Министерство здравоохранения Республики Беларусь

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель Министра
здравоохранения – Главный
государственный санитарный врач
Республики Беларусь

_____В.И.Качан
«06» ____06____2010г.
Регистрационный №091-0610

МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр гигиены»

Авторы: И.П.Щербинская, Н.В.Дудчик, Т.С.Трешкова, В.В.Трейлиб, О.Е.Шедикова.

Минск-2010

gost.e-ecolog.ru

ГЛАВА 1
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Настоящая Инструкция по применению «Методы санитарно-микробиологического контроля продукции, предназначенной для детей и подростков» (далее – Инструкция) устанавливает методы определения показателей микробиологической безопасности игрушек, формующихся масс и красок, наносимых пальцами, а также щеток зубных, массажеров для десен, изделий санитарно-гигиенических разового использования, аналогичных изделий для ухода за полостью рта и др.

2. Настоящая Инструкция предназначена для лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор за качеством и безопасностью продукции, предназначенной для детей и подростков, а также испытательных лабораторий, аттестованных в установленном порядке и аккредитованных на проведение данного вида исследований.

ГЛАВА 2
ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ И РЕАКТИВЫ

3. Оборудование

	НД (ГОСТ, ТУ)
Анализатор потенциометрический с погрешностью измерений pH ±0,1 (pH-метр)	ГОСТ 19881-74
Аппарат для встряхивания жидкости в колбах или пробирках	ТУ 64-1-2451-78
Баня водяная с терморегулятором, позволяющая поддерживать температуру (45±0,5) °С	ГОСТ 12026-76
Весы лабораторные квадрантные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г	ГОСТ 24104– 88Е
Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г	ГОСТ 24104– 88Е
Дистиллятор электрический	
Лупа с пятикратным увеличением	ГОСТ 25706– 83
Микроскоп световой биологический с увеличением 900 - 1000$^{\times}$	ГОСТ 8284-78
Прибор вакуумного фильтрования	
Прибор для счета колоний бактерий ПСБ	ТУ 64-1-2041-72
Стерилизаторы паровые медицинские или аналогичные	ГОСТ 19569-89
Стерилизатор сухожаровой с автоматической регулировкой температуры (100 – 220)°С	ГОСТ 24437-89
Термометр (0 – 100) °С, цена деления 1 °С	ГОСТ 24498– 90

Термостаты электрические суховоздушные с автоматическим терморегулятором до 50 С°, позволяющие поддерживать заданную температуру с погрешностью ±1 °С	ТУ 64-1-1382-72
Холодильник бытовой	ГОСТ 16317-87
Электроплитка бытовая	ГОСТ 14919-83

4. Материалы

Бумага индикаторная универсальная	ТУ 6-091181-76
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026-76
Вата медицинская гигроскопичная	ГОСТ 5556-81
Картон для предварительной фильтрации марки КФБЖ	ТУ 13-7308000-691-84
Картон для предварительной фильтрации марки КФМП	ТУ 13-7308001-673-84
Марля медицинская	ГОСТ 9412-93
Колбы плоскодонные конические или круглые разной вместимости	ГОСТ 25336-82
Ножницы	ГОСТ 21241-89
Петли бактериологические	
Пипетки разной вместимости 2 класса точности	ГОСТ 20292-74
Пробирки бактериологические типов П1 и П2	ГОСТ 25336-82
Спиртовки лабораторные стеклянные	ГОСТ 23932- 90 Е
Стекла предметные	ГОСТ 9284-75
Стекла покровные	ГОСТ 6672-75
Ступки фарфоровые	ГОСТ 9147-80
Цилиндры на 100 – 250 $см^3$	ГОСТ 1770-74
Флаконы стеклянные градуированные вместимостью 100, 200, 500 $см^3$	ГОСТ 10782-85
Стандарт титры для приготовления образцовых буферных растворов для pH-метрии	ГОСТ 8.135-2004 ГСИ
Штативы для пробирок	
Шпатели стеклянные	
Чашки Петри 90 – 100 мм	ГОСТ 25336-82

5. Питательные среды и реактивы

Агар микробиологический в порошке или волокнах	ГОСТ 17206-96
Агар сухой питательный для культивирования микроорганизмов	ФС 42-188ВС-90
Агар Эндо	ФС 42-186ВС-88
Бульон мясопептонный	ГОСТ 10444.1-84

Бромкрезоловый пурпурный (индикатор)	ГФ РБ Т. 1.
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
Вода мясная	ГОСТ 10444.1-84
Гидролизат казеина панкреатический	
Глюкоза	ГОСТ 6038-79
Глицерин	ГОСТ 6824-96
Желчь сухая медицинская	ГОСТ 49278-75
Калий сернокислый	ГОСТ 4145-74
Калия нитрат	ГОСТ 4217-77
Калий фосфорнокислый однозамещенный	ГОСТ 4198-75
Калий фосфорнокислый двузамещенный	ГОСТ 2493-75
Калия теллурит, раствор с массовой концентрацией 2%	
Кислота соляная, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм^3	ГОСТ 3118-77
Кислота сульфаниловая	ГОСТ 5281-78
Кислота тиогликолевая	
Кислота уксусная ледяная	ГОСТ 61-75
Кислота карболовая (фенол)	ГОСТ 6417-72
Литий хлористый, 6-водный	ГОСТ 4328-77
Магний хлористый	ГОСТ 4209-77
Малахитовый зеленый, индикатор	ГФ РБ Т. 1.
Маннит	ГОСТ 8321-74
Мальтоза	
Масло вазелиновое медицинское	ГОСТ 3164-78
Масло иммерсионное	ГОСТ 13739-78
Метиленовый синий	
Натрия гидроокись, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм^3	ГОСТ 4238-77
Натрия резазурин, раствор массовой концентрацией 1,0 г/дм^3	
Натрий сернистокислый, раствор с массовой концентрацией 1,0 г/дм^3	ТУ 6-09-5313-86
Натрия тиогликолят	
Натрий хлористый	ГОСТ 4233-77
Натрий фосфорнокислый однозамещенный	ГОСТ 245-76
Натрий фосфорнокислый двузамещенный	ГОСТ 4172-76
N,N-диметил-n-фенилендиамин дигидрохлорид, раствор массовой концентрации 1 %	
1-Нафтиламин	ГОСТ 8827-79
1-Нафтол, спиртовый раствор	ГОСТ 5838-79
Основа бактериологическая питательных сред сухая (Бактофок-МК)	ФС 42-3407-97

Пептон сухой ферментативный	ГОСТ 13805-76
Питательная среда № 1 (для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов), сухая	ВФС 42-1801-88
Питательная среда № 2 (для выращивания грибов), сухая	ВФС 42-1802-88
Питательная среда № 3 (для обогащения бактерий семейства Enterobacteriaceae), сухая	ВФС 42-1803-88
Питательная среда № 6 (для определения ферментации глюкозы)	ВФС 42-2038-91
Питательная среда № 7 (для определения восстановления нитратов в нитриты)	ВФС 42-2020-90
Питательная среда № 8 (для выращивания P. aeruginosa и S. aureus), сухая	ВФС 42-3181-95
Питательная среда № 9 (для выявления пигмента пиоцианина P. aeruginosa), сухая	ВФС 42-1909-89
Питательная среда № 10 (для идентификации S. aureus), сухая	ВФС 42-1908-89
Плазма кролика, сухая цитратная, для реакции плазмокоагуляции	
Растворы и реактивы для окраски мазков по Граму	ГОСТ 10444.1-84; ГОСТ 18963-73
Реактив Грисса	
Спирт этиловый ректификованный	ГОСТ 5962-67
Спирт этиловый ректификованный технический	ГОСТ 18300-87
Феноловый красный, индикатор	ГФ РБ Т. 1.
Цистин (цистеин)	

6.Штаммы микроорганизмов

Штамм Staphylococcus aureus, обладающий ферментом коагулазой, полученный из государственных коллекций

Допускается применение оборудования и материалов с аналогичными по назначению техническими и метрологическими характеристиками, а также использование других коммерческих питательных сред и диагностических препаратов аналогичного назначения для проведения исследований в соответствии с данным документом. При их применении следует руководствоваться рекомендациями изготовителя. Питательные среды и биологические препараты импортного производства должны иметь международный сертификат качества ИСО 9000 или EN 29000, питательные среды и препараты отечественного производства должны вырабатываться по нормативной документации, утвержденной в установленном порядке.

ГЛАВА 3
ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И РЕАКТИВОВ

7. Подготовку и стерилизацию посуды для микробиологического анализа производят согласно требованиям СТБ ГОСТ Р 51446-2001 «Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований».

8. При взвешивании компонентов сред и испытуемых образцов допускается погрешность 0,1 %.

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

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

11. Приготовление растворов реактивов

11.1. Изотонический 0,85 % раствор хлористого натрия (физиологический раствор)

0,85 г хлористого натрия растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 15 мин.

Хранят при комнатной температуре не более 14 сут.

11.2. Раствор фенолового красного массовой концентрации 1 %

0,1 г фенолового красного растирают в ступке, добавляя небольшими порциями 2,82 см^3 0,1 М раствора натрия гидроокиси и 20 мл 96% спирта. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят водой до метки.

Хранят во флаконе из темного стекла в холодильнике при температуре (+4 – 10) °С в течение 7 суток.

11.3. Раствор малахитового зеленого массовой концентрации 0,5 %

0,5 г малахитового зеленого помещают в стерильный флакон, заливают 100 см^3 горячей дистиллированной воды и помещают на 24 ч в термостат с температурой (37±1) °С, периодически перемешивая.

Хранят во флаконе из темного стекла в холодильнике при температуре (+4 – 10) °С в течение 7-10 суток.

11.4. Приготовление реактива Грисса

Во флакон со 100 см^3 водного раствора кислоты уксусной с массовой долей 12 % вносят 10,0 г сухого реактива Грисса, растворяют при перемешивании.

При отсутствии сухого реактива Грисса его готовят следующим образом:

- раствор № 1: 0,5 г кислоты сульфаниловой растворяют в 30 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, прибавляют 100 $см^3$ воды дистиллированной, фильтруют через бумажный фильтр. Раствор годен в течение месяца;

- раствор № 2: 0,1 г 1-нафтиламина растворяют в 100 $см^3$ кипящей дистиллированной воды, охлаждают, прибавляют 30 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, фильтруют через бумажный фильтр. Раствор годен в течение 7 суток.

Перед применением смешивают равные объемы растворов № 1и № 2.

11.5. Реактив для определения наличия фермента цитохромоксидазы

Раствор № 1. 1,0 г 1-нафтола растворяют в 100 $см^3$ спирта этилового.

Раствор № 2. 1,0 г N,N-диметил-п-фенилендиамин дигидрохлорида растворяют в 100 $см^3$ дистиллированной воды.

Перед употреблением смешивают растворы №1 и №2 в соотношении 2:3.

Хранят во флаконах из нейтрального светозащитного стекла при температуре (4 – 10) °С в течение 14 сут.

12. Приготовление питательных сред

12.1. Среды для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий

Мясо-пептонный агар с глюкозой: в колбу с 1 $дм^3$ мясопептонного бульона (далее - МПБ) вносят 10,0 г пептона, 5,0 г натрия хлорида, 1,0 г глюкозы. Все ингредиенты растворяют, прибавляют 13,0 г агара микробиологического, нагревают смесь на электроплитке до полного растворения агара при перемешивании, фильтруют в горячем виде через воронку с ватно-марлевым или бумажным фильтром, устанавливают pH (7,3±0,1), разливают во флаконы и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 1 месяца. Вместо МПБ можно использовать перевар Хоттингера с концентрацией аминного азота не менее 100 $мг/дм^3$.

Питательный агар «МК» с глюкозой: в колбе с 1 $дм^3$ воды дистиллированной растворяют 20,0 г Бактофока-МК, 5,0 г натрия хлорида, 1,0 г глюкозы, прибавляют 13,0 г агара микробиологического, нагревают смесь на электроплитке до полного растворения агара при перемешивании, фильтруют в горячем виде через воронку с ватно-марлевым или бумажным фильтром, устанавливают pH (7,3±0,1), разливают во флаконы и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 1 месяца. Допускается использовать агар сухой питательный для культивирования микроорганизмов или питательную среду № 1 сухую.

12.2. Среды для выращивания плесневых грибов и дрожжей (Сабуро)

Среда для выращивания плесневых грибов и дрожжей (Сабуро): в колбу с 1 дм^3 дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 40,0 г глюкозы или мальтозы, прибавляют 13,0 г агара микробиологического, нагревают смесь на электроплитке до полного растворения всех компонентов при перемешивании, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, устанавливают pH (5,8±0,2), разливают во флаконы и стерилизуют при температуре (112±1)°С в течение 20 мин.; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 1 месяца. Допускается использовать питательную среду № 2 сухую.

Среда Сабуро жидкая: в колбу с 1 дм^3 дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 40,0 г глюкозы или мальтозы, нагревают смесь на электроплитке до полного растворения всех компонентов при перемешивании, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, устанавливают pH (5,8±0,2), разливают во флаконы и стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин.; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

12.3. Среды обогащения для бактерий семейства Enterobacteriaceae

Среда для выращивания бактерий семейства Enterobacteriaceae: в колбу с 1 дм^3 воды дистиллированной вносят 20,0 г пептона сухого ферментативного или Бактофока-МК, 7,5 г натрия фосфат двузамещенного, 2,5 г калия фосфорнокислого однозамещенного. Смесь перемешивают при нагревании до полного растворения солей, вносят 10,0 г глюкозы, прибавляют 8 см^3 1%-ного водного раствора фенолового красного и 3 см^3 0,5%-ного водного раствора малахитового зеленого, устанавливают pH (7,5±0,1), нагревают до полного растворения компонентов, фильтруют через бумажный фильтр, разливают во флаконы по 100 см^3 и стерилизуют при температуре (121±1) С° в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10)°С не более 14 сут.

Среда Мак-Конки: в колбу с 1 дм^3 воды дистиллированной вносят 20,0 г пептона сухого ферментативного или Бактофока-МК, 10,0 г лактозы, 5,0 г желчи сухой, 0,01 г бромкрезолового пурпурного. Все ингредиенты растворяют в воде, нагревают до полного растворения компонентов, устанавливают pH (7,5±0,1), фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают во флаконы по 100 см^3 и стерилизуют при температуре (121±1)°С в течение 20 мин.; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

Допускается использовать среду № 3 сухую.

12.4. Питательные среды для идентификации бактерий семейства Enterobacteriaceae

Агар Эндо: готовят из среды Эндо сухой по указанию (прописи) на этикетке; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 5 сут.

Среда для определения ферментации глюкозы: в колбу с 1 дм^3 дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г хлорида натрия, растворяют при нагревании, вносят

40,0 г глюкозы, прибавляют 8 $см^3$ 1%-ного водного раствора фенолового красного, устанавливают pH (7,4±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, фильтруют через бумажный фильтр, разливают в пробирки с поплавками по (4 – 5) $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. По окончании стерилизации среду как можно скорее охлаждают; хранят при температуре (+4–10) °С не более 14 сут. Допускается использовать среду № 6 сухую.

Среда для определения восстановления нитратов в нитриты: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 5,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г натрия хлорида, 1,5 г калия нитрата, растворяют при перемешивании и нагревании, устанавливают pH (7,2±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, фильтруют через бумажный фильтр, разливают в пробирки по (4 – 5) $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1)°С в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут. Допускается использовать среду № 7 сухую.

Среда Хью-Лейфсена: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 2,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 10,0 г глюкозы, 5,0 г натрия хлорида, 0,3 г калия фосфорнокислого двузамещенного, добавляют 3,0 г агара микробиологического, растворяют при перемешивании и нагревании, кипятят на электроплитке в течение 2-3 мин, устанавливают pH (7,4±0,1), фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в пробирки по 10-15 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1)°С в течение 20 мин. Цвет среды до автоклавирования – синий, после – травянисто-зеленый. Хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

12.5. Среды для обогащения бактерий вида Pseudomonas aeruginosa

Мясо-пептонный бульон с глюкозой: в колбу с 1 $дм^3$ мясной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого, 5,0 г натрия хлорида, 1,0 г глюкозы, растворяют при перемешивании и нагревании, устанавливают pH (7,3±0,2), фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают во флаконы по 100 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

Питательный бульон «МК» с глюкозой: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 10,0 г Бактофока-МК, 1,0 г глюкозы, 5,0 г натрия хлорида. Все ингредиенты растворяют при перемешивании и нагревании, устанавливают pH (7,3±0,2), фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают во флаконы по 100 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

Среда для обогащения бактерий вида Pseudomonas aeruginosa: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г натрия хлорида, 2,5 г калия фосфорнокислого двузамещенного, растворяют при перемешивании и

нагревании, вносят 2,5 г глюкозы, устанавливают pH (7,3±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, фильтруют через бумажный фильтр, разливают во флаконы по 100 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1)°С в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут. Допускается использовать среду № 8 сухую.

12.6. Среды для идентификации бактерий вида Pseudomonas aeruginosa

Среда для выявления пигмента пиоцианина (Среда Кинг-А): в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 20,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г магния хлорида безводного, 1,0 г калия сульфата безводного. Все ингредиенты растворяют в воде и оставляют на 15 мин. Затем вносят 10,0 $см^3$ глицерина, тщательно перемешивают, растворяют при нагревании, устанавливают pH (7,2±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, прибавляют агар микробиологический, нагревают до полного его расплавления, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут. Допускается использовать среду № 9 сухую.

12.7. Среды для обогащения бактерий вида Staphylococcus aureus

Солевой бульон: в колбу со 100 $см^3$ мясо-пептонного бульона вносят 6,0 г хлорида натрия, устанавливают pH (6,9±0,1), разливают во флаконы и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут. Допускается использовать среду № 8 сухую.

12.8. Среды для идентификации бактерий вида Staphylococcus aureus

Желточно-солевой агар:

эмульсия яично-желточная: куриное яйцо протирают ватой, смоченной этиловым спиртом, помещают в стерильную чашку Петри, стерильным инструментом пробивают с противоположных сторон яйца два отверстия. Через одно отверстие полностью удаляют белок, затем, увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу с 50 $см^3$ физиологического раствора, содержимое встряхивают до однородной массы; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 72 ч.

1 $дм^3$ мясо-пептонного агара перед анализом расплавляют и растворяют в нем 95,0 г хлористого натрия, охлаждают до температуры (45±1) °С и добавляют 100 $см^3$ яично-желточной эмульсии. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 5 сут.

Агар Байрд-Паркер: в 1 $дм^3$ мясопептонного бульона вносят 17,9 г лития хлорида, 15 г агара микробиологического в волокнах или порошке, 5,0 г мясного экстракта и 5,0 $см^3$ экстракта дрожжевого, перемешивают и нагревают до полного растворения компонентов. Охлаждают до 50-60 °С, устанавливают pH (6,9±0,1), разливают во флаконы по 100 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

К 90 $см^3$ основы среды добавляют асептически 5,0 $см^3$ желточной эмульсии и стерилизованные фильтрованием через мембранный фильтр растворы: 6,3 $см^3$ раствора глицина концентрации 200 $г/дм^3$, 5,0 $см^3$ раствора пирувата натрия концентрации 200 $г/дм^3$ и 1,0 $см^3$ раствора теллурита калия концентрации 10 $г/дм^3$; хранят при температуре (+4 – 10)°С не более 48 часов.

Маннитно-солевой агар: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 75,0 г натрия хлорида безводного, 10,0 г маннита. Все ингредиенты растворяют в воде, затем вносят 2,5 $см^3$ 1%-ного раствора фенолового красного, тщательно перемешивают, устанавливают pH (7,6±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, прибавляют агар микробиологический, нагревают до полного его расплавления, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 15 мин.; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

Допускается использовать среду № 10 сухую (для индетификации стафилококков).

Среда Гисса с маннитом и мальтозой: в колбу с 1 $дм^3$ дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г натрия хлорида безводного, 10,0 г маннита или мальтозы. Все ингредиенты растворяют в воде, затем вносят 2,5 $см^3$ 1%-ного раствора фенолового красного, тщательно перемешивают, устанавливают pH (7,6±0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, прибавляют заранее замоченный агар микробиологический, нагревают до полного его расплавления, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют при температуре (115±1) °С в течение 15 мин; хранят при температуре (+4 – 10) °С не более 14 сут.

ГЛАВА 4
ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

13. При отборе проб следует руководствоваться требованиями действующих ТНПА.

14. Пробы изделий для микробиологического анализа отбирают до отбора проб для физико-химических, органолептических и других видов испытаний с соблюдением правил асептики, чтобы исключить вторичное загрязнение продукта.

15. Подготовка проб для проведения микробиологического анализа

15.1. Для подготовки к анализу следует использовать образцы испытуемых изделий, не подвергавшихся внешнему воздействию.

15.2. Отбирают (10,0±0,1) г ($см^3$) средней пробы с соблюдением правил асептики и помещают в стеклянные колбы или флаконы,

содержащие (90±1) $см^3$ физиологического раствора, содержимое тщательно перемешивают.

15.3. Взятие смывов производят стерильным ватным увлажненным в физиологическом растворе тампоном с поверхности площадью 10×10 $см^2$. Тампон помещают в 100 мл стерильного физиологического раствора, содержимое тщательно перемешивают.

15.4. Получают первое разведение подготовленной пробы, в 10 $см^3$ которой содержится 1 г (1 $см^2$, 1 $см^3$) образца - 1:10 (10^{-1}). 1 $см^3$ материала из первого разведения переносят в пробирку с 9 $см^3$ стерильного физиологического раствора, перемешивают новой стерильной пипеткой и получают второе разведение 1:100 (10^{-2}). 1 $см^3$ из второго разведения переносят в следующую пробирку с 9 $см^3$ стерильного физиологического раствора, перемешивают новой стерильной пипеткой и получают третье разведение 1:1000 (10^{-3}) и т.д. В результате исследуемая продукция оказывается разведенной в 100 (10^{-2}), 1000 (10^{-3}) и более раз. Полученные разведения используют для посевов.

15.5. Анализ подготовленных образцов должен быть выполнен в течение 30 мин. При невозможности выполнения этого условия анализ допускается проводить не позже чем через 3 часа после подготовки проб, сохраняя их в холодильнике при (+4 –10) °С.

ГЛАВА 5
ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

16. При определении показателей микробиологической безопасности игрушек используют стандартизированные методы микробиологического посева. Определяют следующие группы микроорганизмов: мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, дрожжи, дрожжеподобные и плесневые грибы, бактерии семейства Enterobacteriaceae, бактерии вида Staphylococcus aureus, бактерии вида Pseudomonas aeruginosa.

В микробиологических лабораториях, осуществляющих контроль качества и безопасности игрушек, допускается применение импедансных методов для проведения исследований с использованием микробиологических анализаторов в соответствии с нормативными документами, утвержденными в установленном порядке.

17. Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАнМ)

17.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении и количественном подсчете всех выросших колоний микроорганизмов при культивировании посевов в аэробных условиях при температуре (30±1) °С в течение (72±3) часов и в

последующем пересчете их количества на 1 г (1 $см^2$, 1 $см^3$) исследуемого образца.

17.2. Проведение анализа

Метод глубинного посева:

исследуемый материал в количестве 1 $см^3$ из соответствующего разведения вносят стерильной пипеткой в две параллельные чашки Петри и не позже, чем через 15 мин заливают расплавленной и охлажденной до (45±1) °С одной из сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий в количестве (10–15) $см^3$. Быстро перемешивают, аккуратно вращая чашку по поверхности стола. После застывания среды чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре (30±1) °С в течение (72±3) часов.

Двухслойный агаровый метод:

исследуемый материал в количестве 1 $см^3$ из соответствующего разведения вносят стерильной пипеткой в две пробирки с 4 $см^3$ одной из сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, предварительно расплавленной и охлажденной до температуры (45±1) °С. Быстро перемешивают содержимое пробирок и переносят в две параллельные чашки Петри с застывшей средой для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, распределяя его равномерно по поверхности среды. После застывания чашки перемещают в термостат вверх дном и термостатируют при температуре (30±1) °С в течение (72±3) часов.

17.3. Обработка и выражение результатов

Результаты оцениваются по каждой пробе отдельно.

Для количественного подсчета отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 300 колоний микроорганизмов, колонии суммируют и вычисляют среднее арифметическое значение из посевов одного разведения.

Допускается учитывать колонии с помощью лупы с пятикратным увеличением.

Полученное среднее арифметическое число колоний округляют следующим образом:

- если число меньше 100, его округляют до ближайшего числа, кратного 5;
- если число больше 100 и его последняя цифра 5, его округляют до ближайшего числа, кратного 20;
- если число больше 100 и его последняя цифра не 5, его округляют до ближайшего числа, кратного 10.

Общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (Х) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \times 10^{N}}{q}$$

где a – округленное среднее арифметическое число колоний;

q – объем посевного материала, внесенного в чашки, см^3;

N – степень десятикратного разведения образца продукта.

Результаты анализа выражают числом (от 1,0 до 9,9) $\times 10^{N}$, где «N» - соответствующая степень десятикратного разведения продукта.

Если среднеарифметическое значение числа колоний, выросших на чашках Петри, в посевах одного разведения меньше 15, то результаты выражают следующим образом: количество микроорганизмов меньше 15 умножают на $\frac{10^{N}}{q}$ КОЕ/г (см^2, см^3).

Если на чашках с разведением 1:10 не обнаружено роста микроорганизмов, то результаты выражают следующим образом: менее $1{,}0 \times 10^{1}$ КОЕ/г (см^2, см^3).

Если на чашках выросло более 300 колоний, то учитывают результаты на чашках с последующим разведением.

18. Определение общего количества дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов

18.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении и количественном подсчете всех выросших колоний микроорганизмов, типичных по макро- и (или) микроскопической морфологии, на селективной агаризованной питательной среде Сабуро, при культивировании посевов при температуре (24±1) °С в течение (120±3) часов и в последующем пересчете их количества на 1 г (1 см^2, 1 см^3) исследуемого образца.

18.2. Проведение анализа

Метод глубинного посева:

исследуемый материал в количестве 1 см^3 из соответствующего разведения вносят стерильной пипеткой в две параллельные чашки Петри и не позже, чем через 15 мин заливают расплавленной и охлажденной до (45±1) °С средой Сабуро в количестве (10 – 15) см^3. Быстро перемешивают, аккуратно вращая чашку по поверхности стола. После застывания среды чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре (24±1) °С в течение (120±3) часов.

Двухслойный агаровый метод:

исследуемый материал в количестве 1 см^3 из соответствующего разведения вносят стерильной пипеткой в две пробирки с 4 см^3 предварительно расплавленной и охлажденной до температуры (45±1) °С агаризованной среды Сабуро. Быстро перемешивают содержимое пробирок и переносят в две параллельные чашки Петри с застывшей агаризованной средой Сабуро, распределяя его равномерно по поверхности среды. После

застывания чашки перемещают в термостат вверх дном и термостатируют при температуре (24±1) °С в течение (120±3) часов.

18.3. Обработка и выражение результатов

Предварительный учет типичных колоний проводят через (72±3) часа термостатирования посевов, а окончательный – через (120±3) часов. Результаты оцениваются по каждой пробе отдельно.

На поверхности плотной среды рост и развитие дрожжей характеризуется появлением плоских или выпуклых колоний белого или кремового, иногда серо-белого цвета. В глубине агара дрожжи образуют чечевицеобразные колонии.

Развитие плесневых грибов характеризуется появлением сметанообразных, слизистых колоний различной окраски с последующим опушением.

Для количественного подсчета отбирают чашки, на которых выросло от 5 до 150 колоний дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов, колонии суммируют и вычисляют среднее арифметическое значение из посевов одного разведения.

Допускается учитывать колонии с помощью лупы с пятикратным увеличением.

Полученное среднее арифметическое число колоний округляют как описано в п. 17.3.

Общее количество дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \times 10^N}{q}$$

где a – округленное среднее арифметическое число колоний;

q – объем посевного материала, внесенного в чашки, $см^3$;

N – степень десятикратного разведения образца продукта.

Результаты анализа выражают числом (от 1,0 до 9,9) $\times 10^N$, где «N» - соответствующая степень десятикратного разведения продукта.

Если среднее арифметическое значение числа колоний дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов меньше 5, то результаты выражают следующим образом: общее количество дрожжей, дрожжеподобных и/или плесневых грибов меньшее 5 умножают на $\frac{10^N}{q}$ КОЕ/г ($см^2$, $см^3$).

Если на чашках с разведением 1:10 не обнаружено роста дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов, то результат записывают так: «не обнаружены».

Если на чашках выросло более 150 колоний дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов, то учитывают результаты на чашках с последующим разведением.

19. Выделение и идентификация бактерий семейства Enterobacteriaceae

19.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий семейства Enterobacteriaceae с использованием накопительных и селективных питательных сред с дальнейшей идентификацией выявленных бактерий по нижеследующим биохимическим тестам.

К семейству Enterobacteriaceae относятся грамотрицательные неспорообразующие палочки, которые дают отрицательную оксидазную реакцию, ферментируют глюкозу с образованием кислоты и восстанавливают нитраты в нитриты.

19.2 Проведение анализа

Подготовленный образец в количестве 10 $см^3$ вносят стерильной пипеткой во флакон с 90 $см^3$ одной из питательных сред обогащения для бактерий семейства Enterobacteriaceae.

Содержимое перемешивают и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24-48±3) часов. При наличии признаков роста на средах (помутнение среды, изменение ее цвета) делают пересев петлей обогащенной культуры на среду Эндо, разлитую в две стерильные чашки Петри в количестве (10 – 15) $см^3$, которые инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24-48±2) часов.

Если после инкубации на среде Эндо отмечен рост колоний темно-красного цвета с металлическим блеском и без него или розовых, бесцветных, выпуклых, диаметром (2-4) мм, т.е. подозрительных на принадлежность к семейству Enterobacteriaceae, проводят подтверждающие идентифицирующие тесты.

Петлей снимают подозрительные колонии (каждую отдельно) и готовят мазки на предметных стеклах для окраски по Граму. Мазки фиксируют трехкратным проведением над пламенем. На препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги, на нее наливают пипеткой (0,5 – 1,0) $см^3$ карболового раствора генциана фиолетового на 1 мин. Затем бумагу снимают, на препарат пипеткой наливают (0,5 – 1,0) $см^3$ раствора Люголя, выдерживают в течение 1 мин, препарат тщательно промывают спиртом этиловым ректификатом, затем - водой дистиллированной и докрашивают (1 – 2) мин раствором Фуксина Циля, предварительно разведенным водой дистиллированной в объемном соотношении 1:10. Учитывают наличие грамотрицательных неспорообразующих палочек (окрашенных в розовый цвет).

Колонии, выросшие на среде Эндо, подозрительные по морфологии (каждую отдельно), пересевают петлей на одну из скошенных сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) ч.

Полученные чистые культуры наносят штрихом на фильтровальную бумагу, предварительно смоченную реактивом для определения цитохромоксидазы. В месте внесения бактериальной массы бумага не

изменяет цвета, если оксидазный тест отрицательный, и синеет в течение 2-5 мин, если бактерии обладают оксидазой активностью.

Культуры пересевают петлей на среду для определения ферментации глюкозы (допускается проведение O/F-теста). В половину пробирок со средой для определения ферментации глюкозы вносят 0,5 $см^3$ стерильного вазелинового масла. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) часов. При наличии роста ферментацию глюкозы устанавливают по изменению цвета среды из красного в желтый в пробирках с маслом и без него.

При проведении O/F-теста посев производят уколом в два столбика со средой Хью-Лейфсена, один из которых заливают 1 $см^3$ стерильного вазелинового масла. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) часов. При положительной реакции происходит изменение цвета среды из зеленого в желтый при культивировании, как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Параллельно исследуемые культуры пересевают петлей на среду для определения способности восстанавливать нитраты в нитриты. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) часов. О наличии нитритов в среде судят по появлению красного окрашивания при внесении в среду реактива Грисса. К суточной культуре на среде для определения способности восстанавливать нитраты в нитриты приливают (0,2-0,3) $см^3$ реактива Грисса, погружая пипетку до дна пробирки. Появление красного окрашивания свидетельствует о наличии нитратов.

19.3. Обработка и выражение результатов

Если в исследуемом образце обнаружены грамотрицательные неспорообразующие палочки, которые дают отрицательную оксидазную реакцию, ферментируют глюкозу с образованием кислоты и восстанавливают нитраты в нитриты, это значит, что исследуемый образец контаминирован бактериями семейства Enterobacteriaceae. Результат выражают следующим образом: в М г ($см^2$, $см^3$) изделия обнаружены бактерии семейства Enterobacteriaceae (условное обозначение – «Enterob. обн.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии семейства Enterobacteriaceae.

В исследуемом образце бактерии семейства Enterobacteriaceae отсутствуют, если при визуальном контроле на чашках с соответствующими средами после инкубации не обнаруживают колоний с характерной морфологией. Результат выражают следующим образом: М г ($см^2$, $см^3$) изделия бактерии семейства Enterobacteriaceae не обнаружены (условное обозначение – «Enterob. н.о.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии семейства Enterobacteriaceae.

20. Выделение и идентификация бактерий вида Pseudomonas aeruginosa

20.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий вида Pseudomonas aeruginosa с использованием накопительных и селективных питательных сред с последующей идентификацией выявленных бактерий по нижеследующим биохимическим тестам.

Бактерии вида Pseudomonas aeruginosa представляют собой грамотрицательные неспорообразующие палочки, которые дают положительную оксидазную реакцию, образуют проникающий в субстрат пигмент феназинового ряда, имеющий буроватый оттенок с вариантами от сине-зеленого (пиоцианин) до коричнево-красного, и способны к росту при температуре (42±1) °С.

20.2. Проведение анализа

Подготовленный образец в количестве 10 $см^3$ вносят стерильной пипеткой во флакон с 90 $см^3$ одной из питательных сред для обогащения бактерий вида Pseudomonas aeruginosa.

Содержимое перемешивают и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24 - 48±3) часов. При наличии признаков роста в среде делают пересев обогащенной культуры петлей на одну из сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24 - 48±3) часов.

При наличии роста характерных колоний, обладающих специфическим неприятным запахом, выделяющих сине-зеленый пигмент пиоцианин, колонии микроскопируют и исследуют на наличие фермента цитохормоксидазы.

При микроскопировании мазков, окрашенных по Граму, учитывают наличие грамотрицательных неспорообразующих палочек.

Колонии, подозрительные по морфологии (каждую отдельно), пересевают петлей на одну из скошенных сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий. Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение (24±3) ч.

Выросшие культуры наносят штрихом на фильтровальную бумагу, предварительно смоченную реактивом для определения цитохромоксидазы. В месте внесения бактериальной массы бумага не изменяет цвета, если оксидазный тест отрицательный, и синеет в течение 2-5 мин, если бактерии обладают оксидазой активностью.

Оксидазоположительные колонии пересевают на среду Кинг-А и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24 - 48±3) часов. На среде Кинг-А бактерии вида Pseudomonas aeruginosa образуют пигмент феназинового ряда, имеющий буроватый оттенок с вариантом от сине-зеленого (пиоцианин) до коричнево-красного и проникающий в субстрат.

Для дополнительного подтверждения принадлежности к виду Pseudomonas aeruginosa чашки со средой Кинг-А инкубируют при температуре (42±1) °С в течение (24±3) часов. Культура Pseudomonas

aeruginosa растет в вышеуказанных условиях с образованием сине-зеленого пигмента.

20.3. Обработка и выражение результатов

Если в результате исследований обнаружены колонии грамотрицательных неспорообразующих палочек, дающих положительную оксидазную реакцию, образующие пигмент или без него и дающие рост при 42 °С, считают, что исследуемый образец контаминирован Pseudomonas aeruginosa. Результат выражают следующим образом: в М г ($см^2$, $см^3$) изделия обнаружены бактерии вида Pseudomonas aeruginosa (условное обозначение – «P. aerug. обн.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии вида Pseudomonas aeruginosa.

В исследуемом образце изделия бактерии вида Pseudomonas aeruginosa отсутствуют, если при визуальном контроле на чашках со средами после инкубации не обнаруживают характерных по морфологии колоний. Результат выражают следующим образом: в М г ($см^2$, $см^3$) изделия бактерии вида Pseudomonas aeruginosa не обнаружены (условное обозначение – «P. aerug. н.о.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии вида Pseudomonas aeruginosa.

21. Выделение и идентификация бактерий вида Staphylococcus aureus

21.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий вида Staphylococcus aureus с использованием накопительных и селективных питательных сред с дальнейшей идентификацией выявленных бактерий по нижеследующим биохимическим тестам.

Бактерии вида Staphylococcus aureus представляют собой грамположительные кокки, обладающие лецитиназной активностью, сбраживающие маннит в аэробных и анаэробных условиях или мальтозу в анаэробных условиях и дающие положительную реакцию плазмокоагуляции.

21.2. Проведение анализа

Подготовленный образец в количестве 10 $см^3$ вносят стерильной пипеткой во флакон с 90 $см^3$ одной из питательных сред для обогащения бактерий вида Staphylococcus aureus.

Содержимое перемешивают и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24-48±3) часов. При наличии признаков роста делают пересев обогащенной культуры петлей на одну из следующих сред: желточно-солевой агар, Байрд-Паркер агар, маннитно-солевой агар. Посевы на желточно-солевом агаре и Байрд-Паркер агаре инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (48±3) часов, а посевы на маннитно-солевом агаре – (24-48±3) часов.

При росте на желточно-солевом агаре бактерии вида Staphylococcus aureus образуют круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2 – 2,5 мм, окрашенные в желтый,

золотистый, кремовый, палевый или белый цвет, окруженные зоной лецитиназной активности.

На среде Байрд-Паркер бактерии вида Staphylococcus aureus растут в виде черных блестящих колоний диаметром 1 – 1,5 мм, окруженных зоной лецитиназной активности.

Наличие на маннитно-солевом агаре колоний, окруженных желтыми зонами, свидетельствует о способности этих микроорганизмов ферментировать маннит.

При наличии характерных колоний производят микроскопию и при необходимости исследуют на наличие фермента плазмокоагулазы.

Из подозрительных по морфологии колоний делают мазки и окрашивают по Граму. Стафилококки по Граму окрашиваются положительно, имеют шарообразную или близкую к ней форму с диаметром (0,6 – 1,0) мкм и располагаются обычно в виде скоплений, напоминающих гроздья винограда.

Отсутствие в мазках грамположительных кокков, окрашенных в сине-фиолетовый цвет и расположенных скоплениями в виде гроздьев, свидетельствуют об отсутствии стафилококков. В этом случае дальнейшие исследования не проводят.

При обнаружении грамположительных кокков делают пересев на одну из скошенных сред для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±3) часов. Выделенную чистую культуру пересевают на среду Гисса с маннитом или мальтозой, разлитую высоким столбиком (посев производят уколом). Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±3) часов. В случае роста стафилококков на среде Гисса с маннитом или мальтозой наблюдается ферментация или окисление углевода, сопровождающиеся изменением цвета среды.

Выделенную чистую культуру исследуют на наличие фермента плазмокоагулазы. Для проведения реакции сухую кроличью цитратную плазму разводят согласно наставлению по применению и разливают по 0,5 $см^3$ в четыре стерильные пробирки. В пробирки с раствором плазмы вносят по одной петле исследуемой суточной культуры с каждой пробирки со средой для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (4 – 6) часов. Обязательна постановка двух параллельных контролей: первый контроль – пробирка только с раствором плазмы; второй контроль – пробирка с раствором плазмы, в которую внесена суточная культура стафилококка, заведомо обладающего ферментом коагулазой. Если в эти сроки не наблюдается свертывание плазмы в опытной и первой контрольных пробирках, то реакция плазмокоагуляции считается отрицательной, если плазма в опытной пробирке коагулирована аналогично второму контролю, то реакция считается положительной.

21.3. Обработка и выражение результатов

Если в результате исследований обнаружены колонии грамположительных кокков, ферментирующие маннит в аэробных и анаэробных условиях или мальтозу в анаэробных условиях, обладающие лецитиназной активностью и дающие положительную реакцию плазмокоагуляции, считают, что изделие контаминировано Staphylococcus aureus. Результат выражают следующим образом: в М г ($см^2$, $см^3$) изделия обнаружены бактерии вида Staphylococcus aureus (условное обозначение – «S. aureus обн.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии вида Staphylococcus aureus.

В исследуемом образце изделия бактерии вида Staphylococcus aureus отсутствуют, если при визуальном контроле на чашках со средами после инкубации не обнаруживают характерных по морфологии колоний или при выявлении подозрительных колоний микроскопией не подтверждают наличие грамположительных кокков. Результат выражают следующим образом: в М г ($см^2$, $см^3$) изделия бактерии вида Staphylococcus aureus не обнаружены (условное обозначение – «S. aureus н.о.»), где М – масса (площадь, объем) образца изделия, в котором выявляли бактерии вида Staphylococcus aureus.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Инструкция по применению
«Методы санитарно-микробиологического контроля продукции, предназначенной для детей и подростков»

стр.
Глава 1 Область применения 2
Глава 2 Оборудование, материалы, питательные среды и реактивы 2
Глава 3 Приготовление питательных сред и реактивов 6
Глава 4 Отбор и подготовка проб для микробиологического анализа 11
Глава 5 Проведение анализа 12

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. Настоящая Инструкция разработана специалистами государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь (И.П.Щербинская, Н.В.Дудчик, Т.С.Трешкова, В.В.Трейлиб, О.Е.Шедикова).

2. Утверждена заместителем Министра здравоохранения – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 8 июня 2010 г. регистрационный № 091-0610.

3. Введена впервые.

gost.e-ecolog.ru