбирать и осматривать вместе с механиком.

2.2. На молочно-товарных фермах контролируют санитарное состояние цистерн, танков, ванн и емкостей для хранения молока, труб молокопровода, рабочих поверхностей фильтров, охладителей и пастеризаторов молока, доильных аппаратов (внутренняя поверхность головки сосковой резины, внутренняя поверхность коллектора и штуцеров, молочных трубок и шлангов, доильные ведра и внутренняя поверхность под уплотнительной прокладкой ведра).

Для оценки санитарного состояния инструмента, используемого на госплемпредприятиях, станциях и пунктах искусственного осеменения, смывы берут с сосудов Дьюара, влагалищных зеркал, корнцангов, шприцов-катетеров, ножниц, штативов, подставок для инструментов, измерительных цилиндров и мензурок, воронок, перчаток и с других инструментов, используемых в работе.

На инкубационно-птицеводческих станциях, птицефабриках смывы берут с инкубационного яйца, контейнеров, используемых для перевозки яиц, конвейерных лент, лотков для яиц, закладываемых в инкубаторы и выводные шкафы, с внутренней поверхности инкубаторов и выводных шкафов, сортировочных столиков, шприцов-автоматов.

В производственных цехах мясокомбинатов и боенских предпри-

ятий смывы берут с варочных котлов, чанов, ванн различного назначения, подвесных ковшей, конвейерных лент, разделочных столов, тары, производственной посуды, инструментов и другого оборудования.

При взятии смывов с инвентаря кормокухонь (ёмкостей для приготовления и транспортировки корма, ножей, ложек, используемых при раздаче) необходимо обращать внимание на санитарное состояние кормоперерабатывающих агрегатов и их узлов.

С целью соблюдения санитарных условий при продаже пищевых продуктов на рынке смывы берут с прилавков, рубочных колод, разрубочных досок, посуды, используемой для хранения, доставки и продажи пищевых продуктов, и различных инструментов, соприкасающихся с ними.

2.3. Тампоны делают на металлических стержнях или деревянных палочках длиной 18-20 см, пропущенных через ватно-марлевую, корковую или резиновую пробку. Смонтированные тампоны, помещают в пробирки, закрывают их пробками и стерилизуют при 120°С в течение 30 мин.

Марлевые салфетки размером 5х5 см завертывают по одной штуке в бумажные пакеты и стерилизуют при 120°С в течение 30 мин.

Затем в каждую пробирку с тампоном наливают по 2 мл стерильной водопроводной воды или физиологического раствора, так чтобы ватный тампон находился в 2-3 см над поверхностью жидкости.

2.4. Непосредственно перед взятием смывов тампоны или салфетки увлажняют. Для этого салфетки берут пинцетом, прокаленным над пламенем горелки, и опускают в пробирки с 2 мл воды (физиологического раствора), а тампоны погружают в жидкость, наклоняя пробирки.

Избыток влаги отжимают о внутреннюю стенку пробирки.

2.5. Исследуемый участок, площадью 100 $см^2$, ограничивают рамкой-трафаретом с ручкой. Трафарет, изготовленный из проволоки, перед использованием прожигают над пламенем горелки.

Тампон или салфетку извлекают из пробирки и быстро, без пропусков протирают им поверхность, ограниченную рамкой-трафаретом. Затем тампон помещают в ту же пробирку, откуда он извлечен, а салфетку в пробирку, в которой её увлажняли.

Для взятия смыва с поверхностей инкубационного яйца применяют аналогичную рамку-трафарет площадью 5 $см^2$, которую накладывают на боковую поверхность яйца. От каждой партии смывы отбирают с 10 яиц (средняя проба).

2.6. Для выделения патогенной микрофлоры допускается взятие

смывов с инвентаря, некоторых узлов оборудования, целых предметов без учёта площади, с любого места поверхности, а при исследовании трудно доступных мест (клапанов, трубопроводов и т.д.) тампон продвигают на всю длину его держателя, делая вращательные движения.

3. Доставка материала в лабораторию для исследования

3.1. Отобранные пробы нумеруют. Пробирки со смывами помещают в термос со льдом или сумку-холодильник, в которых летом поддерживают температуру +1-5°С, (зимой пробы предохраняют от замерзания) и направляют в лабораторию.

3.2. Пробы упаковывают так, чтобы при транспортировке пробки пробирок не смачивались жидкостью.

3.3 Пробы должны быть доставлены и исследованы не позже, чем через 6 ч с момента отбора.

3.4. В сопроводительной к пробам указывают:

наименование объекта, откуда взяты смывы,

количество проб,

дату и время взятия,

цель исследования,

способ транспортировки и упаковки.

К сопроводительной прикладывают опись проб.

4. Подготовка проб и проведение исследований

4.1. Приготовление разведений для разведений и дальней их исследований применяют только стерильные водопроводную воду, физиологический раствор и лабораторную посуду.

4.1.1. После доставки проб в лабораторию в пробирку с тампоном, в которой имеется 2 мл жидкости, вносят ещё 6 мл водопроводной воды или физиологического раствора и тампон или салфетку в течение 2-3 мин тщательно отмывают, затем отжимают и удаляют. Полученное разведение считают исходным.

4.1.2. Из исходного разведения в стерильных условиях готовят последовательные десятикратные разведения от 1:10 до 1:1000.

Для приготовления каждого разведения необходимо применять отдельную стерильную пипетку.

Пипеткой отбирают 1 мл исходного разведения и переносят в пробирку с 9 мл водопроводной воды (физиологического раствора), не касаясь жидкости. Для перемешивания жидкости берут другую стерильную пипетку, после пипетирования получают разведение 1:10 и переносят 1 мл в следующую пробирку с 9 мл водопроводной воды и

зиологического раствора). Аналогичн готовят последующие разведения.

4.2. Посев материала на питательные среды

4.2.I. Посевы материала можно проводить параллельно с приготовлением разведений. Для этого из полученного разведения той же пипеткой, которую используют для переноса жидкости в следующую пробирку, вносят необходимое количество посевного материала на питательные среды для определения количества микробных клеток и коли-титра.

4.2.2. Посев материала можно проводить после приготовления разведений. При этом для каждого разведения используют отдельную пипетку или посев делают одной пипеткой, внося посевной материал на питательные среды, начиная с большего разведения.

4.3. Определение общего числа микробных клеток Из каждого разведения вносят по I мл в 3 чашки Петри и заливают расплавленным и остуженным до 45-50°С МПА. Осторожным вращением чашки равномерно перемешивают смесь и после застывания агара ставят в термостат при температуре 37°С на 48 ч крышками вниз.

4.4. Определение коли-титра. В пробирку с 5 мл среды Кода вносят I мл исследуемого смыва (исходное разведение), во вторую пробирку - I мл его разведения I:I0. Посевы культивируют в термостате при температуре 37°С в течение 24 ч.

Для исследования можно использовать среду Булира. Посевы делают так же, как и в среду Кода, но культивируют при температуре 43-44°С.

4.5. Определение патогенной микрофлоры. Посевы на питательные среды делают из исходного разведения, вносят по I мл в каждую среду.

4.5.I. Для выделения сальмонелл используют одну из сред накопления (Мюллера, Кауфмана, Килиана или селенитовую). Посевы делают в две колбы со средой накопления и помещают их в термостат при температуре 37°С на I8-24 ч.

Через 5-6 ч (допускается делать пересев через I8-20 ч) делают пересев со сред накопления на дифференциально-диагностические среды (Эндо, Плоскирева, Левина или висмут-сульфит агар), перенося по I мл на поверхность среды, разлитой в две чашки Петри. После посева чашку покачивают для равномерного распределения жидкости по поверхности питательной среды.

Разведенные пробы [illegible]

поверхность, чтобы жидкость впитал ь в агар. Затем оставшуюся жидкость отсасывают пастеровской п еткой. Чашки помещают вниз крышкой в термостат при температуре 37°С на 18-24 ч.

Через 18-24 ч просматривают посевы на чашках Петри и отбирают подозрительные колонии, которые пересевают на трехуглеводную среду. При этом небольшое количество посевного материала бактериологической петлей вносят в конденсационную жидкость на дне пробирки и делают посев штрихом по скошенной поверхности среды. Затем в той же пробирке делают посев уколом, для чего петлю погружают в глубь питательной среды до дна пробирки.

Посевы помещают в термостат при температуре 37°С на 20-24 ч. При росте сальмонелл, в нижней части пробирки, на месте посева уколом, цвет среды изменяется до зеленоватого или нежно-зеленого, здесь же могут образоваться и пузырьки газа; в верхней части пробирки цвет среды остается розовым.

Для дальнейшего исследования отбирают культуры, давшие характерные изменения среды и с ними ставят реакцию аглютинации на стекле с О и Н - аглютинирующими сальмонеллезными сыворотками в соответствии с действующими методическими указаниями.

4.5.2. Для выделения кишечной палочки применяют среду Кода, (см.п.4.4.), из которой делают пересев на дифференциально-диагностические среды. Исследования проводятся по той же схеме, с использованием тех же сред и режимов работы, что и при исследовании на наличие сальмонелл.

Изменение цвета трехуглеводной среды до синего или светло-синего свидетельствует о росте бактерий группы кишечной палочки. При росте кишечной палочки лактозонегативной группы в нижней части пробирки (на месте укола) цвет среды изменяется до синего или светло-синего, в верхней части пробирки цвет среды остается розовым.

Для определения принадлежности выделенных культур эшерихий к энтеропатогенным штаммам проводят их изучение, как это предусмотрено при диагностике колибактериоза.

4.5.3. Для выделения анаэробных бактерий по 1 мл исходного разведения вносят в две пробирки со средой Китт-Тароцци. Одну из пробирок после посева материала прогревают в водяной бане при 80°С в течение 20 мин. Посевы помещают в термостат при температуре 37°С на 10 сут. Через каждые 3-4 дня проводят просмотр посевов. При наличии роста изучают его интенсивность, степень газообразования, характер осадка, затем готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. По истечению срока культивирования и отсутствия ро-

ста, из посевов делают мазки, которые окрашивают по Граму и микроскопируют.

Идентификацию выделенных культур проводят согласно действующим методическим указаниям по диагностике анаэробных инфекций.

5. Учёт и оценка результатов

5.1. Определение общего микробного числа. По истечении срока проводят подсчёт колоний, выросших как на поверхности, так и в глубине агара.

Колонии подсчитывают, пользуясь лупой с увеличением в 2-5 раз или прибором для счета колоний, который при нажиме авторучки на дно чашки автоматически регистрирует на счётчике количество подсчитанных колоний. При подсчёте колоний при помощи лупы подсчитанные колонии отмечают на чашке восковым карандашом или чернилами.

При обильном росте дно чашки Петри расчерчивают карандашом на 4 сектора и подсчитывают колонии в одном секторе.

В учёт, в соответствии с ГОСТ 9225-68, берут чашки, на которых выросло не менее 50 и не более 300 колоний. При этом складывают только те числа, которые имеют расхождения не более 22%. Например, по 4 чашкам подсчитано 250,290,270 и 450 микробных тел, для расчёта используют данные подсчёта по трём чашкам, четвертую (450 микробных тел) не учитывают.

Для определения общего микробного числа в 1 мл исходного смыва число колоний, выросших на каждой чашке, умножают на соответствующее разведение. Полученные результаты по каждой чашке складывают, а затем делят на количество подсчитанных чашек и выводят среднее арифметическое, которое принимают за окончательный результат. Полученные числа округляют по следующей схеме:

Количество микробных тел в 1 мл	Запись результатов исследования
от 1 до 100	как подсчитано
от 101 до 1000	округляют до 10
от 1001 до 10000	- " - до 100
от 10001 до 100000	- " - до 1000
от 100001 до 1000000	- " - до 10000

Поскольку 1 мл смыва соответствует 1/10 части всей массы бактерий, находящихся на 100 $см^2$ (для кожи на 50 $см^2$), поэтому чтобы выразить общее микробное число обследуемого объекта на 1 $см^2$,

.ество бактерий, содержащихся в I мл, умножают на 0,I (для .д - на 0,2).

5.2. Определение коли-титра. Коли-титр - наименьший объём исследуемого материала, выраженный в миллилитрах, в котором обнаружена одна кишечная палочка. Санитарно-показательными микроорганизмами считают все разновидности кишечной палочки, наличие которых является показателем загрязнения и свидетельствует о нарушении санитарного режима.

5.2.I. Изменение цвета среды Кода до зелёного или желто-зеле-го свидетельствует о наличии бактерий группы кишечной палочки.

Если для исследования применялась среда Булира, то её изменение цвета (помутнение, пожелтение), а также газообразование указывает на размножение в среде микробов группы кишечной палочки.

5.2.2. Учитывают пробирки, в которых обнаружены видимые изменения, указывающие на рост кишечной палочки.

При отсутствии видимых изменений в обоих пробирках коли-титр более I.

Если изменения произошли только в пробирке, засеянной исходным разведением, коли-титр равен I.

При изменениях в обоих пробирках коли-титр равен 0,I мл, т.е. меньше I.

5.3. Определение патогенной микрофлоры. Рабочие поверхности технологического оборудования, различного инструмента, тары и т.п. должны содержать патогенных микроорганизмов. При выделении их, санитарное состояние оценивается как неудовлетворительное.

5.4. При обнаружении патогенных микроорганизмов, а также санитарно-показательных выше установленных норм проводят текущую мойку и дезинфекцию загрязнённого объекта, после чего исследования повторяют.

6. Сроки исследования: определение общего микробного числа и коли-титра - 2 дн ;

исследование с целью выделения сальмонелл и энтеропатогенных эшерихий - 5 дн ;

исследование на патогенные анаэробы - I0 дн.

Кратность проведения исследования объектов. Таблица 1

№ п/п	Объекты	Показатели		
		Общее число микробных клеток	Коли-титр	Наличие патогенных бактерий
1.	Молочно-товарные фермы	по мере необходимости	1 раз в квартал	1 раз в квартал
2.	Станции и пункты искусственного осеменения	по мере необходимости	не исследуют	не исследуют
3.	Птицеводческие предприятия	не исследуют	не исследуют	1 раз в квартал
4.	Инкубационное яйцо	не исследуют	1 раз в квартал	1 раз в квартал
5.	Мясокомбинаты	1 раз в 10 дней	1 раз в 10 дней	1 раз в 10 дней
6.	Боенские предприятия	по мере необходимости	1 раз в квартал	1 раз в квартал
7.	Кормокухни для пушных зверей	не исследуют	1 раз в квартал	1 раз в квартал
8.	Колхозные рынки	по мере необходимости	1 раз в квартал	1 раз в квартал

Оценка санитарного состояния объектов. Таблица 2

№ п/п	Объекты	Показатели			Санитарное состояние
		общее количество микробных клеток	коли-титр	патогенные бактерии	
1.	Молочно-товарные фермы	до 10000 10000-50000 более 50000	более 1,0 1,0 менее 1,0	не допускается не допускается не допускается	хорошее удовлетворительное неудовлетворительное
2.	Станции и пункты искусственного осеменения	не допускается	-	-	-
3.	Птицеводческие предприятия	-	-	не допускается	-
4.	Инкубационное яйцо	-	более 1,0	не допускается	-
5.	Мясокомбинаты	не более 1000	более 1,0	не допускается	-
6.	Боенские предприятия	не более 1000	более 1,0	не допускается	-
7.	[illegible] и для пушных [illegible]	-	более 1,0	не допускается	-
8.	Колхозные рынки	не более 1000	более 1,0	не допускается	-

gost.e-ecolog.ru

зак.442-200