Утверждаю
Первый заместитель Председателя
Госкомсанэпиднадзора России,
заместитель Главного государственного
санитарного врача Российской Федерации
С.В.СЕМЕНОВ
29 октября 1996 года

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО, ЛЕЧЕБНОГО ПИТАНИЯ И ИХ КОМПОНЕНТОВ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ МУК 4.2.577-96

Дата введения - с момента утверждения

1. Разработаны: Институтом питания Российской академии медицинских наук (В.А. Тутельян, И.Б. Куваева, И.Я. Конь, С.А. Шевелева, Н.Р. Карликанова); Научно - исследовательским институтом детского питания Российской академии сельскохозяйственных наук (Н.Н. Липатов, Г.П. Шаманова, Н.А. Пронягина); Минсельхозпродом России (Г.Ю. Сажинов, И.Г. Вертинская, Р.Е. Овакимян).

2. Утверждены и введены в действие первым заместителем председателя Госкомсанэпиднадзора России, заместителем главного государственного санитарного врача Российской Федерации 29 октября 1996 года.

3. Введены взамен СанПиН "Микробиологические нормативы и методы анализа продуктов детского, лечебного и диетического питания и их компонентов", утвержденных бывшим Минздравом СССР от 21.12.88 N 42-123-4940-88, в части методов микробиологического контроля.

1. Общие положения

1.1. Настоящие Методические указания устанавливают методы лабораторных исследований (испытаний) качества продуктов детского, лечебного питания и их компонентов (в том числе импортируемых в Российскую Федерацию) по микробиологическим показателям безопасности для здоровья человека, проводимых в порядке производственного контроля, государственного и ведомственного санитарно - эпидемиологического надзора, а также при испытаниях указанной продукции в целях сертификации соответствия.

1.2. Методические указания разработаны в соответствии с Законом РСФСР "О санитарно - эпидемиологическом благополучии населения", Положением о Государственном санитарно - эпидемиологическом нормировании, Положением о Государственной санитарно - эпидемиологической службе Российской Федерация.

1.3. Методические указания предназначены для применения в лабораториях предприятий, организаций и учреждений (далее - организации), осуществляющих производственный контроль качества при разработке новых видов продуктов детского, лечебного питания и их компонентов, постановке их на производство и в процессе промышленного выпуска, в лабораториях организаций Государственной санитарно - эпидемиологической службы Российской Федераций и ведомственных санитарно - эпидемиологических служб федеральных органов исполнительной власти, а также в лабораториях иных организаций, аккредитованных на право проведения испытаний указанной продукции для целей ее сертификации.

1.4. В соответствии с настоящими Методическими указаниями должен осуществляться микробиологический контроль за безопасностью пищевых компонентов и продуктов детского, лечебного и диетического питания, импортируемых в Российскую Федерацию.

1.5. Настоящие Методические указания должны учитываться при пересмотре действующей и разработке вновь создаваемой нормативной документации на продукты детского и лечебного питания и компоненты, используемые при их изготовлении.

2. Нормативные ссылки

2.1. Закон РСФСР "О санитарно - эпидемиологическом благополучии населения" от 19 апреля 1991 года.

2.2. Положение о Государственном санитарно - эпидемиологическом нормировании, утвержденное Постановлением Правительства Российской Федерации от 5 июня 1994 г. N 625.

2.3. Положение о Государственной санитарно - эпидемиологической службе Российской Федерации, утвержденное Постановлением Правительства Российской Федерации от 5 июня 1994 г. N 625.

2.4. ГОСТ 26668-85 "Продукты пищевые и вкусовые. Порядок отбора проб для микробиологических анализов".

2.5. ГОСТ 26809-86 "Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка к испытаниям".

2.6. ГОСТ 9225-84 "Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа".

2.7. ГОСТ 13928-84 "Молоко и сливки заготовляемые. Правила приемки, методы отбора и подготовки проб к анализу".

3. Методы отбора проб сырья, компонентов и готовой продукции

3.1. Отбор проб - по ГОСТу 26809 "Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка к испытанию", ГОСТу 13928 "Молоко и сливки заготовляемые. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу", ГОСТу 9225 "Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа", ГОСТу 26668 "Продукты пищевые и вкусовые. Порядок отбора проб для микробиологических анализов".

3.2. Посуду с пробой или пробу в потребительской таре снабжают этикеткой, на которой указывают:

номер пробы;

наименование продукта;

номер и объем партии;

дату и час отбора пробы;

должность и подпись лица, отбиравшего пробу;

обозначение действующей нормативной документации, по которой вырабатывался продукт.

3.3. Пробу, отправляемую в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают и снабжают этикеткой, на которой указывают:

номер пробы;

наименование предприятия - изготовителя;

наименование продукта;

номер и объем партии;

дату и час выработки продукта с момента окончания технологического процесса;

дату и час отбора пробы;

должность и подпись лица, отбиравшего пробу;

объем необходимых анализов;

обозначение действующей нормативной документации, по которой вырабатывался продукт.

3.4. Микробиологические анализы продукта проводят не более чем через 4 часа с момента отбора проб.

3.5. Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследований при температуре продуктов не выше 6° С, не допуская подмораживания.

3.6. Отбор проб для микробиологических исследований производится специалистом Центра госсанэпиднадзора в присутствии должностного лица данного предприятия.

4. Аппаратура, материалы, лабораторная посуда и реактивы

4.1. Аппаратура и инструментарий

Анализатор потенциометрический, диапазон измерении pH от -1 ГОСТ 19881-74

до 14, погрешность измерений pH +/- 0,05	
Аппарат универсальный типа АВУ-6С для встряхивания жидкости в колбах и пробирках (шуттель - аппарат)	ТУ 64-1-2451-78
Ареометр - сахаромер с диапазоном измерений 0 - 10%, с ценой деления шкалы 0,1% и пределом допускаемой погрешности +/- 0,1%	ГОСТ 18481-87
Баня водяная с подогревом	ГОСТ 12026-76
Весы лабораторные общего назначения, 2 и 4 класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г (или получаемые по импорту)	ГОСТ 24104-80
Иономер универсальный ЭВ-74 или потенциометр pH-340	ГОСТ 9245-79
Лотки эмалированные или кристаллизаторы	
Лупа измерительная	ГОСТ 25706-93
Микрокалькулятор типа "Электроника БЭ-0914М", "БЭ-14", "БЭ-21" или др. типов	ГОСТ 27201-87
Микроскоп биологический МБИ-1, МБИ-2, МБИ-3, МБР-1, МБР-3 (или полученный по импорту с иммерсионной системой)	ГОСТ 8284-78
Нож консервный	
Ножницы медицинские	ГОСТ 21239-89
Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150 или других видов	ТУ 16-535-84
Осветители к микроскопу типа ОИ-7, ОИ-9, ОИ-18, ОИ-19 или других марок Пинцет медицинский	ГОСТ 21241-89
Прибор для счета колоний бактерий ПСБ	ТУ 64-1-2041-72
Скальпель хирургический, 15 см	ГОСТ 21240-89
Стерилизаторы паровые медицинские или аналогичные	ГОСТ 19569-89
Стерилизаторы медицинские паровые и воздушные	ГОСТ 27437-87
Термостат, позволяющий поддерживать температуру (15 - 65)° С с отклонением от заданной +1° С (или получаемый по импорту)	ТУ 64-1-1382-72
Холодильник бытовой электрический (или получаемый по импорту)	ГОСТ 16317-87
Центрифуга медицинская с числом оборотов не менее 3000 об./мин.	
Часы механические сигнальные	ГОСТ 3145-84
Часы песочные настольные на 1,5 и 10 мин.	
Шкаф сушильный стерилизационный ШСС - 80П или др. видов, позволяющий поддерживать температуру (160 + 5)° С	ТУ 64-1-9009-74
Шпатели металлические или фарфоровые 15 - 20 см	
Штативы металлические, пластмассовые или деревянные	
Электроплитка	ГОСТ 14919-83

4.2. Лабораторная посуда и материалы

Бумага индикаторная универсальная	ТУ 6-091181-76
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026-76
Бутылки стеклянные для химических реактивов	
Вата медицинская гигроскопическая	ГОСТ 5556-81
Воронки стеклянные	ГОСТ 25336-82
Бюретки исполнения 1, 2, 3 классов точности, вместимостью 5, 10, 50 куб. см, с ценой деления 0,1 куб. см	ГОСТ 29251-91
Дозатор пипеточный одноканальный ДП-1-1000 производства ВНИИ биопрепаратов (г. Москва)	
Карандаш по стеклу	
Кастрюли разные	ГОСТ 17151-81
Кастрюли эмалированные	ГОСТ 24778-81
Марля медицинская	ГОСТ 9412-77
Колбы типа Кн, номинальной вместимостью 40, 200, 400, 1000,	ГОСТ 19908-90

1600 куб. см	
Колбы исполнения 2, 2 класса точности, номинальной вместимостью 250 куб. см	ГОСТ 25336-82
Колбы исполнения 2, 2 класса точности, номинальной вместимостью 50, 100, 200, 500, 1000 куб. см	ГОСТ 1770-74
Колбы мерные исполнения 1, 2 класса точности, номинальной вместимостью 50, 100 и 1000 куб. см	ГОСТ 1770-74
Палочки стеклянные	
Пергамент	ГОСТ 1341-84
Подпергамент	ГОСТ 1760-86
Петли бактериологические	
Пипетки исполнения 5, 1, 2 классов точности, вместимостью 1 куб. см	ГОСТ 29227-91
Пипетки исполнения 7, 1, 2 классов точности, вместимостью 10 куб. см	ГОСТ 29227-91
Пробирки Уленгута (поплавки)	
Пробирки типов П1, П2, диаметром 16 мм, высотой 150 мм и диаметром 21 мм, высотой 200 мм	ГОСТ 25336-82
Пробки корковые	ГОСТ 5541-76
Проволока нихромовая, диаметром 0,4 - 0,5 мм для изготовления бактериологических петель и игл	
Проволока платиновая для изготовления бактериологических петель	
Спиртовки лабораторные стеклянные	ГОСТ 23932-90
Стаканчики для взвешивания типа СВ	ГОСТ 25336-82
Стаканы типа ВН, вместимостью 100 и 200 куб. см	ГОСТ 19908-90
Стекла предметные для микропрепаратов	ГОСТ 6672-75
Стекла покровные для микропрепаратов	ГОСТ 6672-75
Ступка фарфоровая с пестиком	ГОСТ 9147-80
Термометр (ртутный) с диапазоном измерения от 0 до 100°С, с ценой деления шкалы 1° С	ГОСТ 13646-68
Термометр жидкостный (нертутный) с диапазоном измерения от 0 до 100° С, с ценой деления шкалы 1° С	ГОСТ 28498-90
Ткань мягкая льняная (кусочки)	
Трубки медицинские резиновые, диаметром 7 - 10 мм	ГОСТ 3399-76
Цилиндры исполнения 1, вместимостью 100, 500 куб. см	ГОСТ 1770-74
Чашки биологические (Петри)	ГОСТ 23932-90
Шпагат	ГОСТ 16266-70

4.3. Реактивы, питательные среды

Агар микробиологический	ГОСТ 17206-84
Агар питательный сухой	ТУ 42-14-33-75
или	ТУ 10-02-789-177-94
Агар сывороточный БФ	ТУ 491059-84
или	ТУ 10-02-02-789-177-94
Агар типа Байрд - Паркера	ТУ 10-02-02-789-176-94
Агар солевой	ТУ 10-02-02-789-176-94
Бульон солевой	ТУ 10-02-02-789-176-94
alfa-нафтол технический	
Бензин авиационный	ГОСТ 1012-72
Бриллиантовый зеленый	ТУ 6-09-4279-76
Бромтимоловый синий	ТУ 6-09-20-86-77
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
Вода питьевая	ГОСТ 2874-82
Висмут сульфитный агар	ТУ 42 141-27-78
Гидролизат казеина панкреатический	ТУ 42-14-1-74
Дефибринированная кровь человека, барана или кролика	

Дрожжи хлебопекарные прессованные	ГОСТ 171-81
D-глюкоза, ч.	ГОСТ 6038-79
D-лактоза, 1-водная	ТУ 6-09-22-98-79
D(+) мальтоза для микробиологических целей	
DL-триптофан	ТУ 6-09-1492-80
Желчь сухая или желчь нативная сельскохозяйственных животных, стерильная	ОСТ 49 278-75
Железо III серно - кислое, 9-водное	ГОСТ 9485-74
Йод	ГОСТ 4159-79
Калия гидроокись	ГОСТ 24363-80
Калий йодистый, ч.д.а.	ГОСТ 4232-74
Калий фосфорно - кислый однозамещенный, ч.	ГОСТ 4198-75
Калий фосфорно - кислый двузамещенный 3-водный	ГОСТ 2493-75
Кальций углекислый	ГОСТ 4530-76
Кислота соляная, х.ч.	ГОСТ 3118-77
Кислота молочная пищевая	ГОСТ 490-79
Кристаллический фиолетовый	ТУ 6-09-4119-75
Левомицетин (медпрепарат)	
Лимонная кислота, х.ч. или ч.	ГОСТ 3652-69
Литий хлористый, ч. или х.ч., или ч.д.а.	ГОСТ 4328-77
L-цистин соляно - кислый или цистин соляно - кислый, получаемый по импорту	ТУ 6-093252-80
Магний серно - кислый, 7-водный	ГОСТ 4523-77
Магний хлористый 6-водный, ч.х.ч. или х.ч., или ч.д.а.	ГОСТ 4209-77
Масло иммерсионное для микроскопии	ГОСТ 13739-78
Медь серно - кислая, 5-водная, х.ч.	ГОСТ 4165-78
Метиленовый голубой, индикатор, получаемый по импорту	
Молоко коровье, обезжиренное, стерильное, приготовленное (в пробирках)	ГОСТ 9225-84
Молоко коровье, обезжиренное, сухое	ГОСТ 10970-87
Мочевина (карбамид)	ГОСТ 6691-77
Мясо - пептонный бульон	
Набор для окраски по Граму	
Натрий - аммоний фосфорно - кислый двузамещенный, 4-водный, ч. или х.ч.	ГОСТ 4170-78
Натрия гидроокись, ч.д.а.	ГОСТ 4328-77
Натрий лимонно - кислый, 5,5-водный, ч.д.а.	ГОСТ 22280-75
Натрий серноватисто - кислый (натрия трисульфат), 5-водный	ГОСТ 27068-86
Натрий хлористый, ч. или х.ч., или ч.д.а.	ГОСТ 4233-77
Неомицин (медпрепарат)	
Панкреатин медицинский, активностью 50 ЕД в 1 г ФХ 362	
Пара-диметиламидобензальдегид, ч.	ТУ 6-09-3272-77
Пенициллин (медпрепарат)	
Пергидроль 30% (водорода перекись)	ГОСТ 177-88
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	ГОСТ 13805-76
Полимиксин "М" сульфат по 500000 ЕД (медпрепарат)	
Плазма крови кролика сухая	
Сахароза	ГОСТ 5833-75
Спирт этиловый ректификованный технический	ГОСТ 18300-87
Спирт этиловый ректификованный	ГОСТ 5962-67
Соль Мора	ГОСТ 4208-72
Среда с индикатором ВР и маннитом сухая	
Среда агаровая модифицированная для определения общего количества бактерий в молоке и молочных продуктах	ТУ 49513-83
Среда для определения количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов (общего количества бактерий)	
КМАФАнМ	ТУ 10-02-02-789-177-94

Среда Сабуро	ТУ 9229-014-004 19789-95
Среда Левина сухая	ФС-42-53 ВС-88
Среда Плоскирева	ФС-42-193 ВС-88
Среда Ресселя	ФС-42-190 ВС-88
Среда Эндо	ФС-42-186 ВС-88
Среда Клиглера	ТУ 49 876-82
Среда Кесслер сухая	ТУ 10.02.875-90
Среда Козера	
Среда гидролизатно - молочная (ГМС-1) для количественного учета бифидобактерий	ТУ 10-02-02-789-176-94
Среда кукурузно - лактозная (ГМК-1) для количественного учета бифидобактерий	ТУ 10-02-02-789-176-94
Стрептомицин (медпрепарат)	
Сусло солодовое неохмеленное	
Сыворотка диагностическая сальмонеллезная 0-агглютинирующая адсорбированная	ТУ 6-09-3838-78
2,3,5-трифенилтетразолий хлористый, ч.д.а.	
Феноловый красный	ГОСТ 5853-51
Фенолфталеин	ГОСТ 5850-72
Фуксин основной	ТУ 6-09-4119-75
Хлороформ технический	ГОСТ 20015-76
Экстракт кормовых дрожжей	ТУ 42-14-56-76
Экстракт солодовый	ГОСТ 418-84
Яйцо куриное диетическое	

5. Подготовка к анализу

5.1. Подготовка проб к анализу

5.1.1. Молоко, сливки и другие жидкие продукты и компоненты

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

5.1.2. Сгущенные продукты и компоненты

Отобранную пробу тщательно перемешивают стерильной ложкой, затем взвешивают стерильную сухую колбу и в нее помещают 10 г продукта.

5.1.3. Кисло - молочные продукты и напитки, закваски

Отобранные пробы перед исследованием перемешивают и нейтрализуют. Для этого на каждые 10 куб. см/г исследуемого продукта или его первого разведения для сухих кисло - молочных продуктов, напитка или закваски в стерильную посуду добавляют 1,0 куб. см стерильного раствора двууглекислого натрия с массовой концентрацией 100 г/куб. дм, содержимое перемешивают.

5.1.4. Стерилизованные продукты детского питания

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают. Перед вскрытием бутылок (пакетов) с продуктом крышку (поверхность пакета) протирают ватой, смоченной спиртом.

Открывают крышку фламбированным или стерильным консервным ножом. Края пакета вскрывают стерильным ножом, скальпелем или ножницами. После снятия крышки края бутылки вновь фламбируют.

5.1.5. Сыр, творог, творожные изделия и пастообразные продукты

Навеску сыра, творога, творожных изделий и пастообразных продуктов взвешивают на стерильном часовом стекле, чашке Петри, в бюксе, переносят в стерильную или

фламбированную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, и тщательно растирают, нейтрализуют по п. 5.1.3.

5.1.6. Топленое масло или молочный жир

Перед исследованием пробу расплавляют на водяной бане при температуре от 40 до 45° С и перемешивают до получения однородной эмульсии.

5.1.7. Сухие продукты детского питания и компоненты

Отобранную среднюю пробу тщательно перемешивают, взвешивают навеску продукта на кусочке стерильного пергамента, на чашке Петри, в бюксе или на часовом стекле, затем взвешенную пробу переносят в стерильную колбу или другую посуду.

5.2. Приготовление разведений продуктов для посева

5.2.1. Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта в стерильных растворах разбавленного фосфатного буфера, изотонического раствора натрия хлорида, пептонной воды или лимонно - кислого натрия (для сыра).

Для приготовления разведения готовят все необходимые стерильные материалы и посуду в соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта: пробирки с 9,0 куб. см или колбы с 90,0 куб. см одного из растворов, используемых дня приготовления разведений.

5.2.2. Из проб молока, сливок, кисло - молочных продуктов и напитков, кукурузного масла, молочного жира и других жидких продуктов и компонентов отбирают стерильной пипеткой 10,0 куб. см и вносят в 90,0 куб. см одного из стерильных растворов, используемых для приготовления разведений, взбалтывают в течение (4 +/- 1) мин. круговыми движениями до возможно более полного растворения. При этом пипетку промывают до 10 раз раствором этого продукта до верхнего уровня имеющихся на ней делений.

Получают разведение 1:10 (первое разведение).

Топленое масло или молочный жир вносят в растворы, подогретые до температуры от 40 до 45° С.

5.2.3. Приготовленные навески по 10 г сухих молочных продуктов детского питания, сывороточных белковых концентратов, казецитов и других компонентов, сгущенных продуктов, сыра, творога, творожных изделий и других пастообразных продуктов переносят в колбу с 90,0 куб. см одного из стерильных растворов, используемых для приготовления разведений, подогретых от 40 до 45° С и взбалтывают в течение (4 +/- 1) мин. круговыми движениями до возможно более полного эмульгирования.

Получают разведение 1:10.

При другом способе разведения к приготовленным навескам по 10 г вышеуказанных продуктов добавляют 90,0 куб. см одного из стерильных растворов, подогретых от 40 до 45° С и далее поступают как указано в п. 5.2.3.

5.2.4. Для получения однородной взвеси продукта допускается перемешивание на аппарате для встряхивания жидкостей в течение (6 +/- 1) мин., избегая намокания пробок. Первое разведение продукта (1:10) можно гомогенизировать в стерильном стакане гомогенизатора или растереть в стерильной ступке.

5.2.5. Из первого разведения продукта стерильной пипеткой берут 1,0 куб. см и переносят в пробирку, содержавшую 9,0 куб. см стерильного раствора, используемого для приготовления разведений, перемешивают осторожно, набирая и выдувая из пипетки 5 - 10 раз. Получают второе разведение продукта (1:100). Последующие разведения в зависимости от предполагаемого обсеменения продукта 1:1000, 1:10000 и т. д. готовят аналогично.

Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку. Вводят пипетку в пробирку не более чем на 2 - 3 см ниже поверхности взвеси.

Время от момента приготовления разведений до посева не должно превышать 20 - 30 мин. Перед посевом все разведения осторожно встряхивают. При посеве на чашки Петри или в пробирки посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этом случае пользуются одной пипеткой.

5.2.6. Для приготовления разведении сухих молочных каш для детского питания используют надосадочную жидкость первого разведения продукта после отстаивания его в течение 2 - 3 мин.

5.3. Подготовка посуды и материалов

5.3.1. Всю новую посуду, предназначенную для бактериологических работ, кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты с объемной долей 1 - 2%) в течение (15 +/- 5) мин. и затем ополаскивают дистиллированной водой.

Посуду, бывшую в употреблении, моют 0,5% щелочным раствором с помощью ершей и щеток и ополаскивают водопроводной водой. Сильно загрязненную посуду со следами жира, красок и иммерсионного масла опускают на 2 ч. в хромовую смесь, подогретую от 40 до 45° С, затем тщательно промывают проточной водопроводной водой.

Посуда с питательными средами, после подсчета на них дрожжей, плесневых грибов, бактерий группы кишечных палочек, E.coli, S.aureus, энтерококков, сальмонелл и других видов условно - патогенных и патогенных микроорганизмов, обеззараживается перед мойкой путем стерилизации в автоклаве при (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин. или кипячением в течение 1 ч.

Вымытую посуду не вытирают, а сушат при комнатной температуре или горячим воздухом.

Предметные стекла после мойки и ополаскивания вытирают чистой салфеткой или помещают в склянку с притертой пробкой в смесь этилового спирта и наркозного эфира в соотношении 1:1.

5.3.2. Лабораторную посуду перед использованием обязательно стерилизуют. Стерилизацию осуществляют сухим жаром в сушильном шкафу при (160 +/- 5)° С в течение 2 ч или паром в автоклаве при 1 атм. (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин. с последующим подсушиванием в сушильном шкафу.

Перевод давления, показываемого манометром автоклава, в температуру проводится следующим образом:

0,5 атм. - 112° С;

0,7 атм. - 116° С;

0,8 атм. - 118° С;

1,0 атм. - 121° С;

2,0 атм. - 134° С.

Чашки Петри, пипетки и т. п. стерилизуют завернутыми в плотную оберточную бумагу или в пеналах. В верхнюю часть пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты.

Пробирки, флаконы, бутылки, колбы закрывают ватно - марлевыми пробками. Поверх пробки (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок, который обвязывают вокруг горлышка ниткой или закрепляют резиновым колечком.

Каучуковые, корковые и стеклянные пробки стерилизуют отдельно в автоклаве завернутыми в бумагу.

Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками. Срок хранения стерильной посуды - не более 30 суток при ненарушенной завертке или невскрытых пеналах.

6. Приготовление питательных сред и реактивов

6.1. Питательные среды и реактивы общего назначения

6.1.1. Концентрированный фосфатный буферный раствор

Взвешивают 34 г однозамещенного фосфорно - кислого калия и растворяют в 500,0 куб. см дистиллированной воды в мерной колбе, вместимостью 1000 куб. см. Устанавливают активную кислотность раствора (7,2 +/- 0,1) ед. pH 1Н раствором гидроокиси натрия и доводят дистиллированной водой до 1000,0 куб. см. Хранят в емкости, укупоренной резиновой пробкой, в условиях холодильника не более 30 суток.

6.1.2. Разбавленный фосфатный буферный раствор

Вносят пипеткой, вместимостью 2 куб. см, 1,25 куб. см концентрированного фосфатного буферного раствора в мерную колбу, вместимостью 1000 куб. см, и доводят объем дистиллированной водой до метки, проверяют активную кислотность (7,1 +/- 0,1) ед. pH.

Разливают разбавленный фосфатный буферный раствор по 10,0 куб. см в пробирки, по 100,0 куб. см в колбы, вместимостью 200 куб. см, и по 900,0 куб. см в колбы, вместимостью 1600 куб. см, закрывают ватными пробками. Стерилизуют в автоклаве при (121 +/- 1)° С в течение (20+/- 1) мин.

6.1.3. 0,1-процентный водный раствор пептона (пептонная вода)

К 1,0 куб. дм дистиллированной воды добавляют 1 г пептона. После размешивания среду кипятят, фильтруют и разливают в пробирки и флаконы в необходимых количествах. Стерилизует при (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.1.4. Изотонический 0,85-процентный раствор хлористого натрия

Для приготовления изотонического раствора, активной кислотностью (7,0 +/- 0,1) ед. pH, используют дистиллированную воду, pH которой проверяют индикатором бромтимолблау. При его добавлении цвет воды должен быть бутылочно - зеленым. В иных случаях воду не используют.

В 1,0 куб. дм воды растворяют 8,5 г хлористого натрия, разливают раствор в чистые пробирки, диаметром 18 - 20 мм, по 10,0 куб. см, а в колбы - по 93,0 куб. см и стерилизуют в течение (15 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° С.

6.1.5. Приготовление раствора лимонно - кислого натрия для приготовления разведений сыра

В 1000,0 куб. см дистиллированной воды растворяют 20 г трехзамещенного лимонно - кислого натрия, разливают в пробирки по 10,0 куб. см и колбы по 93,0 куб. см и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин.

6.1.6. Стерильная дистиллированная вода

Дистиллированную воду разливают в колбы или пробирки в необходимых количествах и стерилизуют в течение (20 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° С.

6.1.7. Раствор двууглекислого натрия для нейтрализации проб кисло - молочных продуктов и закваски

10 г двууглекислого натрия помещают в мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, растворяют дистиллированной водой, доводят объем раствора до метки. Раствор разливают в пробирки и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.1.8. Реактивы для окраски по Граму (модификация Г.П. Калины)

Реактив 1.

К 100,0 куб. см этилового спирта добавляют 0,5 г кристаллического фиолетового.

Реактив 2.

К 96,0 куб. см 0,5-процентного спиртового раствора йодистого калия добавляют 2,0 куб. см 5-процентного спиртового раствора основного фуксина и 2,0 куб. см 5-процентного спиртового раствора йода.

Примечание. Растворение йодистого калия в спирте рекомендуется проводить в водяной бане при температуре от 45 до 50° С при постоянном помешивании.

6.1.9. Приготовление реактивов из метиленового голубого

Приготовление основного спиртового раствора метиленового голубого.

10 г метиленового голубого смешивают со 100,0 куб. см 96-процентного этилового спирта. Раствор ставят в термостат при температуре (37 +/- 1)° С на (24 +/- 1) ч, а затем фильтруют в термостате при той же температуре. Срок хранения основного раствора метиленового голубого в термостате при температуре (37 +/- 1)° С не более 3 месяцев при условии герметичной укупорки.

Приготовление рабочего раствора метиленового голубого.

Основной раствор помещают в водяную баню при температуре (45 +/- 1)° С на (8 +/- 2) мин., перемешивают до полного растворения кристаллов. Затем быстро охлаждают до температуры (20 +/- 1)° С и 5,0 куб. см этого раствора прибавляют к 195,0 куб. см дистиллированной кипяченой воды. Смесь хорошо перемешивают. Срок хранения рабочего раствора метиленового голубого - не более 7 суток при температуре от 8 до 10° С.

Приготовление раствора метиленового голубого для окраски препаратов.

К 30,0 куб. см основного спиртового раствора метиленового голубого прибавляют 100,0 куб. см дистиллированной воды и 1,0 куб. см раствора гидроокиси калия с массовой концентрацией 10 г/куб. дм.

6.1.10. Приготовление карболового раствора кристаллического фиолетового для окраски препаратов

1 г красителя кристаллического фиолетового растирают в ступке с 2 г кристаллической карболовой кислоты до кашицы, прибавляют небольшими порциями 10,0 куб. см 96-процентного этилового спирта. Доводят объем до 100 куб. см дистиллированной водой. Таким образом получают основной раствор для приготовления рабочего раствора.

К 10,0 куб. см основного карболового раствора кристаллического фиолетового добавляют 90,0 куб. см дистиллированной воды. Тщательно перемешивают.

Растворы хранят в темном флаконе под притертой пробкой.

6.1.11. Мясо - пептонный бульон

Говяжье мясо, освобожденное от жира и сухожилий, пропускают через мясорубку, взвешивают, складывают в кастрюлю, смешивают с двойным количеством водопроводной воды и оставляют на (18 +/- 6) ч при температуре (5 +/- 1)° С. Для ускорения процесса выделения питательных веществ из мяса содержимое кастрюли подогревают при температуре (50 +/- 5)° С в течение (1 +/- 0,1) ч и затем кипятят (35 +/- 5) мин. После кипячения бульон в горячем состоянии фильтруют через двойной бумажный фильтр. Фильтрат доводят питьевой водой до первоначального объема, добавляют к нему (1,0 +/- 0,1)-процентного пептона и (0,5 +/- 0,1)-процентного хлористого натрия. Устанавливают с помощью 1Н раствора гидроокиси натрия активную кислотность (7,3 +/- 0,1) ед. pH. Приготовленный бульон разливают в колбы и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин.

6.1.12. Мясо - пептонный агар

К 1,0 куб. дм мясо - пептонного бульона или перевара Хоттингера, с концентрацией аминного азота не менее 100 мг/л добавляют 15 г мелко нарезанного агара в волокнах или порошке. После 10 - 15 - минутного набухания агар - агара смесь кипятят при постоянном помешивании до полного его растворения. Полученную среду после установления активной кислотности (7,3 +/- 0,1) ед. pH фильтруют в горячем виде через ватно - марлевый фильтр, разливают во флаконы и пробирки и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение 20 мин.

6.2. Специальные питательные среды и реактивы

6.2.1. Среды для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов

6.2.1.1. Среда для определения аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов.

Сухой питательный агар промышленного производства (на основе килечного гидролизата)	- 35 г
Экстракт кормовых дрожжей (ЭКД)	- 2,5 г
Глюкоза	- 1,0 г
Вода дистиллированная	- до 1000,0 куб. см
pH	- 7,0

Стерилизация в автоклаве при (121 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин.

6.2.1.2. Сухие питательные среды промышленного производства по ТУ 49513-83 или по ТУ 10-02-02-789-177-94.

Подготовку сред для посевов проводят согласно прописи на этикетке.

6.2.2. Среды и реактивы для обнаружения бактерий группы кишечных палочек и эшерхий коли

6.2.2.1. Среда Кесслер (с лактозой)

К 1,0 куб. дм водопроводной воды добавляют 10 г пептона и 50,0 куб. см стерильной желчи крупного рогатого скота. Смесь кипятят на водяной бане при помешивании 20 - 30 мин. Затем фильтруют ее через ватно - марлевый фильтр, добавляют 2,5 г лактозы; доводят объем водой до 1 куб. дм. Устанавливают активную кислотность (7,5 +/- 0,1) ед. pH, используя 1H растворы NaOH или HCl и проверяя значение pH на потенциометре. Добавляют 4,0 куб. см 1-процентного йодного раствора кристаллического фиолетового, разливают в пробирки по 10,0 куб. см или колбочки по 40,0 - 50,0 куб. см, закладывают поплавки. Стерилизуют в течение (15 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° C.

6.2.2.2. Сухая среда Кесслера промышленного производства по ТУ 10.02.875-90

Подготовку среды для посева проводят согласно прописи на этикетке.

6.2.2.3. Среды сухие Левина, Эндо

Среды Левина (эозинметиленовоголубой агар), Эндо промышленного выпуска готовят согласно прописи, указанной на этикетке банок. Изготовленные и разлитые в стерильные чашки Петри среды можно хранить при температуре (4 +/- 2)° C до 10 суток.

6.2.2.4. Среда на индол

10,0 г сухого панкреатического гидролизата казеина (или 100,0 куб. см жидкого панкреатического гидролизата казеина с содержанием 500 куб. мг аминного азота), 5 г хлористого натрия, 1 г DL-триптофана растворяют в 1,0 куб. дм дистиллированной воды. Доводят активную кислотность (7,0 +/- 0,1) ед. pH 1H растворами NaOH или HCl и, измеряя значение pH на потенциометре, разливают в пробирки по 5,0 куб. см, стерилизуют в течение (15 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° C.

6.2.2.5. Среда Кларка

Взвешивают 5 г пептона, 5 г глюкозы, 5 г двузамещенного фосфорно - кислого калия. Растворяют ингредиенты в 950,0 куб. см дистиллированной воды, устанавливают активную кислотность (6,9 +/- 0,1) ед. pH, используя 1H растворы NaOH или HCl. Проверяют pH на потенциометре. Доводят общий объем до 1000,0 куб. см дистиллированной водой и при необходимости фильтруют. Разливают в пробирки по 5,0 куб. см, стерилизуют в течение (20 +/- 1) мин. при (115 +/- 1)° C.

6.2.2.6. 90-процентный раствор этилового спирта

В колбу, емкостью 1000 куб. см, с 900,0 куб. см 96-процентного этилового спирта добавляют 60,0 куб. см дистиллированной воды.

6.2.2.7. Раствор индикатора метилового красного

0,1 г индикатора метилового красного помещают в мерную колбу, вместимостью 500 куб. см, растворяют в 300,0 куб. см 90-процентного раствора этилового спирта, доливают до 500,0 куб. см дистиллированной водой. Хранят раствор в колбе с притертой пробкой при температуре (4 +/- 2)° C.

6.2.2.8. 0,5-процентный раствор бромтимолового синего в спирте

Взвешивают 0,5 г бромтимолового синего, помещают в мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, и доводят этиловым спиртом до метки. Раствор хранят при температуре (4 +/- 2)° C течение 30 - 35 суток в колбе с притертой пробкой.

6.2.2.9. 0,5-процентный и 0,1-процентный растворы бриллиантового зеленого

Для приготовления 0,5-процентного раствора асептически взвешивают 0,5 г индикатора бриллиантового зеленого, вносят в стерильную мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, и доводят стерильной дистиллированной водой до метки.

Для приготовления 0,1-процентного раствора в стерильный мерный цилиндр или колбу к 10,0 куб. см исходного 0,5-процентного раствора индикатора добавляют 40,0 куб. см стерильной дистиллированной воды.

Растворы хранят в холодильнике в течение 7 - 10 суток.

6.2.2.10. 1,6-процентного раствор бромкрезолового пурпурного в спирте

Взвешивают 1,6 г индикатора бромкрезолового пурпурного и количественно переносят в мерную колбу, вместимостью 100 куб. см. Доводят 96-процентным этиловым спиртом до метки.

При необходимости фильтруют через бумажный фильтр. Хранят в колбе со шлифом в условиях холодильника.

6.2.2.11. 5-процентный раствор alfa-нафтола

Взвешивают 5 г alfa-нафтола, растворяют в 100,0 куб. см 96-процентного этилового спирта. Раствор готовят непосредственно перед применением.

6.2.2.12. 40-процентный раствор гидроокиси калия

В стакане, вместимостью 100 куб. см взвешивают 40 г гидроокиси калия, переносят в мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, растворяют в 60,0 куб. см дистиллированной воды, затем доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят при температуре 4 - 6° С.

6.2.2.13. 1-процентный водный раствор генцианового (кристаллического) фиолетового

Взвешивают 1 г генцианового (кристаллического) фиолетового, помещают в мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят при температуре 4 - 6° С в течение 7 суток.

6.2.2.14. Реактив на индол (Эрлиха)

Взвешивают 5 г пара-диметиламинобензальдегида в стеклянном стакане, вместимостью 100 куб. см, помещают в коническую колбу, вместимостью 200 куб. см, и растворяют в 50,0 куб. см этилового спирта. С помощью мерного цилиндра, вместимостью 100 куб. см, медленно добавляют 50,0 куб. см концентрированной соляной кислоты. Раствор хранят в колбе с притертой пробкой при температуре 4 - 6° С.

6.2.2.15. Среда Козера

Взвешивают 1,5 г натрия - аммония фосфорно - кислого, 1 г калия фосфорно - кислого двузамещенного, 0,2 г магния сульфата, 3 г натрия лимонно - кислого трехзамещенного. Растворяют в 950,0 куб. см дистиллированной воды, добавляют 10,0 куб. см 0,5-процентного спиртового раствора бромтимолового синего. Устанавливают активную кислотность (6,8 +/- 0,1) ед. pH растворами NaOH или HCl, проверяя значение pH на потенциометре. Доводят объем дистиллированной водой до 1,0 куб. дм. Разливают по 10,0 куб. см в пробирки, стерилизуют в течение (15 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° С.

6.2.2.16. Среда Симмонса

Среду готовят аналогично среде Козера (п. 5.2.2.15), но после измерения pH в нее добавляют 2 г агар - агара на 1000 куб. см, прогревают на водяной бане до расплавления агара, стерилизуют в течение (15 +/- 1) мин. при (121 +/- 1)° С. Разливают в стерильные чашки Петри или пробирки.

6.2.2.17. Среда с 5% сахарозы

В 1000,0 куб. см дистиллированной воды растворяют 30 г сухого питательного агара (по ТУ 42-14-33-75 или по ТУ 10-02-789-177-94) и 50 г сахарозы. Стерилизуют в течение (30 +/- 1) мин. при (112 +/- 1)° С.

6.2.3. Среды и реактивы для обнаружения бактерий рода Salmonella

6.2.3.1. Магниевая среда

Среду готовят из трех растворов <*>.

1 раствор:

пептон	- 4,2 г
натрий хлористый	- 7,15 г
дрожжевой диализат или дрожжевой экстракт (ЭКД)	- 20 куб. см или 2 г
калий фосфорно - кислый однозамещенный	- 1,42 г
вода дистиллированная	- 890,0 куб. см

<*> При необходимости использования среды двойной концентрации масса (объем) всех ингредиентов, кроме воды, удваивается.

2 раствор:

магний хлористый кристаллический ($MgCl_2$ x $6H_2O$)	- 35,7 г
вода дистиллированная	- 90,0 куб. см

3 раствор:

0,5-процентный водный раствор бриллиантового зеленого	- 0,9 куб. см

После растворения всех ингредиентов растворы соединяют, устанавливают активную кислотность (7,2 +/- 0,2) ед. pH, разливают приготовленную таким образом среду в колбы и флаконы. Среду стерилизуют при температуре (112 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.2.3.2. Дрожжевой диализат

Взвешивают 1000 г свежих хлебных (прессованных) дрожжей, размешивают в 1000,0 куб. см дистиллированной воды в кастрюле до состояния гомогенной массы, которую переливают в целлофановый мешок, предварительно промытый дистиллированной водой. Мешок завязывают, обмывают под струей питьевой воды, а затем дистиллированной водой и погружают в эмалированную посуду, в которую предварительно наливают 1300,0 куб. см дистиллированной воды. Мешок должен быть полностью погружен в жидкость. Диализ ведут при температуре 60 - 80° С в течение (6 +/- 0,5) ч. За это время количество жидкости в кастрюле должно уменьшиться примерно в 2 раза. Затем жидкость из кастрюли переливают в стерильную бутыль и добавляют хлороформ (0,5% к общему объему жидкости) и сохраняют при 5 - 7° С до 7 месяцев.

6.2.3.3. Среда Мюллера

К 90,0 куб. см стерильного мясо - пептонного бульона добавляют:

- 4,5 г химически чистого мела ($CaCO_3$), предварительно простерилизованного во флаконе сухим жаром (при 160° С в течение 2 ч);

- 10 куб. см раствора гипосульфита натрия (50 г чистого кристаллического гипосульфита натрия в мерной колбе доводят до 100,0 куб. см дистиллированной водой, стерилизуют текучим паром в течение (30 +/- 1) мин.);

- 2 куб. см раствора Люголя (металлического йода - 25 г, йодистого калия - 20 г, дистиллированной воды - 100,0 куб. см).

После добавления указанных ингредиентов смесь взбалтывают и разливают в необходимых количествах. Допускается использовать среду в течение 7 дней после приготовления.

6.2.3.4. Среда Кауфмана

К 100,0 куб. см среды Мюллера добавляют 0,2 куб. см 0,5-процентного водного раствора бриллиантового зеленого и 5,0 см 3 стерильной желчи крупного рогатого скота. Приготовленную смесь стерилизуют текучим паром и течение (30 +/- 1) мин. До стерилизации - среда зеленого цвета, после стерилизации она приобретает зеленовато - коричневый тон.

6.2.3.5. Приготовление селенитовой среды

6.2.3.5.1. Селенитовая среда накопления Лейфсона <*>

Натрий кислый селенисто - кислый	- 4 г
Пептон импортный	- 5 г
Натрий фосфорно - кислый двузамещенный	- 7 г
Натрий фосфорно - кислый однозамещенный	- 3 г
Лактоза	- 4 г
Дистиллированная вода	- 1000,0 куб. см

<*> При использовании среды двойной концентрации масса (объем) всех ингредиентов, кроме воды, удваивается.

Среду готовят из 2 основных растворов. Прежде всего экспериментально определяют точную пропорцию двузамещенного и однозамещенного фосфата натрия, которая с используемым образцом пептона и кислого селенисто - кислого натрия дает активную кислотность (7,0 +/- 0,1) ед. pH, что регулируется соотношением фосфатов. Такая предварительная подтитровка производится всякий раз, когда меняется серия любого из входящих в среду основных ингредиентов (пептон, кислый селенисто - кислый натрий, фосфаты).

После установления указанных соотношений к приготовленному раствору фосфатов добавляют пептон и лактозу, разливают во флаконы и стерилизуют текучим паром 2 дня по (30 +/- 1) мин. или при (112 +/- 1)° С однократно в течение (30 +/- 1) мин.

Отдельно на стерильной воде асептически готовят 10-процентный раствор кислого селенита натрия. Перед началом работы на каждый флакон с 50,0 куб. см основного раствора добавляют 2,0 куб. см раствора кислого селенита натрия. Приготовленную среду разливают в необходимых количествах в стерильные пробирки или колбы, плотно закрывают приготовленными пробками.

6.2.3.5.2. Селенитовая среда сухая

Селенитовую среду приготавливают согласно прописи на этикетке.

6.2.3.6. Среды Плоскирева и висмут - сульфитный агар

Среды Плоскирева и висмут - сульфитный агар (BCA) промышленного производства выпускаются в сухом виде. Их следует готовить согласно прописи, указанной на этикетке банки. Изготовленные и разлитые в стерильные чашки Петри среды можно хранить и холодильнике до 10 суток.

6.2.3.7. Трехсахарный агар с мочевиной (среда Олькеницкого)

Трехсахарный агар с мочевиной готовят смешением следующих ингредиентов:

Дистиллированная вода	- 100,0 куб. см
Сухой питательный агар	- 2,5 г
Лактоза	- 1,0 г
Сахароза	- 1,0 г
Глюкоза	- 0,1 г
Мочевина	- 1,0 г
Железо серно - кислое ($FeSO_4$ $7H_2O$)	- 0,02 г
Натрий серноватисто - кислый ($Na_2S_2O_3$ x $5H_2O$)	- 0,03 г
0,04-процентный водный раствор фенолового красного	- 0,04 куб. см

Тщательно перемешивают и устанавливают активную кислотность (7,3 +/- 0,1) ед. pH. Разливают в пробирки по 5,0 куб. см и стерилизуют текучим паром по 20 мин. 3 дня подряд. После стерилизации среду скашивают таким образом, чтобы высота столбика была не менее 3 см. Готовая среда имеет бледно - розовый цвет.

6.2.3.8. 0,4-процентный водный раствор фенолового красного

Взвешивают 0,1 г индикатора фенолового красного, вносят в колбу, вместимостью 50 куб. см, и вливают 25,0 куб. см дистиллированной воды. Тщательно перемешивают до полного растворения. Раствор хранят в холодильнике до 7 суток.

Для получения 0,04-процентного рабочего раствора индикатора 1,0 куб. см 0,4-процентного раствора смешивают с 9,0 куб. см дистиллированной воды.

6.2.3.9. Среда Ресселя из сухих питательных сред

К 950,0 куб. см дистиллированной воды добавляют 40 г сухого питательного агара с лактозой и индикатором BP и 5 г питательного агара. Смесь растворяют при нагревании до кипения. Затем в 50,0 куб. см дистиллированной воды растворяют 1 г химически чистой глюкозы и добавляют к приготовленной смеси.

Разливают в стерильные пробирки по 5,0 - 6,0 куб. см и стерилизуют текучим паром 3 дня подряд по (30 +/- 1) мин. или однократно при (111 +/- 1)° C в течение (30 +/- 1) мин. Среду скашивают так, чтобы остался небольшой столбик (не менее 3 см высотой).

6.2.3.10. Среда Клиглера из сухих питательных сред

Среду готовят и стерилизуют согласно прописи на этикетке. Готовую среду скашивают в пробирках так, чтобы остался небольшой столбик (не менее 3 см высотой).

6.2.3.11. Диагностическая поливалентная агглютинирующая адсорбированная сальмонеллезная сыворотка.

Необходимые разведения сыворотки готовят перед использованием согласно прилагаемой к коробке инструкции.

6.2.4. Среды и реактивы для обнаружения стафилококков

6.2.4.1. Солевой бульон

К 100,0 куб. см мясо - пептопного бульона (МПБ) с активной кислотностью (7,3 +/- 0,1) ед. pH в колбе, вместимостью 200 куб. см, добавляют 6,5 г хлористого натрия и разливают в пробирки по 10,0 куб. см. Стерилизуют в автоклаве при (121 +/- 1)° C в течение (20 +/- 1) мин.

6.2.4.2. Бульон солевой и агар солевой - сухая питательная основа для приготовления желточно - солевого или молочно - солевого агара - промышленного производства. Подготовку сред для посевов проводят согласно прописи на этикетке.

6.2.4.3. Агар типа Байрд - Паркер

Основа среды: 30 г сухого питательного агара на основе ферментативного гидролизата кормовых дрожжей размешивают в 1,0 куб. дм дистиллированной воды, добавляют 10 г пирувата натрия, 5 г хлористого лития, тщательно перемешивают. Смесь нагревают при помешивании и кипятят в течение 1 минуты до полного растворения ингредиентов.

Устанавливают активную кислотность (7,1 +/- 0,1) ед. pH. Разливают во флаконы объемами 100 - 200 - 300 куб. см в зависимости от потребности и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (15 +/- 1) мин. Основа среды может храниться в течение месяца в условиях холодильника. Перед употреблением в растопленную и охлажденную (45 - 50)° С основу, с соблюдением правил асептики прибавляют (из расчета на 100,0 куб. см среды) 0,5 см 2-процентного раствора теллурита калия и 5,0 куб. см эмульсии яичного желтка. Среду тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри, в объеме, не менее 20,0 куб. см на чашку. Чашки со средой могут быть использованы в течение 24 - 48 часов. Перед посевом чашки со средой подсушивают в термостате общепринятым способом.

6.2.4.4. Агар типа Байрд - Паркера - арбитражная среда промышленного производства в сухом виде

6.2.4.5. Желточно - солевой агар (ЖСА)

Основа - солевой агар: к мясо - пептонному бульону (МПБ) с активной кислотностью (7,3 +/- 0,1) ед. pH добавляют 2% агара и 6,5% хлористого натрия, расплавляют на водяной бане, при необходимости фильтруют через ватно - марлевый фильтр, разливают мерным цилиндром по 100,0 куб. см в колбы, вместимостью 250 куб. см, и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (3 +/- 1) мин. Вместо мясо - пептонного бульона можно использовать сухой питательный агар на основе килечного гидролизата, приготовленный по прописи на этикетке.

ЖСА: на 100,0 куб. см стерильного расплавленного и остуженного до (45 +/- 1)° С солевого агара добавляют 20,0 куб. см эмульсии яичного желтка. После полного размешивания желточно - солевой агар разливают в стерильные чашки Петри по 20,0 - 25,0 куб. см и хранят в холодильнике до 5 - 7 дней.

6.2.4.6. Эмульсия яичного желтка

На дно стерильной чашки Петри помещают куриное яйцо, которое тщательно протирают ватой, смоченной этиловым спиртом. 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 куб. см. К желтку постепенно добавляют (частями по 20,0 - 30,0 куб. см) 50,0 куб. см стерильного физиологического раствора, затем содержимое тщательно встряхивают до получения гомогенной массы.

6.2.4.7. Цитратная плазма кролика

Цитратная плазма кролика для реакции плазмокоагуляции выпускается в сухом виде. Готовят непосредственно перед употреблением согласно прописи в прилагаемом наставлении.

6.2.5. Среды и реактивы для обнаружения B.cereus

6.2.5.1. Среда Донована

К 1,0 куб. дм расплавленного питательного или мясо - пептонного агара добавляют 2,5 г трехзамещенного цитрата натрия, 2,5 г хлористого лития, стерилизуют при (110 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин., охлаждают до 45 - 50° С, добавляют 200000 ЕД полимиксина "М" и эмульсию двух желтков. Тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри, которые можно хранить в холодильнике не более 7 - 10 суток.

6.2.5.2. Эмульсия яичных желтков для среды Донована

Асептически отделяют от яиц 2 желтка, как описано в п. 6.2.4.6. К желткам добавляют 100,0 куб. см стерильного физиологического раствора, тщательно встряхивают для получения гомогенной массы.

6.2.5.3. Солевой полимексиновый агар с 2,3,5 - трифенилтетразолием хлористым

К 1,0 куб. дм 2-процентного питательного или мясо - пептонного агара добавляют 60 г хлористою натрия, 200000 ЕД полимиксина "М", 0,1 - 0,2 г 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого, эмульсию 2 желтков.

Полимиксин, 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый и эмульсию желтков асептично добавляют в агар после расплавления и охлаждения до 40 - 45° С, хорошо перемешивают и разливают в чашки Петри. Хранят среду в холодильнике не более 7 - 10 суток.

6.2.5.4. Кровяной агар

К 100,0 куб. см расплавленного и остуженного до 40 - 45° С с 2% мясо - пептонного агара добавляют 5,0 куб. см дефибринированной крови <*> человека, барана или кролика, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри. Приготовленную среду хранят в холодильнике до 5 суток.

<*> В качестве антикоагулянта применяют 5-процентный раствор лимонно - кислого натрия или 5-процентный раствор щавелево - кислого натрия (или калия). Антикоагулянт берут из расчета 1 объем на 9 объемов крови (1:9).

6.2.5.5. Среда с маннитом

В дистиллированную воду прибавляют 1% пептона и 0,5% хлористого натрия. Растворяют при нагревании, прибавляют 0,1% спиртового (1,6%) раствора бромкрезолового пурпурного (можно бромкрезолового синего), нагревают до 80° С и устанавливают активную кислотность (7,1 +/- 0,1) ед. pH, проверяя значение на pH-метре. Затем среду кипятят (5 +/- 1) мин., фильтруют и доливают до первоначального объема дистиллированной водой. Добавляют 0,5 - 1% маннита, разливают по пробиркам с поплавками. Стерилизуют автоклавированием при (115 +/- 1)° С в течение (15 +/- 1) мин.

6.2.5.6. Среда с индикатором ВР и маннитом сухая промышленного производства.

Подготовку среды для посева проводят согласно прописи на этикетке.

6.2.6. Среды и реактивы для обнаружения плесневых грибов и дрожжей

6.2.6.1. Раствор солодового сусла с массовой долей сухих веществ (7,5 +/- 0,5)%

Сусло фильтруют через фильтрованную бумагу, разливают в колбы и стерилизуют (30 +/- 1) мин. в автоклаве при (108 +/- 2)° С. Затем сусло декантируют. В сусле определяют массовую долю сухих веществ ареометром - сахарометром. Сусло разбавляют водой до массовой доли сухих веществ (7,5 +/- 0,5)%, разливают в колбы и стерилизуют при (116 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин. Солодовое сусло можно заменить виноградным суслом, которое готовят аналогично солодовому.

6.2.6.2. Сусловый агар

К 1,0 куб. дм солодового сусла с массовой долей сухих веществ (7,5 +/- 0,5)% прибавляют 30 г агара. Среду нагревают до полного расплавления агара и фильтруют через вату или фильтровальную бумагу. Охлаждают до (50 +/- 5)° С и устанавливают активную кислотность (3,6 +/- 0,1) ед. pH с помощью молочной кислоты. Фильтрат разливают в колбы и стерилизуют при (116 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин.

6.2.6.3. Приготовление среды из сухого сывороточного агара "БФ"

К 1,0 куб. дм дистиллированной воды прибавляют 60 г порошка агара сывороточного "БФ", нагревают до полного растворения (при наличии осадка фильтруют). Устанавливают активную кислотность (4,0 - 4,5) ед. pH добавлением молочной кислоты, разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (15 +/- 1) мин.

6.2.6.4. Среда для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах промышленного производства <*> по ТУ 49 1059-84.

Среда готовится по прописи на этикетке.

<*> Использование сред 6.2.6.4 - 6.2.6.6 допускается только в производственных лабораториях.

6.2.6.5. Среда Сабуро

К 1,0 куб. дм дистиллированной воды добавляют 18 г агара и оставляют на 30 мин. для его набухания, затем 40 г мальтозы или глюкозы и 10 г пептона, нагревают до полного растворения (при наличии осадка фильтруют). Устанавливают активную кислотность (6,5 +/- 0,1) ед. pH с помощью молочной кислоты. Разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при (116 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин.

6.2.6.6. Среда с солодовым экстрактом

К 1,0 куб. дм дистиллированной воды добавляют 20 г солодового экстракта, 5 г пептона, 0,4 г лимонной кислоты, 5 г сахарозы, 18 г агара. Среду плавят в автоклаве, поднимая температуру до (120 +/- 1)° С (без выдержки). Давлению дают упасть, расплавленную среду фильтруют через ватно - марлевый фильтр, разливают и стерилизуют при (115 +/- 1)° С в течение (15 +/- 1) мин.

Среды хранят при температуре от 4 до 6° С не более 14 суток.

Для повышения элективности питательных сред 6.2.6.3 - 6.2.6.6 добавляют антибиотики в объеме, указанном в табл. 10.

Антибиотики готовят согласно пп. 6.2.6.7 - 6.2.6.10.

Таблица 10

Объем питательной среды	Объем добавляемых к среде растворов антибиотиков, куб. см			
	пенициллин	стрептомицин	неомицин	левомицетин
980	10	10	-	-
930	-	-	70	-
975	-	-	-	25

Водные растворы антибиотиков готовят непосредственно перед использованием и вносят в расплавленную и охлажденную до (46 +/- 1)° С питательную среду.

Среды с антибиотиками хранению не подлежат.

6.2.6.7. Приготовление раствора пенициллина

Во флакон с пенициллином, содержащим 500000 ЕД, добавляют 5 - 7 куб. см стерильной дистиллированной воды (п. 6.1.6), тщательно перемешивают до растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, и доводят до метки стерильной дистиллированной водой при температуре от 35 до 40° С. Получают раствор пенициллина, содержащий 5000 ЕД/куб. см.

При использовании флаконов с пенициллином другой активности, его растворяют в мерной колбе соответствующей вместимости до 5000 ЕД/см.

6.2.6.8. Приготовление раствора стрептомицина

400 мг стрептомицина вносят в стерильную мерную колбу, вместимостью 100 куб. см, добавляют 10,0 - 20,0 куб. см стерильной дистиллированной воды (п. 6.1.6) при температуре от 35 до 40° С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация стрептомицина в растворе 4 г/куб. дм.

6.2.6.9. Приготовление раствора неомицина

500 мг неомицина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 куб. см, добавляют 10,0 - 20,0 куб. см стерильной дистиллированной воды (п. 6.1.6) при температуре от 35 до 40° С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация неомицина в растворе 5 г/куб. дм.

6.2.6.10. Приготовление раствора левомицетина (хлорамфеникола)

400 мг левомицетина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 куб. см, добавляют 10,0 - 20,0 куб. см стерильной дистиллированной воды (п. 6.1.6) при температуре от 35 до 40° С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация левомицетина в растворе 4 г/куб. дм.

6.2.7. Среды и реактивы для определения бифидобактерий

6.2.7.1. Гидролизованное молоко

Обычное или восстановленное обезжиренное молоко (обрат) доводят до кипения и кипятят (2 +/- 1) мин., охлаждают до (14 +/- 1)° С, устанавливают активную кислотность (7,8 +/- 0,1) ед. pH 10 - 20-процентным раствором NaOH.

Добавляют панкреатин из расчета 1 г/куб. дм, предварительно разведенный в небольшом количестве нагретой до 44° С воды, размешивают, ставят в термостат и выдерживают при температуре (40 +/- 1)° С под ватной пробкой. В течение первых 2 часов перемешивание и коррекции активной кислотности до (7,8 +/- 0,1) ед. pH проводят каждые (30 +/- 1) мин., в следующие 2 часа - через каждый час. Через 4 часа от начала гидролиза к смеси добавляют 1 - 2% хлороформа, закрывают резиновой или корковой пробкой и снова ставят в термостат. В течение первых часов молоко несколько раз перемешивают (пробку после встряхивания прокалывают для удаления паров хлороформа). Через 4 часа доводят активную кислотность до (4,3 +/- 0,1) ЕД pH 30-процентным раствором уксусной кислоты, кипятят, помешивая, в течение (15 +/- 1) мин., фильтруют через бумажный фильтр. Готовый гидролизат должен содержать 200 - 300 мг/% аминного азота. Хранят гидролизат под хлороформом (1% к объему) при температуре от 4 до 6° С.

6.2.7.2. Гидролизатно - молочная среда

Гидролизованное молоко, приготовленное по п. 6.2.7.1 разводят питьевой водой в соотношении 1:1.

В небольшом количестве разведенного гидролизата расплавляют агар в количестве 2,5 г на 1,0 куб. дм приготовляемой среды (в случае приготовления селективной среды с неомицином 17 г на 1,0 куб. дм). К остальному количеству гидролизата добавляют 20 г пептона и 3,5 г хлористого натрия, смесь нагревают до температуры (80 +/- 2)° С, после чего соединяют с расплавленным агаром. В смеси устанавливают активную кислотность (7,4 +/- 0,1) ед. pH, кипятят к течение (15 +/- 1) мин., дают отстояться, сливают с осадка, не фильтруя, доливают горячей дистиллированной водой до заданного объема и добавляют в нее 10 г лактозы и 0,15 г соляно - кислого цистина. Сведу разливают в пробирки высоким столбиком по 10,0 куб. см и стерилизуют при температуре (112 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин. с предварительным подогревом автоклава паром в течение (30 +/- 1) мин., активная кислотность готовой среды (7,1 +/- 0,1) ед. pH.

6.2.7.3. Кукурузно - лактозная среда

В небольшом количестве дистиллированной воды расплавляют агар в количестве 2,5 г на 1,0 куб. дм приготовляемой среды. К остальному количеству дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 40,0 куб. см водного раствора кукурузного экстракта, разбавленного 1:6, 6 г натрия лимонно - кислого трехзамещенного, 0,12 г магния серно - кислого, 2 г калия фосфорнокислого двузамещенного, смесь нагревают до температуры (80 +/- 2)° С, после чего соединяют с расплавленным агаром, добавляют 10 г лактозы и 0,15 г солянокислого цистина или 0,5 г аскорбиновой кислоты. Цистин предварительно растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, в которой устанавливают активную кислотность (8,4 +/- 0,1) ед. pH с помощью 10-процентного раствора NaOH и нагревают на водяной бане до полного его растворения. Смесь доливают горячей дистиллированной водой до заданного объема и устанавливают активную кислотность среды (7 +/- 0,1) ед. pH с помощью 40-процентного раствора NaOH или 25-процентного раствора аммиака. Среду разливают в пробирки высоким столбиком по 10,0 куб. см и стерилизуют при (112 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.2.7.4. Селективная среда для определения количества бифидобактерий в продуктах, в микрофлоре которых присутствуют молочно - кислые бактерии

В составе гидролизатно - молочной (по п. 6.2.7.2) или кукурузно - лактозной среды (по п. 6.2.7.3) массовую долю агара увеличивают до 17 г 1,0 куб. дм питательной среды. Среды разливают в широкие пробирки но (20,0 +/- 0,5) куб. см и стерилизуют по п. 6.2.7.2.

При проведении анализа в готовые среды перед расплавлением вносят 0,2 куб. см раствора неомицина (приготовленного по п. 6.2.7.5) из расчета по 20 куб. см среды.

6.2.7.5. Приготовление раствора неомицина

50 г неомицина (сульфата или основания) растворяют в 500,0 куб. см дистиллированной воды. Массовая концентрация неомицина в растворе 100 г/куб. дм.

6.2.8. Среды для определения молочно - кислых бактерий

6.2.8.1. Стерилизованное обезжиренное молоко

Обезжиренное молоко (кислотностью от 16 до 18° Т) разливают в пробирки по 10,0 куб. см и затем стерилизуют при (115 +/- 1)° С в течение (10 +/- 1) мин.

6.2.8.2. Агар с гидролизованным молоком

К приготовленному гидролизованному молоку (п. 6.2.7.1) добавляют 1,5% агара. Смесь расплавляют при (121 +/- 1)° С (15 +/- 1) мин., фильтруют через вату (в теплом автоклаве), разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (10 +/- 1) мин.

6.2.8.3. Агар с гидролизованным молоком, глюкозой и дрожжевым автолизатом

В приготовленное гидролизованное молоко (п. 6.2.7.1) вносят агар из расчета 17 г на 1,0 куб. дм, расплавляют и фильтруют его, как указано в п. 6.2.8.2, после чего на 1,0 куб. дм раствора добавляют 10 г глюкозы и 10,0 куб. см дрожжевого автолизата (приготовленного по п. 6.2.8.4).

6.2.8.4. Приготовление дрожжевого автолизата

1 кг прессованных дрожжей разводят в 1,0 куб. дм воды и помещают в термостат при температуре (56 +/- 1)° С на (72 +/- 2) ч. После этого полученную суспензию обрабатывают в автоклаве при температуре (115 +/- 1)° С в течение (15 +/- 1) мин. Автолизат фильтруют через ватно - марлевый фильтр, промывая осадок таким количеством воды, чтобы общее количество фильтрата составило (4,0 +/- 0,1) куб. дм.

6.2.8.5. Приготовление водного (голодного) агара

К 1,0 куб. дм питьевой воды добавляют 20 г агара, расплавляют и фильтруют его, разливают и пробирки и стерилизуют при температуре (121 +/- 2)° С в течение (15 +/- 1) мин.

6.2.9. Среды и реактивы для обнаружения энтерококков

6.2.9.1. Молочная среда с полимиксином по Г.П. Калине

К 1,0 куб. дм мясо - пептонного бульона добавляют 5,0 г натрия хлористого, 15,0 г агара. Стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (20 +/- 1) мин. Полученный таким образом основной агар расплавляют и охлаждают до 45° С. К 85,0 куб. см основного агара добавляют 1,25 куб. см и 0,01% водного раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого, 15,0 куб. см стерильного обезжиренного молока (п. 6.2.8.1), 20000 - 40000 ЕД полимиксина "М". Все ингредиенты асептически смешивают и среду тонким слоем разливают в чашки Петри. Чашки со средой можно хранить в холодильнике в течение от 7 до 10 суток.

6.2.9.2. 1-процентный раствор перекиси водорода

К 320,0 куб. см дистиллированной воды в колбе, вместимостью 400 куб. см, добавляют 10,0 куб. см концентрированного раствора пергидроля с исходной концентрацией 33%. Тщательно перемешивают, переливают в колбу с притертой пробкой. Хранят в холодильнике в колбе, обернутой темной бумагой.

6.2.9.3. Бульон с 40% желчи

К 60,0 куб. см мясо - пептонного бульона прибавляют 40,0 куб. см нативной профильтрованной желчи крупного рогатого скота, устанавливают активную кислотность (7,0 +/- 0,2) ед. pH. Разливают во флаконы или пробирки, стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.2.9.4. Бульон с активной кислотностью 9,6 ед. pH

Мясо - пептонный бульон с активной кислотностью (7,0 +/- 0,2) ед. pH нейтрализуют 1H раствором гидроокиси натрия до активной кислотности 9,6 ед. pH, проверяя значение pH универсальной индикаторной бумагой или по pH-метру. Разливают в пробирки или флаконы и стерилизуют при (121 +/- 1)° С в течение (30 +/- 1) мин.

6.2.10. Контроль питательных сред

6.2.10.1. Определение активной кислотности (pH)

Электрометрическое определение проводят на потенциометре или pH-метре по прилагаемым к ним инструкциям.

Определение активной кислотности с помощью индикаторной бумаги проводится по прилагаемой к ней инструкций.

6.2.10.2. Контроль на стерильность

Среды проверяют на стерильность путем выдержки при температуре (37 +/- 1)° С в течение 2 суток. Если после этого на пробных питательных средах не обнаруживается колоний микроорганизмов, а в жидких средах нет помутнения среды или осадка, свидетельствующих о росте микроорганизмов, питательные среды считаются стерильными.

6.2.10.3. Сроки и условия хранения питательных сред

При отсутствии специально установленных условий и сроков хранения плотные питательные среды хранят не более месяца при температуре (20 +/- 3)° С и не более 2 месяцев при температуре 6° С. Жидкие питательные среды хранят не более 14 дней при 6° С.

7. Методы анализа

При контроле микробиологического качества и безопасности продуктов детского питания определяются следующие группы микроорганизмов: общее количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов; бактерии группы кишечных палочек, E.coli, S.aureus, B.cereus; бактерии рода Salmonella; дрожжи; плесневые грибы.

В кисло - молочных продуктах проводится контроль за количеством технологически значимой микрофлоры: молочно - кислых бактерий и бифидобактерий.

При проведении посевов па индикаторные, условно патогенные и патогенные микроорганизмы должны быть использованы контрольные культуры соответствующих микроорганизмов, которые изучают в тестах идентификации параллельно с культурами, выделенными из исследуемых образцов продуктов.

7.1. Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов

7.1.1. Сущность метода

Метод основан на количественном подсчете колоний микроорганизмов, вырастающих на плотном питательном агаре при температуре (30 +/- 1)° С в течение 72 ч.

Аппаратура, материалы и реактивы согласно п. 4.

7.1.2. Подготовка к анализу

Подготовку проб и приготовление разведений осуществляют как указано в п. п. 5.1 и 5.2. Посуду, материалы и реактивы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.1.3. Проведение анализа

Для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посеве которых на чашках вырастает не менее 15 и не более 300 колоний. При посеве продуктов, не требующих разведения, учитывают все выросшие на чашках колонии (т.е. и менее 15).

Посев на чашки.

Перед посевом чашки маркируют. На дне чашки карандашом по стеклу ставят номер исследуемого образца продукта, разведение и дату.

По 1 куб. см цельного продукта или каждого соответствующего его разведения вносят в 2 чашки Петри (параллельное определение). Пипетку с посевным материалом держат под углом 45°, касаясь концом пипетки дна чашки, не выдувая последнюю каплю из пипетки. Затем наливают в каждую чашку по 15 - 20 куб. см питательной среды, расплавленной на водяной бане и остуженной до 45° С (приготовление питательных сред для определения общего количества бактерий указано в пп. 6.1.9, 6.1.10, 6.2.1.1, 6.2.1.2). Если ожидают ползучий рост микроорганизмов, посевы заливают вторым слоем питательной среды или (4 +/- 1) куб. см водного раствора агара (п. 6.2.8.5).

Края колб с питательной средой перед каждой заливкой фламбируют в пламени газовой горелки или спиртовки. Сразу после заливки агара содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

7.1.4. Инкубация

После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и помещают в таком виде в термостат при (30 +/- 1)° С на 72 ч (допускается предварительный учет через (48 +/- 1) ч с последующим окончательным учетом еще через (24 +/- 1) ч.

Чашки Петри с посевами распределяют в термостате таким образом, чтобы каждая их группа отделялась от соседних чашек, от верха и стенок термостата не менее, чем на 3 см.

7.1.5. Учет и обработка результатов

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением от 4 до 10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами. При подсчете колоний рекомендуется пользоваться специальным прибором.

При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых сектора, подсчитывают число колоний на двух - трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Если инкубированные чашки с разведением 1:10 не содержат колоний, то результат выражают так: меньше, чем 1×10^1 или менее 10 бактерий на 1,0 куб. см (г) продукта. Если на каждой из 2 параллельных чашек с разведением 1:10 содержится меньше чем 15 колоний, то

результат выражают так: количество микроорганизмов менее М х 10, где М - число выросших колоний.

Если количество колоний более 15, подсчитывают колонии на обеих чашках с одним и тем же разведением и вычисляют среднюю величину, умножают ее на соответствующее разведение и получают число микроорганизмов в 1,0 куб. см (г) продукта.

Полученный результат округляют в соответствии с ГОСТом 26670-91 "Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов":

- до числа, кратного 5, если среднее арифметическое число микроорганизмов менее 100;
- до числа, кратного 20, если среднее арифметическое число микроорганизмов более 100 и оканчивается цифрой 5;
- до числа, кратного 10, если среднее арифметическое число микроорганизмов более 100 и не оканчивается цифрой 5.

Среднее арифметическое от подсчитанного количества колоний, выросших на чашках, является общим количеством мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов в 1 г (куб. см) исследуемого продукта.

Ответ выражают в виде числа КОЕ/г с указанием соответствия или несоответствия продукта микробиологическому нормативу на этот показатель.

Пример: посеяно разведение 1 : 10; чашка 1 - 185 колоний, чашка 2 - 203 колонии;

расчет:

185 + 203 = 388 : 2 = 194 - округляем до 200;

результат 200 х 10 = 2000 = 2,0 х 10^3 КОЕ/г (куб. см).

7.2. Определение бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)

7.2.1. Сущность метода

В соответствии с принятой международной номенклатурой в настоящих Методических указаниях к бактериям группы кишечных палочек (БГКП) отнесены грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре (37 +/- 1)° С в течение 24 - 48 ч, в основном являющиеся представителями родов Esherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia (т.е. учитываются как цитратотрицательные, так и цитратположительные варианты БГКП).

Сухие продукты типа "Детолакт", "Новолакт ММ", "Алеся" и др., предназначенные для детей с первого дня жизни и употребляемые после восстановления при (37 +/- 1)° С и (70 +/- 1)° С, перед посевом должны подвергаться предварительной инкубации в неселективной жидкой среде для восстановления физиологических свойств бактерий, поврежденных в процессе технологической обработки продукта. В качестве неселективной среды обогащения используют фосфатный буферный раствор (п. 6.1.2).

Без предварительной инкубации исследуют сухие продукты, подвергающиеся различным способам термической обработки перед употреблением (разведение кипяченой водой (85 +/- 1)° С и выше, доведение до кипения, пастеризация восстановленной смеси и т.д.), биологически активные добавки, стерилизованные, кисло - молочные (сухие и жидкие) и пастообразные продукты детского питания, а также составляющие их компоненты.

7.2.2. Подготовка к анализу

Посуду, материалы и реактивы подготавливают как указано в п. 5.3.

7.2.3. Приготовление разведений

Подготовку проб и приготовление разведений осуществляют как указано в п. п. 5.1 и 5.2.

7.2.4. Посев с предварительной инкубацией детских сухих молочных продуктов

Асептически взвешивают 1 г сухого продукта, вносят в колбочку или пробирку с 9,0 куб. см разбавленного фосфатного буфера для предварительного обогащения. Взвесь тщательно перемешивают, проверяют значение pH при помощи индикаторной бумаги (стерильной стеклянной палочкой наносят каплю испытуемой взвеси на полоску универсальной индикаторной бумаги и полученную окраску немедленно сравнивают со шкалой). При

необходимости доводят активную кислотность до 7,0 ед. pH, используя стерильные растворы 1Н гидроокиси натрия или 1Н соляной кислоты.

Колбочки помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С и выдерживают 24 часа. На следующий день засевают 1,0 куб. см проинкубированной в буферном растворе взвеси продукта в пробирку с 10,0 куб. см среды Кесслер с лактозой и проводят анализ в соответствии с п. 7.2.5.

7.2.5. Прямой посев

Для посева используют то количество продукта, в котором предусматривается отсутствие БГКП (колиформных бактерий) соответствующими пунктами таблиц 1 - 9. Посев производится в среду Кесслер с лактозой (с поплавками), с соблюдением соотношения продукта и среды 1:10. Применение среды Кода не допускается.

В производственных лабораториях возможно производить посев сухих продуктов из первого разведения в объеме 10,0 куб. см (при необходимости засева 1 г).

Прямые посевы продуктов пли посевы после преинкубации помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С на (24 +/- 1) ч. При отсутствии признаков роста - газообразования или помутнения среды, дают заключение об отсутствии БЭКП (колиформных бактерий) и соответствии исследуемого продукта нормативу на БГКП (колиформные бактерии). При наличии признаков роста - газообразования, помутнения среды Кесслер с лактозой, для окончательного заключения о наличии в продукте БГКП (колиформных бактерий), из подозрительных колб или пробирок производят высев на чашки со средой Эндо или Левина (п. 6.2.2.3). Посев производят петлей из каждой пробирки так, чтобы получить рост изолированных колоний - на отдельный сектор, лучше - на отдельную чашку. Чашки с посевами помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч.

Учет результатов.

При отсутствии на среде Эндо или Левина колоний, типичных для бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) (на среде Эндо - красных с металлическим блеском или без него, розовых и бледно - розовых; на среде Левина - черных с металлическим блеском, темных с черным центром, сиреневых с темным центром) засеянная навеска продукта считается незагрязненной ими, т.е. исследуемый продукт соответствует нормативу на БГКП (колиформные бактерии).

При наличии на среде Эндо или Левина типичных или подозрительных для кишечных палочек (колиформных бактерий) колоний - их продолжают изучать. Из изолированных колоний, характерных или подозрительных на БГКП, делают препараты, окрашивают их по Граму и микроскопируют.

Обнаружение грамотрицательных не содержащих спор палочек указывает па наличие БГКП (колиформных бактерий) в анализируемой массе продукта и несоответствие продукта микробиологическому нормативу.

Примечание. Обнаружение на среде Эндо колоний с желтым или желто - коричневым оттенком при анализе сухих молочных каш, содержащих в качестве компонента муку рисовую и гречневую, толокно овсяное, крупу манную, указывает на возможную принадлежность выделенных бактерий к роду Erwinia.

Бактерии рода Erwinia - грамотрицательные, необразующие спор палочки, способные утилизировать лактозу с образованием кислоты и газа, по комплексу других биохимических признаков отличающиеся от бактерий группы кишечных палочек. Бактерии рода Ervinia являются типичными представителями эпифитной микрофлоры зерновых культур и не обладают патогенностью для человека и животных. Для определения принадлежности к роду Ervinia выросших на среде Эндо нетипичных для БГКП колоний последние пересевают на питательный агар с 5% сахарозы (п. 6.2.2.17), на котором они дают выраженный мукоидный рост, не свойственный бактериям группы кишечных палочек. При подтверждении принадлежности подозрительных колоний роду Erwinia и отсутствии других микроорганизмов, типичных для БГКП, исследуемый продукт считается соответствующим нормативу на БГКП (колиформные бактерии).

7.3. Определение E.coli

E.coli - не утилизирующие цитрат грамотрицательные бесспоровые палочки, входящие в группу колиформных бактерий и являющиеся индикатором относительно свежего фекального загрязнения, способные расти и ферментировать лактозу при температурах выше температуры тела человека и теплокровных животных (от 44,0 до 45,5° С).

7.3.1. Сущность метода

Метод основан на способности E.coli ферментировать лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 44,0° С от 24 до 48 часов. Идентификацию E.coli проводят по признакам: образование индола, положительная реакция с метиловым красным, отрицательная реакция Фогес - Проскауэра (образование ацетилметилкарбинола) и отсутствие способности утилизировать цитраты.

7.3.2. Аппаратура, материалы и реактивы

При проведении анализов используют аппаратуру, материалы и реактивы, перечисленные в п. 4.

7.3.3. Подготовка к анализу

Подготовку проб и приготовление разведений осуществляют как указано в п. п. 5.1 и 5.2.

Посуду и материалы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.3.4. Проведение анализа с предварительной инкубацией

7.3.4.1. Асептически взвешивают 10 г сухого продукта типа "Детолакт" (табл. 1), растворяют в колбе 90,0 куб. см разбавленного фосфатного буфера.

Для доведения активной кислотности до 7,0 ед. pH используют простерилизованный 1Н раствор гидроокиси натрия или 1Н раствор соляной кислоты, проверяя pH индикаторной бумагой.

Колбу помещают в термостат и выдерживают при температуре (37 +/- 1)° С и течение (24 +/- 1) ч.

7.3.4.2. На следующий день засевают из этих колб 1,0 куб. см в пробирку или колбу с 9,0 куб. см среды Кесслер с лактозой (пп. 6.2.2.1, 6.2.2.2) (с поплавками), помещают в термостат и выдерживают при температуре (44 +/- 1)° С в течение (24 +/- 1) ч. При отсутствии газа, помутнения, изменения цвета среды в посевах продуктов, подвергшихся предварительной инкубации, результат анализа считают отрицательным и дают заключение об отсутствии E.coli и соответствии нормативу по этому показателю.

7.3.5. Проведение анализа без предварительной инкубации

7.3.5.1. Навеску продукта 10 г (куб. см) помещают в колбу с 90,0 куб. см среды Кесслер с лактозой (с поплавками). Помещают в термостат при (44 +/- 1)° С на (24 +/- 1) ч. На следующий день колбы просматривают, при отсутствии признаков роста посевы оставляют в термостате еще на (24 +/- 1) ч.

7.3.5.2. Пробирки и колбы с посевами просматривают на присутствие газа. При отсутствии газа и других признаков роста (помутнения и т.д.) в посевах дают заключение об отсутствии в продукте E.coli и соответствии нормативу по этому показателю.

Пробирки (колбы), в которых обнаружен газ или другие признаки роста (помутнение среды), подвергают дальнейшим исследованиям. Из этих пробирок производят посев штрихом или рассевом на поверхность чашки Петри с подсушенной средой Эндо или Левина так, чтобы получить изолированные колонии. Посевы выдерживают в термостате (37 +/- 1)° С в течение (24 +/- 1) ч.

Эшерихии на среде Эндо образуют колонии красные с металлическим блеском или без него, розовые, на агаре Левина - черные, темно - коричневые колонии с темным центром, с металлическим блеском или без него. Если при окрашивании по Граму и просмотре под

микроскопом подтверждается наличие грамотрицательных бесспоровых палочек, то все типичные колонии подвергают идентификации по ИМАЦ - тестам (реакция на индол, реакция с метиловым красным, реакция Фогес - Проскауэра, утилизация цитрата).

7.3.5.3. Реакция на индол. Из типичной изолированной колонии на среде Эндо (Левина) производят высев в пробирку с бульоном на индол (п. 6.2.2.4). Пробирки выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С в течение (24 +/- 1) ч.

После выдерживания в термостате в пробирки с индольной средой добавляют 5 - 10 капель реактива Эрлиха (п. 6.2.2.14). Появление темно - красного окрашивания в поверхностном слое свидетельствует об образовании индола.

7.3.5.4. Реакция Фогес - Проскауэра

Типичную, хорошо изолированную колонию пересевают в пробирку со средой Кларка (п. 6.2.2.5). Выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С в течение (48 +/- 1) ч. Вынимают пробирки из термостата и из каждой из них пипеткой стерильной отбирают 1,0 куб. см культуральной жидкости в чистые пробирки. Затем к 1,0 куб. см добавляют 0,60 куб. см 5-процентного раствора alfa-нафтола (п. 6.2.2.11) и 0,20 куб. см 40-процентного раствора гидроокиси калия (п. 6.2.2.12), хорошо перемешивают. Появление красного окрашивания свидетельствует о положительной реакции (образование ацетилметилкарбинола).

7.3.5.5. Реакция с метиловым красным

В пробирки с оставшейся культурой в среде Кларка добавляют по 5 капель реактива метилового красного (п. 6.2.2.7) в каждую пробирку. Четкое малиново - красное окрашивание указывает на положительную реакцию.

7.3.5.6. Утилизация цитратов

Производят пересев из типичных колоний со среды Эндо или Левина на чашки Петри с подсушенной средой Симмонса (или в пробирки со средой Козера (пп. 6.2.2.15, 6.2.2.16). Посевы выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С от 24 до 48 ч. При учете результатов обращают внимание на наличие роста и изменение окраски среды.

Наличие роста и изменение цвета среды с зеленого в синий или желтый характерно для цитрат - положительных культур.

Для цитрат - отрицательных разновидностей характерно отсутствие роста и изменения цвета среды.

7.3.6. Оценка результатов идентификации

Таблица 11

КЛАССИФИКАЦИЯ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ПО ИМАЦ - ТЕСТАМ

Образование индола	Реакция с метиловым красным	Реакция Фогес - Проскауэра	Утилизация нитратов	Тип бактерий
+	+	-	-	Типичные E.coli
-	+	-	-	Атипичные E.coli
-	-	+	+	Типичные A.aerogenes
+	-	+	+	Атипичные A.aerogenes
+	+	-	+	Типичные Citrobacter
-	+	-	+	Атипичные Citrobacter

При выделении из продукта грамотрицательных неспорообразующих палочек, продуцирующих газ из лактозы при (44 +/- 1)° С, образующих и не образующих индол, дающих положительную реакцию с метиловым красным, отрицательную Фогес - Проскауэра и не растущих на среде Симмонса (Козера) считают, что в 10 г продукта содержатся эшерихии коли. Продукт в данном случае бракуется.

При обнаружении в 10 г продукта бактерий родов Enterobacter и Citrobacter, но при отсутствии колиформных бактерий (БГКП) в 1 г, продукт браковке не подлежит. Однако микробиолог предприятия должен усилить контроль за соблюдением санитарно - гигиенических правил на предприятии и обратить внимание на необходимость дополнительного контроля технологических режимов при изготовлении продукта.

7.4. Определение сальмонелл

Сальмонеллы - обширный род семейства энтеробактерий, включающий более 2000 серотипов, большинство которых обладает патогенными свойствами. К сальмонеллам относятся аэробные и факультативно - анаэробные грамотрицательные подвижные палочки, хорошо растущие на обычных питательных средах и разнообразных пищевых субстратах.

7.4.1. Сущность метода

Метод основан на использовании сред обогащения для увеличения роста сальмонелл, их выделения на специальных агаровых средах, с последующим проведением серологической реакции.

7.4.2. Аппаратура, материалы, реактивы

Аппаратура, материалы, реактивы - согласно п. 4.

7.4.3. Подготовка к анализу

7.4.3.1. Подготовку проб и приготовление разведений осуществляют как указано в п. п. 5.1 и 5.2. Посуду и материалы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.4.4. Проведение анализа

Для посева используют то количество продукта, в котором регламентируется отсутствие бактерий рода сальмонелла соответствующими пунктами таблиц 1 - 9.

Посев продуктов производится с предварительной инкубацией в фосфатном буферном растворе.

Компоненты детских сухих молочных продуктов засевают без предварительной инкубации непосредственно в колбы со средой для селективного обогащения. В случае выявления бактерий рода сальмонелла в готовых сухих молочных продуктах, компоненты, входящие в их состав, повторно исследуются на наличие сальмонелл с предварительной инкубацией продукта по п. 7.4.4.1.

7.4.4.1. Посев с предварительной инкубацией

Взвешивают в стерильных условиях в стакане продукт в количествах, предусмотренных в табл. N 1 - 9, и затем для предварительного обогащения навеску асептически переносят в колбу с разбавленным фосфатным буфером (п. 6.1.2). Соблюдают соотношение массы продукта и буферного раствора 1:10. Проверяют pH с помощью индикаторной бумаги и доводят активную кислотность смеси до (7,0 +/- 0,2) ед. pH 1H раствором гидроокиси натрия.

Все тщательно перемешивают. При плохом растворении продукта пробы подвергают механическому встряхиванию на аппарате для встряхивания жидкости (шуттель - аппарат). К приготовленной взвеси продукта добавляют 0,1-процентный водный раствор бриллиантового зеленого (п. 6.2.2.9) в количестве 2% к объему (т.е. 20 куб. см раствора красителя к 1000 куб. см взвеси продукта), перемешивают и выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С и от 18 до 24 ч.

На следующий день переносят 1,0 куб. см выдержанной в термостате смеси в пробирке с 10,0 куб. см магниевой среды (п. 6.2.3.1) или среды Мюллера (п. 6.2.3.3). Пробирки помещают в термостат с температурой (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч.

7.4.4.2. Прямой посев в среды для селективного обогащения

Асептически взвешенные навески сухих компонентов, стерильно отмеренные объемы жидких компонентов в количествах, предусмотренных соответствующими графами табл. 9, засевают в колбы с магниевой средой или средой Мюллера, соблюдая соотношение продукта и среды не менее 1:9.

Для жидких продуктов допускается использование среды с двойной концентрацией ингредиентов при соотношении продукта и среды 1:1.

Колбы с посевами помещают в термостат с температурой (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч.

7.4.4.3. После инкубации в термостате производят высев из колб и пробирок с магниевой средой или средой Мюллера на поверхность подсушенных чашек с дифференциально - диагностическими средами Плоскирева и висмут - сульфитного агара. Для получения отдельных колоний петлей берут минимальное количество посевного материала и производят посев штрихом. Чашки с посевами помещают в термостат с температурой (37 +/- 1)° С от 24 до 48 ч. Проверку посевов осуществляют дважды: через 24 и 48 ч. после инкубации в термостате.

7.4.5. Обработка результатов

7.4.5.1. На среде Плоскирева колонии сальмонелл бесцветные, прозрачные, плоские, на висмут - сульфитном агаре - черные, с характерным металлическим блеском, зеленоватые с темным ободком, при этом наблюдается прокрашивание в черный цвет участка среды под колонией.

При отсутствии типичных колоний сальмонелл на каждой из сред конечный результат анализа записывают как "отрицательный", т.е. в исследуемой массе продукта сальмонеллы отсутствуют.

При наличии на любой из питательных сред на чашках Петри типичных или подозрительных колоний на сальмонеллы производят их дальнейшее изучение.

7.4.5.2. Из каждой среды на чашке Петри, содержащей подозреваемую колонию сальмонелл <*>, выбирают хорошо изолированную колонию и высевают штрихом и уколом на трехсахарный агар с мочевиной (п. 6.2.3.7) или среду Клиглера (п. 6.2.3.10). Пробирки с посевами выдерживают в термостате при (37 +/- 1)° С в течение (24 +/- 1) ч. Производят идентификацию культур, высеянных на среду Клиглера или трехсахарный агар с мочевиной по ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы и расщеплению мочевины.

<*> При наличии смешанного роста необходимо сделать пересев на питательный агар для поручения изолированных колоний.

Покраснение или пожелтение (в зависимости от добавленного индикатора) скошенной части столбика среды указывает на образование кислоты в результате ферментации лактозы, сахарозы или обоих сахаров. Покраснение самого столбика указывает на расщепление глюкозы. Восстановление цвета среды до исходного (бледно - розовый) свидетельствует о расщеплении мочевины.

Механизм действия среды Клиглера идентичен с трехсахарным агаром. Об образовании сероводорода судят по почернению среды в столбике. Если культуры сбраживают лактозу с образованием газа и расщепляют мочевину, они не принадлежат к бактериям рода сальмонелла.

Культуры, не ферментирующие лактозу и не расщепляющие мочевину, но ферментирующие глюкозу (с образованием или без образования газа), подвергаются дальнейшему изучению.

Культуры, ферментирующие глюкозу без образования газа, подозрительны как брюшнотифозные или дизентерийные.

Культуры, ферментирующие глюкозу с образованием газа, дающие в среде пузырьки и продуцирующие сероводород, могут принадлежать к роду сальмонелла.

Если ни в одной из пробирок не обнаружено ни одной характерной для сальмонелл реакции, то результат считают отрицательным и дают заключение об отсутствии в исследуемой массе продукта бактерий рода сальмонелл.

7.4.5.3. Определение образования ацетилметилкарбинола проводят по п. 7.3.5.4. Бактерии рода Salmonella не образуют ацетилметилкарбинола (реакция Фогес - Проскауэра отрицательная).

7.4.5.4. Если обе пробирки покажут типичную для сальмонелл окраску сред, а выделенный штамм дает отрицательную реакцию Фогес - Проскауэра, проводят серологическое исследование. Для этой цели берут петлей небольшое количество культуры из пробирок с трехсахарным агаром или средой Клиглера, эмульгируют в капле физиологического раствора на предметном стекле. Добавляют каплю сальмонеллезной 0-сыворотки (п. 6.2.3.11) к раствору и осторожно покачивают предметное стекло, чтобы смешать жидкости.

Положительная реакция на сальмонеллы (агглютинация) наблюдается в течение 30 - 60 сек. Обязательна постановка отрицательной реакции (культура + физиологический раствор). Если при проведении серологического исследования агглютинации не обнаруживается, конечный результат записывают как "отрицательный".

Любая агглютинация, которая появляется на стекле, говорит о вероятности присутствия сальмонелл.

7.4.5.5. При выделении культур грамотрицательных палочек, ферментирующих глюкозу с образованием или без образования газа, не ферментирующих лактозу и сахарозу, образующих или не образующих сероводород, дающих отрицательную реакцию Фогес - Проскауэра и обладающих четкой серологической характеристикой, считают, что в исследуемой навеске продукта присутствуют бактерии рода сальмонелла. Продукт к реализации не допускается. Проводится тщательная санитарная обработка всей технологической линий, а при необходимости - контроль всех исходных компонентов продукта.

7.5. Определение коагулазоположительных стафилококков (S.aureus)

S.aureus - аэробные грамположительные сферические пигментообразующие микроорганизмы, обладающие ферментом коагулазой, большая часть из которых способна продуцировать энтеротоксины.

7.5.1. Сущность метода

Метод основан на способности микроорганизмов из рода Staphylococcus расти на питательных средах с повышенным содержанием поваренной соли. Наибольшее санитарно - гигиеническое значение имеет Staphylococcus aureus (золотистый стафилококк), принадлежность к которому, в основном, определяется по способности коагулировать цитратную плазму крови человека или кролика.

7.5.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - согласно п. 4.

7.5.3. Подготовка к анализу

7.5.3.1. Подготовку проб и приготовление разведений осуществляют как указано в п. п. 5.1, 5.2.

Посуду и материалы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.5.4. Проведение анализа

При исследовании продуктов, употребляемых без предварительной термической обработки после восстановления (см. табл. 1) навеска продукта должна составлять 10 г; для продуктов, употребляемых с предварительной термической обработкой и компонентов - 1 г (см. табл. 1 - 9). Сухие молочные продукты типа "Детолакт", "Новолакт ММ", "Новолакт-1" и т.п., восстанавливаемые перед употреблением при (37 +/- 1)° С и (70 +/- 1)° С, подвергаются предварительной инкубации в фосфатном буферном растворе перед посевом.

Остальные продукты и компоненты, предусмотренные в табл. 1 - 9, засевают без предварительной инкубации непосредственно в питательную среду.

В случае выявления S.aureus в готовых сухих молочных продуктах, компоненты, входящие в их состав, исследуются на наличие S.aureus с предварительной инкубацией.

7.5.4.1. Взвешивают в стерильных условиях 10, или 1 г продукта и помещают в колбы с 90,0 куб. см или 9,0 куб. см разбавленного фосфатного буфера. Хорошо размешивают. Смесь выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч. На следующий день пипеткой переносят 1,0 куб. см смеси в пробирку с солевым бульоном (п. 6.2.4.1) и помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С на (24 +/- 1) ч.

Жидкие и пастообразные продукты, подготовленные согласно п. 5.1.5 и другие продукты, не подвергающиеся предварительной инкубации, в количестве 1, или 10 г (см) засевают в пробирки или колбы с солевым бульоном при соотношении продукта и среды 1:10 и помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С.

7.5.4.2. Через (24 +/- 1) ч производят пересев петлей из бульона для получения изолированных колоний на чашки Петри с подсушенными средами тина Байрд - Паркер (п.

6.2.4.3) или ЖСА (желточно - солевой агар) (п. 6.2.4.4). Чашки с посевами выдерживают в термостате при температуре (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч.

S.aureus на среде Байрд - Паркера растут в виде черных, блестящих, выпуклых колоний в диаметре 1 - 1,5 мм, окруженных зоной просветления среды, шириной 1 - 3 мм. Около 90% S.aureus, выделенных из пищевых продуктов, и штаммы, образующие энтеротоксин, на агаре типа Байрд - Паркер дают зоны просветления через (24 +/- 1) ч инкубации при (37 +/- 1)° С. Эти колонии не требуют подтверждения в принадлежности к S.aureus и подлежат учету через (24 +/- 1) ч инкубации.

На ЖСА колонии стафилококков имеют форму выпуклых дисков диаметром 2 - 4 мм, белого, желтого, кремового, лимонного, золотистого цвета с ровными краями; вокруг колоний образуется радужное кольцо и зона помутнения среды.

Из характерных колоний, подозрительных на стафилококки, готовят мазки - препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют. Колонии грамположительных мелких кокков, расположенных в мазке гроздьевидно, отсеивают на сектора чашки Петри или в пробирки со скошенным мясо - пептонным агаром (п. 6.1.12), посевы выдерживают в термостате при (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч. Из культур, выросших на МПА, после предварительной проверки мазка на чистоту под микроскопом, ставят реакцию плазмокоагуляции.

7.5.4.3. Постановка реакции плазмокоагуляции

В пробирку с 0,5 куб. см разведенной кроличьей плазмы вносят петлю суточной агаровой культуры. Одну пробирку с плазмой оставляют незасеянной, а в другую засевают заведомо коагулазоположительный стафилококк в качестве контроля. Пробирки помещают в термостат при температуре (37 +/- 1)° С. Учитывают результаты через 2 - 4 часа и оставляют до утра при комнатной температуре для окончательного учета. Ускорение реакции производят за счет использования 3 и 4 часовых бульонных культур стафилококков, добавляя их по 0,1 куб. см в 0,5 куб. см разведенной цитратной плазмы.

Пробирки на свертывание плазмы следует просматривать осторожно, чтобы не разрушить начало образования сгустка.

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

++++ - сгусток плотный;

+++ - сгусток, имеющий небольшой отсек;

++ - сгусток в виде взвешенного мешочка.

Все три варианта являются положительным результатом.

7.5.5. Обработка результатов

7.5.5.1. Положительная реакция плазмокоагуляции свидетельствует о присутствии коагулазоположительных стафилококков в засеянной массе продукта (в 10, или в 1 г (куб. см)).

7.5.5.2. Отрицательная реакция плазмокоагуляции свидетельствует об отсутствии коагулазоположительных стафилококков в засеянной массе продукта (в 10, или 1 г (куб. см)).

Примечание. При обнаружении значительного роста коагулазоотрицательных стафилококков в готовых детских сухих молочных смесях, микробиолог должен обратить внимание на санитарно - гигиеническое содержание предприятия, т.к. у детей грудного возраста некоторые варианты коагулазоотрицательных стафилококков (S.epidermidis) также способны вызывать острые стафилококковые энтериты.

7.6. Определение энтерококков

Определение энтерококков проводят в случае обнаружения в выработанной партии значительного превышения количества мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов в целях выяснения причин несоответствия изготовленного продукта этому нормативу.

7.6.1. Сущность метода

Метод основан на количественном подсчете колоний энтерококков, вырастающих на плотных питательных средах, в состав которых входят ингибиторы (кристаллический

фиолетовый, трифенилтетразолий хлористый, антибиотики: пенициллин, стрептомицин, полимиксин), подавляющие развитие других бактерий.

7.6.2. Аппаратура, материалы, лабораторная посуда и реактивы

Аппаратура, материалы, лабораторная посуда и реактивы - согласно п. 4.

7.6.3. Подготовка к анализу

Подготовку проб и приготовление разведений проводят как указано в п. п. 5.1 и 5.2.

Посуду и материалы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.6.4. Проведение анализа

7.6.4.1. Посев

Берут по 0,1 куб. см жидких продуктов или из первого разведения сухих и пастообразных продуктов и высевают на подсушенную поверхность молочной среды с полимиксином (п. 5.2.5.1) в 2 чашках Петри. Посевной материал тщательно втирают шпателем в поверхность среды. Посевы инкубируют при (37 +/- 1)° С в течение (48 +/- 1) ч.

7.6.4.2. Обработка результатов

Посевы просматривают. Типичные колонии энтерококков имеют округлую форму, ровные края, блестящую поверхность, диаметр 1,5 - 2 мм и красную окраску с зоной протеолиза на светло - голубом фоне среды. Подсчитывают все типичные колонии на обеих чашках и среднеарифметическое их число умножают на 10 или 100, соответственно, получая количество энтерококков в 1 г или 1,0 куб. см продукта.

Идентификация культур.

Три - пять колоний отсеивают на скошенный мясо - пептонный агар для дальнейшей идентификации. На скошенном агаре посевы культивируют при (37 +/- 1)° С и течение (24 +/- 1) ч.

Из колоний, выросших на скошенном агаре, готовят мазки и окрашивают по Граму. Определяют каталазную активность культуры: на чистое обезжиренное стекло наносят каплю 1-процентного водного раствора перекиси водорода (п. 6.2.9.2) и в ней растирают петлю культуры. Если пузырьки газа не выделяются, значит реакция отрицательная. Кроме того, изучаемые культуры засевают в бульоны, содержащие 40% желчи (п. 6.2.9.3) и имеющие активную кислотность 9,6 ед. pH (п. 6.2.9.4). Инкубируют посевы при (37 +/- 1)° С от 18 до 24 ч. Рост изучаемых культур в указанных бульонных средах подтверждают микроскопией мазка, окрашенного но Граму.

Энтерококки - грамположительные кокки, в мазках из жидких сред располагаются в виде коротких или длинных цепочек, с плотных - в виде диплококков или скоплений кокков; растут в бульонах с 40% желчи и при активной кислотности (9,9 +/- 0,3) ед. pH, не разлагают перекись водорода, так как не вырабатывают фермент каталазу.

Обнаружение значительного роста энтерококков при посеве исследуемого материала свидетельствует о необходимости контроля за термическим режимом технологического процесса или проведения санитарной обработки оборудования и технологических линий.

7.7. Определение B.cereus <*>

<*> Допускается использование рекомендованных в ГОСТе 104444.8-88 "Продукты пищевые. Метод определения B.cereus селективных сред и тестов идентификации".

B.cereus - аэробные спорообразующие грамположительные палочки, часть штаммов способна продуцировать энтеротоксин.

7.7.1. Сущность метода

Метод основан на количественном подсчете B.cereus, относящихся к спорообразующим аэробным бациллам, при росте их на плотных питательных средах с антибиотиком и яичным желтком.

7.7.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - согласно п. 4.

7.7.3. Проведение анализа

7.7.3.1. Подготовку проб и приготовление разведении проводят как указано в п. п. 5.1 и 5.2.

Посуду, материалы и реактивы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.7.3.2. Посев

Производят посев по 0,1 куб. см разведения сухих молочных продуктов 1:10 (0,01 г продута), по 0,2 куб. см БАДов из разведения 1:10 (0,02 г продукта) на поверхность хорошо подсушенной питательной среды в 2 чашках Петри. Посевной материал тщательно растирают шпателем. Для посева используют питательные среды по п. 6.2.5.1 (среда Донована) или п. 6.2.5.3 (солевой полимиксиновый агар).

Посевы инкубируют в термостате при температуре (37 +/- 1)° С от 24 до 96 ч.

7.7.3.3. Обработка результатов

При отсутствии роста на обеих чашках дают заключение о соответствии детской сухой молочной смеси нормативу за этот показатель. При обнаружении роста изучают морфологию колоний: штаммы B.cereus на солевом полимиксиновом агаре с 2,3,5-трифенилтетраводном хлористым образуют ярко - рубиновые колонии на фоне широкой зоны глубокого равномерного коагулята, колонии в первые часы округлые, выпуклые; в дальнейшем (через 24 - 48 ч) - распластанные по поверхности агара с изрезанными краями. На среде Донована штаммы B.cercus образуют крупные белые распластанные колонии со слегка изрезанными краями, окруженные широкой зоной глубокого белого равномерного матового коагулята или двойной зоной - коагулята и просветления (лецитиназная активность).

Из типичных колоний готовят мазки и окрашивают по Граму.

B.cereus - грамположительные споровые палочки, в некоторых культурах - грамотрицательные.

7.7.3.4. Идентификация культур

Пересеивают 3 - 5 колоний на скошенный агар с последующей инкубацией при температуре (30 +/- 1)° С от 18 до 24 ч.

Проводят микроскопию висячей и раздавленной капли для установления подвижности и посев на среду с маннитом (п. 6.2.5.5) и на кровяной агар (п. 6.2.5.4). Инкубацию посевов проводят при (30 +/- 1)° С от 24 до 48 ч. Культуру также пересевают в пробирки со средой Кларка (п. 6.2.2.5), которую инкубируют при температуре (30 +/- 1)° С в течение (48 +/- 1) ч, для последующей постановки реакции Фогес - Проскауэра.

Постановка реакции Фогес - Проскауэра описана в п. 7.3.5.4.

Характерными признаками для B.cereus являются образование зон просветления на кровяном агаре (гемолитическая активность), положительные реакции на лецитиназу и Фогес - Проскауэра, подвижность и отсутствие способности сбраживать маннит.

7.7.3.5. При обнаружении роста, для определения количества B.cereus в исследуемом продукте, количество выросших типичных колоний на чашках умножают на соответствующее разведение и выражают в пересчете на 1 г или 1,0 куб. см исследуемого продукта.

7.7.3.6. В продуктах, выработанных с соблюдением технологических правил, при посеве 0,01 г рост B.cereus должен отсутствовать, что соответствует показателю на этот микроорганизм - "менее 100 клеток/г".

При обнаружении роста микробиолог в заключении указывает подсчитанное количество B.cereus в 1 г продукта.

При несоответствии нормативу только по B.cereus в сухих молочных продуктах типа "Детолакт" (в отдельных случаях от 100 до 200 КОЕ/г), партия однократно не задерживается для реализации. В таких случаях микробиолог проводит исследования на наличие B.cercus в компонентах растительного и животного происхождения и в случае обнаружения в них

значительных количеств B.cercus дает рекомендации о возможности и путях использования их в производстве.

Аналогично поступают при обнаружении от 200 до 400 КОЕ/г B.cereus в сухих молочных продуктах типа "Малыш", подвергающихся термической обработке перед употреблением.

7.8. Определение количества дрожжей и плесневых грибов

7.8.1. Сущность метода

Метод основан на количественном подсчете числа колоний дрожжей и плесневых грибов, вырастающих на плотных питательных средах с антибиотиками при температуре (24 +/- 1)° С в течение 5 суток при посеве исследуемых продуктов.

7.8.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - согласно п. 4.

7.8.3. Проведение анализа

7.8.3.1. Подготовку проб и приготовление разведений для посева проводят согласно п. п. 5.1 и 5.2.

Посуду, материалы и реактивы стерилизуют как указано в п. 5.3.

7.8.3.2. Посев

Для определения количества дрожжей и плесневых грибов из каждой пробы делают посев по 1,0 куб. см нативного продукта или по 1,0 куб. см разведений 1:10 и 1:100 на две чашки Петри. В каждую чашку Петри, с заранее промаркированной крышкой, добавляют не позднее чем через 15 - 20 мин. 14,0 куб. см одной из агаризованных сред: (пп. 6.2.6.2; 6.2.6.3; 6.2.6.4; 6.2.6.5; 6.2.6.6), охлажденной до 45° С <*>. Среду немедленно тщательно перемешивают и оставляют для застывания.

_____

<*> К средам добавляются антибиотики согласно п. 6.2.6.6.

Чашки с посевами выдерживают в термостате при температуре (24 +/- 1)° С в течение 120 ч (5 суток) с предварительным учетом через 3 суток.

Контроль стерильности питательных сред и воздуха проводят как указано в п. 6.2.10.2.

Количество колоний дрожжей и плесневых грибов подсчитывают раздельно на каждой чашке. Колонии дрожжей в указанных средах имеют беловато - желтый цвет, сметанообразную консистенцию, по мере роста и увеличения размеров приобретают перламутровый оттенок и куполообразное возвышение.

Если в посевах на агаризованных средах присутствуют мукоровые, очень быстро растущие грибы, то снятие предварительных результатов необходимо проводить очень осторожно, не допуская того, чтобы споры этих грибов осыпались и дали рост вторичных колоний. Через 5 суток проводят окончательный учет результатов термостатирования посевов. Колонии дрожжей и плесневых грибов разделяют визуально.

Типичные колонии плесневых грибов с поверхности покрыты пушистым мицелием, часто напоминающим вату. Окраска варьирует.

Рост дрожжей на агаризованных средах сопровождается образованием крупных, выпуклых, блестящих, серовато - белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем.

Для количественного подсчета отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 150 колонии дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

При необходимости для разделения колоний дрожжей и плесневых грибов проводят микроскопические исследования. Для этого из отдельных колоний готовят препараты методом раздавленной капли. На предметное стекло наносят каплю стерильной водопроводной воды. Затем в эту каплю прокаленной иглой вносится часть колонии. Полученная суспензия покрывается покровным стеклом.

Результаты микроскопирования оценивают пользуясь характеристикой дрожжей и плесневых грибов, указанной в табл. 12.

Таблица 12

ХАРАКТЕРИСТИКА ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Группа микроорганизмов	Характеристика
Дрожжи	Одноклеточные микроорганизмы, клетки круглой, овальной или продолговатой формы, длиной от 2,5 до 30 мкм и шириной от 2,5 до 10 мкм, часто почкующиеся
Плесневые гриб	Состоят из нитей - гифов, без перегородок или сентированных на клетки. Гифы образуют боковые выросты и разветвления, от вегетативных гифов поднимающиеся гифы, несущие плодовые тела

7.8.3.3. Обработка результатов

Если при испытании продукта на питательных средах обнаружен рост дрожжей и плесневых грибов и их присутствие подтверждено микроскопированием, то дают заключение о присутствии этих микроорганизмов в продукте.

Результаты обрабатывают и пересчитывают отдельно для дрожжей и плесневых грибов.

Количество дрожжей и плесневых грибов в 1,0 куб. см или в 1 г продукта - (x) в КОЕ вычисляют но формуле:

$x = n \times 10^m$, где

n - количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m - число десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

7.8.3.4. При обнаружении в 1 г исследуемого продукта количеств дрожжевых и плесневых грибов, превышающих установленные нормативы по этим показателям, партия готового продукта к реализации задерживается для повторного расширенного микробиологического контроля. Отбирают удвоенное количество образцов готовых детских сухих молочных смесей с проведением посева на все микробиологические показатели, указанные в табл. 1 Методических указаний. Одновременно производят внеочередной контроль (на содержание дрожжевых и плесневых грибов) по ходу технологического процесса.

7.9. Определение ацидофильных бактерий

7.9.1. Сущность метода

Определение содержания ацидофильных бактерий в продукте проводят методом предельных разведений.

Метод основан на способности молочно - кислых палочек расти в молоке при температуре 37 - 38° С и образовывать сгусток.

7.9.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - согласно п. 4.

7.9.3. Подготовка к анализу

7.9.3.1. Подготовку проб и приготовление разведений проводят как указано в п. п. 5.1 и 5.2.

Подготовку посуды и материалов производят как указано в п. 5.3.

7.9.4. Проведение исследований

7.9.4.1. Из первого разведения исследуемого продукта, приготовленного по п. 4.2, готовят последующие - 1:100, 1:1000 и т.д., примерно до 10 разведения с таким расчетом, чтобы последние из них не содержали ацидофильных палочек.

Из приготовленных разведений исследуемого продукта делают посевы по 1 куб. см в стерильное обезжиренное молоко, приготовленное по п. 6.2.8.1 (по две пробирки для каждого разведения).

7.9.5. Инкубация

Посевы выдерживают в термостате при температуре (38 +/- 1)° С 3 - 5 дней. В течение этого времени во всех пробирках, в которых содержатся ацидофильные бактерии, молоко должно свернуться. Из трех последних разведений со свернувшимся обезжиренным молоком готовят микроскопические препараты.

Если при микроскопировании видны палочки, то делается вывод, что образование сгустка произошло за счет ацидофильных палочек, после чего учитывается результат.

7.9.6. Обработка результатов

Для подсчета количества ацидофильных бактерий пользуются табл. 13.

Таблица 13

Числовая характеристика	Наиболее вероятное число микробов при заражении 2 параллельных пробирок	Числовая характеристика	Наиболее вероятное число микробов при заражении 2 параллельных пробирок
1	2	3	4
001	0,5	120	2,0
002	-	121	3,0
010	0,5	122	-
О11	0,9	200	2,5
012	-	201	5,0
020	0,9	202	-
021	-	210	6,0
022	-	211	13,0
101	1,2	212	20,0
102	-	220	25,0
110	1,3	221	70,0
111	2,0	222	110,0
112	-		

Составляют числовую характеристику, состоящую из трех цифр, указывающих число пробирок со свернувшимся молоком в трех последних разведениях. Первая цифра числовой характеристики соответствует тому разведению, при котором во всех пробирках молоко свернулось. Следующие две цифры обозначают число пробирок со свернувшимся молоком из двух последующих разведений.

По числовой характеристике находят в таблице наиболее вероятное число микробов, которое умножают на то разведение, с которого начиналась первая цифра числовой характеристики.

За окончательный результат анализа принимают число, которое соответствует количеству клеток ацидофильных бактерий в 1 куб. см или 1 г продукта.

Пример. При свертывании молока в двух параллельных пробирках разведения 1:10000, в одной пробирке разведения 1:100000 и отсутствии свертывания в пробирках с последующими разведениями, числовая характеристика будет 210. Она соответствует числу 6 по таблице. Это число необходимо умножить на то разведение, с которого начиналась первая цифра числовой характеристики, т.е. 1×10^4 .

Таким образом, количество ацидофильных палочек в 1 куб. см или 1 г исследуемого продукта составит 6×10^4 .

7.9.7. Определение количества ацидофильных палочек на твердой питательной среде

7.9.7.1. Из 6, 7 и 8 разведений препарата по 1 куб. см вносят в 3 стерильные чашки Петри и заливают предварительно расплавленным и охлажденным до температуры (45 +/- 2)° С агаром с гидролизованным молоком, глюкозой и дрожжевым автолизатом (п. 6.2.8.3). Смесь хорошо перемешивают легким вращательным движением чашки. После застывания агара чашки Петри перевертывают, помещают в термостат с температурой (37,0 +/- 1,0)° С и выдерживают в течение 2 - 3 суток.

7.9.7.2. На питательной среде колонии молочно - кислых палочек могут быть поверхностные и глубинные. При поверхностном росте колонии более крупные, локонообразные, светлые или зернистые с темным центром. Глубинные колонии - более темные, желтовато - бурые, в виде кусочков ваты ("паучки").

Из изолированных колоний, выросших в последнем разведении и характерных для молочно - кислых бактерий, делают препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют.

Приготовление, окрашивание и микроскопирование препарата проводят по п. 7.11.

Клетки молочно - кислых бактерий имеют палочковидную форму, одиночные, часто с выраженными зернами внутри; молодые клетки могут быть темноокрашенные, одиночные или иметь вид цепочек.

7.9.7.3. Подсчет количества клеток ацидофильных палочек в 1,0 куб. см или 1 г продукта производят путем умножения числа выросших колоний на соответствующее разведение, а за окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое результатов, полученных в 2 параллельных посевах.

7.10. Определение количества бифидобактерий

7.10.1. Сущность метода

Метод основан на способности бифидобактерий расти в питательных средах, разлитых высоким столбиком в пробирках, при температуре (37 +/- 1)° С и образовывать в них через 24 - 72 часа гвоздикообразные характерные колонии.

7.10.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы - согласно п. 4.

7.10.3. Подготовка к анализу

7.10.3.1. Подготовку проб и приготовление разведений проводят как указано в п. п. 5.1 и 5.2 с условием обязательной предварительной регенирации (прогревание) буферного раствора, применяемого для разведения продукта, в кипящей водяной бане при 100° С в течение 20 минут с последующим охлаждением до температуры (45 +/- 2)° С.

Подготовку посуды и материалов производят как указано в п. 5.3.

7.10.4. Проведение исследований

7.10.4.1. Из первого разведения исследуемого продукта, приготовленного по п. 5.2. готовят последующие - 1:100, 1:1000 и т.д., примерно до 10 разведения с таким расчетом, чтобы последние из них не содержали бифидобактерий.

Перемешивание продукта производят способом, исключающим попадание пузырьков воздуха. Перемешивание пипеткой путем вдувания и выдувания воздуха не допускается.

7.10.4.2. Перед употреблением кукурузно - лактозную или гидролизатно - молочную среды (пп. 6.2.7.3, 6.2.7.2) следует разогреть в кипящей водяной бане до полного расплавления агара и выдержать при этой температуре не менее 20 минут. Перед посевом среды тотчас следует остудить до температуры (45 +/- 2)° С погружением в холодную воду.

При определении бифидобактерий в смешанных с молочно - кислыми бактериями культурах перед расплавлением в среду вносят стерильный раствор неомицина (п. 6.2.7.5).

7.10.4.3. Из приготовленных разведений исследуемого продукта делают посевы по 1,0 куб. см в два параллельных ряда пробирок с питательной средой (приготовленной по пп. 6.2.7.2, 6.2.7.3 или 6.2.7.4 соответственно) и тщательно перемешивают способом, исключающим попадание

пузырьков воздуха в питательную среду (например, круговыми движениями руки, имитирующими центрифугирование). Перемешивание пипеткой путем вдувания и выдувания воздуха не допускается. Для каждого посева берут новую пипетку.

7.10.5. Инкубация

Посевы выдерживают в термостате с температурой (38 +/- 1)° С в течение (72 +/- 1) ч. В случае определения бифидобактерий в смешанных с молочно - кислыми бактериями культурах - от 3 до 5 суток. Допускается предварительный учет через (48 +/- 1) ч с последующим окончательным учетом через (72 +/- 1) ч.

7.10.6. Обработка результатов

7.10.6.1. На питательных средах бифидобактерии и последних разведениях образуют изолированные светло - коричневые колонии в виде крупинок, гречишного зерна или дисков, иногда кометообразные, гвоздикообразные.

7.10.6.2. Из изолированных колоний, выросших в последнем разведении и характерных для бифидобактерий, делают препараты, окрашивают по Граму и микроскопируют.

Приготовление, окрашивание и микроскопирование препарата проводят по п. 7.11.

Клетки бифидобактерий представляют собой грамположительные, слегка изогнутые палочки с раздвоением или утолщением на одном - двух концах, располагаются в мазке группами или поодиночке, в виде китайских иероглифов, могут образовывать короткие цепочки.

7.10.6.3. Подсчет количества клеток бифидобактерий в 1,0 куб. см (1 г) продукта производят путем умножения числа выросших колоний на соответствующее разведение. За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое результатов, полученных в 2 параллельных посевах.

Для определения истинного количества бифидобактерий в среде с неомицином результат следует удвоить.

7.11. Метод микроскопирования

7.11.1. Сущность метода

Метод основан на просмотре окрашенных препаратов под микроскопом для ориентировочной характеристики микрофлоры молочных продуктов.

7.11.2. Проведение анализа

Для приготовления препарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю исследуемого материала и распределяют на площади около 1 куб. см. При исследовании творога детского и пастообразных продуктов, а также агаровой культуры на стекло наносят каплю стерильной воды, вносят в нее петлей продукт, тщательно перемешивают и растирают на площади 1 кв. см. Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют на пламени горелки и красят метиленовым голубым (п. 6.1.9) или раствором карболового кристаллического фиолетового (п. 6.1.10).

7.11.3. Ориентировочный состав микрофлоры

Ориентировочный состав микрофлоры исследуемых продуктов представлен в табл. 14.

Таблица 14

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры
Смесь ацедофильная "Малютка"	Молочно - кислые палочки
"Бифидомикс"	Бифидобактерии, молочно - кислые палочки и стрептококки
"Биолакт" адаптированный	Молочно - кислые палочки
"Биолакт" адаптированный с лизоцимом	Молочно - кислые палочки
Смесь молочная "Крошечка"	Молочно - кислые палочки
Продукт жидкий "Кисло - молочный"	Молочно - кислые палочки, бифидобактерии
Продукт жидкий кисло - молочный	Молочно - кислые палочки и стрептококки

"Ацидомил"	
Продукт жидкий кисло - молочный "Бифимил"	Бифидобактерии, молочно - кислые стрептококки
Кефир детский	Молочно - кислые стрептококки и палочки, единичные дрожжи
"Дюймовочка-1"	Молочно - кислые стрептококки
"Дюймовочка-2"	Молочно - кислые палочки, бифидобактерии
"Дюймовочка-3"	Молочно - кислые стрептококки, бифидобактерии
Напиток "Детский"	Молочно - кислые стрептококки и палочки
Пастолакт	Молочно - кислые палочки
Творог "Детский"	Молочно - кислые стрептококки
Творог ДМ	Молочно - кислые стрептококки

7.12. Метод определения промышленной стерильности питьевых молока и сливок

7.12.1. Сущность метода

Метод основан на способности микроорганизмов, выдержавших стерилизацию, размножаться в стерилизованном молоке при оптимальных режимах термостатирования и вызывать в нем органолептические и физико - химические изменения.

7.12.2. Проведение анализа для питьевых стерилизованных молока и сливок

Отобранные упаковки со стерилизованным молоком выдерживают при температуре (37 +/- 1)° С в течение 3 суток, а сливками - в течение 5 суток.

Образцы молока, выработанного двухступенчатым способом, кроме того выдерживают при температуре (55 +/- 1)° С в течение 5 суток.

По истечении срока термостатной выдержки образцы с продуктом подвергают внешнему осмотру. При наличии вздутия упаковки или изменении внешнего вида молока в бутылках (наличия сгустка, отстоя сыворотки, наличия хлопьев молока и др.) упаковки считают не отвечающими требованиям промышленной стерильности и отмечают в книге анализов.

Упаковки без внешних дефектов вскрывают, стерилизованное молоко или сливки анализируют органолептически. Продукт отвечает требованиям промышленной стерильности, если не установлено изменений консистенции и вкуса продукта.

Кроме того, определяют кислотность в термостатированных и нетермостатированных образцах, проводят микробиологические исследования путем микроскопирования и посева 1 куб. см термостатированного образца для определения общего количества бактерий.

7.12.3. Обработка результатов

Продукт отвечает требованиям промышленной стерильности, если кислотность молока увеличилась не более чем на 2° Т, в микроскопическом препарате отсутствуют клетки бактерий, а общее количество бактерий в 1 куб. см не превышает 10.

7.13. Определение сульфитредуцирующих клостридий

Определение сульфитредуцирующих клостридий проводят по ГОСТу 29185-91 "Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий".

8. Общие требования к проведению микробиологического контроля

8.1. В продуктах детского питания и компонентах нормируются общее количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, плесневые грибы, дрожжи и B.cereus в 1 г продукта и их содержание выражается количеством колониеобразующих единиц - КОЕ/г. Другие группы микроорганизмов - бактерии группы кишечных палочек (колиформы), E.coli, коагулазоположительные стафилококки (S.aureus), патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, не допускаются в определенной массе продукта (Приложение).

Методы анализа для выявления всех описываемых групп микроорганизмов усовершенствованы и приведены в соответствие с рекомендациями ФАО/ВОЗ, а также модифицированы с учетом возможностей их выполнения в бактериологических лабораториях Центров госсанэпиднадзора и производственных лабораториях.

Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) не определяют в продуктах, содержащих специфическую микрофлору, поскольку подсчет бактерий в таких случаях не может быть показательным. Контроль специфической микрофлоры кисло - молочных продуктов осуществляется в соответствии с методами, изложенными в п. п. 7.9, 7.10, 7.11.

Закваски контролируют в соответствии с действующими нормативными документами. S.aureus должны отсутствовать в 10 куб. см заквасок, патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, - в 100 куб. см.

Анализ продуктов детского питания на промышленную стерильность проводят в соответствии с методом, изложенным в п. 7.12. При анализе стерилизованных продуктов посев производят без разведений и учитывают все выросшие на чашке колонии.

При исследовании продуктов на зерновой основе на результатах анализов по выявлению бактерий группы кишечных палочек может отразиться присутствие в зерновых сапрофитных микроорганизмов, относящихся к роду Erwinia; поэтому в разделе 7.2 приведено описание способов их дифференциации от бактерий группы кишечных палочек.

8.2. В последние годы во всех развитых странах мира и в нашей стране созданы предприятия и цехи многопрофильного плана (типа АООТ "Лианозовский молочный комбинат"). На этих предприятиях молочной промышленности (цехах), оснащенных современным высокопроизводительным оборудованием и автоматизированными линиями допускается изготовление продуктов питания для детей различных возрастных групп и взрослых: адаптированные смеси, продукты прикорма на молочной и безмолочной основах со злаковыми, овощными и фруктовыми наполнителями, различные виды каш, пудингов, десертов, соков, кисло - молочных и пастообразных продуктов и др.

Стерилизованные продукты, вырабатываемые многопрофильными комбинатами и цехами ("Бэби - Милк", "Молочко" и др.), должны соответствовать требованиям промышленной стерильности, а кисло - молочные продукты ("Бифидомикс", "Кисло - молочный" и др.) - иметь более длительные сроки хранения.

8.3. При инспекционном контроле готовых детских молочных продуктов лаборатории Центров санитарно - эпидемиологического надзора осуществляют исследования на все виды микроорганизмов в соответствии с табл. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 (см. Приложение). В том случае, если один или несколько показателей превышают нормы, приведенные в указанных таблицах, производится микробиологический контроль ингредиентов в соответствии с табл. 9.

В производственных лабораториях комбинатов, производящих продукты, употребляемые без термической обработки ("Детолакт", "Новолакт-1", "Алеся"), а также комбинатов и цехов многопрофильного плана, выпускающих стерилизованные продукты ("Бэби - Милк", "Молочко", "Стерилизованное витаминизированное молоко", сливки и др.), контролируют каждую партию продукта по всем показателям, предусмотренным настоящими Методическими указаниями.

В производственных лабораториях комбинатов, изготавливающих продукты типа "Малютка", "Малыш", молочные каши, употребляемых после термической обработки, контролируют каждую партию готового продукта и компонентов на содержание мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, бактерий группы кишечных палочек, плесневых грибов и дрожжей. Контроль на содержание коагулазоположительных стафилококков и B.cereus в сухих готовых продуктах, их компонентах, жидких и пастообразных продуктах проводят периодически, не реже одного раза в месяц.

Контроль сырья, компонентов и готовой продукции на отсутствие патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл, проводят в производственных или других, аккредитованных для проведения этих анализов лабораториях, а также в лабораториях Центров государственного санитарно - эпидемиологического надзора.

При обнаружении повышенного содержания мезофильных аэробных и факультативио - анаэробных микроорганизмов в детских молочных продуктах, следует также определять количественное содержание энтерококков в данных продуктах.

Повышенное содержание мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, бактерии группы кишечных палочек (колиформных бактерий), эшерихий коли, коагулазоположительных стафилококков свидетельствует либо о несоблюдении

температурного режима на производстве, либо о повышенной бактериальной обсемененности исходных компонентов, либо о неудовлетворительном санитарном состоянии оборудования.

Запрещается выпуск в реализацию готовой продукции, в которой обнаружены патогенные микроорганизмы в массе продукта, указанной в соответствующих таблицах Приложения.

При наличии отклонений готовой продукции от установленных нормативов в сторону ухудшения, осуществляют контроль компонентов на все виды микроорганизмов, указанных в таблице 9, а также отбирают удвоенное количество упаковок от каждой исследуемой партии, производят анализ продуктов из каждой упаковки отдельно и полученные результаты распространяют на всю партию. Кроме того, в этом случае проводится контроль санитарно - гигиенического состояния производства по ходу технологического процесса с последующим назначением санитарных дней и др. санитарно - гигиенических мероприятий.

При несоответствии качества компонентов требованиям микробиологических нормативов (таблица 9) использование их в производстве запрещается.

8.4. Контроль поступающего сырья, компонентов, продуктов детского питания, а также контроль технологических процессов и санитарно - гигиенических условий производства должен осуществляться лабораториями предприятий в соответствии с настоящими Методическими указаниями и с действующими Инструкцией по микробиологическому контролю на молочноконсервных комбинатах детских продуктов, утвержденной Госагропромом СССР 21.12.89 и Инструкцией по микробиологическому контролю производства жидких и пастообразных продуктов детского питания, утвержденной Госагропромом СССР 26.12.92.

Анализ продуктов детского питания на промышленную стерильность проводят в соответствии с методом, изложенным в п. 7.12, а также по Инструкции о порядке санитарно - технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле, и на предприятиях общественного питания, утвержденной Госкомсанэпиднадзором России 21.07.92 N 01-19/9-11.

Инспекционный контроль за микробиологическим качеством продуктов детского и лечебного питания Центры госсанэпиднадзора осуществляют не реже одного раза в месяц по методам, изложенным в настоящих Методических указаниях. Контроль за санитарно - гигиеническим состоянием предприятий и цехов, вырабатывающих продукты детского и лечебного питания на соответствие требованиям действующих санитарных правил и норм должен проводиться Центрами госсанэпиднадзора также не реже одного раза в месяц. Взятие смывов и определение отсутствия в них БГКП (колиформных бактерий), S.aureus и бактерий рода Salmonella (особенно в цехах, производящих жидкие и пастообразные продукты) следует проводить по Инструкции по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности, утвержденной Минсельхозпродом России 29.12.95.

Приложение

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ НА СУХИЕ, ЖИДКИЕ И ПАСТООБРАЗНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ НА МОЛОЧНОЙ, МОЛОЧНО - ЗЕРНОВОЙ И БЕЗМОЛОЧНОЙ ОСНОВАХ И КОМПОНЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В ИХ СОСТАВ

Микробиологические нормативы на продукты детского питания, приведенные в таблицах 1 - 9, соответствуют Гигиеническим требованиям к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, утвержденным Госкомсанэниднадзором России 24 октября 1996 года.

Настоящими Микробиологическими нормативами предусмотрен широкий спектр контролируемых микроорганизмов как в готовых детских молочных продуктах на молочной, молочно - зерновой и безмолочной основах, так и в исходных компонентах этих продуктов.

Следует отметить, что к продуктам детского и лечебного питания предъявляются более высокие микробиологические требования, чем к продуктам массового потребления, соответственно, и к пищевому сырью и компонентам, используемым для изготовления продуктов детского питания, установлены повышенные микробиологические требования.

При этом учитываются, в первую очередь, 3 фактора:

1) состояние здоровья ребенка (рожденные преждевременно или в срок, больные или здоровые и т.п.);

2) возраст ребенка, с которого он получает тот или иной продукт (с первых дней жизни, с 2 - 3 месяцев, после 5 - 6 месяцев и т.д.);

3) способ термической обработки, применяемой при приготовлении смесей для кормления ребенка (растворение в воде при температуре 37 - 40° С или при 70 - 80° С, подогревание растворенной смеси до кипения, или кипячение в течение 5 мин.).

Таблица 1

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ СУХИХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Наименование продукта	Возраст детей	Обработка перед употреблением	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта (г), в которой не допускается				B. cereus, КОЕ / г, не более	Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более
				ВГПК (колиформные бактерии)	E.coli	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.1 Продукты сухие молочные										
1.1.1 "Детолакт"	С первых дней жизни до 1 года	Восстановление при 37° С	2000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.2 "Детолакт, обогащенный препаратом железа"	- " -	- " -	2000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.3 "Аистенок"	С первых дней жизни до 1 мес.	- " -	3000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.4 "Алеся"	- " -	- " -	3000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.5 "Солнышко"	с 2 мес.	- " -	2000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.6 "Новолакт-1"	С первых дней жизни до3 мес.	- " -	3000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.7 "Новолакт-ММ"	Для недоношенных детей с первых дней жизни	Восстановление при70° С	3000	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10
1.1.8 "Малютка"	С первых дней жизни до2 мес.	Доводят до кипения	25000	1,0	-	50,0	1,0	200	50	10
1.1.9 "Новолакт-2"	С 3 мес. До 1 года	Восстановление при 80 - 90° С	15000	1,0	-	50,0	1,0	200	100	50
1.1.10 "Малыш" с рисовой мукой	С 2 мес. и старше	Доводят до кипения	25000	1,0	-	50,0	1,0	200	100	50
1.1.11 "Малыш" с гречневой мукой	- " -	- " -	25000	1,0	-	50,0	1,0	200	100	50

1.1.12 "Малыш" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	25000	1,0	-	50,0	1,0	200	100	50
1.1.13 Молоко сухое витаминизированное детское	С 4 мес.	- " -	25000	1,0	-	50,0	1,0	200	100	50

Таблица 2

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ СУХИХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Наименование продукта	Возраст детей	Обработка перед употреблением	Масса продукта (г), в которой не допускается				B. cereus, КОЕ / г, не более	Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более	Ацидофильные бактерии, КОЕ/г, не менее	Бифидобактерии, КОЕ/г, не менее
			ВГПК (колиформные бактерии)	E.coli	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus					
2. Продукты сухие кисломолочные											
2.1 "Росток"	С первых дней жизни до 1 года	Восстановление при 45 - 50° С	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	1×10^6	-
2.2 "Росток-1"	- " -	- " -	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	1×10^6	-
2.3 "Бифидолакт"	- " -	- " -	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	-	1×10^6
2.4 "Тонус"	- " -	- " -	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	1×10^7	-
2.5 "Тонус-1"	- " -	- " -	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	1×10^6	1×10^7
2.6 "Бифилак"<*>	- " -	- " -	1,0	10,0	100,0	10,0	100	50	10	-	-

<*> Продукт не содержит молочнокислых бактерий, но обладает бифидогенным действием; общее количество мезифильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/г - 3000.

Таблица 3

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ ЖИДКИХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ И ПАСТООБРАЗНЫХ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Наименование продукта	Возраст детей	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, куб. см (г), в которой не допускается			Ацидофильные бактерии, КОЕ / куб. см (г), не менее	Бифидобактерии, КОЕ / куб. см (г) не менее	Молочнокислые бактерии, КОЕ / куб. см (г), не менее
			ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.1. Продукты стерилизованные в стеклянных бутылках и пакетах								
3.1.1. Продукт жидкий стерилизованный "Молочко"	С первых дней жизни до 1 года	100	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.1.2. Смесь стерилизованная "Малютка"	- " -	100	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.1.3. Продукт стерилизованный "Алеся"	- " -	100	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.1.4. Смесь адаптированная "Новолакт-3"	С 1 месяца	100	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.1.5. Молоко детское стерилизованное витаминизированное	С 8 месяцев	100	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.1.6. Сливки стерилизованные "Детские"	С 2 лет	500	10,0	100,0	10,0	-	-	-
3.2. Продукты пастеризованные								
3.2.1. Напиток "Истринский-2"	С 6 месяцев	3000	1,0	50,0	10,0	-	-	-
3.2.2. Напиток "Яблонька"	- " -	3000	1,0	50,0	10,0	-	-	-
3.2.3. Напиток "Тотошка"	С 1 года	10000	1,0	50,0	10,0	-	-	-
3.2.4. Молоко пастеризованное "Детское" <*>	С 6 месяцев	50000	1,0	50,0	-	-	-	-
3.3. Продукты кисломолочные								
3.3.1. Смесь ацидофильная "Малютка"	С первых дней жизни до 6 месяцев	-	3,0	50,0	10,0	1×10^7	-	-
3.3.2. "Бифилин"	С первых дней жизни	-	3,0	50,0	10,0	-	1×10^8	-

3.3.3. "Биолакт" адаптированный	- " -	-	3,0	50,0	10,0	-	-	1×10^9
3.3.4. "Биолакт" адаптированный с лизоцимом	- " -	-	3,0	50,0	10,0	-	-	1×10^8
3.3.5. Смесь молочная "Крошечка"	- " -	-	3,0	50,0	10,0	1×10^7	-	-
3.3.6. Продукт жидкий "Кисломолочный"	С 3 месяцев	-	3,0	50,0	10,0	1×10^7	1×10^7	-
3.3.7. Продукт жидкий кисломолочный "Ацидомил"	- " -	-	3,0	50,0	10,0	1×10^7	-	-
3.3.8. Продукт жидкий кисломолочный "Бифимил"	- " -	-	3,0	50,0	10,0	-	1×10^7	-
3.3.9. Кефир детский	С 6 месяцев	-	3,0	50,0	10,0	Микроскопический препарат		
3.3.10. "Биолакт"	С 1 года	-	3,0	50,0	1,0	-	-	1×10^8
3.3.11. "Биолакт" обогащенный	- " -	-	3,0	50,0	1,0	-	-	1×10^8
3.3.12. "Дюймовочка-1"	Для детей дошкольного возраста	-	1,0	50,0	1,0	-	-	1×10^7
3.3.13. "Дюймовочка-2"	- " -	-	1,0	50,0	1,0	1×10^7	1×10^7	-
3.3.14. "Дюймовочка-3"	- " -	-	1,0	50,0	1,0	-	1×10^7	1×10^7
3.3.15. Напиток "Детский"	- " -	-	0,3	50,0	1,0	Микроскопический препарат		
3.3.16. Продукт низкоэнергетический кисломолочный с ароматизаторами или без них)	С 2 лет	-	0,3	50,0	1,0	Микроскопический препарат		
3.4. Продукты пастообразные <**>								
3.4.1. "Пастолакт"	С первых дней жизни до 1 года	-	0,3	50,0	10,0	1×10^7	-	-
3.4.2. Творог "Детский"	С 6 месяцев	-	0,3	50,0	1,0	Микроскопический препарат		
3.4.3. Творог ДМ	- " -	-	0,3	50,0	1,0	Микроскопический препарат		
3.5. Закваски <***>		-	10,0	100,0	1,0	Микроскопический препарат		

<*> При использовании в питании детей с 6 месяцев до 3 лет предварительно довести до кипения.

<**> В данных продуктах дополнительно нормируется количество плесневых грибов, КОЕ/куб. см, (г), не более 100.

<***> В кефирной грибковой и производственной закваске БГКП (колиформные бактерии) должны отсутствовать в 3 куб. см.

Таблица 4

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ ЖИДКИХ СТЕРИЛИЗОВАННЫХ И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ, ВЫРАБАТЫВАЕМЫХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ И ЦЕХАХ МНОГОПРОФИЛЬНОГО ПЛАНА - (ТИПА АООТ "ЛИАНОЗОВСКИЙ МОЛОЧНЫЙ КОМБИНАТ")

Наименование продукта	Возраст детей	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, куб. см (г), в которой не допускается			Ацидофильные бактерии, КОЕ / куб. см (г), не менее	Бифидобактерии, КОЕ / куб. см (г) не менее	Молочнокислые бактерии, КОЕ / куб. см (г), не менее
			ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
4.1 Продукты стерилизованные (УВТ-обработка) <*>								
4.1.1. "Бэби - Милк"	С первых дней жизни до 1 года	Продукт должен соответствовать требованиям промышленной стерильности						
4.1.2. Продукт жидкий стерилизованный "Молочко"	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-
4.1.3. Молоко стерилизованное витаминизированное	С 8 месяцев до 1 года	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-
4.1.4. Сливки стерилизованные "Детские"	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-
4.2 Кисломолочные продукты <**>								
4.2.1. Продукт адаптированный "Бифидомикс"	С первых дней жизни до 1 года	-	3,0	50,0	10,0	1×10^6 - 1×10^7 1×10^7 - 1×10^8		
4.2.2. "Бифилин"		-	3,0	50,0	10,0	1×10^8		
4.2.3. Кефир детский	С 6 месяцев	-	3,0	50,0	10,0	Микроскопический препарат		

<*> Продукты, вырабатываемые с применением термизации сырья, ультравысокотемпературной обработки нормализованной смеси, асептического розлива и с длительными сроками хранения.

<**> Продукты, вырабатываемые с применением термизации сырья, сквашивания стерилизованной смеси и с удлиненными сроками хранения.

Таблица 5

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ СУХИХ МОЛОЧНЫХ ДИЕТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ

Наименование продукта	Назначение продукта	Возраст детей	Обработка перед употреблением	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, (г), в которой не допускается			Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более
					ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5.1 Продукты диетические									
5.1. Диетический калорийный (энпит)	Ожоговые болезни, хирургические заболевания	Для детей раннего и старшего возраста	Доводят до кипения	25000	0,3	50,0	1,0	100	50
5.1.2. Диетический белковый (энпит)	-"-	-"-	-"-	25000	0,3	50,0	1,0	100	50
5.1.3. Диетический низкокалорийный (энпит)	Для детей с избыточным весом	-"-	-"-	25000	0,3	50,0	1,0	100	50
5.1.4. Противоанемический (энпит)	Анемия	-"-	-"-	25000	0,3	50,0	1,0	100	50
5.1.5. Энпит ацидофильный <*>	Заболевания желудочно - кишечного тракта	С одного года и старше	Восстановление при 40 - 45° С	-	0,3	50,0	1,0	100	50
5.1.6. Диамол	Диабет	Для детей и взрослых	Доводят до кипения	25000	1,0	50,0	1,0	50	10
5.1.7. Белковит	Для детей, пострадавших от радиационного воздействия	С 1 мес.	-"-	25000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.1.8. Продукт	Для детей с	С одного	Доводят до	2000	1,0	50,0	1,0	50	10

сухой молочный низкожировой	избыточным весом	года и старше	кипения						
5.1.9. Лактанал <**>	Пищевая аллергия	С 1 мес. до года	Восстановление при 37° С	2000	1,0	100,0	1,0	50	10
5.1.10. Фиталакт <**>	-"-	-"-	-"-	25000	1,0	100,0	1,0	50	10
5.1.11. Низколактозная "Малютка"	Непереносимость лактозы	С первых дней жизни до 2 мес.	Доводят до кипения	25000	1,0	100,0	1,0	100	10
5.1.12. Низколактозное молоко	-"-	С одного года и старше	-"-	25000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.1.13. Фенилакт	Патология аминокислотного обмена, заболевания почек	С 1 мес.	-"-	25000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.1.14. Пектомил	Для пострадавших от радиационного воздействия	С 6 мес.	-"-	50000	0,1	50,0	1,0	200	100
5.1.15. Унипит ДЦ	Ожоговые болезни, хирургические заболевания, целиакия	Для детей и взрослых	-"-	15000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.1.16. Унипит-1	-"-	-"-	-"-	15000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.1.17. Унипит-2	-"-	-"-	-"-	15000	1,0	50,0	1,0	100	50
5.2. Продукты таблетированные									
5.2.1. Продукт таблетированный "Морковь" <***>	Для лечебно - профилактического питания		3 - 5 таблеток в день	5000	0,1	25,0	-	200	50
5.2.2. Продукт таблетированный "Шиповник" <***>	целью обогащения рационов	-"-	-"-	5000	0,1	25,0	-	200	50
5.2.3. Продукт таблетированный	витаминами, растительными	-"-	-"-	3000	0,1	25,0	-	100	50

"Яблоко" <***>	волокнами и минеральными солями								
5.2.4. Продукт таблетированный "Арония" <***>	-"-	-"-	-"-	3000	0,1	25,0	-	200	50
5.3. Продукт "Вита" с плодово - ягодными наполнителями <***>	-"-	Для детей с 3 лет и старше	Восстановление при 40 - 45° С	15000	1,0	50,0	1,0	100	50

<*> Продукт содержит 1 x 10^6 ацидофильных бактерий в 1 г.

<**> E.coli должны отсутствовать в 10 г продукта.

<***> В продуктах нормируется содержание B.cereus, КОЕ/г - не более 100 (для продуктов "Морковь", "Вита" - не более 200). Сульфитредуцирующие клостридии должны отсутствовать в 0,1 г продукта (кроме продукта "Вита").

Таблица 6

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ СУХИХ МОЛОЧНЫХ КАШ

Наименование продукта	Возраст детей	Обработка перед употреблением	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, (г), в которой не допускается		Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более
				ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы		
1	2	3	4	5	6	7	8
6.1 Каши молочные							
6.1.1. Каша "Малышка" с рисовой мукой	С 4 мес. до 1 года	Доводят до кипения	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.2. Каша "Малышка" с гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.3. Каша "Малышка" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.4. Каша "Зернышко" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.5. Каша "Зернышко" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.6. Каша "Зернышко", обогащенная железом, с толокном	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.7. Каша "Зернышко", обогащенная железом, с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.8. Каша "Новинка" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.9. Каша "Новинка" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.10. Каша "Новинка" с гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.11. Каша "Колобок" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.12. Каша "Колобок" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.13. Каша "Колобок" с гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.14. Каша "Колобок" с гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100

6.1.15. Каша "Колобок" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.16. Каша "Ядрышко" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.17. Каша "Ядрышко" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.1.18. Каша "Ядрышко" с толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.9.19. Каша "Крупинка" с манной крупой	С 5 мес.	Кипячение 5 мин.	50000	0,1	50,0	200	100
6.2 Каши "Детские" (с пектином)							
6.2.1. Каша "Детская" молочная с яблочным пектином и гречневой мукой	С 6 мес. до 1 года	Доводят до кипения	50000	0,1	50,0	200	100
6.2.2. Каша "Детская" молочная с яблочным пектином и рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.2.3. Каша "Детская" молочная с яблочным пектином и толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.2.4. Каша "Детская" молочная со свекловичным пектином и рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.2.5. Каша "Детская" молочная со свекловичным пектином и гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.2.6. Каша "Детская" молочная со свекловичным пектином и толокном или овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3. Каши "Белорусские"							
6.3.1. Каша "Белорусская" аппетитная	С 5 мес.	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.2. Каша "Белорусская" яблочно - молочная	С 6 мес.	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.3. Каша "Белорусская" молочно - абрикосовая	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.4. Каша "Белорусская" молочно - персиковая	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.5. Каша "Белорусская" молочно - сливовая	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.6. Каша	С 8 мес.	- " -	50000	0,1	50,0	200	100

"Белорусская" молочно - алычевая							
6.3.7. Каша "Белорусская" диетическая	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.3.8. Смесь злаковая "Особая"	- " -	- " -	50000	0,1	50,0	200	100
6.4. Каши "Крестьянские"							
6.4.1. Каша "Крестьянская"	Для дошкольного и школьного возраста	Кипячение 5 - 10 мин.	50000	0,1	25,0	200	100
6.4.2. Каша "Крестьянская" рисовая	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.4.3. Каша "Крестьянская" гречневая	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.4.3. Каша "Крестьянская" овсяная	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5. Каши сухие с использованием криопорошков из растительного сырья (свекла, морковь, черноплодная рябина)							
6.5.1. Каша "Нижегородская" с гречневой мукой	С 1 года и старше	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.2. Каша "Нижегородская" с овсяной мукой или толокном	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.3. Каша "Нижегородская" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.4. Каша молочно - овощная с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.5. Каша молочно - овощная с гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.6. Каша молочно - овощная с овсяной мукой или толокном	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.7. Каша "Рябинка" с рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.8. Каша "Рябинка" с овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.5.9. Каша "Рябинка" с толокном	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.6 Каши "Витаминизированные"							
6.6.1. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями с гречневой и пшеничной мукой	Для детей с 3 лет, проживающих на территории,	- " -	50000	0,1	25,0	200	100

	пострадавшей от радиационного воздействия						
6.6.2. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями с гречневой и рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.6.3. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями и рисовой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.6.4. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями и гречневой мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.6.5. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями и толокном	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100
6.6.6. Каша витаминизированная с пшеничными отрубями и овсяной мукой	- " -	- " -	50000	0,1	25,0	200	100

Таблица 7

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДНЯ СУХИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК (БАД)

Наименование продукта	Возраст детей	Обработка перед употреблением	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, (г), в которой не допускается			B.cereus, КОЕ / г, не более КОЕ / г, не более	Бифидобактерии, КОЕ / куб. см (г) не менее
				ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus		
7. Добавки молочные биологически - активные, сухие								
7.1. С лизоцимом (БАД-1Л)	С первых дней жизни до 1 года и старше	Без термической обработки	500	1,0	5,0	1,0	50	-
7.2. С бифидобактериями (БАД-1Б)	- " -	- " -	-	1,0	5,0	1,0	50	1×10^7
7.3. С лизоцимом и бифидобактериями (БАД-2)	- " -	- " -	-	1,0	5,0	1,0	50	1×10^7
7.4. С иммуноглобулином (БАД-ИГЛ)	- " -	- " -	500	1,0	5,0	1,0	50	-

Таблица 8

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ СУХИХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПИТАНИЯ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Наименование продукта	Назначение продукта	Обработка перед употреблением	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, (г), в которой не допускается			B.cereus, КОЕ / г, не более КОЕ / г, не более	Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более
				ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
8. Продукты для беременных женщин и кормящих матерей									
8.1. Галактон-1	Для питания беременных женщин	Восстановление при 45 - 50° С	25000	1,0	50,0	1,0	-	100	50

8.2. Галактон-2	Для беременных женщин, нуждающихся в дополнительном поступлении белка	- " -	25000	1,0	50,0	1,0	-	100	50
8.3. Галактон-3	Для кормящих матерей	- " -	25000	1,0	50,0	1,0	-	100	50
8.4. Галактон-4 <*>	Для питания кормящих матерей, дети которых страдают пищевой аллергией	- " -	-	1,0	50,0	1,0	100	100	50

<*> Продукт содержит 1 x 10^5 ацидофильных бактерий в 1 г.

Таблица 9

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ ДЛЯ КОМПОНЕНТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Наименование продукта	Количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, КОЕ/куб. см, (г), не более	Масса продукта, (г), в которой не допускается			Плесневые грибы, КОЕ / г, не более	Дрожжи, КОЕ / г, не более
		ВГПК (колиформные бактерии)	патоген. микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	S. aureus		
1	2	3	4	5	6	7
9. Компоненты для производства продуктов детского питания						
9.1. Концентрат сывороточный белковый "Диалакт" <1>	10000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.2. Сыворотка диминерализованная, получаемая методом электродиализа (СД-ЭД) <1>	10000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.3. Концентрат сывороточный белковый, получаемый методом ультрафильтрации (КСБ-УФ) <1>	10000	1,0	50,0	1,0	50	10
9.4. Концентрат сывороточный белковый, получаемый методом ультрафильтрации и электродиализа (КСБ-УФ/ЭД) <1>	10000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.5. Углеводно - белковый концентрат УБК-1, УБК-2) <1>	10000	1,0	50,0	1,0	50	10
9.6. Молочно - белковый концентрат (МБК) <1>	10000	1,0	50,0	1,0	50	10
9.7. Сухой углеводно - белковый модуль из подсырной сыворотки	25000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.8. Сухие углеводно - белковые модули из творожной сыворотки	25000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.9. Концентрат параказеиновый жидкий <2>	-	3,0	25,0	1,0	50	50
9.10. Концентрат параказеиновый сухой <2>	-	1,0	25,0	1,0	50	50
9.11 Казецит сухой	10000	1,0	25,0	1,0	50	10
¦9.12 Изолированный соевый белок <3>	5000	0,1	25,0	0,1	-	-
9.13. Крупы: рисовая, гречневая, овсяная,	25000	1,0	25,0	-	200	100

пшеничная, ржаная необработанные						
9.14. Мука рисовая, гречневая, овсяная, пшеничная, ржаная необработанная	50000	0,1	25,0	-	100	100
9.15. Мука рисовая, гречневая, овсяная, пшеничная, ржаная необработанная	10000	1,0	25,0	1,0	10	50
9.16. Крупа манная	10000	1,0	25,0	1,0	50	50
9.17. Толокно овсяное	10000	1,0	25,0	1,0	10	50
9.18. Патока кукурузная сухая, получаемая по импорту	5000	1,0	100,0	1,0	50	10
9.19. Патока низкоосахаренная, порошкообразная	10000	1,0	25,0	1,0	100	50
9.20. Углеводный компонент, полученный путем ферментативного гидролиза крахмала	10000	1,0	25,0	-	100	50
9.21. Экстракт солодовый для детского питания	10000	1,0	25,0	-	50	50
9.22. Крахмал кукурузный или картофельный высшего сорта	10000	1,0	25,0	-	50	10
9.23. Сахар - песок рафинированный	10000	1,0	25,0	-	10	10
9.24. Сахар молочный рафинированный	10000	1,0	25,0	-	10	10
9.25. Лактоза пищевая распылительной сушки	10000	1,0	25,0	1,0	100	50
9.26. Концентрат лактулозы	5000	1,0	50,0	-	100	50
9.27. Масло кукурузное рафинированное дезодорированное	100	1,0	25,0	-	20	Не допускаются
9.28. Масло подсолнечное рафинированное дезодорированное	500	1,0	25,0	-	100	Не допускаются
9.29. Масло соевое	100	1,0	25,0	-	20	Не допускаются
9.30. Жир молочный (топленый)	100	1,0	25,0	1,0	100	Не допускаются
9.31. Витаминный премикс	100	1,0	25,0	1,0	20	Не допускаются
9.32. Минеральный премикс	10000	1,0	25,0	1,0	50	50
9.33. Пектин	10000	0,1	15,0	-	100	100

9.34. Кровь сухая	25000	1,0	25,0	1,0	-	-
9.35. Сухая молочная основа для смеси "Малютка" и "Малыш"	15000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.36. Компоненты сухие молочные для детских продуктов						
9.36.1. Компонент сухой молочный нежирный для сухих детских продуктов	15000	0,3	25,0	1,0	50	10
9.36.2. Компонент сухой молочный с солодовым экстрактом для жидких детских продуктов	15000	0,3	25,0	1,0	50	10
9.36.3. Компонент сухой молочный с углеводно - белковым концентратом для жидких детских продуктов	25000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.36.4. Компонент сухой молочный нежирный без химической обработки для сухих детских продуктов	25000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.37. Молоко цельное сухое для детского питания <4>	25000	1,0	25,0	1,0	50	10
9.38. Молоко сухое обезжиренное <4>	25000	1,0	25,0	1,0	50	10

_____

<1> При изготовлении продукта с внесением сывороточных белковых концентратов в сырье с последующей термической обработкой допускается 25000 КОЕ/г.

<2> В концентратах параказеиновых микроскопический препарат содержит молочно - кислые стрептококки или палочки.

<3> Сульфитредуцирующих клостридий должно быть не более 10 КОЕ/г.

<4> При изготовлении продукта путем сухого смешивания в смесителях молоко сухое цельное или обезжиренное должно содержать количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов не более 3000 КОЕ/г.