Утверждаю
Заместитель главного государственного
санитарного инспектора Союза ССР
Ю. Лебедев
21 апреля 1956 г.

# МЕТОДИКА

## САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ОБЩЕСТВЕННОГО ПИТАНИЯ И ТОРГОВЛИ ПИЩЕВЫМИ ПРОДУКТАМИ [1]

## I. ВВЕДЕНИЕ

Санитарно-бактериологический контроль является ценным вспомогательным методом при санитарном обследовании пищевых предприятий. Этот метод дает возможность объективно оценить санитарный уровень производства.

Использование унифицированных методов исследования позволяет обобщать, накапливать и обрабатывать данные, полученные рядом лабораторий, и таким образом подойти к установлению максимально допустимой бактериальной обсемененности оборудования, инвентаря и посуды на предприятиях общественного питания.

Публикуемая методика предназначена для использования работниками санитарно-эпидемиологических станций и других санитарно-пищевых лабораторий как обязательная при проведении санитарно-бактериологического контроля.

## II. ОБЩАЯ ЧАСТЬ

Санитарно-бактериологическое обследование проводится:

а) при плановом контроле санитарного содержания предприятий общественного питания, продовольственных магазинов и уличной торговой сети;

б) по санитарно-эпидемиологическим показаниям.

В зависимости от цели обследования может меняться как методика отбора проб, так и методика бактериологического исследования.

[1] Методика разработана Институтом питания АМН СССР.



gost.e-ecolog.ru

Плановый санитарно-бактериологический контроль является одним из действенных методов для повышения санитарного уровня производства и поддержания его на должной высоте. Однако положительное влияние контроля будет сказываться только при условии правильной его постановки.

1. Санитарно-бактериологический контроль должен проводиться повторно по заранее намеченному графику, а не эпизодически.

2. Результаты обследования должны не только отражать санитарное содержание производства, но указывать также наиболее узкие места, могущие при малейшем недосмотре повести к загрязнению продукции, а также служить материалом для анализа основных причин и источников загрязнения продукции и намечать пути к их устранению.

3. Данные каждого обследования должны быть доведены до сведения администрации и персонала предприятия. Результаты обследования целесообразно обсудить на производственных совещаниях предприятий и треста.

4. На основании данных, полученных при санитарно-бактериологическом обследовании, должны быть разработаны конкретные меры исправления недочетов на отдельных участках работы с обязательной последующей проверкой эффективности внесенных изменений.

5. При проведении бактериологических исследований лаборатории должны придерживаться унифицированной методики.

6. При санитарно-бактериологическом обследовании контролю должны подлежать:

а) эффективность применяемых методов санитарной обработки (мытье, дезинфекция) оборудования, инвентаря и посуды;

б) готовые блюда на предприятиях общественного питания и кулинарных цехах крупных гастрономических магазинов;

в) в отдельных случаях (по особым показаниям) пищевые продукты и полуфабрикаты;

г) состояние личной гигиены персонала (исследование смывов с рук, санитарной одежды, полотенец и др.);

д) вода, особенно при водоснабжении из естественных источников, грунтовых колодцев и артезианских скважин.

## III. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ПЛАНОВОГО САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ

### 1. Общие указания

План проведения санитарно-бактериологического контроля предприятий общественного питания и торговой сети составляется санитарным врачом совместно с лабораторией санитарно-эпидемиологической станции. Количество объектов, подлежащих контролю, устанавливается в зависимости от мощности лаборатории, исходя из необходимости проверки каждого объекта не менее 3—4 раз (в течение месяца) предпочтительно в теплое время года. При выборе объектов основное внимание должно быть уделено предприятиям общественного питания. В торговой сети обследованию подлежат главным образом специализированные магазины или секции продовольственных магазинов, торгующие скоропортящимися товарами (молоко, мясо, рыба), в мелкорозничной сети — предприятия, торгующие пивом, прохладительными напитками и минеральными водами, а также мороженым из палаток, киосков и с тележек.

В тех случаях, когда намечается более подробное санитарно-бактериологическое обследование отдельных участков производства, например проверка качества мытья столовой посуды и приборов, режима приготовления отдельных блюд, взятие проб и смывов производится по специальной программе.

Отбор проб для бактериологического исследования производится без предварительного оповещения администрации столовой.

Из оборудования и аппаратуры следует проверять бактериальную обсемененность производственных столов, разделочных досок, мясорубок и другого оборудования в мясо-рыбном цехе, на кухне, а также в кондитерском цехе.

Особое внимание должно быть уделено оборудованию и аппаратуре, которые применяются для технологических операции с продуктами, не подвергающимися в дальнейшем тепловой обработке (холодный цех).

Исследование бактериальной обсемененности аппаратуры может преследовать две цели:

ку или потребляемого без предварительной термической обработки (некоторые овощи, гастрономия, салаты, винегреты и др.).

В первом случае смывы делаются перед началом работы или, если это невозможно, в перерывах, после того как оборудование подверглось санитарной обработке.

При контроле торговли прохладительными напитками и пивом смывы берутся со станков и кружек, первично обмытых с подноса, или перфорированного лотка и с вторично обмытых при отпуске напитков потребителям.

Во втором случае смывы с оборудования делаются в процессе работы на данном виде оборудования. В этом случае целесообразно одновременно отбирать пробы блюд и делать смывы с оборудования, с которым соприкасались продукты, пошедшие на изготовление исследуемых блюд.

Смывы с рук, с санитарной одежды, полотенец берутся до работы или после перерыва в работе в основном у работников, имеющих дело с продукцией, не подвергающейся в дальнейшем тепловой обработке (персонал кухни, холодного цеха, отделочного отделения кондитерского цеха, раздатчицы, буфетчицы, официантки, продавщицы). Смывы с рук персонала, занятого обработкой сырых продуктов, должны проводиться до начала работы.

Непосредственно на предприятии при каждом обследовании устанавливаются конкретные точки для взятия смывов. При повторных обследованиях следует брать смывы с тех же объектов и по возможности в те же часы.

Отбор смывов и проб производится санитарным врачом или помощником санитарного врача. Целесообразно при первом обследовании каждого производства отбор смывов и проб производить совместно с работником лаборатории.

В процессе отбора проб составляется протокол выемки проб, в котором указывается: дата и часы взятия проб, полное наименование обследуемого предприятия и подробное описание каждой взятой пробы.

При взятии смывов с оборудования и посуды записывают следующие сведения: номер образца по порядку; в каком техническом и санитарном состоянии находилось оборудование, с которого взят смыв (кратко); какая опе-

рация на нем выполнялась в момент отбора пробы и до взятия пробы.

При взятии смывов с рук записывается: номер по порядку; фамилия, имя и отчество сотрудника; работа, выполняемая на производстве (повар, подсобный рабочий и т. д.); операция, выполняемая работником непосредственно перед взятием смывов с рук (отметить, если руки были только что вымыты).

При взятии проб продуктов, полуфабрикатов и готовых блюд отмечается: номер образца по порядку; наименование продукта или блюда; время изготовления блюда и место и время отбора пробы (из кухни, буфета, со стола обеденного зала и т. д.). Направление подписывается лицами, отбиравшими пробы. Для доставки проб лаборатория должна быть обеспечена портативными ящиками с крышками и запорами, которые могут пломбироваться.

Размеры ящиков могут быть различными. Их величина рассчитывается в зависимости от количества отбираемых проб, используемой посуды и т. д. В одну половину ящика вставляется дощечка с круглыми отверстиями для установки пробирок, вторая часть предназначается для размещения банок, горелки, трафаретов, ложек и других предметов.

## 2. Взятие смывов с оборудования, инвентаря, посуды и рук персонала

Взятие смывов производится с помощью стерильных увлажненных ватных тампонов. Стерильные ватные тампоны на стеклянных или металлических палочках, вмонтированных в пробирки с ватными пробками, заготавливаются заранее в лаборатории. В день взятия смывов в каждую пробирку с тампоном наливается по 2 мл стерильной водопроводной воды таким образом, чтобы ватный тампон не касался воды. Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняется наклонением пробирки или опусканием тампона вниз. Смывы с крупного оборудования и инвентаря берутся с поверхности в 100 см$^2$. Для отграничения поверхности используется шаблон (трафарет), сделанный из проволоки, металлической пластинки или картона. Трафарет имеет площадь 25 см$^2$, и чтобы взять смывы с площади в 100 см$^2$, его накладывают 4 раза в разных местах исследуемого предмета. Трафареты, завернутые в бумагу,

стерилизуются в лаборатории. Количество их рассчитывается по количеству смывов с крупного оборудования (трафарет из проволоки или металлической пластинки можно простерилизовать на месте отбора пробы путем обтирания спиртом и обжигания на горелке; более удобно иметь достаточное количество стерильных трафаретов, чтобы не прибегать к стерилизации их на месте). Отграниченные трафаретом поверхности тщательно протираются увлажненным тампоном во взаимно-перпендикулярных направлениях. После взятия смыва тампон вкладывается в ту же пробирку. На пробирке ставится порядковый номер, и описание пробы вносится в протокол забора проб.

При взятии смывов с мелких предметов обтирается вся поверхность предмета. При исследовании тарелок протирают всю внутреннюю поверхность. У столовых приборов протирается рабочая часть прибора и нижняя часть ручки (примерно наполовину). При исследовании стаканов протирается внутренняя поверхность и верхний наружный край стакана на 2 см. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают 3 одноименных объекта — 3 тарелки, 3 ложки и т. д.

При взятии смывов с рук протирают тампоном ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, затем протирают межпальцевые пространства, ногти и подногтевые пространства.

При взятии смывов с санитарной одежды протираются 4 площадки по 25 см$^2$: нижнюю часть каждого рукава и 2 площадки с верхней части переда спецовки. С различных мест полотенца берутся 4 площадки по 25 см$^2$.

При взятии смывов более удобно работать с ватными тампонами, так как это упрощает и ускоряет процесс взятия смыва и может проводиться при ограниченном использовании горелки. Однако можно работать с применением стерильных марлевых салфеток и обожженного на огне пинцета. Методика работы при повторных обследованиях должна быть единообразной.

### 3. Отбор проб готовых блюд на предприятиях общественного питания и товаров, реализуемых в торговой сети

Из готовых блюд и закусок следует исследовать:

а) холодные блюда — винегреты, салаты, студни, паштеты и различные кулинарные изделия, реализуемые через

буфет,—бутерброды, холодные мясо и рыба, котлеты, запеканки и т. д., первые холодные блюда — окрошка, ботвинья, свекольник;

б) кондитерские изделия с кремом;

в) мороженое;

г) вторые горячие блюда и в первую очередь изделия из фарша: котлеты, шницели, биточки, тефтели, а также изделия из мелко нарезанного мяса и особенно субпродуктов (гуляш, рагу).

Исследование вторых горячих блюд производится для определения остаточной микрофлоры после проведенной термической обработки и имеет целью проверить эффективность последней.

Для отбора проб продуктов и блюд в лаборатории заготавливаются стерильные банки, закрытые двумя слоями бумаги и обвязанные бечевкой; стерильные ложки, стерильные пинцеты и ножи, завернутые в бумагу.

Пробы продуктов следует отбирать вдвоем. Помощник в одной руке держит банку, другой рукой по мере необходимости открывает пробку. В это время лицо, берущее пробу, развертывает требующуюся ему ложку или пинцет, берет материал и переносит в банку. При необходимости отрезается часть куска с помощью стерильного пинцета и ножа. Если образец блюда берется в раздаточной или со стола потребителя, то в банку переносят с тарелок всю порцию; если образец отбирается на производстве от большой массы продукта (из кастрюли, от большого куска мяса), то берут пробу весом около 200 г, жидкие блюда—после тщательного перемешивания, плотные—из разных мест в глубине куска.

После отбора пробы банка немедленно закрывается бумагой и обвязывается. На банке ставится порядковый номер, и описание пробы вносится в протокол забора проб.

### 4. Отбор проб при обследовании технологического процесса

Если по результатам исследования выяснится, что отдельные блюда или отдельные предметы оборудования систематически оказываются сильно бактериально загрязненными, необходимо провести санитарно-бактериологическое обследование процесса производства данного продукта или режима мойки оборудования, чтобы отыскать очаги загрязнения. Для этого необходимо обследовать

процесс по этапам производства и установить моменты производственного процесса, дающие наибольший прирост микрофлоры. Точки для отбора проб намечаются в зависимости от процесса изготовления продукта.

В качестве примера можно привести:

а) Схему обследования процесса изготовления холодных овощных блюд (винегретов).

Бактериологическому исследованию подвергаются готовое блюдо и все продукты, идущие на его изготовление, как термически обработанные (картофель, свекла, морковь после очистки и измельчения), так и не подвергавшиеся тепловой обработке (огурцы, помидоры), а также продукты, применяемые для приготовления заправок (растительное масло, сметана и др.). Попутно исследуется все, что соприкасается с продуктом, — разделочные доски, крышка стола, ножи, руки работников холодного цеха.

б) Схему обследования процесса приготовления кремовых изделий в кондитерском цехе.

Бактериологическому исследованию подвергаются поверхность скорлупы яиц после их санитарной обработки хлоросодержащими препаратами или аммаргеном, содержимое выпущенного яйца — белок и желток, сливочное масло, молоко, растворы краски и все предметы, соприкасающиеся с этими продуктами: чашечки для яйца, сбивалки, гончурки, отсадные мешочки для крема, столы, доски, руки и т. д.

### 5. Обследование мойки столовой посуды

В направлении указывается, какая мойка применяется на обследуемом предприятии:

а) механизированная, когда весь процесс мойки производится машиной;

б) полумеханизированная, когда часть операций производится вручную в моечных ваннах и часть (например, ополаскивание) на механизированной установке;

в) ручная, когда все процессы осуществляются вручную.

При механизированной и полумеханизированной мойке отмечается конструкция агрегата, его пропускная способность по техническому паспорту и фактическая (дается краткое описание), замеряется температура моющей и ополаскивающей воды; отмечается время контакта с водой, в случае применения моющих средств указывается,

какие вещества применяются и в какой концентрации, расход воды на каждую тарелку.

При ручной мойке дается описание конструкции, размеров ванн, материала, из которого они выполнены, и их технического состояния. Замеряется температура воды в каждой ванне, описывается режим мытья; указывается, какие моющие и дезинфицирующие средства и в какой концентрации применяются.

Желательно указать нагрузку персонала в часы пик в единицах посуды (тарелок, стаканов), приходящихся на одну работницу за определенный срок работы.

Смывы берутся с тарелок на раздаче (не менее пяти) и с тарелок в моечной после последней ванны (в том же количестве). Для установления источников бактериального обсеменения необходимо исследовать мойку поэтапно: взять пробы воды из моечных ванн не менее 2 раз после наполнения ванны и перед спуском отработанной воды (отметить, когда и как часто сменяется вода), взять смывы со стенок ванн после спуска моечной воды (особенно в углах и у выпускного крана), исследовать бактериальную обсемененность мочалок и щеток, применяемых при мытье. Мочалки и щетки проверяются до начала работы или в перерыве. Для взятия пробы с мочалок и щеток, используемых для мытья посуды, их помещают в полулитровые широкогорлые банки с 100 мл стерильной воды, промывают и слегка отжимают с помощью 2 стерильных пинцетов.

При проверке качества мойки кухонной посуды исследуется главным образом посуда (кастрюли, противни и т. д.), предназначенная для полуфабрикатов, не подвергающаяся длительному нагреванию, посуда для готовых изделий, а также пищеварочная посуда, имеющая негладкую поверхность, например стальные сварочные наплитные котлы с недостаточно тщательно зашлифованными швами.

При взятии смывов с оборудования, кухонной посуды, поверхности моечных ванн пробы берутся в местах соединения дна и стенок и на поверхности швов.

## 6. Отбор проб продуктов и воды

Продукты, поступающие на производство, как правило, не подлежат бактериологическому исследованию. Последнее может быть проведено при наличии соответствующих показаний. Такими показаниями могут быть:

а) наличие в предприятии общественного питания скоропортящихся продуктов, приобретенных у случайных продавцов или вызывающих сомнение в качестве;

б) задержка реализации скоропортящихся продуктов против установленных сроков.

Образцы продуктов отбираются обычным методом в стерильные банки.

Отбор проб и исследование воды проводятся, как правило, при снабжении предприятий водой из колодцев, естественных водоемов или при подвозе воды из городского водопровода в бочках и цистернах. При этом пользуются методиками, приведенными в ГОСТ 5215-50 и 5216-50 («Вода хозяйственно-питьевого и промышленного водоснабжения. Методы санитарно-бактериологического анализа»).

## IV. МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СМЫВОВ

В основе бактериологического метода исследования смывов лежит обнаружение на исследуемых предметах бактерий группы кишечной палочки как санитарно-показательных организмов и определение общего количества микробов. После надлежащей санитарной обработки инвентаря, посуды, оборудования и рук кишечная палочка не должна обнаруживаться в смывах, взятых с поверхности оборудования, посуды и рук персонала.

При плановом санитарно-гигиеническом обследовании всего производства для упрощения работы в ряде случаев можно ограничиваться определением в некоторых смывах наличия кишечной палочки без учета титра и общего количества бактерий. Общее количество бактерий обязательно учитывается при контроле посуды и столовых приборов.

При обследовании отдельных участков работы, например режима изготовления определенного блюда, режима мойки столовой посуды и приборов и т. д., в смывах нужно определять титр кишечной палочки и общее содержание бактерий.

### 1. Определение наличия бактерий группы кишечной палочки

В группу кишечной палочки входят следующие основные подгруппы: B. coli commune, B. coli mutabile, B. coli aerogenes и B. paracoli.

Санитарно-показательное значение имеют представители любой из подгрупп, способные размножаться и сбраживать при температуре 43° глюкозу с образованием газа.

В группу кишечной палочки включаются бактерии, имеющие следующие признаки: короткие грамотрицательные неспороносные палочки, сбраживающие глюкозу с образованием кислоты и газа в течение 24 часов при температуре 43°; растущие на фуксин-сульфитном агаре (Эндо) с образованием красных с металлическим блеском, красных без блеска, розовых и прозрачных неокрашенных колоний.

**Посев смывов на среду Кесслера** (для посева смывов наряду со средой Кесслера можно применять бульон с 10—20% желчи). Посев смывов производится в пробирки со средой Кесслера с поплавками или без поплавков одним из следующих методов:

а) Тампон вместе с палочкой вынимается из пробирки и вводится в пробирку со средой Кесслера. Пробкой, в которую вмонтирована палочка тампона, закрывается пробирка с посевом, а пробка от пробирки со средой Кесслера отбрасывается (пробирки со средой Кесслера должны быть одинакового диаметра с пробирками, в которых заготовляются тампоны).

б) Стерильно пинцетом снимают ватный тампон с палочки и опускают его в пробирку со средой Кесслера, а палочку отбрасывают.

в) Можно стерильно добавить в пробирку с тампоном 5—10 мл среды Кесслера (в этом случае поплавки в посевах не применяются).

г) При обследованиях взятие смывов и посев могут совмещаться в том случае, если в смывах учитывается только наличие кишечной палочки, а не определяется титр кишечной палочки и общее количество бактерий. В этом случае в пробирку с тампоном нализают 5 мл среды Кесслера (или желчного бульона). Смоченным в среде Кесслера тампоном берут смыв и затем опускают его обратно в ту же пробирку.

Засеянные пробирки помещаются в термостат при температуре 42—43°.

**Посевы на твердые дифференциальные среды.** Через 24 часа из всех засеянных пробирок со средой Кесслера проводится посев на твердые дифференциальные среды (фуксин-сульфитный агар, Левина). Для высева из каж-

дой пробирки можно использовать не целую чашку, а часть, разделив ее на секторы (не более 4 секторов на одной чашке).

Высев на чашки проводится таким образом, чтобы получить рост изолированных колоний. Для этого небольшое количество материала, взятого из пробирки, сначала тщательно втирается петлей в часть сектора. Затем петля обжигается и посев штрихами растирается на всей поверхности сектора.

Чашки с посевами помещаются на сутки в термостат при температуре 37° крышками вниз. Отсутствие роста на чашках указывает на отрицательный результат.

При наличии на среде Эндо или Левина типичных для бактерий кишечной группы колоний из них готовят мазки и окрашивают по Граму. Если в мазках обнаруживают грамотрицательные палочки, переходят к следующему этапу исследования.

Из 2—3 колоний, в которых микроскопически обнаружены грамотрицательные палочки, делается посев в пробирки с глюкозо-пептонной средой, которые помещают в термостат при температуре 43°.

Газообразование в среде с глюкозой и типичные грамотрицательные палочки в мазке дают основание для окончательного положительного ответа на наличие в смыве бактерий группы кишечной палочки. На этом исследование смывов на обнаружение бактерий группы кишечной палочки заканчивается и результат обозначается как положительный или отрицательный.

**Определение отдельных подгрупп кишечной палочки.** Если отдельные лаборатории ставят себе задачей накопить материал об относительной распространенности различных подгрупп кишечной палочки в смывах, они могут провести дальнейшую идентификацию выделенных штаммов.

В этом случае ход исследования меняется только на последнем этапе.

Материал из колонии на твердой дифференциальной среде после микроскопирования засевают в 4 пробирки на следующие среды: среду Гисса с глюкозой, лактозой, среду Симмонса и среду Кларка. Посев на среду Кларка выдерживает 5 дней при температуре 37°, после чего ставят реакцию Фогес-Проскауера.

В 5 мл пятисуточной культуры на среде Кларка добавляется 1 мл 10% КОН, основательно взбалтывается и оставляется стоять в термостате при температуре 37° до следующего дня. В случае положительной реакции появляется розовая окраска с желтой флуоресценцией.

Наличие газа на глюкозе и лактозе и отсутствие роста на среде Симмонса характерны для B. coli commune. Газ на глюкозе и отсутствие газа на лактозе указывают на наличие B. paracoli[1]. Наличие газа на глюкозе и лактозе и типичный рост на среде Симмонса (с изменением цвета среды из зеленого в голубой) указывают на присутствие B. coli aerogenes или B. coli citrovorum. B. coli aerogenes отличается от B. coli citrovorum тем, что дает положительную реакцию Фогес-Проскауера.

## 2. Определение титра кишечной палочки

В тех случаях, когда в смывах определяется не только наличие, но и титр кишечной палочки, исследование ведется следующим образом.

Посевы смывов и продуктов для определения общего количества бактерий и титра кишечной палочки должны проводиться не позже 4 часов с момента их отбора на предприятии. Все образцы до посева должны храниться при температуре не выше + 6°. В случае невозможности исследовать образцы в этот срок в журнале должно быть отмечено, при какой температуре и сколько времени хранились образцы до исследования. Для посева необходимо заготовить пробирки с 9 мл стерильной водопроводной воды, стерильные пипетки на 1 мл и пробирки со средой Кесслера.

**Приготовление разведений.** Ватный тампон снимают стерильно с палочки и опускают обратно в ту же пробирку. В пробирку добавляют 8 мл стерильной воды (всего 10 мл, так как 2 мл были добавлены перед взятием смыва). Получается разведение 1 : 10. Пробирку закрывают ватной пробкой и тщательно встряхивают в течение 3 минут. Затем 1 мл смыва переносят во вторую пробирку с 9 мл стерильной воды. Получается разведение 1 : 100. Новой стерильной пипеткой после тщательного перемешивания берется 1 мл из разведения 1 : 100 и переносится в следующую пробирку с 9 мл стерильной воды — получается разведение 1 : 1000 и т. д. Количество разведений устанавливают в зависимости от предполагаемой загрязненности объекта.

**Посев разведений.** Когда разведения приготовлены, по 1 мл из каждого засевается одной пипеткой в ряд пробирок со средой Кесслера, начиная с наибольшего раз-

---

[1] При обнаружении B. paracoli необходимо дальнейшее изучение штамма для отграничения от группы салмонелл (см. стр. 25).

ведения и кончая пробиркой с тампоном. Тампон и весь остаток воды из первой пробирки высевают в колбочку с 50 мл среды Кесслера.

Пробирки с посевами помещаются в термостат при температуре 42—43°. На следующий день из всех пробирок, в которых обнаружено газообразование или рост, делается высев на дифференциальные среды.

При наличии типичных колоний на дифференциальной среде и грамотрицательных палочек в мазках материал из колонии отвивают на среду с глюкозой (см. определение наличия кишечной палочки в смывах). Наличие газа в глюкозе и типичных грамотрицательных палочек в мазке дает основание для окончательного положительного ответа на наличие кишечной палочки в данном разведении.

Результаты анализа выражают в виде коли-титра.

Для расчета титра кишечной палочки в смывах и продуктах следует пользоваться таблицами для определения коли-титра в воде. Расчеты по таблицам дают более точные и унифицированные данные. Однако следует учитывать, что, хотя в таблицах даны все возможные математические сочетания посевов с наличием или отсутствием роста, при правильной работе рост в посевах малых объемов при отсутствии в посевах больших объемов продукта может встречаться очень редко, причем такие перебои в росте ограничиваются чаще соседними разведениями. С другой стороны, при посеве больших объемов пищевых продуктов отсутствие роста может быть обусловлено не отсутствием кишечной палочки в продукте, а возникновением в среде неблагоприятных условий для ее размножения.

Неблагоприятные условия для роста кишечной палочки могут возникнуть за счет изменения pH среды, химического состава и большого количества сопутствующей микрофлоры. Если при посевах продуктов встречаются частые перебои в последовательности роста, следует проанализировать работу и устранить источники ошибок.

### 3. Определение общего количества бактерий

Для микробиологического исследования необходимо подготовить пробирки с 9 мл стерильной водопроводной воды или физиологического раствора, стерильные пипет-

ки на 1 мл, стерильные чашки Петри, мясо-пептонный агар в пробирках по 15—20 мл.

**Приготовление разведений.** Разведения готовятся так же, как при определении титра кишечной палочки. Если в смыве определяется общее содержание бактерий и титр кишечной палочки, то приготовленные разведения используются для обоих определений. Количество разведений зависит от предполагаемого загрязнения объекта (при исследовании смывов с тарелок обычно берут для посева разведения 1 : 10 и 1 : 100, при исследовании смывов со столов берут разведение 1 : 1000 и ниже). Если имеется основание предполагать наличие в смыве небольшого количества бактерий, то сеют на чашки только первое разведение в количестве 1 и 0,1 мл.

**Посев на чашки.** После тщательного размешивания по 1 мл соответствующих разведений, начиная от большего разведения к меньшему, вносится в стерильные чашки Петри под слегка приподнятую крышку. Для исследования одной пробы необходимо использовать 2—3 чашки, т. е. высевать 2—3 разведения. Затем в чашки наливается по 15—20 мл мясо-пептонного агара, предварительно расплавленного и охлажденного до 40—45°. Содержимое чашки перемешивают осторожным покачиванием и оставляют на столе до застывания агара. Затем чашки помещают в термостат на 48 часов при температуре 37° (крышками вниз).

**Счет колоний.** Наиболее удачным является такой посев, когда количество колоний на чашке колеблется от 30 до 300. В этом случае сосчитываются все колонии, выросшие на чашке.

Если на чашке выросло менее 10 колоний, то такие посевы не учитываются.

Если количество колоний на чашке больше 300, то чашку расчерчивают на равные секторы. Подсчитывают количество колоний в 2 — 3 секторах, выводят среднее и найденное число умножают на количество секторов. При подсчетах пользуются лупой.

В тех случаях, когда в посевах выросло очень много мелких колоний, не поддающихся подсчету обычным методом, для подсчета пользуются малым увеличением микроскопа.

Для этого измеряется диаметр поля зрения микроскопа при малом увеличении. На столик микроскопа помещают

линейку с делениями на 1 мм или на 0,5 мм. Выдвижением тубуса устанавливают поле зрения таким образом, чтобы оно было равно целым миллиметрам (1, 2, 3 и т. д.). Записывают номер объекта, окуляра и величину выдвижения тубуса, чтобы в дальнейшем не повторять измерений.

На чашках с посевами подсчитывается количество колоний в 20 полях зрения по двум взаимно-перпендикулярным диаметрам (10 полей зрения по каждому диаметру) и рассчитывается среднее количество колоний в одном поле зрения.

Затем измеряют диаметр чашки и производят расчет, пользуясь следующей формулой:

$$N = n\frac{R^2}{r_2},$$

где $N$— число колоний на чашке;

$n$ — среднее количество колоний в поле зрения микроскопа;

$R$ — радиус чашки;

$r$ — радиус поля зрения.

Если диаметр поля зрения равен 2 мм, а диаметр чашки 90 мм (обычные стандартные чашки), то формула принимает такой вид:

$$N = n \cdot 45^2$$

или

$$N = n \quad 2025.$$

Количество колоний на каждой чашке умножают на соответствующее разведение и выводят среднее из нескольких посевов.

Полученное число соответствует количеству бактерий в смыве.

Даже при точной работе возможны расхождения в количестве бактерий, полученные при подсчете посевов из разных разведений продукта или смыва. Это объясняется не вполне равномерным распределением бактерий в разведениях, а также разными условиями роста на чашках.

Чем гуще посев, тем менее благоприятны условия роста на чашке, тем большее количество бактерий может не дать колоний.

Однако при правильной работе эти расхождения в цифрах не должны быть значительными.

Данные исследований вписываются в журнал для смывов.

Если на чашках с посевами максимальных объемов получен рост единичных колоний, в журнале пишут «количество бактерий меньше *n*». Например, если при посеве 1 мл смыва выросло 5 колоний, надо написать количество бактерий $< 50$.

Если при посеве наименьших объемов имеется сплошной рост на чашках, то в журнале пишут: «При посеве 0,0... мл получен сплошной рост, не поддающийся подсчету».

Графа «Со всего объекта» заполняется в том случае, когда смыв производится с мелких предметов или со всей поверхности предмета без применения трафарета.

## V. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДУКТОВ И ГОТОВЫХ БЛЮД

При санитарно-бактериологическом исследовании продуктов в них определяют общее количество бактерий и титр кишечной палочки. При исследовании кисломолочных продуктов в них определяют только титр кишечной палочки.

При микробиологическом исследовании кислых продуктов их необходимо предварительно нейтрализовать. Для этого в 10 г продуктов добавляют 20 мл дистиллированной воды, тщательно размешивают и титруют децинормальной щелочью в присутствии фенолфталеина. Затем рассчитывают количество потребной щелочи на объем продукта, который нужно подщелочить. Для нейтрализации применяют простерилизованные растворы децинормальной или нормальной щелочи. Количество последней берется соответственно меньшим в 10 раз. (При дальнейших расчетах количества микробов учитывается разведение продукта раствором щелочи до посева.)

При нейтрализации кислых продуктов можно также пользоваться лакмусовой бумажкой. Для этого нужно добавлять раствор щелочи в кислый продукт осторожно, небольшими порциями, тщательно размешать и проверить реакцию синей и красной лакмусовой бумажками путем нанесения на них капель стерильной пипеткой. Щелочь

## Примерная форма журнала

| № п/п | Дата | № смыва в направлении | Откуда взят смыв | Время отбора проб в часах | Время посева в часах | Характер роста на среде Кесслера | Рост колоний на фуксинсульфитном агаре | Морфология | Бродильная проба при температуре 43° | Наличие кишечной палочки | Титр кишечной палочки | Количество микробов | | | | Примечание |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | разведение | количество колоний на чашке | в смыве со всего объекта | в смыве со 100 см² поверхности | |
| 324 | 4/X | 4 | Доска для вареных овощей из холодного цеха | 14 часов | 16 часов | Газ | Красные с металлическим блеском | Грамотрицательная палочка | + | + | Не определялся | 0,01<br>0,001 | 225<br>30 | — | 26250 | |
| 325 | 4/X | 5 | Тарелки с раздачи (3) | 14 часов | 16 часов 30 минут | Рост | Мелкие красные | Кокки | — | — | — | 0,1<br>0,01 | 56<br>4 | | 560<br>— | |

добавляется до тех пор, пока как красная, так и синяя лакмусовые бумажки при смачивании не будут менять окраску.

### 1. Приготовление разведений

Количество разведений делается исходя из характера исследуемого продукта и предполагаемого бактериального загрязнения. Если имеется основание предполагать в продукте наличие небольшого количества микробов, то жидкие продукты в количестве 1 и 0,1 мл сеются без разведения. Разведения жидких продуктов готовятся так же, как разведения смывов.

Мороженое, сливочное масло, маргарин, сливочный крем и другие аналогичные продукты перед приготовлением разведений расплавляют в теплой воде при температуре 40—45°, а затем отмеривают пипеткой 1 мл и готовят разведения в пробирках с подогретой до 40—45° стерильной водой.

При исследовании твердых продуктов отвешивают с соблюдением стерильности 5—10 г средней пробы продукта и растирают в стерильной ступке с 45—90 мл стерильной воды (разведение 1 : 10), 1 мл первого разведения переносится в пробирку с 9 мл стерильной воды (разведение 1 : 100) и т. д.

При исследовании трудно растирающихся продуктов в ступку добавляется стерильный кварцевый песок для лучшего растирания (3—5 г). Затем взвеси дают отстояться и разведения готовят из отстоявшейся жидкой части.

### 2. Определение титра кишечной палочки

**Посевы на среду Кесслера.** Посевы разведений на среду Кесслера проводятся одной пипеткой, начиная от большего разведения к меньшему. Для посева 1 г, 1 мл жидкого продукта или 10 мл первого разведения 1 : 10 (из ступки) вносится в колбочку с 50 мл среды Кесслера.

Все пробирки с посевами помещаются в термостат при температуре 43°. Через сутки из всех пробирок, где обнаружено газообразование или рост, производят посев на твердые дифференциальные среды. Чашки выдерживают в термостате при температуре 37° 24 часа, просматривают, микроскопируют колонии и производят высев с колоний на среду Гисса с глюкозой.

Наличие газа в среде с глюкозой через 24 часа при температуре 43° и грамотрицательных палочек в препарате дают основание для положительного ответа на наличие кишечной палочки в данном разведении. Результаты исследования выражаются в виде коли-титра по таблицам.

### 3. Определение общего количества бактерий

**Посев на чашки.** Приготовленные разведения продукта используются также и для определения общего количества бактерий.

После тщательного перемешивания по 1 мл из трех различных разведений, выбранных в зависимости от предполагаемого загрязнения продукта, высеваются в 3 чашки Петри (далее см. стр. 14).

**Счет колоний** (см. стр. 15). Подсчитанное на каждой чашке количество колоний умножают на соответствующее разведение и высчитывают среднее арифметическое. Полученное число соответствует количеству бактерий в 1 г продукта. Данные исследований вписываются в журнал для исследования продуктов.

**Примерная форма журнала**

| № п/п | Дата | Название продукта и полное описание из направления | Время забора проб в часах | Время исследования в часах | Рост на среде Кесслера | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | разведения | | | |
| | | | | | 1,0 | 0,1 | 0,01 | 0,001 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| | | | | | | | | |

Продолжение

| Рост на фуксин-сульфитном агаре | Глюкоза при температуре 43° | Морфология | Титр кишечной палочки | Общее количество микробов | | | Примечание |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | разведение | количество колоний на чашке | количество микробов на 1 г продукта | |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| | | | | | | | |

# VI. АНАЛИЗ ДАННЫХ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ

Основной задачей планового бактериологического контроля является повышение санитарного уровня предприятий общественного питания и торговли и связанная с этим профилактика пищевых отравлений бактериальной этиологии и пищевых инфекций.

Данные, полученные в процессе проведения санитарно-бактериологического контроля, позволяют объективно оценивать санитарное содержание предприятия, выявлять источники бактериального загрязнения продукции и устанавливать рациональные способы устранения этих источников.

Систематически накапливаемые данные бактериологических исследований могут послужить материалом для установления нормативов бактериальной обсемененности продукции, эффективности проводимой санитарной обработки оборудования и мытья посуды и т. д. как для отдельных предприятий, так и для групп предприятий, более или менее одинаковых по своему оборудованию и санитарно-техническому состоянию.

Основное правило, которое должно соблюдаться, — это неуклонное проведение исследований по единой методике и исследование при повторном взятии проб одних и тех же объектов в аналогичных условиях и в те же часы с тем, чтобы получить сравнимые данные. Так, например, нельзя при анализе данных бактериальной обсемененности рук суммировать данные и выводить средние цифры обсемененности рук персонала вообще, т. е. поваров, официанток, раздатчиц и др.

Можно сравнивать, но нельзя объединять данные смывов, полученных до и после работы.

При оценке данных, полученных в результате бактериологического исследования, следует исходить из требования отсутствия кишечной палочки на оборудовании, не соприкасающемся с сырыми продуктами и служащем для технологических операций с продуктами, прошедшими термическую обработку. Это же относится и к рукам персонала, не имеющего соприкосновения с сырыми продуктами и полуфабрикатами (повара, работающие в холод-

ном цехе по приготовлению блюд из продуктов, подвергшихся термической обработке, персонал горячего кондитерского цеха, официантки и др.).

Не должно содержаться кишечной палочки в смывах с вымытых тарелок.

Аналогичное требование не может быть предъявлено к смывам с рук и оборудования в цехах, где обрабатываются сырые продукты, поскольку последние обычно бывают обсеменены кишечной палочкой.

Определение общей обсемененности имеет особо важное значение для установления эффективности санитарной обработки оборудования и мытья посуды.

С этой целью целесообразно накопление материала по каждому предприятию и проведение опытной санитарной обработки или мытья посуды в строгом соответствии с действующими санитарными правилами. Такие опытные мойки, повторенные несколько раз, позволяет установить нормативы бактериальной обсемененности оборудования и инвентаря для данного предприятия.

Опытная санитарная обработка должна производиться в присутствии санитарного врача. Необходимо учесть, что бактериальная обсемененность вымытого оборудования и посуды, помимо применяемого режима мытья (температура воды, концентрация моющих средств), зависит также от технического состояния моечных ванн, их санитарного содержания, периодичности смены воды в ваннах и т. д.

Поэтому опытное мытье должно производиться каждый раз в строго определенных и аналогичных условиях.

Так, например, для установления бактериального стандарта эффективности мытья тарелок ванны тщательно промываются, заполняются чистой водой соответствующей температуры с добавлением нужного количества моющих средств. Тарелки моются в двух водах с последующей обработкой горячей водой и просушиванием на воздухе, после чего с них берутся смывы. Целесообразно брать смывы с первых тарелок (4—5), затем брать пробы через 35—40 тарелок по 4—5 смывов каждый раз. Это даст возможность определить, как часто следует сменять воду при мытье тарелок.

Из готовых блюд в первую очередь рекомендуется проверить бактериальную обсемененность холодных блюд — салатов, винегретов, студня, запеканок и др. Ввиду того

что эти блюда обычно готовятся заранее, необходимо учитывать срок изготовления, так как только что приготовленное блюдо по бактериальной обсемененности будет отличаться от такого же блюда, приготовленного в аналогичной санитарной обстановке, но хранившегося несколько часов, особенно если условия хранения благоприятны для размножения микрофлоры.

Накопление материала исследований и в данном случае может привести к установлению ориентировочных нормативов бактериальной обсемененности холодных блюд.

При исследовании вторых горячих блюд вскоре после их изготовления, как правило, наблюдается или отсутствие микрофлоры, или невысокая общая обсемененность и отсутствие кишечной палочки. Обнаружение значительной обсемененности и наличие кишечной палочки в глубоких слоях свидетельствуют или о недостаточной термической обработке, или, что наблюдается чаще, об очень массивном обсеменении полуфабриката до термической обработки.

В подобных случаях необходимо определить причину массивного обсеменения путем поэтапного исследования (сырье, полуфабрикат, готовое изделие) технологического процесса. Наиболее часто обсемененность готовых блюд зависит от антисанитарного содержания оборудования, с которым соприкасается продукт (столы, разделочные доски, ножи, мясорубки, а также руки работников). Значительная обсемененность может быть вызвана также задержкой полуфабриката до тепловой обработки и, наконец, нарушением сроков реализации готовых блюд при хранении их в благоприятных для размножения микробов условиях.

Поэтому при получении высоких цифр обсемененности готовых вторых блюд необходимо выяснить, не было ли в процессе их приготовления случайных нарушений нормального хода технологического процесса. Если эти нарушения не отмечаются, следует сделать повторные анализы тех же блюд. Наличие обсеменения при нормальном ходе технологического процесса будет свидетельствовать о массивном обсеменении полуфабриката, и дальнейшей задачей явится выяснение, на каком этапе и за счет чего полуфабрикат получает это обсеменение, после чего принимаются меры к ликвидации источников этого обсеменения.

# VII. ОБСЛЕДОВАНИЕ ПРЕДПРИЯТИЙ ОБЩЕСТВЕННОГО ПИТАНИЯ ПО ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАНИЯМ

При наличии среди населения, обслуживаемого определенным предприятием общественного питания, повышенной заболеваемости кишечными инфекциями или в случае пищевого отравления, происшедшего в результате употребления продукции пищевого предприятия, проводится внеплановое санитарно-бактериологическое обследование данного предприятия. Эти обследования проводятся в дополнение к специально проводимым расследованиям пищевых отравлений [1].

Для успешной профилактики пищевых отравлений и заболеваний очень важно установить, при каких обстоятельствах и из каких источников произошло попадание патогенных бактерий в пищевой продукт и какие условия способствовали размножению в нем этих бактерий. Необходимо также проверить общее санитарное состояние предприятий в этот период.

## 1. Методика отбора проб

Методика отбора проб при обследованиях по эпидемиологическим показаниям несколько меняется. При проверке оборудования, столов, досок и т. п. смывы делаются с больших поверхностей без использования трафаретов. С деревянных столов и досок (со всей поверхности) берутся соскобы стерильным скальпелем, смывы с рук берутся, как обычно.

## 2. Методика микробиологического исследования

Все пробы исследуются по обычной схеме, принятой при плановых санитарно-бактериологических обследованиях предприятий. Кроме того, все смывы исследуются на наличие патогенных бактерий, послуживших причиной заболевания, или на ряд бактерий, подозреваемых как

[1] Подробная методика исследования дана в Инструкции Министерства здравоохранения СССР «Методика бактериологических исследований на пищевых отравлениях», М., 1948;
Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях (под редакцией Синая и Биргера, Медгиз, 1949).

источник заболевания, если вид бактерий, вызвавших отравление, не был установлен.

Для подготовки к посеву ватный тампон снимается с палочки и опускается в пробирку, в которую добавляют 8 мл стерильной водопроводной воды. (Если смывы исследуются только на наличие патогенных бактерий, то воду дополнительно в пробирку с тампоном не добавляют, чтобы получить более обильный рост на чашках.) Содержимое пробирки тщательно встряхивают не менее 3 минут. Из этого первичного разведения проводятся все посевы. Определение наличия титра кишечной палочки и общего количества бактерий проводится по обычной методике, описанной в разделе планового контроля.

### 3. Исследование на бактерии группы салмонелл

Из смыва производится непосредственный посев на одну или две твердые дифференциальные среды (бактоагар Ж, Эндо, Левина, Шустовой). Для этого 1—2 капли материала наносятся на чашку с подсушенной средой и тщательно на ней растираются. Помимо непосредственного посева на твердые среды, весь остаток жидкости и тампон засеваются в пробирку со средой обогащения (Килиана, Кауфмана). Все посевы помещаются в термостат при температуре 37°. Через 18—20 часов из среды обогащения производится высев на твердые дифференциальные среды. Непосредственные посевы на плотные среды просматриваются на наличие подозрительных колоний (прозрачные или полупрозрачные бесцветные колонии).

Все подозрительные колонии отвиваются в пробирки со средой Ресселя. Посев производится штрихом на косяк и уколом в столбик в нижней части пробирки. Одновременно из той же колонии делают посев на сахарозу и бульон. На следующий день просматривают рост на пробирках со средой Ресселя и посевы на чашках со сред обогащения. При наличии на среде Ресселя роста, типичного для салмонелл (покраснение и газ в столбике внизу и рост без изменения цвета косяка вверху), при отсутствии газа и кислоты на сахарозе и при отрицательной реакции на индол готовят мазки, микроскопируют и при обнаружении грамотрицательных палочек ставят пробную агглютинацию. Для постановки пробной агглютинации пользуются основными групповыми сыворотками (S. typhi

murium, S. enteritidis и S. cholerae uis) или смесью сывороток в разведении 1 : 20. Положительная агглютинация штамма при наличии типичных биохимических свойств дает основание для предварительного заключения о выделении бактерий из группы салмонелл.

Независимо от результатов пробной агглютинации культуру подвергают дальнейшему изучению. При положительной пробной агглютинации ставят пробирочную агглютинацию, а в случае необходимости также биологическую пробу на мышах путем скармливания им выделенных культур. В этот же день с чашек, полученных от засева сред обогащения, отвиваются подозрительные колонии на среду Рессселя. При получении положительных результатов с чашек непосредственного посева колонии с посевов из среды обогащения могут не отвиваться.

При положительной пробной и развернутой агглютинации и при наличии типичных биохимических и культуральных свойств может быть дан окончательный положительный ответ о принадлежности выделенного штамма к определенной группе салмонелл. Для точной типизации штамма пользуются реакциями адсорбции агглютининов и агглютинацией с монорецепторными сыворотками.

### 4. Исследование на бактерии дизентерийной группы

Для исследования на дизентерийные микробы производится непосредственный посев смыва с тампона на одну или две цветные дифференциальные среды (среда бактоагар Ж, Левина). Для этого 1—2 капли смыва наносятся на чашку с подсушенной средой и тщательно на ней растираются. Посевы выращиваются при температуре 37°.

На следующий день подозрительные (прозрачные, бесцветные с ровными краями или шероховатые) колонии с чашек отвиваются в пробирки со средой Рессселя и помещаются в термостат при температуре 37° на сутки.

На 3-й день просматривают рост в пробирках со средой Рессселя. Из пробирок, давших типичный для дизентерийных бактерий рост (покраснение без газа столбика агара и рост без изменения цвета на скошенной части вверху), готовят и просматривают мазки. При наличии грамотрицательных палочек ставится пробная агглютинация с набором следующих диагностических сывороток в разведении 1 : 25, 1 : 50.

1. Поливалентная сыворотка Флекснера.
2. Сыворотка Шига.
3. Сыворотка Зонне.
4. Сыворотка Штуцера.

При положительной пробной агглютинации дается предварительное заключение об обнаружении дизентерийного микроба. Как при положительной, так и отрицательной пробной агглютинации культура высевается на пестрый ряд (см. таблицу на стр. 36). Если культура агглютинируется на стекле, то ставится также пробирочная агглютинация. На 4-й день просматривают пестрый ряд и результаты развернутой агглютинации и дают окончательное заключение о природе выделенного штамма.

### 5. Исследование на содержание протея

По 1 мл из разведений, приготовленных для определения общего количества бактерий или титра кишечной палочки, высевается в конденсационную воду свежескошенного мясо-пептонного агара, не касаясь поверхности агара (по Шукевичу). Посевы помещают в термостат при температуре 37° на сутки. Рост протея обнаруживается в виде вуалеобразного налета, вползающего наверх по поверхности агара. Результаты исследования выражают в виде титра протея, т. е. наименьшего объема смыва, давшего рост протея при засеве на косяк.

### 6. Исследование на палочку Моргана

Палочка Моргана дает бесцветные колонии на среде Эндо и Левина. При посевах на салмонеллы и дизентерию могут быть обнаружены и бактерии Моргана.

Идентификация палочки Моргана проводится на основании биохимических свойств и реакции агглютинации с поливалентной сывороткой против бактерий Моргана.

## VIII. ПОСТАНОВКИ БИОХИМИЧЕСКИХ И СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И ИЗГОТОВЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

### 1. Постановка биохимических и серологических реакций

**Определение индола по способу Мореля.** Индолообразование испытывают на бульоне Хоттингера через 24—48 часов выращивания посевов при температуре 37°.

Лист фильтровальной бумаги смачивают горячим 12% водным раствором щавелевой кислоты и высушивают в термостате. Высохшую бумагу нарезают полосками шириной 0,5 см. В засеянную испытуемой культурой пробирку с бульоном помещают полоску бумаги таким образом, чтобы полоска удерживалась пробкой и не прикасалась к среде. Пробирку помещают в термостат. Если образуется индол, то нижняя часть бумажки через 1—3 дня окрашивается в розовый цвет.

**Определение индола по способу Эрлиха.** К суточной бульонной культуре добавляют 1—2 мл эфира, основательно встряхивают и прибавляют по стенке пробирки 1 мл следующего реактива:

| | |
|---|---|
| Парадиметиламидобензальдегид . . . . . | 2 г |
| Спирт 96% . . . . . | 190 мл |
| Соляная кислота концентрированная . . . . | 45 » |

В присутствии индола не позднее чем через 5 минут должно появиться красное окрашивание всего эфирного слоя или нижней части его. Необходимо ставить контроль с незасеянной средой.

**Определение сероводорода.** Фильтровальную бумагу смачивают в насыщенном растворе уксуснокислого свинца, высушивают, нарезают узкими полосками и хранят в баночке с притертой пробкой. Полоску бумаги помещают в пробирку с засеянной культурой на бульоне таким образом, чтобы бумажка удерживалась пробкой и не касалась среды. Через сутки выдерживания в термостате, если культура вырабатывает сероводород, конец бумажки от образующегося сернистого свинца чернеет или буреет.

**Пробная агглютинация.** На предметное стекло наносят каплю соответствующей сыворотки (разведенной 1 : 10; 1 : 25; 1: 50) и равномерно смешивают платиновой петлей с культурой, взятой с косого агара или из подозрительных колоний на чашке. Положительная реакция характеризуется быстрым появлением хлопьев или зернистости с просветлением капли.

**Пробирочная агглютинация.** Готовят разведение сыворотки 1 : 50, для этого к 4,9 мл физиологического раствора добавляют 0,1 мл соответствующей диагностической сыворотки. В штатив ставят ряд агглютинационных проби-

рок (количество пробирок берут в зависимости от титра сыворотки) и в каждую наливают 0,5 мл физиологического раствора. В первую пробирку добавляют 0,5 мл сыворотки в разведении 1 : 50, смешивают, отбирают 0,5 мл и переносят во вторую пробирку. Содержимое второй пробирки тщательно смешивают и 0,5 мл из нее переносят в третью и т. д. Сыворотку нужно разводить до титра. Последняя пробирка с 0,5 мл физиологического раствора является контролем. В пробирки всего агглютационного ряда добавляют по 1—2 капли взвеси испытуемых микробов, густотой приблизительно соответствующей 1 млрд. микробных тел в 1 мл по оптическому стандарту. Пробирки тщательно встряхивают и помещают на 2 часа в термостат при температуре 37°, затем оставляют на 18—20 часов при комнатной температуре. После этого просматривают пробирки макроскопически и в агглютиноскоп.

**Реакция адсорбции агглютининов.** Если выделенный микроб агглютинируется несколькими сыворотками до одинакового титра, то определение типа микроба может быть сделано на основании реакции адсорбции агглютининов. Каждую из сывороток, давшую агглютинацию с изучаемым штаммом, насыщают этим штаммом. После этого с истощенными сыворотками ставят линейную агглютинацию с изучаемым штаммом и с гомологичной к данной сыворотке музейной культурой. Для истощения сывороток пользуются суточными агаровыми культурами. В среднем для истощения 2 мл сыворотки, разведенной 1/100, необходима взвесь микробов, полученная с 5 пробирок косого агара.

Реакция проводится следующим образом: 2 мл каждой сыворотки в разведении 1/100 смывается последовательно по 5 пробирок скошенного агара с суточным ростом изучаемого штамма. Смывы переносятся в центрифужные пробирки и последние помещают в термостат при температуре 37° на 2 часа, а затем на лед. На следующий день насыщенные сыворотки центрифугируют, отсасывают прозрачную верхнюю часть и ставят линейную агглютинацию каждой из адсорбированных сывороток с двумя штаммами — выделенным штаммом и штаммом, гомологичным к данной сыворотке. Отсутствие или наличие агглютинации указывает на полноту истощения сывороток. Выделенный штамм гомологичен той сыворотке, которую он полностью истощает.

**Пример.** Изучаемый штамм агглютинируется сыворотками S. enteritidis и S. typhi murium до одинаковой части титра. После истощения обеих сывороток изучаемым штаммом имеем такие результаты агглютинации:

| Бактерии | Агглютинация | | | |
|---|---|---|---|---|
| | сыворотка S. typhi murium | | сыворотка S. enteritidis | |
| | до истощения | после истощения изучаемой культуры | до истощения | после истощения изучаемой культуры |
| Изучаемая культура | + | — | + | — |
| S. typhi murium | + | + | — | — |
| S. enteritidis | — | — | + | — |

В данном случае изучаемый штамм следует отнести к типу S. enteritidis, так как с сывороткой S. enteritidis после истощения ее изучаемым штаммом не агглютинирует ни выделенный штамм, ни музейный штамм S. enteritidis.

**Агглютинация монорецепторными сыворотками.** Агглютинирующие О- и Н-монорецепторные сыворотки применяют в опытах пробной агглютинации на предметном стекле.

Капля сыворотки наносится на предметное стекло и в ней тщательно растирается до получения равномерной взвеси небольшое количество суточной культуры изучаемого штамма со скошенного агара. При работе с О-сыворотками надо брать культуру из верхней части, а при работе с Н-сыворотками — из нижней части пробирки (конденсационной воды). Реакция агглютинации наступает иногда только через некоторый промежуток времени. Чтобы предупредить быстрое высыхание капель сыворотки, предметные стекла прикрываются сверху слегка увлажненной крышкой от чашки Петри.

Для О-агглютинации характерно выпадение агглютината в виде компактных зернышек и глыбок, с трудом разбивающихся при встряхивании. Для Н-агглютинации характерно наличие рыхлых хлопьев, легко разрушающихся при встряхивании. При помощи испытания с О-сыворотками изучаемая культура относится к определенной

подгруппе салмонелл (A, B, C, D, E). При помощи H-сывороток определяется тип салмонелл по схеме Кауфмана Уайта.

## 2. Приготовление питательных сред

Рекомендуется пользоваться стандартными сухими питательными средами, если лаборатория имеет возможность получать их в достаточном количестве. Такие среды удобны в работе; обращение с ними очень просто. Способ приготовления указывается на этикетках, имеющихся на каждой банке со средой.

**Мясо-пептонный агар.** Мясо, освобожденное от жира и сухожилий, пропускают через мясорубку, складывают в заранее взвешенную кастрюлю и смешивают с двойным количеством водопроводной воды.

Смесь экстрагируют на холоду в течение 12 часов или при температуре 50° в течение часа и затем кипятят 30 минут. Бульон в горячем виде фильтруют через бумажный фильтр, измеряют, добавляют водой до первоначального объема. В мясную воду добавляют 1%, пептона и 0,5% поваренной соли, кипятят на голом огне до полного осаждения белков, фильтруют, подщелачивают раствором едкого натра до pH = 7—7,2 и добавляют 1,5% агара (для приготовления фуксин-сульфитный среды следует установить pH = 7,4—7,6 и добавить 2% агара).

Агар расплавляют. Расплавленный мясо-пептонный агар в горячем состоянии фильтруют через вату и разливают по пробиркам и колбам.

Более экономно готовить питательный агар из перевара по Хоттингеру.

1 кг мяса разрезают на мелкие кусочки, заливают 2 л кипящей воды и кипятят 10 минут. Жидкость сливают в бутыль, а мясо пропускают через мясорубку и тоже складывают в бутыль. В охлажденный до 35—40° отвар добавляют 1,5 г соды, 3,5 г панкреатина (или 30—40 г панкреатической железы) и 20 мл хлороформа. Смесь встряхивают и ставят в термостат на 4—5 дней при температуре 37°; затем среду фильтруют, разливают по колбам и стерилизуют.

Для приготовления питательного агара гидролизат разводят в 5 раз водопроводной водой, добавляют 0,5% NaCl, 0,1% $Na_2HPO_4$ и $K_2HPO_4$ и после установления

pH = 1,5—2% агара. Агар расплавляют, фильтруют, разливают по пробиркам и колбам и стерилизуют.

В качестве основы при изготовлении питательных сред можно использовать дрожжевой аутолизат. Для приготовления дрожжевого аутолизата прессованные хлебные дрожжи разводят водой из расчета 1 кг дрожжей на 3—5 л воды, нагретой до 55—58°. После тщательного перемешивания до получения равномерной взвеси смесь ставят в термостат (обычно в стеклянных бутылях) при температуре 50—55° на 18—24 часа. По окончании процесса самопереваривания бутыли с аутолизатом автоклавируют 15 минут при температуре 120°. Через сутки аутолизат расслаивается на прозрачный «светлый слой» и осадок из недопереваренных дрожжевых клеток. Автоклавированный аутолизат можно сохранять и впрок. Обычно для сред употребляют «светлый слой». Для приготовления питательной среды к дрожжевому аутолизату прибавляют 0,5% хлористого натрия, 0,1% $Na_2HPO_4$ и после установления pH — 1,5—2% агара.

**Среда Левина.** Приготовить агар на бульоне Хоттингера pH = 7,2—7,4, стерилизовать. К 100 мл расплавленного агара добавить 2 мл 0,5% раствора метиленовой синьки, 1,5 мл 2% раствора эозина, 2 г лактозы, 0,2 г двуосновного фосфорнокислого калия ($K_2HPO_4$).

После добавления всех ингредиентов тщательно перемешивают среду, разливают в чашки Петри и подсушивают.

**Фуксин-сульфитный агар** (Эндо). Приготовить мясопептонный агар pH = 7,4—7,6.

На 100 мл расплавленного агара добавить 0,5 г молочного сахара, предварительно растворенного и прокипяченного в 5 мл стерильной воды, и смесь фуксина с сульфитом натрия, приготовленную следующим образом: растворить 0,5 г сульфита натрия в 5 мл стерильной воды и прокипятить. Взять 0,5 мл насыщенного спиртового раствора основного фуксина, к которому небольшими дозами добавлять раствор сульфита натрия до тех пор, пока жидкость станет слегка розовой. Тщательно смешать все ингредиенты, разлить агар в чашки и подсушить. После застывания среда должна стать почти бесцветной.

**Среда Кесслера (модифицированная).** К 1 л воды добавить 10 г пептона и 50 мл бычьей желчи. Кипятить, помешивая, 20—30 минут. Фильтровать через вату, добавить

2,5 г лактозы и довести объем до 1 л. Установить pH=7,4—7,6 и добавить 2 мл 1% водного раствора генцианвиолета. Разлить в пробирки с поплавками по 5 мл и стерилизовать в автоклаве при температуре 120° в течение 15 минут.

**Среда Симмонса**

| | |
|---|---|
| Фосфорнокислый натрий аммония | 1,5 г |
| Одноосновной фосфорнокислый калий | 1 » |
| Сернокислый магний | 0,2 » |
| Лимоннокислый натрий | 2,5 » |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |
| Агар | 20 » |

Установить pH=6,8—7, стерилизовать в автоклаве при температуре 120° в течение 15 минут. К незастывшей среде добавить 1 мл 0,5% спиртового раствора бромтимолблау. Среду разливают стерильно в пробирки и скашивают.

**Среда Кларка**

| | |
|---|---|
| Пептон | 0,5 г |
| Глюкоза | 0,5 » |

0,5 г $K_2HPO_4$ растворить в 100 мл дистиллированной воды, фильтровать через бумажный фильтр, разлить в пробирки и стерилизовать дробно 3 дня подряд (текучим паром по 30 минут).

**Среда Шустовой.** 100 мл пептонного агара с 5% дрожжевого автолизата с pH, равным 7,4, расплавить, охладить до температуры не выше 45° и прибавить 5% желчи.

Добавить 5 мл 2% свежеприготовленного и прокипяченного раствора смеси сахарозы и лактозы в равных количествах.

На 100 мл среды добавить 1 мл 1,5% спиртового раствора бромтимолблау.

Приготовить смесь из 10 мл заранее приготовленного 50% стерильного раствора гипосульфита натрия и 2 мл йодного раствора (20 г йода, 25 г йодистого калия в 10 мл воды). Эту смесь после очень тщательного размешивания немедленно добавить к расплавленному агару и среду разлить в чашки.

**Среда Киллиана.** К 100 мл обычного стерильного бульона непосредственно перед употреблением добавить 1 мл

водного раствора бриллиантгрюна 1 : 1000. Водный раствор 1 : 1000 готовят из 1% спиртового раствора.

**Углеводные среды Гисса**

| | |
|---|---|
| Пептон | 1 г |
| Хлористый натрий | 0,5 » |
| Углевод (глюкоза, лактоза и др.) | 0,5 » |
| Вода | 100 мл |
| Индикатор Андреде | 1 » |

Среды стерилизовать дробно

**Среда Ресселя.** К 1% агару (pH=7,3), приготовленному на бульоне Хоттингера (разбавленном 1 : 5), прибавить 1% лактозы, 0,1% глюкозы, 4% индикатора Андреде. Среду разлить в пробирки по 10—15 мл, скосить так, чтобы ниже косой поверхности оставался столбик агара.

**Индикатор Андреде.** 0,5 г кислого фуксина растворить в 100 мл дистиллированной воды и прибавить 16 мл нормального раствора едкого натра. Оставить на 1—2 часа, отфильтровать.

### 3. Приготовление красок для окраски по Граму

**Карболовый кристалвиолет** (может быть заменен метилвиолетом или генцианвиолетом).

| | |
|---|---|
| Кристалвиолет | 2 г |
| Этиловый спирт | 10 мл |
| 1% водный раствор карболовой кислоты | 100 г |

Краску растереть в ступке, прибавляя постепенно спирт, затем осторожно добавить 100 мл 1% водного раствора карболовой кислоты.

**Раствор Люголя**

| | |
|---|---|
| Иод кристаллический | 1 г |
| Иодистый калий | 2 » |
| Вода дистиллированная | 300 мл |

**Фуксин Циля**

| | |
|---|---|
| Основной фуксин | 1 г |
| Спирт 96% | 10 мл |
| Карболовая кислота кристаллическая | 5 г |
| Дистиллированная вода | 100 мл |

Растереть в ступке основной фуксин, прибавить, растирая, карболовую кислоту и спирт, а затем небольшими порциями добавить 100 мл дистиллированной воды.

**Фуксин Пфейффера.** Фуксин Циля 1 мл. Вода дистиллированная 9 мл. Раствор портится при стоянии и поэтому готовится ex tempore. Оставлять его можно не дольше следующего дня.

---

## Схема культуральных и ферментативных свойств некоторых кишечных бактерий

| Наименование микробов | Подвижность | Окраска по Граму | Сбраживание сахаров и спиртов | | | | | Лакмус. Сыворотка | Рост на среде Симмона | Реакция с метилротом | Реакция Проскауэра | Реакция на индол | Реакция на сероводород | Разжижение желатин |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | лактоза | глюкоза | маннит | мальтоза | сахароза | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Shigella dysenteriae (Шига) . . . . . | — | — | — | к | — | — | — | к | — | — | — | — | — | — |
| Shigella ambigua (Штуцер) . . . . | — | — | — | к | — | — | — | к | — | — | — | + | — | — |
| Shigella paradysent. (Флекснер) . . . | — | — | — | к | к | к | к | к | — | — | — | + | — | — |
| Shigella Sonne (Зонне) . . . . . | — | — | к на 2-е сутки | к | к | к | к | к | — | — | — | — | — | — |
| Shigella paradysent var. Newcastle (Ньюкестл) . . . . | + — | — | — | к иногда газ | + — | — | — | к | — | — | — | — | — | — |
| S. typhi . . . . . | + | — | — | к | к | к | — | щ или нейт | | | | — | + | — |

Продолжение

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S. paratyphi A . . . | + | — | — | кг | кг | кг | – | щ или нейтр. | | | | — | Варьир. | — |
| S. paratyphi B . . . | + | — | — | кг | кг | кг | — | щ | | | | — | + | — |
| S. typhi murium. . . | + | — | — | кг | кг | кг | — | щ | | | | — | + | — |
| S. enteritidis . . . . | + | — | — | кг | кг | кг | — | щ | | | | — | + | — |
| S. cholerae suis . . . | + | — | — | кг | кг | кг | — | щ | | | | — | — | — |
| B. morgani . . . . . | + | — | — | кг | — | — | — | щ | | | | + | + | — |
| B. coli commune | + | — | кг | кг | кг | кг | кг | к | — | + | — | ± | ± | — |
| B. paracoli . . . . . | + | — | — | кг | кг | кг | кг | к | Варьир. | | | ± | ± | — |
| B. coli citrovorum | + | — | кг | кг | кг | кг | кг | к | + | + | — | ± | ± | — |
| B. coli aerogenes | + | — | кг | кг | кг | кг | кг | к | + | — | + | ± | ± | — |
| Proteus vulgaris . . . | + | — | — | кг | — | кг | кг | щ | ± | | — | ± | + | + |
| B. faecalis alcalig | + | — | — | — | — | — | — | щ | | | — | — | | — |

## Таблицы для расчета коли-титра

Таблица 1

| Вычисление коли-титра при посеве продукта в количестве | | | | Титр |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,1 | 0,01 | 0,001 | |
| — | — | — | — | Более 1,11 |
| — | — | — | + | 1,11 |
| — | — | + | — | 1,11 |
| — | + | — | — | ,05 |
| — | — | + | + | 0,5 6 |
| — | + | — | + | 0,53 |
| — | + | + | — | 0,46 |
| + | — | — | — | 0,43 |
| — | + | + | + | 0,36 |
| + | — | — | + | 0,11 |
| + | — | + | — | 0,10 |
| + | — | + | + | 0,03 |
| + | + | — | — | 0,04 |
| + | + | — | + | 0,01 |
| + | + | + | — | 0,004 |
| + | + | + | + | Менее 0,004 |

Таблица 2

| Вычисление коли-титра при посеве продукта в количестве | | | | Титр |
|---|---|---|---|---|
| 0,1 | 0,01 | 0,001 | 0,0001 | |
| — | — | — | — | Более 0,111 |
| — | — | — | + | 0,111 |
| — | — | + | — | 0,111 |
| — | + | — | — | 0,105 |
| — | — | + | + | 0,056 |
| — | + | — | + | 0,053 |
| — | + | + | — | 0,046 |
| + | — | — | — | 0,043 |
| — | + | + | + | 0,036 |
| + | — | — | + | 0,011 |
| + | — | + | — | 0,010 |
| + | — | + | + | 0,006 |
| + | + | — | — | 0,004 |
| + | + | — | + | 0,001 |
| + | + | + | — | 0,0004 |
| + | + | + | + | Менее 0,0004 |

Таблица 3

| Вычисление коли титра при посеве продукта в количестве | | | | Титр |
|---|---|---|---|---|
| 0,01 | 0,001 | 0,0001 | 0,00001 | |
| — | — | — | — | 0,0111 |
| — | — | — | + | 0,0111 |
| — | — | + | — | 0,0111 |
| — | + | — | — | 0,0105 |
| — | — | + | + | 0,0056 |
| — | + | — | + | 0,0053 |
| — | + | + | — | 0,0046 |
| + | — | — | — | 0,0043 |
| — | + | + | + | 0,0036 |
| + | — | — | + | 0,0011 |
| + | — | + | — | 0,0010 |
| + | — | + | + | 0,0006 |
| + | + | — | — | 0,0004 |
| + | + | — | + | 0,0001 |
| + | + | + | — | 0,00004 |
| + | + | + | + | Менее 0,00004 |

| Вычисление коли-титра при посеве продукта в количестве | | | | Титр |
|---|---|---|---|---|
| 0,01 | 0,0001 | 0,00001 | 0,000001 | |
| — | — | — | — | 0,00111 |
| — | — | — | + | 0,00111 |
| — | — | + | + | 0,00111 |
| — | + | — | — | 0,00105 |
| — | — | + | + | 0,00056 |
| — | + | — | + | 0,00053 |
| — | + | + | — | 0,00046 |
| + | — | — | — | 0,00043 |
| — | + | + | + | 0,00036 |
| + | — | — | + | 0,00011 |
| + | — | + | — | 0,00010 |
| + | — | + | + | 0,00006 |
| + | + | — | — | 0,00004 |
| + | + | — | + | 0,00001 |
| + | + | + | — | 0,000004 |
| + | + | + | + | Менее 0,000004 |

## СОДЕРЖАНИЕ


I. Введение . . . . . 1
II. Общая часть . . . . . 1
III. Порядок проведения планового санитарно-бактериологического контроля . . . . . 3
1. Общие указания . . . . . 3
2. Взятие смывов с оборудования, инвентаря, посуды и рук персонала . . . . . 5
3. Отбор проб готовых блюд на предприятиях общественного питания и товаров, реализуемых в торговой сети . 6
4. Отбор проб при обследовании технологического процесса . . . . . 7
5. Обследование мойки столовой посуды . . . . . 8
6. Отбор проб продуктов и воды . . . . . 9
IV. Методика бактериологического исследования смывов . . 10
1. Определение наличия бактерий группы кишечной палочки . . . . . 10
2. Определение титра кишечной палочки . . . . . 13
3. Определение общего количества бактерий . . . . . 14
V. Методика исследования продуктов и готовых блюд . . 17
1. Приготовление разведений . . . . . 19
2. Определение титра кишечной палочки . . . . . 19
3. Определение общего количества бактерий . . . . . 20
VI. Анализ данных, полученных при проведении санитарно бактериологического контроля . . . . . 21
VII. Обследование предприятий общественного питания по эпидемиологическим показаниям . . . . . 24
1. Методика отбора проб . . . . . 24
2. Методика микробиологического исследования . . . . 24
3. Исследование на бактерии группы салмонелл . . . 25
4. Исследование на бактерии дизентерийной группы . . 26
5. Исследование на содержание протея . . . . . 27
6. Исследование на палочку Моргана . . . . . 27
VIII. Постановки биохимических и серологических реакций и изготовление питательных сред . . . . . 27
1. Постановка биохимических и серологических реакций 27
2. Приготовление питательных сред . . . . . 31
3. Приготовление красок для окраски по Граму . . . . 34

Редактор *Т. С. Медокс*
Техн. редактор *Н. А. Бульдяев*
Корректор *В. С. Солоусова*

Сдано в набор 21/V 1957 г. Подп. к печ. 31/X 1957 г. Формат бумаги $84\times108^{1}/_{32}$= 0,69 бум. л. 2,26 печ. л. 2,29 уч.-изд. л. Заказ 2488 Тираж 10 000 экз. МО=52

Медгиз, Москва, Петровка, 12
Серпуховская типография

Бесплатно

## ОПЕЧАТКИ

| Страница | Строка | Напечатано | Следует читать | По чьей вине |
|---|---|---|---|---|
| 16 | 4 сверху | объекта | объектива | автор |
| 38 | табл. 1 графа „титр“ 4 сверху | 0,5 | 1,05 | тип. |
| 38 | там же 5 снизу | 0,03 | 0,06 | автор |

gost.e-ecolog.ru