

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

А. Н. Сибен, А. М. Иванюшина

## **САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА**



Учебное пособие

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Государственный аграрный университет Северного Зауралья»  
Институт биотехнологии и ветеринарной медицины  
Кафедра инфекционных и инвазионных болезней

**А. Н. Сибен, А. М. Иванюшина**

**САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА**

Учебное пособие  
(для студентов специальностей 36.05.01 Ветеринария,  
36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза, 35.03.07 Технология производства  
и переработки сельскохозяйственной продукции)

Текстовое (символьное) электронное издание

Редакционно-издательский отдел ГАУ Северного Зауралья

Тюмень 2024

© А. Н. Сибен, А. М. Иванюшина, 2024  
© ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024

ISBN 978-5-98346-185-7

УДК 637.07:636.5

ББК 48.1:46.8

**Рецензенты:**

научный сотрудник лаборатории акарозов животных, ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН, кандидат ветеринарных наук А. А. Эргашев;  
доцент кафедры незаразных болезней сельскохозяйственных животных, Институт биотехнологии и ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, кандидат ветеринарных наук В. А. Куртеков

**Сибен, А. Н.**

Санитарно-микробиологические исследования продукции птицеводства / А. Н. Сибен, А. М. Иванюшина. – Тюмень, 2024. – 67 с. – URL: <https://www.gausz.ru/nauka/setevye-izdaniya/2024/siben.pdf>. – Текст : электронный.

Учебно-методическое пособие «Санитарно-микробиологические исследования продукции птицеводства» может быть использовано преподавателями при проведении занятий по дисциплине «Ветеринарно-санитарная экспертиза», «Санитарная микробиология», «Ветеринарная микробиология и микология», «Микробиология» для направлений подготовки 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза, 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, а так же специальности 36.05.01 Ветеринария, всех форм обучения и организации самостоятельной работы обучающихся. Учебное пособие составлено на основе нормативных документов, регламентирующих качество продукции птицеводства.

Учебно-методическое пособие рассмотрено, одобрено и рекомендовано к изданию методической комиссией Института биотехнологии и ветеринарной медицины Государственного аграрного университета Северного Зауралья (протокол № 4 от «19» декабря 2024 года).

Текстовое (символьное) электронное издание

© А. Н. Сибен, А. М. Иванюшина, 2024  
© ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. КЛАССИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА	5
2. САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА ПТИЦЫ	7
2.1. ОТБОР ПРОБ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛИЗОВ	7
2.2. ВЫЯВЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МЕЗОФИЛЬНЫХ АЭРОБНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ (КМАФАНМ)	10
2.3. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК (КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ)	12
2.4. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PROTEUS</i>	12
2.5. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	13
2.6. ВЫЯВЛЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ	15
2.7. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> И ДРУГИХ ВИДОВ <i>LISTERIA (LISTERIA SPP.)</i> (ГОСТ 32031-2022)	23
2.8. ВЫЯВЛЕНИЯ И ПОДСЧЕТА СУЛЬФИТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, РАСТУЩИХ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ (ГОСТ 29185—2014)	34
3. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВЫХ ЯИЦ	38
3.1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ЯИЦ	43
4 ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОНТРОЛЬ ТУШЕК, МЯСА ПТИЦЫ, ПТИЦЕПРОДУКТОВ И ЯЙЦЕПРОДУКТОВ	56
ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	60
НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ	66

## Введение

Современное промышленное птицеводство в России вносит весомый вклад в обеспечение продовольственной безопасности страны и импортозамещение. Стратегия инновационного развития птицеводства в Российской Федерации и в отдельно взятых регионах страны должна выстраиваться по следующим основным направлениям, обеспечивающим реализацию положений новой Доктрины продовольственной безопасности (2020 г.): обеспечение количественных показателей (производство, потребление, экспорт, импорт птицеводческой продукции); обеспечение качественных показателей (ветеринарное благополучие, повышение биобезопасности, безопасность и качество продукции, государственные программы мониторинга безопасности продуктов питания, расширение ассортимента продукции, формирование здорового типа питания, формирование рынка органической продукции птицеводства); формирование эффективного, конкурентоспособного производства экономически доступной для всех слоев населения птицеводческой продукции, обеспечивающей продовольственную безопасность региона, а также интеграцию отрасли в логистическую инфраструктуру и рынки продовольствия; повышение качества жизни сельского населения, развитие социальной инфраструктуры села; сохранение природных ресурсов аграрного производства на основе повышения его технологического уровня, ресурсосберегающих и экологически безопасных технологий; решение вопросов по обращению с отходами птицеводства (проблема оборота и переработки помета). Необходимо разработать систему прослеживаемости производства продукции в целях гарантии ее качества и безопасности на всех этапах («от поля до прилавка»).

## 1. КЛАССИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКЦИИ ПТИЦЕВОДСТВА

Начало птицеводству было положено более 3 тысячелетий назад в Индии, древние жители которой впервые одомашнили кур. Их опыт переняли египтяне, а затем птицеводство перекочевало и в другие страны.

В дореволюционной России домашнюю птицу разводили в крестьянских хозяйствах. Интенсивное развитие птицеводства началось в СССР: в 1930-32 гг. в Московской области были созданы первые птицефабрики – Томилинская, Братцевская, Глебовская.

На сегодняшний день в стране насчитывается более 500 птицефабрик, большинство из которых размещены вблизи больших городов и промышленных центров. Птицеводство в России достигло высокого уровня, позволяющего не только полностью обеспечить население качественной продукцией, но и экспортировать мясо птицы за рубеж.

К основным видам продуктов птицеводства относятся:

мясо домашней птицы, поставляемое потребителю в виде тушек – замороженных и охлажденных (42%), натуральных и рубленых полуфабрикатов (25,5%), колбас, консервов и прочих готовых к употреблению продуктов (32,5%);

яйца – пищевые (62% производимых по ГОСТ, 25% - лечебно-профилактическая продукция, обогащенная полиненасыщенными жирными кислотами, микроэлементами, витаминами, 7,5% - жидкие пастеризованные яйца, асептически упакованные) и инкубационные;

Побочными продуктами птицеводства являются:

пух и перо;

помет, используемый в сельском хозяйстве в качестве удобрения.

Промышленному птицеводству отводится ведущее место в снабжении населения России животноводческой продукцией. Третья часть потребности населения страны в белках животного происхождения обеспечивается за счет куриного мяса и яиц, являющихся социально значимыми продуктами. В структуре питания жителей российских городов на долю продуктов птицеводства приходится около 35%. В общем объеме выпускаемой птицефабриками продукции 25% составляет мясо птицы и 75% - куриные яйца.

В структуре российского производства мяса птицы 97% приходится на производство мяса кур-бройлеров. В последние годы в России активно развивается производство мяса индейки, однако его доля пока не превышает 2% от общего объема производства птичьего мяса. Лишь 1% составляет мясная продукция альтернативного птицеводства – мясо уток гусей, перепелов.

Основные производители птицеводческой продукции на российском рынке представлены крупными вертикально ориентированными сельскохозяйственными холдингами с развитыми дистрибьюторскими сетями. Для них характерен замкнутый производственный цикл, поскольку такие предприятия имеют собственные племенные репродукторы,

инкубатории, комбикормовые заводы и заводы, производящие белковые корма животного происхождения, площадки для откорма кур-бройлеров, заводы по убою птицы и углубленной переработке мяса, логистические службы, автотранспортные подразделения.

Производство на птицефабриках организовано по поточному принципу и осуществляется в цехах:

родительского стада;

инкубационном;

выращивания молодняка;

мясного молодняка или промышленного стада;

убоя, обработки птицы;

сортировки, упаковки яиц;

переработки производственных отходов.

### **Вопросы для самопроверки**

1. Перечислите категории продукции птицеводства.
2. Дайте характеристику основным направлениям отрасли.
3. Перечислите цеха на птицефабрике.
4. История отрасли и основные современные направления.

## **2. САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЯСА ПТИЦЫ**

Основной задачей микробиологического контроля птицеперерабатывающего предприятия является обеспечение выпуска продукции высокого качества, безопасного в эпидемическом и эпизоотическом отношении. Микробиологическому контролю подвергаются санитарное состояние производства, поступающие материалы и сырье, продукты в процессе технологической обработки, готовую продукцию.

Результаты микробиологического исследования качества готовой продукции являются ретроспективными и позволяют оценивать санитарно-гигиеническое благополучие предприятия, по ним судят о соблюдении технологических процессов. В случаях ухудшения микробиологических показателей готовой продукции контроль должен быть направлен на выявление источников и причин повышения микробной обсемененности с целью их ликвидации.

Для улучшения санитарно-гигиенического и технологического режимов на предприятиях микробиологическую оценку качества готовой продукции, мойки и дезинфекции технологического оборудования, а также соблюдение личной гигиены следует включать в оценку качества труда цехового персонала при выплате премиальных доплат.

Микробиологические исследования проводят специалисты-микробиологи предприятия. В случае отсутствия названных специалистов на предприятии контроль осуществляют по особому графику контрольно-производственные лаборатории головных предприятий или заключается договор с ветеринарными или другими лабораториями о проведении микробиологических исследований на предприятии с указанием периодичности контроля.

Плановые микробиологические исследования на предприятиях проводят в соответствии с инструкциями, гостами и методическими указаниями, а также исследования по эпидемиологическим показаниям - в соответствии с требованиями территориальной санэпидемслужбы.

### **Вопросы для самопроверки**

1. Санитарные правила на птицеводческих предприятиях.
2. Порядок проведения контрольных мероприятий.
3. Приведите примеры плановых микробиологических исследований.

### **2.1. ОТБОР ПРОБ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛИЗОВ**

Перед отбором проб (ГОСТ 26668-85) визуально определяют внешний вид упаковочных единиц и (или) продукта, попавших в выборку, и подразделяют их на следующие группы:

- нормальные по внешнему виду, при осмотре которых не обнаружены отклонения, вызванные развитием микроорганизмов;
- подозрительные по внешнему виду, при осмотре которых обнаружены одно или несколько отклонений, которые могли возникнуть как вследствие

микробной порчи, так и вследствие химических и биохимических реакций в продукте;

- испорченные продукты, при осмотре которых обнаружены явные дефекты упаковочных единиц и (или) продукта: бомбаж, хлопущи, брожение, плесневение, гниение, ослизнение, прокисание и др. Отбор проб от продукции проводят по каждому виду отдельно.

Пробы продуктов для микробиологических анализов отбирают до отбора проб для физико химических и органолептических анализов. Пробы от продуктов отбирают асептическим способом, исключающим микробное загрязнение продукта из окружающей среды.

Пробы продуктов для микробиологических анализов отбирают в стерильную посуду, горло которой предварительно обжигают в пламени горелки. Пробы отбирают с помощью стерильных инструментов. Масса (объем) пробы продукта устанавливается в соответствии с нормативно-технической документацией на конкретный вид продукции и должна быть достаточной для проведения микробиологических анализов. Если масса (объем) пробы продукта равна массе (объему) продукта в потребительской таре, попавшего в выборку, то используют ее содержимое. Если масса (объем) продукта в потребительской таре меньше массы (объема) пробы, то ее формируют из нескольких единиц продуктов в потребительской таре (кроме консервов). От продукции в транспортной или потребительской таре, масса (объем) которой больше массы (объема) пробы, от неупакованной продукции или в специализированных транспортных средствах пробы отбирают путем взятия точечных проб из разных мест и с различной глубины, а также с поверхностных слоев, соприкасающихся с тарой, в одну посуду или каждую пробу в отдельную посуду в зависимости от цели анализа. Если масса (объем) пробы продукта не установлена в нормативно-технической документации на конкретный вид продукции, то от каждой упаковочной единицы, попавшей в выборку, отбирают:

- не менее 1 шт. — от продукции в потребительской таре;
- до 1000 г (см<sup>3</sup>) — от продукции в транспортной таре (кусковой, жидкой, пастообразной, сыпу чей и смешанной консистенции).

#### *Отбор проб от кусковой продукции*

Пробы от кусковой продукции массой нетто до 1000 г проводят ложкой, половником, пинцетом или другим инструментом, в зависимости от вида и размера кусков продукта. Пробу помещают в посуду или упаковывают в фольгу. Пробы от кусковой продукции массой нетто более 1000 г отбирают одним из следующих методов:

- отрезают или вырезают часть продукта ножом, пилой или другим инструментом. У изделий квадратной формы разрез делают перпендикулярно к грани, у изделий продольной формы — перпендикулярно продольной оси, у шарообразных изделий — клинообразно. Пробу помещают в посуду или упаковывают в фольгу;

- продукт в нескольких местах режут ножом и с поверхности разреза и из глубины продукта скальпелем берут необходимое количество кусков, которое пинцетом переносят в широкогорлую посуду;

- срезают поверхностный слой продукта толщиной от 0,5 до 1 см ножом или проволокой, при помощи пробоотборника (буравчика или зонда) выдавливают (выжимают) продукт в широкогорлую посуду. Этот прием повторяют до тех пор, пока не отберут необходимое количество массы (объема) пробы. При отборе пробы из глубины продукта его просверливают в разных местах не менее чем до половины высоты;

- от твердого или хрупкого продукта пробы отбирают при помощи долота или другого инструмента.

#### *Отбор проб от жидкой или пастообразной продукции*

Из емкости вместимостью до 1000 см<sup>3</sup> пробу отбирают пипеткой или металлическим половником. Если продукт неоднороден по высоте емкости, то содержимое ее перед отбором пробы тщательно перемешивают.

Из емкости вместимостью более 1000 см<sup>3</sup> пробы отбирают с различной глубины не менее чем из трех слоев продукта, в одну посуду или каждую пробу в отдельную посуду, в зависимости от цели анализа.

При отборе проб из резервуара, оснащенного краном, кран сначала промывают, вытирают ватой, пропитанной этиловым спиртом, и обжигают в пламени, затем выпускают от 1 до 10 см<sup>3</sup> жидкости (в зависимости от вместимости резервуара и диаметра крана) и только после этого отбирают пробы в посуду таким образом, чтобы требуемое количество жидкости выпускалось непосредственно в посуду.

Данный метод не применим для отбора проб от продуктов, содержащих спирты.

#### *Транспортирование и хранение*

Каждую отобранную пробу маркируют этикетками с указанием наименования продукта, предприятия-изготовителя, номера партии, даты отбора проб, цели микробиологического анализа, подписи лиц, отбравших пробу. Отобранные пробы, предназначенные для анализа вне предприятия-изготовителя, пломбируют и опечатывают печатью организации, отвечающей за контролируемую продукцию, и транспортируют в лабораторию.

Пробы замороженных продуктов укладывают в изотермическую тару (термос, изотермическая коробка) или обкладывают сухим льдом (СО<sub>2</sub>), или упаковывают другим способом, обеспечивающим сохранение проб в замороженном состоянии при температуре, не превышающей минус 15 °С.

Пробы скоропортящихся продуктов транспортируют при температуре 5 °С не более 6 ч, за исключением продуктов, на которые предусмотрены специальные условия для транспортирования проб в нормативно-технической документации.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Порядок отбора проб жидкой продукции.
2. Порядок отбора проб кусковой продукции.

3. Правила отбора проб для микробиологических исследований.
4. Транспортировка и хранение проб.

## **2.2. ВЫЯВЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МЕЗОФИЛЬНЫХ АЭРОБНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ (КМАФАНМ)**

Метод основан на высеве определенного количества продукта в плотные культуральные среды, аэробном культивировании посевов при температуре  $(30\pm 1)$  °С в течение  $(72\pm 3)$  ч, подсчете всех выросших видимых колоний и определении количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в  $1\text{ см}^3$  (г) продукта.

### ***Проведение анализа***

Из навески подготовленной пробы продукта готовят исходное и ряд 10-кратных разведений до такой степени, чтобы можно было определить предполагаемое количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в  $1\text{ см}^3$  (г) яичного продукта.

Посевы проводят глубинным агаровым методом. Перед посевом чашки маркируют. На дне чашки Петри маркером ставят номер исследуемого образца продукта, разведение и дату. Высевают одновременно в две чашки Петри (параллельные определения) по  $1\text{ см}^3$  соответствующих последовательных разведений. Пипетку с посевным материалом держат под углом  $45^\circ$ , не касаясь концом пипетки дна чашки. В каждую чашку Петри с посевным материалом не позднее чем через 15 мин добавляют  $(18\pm 2)\text{ см}^3$  одной из агаризованных расплавленных и охлажденных до температуры  $(45\pm 1)$  °С культуральных сред (питательного, мясо-пептонного агара, ГРМ-агара или др.). Чашки с посевами, залитыми питательной средой, осторожно покачивают или вращают для равномерного распределения посевного материала во всей питательной среде. Чашки Петри с посевами расставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания культуральной среды. Для предотвращения роста микроорганизмов, образующих налеты на поверхности среды (ползучий рост), в чашки Петри с посевным материалом наливают  $(13\pm 2)\text{ см}^3$  выбранной культуральной среды, перемешивают и после застывания на нее наливают без перемешивания второй слой -  $(5\pm 2)\text{ см}^3$  этой же разогретой и охлажденной до температуры  $(45\pm 1)$  °С культуральной среды. После застывания среды чашки с посевами, перевернутые дном вверх, культивируют в термостате при температуре  $(30\pm 1)$  °С в течение  $(72\pm 3)$  ч. Допускается предварительный учет количества выросших колоний через  $(48\pm 1)$  ч с последующим окончательным учетом еще через  $(24\pm 1)$  ч. Чашки Петри с посевами распределяют в термостате по ГОСТ ISO 7218.

### ***Обработка результатов***

Результаты анализа оценивают по каждой пробе отдельно. Подсчет микроорганизмов проводят по ГОСТ ISO 7218. Подсчет проводят в посевах того разведения, количество колоний в котором не более 300. Для получения

достоверных результатов при подсчете количества колоний необходимо, чтобы хотя бы в одной чашке содержалось не менее 15 колоний.

Количество микроорганизмов  $N$  в  $1 \text{ см}^3$

(г) продукта вычисляют как средневзвешенное значение из подсчетов двух последовательных разведений по формуле

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

где  $\sum C$  - сумма колоний, подсчитанных на всех чашках в двух последовательных разведениях, из которых хотя бы в одной из них содержалось не менее 15 колоний;

$V$  - объем посевного материала, внесенного в чашку,  $\text{см}^3$ ;

$n_1$  - количество отобранных для подсчета чашек первого выбранного разведения;

$n_2$  - количество отобранных для подсчета чашек последующего разведения;

$d$  - коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению.

Результаты вычисления округляют. Для этого, если последняя цифра меньше пяти, предшествующую цифру не изменяют; если последняя цифра равна или больше пяти, предшествующую цифру увеличивают на единицу. Округление проводят поэтапно, до двух значащих цифр.

Результаты подсчета количества микроорганизмов в  $1 \text{ см}^3$  (г) продукта выражают числом КОЕ от 1,0 до 9,9, умноженным на 10 в соответствующей степени, и записывают следующим образом: КМАФАнМ:  $N \times 10^n$  КОЕ/ $\text{см}^3$  (г). Если в чашках на уровне исходной пробы продукта не содержится ни одной колонии, то результат выражают: меньше чем  $1,0 \times 10$  микроорганизмов в  $1 \text{ см}^3$  (г) продукта и записывают как КМАФАнМ:  $<10$  КОЕ/ $\text{см}^3$  (г). Допускается для целей экспрессного выявления и определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов использовать следующее: подложки или пластины в виде подготовленной тест-системы, содержащей набор питательных веществ; бактериологические анализаторы, основанные на оптико-электронном принципе, и другие методы, зарегистрированные и разрешенные к применению в Российской Федерации. Проведение анализа и учет результатов с использованием таких методов проводят по методическим инструкциям, утвержденным в установленном порядке.

### Вопросы для самопроверки

1. Основные микробиологические исследования продукции из мяса птицы.
2. Что такое КМАФАнМ.
3. Порядок проведения исследований на КМАФАнМю
4. Пробоподготовка и порядок обработки результатов.

### **2.3. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК (КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ)**

Метод основан на выявлении бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий), способных ферментировать лактозу с образованием кислоты и газа.

#### *Проведение анализа*

По 1 см<sup>3</sup> из разведений жидких или сухих яичных продуктов, вносят в пробирки со средой Кесслера или Хейфеца. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. Из пробирок с признаками роста (изменение цвета среды, помутнение, газообразование) делают высева на среду Эндо. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. Затем посева просматривают и отмечают рост колоний, характерных для бактерий группы кишечных палочек (плоские или слегка выпуклые, или с валиком, красные с различной интенсивностью окраски, розовые, бледно-розовые с металлическим или без металлического блеска). Из не менее чем трех характерных колоний готовят препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют.

#### *Обработка результатов*

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. Обнаружение на среде Эндо характерного роста колоний, наличие в мазках из этих колоний грамтрицательных палочек, сбрасывающих лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37±1) °С, указывают на выявление в продукте бактерий группы кишечных палочек. Результат записывают как: БГКП "не обнаружены" или "обнаружены" в 0,1 см<sup>3</sup> (г) продукта. Допускается для целей экспрессного выявления и определения бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) использовать следующее: подложки или пластины в виде подготовленной системы, содержащей набор питательных веществ, герметично закрытых непроницаемой мембраной; бактериологические анализаторы, основанные на оптико-электронном принципе и на принципе импеданса.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Определение колиформных бактерий.
2. Перечислите использованные среды и порядок их применения.
3. Дайте характеристику методам микроскопии.
4. Интерпретация результатов.

### **2.4. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА PROTEUS**

Метод основан на высева определенного количества продукта в конденсационную воду свежескопшенного агара, способности бактерий рода *Proteus* давать ползучий, опережающий другие виды бактерий рост и образовывать сероводород.

1 см<sup>3</sup> жидких продуктов или 1 см<sup>3</sup> из разведений 1:10 прочих продуктов вносят в конденсационную воду пробирок со свежескошенным питательным или мясо-пептонным агаром, не прикасаясь к скошенной поверхности среды. Посевы инкубируют в термостате при температуре (37±1) °С в течение 24 ч. При учете посевов обращают внимание на образование ползучего муарообразного налета с голубоватым оттенком на скошенном агаре, поднимающегося из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды и издающего резкий гнилостный запах. При появлении характерного роста микробов рода *Proteus* готовят мазки, окрашивают их по Граму, микроскопируют. Бактерии рода *Proteus* - неспорообразующие грамотрицательные палочки. Для определения способности образовывать сероводород подозрительные на сальмонеллы культуры с агара высевают методом укола в столбик и штрихами по скошенной поверхности одной из сред - Крумвиде-Олькеницкого или Клиглера. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При образовании сероводорода столбик среды чернеет. Бактерии рода *Proteus* образуют сероводород, при этом в столбике среды появляется газ, что указывает на ферментацию глюкозы.

Определение количества бактерий рода *Proteus* методом наиболее вероятного числа проводят по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ 31746.

#### *Обработка результатов*

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. Наличие характерного роста в виде тонкого муарообразного налета, поднимающегося вверх от конденсата на свежескошенном агаре, резкого гнилостного запаха, неспорообразующих грамотрицательных палочек в мазках, образующих сероводород, указывает на присутствие бактерий рода *Proteus* в 1 см<sup>3</sup> (г) продукта.

Результат записывают как "не обнаружены" или "обнаружены" бактерии рода *Proteus* в 1 см<sup>3</sup> (г) продукта. Для экспресс-выявления и бактерий рода *Proteus* допускается использование биохимических тест-систем, допущенных к применению на территории государства, принявшего стандарт, которые представляют собой набор одноразового использования в виде планшета со стрипами, на дно лунок которых нанесены соответствующие субстраты с индикаторами. Проведение анализа и учет результатов проводят по инструкции производителя.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте характеристику бактерий рода *Proteus*.
2. Порядок проведения исследования.
3. Дайте характеристику использованных сред и регламентов их применения.
4. Интерпретация результатов.

## **2.5. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

Сущность метода основана на высеве определенного количества продукта или его разведений в культуральные селективные среды,

способности стафилококков расти на средах с повышенным содержанием хлористого натрия, коагулировать плазму крови кролика и образовывать кислоту из маннита и мальтозы в аэробных условиях.

#### *Проведение анализа*

Продукты в количестве 1 см<sup>3</sup> (г) высевают в пробирки, содержащие по 9 см<sup>3</sup> солевого бульона. Через 24 ч инкубирования при температуре (37±1) °С проводят пересев бактериологической петлей на чашки Петри с подсушенным желточно-солевым агаром. Чашки с посевами инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-24 ч. Для лучшего выявления пигментов после суточной инкубации чашки с посевами выдерживают на свету при комнатной температуре 18-24 ч. На желточно-солевом агаре колонии *St. aureus* имеют форму выпуклых дисков диаметром 2-4 мм желтого, белого, кремового, лимонного, золотистого цветов с ровными краями, вокруг колоний образуется радужное кольцо. Из колоний, предположительно относящихся к *St. aureus*, готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Колонии грамположительных мелких кокков, гроздевидно расположенные в мазке, бактериологической петлей отсевают в чашки Петри с питательным или мясо-пептонным агаром. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-24 ч.

Из выросших на агаре колоний, предположительно относящихся к *St. aureus*, после проверки мазков на чистоту культуры под микроскопом ставят реакцию плазмокоагуляции. Для этого в две пробирки помещают по 0,5 см<sup>3</sup> разведенной кроличьей плазмы. В одну пробирку вносят петлей исследуемую суточную агаровую культуру, другую пробирку оставляют незасеянной. Пробирки помещают в термостат при температуре (37±1) °С. Учет результатов проводят через 2-4 ч и пробирки оставляют до утра при комнатной температуре для окончательного учета. Пробирки следует просматривать осторожно, чтобы не разрушить образовавшийся сгусток. При учете реакции плазмокоагуляции могут наблюдаться три степени активности фермента коагулазы:

++++ - сгусток плотный, при наклоне пробирки неподвижен;

+++ - сгусток, имеющий небольшой отсек, при наклоне пробирки подвижен, плотная коагуляция плазмы;

++ - сгусток в виде взвешенного мешочка, неполная коагуляция плазмы с образованием подвижного сгустка в центре плазмы.

Все три варианта являются положительным результатом. Колонии, предположительно относящиеся к *St. aureus*, выросшие на желточно-солевом агаре, бактериологической петлей пересевают в чашки Петри, содержащие агаризованную среду с маннитом (или мальтозой) и индикатором феноловым красным. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При положительной реакции вокруг колонии наблюдается желтое окрашивание среды, четко контрастирующее с пурпурно-красным фоном.

Для выявления и биохимической идентификации *St. aureus* допускается использование коммерческих тест-систем, допущенных к применению на

территории государства, принявшего стандарт, которые представляют собой набор одноразового использования в виде планшета со стрипами, на дно лунок которых нанесены соответствующие субстраты с индикаторами. Проведение анализа и учет результатов проводят по инструкции производителя.

#### *Обработка результатов*

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно. Наличие грамположительных гроздевидно расположенных мелких кокков в мазках из характерных колоний на желточно-солевом агаре, положительная реакция плазмокоагуляции, ферментация маннита и мальтозы с образованием кислоты свидетельствуют о выявлении в 1 см<sup>3</sup> (г) продуктов *St. aureus*.

Результат записывают как "не обнаружены" или "обнаружены" *St. aureus* в 1 см<sup>3</sup> (г) продукта.

Допускается для целей экспрессного выявления *St. aureus* и/или подтверждения принадлежности выделенных культур к *St. aureus* использование подложек или пластин в виде подготовленной тест-системы, содержащей набор питательных веществ, герметично закрытых непроницаемой мембраной; иммунохроматографических экспресс-тестов; бактериологических анализаторов, например на принципе импеданса; метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Проведение анализа и учет результатов с использованием таких методов проводят по инструкциям к прибору.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте характеристику бактерий рода *St. aureus*.
2. Порядок проведения исследования.
3. Дайте характеристику использованных сред и регламентов их применения.
4. Охарактеризуйте реакцию плазмокоагуляции.
5. Интерпретация результатов

## **2.6. ВЫЯВЛЕНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ**

Отбор и подготовка проб по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ 7702.2.0 со следующим дополнением:

"проба для проведения испытаний должна быть представительной, не поврежденной и не измененной в процессе транспортирования и временного хранения".

#### ***Проведение анализа***

##### *Предварительное неселективное обогащение*

Предварительное неселективное обогащение направлено на выявление в испытуемой пробе небольшого числа бактерий рода *Salmonella* и поврежденных бактерий рода *Salmonella*.

Для приготовления исходной суспензии используют неселективную пептонно-буферную среду или другую среду для предварительного неселективного обогащения. Для большего эффекта перед внесением навески продукта пептонно-буферную среду или другую среду для предварительного неселективного обогащения нагревают в водяной бане до температуры (37±1) °С. Подготовленную пептонно-буферную среду или другую среду для

предварительного неселективного обогащения инокулируют при комнатной температуре навеской продукта массой  $(25 \pm 0,1)$  г. Соотношение между количеством высеваемого продукта и количеством неселективной среды 1:10:( $25 \pm 0,1$ ) г пробы на  $(225,0 \pm 0,1)$  см<sup>3</sup> среды. Посевы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)$  °С в течение  $(18 \pm 2)$  ч.

В случае, если масса пробы другая, чем  $(25 \pm 1)$  г, соотношение между количеством высеваемого продукта и количеством неселективной среды 1:10. В случае если исследуют больше одной пробы от определенного продукта и когда очевидно, что объединенная навеска не влияет на результат испытания, то для уменьшения объема работы навески объединяют, соблюдая при посеве соотношение между массой общей навески и количеством неселективной среды 1:10.

#### *Селективное обогащение*

Культуры из среды для предварительного неселективного обогащения пересевают в две среды для селективного обогащения. Для этого  $0,1$  см<sup>3</sup> культуры пересевают в  $(10,0 \pm 0,1)$  см<sup>3</sup> среды Раппапорта-Вассилиадиса с соей (RVS-бульон) и  $1,0$  см<sup>3</sup> культуры, пересевают в  $(10,0 \pm 0,1)$  см<sup>3</sup> в одну из сред: тетраэтилатный бульон (Мюллер-Кауфмана), селенитовую обогатительную, селенит-цистиновый накопительный бульон, магниевую, модифицированную полужидкую среду MSR/V или другую среду для селективного обогащения. Посевы на RVS-бульоне инкубируют при температуре  $(41,5 \pm 1,0)$  °С в течение  $(24 \pm 3)$  ч.

Посевы на тетраэтилатном бульоне (Мюллер-Кауфмана), магниевой, селенитовой обогатительной, селенит-цистиновых средах инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)$  °С в течение  $(24 \pm 3)$  ч. При посеве на модифицированную полужидкую среду MSR/V  $0,1$  см<sup>3</sup> культуры из среды для предварительного неселективного обогащения пересевают на поверхность MSR/V среды. Для большей селективности допускается распределить посевную дозу ( $0,1$  см<sup>3</sup>) на три точки внесения по центру чашки Петри. Посевы на модифицированной полужидкой среде MSR/V инкубируют в течение  $(24 \pm 3)$  ч при температуре  $(41,5 \pm 1,0)$  °С. Чашки Петри не переворачивают. При отсутствии роста через  $(24 \pm 3)$  ч посевы дополнительно инкубируют в течение  $(24 \pm 3)$  ч. Для подвижных штаммов сальмонелл характерен диффузный рост в толще этой среды от центра к периферии.

На других средах, предназначенных для селективного обогащения, посевы инкубируют при температуре и с экспозицией по инструкции по их применению.

#### *Прямой посев в среды для селективного обогащения*

Продукты свежие, которые не были подвергнуты каким-либо физическим воздействиям (сушке, заморозке и другим воздействиям), допускается высевать непосредственно в селективные среды, исключая этап предварительного неселективного обогащения.

Соотношение между количеством высеваемого продукта и количеством селективной среды 1:10:(25,0±0,1) г пробы на (225,0±0,1) см<sup>3</sup> среды. В случае объединения навески продукта.

*Выделение чистой культуры на дифференциально-диагностических агаризованных средах и идентификация*

Для выделения чистой культуры после инкубирования на селективных средах по 8.2 проводят высеv посеvного материала на две агаризованные дифференциально-диагностические среды: на XLD-агар и на одну из сред: висмут-сульфитный агар, среду Плоскирева, среду Эндо, среду Левина, бриллиантово-зеленый агар. Для получения отдельных хорошо изолированных колоний бактериологической петлей (1 мкл) берут минимальное количество посеvного материала и проводят высеv штрихом по ГОСТ 26670 на поверхность чашек Петри с подсушенными дифференциально-диагностическими средами.

С модифицированной полужидкой MSRv среды бактериологической петлей (1 мкл) берут материал с границы зоны диффузного роста, осторожно касаясь поверхности среды, не захватывая сам агар, и переносят на поверхность дифференциальной среды штрихом по ГОСТ 26670. Чашки Петри с посевами переворачивают вверх дном, помещают в термостат при температуре (37±1) °C и инкубируют в течение (24±3) ч. Предварительный учет результатов проводят через (24±3) ч, окончательный - через (48±3) ч.

После инкубирования проводят просмотр чашек Петри на присутствие типичных или не совсем типичных (подозрительных) колоний (при росте на конкретной дифференциально-диагностической среде) для бактерий рода *Salmonella*. Выбранные колонии отмечают на дне чашки Петри для проведения последующей идентификации.

Бактерии рода *Salmonella* образуют:

- на XLD-агаре:

колонии с черным центром и слегка прозрачной зоной красноватого цвета, что принадлежит цвету индикатора;

колонии розовые с темным розовым центром (H<sub>2</sub>S - отрицательные бактерии рода *Salmonella*, например *S. paratyphi* A);

колонии желтые с почернением или без него (лактозоположительные бактерии рода *Salmonella*);

- на среде Эндо - колонии бесцветные или слегка розоватые;

- на среде Плоскирева - колонии бесцветные прозрачные, но более плотные, чем на среде Эндо;

- на висмут-сульфит агаре:

колонии черные с характерным металлическим блеском (например *S. typhi*) с пигментированием среды под колониями;

колонии зеленоватые с темно-зеленым ободком или бесцветные без пигментирования среды под колониями;

- на среде Левина - колонии прозрачные, слабо-розовые или розово-фиолетовые;

- на бриллиантовом зеленом агаре:

колонии красноватые или розовые, почти белые (их цвет зависит от штамма и срока инкубирования);

колонии зеленоватые, окруженные яркой желто-зеленой зоной (лактозоположительные и сахарозоположительные штаммы).

При использовании других дифференциально-диагностических сред для выявления бактерий рода *Salmonella* особенности роста и характеристики колоний описываются в инструкциях по их применению.

При отсутствии типичных или не совсем типичных (подозрительных колоний) в посевах на дифференциально-диагностических средах работу с посевами прекращают и конечный результат определяют как отсутствие бактерий рода *Salmonella* в анализируемой навеске (массе, объеме) продукта. При наличии хотя бы на одной дифференциально-диагностической агаризованной среде колоний типичных или не совсем типичных (подозрительных колоний) для бактерий рода *Salmonella* проводят отбор колоний для дальнейших исследований.

#### *Идентификация бактерий рода Salmonella*

Для идентификации бактерий рода *Salmonella* допускается использование наборов тест-систем промышленного производства, разрешенных к применению на территории государства, принявшего стандарт. Идентификация с использованием наборов тест-систем для идентификации микроорганизмов основана на использовании стандартных биохимических микротестов. Системы используют по инструкции производителя со специальной адаптированной под микротесты базой данных.

Для подтверждения идентификации бактерий рода *Salmonella* допускается использование латекс-тестов. Для проведения идентификации бактерий рода *Salmonella* по биохимическим свойствам и серологическим реакциям используют только чистые культуры.

*Отбор и подготовка колоний к идентификации по биохимическим свойствам и серологическим реакциям*

С каждой чашки Петри, с дифференциально-диагностической агаризованной среды отбирают сначала одну колонию, типичную или не совсем типичную (подозрительную), и затем четыре колонии, если первая отрицательная. Рекомендуется брать сразу пять колоний для идентификации в случае эпидемиологической ситуации. При наличии в одной чашке Петри менее пяти типичных или не совсем типичных (подозрительных) колоний отбирают все типичные или подозрительные колонии. Отбор материала проводят бактериальной петлей с поверхности и центра колонии, не касаясь поверхности среды. Отобранные колонии переносят в чашки Петри на поверхность предварительно подсушенного мясо-пептонного агара, ГРМ-агара или на скошенную поверхность мясо-пептонного агара в пробирках.

Чашки Петри или пробирки с посевами инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24 \pm 3)$  ч.

*Окраска по Граму*

Из колоний, отобранных для биохимической идентификации, готовят мазки и окрашивают по Граму по ГОСТ ISO 7218. Бактерии рода *Salmonella* - граммотрицательные палочки с закругленными концами. При использовании в исследованиях тест-наборов для биохимической идентификации бактерий рода *Salmonella* окрашивание по Граму не обязательно.

#### *Определение биохимических свойств культуры*

Биохимические свойства у отобранных и предварительно пересеянных граммотрицательных культур определяют по способности ферментации глюкозы, сахарозы и маннита, расщепления мочевины, образования ацетоина, индола,  $\beta$ -галактозидазы, L-лизиндекарбоксилазы. Для определения биохимических свойств используют специальные среды: трехсахарный агар Олькеницкого, среды Гисса либо одну из комбинированных сред: Клиглера, Ресселя-ГРМ и другие комбинированные среды.

Для посевов в специальные среды подготовленный материал отбирают бактериальной петлей с поверхности и центра колонии, не касаясь поверхности агара. Исследуют не менее трех типичных колоний из каждой чашки. Полученный материал засевают штрихом по поверхности скошенной среды и уколom по центру столбика в его толщу. Посевы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)$  °C в течение  $(24 \pm 3)$  ч, после чего просматривают.

#### *Определение ферментации сахаров*

Для определения ферментации сахаров используют одну из сред.

Интерпретация результатов по изменениям среды:

Агар Клиглера содержит два сахара, поэтому по скошенной поверхности учитывают только ферментацию лактозы:

- малиновый цвет скошенной поверхности среды указывают на ферментацию лактозы.

Среды Олькеницкого:

- пожелтение самого столбика среды указывает на ферментацию глюкозы (глюкоза положительная);

- пожелтение скошенной поверхности среды указывает на ферментацию лактозы и/или сахарозы (лактоза и/или сахароза положительная);

- красный или неизменившийся столбик среды указывает на отсутствие ферментации глюкозы (глюкоза отрицательная);

- красная или неизменившаяся скошенная поверхность среды указывает на отсутствие ферментации лактозы и/или сахарозы (лактоза и/или сахароза отрицательная);

- пузырьки или разрывы в толще среды указывают на образование газа из глюкозы;

- черный цвет среды указывает на образование сероводорода.

TSI-агар:

- пожелтение поверхности TSI-агара указывает на ферментацию лактозы (лактоза положительная).

Типичные культуры бактерий рода *Salmonella* показывают щелочную (красную) поверхность и кислый (желтый) столбик с образованием газа (пузырьков).

### Определение ферментации маннита и сахарозы

Для определения ферментации маннита или сахарозы используют среды Гисса с маннитом или сахарозой. При ферментации маннита цвет среды изменяется.

Бактерии рода *Salmonella*: ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа или кислоты без образования газа; ферментируют маннит с образованием кислоты; не ферментируют лактозу и сахарозу.

### *Определение ферментации сахаров с помощью дисков с углеводами*

Для определения ферментации бактериями рода *Salmonella* сахаров допускается использование дисков с углеводами. Методика проведения испытаний по инструкции производителя.

### *Определение образования сероводорода*

Для определения образования сероводорода используют одну из питательных сред: Олькеницкого или среду Клиглера, или 1%-ную пептонную воду. Посевы инкубируют при температуре  $(37\pm 1)$  °C в течение от 24 до 72 ч.

При посеве культуры в одну из комбинированных сред об образовании сероводорода судят по почернению среды в столбике. Типичные культуры бактерий рода *Salmonella* примерно в 90% случаев образуют сероводород (черный цвет среды).

Дальнейшему изучению подвергают культуры с типичными или не совсем типичными свойствами для бактерий рода *Salmonella*: бактерии, ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа, а также лактозоположительные бактерии и бактерии, не образующие сероводород, но обязательно ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа.

### *Определение расщепления мочевины*

При определении расщепления мочевины используют агар Кристенсена с мочевиной, агар тройной сахарный или другие среды. Культуры засевают штрихом по поверхности скошенной среды в пробирках. Посевы инкубируют при температуре  $(37\pm 1)$  °C в течение  $(24\pm 3)$  ч, периодически наблюдая за посевами (для уреазоположительных бактерий реакция часто становится видимой уже после 2 ч инкубирования).

Агар Кристенсена - изменение цвета фенолового красного от розового до светло-вишневого свидетельствует о расщеплении мочевины с выделением аммония - положительная реакция. Отсутствие изменения окраски - отрицательная реакция.

Агар тройной сахарный - восстановление изменившегося цвета среды при расщеплении глюкозы с красного или желтого до бледно-розового цвета свидетельствует о расщеплении мочевины - положительная реакция. Отсутствие изменения окраски - отрицательная реакция.

Бактерии рода *Salmonella* мочевины не расщепляют.

### *Определение образования индола*

Для определения образования индола проводят посев в пробирку, содержащую  $5 \text{ см}^3$  одной из питательных сред: 1%-ную пептонную воду,

бульон Хоттингера или в триптон-триптофановую среду. Посевы инкубируют при температуре  $(37\pm 1)$  °С в течение  $(24\pm 1)$  ч.

Пептонная вода - в пробирки с суточной культурой в пептонной воде по стенке добавляют  $1\text{ см}^3$ , по каплям, одного из реактивов: Эрлиха или Ковача. С реактивом Эрлиха при наличии индола не позднее чем через 5 мин в пограничном слое образуется ярко-красное кольцо - положительная реакция. Кольцо остается светло-желтого цвета - отрицательная реакция. С реактивом Ковача результаты учитывают через 10 мин после взбалтывания. Реактив поднимается на поверхность среды и при наличии индола окрашивается в темно-красный цвет - положительная реакция.

Бульон Хоттингера, триптон-триптофановая среда - в пробирки с суточной культурой в бульоне Хоттингера или триптон-триптофановой среде по стенке добавляют  $1\text{ см}^3$ , по каплям, одного из реактивов: Эрлиха или Ковача.

Не позднее чем через 5 мин образование темно-красного кольца указывает на образование индола - реакция положительная; коричнево-желтое кольцо - реакция отрицательная.

Бактерии рода *Salmonella* индола не образуют.

*Определение образования ацетона (реакция Фогес-Проскауера)*

Для определения способности к образованию ацетона испытываемую культуру петлей засевают в пробирки с  $3\text{ см}^3$  мясо-пептонного бульона с глюкозой или VP среды.

Посевы инкубируют при температуре  $(37\pm 1)$  °С в течение  $(24\pm 3)$  ч. После инкубации к  $1\text{ см}^3$  отобранной в стерильную пробирку культуральной жидкости прибавляют две капли раствора креатина моногидрата, три капли спиртового раствора 1-нафтола и две капли раствора гидроокиси калия. Содержимое пробирки перемешивают после прибавления каждого реактива. Появление через 15 мин от розового до светло-красного окрашивания указывает на положительную реакцию. При отрицательной реакции остаток культуральной жидкости инкубируют еще  $(24\pm 3)$  ч и тест повторяют.

Определение образования ацетона допускается проводить без применения раствора креатина. Для этого после инкубирования к  $1\text{ см}^2$  отобранной культуральной жидкости прибавляют только  $0,6\text{ см}^3$  раствора 1-нафтола и  $0,2\text{ см}^3$  раствора гидроокиси калия. После прибавления каждого реактива пробирку встряхивают. Появление розового окрашивания через 15 мин указывает на положительную реакцию. При отрицательной реакции остаток культуральной жидкости инкубируют еще  $(24\pm 3)$  ч и тест повторяют.

Бактерии рода *Salmonella* не образуют ацетона (реакция Фогес-Проскауера отрицательная).

*Определение образования L-лизиндекарбоксилазы*

Для определения образования L-лизиндекарбоксилазы используют L-лизиндекарбоксилазную среду.

Жидкую L-лизиндекарбоксилазную среду инокулируют снизу бактериальной культурой и инкубируют при температуре  $(37\pm 1)$  °С в течение

(24±3) ч. Помутнение и пурпурный цвет среды после инкубирования - положительная реакция. Желтый цвет среды - отрицательная реакция.

Столбик агаризованной среды с одной из аминокислот инокулируют бактериальной культурой методом укола и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±3) ч.

Темно-красная окраска среды - положительная реакция. Желтый цвет среды - отрицательная реакция. *Salmonella paratyphi* А не образует L-лизиндекарбоксилазу, остальные декарбоксилируют лизин и образуют L-лизиндекарбоксилазу.

#### *Определение β-галактозидазной активности*

В пробирку с 0,25 см<sup>3</sup> физиологического раствора петлей суспендируют бактериальную культуру. К полученной суспензии прибавляют одну каплю толуола и пробирку встряхивают. Пробирку помещают в водяную баню при температуре (37±1) °С и оставляют примерно на 5 мин. Затем добавляют 0,25 см<sup>3</sup> β-галактозидный реактив, смешивают содержимое и пробирку помещают в водяную баню или термостат при температуре (37±1) °С до (24±3) ч, наблюдая за изменением цвета через определенные промежутки времени. Изменение цвета может обнаруживаться примерно через 20 мин.

Желтый цвет суспензии - положительная реакция. Неизменение цвета суспензии через (24±3) ч - отрицательная реакция. Бактерии рода *Salmonella*, кроме *Salmonella arizonae*, не обладают β-галактозидазой. Для определения β-галактозидазной активности допускается использование ONPG-дисков.

#### ***Интерпретация результатов биохимических испытаний***

Интерпретацию результатов биохимических испытаний культур проводят, пользуясь таблицами биохимических характеристик бактерий рода *Salmonella*.

#### *Определение подвижности*

Для определения подвижности культуру высевают методом укола в пробирку со столбиком полужидкого питательного агара. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±3) ч. О наличии подвижности свидетельствуют диффузный рост вокруг линии укола и помутнение столбика питательного агара, при росте культур, не обладающих подвижностью, - только по месту укола. Бактерии рода *Salmonella* подвижны, кроме *Salmonella gallinarum* и *Salmonella pullorum*.

#### *Обработка результатов исследований*

Результаты исследований оценивают по каждой пробе в отдельности.

Результаты исследований записывают следующим образом: бактерии рода *Salmonella* обнаружены или не обнаружены в 25 г продукта.

#### *Контроль проведения исследований*

Для подтверждения достоверности результатов биохимических и серологических исследований выделенных из образцов культур в качестве контроля используют типичный по этим показателям штамм бактерий рода *Salmonella*. Производители питательных сред, биохимических наборов и быстрых тест-систем могут конкретизировать контрольные бактериальные

культуры. При отсутствии конкретизации процедура контроля качества включает культуры бактерий рода *Salmonella* для целевого использования, отвечающие параметрам, заложенным в тестах исследований.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте характеристику предварительное неселективного обогащения.
2. Дайте характеристику селективного обогащения
3. Дайте характеристику прямого посева в среды для селективного обогащения.
4. Дайте характеристику выделения чистой культуры на дифференциально-диагностических агаризованных средах и идентификация.
5. Порядок отбора и подготовка колоний к идентификации по биохимическим свойствам и серологическим реакциям.
6. Интерпретация результатов.

#### **2.7. ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ *LISTERIA MONOCYTOGENES* И ДРУГИХ ВИДОВ *LISTERIA (LISTERIA SPP.)* (ГОСТ 32031-2022)**

Представленные методы распространяются на пищевые продукты, объекты производственной среды (смывы с технологического оборудования, тары, инвентаря, стен, полов, одежды и рук работников) и устанавливает методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes* и других видов *Listeria (Listeria spp.)*.

*Listeria monocytogenes* - микроорганизмы, образующие типичные колонии на плотных селективных средах и идентифицируемые по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам в соответствии с настоящим стандартом. Обнаружение *Listeria monocytogenes* подтверждается наличием или отсутствием бактерий *Listeria monocytogenes* в определенной массе или объеме продукта или на определенной поверхности в соответствии с настоящим стандартом.

Метод выявления бактерий *L. monocytogenes* и других видов *Listeria (Listeria spp.)* в определенной массе или объеме продукта, а также на определенной площади поверхности производственной окружающей среды состоит из последовательных этапов.

##### **1 Этап.**

Первичное обогащение анализируемой пробы в жидкой среде со сниженной концентрацией селективных компонентов при температуре 30°C в течение 24-26 ч.

Бактерии рода *Listeria* в продукте могут находиться в небольшом количестве, очень часто на фоне значительного количества микроорганизмов других родов. Поэтому для выявления небольшого количества бактерий рода *Listeria*, а также "поврежденных" клеток в пробе необходим этап селективного обогащения на среде с пониженной концентрацией селективных компонентов. Присутствие *L. monocytogenes* может быть замаскировано присутствием других видов *Listeria*, в частности *L. innocua* или *L. ivanovii*.

##### **2 Этап.**

Вторичное обогащение посевного материала, полученного в жидкой среде с полной концентрацией селективных компонентов при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24\pm 2)$  ч при выявлении *L. monocytogenes* и 48 ч - при выявлении *Listeria* spp. В случае использования другой жидкой питательной среды следует руководствоваться рекомендациями производителя.

### 3 Этап.

Пересев посевного материала, полученного в 1 и 2 этапе, параллельно на две плотные селективные среды:

а) первая среда: ALOA (агар *Listeria* по Оттавиани и Агости), допускается использование других сред с тем же составом;

б) вторая среда (обязательная): одна из плотных селективных сред, на выбор лаборатории: Оксфорд агар, или Палкам агар, или ПАЛ (питательный агар для выделения листерий), или хромогенные среды, отличные от первой среды.

Посевы на средах ALOA культивируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  и просматривают через  $(24\pm 3)$  ч, при необходимости культивируют еще через  $(24\pm 3)$  ч, контролируя наличие роста колоний, характерных для *L. monocytogenes* или других видов *Listeria*. Некоторые *L. monocytogenes* характеризуются медленной активностью PIPLC (фосфатидилинозитолфосфолипазы C) и могут проявлять на нее например, через 4 дня культивирования. Некоторые штаммы *L. monocytogenes* образуют очень слабую зону помутнения среды вокруг колоний в случаях испытанного стресса, в частности кислотного. Температура и продолжительность инкубации на второй селективной среде определяется согласно рекомендациям производителя питательных сред.

Колонии с характерным для *Listeria monocytogenes* и других видов *Listeria* (*Listeria* spp.) ростом, полученные на 3 этапе, пересевают на поверхность плотных неселективных питательных сред и культивируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24\pm 3)$  ч для дальнейшего подтверждения по тестам идентификации.

#### Питательные среды

*В качестве селективных сред первичного обогащения могут быть использованы следующие среды.*

- Бульон Фразера полуконцентрированный (Half Fraser broth).
- Селективный накопительный бульон (UVM)
- Питательный бульон для выделения и культивирования листерий (ПБЛ I)

*В качестве селективных сред вторичного обогащения могут быть использованы следующие среды.*

- Бульон Фразера (Fraser broth)
- Селективный накопительный бульон (UVM II)
- Питательный бульон для выделения и культивирования листерий (ПБЛ II)

*В качестве первой среды необходимо использовать следующую среду.*

- Агар Listeria по Оттавиани и Агости (ALOA)

*В качестве второй среды необходимо использовать одну из следующих сред.*

- Оксфорд агар (Oxford agar)
- Палкам агар (PALCAM agar)
- Питательный агар для выделения листерий (ПАЛ)
- Бриллианс Listeria агар (BRILLIANCE LISTERIA agar)

Выбор второй среды - на усмотрение испытательной лаборатории.

Питательные среды для изучения культурально-морфологических свойств бактерий рода Listeria

*Плотные неселективные питательные среды*

- Триптон-соевый агар с дрожжевым экстрактом (TSYEA)
- Трипказо-соевый агар (TSA)
- Мясопептонный агар (МПА)

*Жидкие неселективные питательные среды*

- Триптон-соевый бульон с дрожжевым экстрактом (TSYEB)
- Трипказо-соевый бульон (TSB)
- Мясопептонный бульон (МПБ)

*Среды и реактивы для подтверждения рода Listeria (Listeria spp.)*

- Раствор с объемной долей перекиси водорода 3% - по ГОСТ 10444.1.

- Растворы и реактивы для окраски по Граму - по ГОСТ 10444.1 или ГОСТ ISO 7218.

- Коммерческие наборы для окраски по Граму - согласно инструкции производителя.

- Среда для определения подвижности бактерий
- Среда для определения лецитиназной активности
- Среда и реактивы для реакции Фогеса-Проскауэра (VP)

*Среда и реактив для определения  $\beta$ -гемолитической активности*

- Кровяной агар

Материалы для отбора смывов:

- стерильный тампон с хлопком или синтетическим материалом в пробирке или без;

- стерильная ткань (или салфетка), не содержащая ингибирующих веществ;

- стерильная губка с ручкой или без нее, без ингибирующих веществ.

Допускается применение других средств измерений, аппаратуры с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также материалов и реактивов по качеству не хуже указанных в настоящем стандарте.

(Поправка).

Отбор и подготовка проб к исследованию проводится согласно госту к конкретному продукту питания. Отбор проб (смывов) с объектов окружающей производственной среды осуществляется с учетом нижеследующего:

- при отборе смывов с влажной поверхности допускается использовать сухой тампон/губку/ткань (салфетку) при условии отсутствия необходимости использования нейтрализатора;

- при отборе смывов с сухой поверхности необходимо использовать тампон, губку/ткань (салфетку), увлажненный нейтрализатором;

- в случае отбора смывов после дезинфекции или пептонной водой - в остальных случаях; - смывы с площади меньше или равной 10x10 см (100 см<sup>2</sup>) отбирают стерильным тампоном с хлопком или синтетическим материалом;

- при отборе смывов с площади более 100 см<sup>2</sup> следует использовать губку/ткань салфетку);

- смывы с мелких объектов (поверхность которых менее 100 см<sup>2</sup>) берут со всей поверхности;

Для увеличения извлекаемости микроорганизмов с области отбора смывов рекомендуется использовать увлажненные тампоны. Для увеличения обнаружения микроорганизмов общая площадь выборки должна быть как можно большей. В связи с этим рекомендуется отбирать пробы площадью от 100 см<sup>2</sup>

#### ***Проведение испытания***

Анализируемую пробу X (г или см<sup>3</sup>) вносят в селективную среду первичного обогащения, исходя из соотношения продукта и среды 1:9.

Смывы, вносят в селективную среду первичного обогащения.

#### ***Первичное обогащение***

Исходную суспензию культивируют при температуре (30±1)°C в течение (25±1) ч.

#### ***Вторичное обогащение***

Посевной материал, в объеме 0,1 см<sup>3</sup>, пересевают в пробирку, содержащую 10 см<sup>3</sup> среды селективного обогащения.

Посевы культивируют при температуре (37±1)°C в течение (24±2) ч (для бульона Фразера). В случае использования другой селективной жидкой питательной среды продолжительность культивирования согласно инструкции производителя. Посевы на питательных средах первичного и вторичного обогащения после окончания культивирования перед посевом на плотные селективные среды допускается хранить при температуре не выше 5°C не более 72 ч.

#### ***Пересев на плотные селективные среды***

Посевной материал, полученный после первичного и вторичного обогащения с помощью бактериологической петли, пересевают на поверхность первой плотной селективной среды так, чтобы получить хорошо изолированные колонии. Аналогичным образом проводят посев и на вторую

плотную селективную. Чашки с посевами на первой плотной селективной среде культивируют в термостате при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24-48 ч. Чашки с посевами на второй плотной селективной среде инкубируют согласно инструкции производителя питательных сред.

Через  $(24\pm 3)$  ч или  $(48\pm 2)$  ч (если после  $(24\pm 3)$  ч отмечен слабый рост культуры или его отсутствие) культивирования на первой и второй плотной селективной средах учитывают наличие колоний с ростом характерных для бактерий рода *Listeria* и *Listeria monocytogenes*.

На первой селективной плотной среде бактерии вида *L. monocytogenes* и *L. ivanovii* растут в виде сине-зеленых колоний, окруженные непрозрачным ореолом (типичные колонии). Другие виды бактерий рода *Listeria* также растут в виде сине-зеленых колоний, но без ореола.

Некоторые штаммы *L. monocytogenes* могут давать очень слабый ореол помутнения питательного агара вокруг колонии или вовсе не иметь его. Это характерно для "поврежденных" клеток *L. monocytogenes* (например, вследствие воздействия кислот). Некоторые штаммы *L. monocytogenes* характеризуются пониженной фосфатидилинозитолфосфолипазной С активностью. Для выявления таких штаммов требуется более продолжительное культивирование.

После инкубации посева на плотных селективных средах до начала следующих тестов допускается хранить не более двух дней при температуре  $5^\circ\text{C}$ .

*Посевы на второй плотной селективной среде просматривают на наличие колоний с ростом, характерным для бактерий рода Listeria.*

На Палкам агаре все виды бактерий рода *Listeria* формируют мелкие серовато-зеленые или оливково-зеленые колонии с черным ореолом, иногда с черным центром. На Оксфорд агаре все виды бактерий рода *Listeria* формируют мелкие сероватые колонии, окруженные черным ореолом. На ПАЛ все виды бактерий рода *Listeria* формируют мелкие серовато-желтые колонии с черным ореолом. На Бриллианс *Listeria* агаре (BRILLIANCE LISTERIA agar) бактерии *L. monocytogenes* и *L. ivanovii* растут в виде сине-зеленых колоний, окруженные непрозрачным ореолом (типичные колонии). Другие виды бактерий рода *Listeria* растут в виде сине-зеленых колоний, но без ореола.

При отсутствии колоний с ростом, характерным для *Listeria monocytogenes* и рода *Listeria* (*Listeria* spp.) как на первой, так и на второй плотных селективных средах, исследование прекращают и делают заключение, в зависимости от поставленной задачи, об отсутствии в исследуемой пробе бактерий *Listeria monocytogenes* или рода *Listeria* (*Listeria* spp.).

***Подтверждение принадлежности выделенных культур к роду Listeria***  
***Выбор колоний для подтверждения***

С каждой чашки с плотной селективной средой отбирают по пять колоний с ростом, характерным для бактерий рода *Listeria*. Если на чашке выросло менее пяти типичных колоний, отбирают их все. Отобранные колонии

пересевают на поверхность подсушенного плотного неселективного питательного агара так, чтобы получить изолированные колонии. Посевы культивируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24\pm 3)$  ч.

На плотных неселективных питательных средах бактерии *Listeria* spp. растут в виде выпуклых, бесцветных и непрозрачных колоний в диаметре от 1,0 до 2,0 мм. Когда чашку Петри просматривают на свету (искусственном или естественном) под углом около  $45^\circ$ , колонии имеют сине-серый цвет и зернистую поверхность.

Достаточно одной подтвержденной типичной колонии на образец. Если первая колония будет отрицательна, для проведения идентификации используют остальные отобранные колонии.

Для подтверждения принадлежности выделенной культуры к бактериям рода *Listeria* проводят тесты, приведенные в таблице 1.

#### *Микроскопия*

Культуры окрашивают по Граму согласно и микроскопируют. Бактерии рода *Listeria* spp. представляют собой грамположительные тонкие, короткие палочки или коккоподобные палочки.

#### *Реакция на каталазу*

Берут изолированную колонию, и вносят в каплю 3%-ного раствора перекиси водорода. Мгновенное образование пузырьков газа указывает на положительную реакцию.

Бактерии *Listeria* spp. являются каталазоположительными.

#### *Реакция Фогеса-Проскауэра (VP)*

Таблица 1 - Подтверждающие тесты на бактерии рода *Listeria*

Статус тестов	Тесты для идентификации бактерий рода <i>Listeria</i>	Результаты
Обязательные	Микроскопия	Тонкие короткие грамположительные палочки или коккобациллы
	Реакция на каталазу	+
Необязательные	VP тест	+
	Подвижность при $25^\circ\text{C}$	+

Пробирку, содержащую  $3\text{ см}^3$  среды VP инокулируют с помощью петли полученной культурой и инкубируют при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение  $24\pm 3$  ч. После инкубации добавляют  $0,6\text{ см}^3$  5%-ного раствора  $\alpha$ -нафтола (см. Б.10.3.2) и  $0,2\text{ см}^3$  40%-ного раствора гидроксида калия, хорошо встряхивают, наклоняя пробирку, чтобы увеличить площадь поверхности раздела воздух - жидкость и учитывают результат через 15 мин и 1 ч. Положительная реакция обозначена ярко-красным цветом раствора.

#### *Определение подвижности*

Культуру пересевают в жидкую неселективную питательную среду. Посевы культивируют при температуре  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$  от 8 до 24 ч до появления мутности в бульоне. Затем каплю культуральной жидкости помещают на предметное стекло, накрывают сверху покровным стеклом и микроскопируют. В поле зрения микроскопа должны наблюдаться короткие палочки с

опрокидывающими движениями. При культивировании посевов в жидкой питательной среде при температуре выше  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$  подвижность бактерий не наблюдается.

В качестве альтернативного теста определения подвижности можно использовать посев культуры уколом в питательную среду. Посевы культивируют в термостате при температуре  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 48 ч. Бактерии *Listeria* spp. подвижны при температуре  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ , образуют характерный рост вокруг линии укола, похожий на зонтик. Если рост слабый, необходимо культивировать еще пять суток с ежедневным просмотром посевов.

### ***Подтверждение Listeria monocytogenes***

Для подтверждения *Listeria monocytogenes* культуры проводят тесты, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 - Подтверждающие тесты на *L. monocytogenes*

Статус тестов	Тесты для идентификации <i>L. monocytogenes</i>	Результаты
Обязательные	Микроскопия*	Тонкие короткие грамположительные палочки или коккобациллы
	В-гемолиз	+
	Ферментация L-рамнозы	+
	Ферментация D-ксилозы	-
Необязательные	Реакция на каталазу	+
	Подвижность при $25^\circ\text{C}$	+
	КАМПИ-тест	+

\* Микроскопия необязательна для колоний, отобранных с первой и для второй плотной селективной среды, если они позволяют различать патогенные и непатогенные виды *Listeria* spp.

### ***Определение бета-гемолитической активности***

С использованием кровяного агара - поверхность кровяного агара перед использованием необходимо тщательно подсушить. Чашку с тыльной стороны целесообразно разделить на квадраты и проколоть каждый маркированный квадрат бактериальной иглой с колонией культуры. На каждую чашку с кровяным агаром, кроме исследуемых культур, должны быть посеяны контрольные штаммы, такие как *L. monocytogenes* (положительный контроль) и *L. innocua* (отрицательный контроль). Посевы культивируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24\pm 2)$  ч.

Зона  $\beta$ -гемолиза на кровяном агаре у культуры:

- *L. monocytogenes* - в виде узкой, чистой, светлой зоны;
- *L. innocua* - нет зоны гемолиза вокруг укола;
- *L. seeligeri* - слабая зона гемолиза;
- *L. ivanovii* - широкая, четко обозначенная зона гемолиза.

После инкубирования проводят визуальное сравнение прозрачности зон вокруг анализируемых и контрольных культур. Зона  $\beta$ -гемолиза более четко видна при удалении колонии с поверхности агара вокруг места посева.

### *Определение лецитиназной активности (при необходимости)*

При необходимости изучения лецитиназной активности культуры можно использовать лецитин-агар с активированным углем и без угля. Поверхность лецитин-агара с активированным углем и без угля перед использованием необходимо тщательно подсушить. Чашку с тыльной стороны целесообразно разделить на квадраты и высевать на каждый маркированный квадрат бактериологической петлей колонию культуры. На каждую чашку с лецитин-агаром с активированным углем и без угля, кроме исследуемых культур, должен быть посеян контрольный штамм *L. monocytogenes* (положительный контроль).

Посевы культивируют при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(48\pm 2)$  ч.

- *L. monocytogenes* при росте дает плотную зону помутнения шириной 3,0-6,0 мм на лецитин-агаре с активированным углем за счет гидролиза лецитина.

- *L. monocytogenes* при росте не дает плотную зону помутнения на лецитин-агаре без активированного угля.

### *Определение ферментативных свойств L. monocytogenes*

У культур, определяют ферментативные свойства. Для этого используют суточную культуру. Посевы следует культивировать при температуре  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ . Положительную реакцию в отношении углеводов определяют по изменению окраски среды в желтый цвет за счет образования кислоты. Изменение цвета среды происходит, как правило, в течение 24-48 ч. При использовании микрообъемов питательных сред ферментативные реакции протекают быстрее. Продолжительность культивирования согласно инструкции производителя питательных сред.

### *КАМП-тест*

В случае возникновения сомнений при интерпретации результатов гемолитического теста допускается использовать КАМП-тест как вспомогательный тест. Существуют редкие штаммы *L. monocytogenes*, которые не показывают  $\beta$ -гемолиз или положительную реакцию на КАМП-тесте в условиях описанных выше.

Двухсуточные культуры гемолитических штаммов *Staphylococcus aureus* и *Rhodococcus equi* высевают на кровяной агар, как показано на рисунке 1.

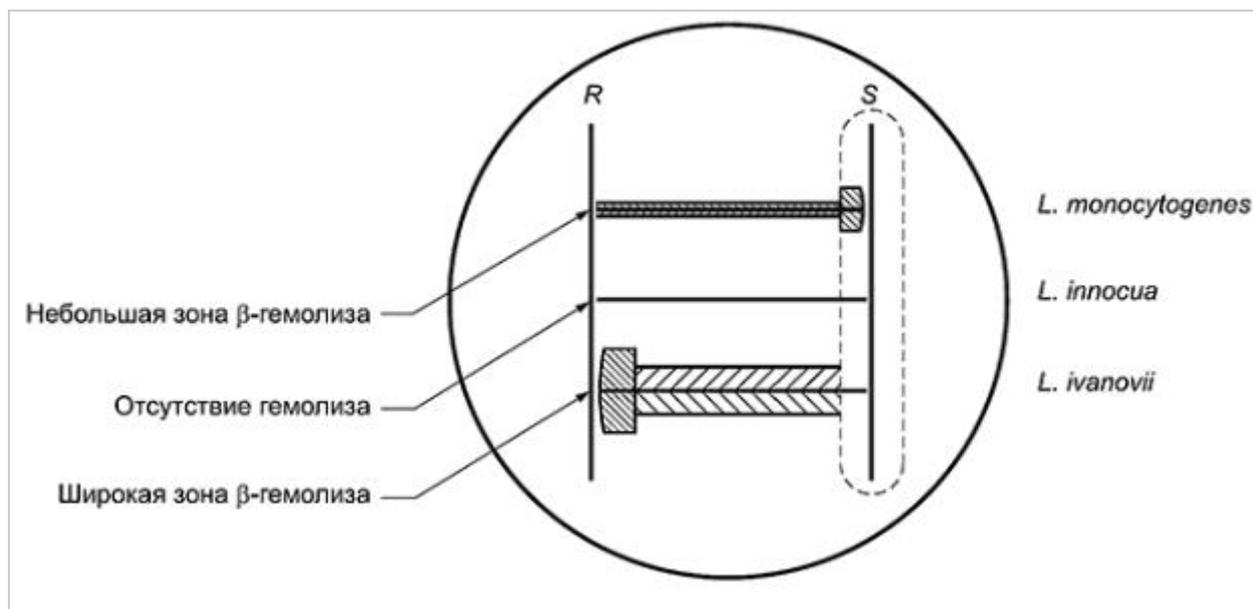


Рисунок 1 - Посев и интерпретация КАМП-теста

Между вертикальными линиями *Staphylococcus aureus* и *Rhodococcus equi* засевают параллельными линиями исследуемые культуры на расстоянии друг от друга не менее 1 см и от вертикальных линий - 0,5 см.

Посевы культивируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. Для положительного контроля рекомендуется провести посев тест-штамма *Listeria monocytogenes* аналогично посеву исследуемых культур. После культивирования посевов отмечают изменение (расширение и просветление) зоны гемолиза в зонах, соседствующих с вертикальными штрихами *Staphylococcus aureus* и *Rhodococcus equi*. *Listeria monocytogenes* дает положительную реакцию (расширение и просветление зоны гемолиза) около штриха *Staphylococcus aureus* и отрицательную (отсутствие изменений в зоне гемолиза) - около штриха *Rhodococcus equi*.

### Интерпретация морфологических и физиологических свойств и биохимических реакций

Все *Listeria* spp. - мелкие, грамположительные коккоподобные палочки, которые дают положительную реакцию VP и являются каталазоположительными. *L. monocytogenes* отличаются от других видов *Listeria* spp. биохимическими свойствами, указанными в таблице 3.

Таблица 3 - Биохимические свойства различных видов бактерий рода *Listeria*

Виды	Реакция на	Ферментация		КАМП-тест	
	$\beta$ -гемолиз	рамноза	ксилоза	<i>S. aureus</i>	<i>R. equi</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	+	-
<i>L. innocua</i>	-	V	-	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	+	-	+
<i>L. seeligeri</i>	(+)	-	+	(+)	-

<i>L. welshimeri</i>	-	V	+	-	-
<i>L. grayisubsp. grayi</i>	-	-	-	-	-
<i>L. grayisubsp. murrayi</i>	-	V	-	-	-
Примечание - В данной таблице приведены следующие обозначения: "V" - вариабельная реакция; "(+)" - слабая реакция; "+" - >90% положительных реакций; "-" - нет реакции.					

*Ускоренное обнаружение и идентификация бактерий Listeria spp. и Listeria monocytogenes с использованием различных тестов и тест-систем*

Для ускоренного обнаружения (скрининга) и идентификации *Listeria* spp. и *Listeria monocytogenes* допускается использование валидированных по ГОСТ ISO 16140 тестов и тест-систем в соответствии с инструкциями производителя, в том числе следующих.

- Идентификация бактерий до рода *Listeria*

*Listeria* Latex Kit.

Singlepath *Listeria*.

VIDAS *Listeria* Duo (LDUO).

Анализатор GENE-UP.

API *Listeria*.

*Listeria* ID MID-67.

Microbact 12L.

- Идентификация бактерий *Listeria monocytogenes*

VIDAS *Listeria monocytogenes* II (LMO2).

VIDAS *L. monocytogenes* Xpress (LMX).

Singlepath L'mono.

API *Listeria*.

*Listeria* ID MID-67.

Microbact 12L.

BAX System PCR assay for *L. monocytogenes*.

BAX System PCR assay for *L. monocytogenes* 24E.

TaqMan *Listeria monocytogenes* Detection Kit и Prep Man Ultra Sample Preparation Reagent.

Food proof *Listeria monocytogenes* Detection Kit, 5'nuclease.

MDS Система молекулярного анализа.

Vitek 2 Compact.

MALDI-TOF масс-спектрометрический анализатор.

ПЦР-РВ: "АмплиСенс® *Listeria monocytogenes*-скрин/монитор-FL" (ООО "Интерлабсервис"); "*Listeria monocytogenes*" (ООО "ДНК-Технология").

- Типирование выделенных штаммов *Listeria monocytogenes*

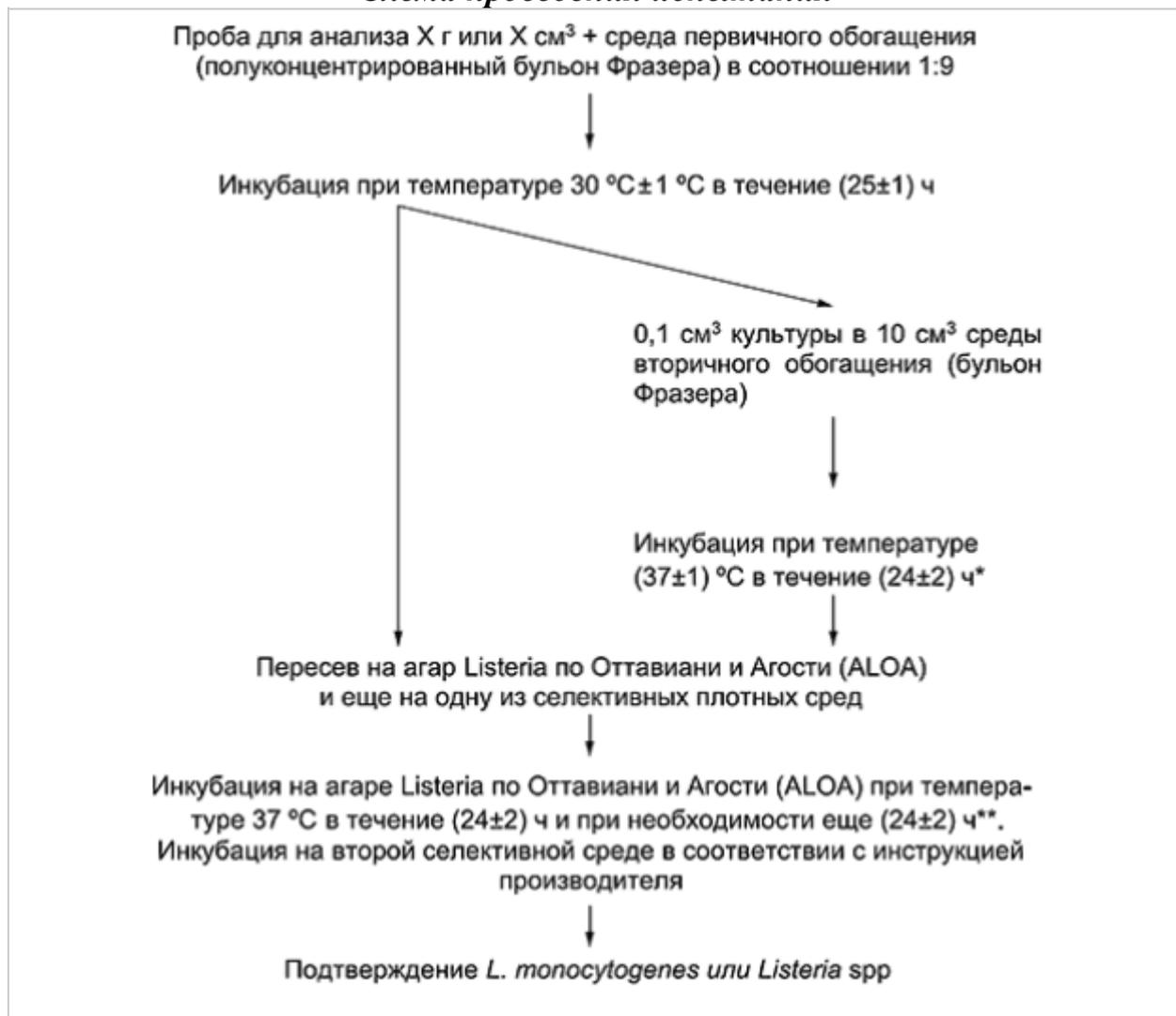
По эпидемиологическим показаниям штаммы, идентифицированные как *L. monocytogenes*, направляют в референс лаборатории для серотипирования и/или генотипирования.

Обработку результатов проводят по ГОСТ ISO 7218 и отмечают наличие или отсутствие

*L. monocytogenes* и *Listeria spp.* в исследованной пробе с указанием массы в граммах, объема в см<sup>3</sup> или площади в см<sup>2</sup>.

В протоколе испытания необходимо указать метод испытания и полученные результаты. В протокол испытаний должна быть включена вся информация, необходимая для точной идентификации образца.

### Схема проведения испытания



### Вопросы для самопроверки

1. Дайте характеристику методов выявления бактерий *L. Monocytogenes*.
2. Дайте характеристику питательные среды.
3. Селективные среды, среды 1 и 2 – дайте определение и порядок использования.
4. Дайте характеристику β-гемолитической активности.
5. Дайте характеристику порядка проведения испытания.
6. Интерпретация результатов.

## 2.8. ВЫЯВЛЕНИЯ И ПОДСЧЕТА СУЛЬФИТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, РАСТУЩИХ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ (ГОСТ 29185— 2014)

Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих бактерий основаны на высеве определенного количества продукта и (или) его разведений в плотные питательные среды, культивировании посевов в оптимальных для роста условиях и при необходимости, подсчета их количества и определения морфологических и биохимических свойств для подтверждения принадлежности сульфитредуцирующих бактерий к роду *Clostridium*.

### *Приготовление пробы для испытания*

Пробы для испытания приготавливают в соответствии с ГОСТ 26669 или стандартом на конкретный продукт. При отсутствии соответствующего стандарта рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны достигли согласия по данному вопросу.

### *Проведение испытания*

Если необходимо, для обеспечения гибели вегетативных форм и/или не спорообразующих форм бактерий применяют тепловую обработку исходной суспензии или жидкого продукта. Температура и время тепловой обработки варьируют от умеренного теплового пастеризационного эффекта (например 75 °С в течение 20 мин) до кипения в течение нескольких минут. В этом случае результат подсчета выражают как число спор сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях. *Инокуляция*

Берут две стерильные чашки Петри. Переносят в каждую чашку с помощью стерильной пипетки 1 см<sup>3</sup> испытуемой пробы, если она жидкая, или 1 см<sup>3</sup> исходной суспензии в случае испытания других продуктов. Берут две другие стерильные чашки Петри. Переносят в каждую чашку с помощью другой стерильной пипетки 1 см<sup>3</sup> первого десятикратного разведения испытуемой пробы, если продукт жидкий, или 1 см<sup>3</sup> первого десятикратного разведения исходной суспензии при испытании других продуктов.

Повторяют описанную процедуру с последующими разведениями, используя для каждого очередного разведения новую стерильную пипетку. При выявлении сульфитредуцирующих бактерий в определенной пробе для анализа ее высевают в чашку Петри или пробирку.

Помещают в каждую чашку Петри приблизительно 15 см<sup>3</sup> железосульфитного агара, который находится при температуре 44°С — 47°С в водяной бане. Время между инокуляцией чашек Петри и заливкой их питательной средой не должно превышать 15 мин. Тщательно перемешивают инокулят со средой и в горизонтальном положении дают среде застыть.

После того как среда застынет, вносят от 5 до 10 см<sup>3</sup> той же среды для образования второго слоя. В случае использования для посева пробирок со средой инокулируют 1 см<sup>3</sup> жидкого продукта или разведением две пробирки со средой, находящейся при температуре 44°С — 47°С. Перемешивают осторожно содержимое пробирок, не допуская образования пузырьков

воздуха в толще среды, и помещают посевы в пробирках для застывания в холодную водяную баню. После того как среда застынет, вносят от 2 до 3 см<sup>3</sup> той же среды в каждую пробирку для образования второго слоя.

Посевы в чашках Петри инкубируют в анаэроостате (6.4) при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 24 — 48 ч. Если выявляют термофильные бактерии, готовят другие посевы и инкубируют их при температуре  $(50 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . В случае посева в пробирки инкубирование в анаэроостате необязательно.

#### *Подсчет колоний*

После 24-48 ч термостатирования посевов подсчитывают количество колоний разной степени черной окраски. При выявлении сульфитредуцирующих бактерий в определенной массе или объеме пробы продукта для анализа подсчет количества выросших типичных колоний не проводят. Черные колонии, окруженные черной зоной, относят к сульфитредуцирующим бактериям. Расплывчатое неспецифическое почернение среды может наблюдаться в тех случаях, когда посев проводят в пробирки, а не в чашки Петри. Рост анаэробных бактерий, которые продуцируют водород (а не H<sub>2</sub>S), может также уменьшить содержание сульфитов в питательной среде и привести к общему почернению среды.

Подсчитывают колонии сульфитредуцирующих бактерий в каждой чашке Петри, где их количество менее 150, а количество всех выросших колоний не превышает 300. Когда число выросших колоний в пробирках большое, их трудно подсчитать. В этом случае для подсчета могут быть использованы только те пробирки, в которых присутствуют отдельные колонии.

Методы, могут быть использованы для выявления сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*. При этом после выявления типичных колоний берут 5 колоний с каждой чашки и подтверждают принадлежность к роду *Clostridium* путем проведения дополнительных тестов.

#### ***Подтверждение принадлежности выделенных сульфитредуцирующих бактерий к роду Clostridium***

##### *Микроскопирование*

Из культур, выросших, готовят два препарата и окрашивают по ГОСТ 30425: первый — по Граму, второй — для выявления бактериальных спор.

Сульфитредуцирующие бактерии рода *Clostridium* представляют собой грамположительные или грамотрицательные палочки, располагающиеся в одиночку, попарно, в виде цепочек или скоплений параллельных клеток. При спорообразовании споры сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* овальные или сферические, субтерминальные или терминальные. Допускается окраску по Граму заменять тестом Грегорсена. Для этого на предметном стекле в капле 3 %-ного водного раствора гидроксида калия эмульгируют культуру микроорганизмов, взятую из колонии с плотной среды. Если через несколько секунд взвесь ослизняется и за петлей тянутся слизистые нити, то это указывает на принадлежность испытуемой культуры к грамотрицательным бактериям. У грамположительных бактерий слизистых нитей не образуется.

### *Определение отсутствия каталазы*

Отсутствие каталазы в культурах определяют по ГОСТ 30425.

Сульфитредуцирующие бактерии рода *Clostridium* каталазу не образуют.

### *Подтверждение анаэробного роста*

Подтверждение анаэробного роста проводят посевом по ГОСТ 30425 культур, в чашки Петри под стекло или в трубки Вейона, или инкубируют посева в анаэробных условиях. Для посева используют плотную питательную среду.

Для сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* характерен анаэробный рост. Допускается вместо подтверждения анаэробного роста проводить определение отсутствия роста в аэробных условиях. При этом культуры высевают в чашки Петри на поверхность плотной среды. Посевы инкубируют в аэробных условиях при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 18 — 72 ч, а для выявления термофильных бактерий — при температуре  $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

### *Обработка результатов*

Результаты испытания оценивают по каждой пробе отдельно.

Если при изучении культуральных, морфологических и биохимических свойств обнаружены сульфитредуцирующие грамположительные или грамотрицательные, каталазоотрицательные, способные расти в анаэробных условиях микроорганизмы, то дают заключение о том, что эти микроорганизмы относятся к сульфитредуцирующим бактериям рода *Clostridium* (мезофильным или термофильным).

Если дополнительные подтверждающие тесты не проводились, то при наличии роста типичных колоний дают заключение о том, что эти микроорганизмы относятся к сульфитредуцирующим бактериям. Если при подтверждении характерных колоний в 80% случаев, то есть не менее чем в 4 из 5 колоний подтвержден рост сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, то считают, что все характерные колонии, выросшие на чашке Петри или пробирке, принадлежат к этому роду. В остальных случаях количество сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* определяют, исходя из процентного отношения подтвержденных колоний к общему количеству характерных колоний, взятых для подтверждения.

Пересчет количества сульфитредуцирующих бактерий или сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* на 1 г или  $1\text{ см}^3$  продукта проводят по ГОСТ 26670. Результаты выявления присутствия (отсутствия) сульфитредуцирующих бактерий или сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* с указанием количества пробы для анализа записывают следующим образом: «сульфитредуцирующие бактерии или сульфитредуцирующие бактерии рода *Clostridium* обнаружены (или не обнаружены) в X г или X  $\text{см}^3$  продукта».

*Протокол испытаний должен включать:*

- a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- b) использованный метод отбора проб, если он известен;

с) использованный метод испытания, включая температуру инкубации и температурный прогрев для гибели вегетативных клеток (если он применялся);

д) все детали, не установленные в настоящем стандарте или считающиеся необязательными, наряду с подробным описанием всех обстоятельств, которые могли повлиять на результаты; е) полученные результаты испытания.

Протокол испытаний может также содержать информацию о результатах проведения дополнительных тестов.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Охарактеризуйте порядок исследования.
2. Охарактеризуйте
3. Интерпретация результатов.
4. Охарактеризуйте изучение биохимических свойств сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*.
5. Охарактеризуйте протокол испытания

### 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВЫХ ЯИЦ

Пищевые яйца – это яйца в скорлупе, произведенные сельскохозяйственной птицей, пригодные для непосредственного потребления человеком и переработки с целью получения продуктов питания.

Яйца в зависимости от вида птицы классифицируются по следующим видам: индюшине, цесариные, перепелиные, страусиные.

В зависимости от сроков хранения яйца подразделяют по классам на диетические и столовые.

К диетическим яйцам относятся:

- яйца индюшине и куриные, срок хранения которых не превышает 7 сут;

- яйца цесариные, срок хранения которых не превышает 30 сут;

- яйца перепелиные, срок хранения которых не превышает 11 сут;

- яйца страусиные, срок хранения которых не превышает 10 сут.

К столовым яйцам относятся:

- яйца индюшине, срок хранения которых не превышает 25 сут;

- яйца цесариные, срок хранения которых не превышает 90 сут;

- яйца перепелиные, срок хранения которых не превышает 30 сут;

- яйца страусиные, срок хранения которых не превышает 30 сут.

- яйца куриные столовые, срок хранения которых при температуре от 0 °С до 20 °С - не более 25 сут, и яйца, которые хранились при температуре от минус 2 °С до 0 °С - не более 90 сут.

Яйца должны соответствовать требованиям ГОСТ 31654-2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия, ГОСТ 31655-2012 Яйца пищевые (индюшине, цесариные, перепелиные, страусиные). Технические условия и ГОСТ Р 57901-2017 Яйца куриные пищевые повышенного качества.

Таблица 4 Куриные яйца в зависимости от их массы подразделяются на пять категорий и соответствуют требованиям таблицы 1.

Категория	Масса одного яйца, г				Масса 10 яиц, г				Масса 360 яиц, кг			
		75	и	св.		750	и	св.		27,0	и	св.
Высшая		75	и	св.		750	и	св.		27,0	и	св.
Отборная	От	65	до	74,9	От	650	до	749,9	От	23,4	до	26,999
Первая	"	55	"	64,9	"	550	"	649,9	"	19,8	"	23,399
Вторая	"	45	"	54,9	"	450	"	549,9	"	16,2	"	19,799
Третья	"	35	"	44,9	"	350	"	449,9	"	12,6	"	16,199

Яйца других видов птицы в зависимости от их массы по категориям не подразделяются (таб. 5).

Таблица 5 Масса 1 яйца, в зависимости от вида птицы

Вид яиц	Масса одного яйца, г, не менее	Масса 10 яиц, г, не менее
Индюшине	60	600
Цесариные	36	360
Перепелиные	10	100
Страусиные	650	6500

Яйца сортируют, маркируют и упаковывают в течение суток после снесения.

Яйца по качественным характеристикам (состоянию воздушной камеры, положению желтка, плотности и цвету белка) должны соответствовать требованиям таблицы 6.

Таблица 6 Характеристика качества яиц

Вид и класс яиц	Характеристика		
	Состояние воздушной камеры и ее высота	Состояние и положение желтка	Плотность и цвет белка
Индюшине диетические	Неподвижная, не более 4 мм	Прочный, едва видимый, слегка подвижный при повороте яйца и возвращающийся в центральное положение	Плотный, светлый, в прозрачный
Цесариные диетические	Неподвижная, не более 5 мм	Прочный, яркий, слегка подвижный при повороте яйца и возвращающийся в центральное положение	
Перепелиные диетические	Неподвижная, не более 2 мм	Прочный, едва видимый, но контуры не видны, занимает центральное положение и не перемещается	
Страусиные диетические	Неподвижная, не более 9 мм	Прочный, едва видимый, слегка подвижный при повороте яйца и возвращающийся в центральное положение	
Индюшине столовые	Неподвижная или допускается некоторая подвижность; высота не более 8 мм	Прочный, мало заметный, может слегка перемещаться, допускается небольшое отклонение от центрального положения	Недостаточно плотный, светлый, прозрачный
Цесариные столовые	Неподвижная или допускается некоторая подвижность, высота не более 12 мм	Прочный, видимый, может слегка перемещаться от центрального положения	
Перепелиные столовые	Неподвижная или допускается некоторая подвижность, высота не более 3 мм	Прочный, мало заметный, перемещающийся от центрального положения	
Страусиные столовые	Неподвижная или допускается некоторая	Прочный, видимый, перемещающийся от центрального положения	

	подвижность, высота не более 20 мм		
	состояния воздушной камеры и ее высоты	состояния и положения желтка	плотности и цвета белка
Куринные диетические экстра	Неподвижная, высота - не более 3 мм	Прочный, едва видимый, но контуры не видны, занимает центральное положение и не перемещается	Плотный, светлый, прозрачный
Куринные столовые экстра	Неподвижная или допускается некоторая подвижность; высота - не более 6 мм	Прочный, мало заметный, может слегка перемещаться, допускается небольшое отклонение от центрального положения	То же
Куринные диетические	Неподвижная; высота - не более 4 мм	Прочный, едва видимый, но контуры не видны, занимает центральное положение и не перемещается	Плотный, светлый, прозрачный
Куриные столовые: хранившиеся при температуре от 0 °С до 20 °С	Неподвижная или допускается некоторая подвижность; высота - не более 7 мм	Прочный, мало заметный, может слегка перемещаться, допускается небольшое отклонение от центрального положения	То же
хранившиеся при температуре от минус 2 °С до 0 °С	Неподвижная или допускается некоторая подвижность; высота - не более 9 мм	Прочный, мало заметный, перемещающийся от центрального положения	Плотный, допускается недостаточно плотный, светлый, прозрачный

Скорлупа яиц должна быть чистой, без пятен крови и помета и неповрежденной.

Допускается:

- на скорлупе диетических яиц наличие единичных загрязнений в виде точек или полосок;

- на скорлупе столовых яиц загрязнения в виде пятен, точек и полосок, занимающих не более 1/8 ее поверхности.

Яйца маркируют методом штемпелевания, напыления или иным способом, обеспечивающим четкость маркировки. Высота цифр и букв, обозначающих наименование, дату сортировки, должна быть не менее 3 мм. Допускается наносить на яйца дополнительную информацию (наименование предприятия-производителя или товарный знак). Яйца перепелов не маркируют.

На диетических яйцах указывают: класс и дату сортировки (число и месяц); на столовых - только класс. Класс яиц при маркировке обозначают: диетические - Д, столовые - С.

На каждую упаковочную единицу потребительской тары наносят маркировку, характеризующую продукт:

- наименование и местонахождение производителя (юридический адрес);
- товарный знак изготовителя (при наличии);
- наименование продукта, вид и класс;
- дату сортировки;
- число яиц;
- срок годности и условия хранения;
- пищевую ценность;
- обозначение настоящего стандарта;
- информацию о подтверждении соответствия.

Диетические яйца упаковывают только в потребительскую тару. На потребительскую тару с диетическими яйцами наклеивают легко снимаемую этикетку со словами "Диетические яйца". После окончания срока хранения диетических яиц этикетку удаляют, и они переходят в класс "Столовые яйца".

Яйца принимают партиями.

Партией считается любое количество яиц одного вида, класса и одной даты сортировки, упакованное в одну упаковочную единицу транспортной тары и оформленное одним документом о качестве и безопасности.

Каждую партию яиц сопровождают одним документом, удостоверяющим соответствие качества и безопасности продукции требованиям настоящего стандарта, ветеринарным документом, установленным на территории государства, принявшего стандарт.

Допускается наличие в одном транспортном средстве нескольких партий (не более пяти), близких по дате сортировки, каждая из которых должна быть оформлена одним удостоверением о качестве и безопасности и одним ветеринарным документом.

Для проверки соответствия качественных характеристик яиц, посторонних запахов, состояния скорлупы от партии яиц проводят выборку в соответствии с требованиями.

Таблица 7 Порядок отбор проб из партии продукции

Количество яиц в партии, шт.					Объем выборки, %
		До	360	включ.	10
От	361	"	3600	"	5
"	3601	"	10800	"	3
"	10801	"	36000	"	1

Яйца в поврежденной таре подвергают 100% рассортировке.

Для определения качественных характеристик, чистоты скорлупы, запаха отбирают от объема выборки 50% яиц согласно таблице.

Для определения содержания токсичных элементов, антибиотиков, пестицидов, радионуклидов, микробиологических показателей от объединенной выборки отбирают 25% яиц.

Определение чистоты скорлупы, запаха содержимого яиц, плотности и цвета белка

Метод заключается в оценке чистоты скорлупы, запаха содержимого яиц, плотности и цвета белка. Чистоту скорлупы отобранных яиц проверяют визуально при ярком рассеянном свете или люминесцентном освещении в части объединенной пробы продукта. Запах содержимого яиц определяют органолептически. Плотность и цвет белка определяют визуально путем выливания яйца на гладкую поверхность.

Массу одного яйца, а также массу 10 яиц определяют взвешиванием на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания до 1 г.

Определение состояния воздушной камеры, ее высоты, состояния и положения желтка и целостности скорлупы. Метод основан на просвечивании яиц на овоскопе.

Высоту воздушной камеры измеряют при помощи шаблона-измерителя (рисунок 1) при просвечивании яиц на овоскопе.

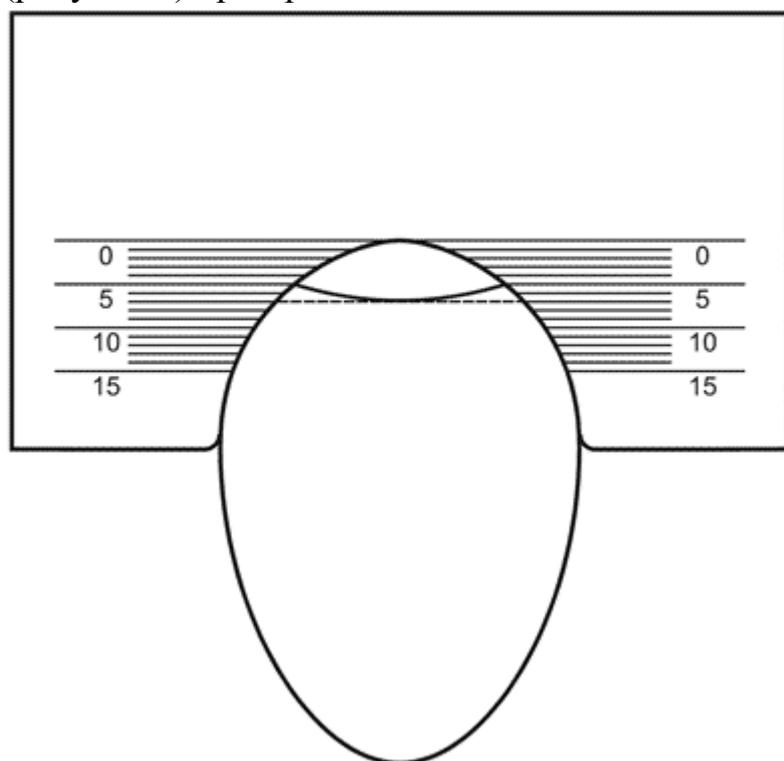


Рисунок 2 - Шаблон-измеритель для яиц, мм

Определение микробиологических показателей - по ГОСТ ISO 7218, ГОСТ 26668, ГОСТ 26669, ГОСТ 30364.2.

### Вопросы для самопроверки

1. Характеристика яиц домашней птицы.
2. Характеристика яиц кур.
3. Характеристика индеек.
4. Характеристика цесарок .
5. Характеристика перепелов.

## 6. Характеристика гусей.

### 3.1. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ЯИЦ

Для проведения микробиологического контроля из объединенной пробы отбирают 100 см<sup>3</sup> жидких (или 100 г сухих) яичных продуктов. Для приготовления исходного разведения в колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> вносят 10 см<sup>3</sup> жидкого (или 10 г сухого) яичного продукта, отобранного из объединенной пробы, добавляют 90 см<sup>3</sup> стерильной водопроводной воды или стерильного изотонического раствора. Смесь взбалтывают (или перемешивают) в течение 1-2 мин стерильной пипеткой. Получают исходное разведение (1:10).

Для приготовления серий последовательных разведений 1 см<sup>3</sup> смеси исходного разведения переносят стерильной пипеткой в пробирку с 9 см<sup>3</sup> стерильной жидкости (водопроводной воды или изотонического раствора) так, чтобы пипетка не касалась поверхности жидкости. Внесенную смесь тщательно перемешивают другой стерильной пипеткой путем наполнения и выталкивания содержимого не менее 10 раз; получают разведение 1:100. Аналогичным способом готовят последующие разведения: до 1:1000 для сухих и до 1:10000 для жидких яичных продуктов.

При приготовлении разведений соблюдают условия, исключая вторичное микробное загрязнение. Полученные разведения используют для посевов. Время с момента окончания приготовления последнего разведения до начала высева не должно превышать 20 мин.

#### ***Приготовление питательных сред и реактивов***

##### ***Мясная вода***

Охлажденную говядину или конину освобождают от костей, сухожилий, жира, пропускают через мясорубку. 1 кг полученного фарша заливают двух- или четырехкратным количеством водопроводной воды (по массе), нагревают и кипятят в течение полутора часов, постоянно помешивая и удаляя накипь. После кипячения мясную воду остужают, удаляют жир. Жидкость фильтруют через вату или полотно, потом через фильтровальную бумагу до полной прозрачности. Фильтрат измеряют и доливают до первоначального объема кипяченой водопроводной водой, затем разливают по бутылкам и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 30 мин.

##### ***Мясо-пептонный бульон***

К 1 дм<sup>3</sup> полученной по 3.2.4.1 мясной воды добавляют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия и 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (на выкипание); кипятят до растворения пептона. В горячий бульон добавляют 10%-ный раствор гидрата окиси натрия и устанавливают рН (7,4±0,2), после чего бульон кипятят еще раз в течение 15 мин и фильтруют через увлажненный дистиллированной водой складчатый бумажный фильтр. Профильтрованный бульон должен быть совершенно прозрачным, соломенно-желтого цвета. Бульон разливают по

колбам, пробиркам и стерилизуют при температуре  $(121\pm 1)$  °С в течение 20 мин.

#### *Мясо-пептонный агар*

К приготовленному мясо-пептонному бульону добавляют агар-агар: 2 г для приготовления полужидкого или 20 г - для приготовления плотного мясо-пептонного агара. Смесь кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара.

Приготовленный мясо-пептонный агар разливают в пробирки или в колбы и стерилизуют в автоклаве при температуре  $(121\pm 1)$  °С в течение 20 мин.

#### *Пептонная вода*

К 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды прибавляют 10 г пептона и 5 г хлористого натрия, устанавливают рН  $(7,4\pm 0,2)$ , кипятят таким образом, чтобы после кипячения он находился в ранее установленных пределах, фильтруют через бумажный фильтр до полной прозрачности и стерилизуют при температуре  $(121\pm 1)$  °С в течение 30 мин.

#### *Среда Кесслер (с лактозой)*

10 г пептона, 50 см<sup>3</sup> натуральной стерильной или 5 г сухой говяжьей желчи добавляют к 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды, тщательно перемешивают, кипятят в течение 20-30 мин, фильтруют через ватный фильтр, добавляют 2,5 г лактозы и доводят объем дистиллированной водой до 1 дм<sup>3</sup>. Устанавливают рН  $(7,5\pm 0,1)$ , добавляют 2 см<sup>3</sup> 1%-ного водного раствора кристаллического фиолетового или генциан фиолетового. Среду разливают в пробирки с поплавками по 5 см<sup>3</sup> и стерилизуют при температуре  $(112\pm 1)$  °С 15 мин. Среда имеет фиолетовый цвет.

#### *Среда Хейфеца с лактозой*

В колбу вместимостью 1 дм<sup>3</sup> вносят 10 г пептона, 5 г лактозы, 5 г хлористого натрия и индикаторы: 1 см<sup>3</sup> 5%-ного спиртового раствора розоловой кислоты и 2,5 см<sup>3</sup> 0,1%-ного водного раствора метиленового синего (голубого), заливают 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды и нагревают до кипения. Устанавливают рН 7,4-7,6. Среду разливают по 10 см<sup>3</sup> в стерильные пробирки с поплавками. Стерилизуют при температуре  $(112\pm 1)$  °С в течение 20 мин.

#### *Приготовление индикаторов и индикаторных сред*

0,5 г порошка розоловой кислоты всыпают во флакон с притертой пробкой и заливают 10 см<sup>3</sup> этилового ректифицированного спирта с массовой долей 96%. Через 24 ч раствор готов к употреблению. Раствором можно пользоваться в течение месяца.

0,1 г метиленового синего (голубого) заливают 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, ставят на сутки в термостат при температуре  $(37\pm 0,5)$

°С. Срок пользования водного раствора метиленового синего (голубого) не ограничен

*Индикатор Андреде*

0,5 г кислого фуксина растворяют в 16,4 см<sup>3</sup> 1 н. раствора гидрата окиси натрия, прибавляют 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, настаивают 24 ч при температуре (37±1) °С, стерилизуют кипячением в течение 5 мин. Приготовленный таким образом индикатор имеет соломенно-желтый цвет. При смещении рН в кислую сторону индикатор Андреде приобретает ярко-малиновую окраску. Индикатор сохраняют во флаконах темного стекла с притертой пробкой.

*Индикатор бромтимоловый синий*

0,4 г бромтимолового синего растворяют в 40 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, нагревая ее до кипения. После этого к раствору прибавляют 6,4 см<sup>3</sup> децинормального раствора гидрата окиси натрия, в результате чего жидкость приобретает зеленоватый цвет, и доливают дистиллированной водой до 100 см<sup>3</sup>. Приготовленный таким образом индикатор может сохраняться в темном месте в склянке с притертой пробкой в течение длительного времени.

*Среды Гисса с углеводами*

К 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды прибавляют 10 г пептона, 5 г хлористого (хлорида) натрия и нагревают до растворения в течение нескольких минут, затем фильтруют через бумажный фильтр до тех пор, пока раствор не станет совершенно прозрачным. Устанавливают рН (7,2±0,2), прибавляют 10 г одного из необходимых видов углеводов (лактозы, глюкозы, сахарозы, маннита и мальтозы), а затем индикатор Андреде в количестве 10 см<sup>3</sup> или 1 см<sup>3</sup> 1,6%-ного раствора бромтимолового синего на 1 дм<sup>3</sup> среды.

Готовую среду разливают по 5 см<sup>3</sup> в пробирки, заранее простерилизованные вместе с пробирками и поплавками, расположенными запаянным концом кверху; стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин. Во время стерилизации поплавки заполняются доверху питательной средой. Среды Гисса с индикатором Андреде имеют соломенно-желтый цвет, с индикатором бромтимоловым синим - болотно-зеленый.

*Среда с углеводом (маннитом или мальтозой) и феноловым красным*

К 1 дм<sup>3</sup> стерильного питательного агара добавляют 52 см<sup>3</sup> 1,6%-ного водного раствора фенолового красного и 10 г углеводов (маннита или мальтозы). Предварительно углеводы растворяют в небольшом объеме стерильной дистиллированной воды.

Готовят 1,6%-ный водный раствор фенолового красного, для чего в 100 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды растворяют 1,6 г индикатора.

К расплавленному и охлажденному до (80±2) °С стерильному питательному агару добавляют углеводы (маннит или мальтозу) и индикатор феноловый красный, смесь перемешивают, при необходимости еще раз расплавляют готовую среду, разливают в стерильные чашки Петри и

подсушивают. Среда пурпурно-красного цвета. Среду готовят с соблюдением стерильности.

#### *Среда Ресселя*

К 1 дм<sup>3</sup> 2,0%-ного питательного или мясо-пептонного агара (рН 7,2) прибавляют 10 г лактозы, 1 г глюкозы и 10 см<sup>3</sup> индикатора Андреде. Среду разливают в пробирки в количестве 5-6 см<sup>3</sup>, стерилизуют в автоклаве при (112±1) °С в течение 20 мин и скашивают так, чтобы на 2-3 см от дна пробирки агар оставался в виде столбика. Готовая среда бледно-розового цвета.

#### *Среда Кауфмана*

Колбу, содержащую 4,5 г мела, стерилизуют сухим жаром, наливают в нее 90 см<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона и стерилизуют при (121±1) °С 30 мин. Перед посевом в асептических условиях в колбу добавляют 2 см<sup>3</sup> раствора Люголя, 10 см<sup>3</sup> 50%-ного раствора серноватистокислового натрия (тиосульфата), 5 см<sup>3</sup> стерильной желчи и 1 см<sup>3</sup> водного раствора бриллиантового зеленого в соотношении 1:1000. Смесь тщательно взбалтывают.

#### *Селенитовая среда Лейфсона*

Для приготовления среды готовят два раствора: А и Б.

Раствор А состоит из 5 г пептона, 7 г безводного двузамещенного фосфорнокислого натрия (гидрофосфата), 3 г однозамещенного фосфорнокислого натрия (дигидрофосфата), 4 г химически чистой лактозы, 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды, рН (7,0±0,1). Компоненты смешивают, разливают в стерильную посуду по 225 см<sup>3</sup> и стерилизуют текучим паром по 30 мин или при (112±1) °С в течение 30 мин.

В раствор Б входит 10%-ный раствор кислого селенистокислового натрия, приготовленного на стерильной дистиллированной воде (готовят перед употреблением).

Перед началом работы к 225 см<sup>3</sup> раствора А стерильно добавляют 9 см<sup>3</sup> раствора Б.

#### *Магниева (хлористо-магниева) среда*

Среда состоит из трех растворов.

Раствор I: пептон - 4,2 г, натрия хлорид - 7,15 г, калия дигидрофосфат - 1,48 г, дрожжевой диализат - 9 см<sup>3</sup> (производство ИЭИМ АМН им. Н.Ф.Гамалея), вода дистиллированная - 890 см<sup>3</sup>.

Раствор II: магния хлорид - 35,7 г, вода дистиллированная - 90 см<sup>3</sup>.

Раствор III: бриллиантовый зеленый 0,5%-ный, водный раствор - 0,9 см<sup>3</sup>.

Все три приготовленных раствора смешивают, разливают в колбы, флаконы, пробирки. Стерилизуют при (112±1) °С 30 мин.

При отсутствии дрожжевого диализата (производство ИЭИМ АМН им. Н.Ф.Гамалея) допускается замена его дрожжевым экстрактом.

### *Среда Крумвиде-Олькеницкого (трехсахарный агар с мочевиной)*

Агар питательный сухой - 25 г, лактоза - 10 г, сахароза - 10 г, глюкоза - 1 г, аммоний-железо (III) сульфат (соль Мора) ( $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{O} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) - 0,2 г, натрия тиосульфат (гипосульфит, серноватистокислый натрий) - 0,3 г, мочевина - 10 г, феноловый красный 0,4%-ный водный раствор - 4 см<sup>3</sup>, вода дистиллированная - 1 дм<sup>3</sup>.

Соли предварительно растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды. Углеводы и мочевину также растворяют в небольших объемах воды при подогревании на водяной бане. Сухой питательный агар расплавляют в оставшемся объеме воды при нагревании и помешивании. Затем все ингредиенты соединяют, перемешивают с расплавленным агаром, фильтруют через марлевый фильтр, устанавливают рН (7,3±0,1), добавляют индикатор и разливают в стеклянные пробирки по 6-7 см<sup>3</sup>. Среду стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 20 мин, скашивают, оставляя столбик 2-2,5 см. Готовая среда бледно-розового цвета. Среду хранят при комнатной температуре не более 7 сут.

### *Желточно-солевой агар*

К приготовленному по 3.2.4.22 1 дм<sup>3</sup> солевого бульона добавляют 20 г питательного агара, расплавляют на водяной бане, при необходимости фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают мерным цилиндром по 100 см<sup>3</sup> в колбы вместимостью 250 см<sup>3</sup> и стерилизуют при (121±1) °С в течение 30 мин. Получают солевой агар. Вместо солевого бульона можно использовать, как основу, сухой питательный агар, мясо-пептонный бульон, бульон Хоттингера, добавляя 65 г хлористого натрия.

Для приготовления желточной эмульсии на дно стерильной чашки Петри помещают куриное яйцо, тщательно протирают его ватой, смоченной этиловым спиртом, и обжигают. Стерильным пинцетом пробивают с двух противоположных сторон яйца два отверстия, через одно из этих отверстий из яйца полностью удаляют белок, а затем, несколько увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу вместимостью 200 см<sup>3</sup>. К желтку постепенно добавляют (частями по 20-30 см<sup>3</sup>) 200 см<sup>3</sup> стерильного изотонического раствора, содержимое тщательно встряхивают до получения гомогенной массы.

Для приготовления желточно-солевого агара на 1 дм<sup>3</sup> стерильного расплавленного и остуженного до (45±1) °С солевого агара добавляют 200 см<sup>3</sup> желточной эмульсии, после полного размешивания желточно-солевой агар разливают в стерильные чашки Петри по 20-25 см<sup>3</sup> и хранят в холодильнике до 5-7 с

### *Приготовление реактива Эрлиха*

В 50 см<sup>3</sup> этилового спирта с массовой долей 96% растворяют 4 г парадиметиламидобензальдегида, затем медленно добавляют 50 см<sup>3</sup>

концентрированной соляной кислоты. Реактив хранят в склянке из темного стекла при температуре 4-8 °С.

Бумага индикаторная для обнаружения индола

Листы фильтровальной бумаги обильно смачивают горячим насыщенным (12%) раствором щавелевой кислоты, высушивают при температуре (23±2) °С, затем нарезают полосками шириной 0,2-0,4 мм, длиной 5-6 см и хранят в банках темного стекла под пробками.

*Приготовление мазков по методу Грама*

Приготовление мазков из культуры в агаризованной среде

На середину чистого обезжиренного предметного стекла стерильной пипеткой или петлей наносят небольшую каплю стерильного изотонического раствора или водопроводной воды. Затем, соблюдая правила асептики, петлей с плотной питательной средой из пробирки или чашки берут испытуемую колонию. Часть ее погружают в каплю, слегка растирая в ней, а остаток в петле сжигают на пламени горелки. Остуженной петлей сначала краем, а потом всей плоскостью петли равномерными круговыми движениями распределяют каплю на площади, составляющей примерно 1/3 предметного стекла.

При приготовлении препарата из культуры в жидкой питательной среде бактериологической петлей или пастеровской пипеткой берут каплю культуры и, поместив ее на середину сухого чистого стекла, равномерно распределяют ее в форме мазка. Петлю тотчас же обжигают на пламени горелки, а пастеровскую пипетку погружают в дезинфицирующий раствор.

Приготовленные мазки высушивают при комнатной температуре на воздухе.

Высушенные мазки фиксируют, для чего препарат берут пинцетом за край стекла мазком вверх и несколько раз проводят его через пламя горелки.

*Окраска мазков*

На предварительно фиксированный пламенем мазок кладут полоску фильтровальной бумаги, пропитанной кристаллическим фиолетовым или генциан фиолетовым, и на последнюю наливают дистиллированную воду так, чтобы бумажка полностью смочилась краской. Прокрашивание длится 1-2 мин.

Фильтровальную бумажку снимают пинцетом, сливают избыток красителя и, не промывая препарата водой, наливают на него раствор Люголя на 1-2 мин до почернения мазка.

Раствор Люголя сливают, предметное стекло для обесцвечивания мазка погружают несколько раз в стаканчик с этиловым спиртом с массовой долей 96%. Процесс обесцвечивания считается законченным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости. Мазок можно обесцвечивать и таким способом: на препарат наливают этиловый ректифицированный спирт с массовой долей 96% на 30-60 с, при этом препарат покачивают и доливают спирт.

Препарат тщательно промывают водопроводной водой и докрашивают спирто-водным раствором фуксина (Пфейфера) или 1%-ным водным раствором нейтрального красного в течение 1-2 мин. Краску сливают, мазок

промывают водопроводной водой, сушат на воздухе или фильтровальной бумагой и микроскопируют. При этом учитывают морфологические особенности изучаемых бактерий и их отношение к окраске: грамположительные бактерии окрашиваются основной краской в темно-фиолетовый цвет, грамотрицательные, воспринимая дополнительную окраску, приобретают ярко-розовый цвет.

### ***Порядок проведения контроля***

#### ***Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов***

Метод основан на подсчете всех колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на плотном питательном агаре, и пересчете их количества на 1 г сухого ( $1 \text{ см}^3$  жидкого) яичного продукта.

#### ***Порядок исследования***

По  $1 \text{ см}^3$  исследуемого продукта из разведений, высевают параллельно в две чашки Петри для каждого разведения. При посеве крышку чашки Петри слегка приоткрывают и посевной материал вносят на дно чашки. Не позже чем через 15 мин после внесения исследуемого материала в чашки его заливают  $15-20 \text{ см}^3$  предварительно расплавленного и охлажденного до  $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$  питательного или мясо-пептонного агара. Чашки с посевами, залитыми питательной средой, осторожно вращают, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей питательной среде. Затем чашки с посевами оставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды. Чашки с посевами, перевернутые вверх дном, инкубируют в термостате при температуре  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(72 \pm 3)$  ч.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

#### ***Подсчет микроорганизмов***

Для подсчета количества микроорганизмов учитывают все выросшие колонии, отмечая стеклографом по дну чашки. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) проводят невооруженным глазом или с помощью лупы, или с помощью специально предназначенного для подсчета колоний прибора.

Подсчет проводят в посевах того разведения, количество колоний в котором в пределах 30-300. По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение числа колоний из всех посевов одного разведения.

Если 30-300 колоний в посевах не одного, а двух следующих друг за другом разведений, то подсчитывают и вычисляют среднее арифметическое количество микроорганизмов в каждом из этих разведений отдельно. Если полученные результаты отличаются друг от друга более чем в 2 раза, то оценку проводят по результатам посева наибольшего разведения.

Полученные результаты округляют следующим образом:

если инкубированные чашки не содержат колоний, то результат выражают так: меньше чем  $1,0 \times 10$  микроорганизмов в  $1 \text{ см}^3$  или 1 г продукта;

если в чашках с разведением 1:10 выросло меньше чем 30 колоний, то результат выражают так: меньше чем  $3,0 \times 10$ ;

если число выросших колоний 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.

Количество микроорганизмов КОЕ X в 1 г или в  $1 \text{ см}^3$  яичных продуктов вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \times 10^n}{V}$$

где a- округленное среднее арифметическое число колоний на чашках;

v- объем посевого материала, внесенного в чашку,  $\text{см}^3$ ;

n- степень десятикратного разведения продукта.

Результаты исследований записывают следующим образом: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов  $1,0 \times 10$  КОЕ/г ( $\text{см}^3$ ) и т.д. до  $9,9 \times 10$  КОЕ/г ( $\text{см}^3$ ) продукта.

#### ***Метод определения бактерий группы кишечных палочек***

Метод основан на способности бактерий группы кишечных палочек ферментировать лактозу с образованием кислоты и газа.

Порядок проведения исследований

По  $1 \text{ см}^3$  из разведений сухих или жидких яичных продуктов, вносят в пробирки со средой Кесслер или Хейфеца. Посевы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24 \pm 1)$  ч. Из пробирок с признаками роста (изменение цвета среды, помутнение, газообразование) делают высев на среду Эндо. Посевы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(24 \pm 1)$  ч. Затем посевы просматривают и отмечают рост колоний, характерных для бактерий группы кишечных палочек (плоские или слегка выпуклые, или с валиком, красные с различной интенсивностью окраски, розовые, бледно-розовые с металлическим или без металлического блеска). Из не менее чем трех характерных колоний готовят препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Обнаружение на среде Эндо характерного роста колоний, наличие в мазках из этих колоний грамтрицательных палочек, сбрасывающих лактозу с образованием кислоты и газа при температуре  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ , указывают на выявление в продукте бактерий группы кишечных палочек.

Результат записывают как "не обнаружены" или "обнаружены" бактерии группы кишечных палочек в  $0,1 \text{ см}^3$  жидких или в 0,1 г сухих яичных продуктов.

#### ***Метод выявления бактерий рода Salmonellae***

Метод основан на использовании сред обогащения с последующим выделением сальмонелл на дифференциально-диагностических средах, а

также на изучении культурально-морфологических, биохимических и серологических свойств культур.

#### Порядок проведения исследований

25 г сухих или 25 см<sup>3</sup> жидких яичных продуктов из средней пробы с соблюдением стерильности вносят в колбу, содержащую 225 см<sup>3</sup> одной из сред обогащения (Кауфмана, магниевой или селенитовой), встряхивают и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 16-20 ч. Затем проводят высеv бактериологической петлей (диаметр 0,4-0,5 мм) из сред обогащения в чашки Петри с висмут-сульфитным агаром или средой Плоскирева, или агаром Левина, растирая шпателем. Чашки с посевом инкубируют при температуре (37±1) °С. Учет результатов проводят на висмут-сульфитном агаре через 48 ч, на среде Плоскирева и Левина через 18-24 ч. Сальмонеллы на висмут-сульфитном агаре образуют черные колонии с характерным металлическим блеском, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией и нежные светло-зеленые колонии. На средах Плоскирева и Эндо колонии сальмонелл прозрачные, на среде Левина - голубоватые. При отсутствии типичных или подозрительных колоний или при наличии слабого роста микробов на плотных дифференциальных средах чашки с посевами повторно инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 20-24 ч. Затем снова определяют присутствие колоний сальмонелл. При обнаружении подозрительных колоний продолжают исследование. В противном случае работу с посевами прекращают.

При наличии подозрительных типичных, характерных для сальмонелл колоний, из них берут не менее 3 колоний. Если имеется на одной чашке менее 3 типичных колоний, то берут все выросшие подозрительные колонии для пересева в пробирки: со скошенным питательным или мясо-пептонным агаром, с мясо-пептонным бульоном, с пептонной водой и на одну из дифференциальных сред Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера.

Среды Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера засевают сначала штрихом на скошенную поверхность, а затем уколом в глубину столбика.

Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч.

Выросшие культуры с поверхности скошенного агара используют для постановки реакции агглютинации и приготовления мазков. Мазки окрашивают по Граму и микроскопируют. Сальмонеллы - грамтрицательные палочки. Посевы на мясо-пептонном бульоне и пептонной воде используют для определения способности выделенных культур образовывать сероводород и индол.

Подтверждение наличия сальмонелл в продукте дает рост на средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера.

На средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера оценивают окраску и газообразование. При росте сальмонелл в средах Ресселя, Крумвиде-Олькеницкого, Клиглера в малиновый цвет окрашивается столбик (за счет расщепления глюкозы), скошенная часть среды остается бледно-розовой при отсутствии расщепления лактозы, сахарозы или обоих сахаров.

Газообразование устанавливают по трещинам и разрывам столбиков агара. На средах Крумвиде-Олькеницкого, Клигера образование сероводорода обнаруживают на основании почернения среды (от темной линии по месту протокола среды до разлитого почернения всего столбика). Расщепление мочевины выявляется по восстановлению первоначального цвета (бледно-розового) столбика среды.

Сальмонеллы мочевины не разлагают, сероводород образуют.

При необходимости более полной биохимической характеристики культуры пересеивают на цветные среды Гисса с углеводами ("короткий пестрый ряд" с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом и мальтозой) и определяют их способность образовывать индол и сероводород.

С этой целью суточную культуру, взятую со скошенного питательного или мясо-пептонного агара, растирают в 1,0 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Затем по 2 капли (0,2 см<sup>3</sup>) взвеси вносят пастеровской пипеткой в среды Гисса, пептонную воду или мясо-пептонный бульон. Питательные среды с посевами инкубируют при температуре (37±1) °С.

На средах Гисса через 24 ч термостатирования учитывают кислотообразование (среды приобретают розово-красный цвет) и газообразование (наличие пузырьков в поплавках).

Сальмонеллы не ферментируют лактозу и сахарозу, ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа.

Для обнаружения индола в пробирку с мясо-пептонным бульоном или пептонной водой сразу же после посева испытуемой культуры помещают полоску фильтровальной бумаги, смоченную насыщенным водным раствором щавелевой кислоты. Бумажку помещают таким образом, чтобы она удерживалась пробкой, но не прикасалась к среде. При наличии индола через 1-3 дня инкубирования при температуре (37±1) °С нижняя часть бумажки окрашивается в розовый цвет, хорошо заметный в проходящем свете. Индол можно определить и другим способом: в пробирку с суточной бульонной культурой осторожно по стенке добавляют 5-10 капель реактива Эрлиха. Перед добавлением реактива к бульону можно ввести 2 см<sup>3</sup> этилового эфира. При наличии индола не позднее чем через 5 мин в пограничном слое образуется ярко-красное кольцо. Сальмонеллы индола не образуют.

Принадлежность выделенных культур к роду сальмонелл определяется реакцией агглютинации на стекле с поливалентной адсорбированной сальмонеллезной сывороткой.

С этой целью на предметное стекло помещают каплю изотонического раствора хлористого натрия и рядом каплю поливалентной агглютинирующей сальмонеллезной сыворотки. Затем в каждую из приготовленных капель, начиная с изотонического раствора, вносят петлей часть анализируемой колонии, равномерно растирают и покачивают предметным стеклом в течение 30-60 с. Помещают стекло на темный фон и рассматривают с помощью увеличительного стекла. При положительной реакции агглютинации через 0,5-2,0 мин в капле сыворотки образуются хлопья, жидкость просветляется.

В капле с изотоническим раствором остается равномерное помутнение.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Штаммы, дающие типичные биохимические изменения и положительные серологические реакции с поливалентной агглютинирующей сальмонеллезной сывороткой, относят к сальмонеллам.

Для видовой идентификации подозрительных на сальмонеллы культур их отправляют в специализированные лаборатории.

#### ***Метод определения бактерий рода Proteus***

Метод основан на высеве определенного количества продукта в конденсационную воду свежескошенного агара, способности бактерий рода *Proteus* давать ползучий, опережающий другие виды бактерий рост и образовывать сероводород.

Порядок проведения исследований

1 см<sup>3</sup> жидких яичных продуктов или 1 см<sup>3</sup> из разведений 1:10, вносят в конденсационную воду пробирок со свежескошенным питательным или мясо-пептонным агаром, не прикасаясь к скошенной поверхности среды. Посевы инкубируют в термостате при температуре (37±1) °С в течение 24 ч.

При учете посевов обращают внимание на образование ползучего муарообразного налета с голубоватым оттенком на скошенном агаре, поднимающегося из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды и издающего резкий гнилостный запах. При появлении характерного роста микробов рода *Proteus* готовят мазки, окрашивают их по Граму, микроскопируют. Бактерии рода *Proteus* - неспорообразующие грамотрицательные палочки.

Для определения способности образовывать сероводород подозрительные культуры с агара высевают методом укола в столбик и штрихами по скошенной поверхности одной из сред: Крумвиде-Олькеницкого или Клигlera. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При образовании сероводорода столбик среды чернеет. Бактерии рода *Proteus* образуют сероводород, при этом в столбике среды появляется газ, что указывает на ферментацию глюкозы.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Наличие характерного роста в виде тонкого муарообразного налета, поднимающегося вверх от конденсата на свежескошенном агаре, резкого гнилостного запаха, неспорообразующих грамотрицательных палочек в мазках, образующих сероводород, указывает на присутствие бактерий рода *Proteus* в 1 см<sup>3</sup> жидких и в 0,1 г сухих яичных продуктов.

#### ***Метод выявления бактерий рода Staphylococcus aureus***

Метод основан на высеве определенного количества продукта или его разведений в селективные питательные среды, способности стафилококков расти на средах с повышенным содержанием хлористого натрия, коагулировать плазму крови кролика и образовывать кислоту из маннита и мальтозы в аэробных условиях.

Порядок проведения исследований

Сухие яичные продукты в количестве 1 г, жидкие - 1 см<sup>3</sup> высевают в пробирки, содержащие по 9 см<sup>3</sup> солевого бульона, приготовленного по 3.2.4.22.

Через 24 ч инкубирования при температуре (37±1) °С из солевого бульона проводят пересев бактериологической петлей на чашки Петри с подсушенным желточно-солевым агаром. Чашки с посевами инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-24 ч.

Для лучшего выявления пигментов после суточной инкубации чашки с посевами выдерживают на свету при комнатной температуре 18-24 ч.

На желточно-солевом агаре колонии *Staphylococcus aureus* имеют форму выпуклых дисков диаметром 2-4 мм желтого, белого, кремового, лимонного, золотистого цветов с ровными краями, вокруг колоний образуется радужное кольцо.

Из характерных колоний, подозрительных на *Staphylococcus aureus*, готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Колонии грамположительных мелких кокков, гроздевидно расположенные в мазке, бактериологической петлей отсевают в чашки Петри с питательным или мясо-пептонным агаром. Посевы инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-24 ч.

Из выросших на агаре подозрительных на *Staphylococcus aureus* колоний после проверки мазков на чистоту культуры под микроскопом ставят реакцию плазмокоагуляции. Для этого в две пробирки помещают по 0,5 см<sup>3</sup> разведенной кроличьей плазмы. В одну пробирку вносят петлей исследуемую суточную агаровую культуру, другую пробирку оставляют незасеянной. Пробирки помещают в термостат при температуре (37±1) °С. Учет результатов проводят через 2-4 ч и пробирки оставляют до утра при комнатной температуре для окончательного учета. Пробирки следует просматривать осторожно, чтобы не разрушить образующийся сгусток.

При учете реакции плазмокоагуляции могут наблюдаться три степени активности фермента коагулазы:

++++ - сгусток плотный, при наклоне пробирки неподвижен;

+++ - сгусток, имеющий небольшой отсек, при наклоне пробирки подвижен, плотная коагуляция плазмы;

++ - сгусток в виде взвешенного мешочка, неполная коагуляция плазмы с образованием подвижного сгустка в центре плазмы.

Все три варианта являются положительным результатом.

Подозрительные на *Staphylococcus aureus* колонии, выросшие на желточно-солевом агаре, бактериологической петлей пересевают в чашки Петри, содержащие агаризованную среду с маннитом (или мальтозой) и индикатором феноловым красным. Посевы термостатируют при температуре (37±1) °С в течение (24±1) ч. При положительной реакции вокруг колонии наблюдается желтое окрашивание среды, четко контрастирующее с пурпурно-красным фоном.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Наличие грамположительных гроздевидно расположенных мелких кокков в мазках из характерных колоний на желточно-солевом агаре, положительная реакция плазмокоагуляции, ферментация маннита и мальтозы с образованием кислоты свидетельствуют о выявлении в 1 г или в 1 см<sup>3</sup> яичных продуктов *Staphylococcus aureus*.

#### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте характеристику исследования яичной продукции на сальмонеллез.
2. Дайте характеристику исследования яичной продукции на листериоз.
3. Дайте характеристику исследования яичной продукции на кишечную палочку.
4. Дайте характеристику исследования яичной продукции общую микробную обсемененность.
5. Микробиологические исследования яиц –порядок постановки исследований.
6. Отбор проб.
7. Интерпретация результатов микробиологических исследований.

## **4ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОНТРОЛЬ ТУШЕК, МЯСА ПТИЦЫ, ПТИЦЕПРОДУКТОВ И ЯЙЦЕПРОДУКТОВ**

Основные микробиологические показатели производственного контроля, характеризующие микробиологическую безопасность тушек птицы, яиц и птицепродуктов, и периодичность их проведения представлены в таблице 8.

Яйца и птицепродукты содержат микроорганизмы, видовой состав и количественное содержание которых зависят от качества поступающего сырья, режимов производства и условий хранения.

По характеру формирования и развития микрофлоры при производстве птицепродуктов их разделяют на следующие группы:

- сырье и сырые продукты: тушки птицы, мясо птицы кусковое, мясо птицы механической обвалки, полуфабрикаты, субпродукты, имеющие повышенное микробное обсеменение;

- готовые кулинарно обработанные продукты - при их производстве значительно снижается микробное обсеменение - требующие особых условий хранения;

- птицепродукты сублимационной сушки, производство которых связано с повышенным уровнем требований к сырью и чистоте оборудования;

- яйца и яйцепродукты - необходима предварительная санитарная обработка яиц, требуется особое внимание к их качеству, чистоте помещений и оборудования при производстве яйцепродуктов.

При этом следует особое внимание уделять на:

- качество обработки тушек птицы на конвейерных линиях, условия охлаждения тушек птицы и их разделки, длительность хранения;

- соблюдение температурных режимов при изготовлении готовой продукции;

- условия хранения готовой продукции и реализации ее потребителю.

Особое внимание должно уделяться контролю качества готовой продукции. В случае получения неудовлетворительных результатов по микробиологическим показателям готовой продукции следует проводить контроль по ходу технологического процесса для установления причины ухудшения этих показателей (схема контроля приведена в "Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов на птицеводческих и птицеперерабатывающих предприятиях" (1990)).

Кроме того, необходимо обратить внимание на качество и регулярность мойки и дезинфекции технологического оборудования. Каждый вид технологического оборудования должен быть проверен не реже одного раза в месяц. Мойка должна проводиться после каждого опорожнения. В случае получения неудовлетворительных результатов контроль качества мойки оборудования проводится повторно.

Таблица - 8 Производственный микробиологический контроль тушек, мяса птицы, птицепродуктов, яиц и яйцепродуктов

№ п/п	Объект обследования	Кратность контроля	Исследуемые показатели	Нормативы
1.	Мясо птицы			
1.1.	Тушки и мясо птицы: - птица охлажденная, замороженная (контроль из мышц тушки)	1 раз в месяц	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^5$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <1>	в 25 г
	- мясо бескостное кусковое; кусковое на костях, в т.ч. окорочка и грудки	1 раз в 15 дней	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \times 10^5$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <2>	в 25 г
1.2.	- мясо механической обвалки Субпродукты птицы, охлажденные и замороженные (головы, шейки и т.д.)	Каждая партия 1 раз в месяц	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^6$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <3>	в 25 г
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	в 25 г
1.3.	Птичьи потроха (печень, мышечные желудки, сердце)	1 раз в месяц	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^6$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	в 25 г
1.4.	Продукты переработки мяса птицы, охлажденные, замороженные: - пельмени из мяса птицы	1 раз в 10 дней	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^6$
			БГКП не допускаются	в 0,0001 г
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	в 25 г
	- полуфабрикаты кусковые	1 раз в 15 дней	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \times 10^5$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	в 25 г
	- полуфабрикаты рубленые	1 раз в 10 дней	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \times 10^6$
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	в 25 г

2.	Яйца и продукты их переработки (яйцо, меланж)			
2.1.	Яйца куриные и перепелиные диетические	1 раз в месяц	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <5>	5 x 10 <sup>3</sup> в 1,0 г в 5 желтках
2.2.	Яйца куриные столовые	1 раз в месяц	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <5>	5 x 10 <sup>5</sup> в 0,01 г в 5 желтках
2.3.	Меланж яичный мороженный, желтки и белки мороженые	Каждая партия	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Бактерии рода <i>Proteus</i> не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	5 x 10 <sup>5</sup> в 0,1 г в 0,1 г в 1,0 г в 25 г
2.4.	Меланж яичный мороженный с солью и сахаром (желтки и белки мороженые)	Каждая партия	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Бактерии рода <i>Proteus</i> не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются	5 x 10 <sup>5</sup> в 0,1 г в 1,0 г в 1,0 г в 25 г
2.5.	Яичный порошок для продуктов с тепловой обработкой; белок и желток сухой яичный; смеси сухие яичные для омлета	Каждая партия	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Бактерии рода <i>Proteus</i> не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <4>	1 x 10 <sup>5</sup> в 0,1 г в 1,0 г в 1,0 г в 25 г
2.6.	Яичный порошок для продуктов энтерального питания	Каждая партия	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Бактерии рода <i>Proteus</i> не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается	5 x 10 <sup>4</sup> в 0,1 г в 1,0 г в 1,0 г

2.7.	Яйцепродукты сублимационной сушки		Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <4>	в 25 г
2.7.1.	Яичный порошок	Каждая партия	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются Бактерии рода <i>Proteus</i> не допускаются	1 x 10 <sup>5</sup> в 0,01 г в 0,1 г
2.7.2.	Желток	Каждая партия	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <4> КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается	в 25 г 5 x 10 <sup>4</sup> в 0,01 г в 1,0 г
2.7.3.	Белок	Каждая партия	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <4> КМАФАнМ, КОЕ/г, не более БГКП не допускаются <i>S. aureus</i> не допускается	в 25 г 1 x 10 <sup>4</sup> в 0,1 г в 1,0 г
			Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются <4>	в 25 г

-----  
**Вопросы для самопроверки**

1 Охарактеризуйте группы продукции птицеводства в зависимости от формирования и развития микрофлоры

2. Перечислите микробиологические характеристики продукции птицеводства указанной в таблице.

## ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

1. Птица для убоя - сельскохозяйственная птица, предназначенная для убоя и переработки. Птица для убоя подразделяется на сухопутную (куры, индейки, цесарки, перепела и страусы) и водоплавающую (утки, гуси).

2. Предубойный ветеринарный осмотр птицы - ветеринарное обследование птицы и ветеринарно-санитарная оценка состояния здоровья птицы перед убоем. Проводит ветеринарный специалист при приемке птицы на боенском предприятии и в день убоя для определения возможности ее убоя.

3. Послеубойная ветеринарно-санитарная экспертиза птицы и продуктов убоя птицы - послеубойный ветеринарный осмотр тушек и органов птицы, ветеринарно-санитарная оценка, по результатам которой устанавливают их безопасность и пригодность на пищевые цели.

4. Партия птицы для убоя - определенное количество птицы, направляемое на убой из одного птичника, одного вида и возраста, выращенное на одном производстве по однотипной технологии в определенный промежуток времени, доставляемое одним видом транспорта и сопровождаемое ветеринарным документом.

5. ветеринарное клеймение птицы: Нанесение ветеринарного клейма после проведения послеубойной ветеринарно-санитарной экспертизы на наружную сторону голени птицы.

6. На мясокомбинатах, птицефабриках допускается применять электроклеймо без ободка с обозначением цифр 1 и 2 {в зависимости от сорта), которое ставят на наружную сторону голени птицы.

7. При упаковке тушек в пакеты из полимерной пленки на маркировку наносят ветеринарное клеймо непосредственно на пакеты типографским способом.

8. При выявлении заболеваний птицы ветеринарно-санитарную оценку и клеймение тушек и продуктов их убоя проводят согласно установленному заболеванию а соответствии с ГОСТ Р 52469—2019

9. масса птицы для убоя: Фактическая масса птицы для убоя, установленная в момент взвешивания при ее сдаче-приемке.

10. скидка с массы птицы для убоя: Величина снижения массы птицы для убоя на содержимое зоба, определяемая при ее сдаче-приемке путем проведения контрольного убоя птицы.

11. предубойная масса птицы для убоя: Масса птицы для убоя, зафиксированная при ее сдаче-приемке с учетом скидки с массы птицы для убоя.

12. контрольное взвешивание птицы для убоя: Установление массы птицы для убоя путем взвешивания определенного количества птицы для убоя, отобранного от партии, при возникновении разногласий между поставщиком и приемщиком.

13. предубойная выдержка птицы для убоя (Нрк. голодная выдержка): Содержание птицы для убоя без корма перед убоем в течение установленного времени.

14. классификация птицы для убоя: Деление птицы для убоя по видам и возрастным группам. Примечание — Классификация птицы для убоя может включать также деление птицы для убоя по массе, полу и упитанности.

15. упитанность птицы для убоя: Степень развития мышечной и жировой ткани птицы для убоя.

16. переработка птицы (Нрк. вовлекающая обработка птицы): Комплекс технологических операций, в результате которых из птицы для убоя производят пищевые и непищевые продукты убоя птицы. Примечание — К пищевым продуктам убоя птицы относят тушки и части тушек, жир-сырец, кожу, обработанные субпродукты, мясо птицы механической обвалки, кость птицы: к непищевым — продукты, не имеющие пищевого и специального назначения, используемые для производства кормовой и технической продукции. К непищевым продуктам убоя птицы относят пищеводы, зобы, желчные пузыри, трахеи и т. д.

17. навешивание птицы: Операция по закреплению птицы для убоя на подвеске конвейера за обе ноги для подачи ее к месту переработки.

18. оглушение птицы: Целенаправленное воздействие на организм птицы перед убоем для временного ограничения ее способности к движению при сохранении работы сердца. Примечание — Например, воздействие электрическим током на организм птицы перед убоем.

19. убой птицы (Нрк. забой птицы, зарез птицы): Перерезание кожи шеи, яремной вены и сонной артерии птицы для убоя.

20. контрольный убой птицы: Убой птицы при возникновении разногласий в определении упитанности птицы для убоя и наличия в зобе корма и твердых включений, а также при подтверждении норм выхода мяса, субпродуктов и частей тушек птицы.

21. вынужденный убой птицы: Убой больной или подозрительной по заболеванию птицы для убоя под контролем ветеринарной службы.

22. вид убоя птицы: Убой птицы с применением различных специальных операций. Примечание — Например, убой птицы с применением оглушения перед обескровливанием называется традиционным; с применением ритуальной системы убоя, принятой у иудеев. — кошерным: с применением ритуальной системы убоя, принятой у мусульман, — халалным.

23. обескровливание птицы: Естественное истечение крови после убоя птицы.

24. шпарка убитой птицы (Нрк. полушпарка, полуошпаривание): Тепловое воздействие после обескровливания птицы с целью ослабления удерживаемости оперения в коже птицы для его удаления.

25. ощипка убитой птицы: Удаление оперения с убитой птицы после шпарки.

26. тушка птицы (Нрк. битая птица, еввжезабитая птица, свежеубитая птица): Обескровленная в процессе переработки птица, с которой удалено оперение.

27. воскование тушки птицы (Нрк. восковой способ снятия оперения, восковая ощипка): Обработка поверхности тушки водоплавающей птицы

легкоплавящейся и быстрозастывающей воскообразной массой установленного состава с целью удаления пеньков и остатков оперения.

28. опаливание тушки птицы: Обработка поверхности тушки сухопутной птицы пламенем с целью удаления волосовидного пера (при необходимости). 2 ГОСТ Р 52469—2019

29. потрошение тушки птицы (Нрк. нутровка): Удаление из тушки птицы внутренних органов, отделение головы, шеи и ног.

30. зачистка тушки птицы (Нрк. туалет тушки птицы): Удаление с внешней и внутренней поверхностей тушки птицы загрязнений и дефектов.

31. сорт тушки птицы (Нрк. категория тушки птицы): Характеристика тушки птицы по упитанности и качеству обработки.

32. антимикробная обработка тушки птицы: Разрешенная физическая и/или химическая, и/или биологическая обработка, применяемая в процессе переработки тушки птицы для уничтожения или подавления жизнедеятельности патогенных микроорганизмов, а также снижения общего микробного числа.

33. охлаждение мяса птицы: Искусственный отвод тепла от мяса птицы с понижением его температуры в любой точке измерения не ниже криоскопической и не выше 4 °С. Примечание — Применяют следующие способы охлаждения: водяное, воздушное, воздушно-распылительное.

34. криоскопическая температура пищевого продукта: Температура начала льдообразования в пищевом продукте. [ГОСТ Р 55516—2013. статья 16].

35. водяное охлаждение тушки птицы: Охлаждение тушки птицы в процессе переработки погружением, орошением холодной водой.

36. воздушное охлаждение тушки птицы: Охлаждение тушки птицы в процессе переработки холодным воздухом.

37. воздушно-распылительное охлаждение тушки птицы: Охлаждение тушки птицы холодным воздухом, поступающим с мелкой водяной пылью, в процессе переработки.

38. замораживание мяса птицы: Искусственный отвод тепла от мяса птицы с понижением его температуры в любой точке измерения не выше минус 12 °С.

39. сортировка тушки птицы: Определение сорта тушки птицы.

40. формование тушки птицы: Придание тушке птицы формы, удобной для упаковывания и улучшающей ее товарный вид в процессе переработки.

41. естественные потери массы тушки птицы (Нрк. естественная убыль мяса птицы, усушка): Уменьшение массы тушки птицы в результате усушки, выделения жидкости (мясного сока), разделки и др.

42. усушка пищевого продукта при холодильной обработке: Потеря массы пищевого продукта в процессе его холодильной обработки и хранения за счет естественного испарения воды или сублимации части содержащегося в нем льда. [ГОСТ Р 55516—2013. статья 19].

43. разделка тушки птицы: Разделение тушки птицы на части с учетом анатомического расположения в них мышц и костей по установленной схеме получения пищевых продуктов.

44. обвалка мяса птицы: Отделение мякотной части от костей потрошеной тушки птицы или ее частей. Примечание — Обвалку допускается осуществлять вручную или с использованием машин и поточно-механизированных линий с получением кускового мяса птицы разной степени измельчения, в т. ч. мяса птицы механической обвалки.

45. жиловка: Выделение грубой соединительной и жировой тканей, мелких костей, хрящей, лимфатических узлов и кровяных сгустков из кускового мяса птицы и пищевых костей с мякотной прирезью при их механической обвалке. Дефекты при выращивании птицы

46. аммиачный ожог тушки птицы: Дефект, характеризующийся воспалением кожи тушки, возникающим при контакте с мокрым подстилочным материалом при напольном выращивании.

47. дерматит на тушке птицы: Дефект, характеризующийся воспалением кожи птицы. 3 ГОСТ Р 52469—2019

48. искривление спинки тушки птицы: Дефект, характеризующийся отклонением позвоночника от горизонтальной оси тушки.

49. искривление грудки тушки птицы: Дефект, характеризующийся отклонением киля грудной кости тушки птицы от горизонтальной оси тушки.

50. намин на тушке птицы: Дефект, характеризующийся уплотнением или вздутием кожи и подкожного мышечного слоя на тушке птицы, возникающий на киле грудной кости и ногах в период выращивания птицы и иногда сопровождающийся воспалительными явлениями различного характера.

51. подсид на тушке птицы: Дефект, характеризующийся наличием на грудной и брюшной частях тушки птицы участков со стертыми очинами перьев или повреждением верхних слоев кожи.

52. расклев на тушке птицы: Дефект, характеризующийся повреждением кожи тушки птицы без наличия воспалительного процесса, возникающий при расклевывании. Примечание — Расклевывание — это форма каннибализма, при которой одни особи расклевываются другими особями. Дефекты при выращивании и переработке птицы

53. точечное кровоизлияние на тушке птицы: Дефект, характеризующийся скоплением в коже тушки птицы крови, истекшей из поврежденных капилляров.

54. кровоподтек на тушке птицы: Дефект, характеризующийся подкожным или внутримышечным кровоизлиянием в результате травматического повреждения.

55. ссадина на тушке птицы: Дефект, характеризующийся наличием механического повреждения верхних слоев кожи тушки птицы.

56. царапина на тушке птицы: Дефект, характеризующийся наличием повреждения поверхностных слоев кожи тушки птицы в виде узкой полоски.

57. разрыв кожи на тушке птицы (Нрк. порыв): Дефект, характеризующийся нарушением глубоких слоев кожи тушки птицы без повреждения мышечной ткани. Дефекты при переработке птицы

58. перешпарка тушки птицы (Нрк. тепловой ожог): Дефект, характеризующийся слущиванием эпидермиса кожи тушки при шпарке птицы в виде снятия поверхностного слоя кожи с отдельных участков тушки.

59. морозильный ожог тушки птицы: Дефект, характеризующийся местным высушиванием поверхностного слоя замороженной тушки птицы с частично или полностью измененным цветом окраски (обычно светлым) и/или тактильными свойствами (сухость). Субпродукты и жиры (сырец и топленый) птицы

60. обработка пищевых субпродуктов птицы: Комплекс технологических операций, в результате которых обеспечивается получение качественного продукта и улучшенного товарного вида пищевых субпродуктов птицы.

61. обработка жира-сырца птицы: Комплекс технологических операций по отделению от жировой ткани прирезей внутренних органов, мойке холодной водой от кровоизлияний и загрязнений и стеканию воды.

62. вытапливание жира-сырца птицы: Процесс извлечения жира из жировой ткани тепловым методом.

63. отстаивание топленого жира птицы: Удаление взвешенных примесей и влаги из топленого жира птицы.

64. отсолка топленого жира птицы: Введение электролита (поваренной соли) при отстаивании топленого жира птицы с целью его ускорения.

65. сортировка пищевого топленого жира птицы: Определение сорта пищевого топленого жира птицы в зависимости от показателей качества. Технологические процессы получения куриного масла, используемого в косметической промышленности, из топленого жира птицы

66. рафинация топленого жира птицы: Комплекс технологических операций очистки топленого жира птицы, включающий операции отстаивания, гидратации, нейтрализации, промывки для получения куриного масла.

67. гидратация топленого жира птицы: Удаление гидрофильных веществ и взвесей в процессе очистки топленого жира птицы водой и/или соевым раствором.

68. нейтрализация топленого жира птицы: Удаление свободных жирных кислот в процессе очистки топленого жира птицы водным раствором щелочей.

69. промывка топленого жира птицы: Удаление иелипидных примесей в процессе очистки топленого жира птицы питьевой водой. Основной технологический процесс производства птичьего пищевого функционального белка

70. ферментация протеолитическими ферментами: Процесс гидролиза птичьего белка до мелких пептидов и аминокислот.

71. бактерии группы кишечных палочек (колиформные бактерии): Грамотрицательные неспорообразующие палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при  $(37\pm 10)$  °С, как цитратотрицательные, так и цитратположительные, включая роды - *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacteria*, *Citrobacter*, *Serratia*.

72. бактерии вида *Staphylococcus aureus* (далее - *St. aureus*): Грамположительные кокки, неподвижные, спор и капсул не образуют, располагаются гроздевидно, одиночно или попарно, аэробы и факультативные анаэробы; продуцируют каталазу, уреазу, аммиак и сероводород, сбраживают лактозу, мальтозу, маннит, сахарозу, дают положительную реакцию плазмокоагуляции.

73. бактерии рода *Proteus*: Грамотрицательные прямые подвижные бескапсульные палочки, полиморфные (нитевидные и кокковидные формы), факультативные анаэробы; сбраживают глюкозу и некоторые углеводы с образованием кислоты и, обычно, газа, оксидазо-отрицательные, каталазо-положительные, обычно образуют сероводород, гидролизуют мочевины, восстанавливают нитраты.

74. культуральная среда: Перечень ингредиентов, в жидкой, полужидкой или в твердой формах, которые содержат натуральные и/или синтетические компоненты для того, чтобы поддерживать размножение или сохранять жизнеспособность микроорганизмов.

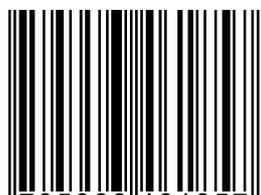
## НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

1. ГОСТ ISO 7218-2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
2. ГОСТ ISO 11133-1-2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории
3. ГОСТ 26668-85\* Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов
4. ГОСТ 26669-85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов
5. ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов
6. ГОСТ 28560-90 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*
7. ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*
8. ГОСТ 13805-76 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия
9. ГОСТ 17206-96 Агар микробиологический. Технические условия
10. ГОСТ 19342-73 Печень крупного рогатого скота и свиней замороженная. Технические условия
11. ГОСТ 32149-2013 «Межгосударственный стандарт. Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы»
12. ГОСТ 29227-91 (ISO 835-1:81) Посуда лабораторная, стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования
13. ГОСТ 10444.1-84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе
14. ГОСТ 7702.2.0-95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям
15. Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 2 января 2000 г. № 29-ФЗ.
16. СП2.3.6.1066-01 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям торговли и обороту в них продовольственного сырья и пищевых продуктов».
17. МУК 4.2.727-99 «Гигиеническая оценка сроков годности пищевых продуктов».

Размещается в сети Internet на сайте ГАУ Северного Зауралья  
<https://www.gausz.ru/nauka/setevye-izdaniya/2024/siben.pdf>,  
в научной электронной библиотеке eLIBRARY, РГБ, доступ свободный

Издательство электронного ресурса  
Редакционно-издательский отдел ФГБОУ ВО «ГАУ Северного Зауралья».  
Заказ № 1250 от 23.12.2024; авторская редакция  
Почтовый адрес: 625003, Тюменская область, г. Тюмень, ул. Республики, 7.  
Тел.: 8 (3452) 290-111, e-mail: rio2121@bk.ru

ISBN 978-5-98346-185-7



9 785983 461857 >