

**НАУКОВО-
МЕТОДИЧНІ
РЕКОМЕНДАЦІЇ**

**ПОРЯДОК ВІДБОРУ ЗРАЗКІВ
З ПОВЕРХОНЬ ДОВКІЛЛЯ ПРИ ПЕРВИННОМУ
ВИРОБНИЦТВІ ТА НА ПОТУЖНОСТЯХ
З ОБІГУ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА У СФЕРІ
ГОСПОДАРСЬКОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ДЛЯ
МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ВИПРОБУВАНЬ**

2024

УДК 614.3:579.63 (083.13)

Науково-методичні рекомендації затверджено і прийнято до друку на Вченій раді Білоцерківського НАУ (протокол № 5 від 15.02. 2024 р.)

Науково-методичні рекомендації затверджено і прийнято до впровадження в практику Науково-методичною комісією НМЦ вищої та фахової передвищої освіти Міністерства освіти і науки України (протокол № 3 від 19.04. 2024 р.).

Розробники:

Тімченко О.В., Кіт А.А., Богатко Н.М., Скрипка Г.А. Гурський Р.Й., Раховський І.Д., Богатко А.Ф.

Порядок відбору зразків з поверхонь доквілля первинного виробництва, потужностей, об'єктів санітарних заходів та у сфері господарської діяльності для мікробіологічних випробувань: науково-методичні рекомендації / О.В. Тімченко, А.А. Кіт, Н.М. Богатко, Г.А. Скрипка, Р.Й. Гурський, І.Д. Раховський, А.Ф. Богатко]. Івано-Франківськ, 2024. 35 с.

Науково-методичні рекомендації призначені для спеціалістів вимірювальних лабораторій, регіональних, міських, районних та міжрайонних, спеціалізованих, уповноважених лабораторій та фахівців, що здійснюють контроль (нагляд) за об'єктами, які пов'язані з виробництвом, обігом харчових продуктів і кормів, здоров'ям та благополуччям тварин, а також контроль у сфері санітарного законодавства, для науково-дослідних установ, слухачів факультетів післядипломного навчання, науковців, викладачів та студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» у галузці знань 21 – «Ветеринарія», дисципліни «Санітарна мікробіологія».

Рецензенти: Лясота В.П., доктор вет. наук., професор; Козій В.І., доктор вет. наук., професор (Білоцерківський НАУ).

З М І С Т

Сфера застосування	3
РОЗДІЛ I. ЗАГАЛЬНЕ ПОЛОЖЕННЯ	
1. Контроль харчового ланцюга	5
2. Санітарно-мікробіологічний контроль побуту	9
РОЗДІЛ II. ПІДГОТОВКА ВИТРАТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДО ВІДБОРУ ЗРАЗКІВ З ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ	
1. Вимоги до витратних матеріалів	10
2. Підготовка витратних матеріалів для відбору змивів	10
3. Підготовка витратних матеріалів для відбору відбитків	13
4. Матеріали для відбору зразків з підлоги на фермах	15
5. Підготовка нейтралізуючих рідин	15
РОЗДІЛ III. ВІДБІР ЗРАЗКІВ З ДОВКІЛЛЯ ДЛЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
1. Основні умови при відборі зразків з поверхонь доквілля	16
2. Об'єкти відбору зразків	18
3. Методи відбору зразків з поверхонь доквілля	19
4. Відбір зразків змивів методом тампону	20
5. Відбір зразків методом занурення та методом прямого змиву	25
6. Нейтралізація дезінфекційних засобів	26
7. Відбір зразків відбитків - контактний метод	26
8. Відбір зразків з підлоги за допомогою бахіл (шкарпеток)	27
9. Маркування зразків відібраних з поверхонь доквілля	27
10. Доставка зразків змивів та відбитків	27
11. Оформлення документів при відборі зразків з об'єктів доквілля	28
12. Альтернативні методи контролю чистоти поверхонь	29
Додаток 1	31
Додаток 2	32

Сфера застосування

Науково-методичні рекомендації розроблені для державних інспекторів та уповноважених осіб, які здійснюють відбір зразків під час заходів державного контролю, при здійсненні гігієнічного моніторингу об'єктів санітарних заходів ¹ і зразків з поверхонь потужностей ²; працівникам уповноважених лабораторій, яким компетентним органом для цілей державного контролю надано повноваження проводити лабораторні дослідження відібраних зразків кормів, сіна, соломи, побічних продуктів тваринного походження та речовин (у т.ч. з довкілля), які пов'язані з виробництвом та/або обігом харчових продуктів або кормів, здоров'ям та благополуччям тварин ⁴, в тому числі первинним ⁵; для операторів ринку, спеціалістів з якості виробництв та внутрішніх аудиторів, з метою реалізації вимог біобезпеки та застосування постійно діючих процедур, заснованих на принципах Системи управління безпечністю харчових продуктів (НАССР); для уповноважених осіб, які здійснюють відбір зразків під час заходів контролю закладів у сфері господарської діяльності, які можуть становити ризик для здоров'я та санітарно-епідемічного благополуччя населення ⁶.

Примітки:

¹ **об'єкти санітарних заходів** - харчові продукти, матеріали і предмети, призначені для контакту з харчовими продуктами, та маркування, якщо воно стосується безпечності харчових продуктів (ЗУ №2042-VIII).

² **потужності** - споруди або комплекс споруд, приміщення, будівлі, обладнання та інші засоби, включаючи транспортні засоби, а також територія, що використовуються у виробництві та/або обігу об'єктів санітарних заходів (ЗУ №771/97-ВР);

потужності - будь-які території, будівлі, споруди, приміщення, обладнання, транспортні засоби, що використовуються для розведення, вирощування, утримання, карантинування, переміщення (транспортування), тренування, проведення змагань, виставок (огляду), конкурсів, вилову, забою або обігу тварин; виробництва та/або обігу біологічних продуктів, репродуктивного матеріалу, ветеринарних препаратів, лікувальних кормів; знищення, утилізації або іншого поводження з побічними продуктами тваринного походження (ЗУ №2498-XII).

³ **відбір зразків** - форма державного контролю, що полягає у здійсненні відбору зразків харчових продуктів, кормів, сіна, соломи, побічних продуктів тваринного походження або будь-яких речовин (у тому числі з довкілля), які пов'язані з виробництвом та/або обігом харчових продуктів або кормів, здоров'ям та благополуччям тварин, з метою перевірки шляхом проведення простих або лабораторних досліджень (випробувань) відповідності законодавству про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин (ЗУ №2042-VIII).

⁴ **тварини** – усі хребетні та безхребетні тварини, тобто живі істоти, які відмінні від людини, але наділені чутливістю; тварини аквакультури – водні тварини (гідробіонти), що є об'єктами аквакультури; сільськогосподарські тварини – тварини, у тому числі риби, рептилії та амфібії,

які вирощуються та/або утримуються людиною для виробництва харчових продуктів, побічних продуктів тваринного походження (шерсть, шкури, хутро), а також для інших сільськогосподарських цілей; свійська птиця – птахи, які вирощуються та утримуються з метою: а) виробництва м'яса, харчових яєць та інших продуктів; б) поповнення поголів'я пернатої дичини; в) використання для виробничих цілей; наземні тварини – птахи, наземні ссавці, бджоли та джмелі; водні тварини (гідробіонти) – тварини, що належать до нижчезазначених видів, включаючи їхні яйця, сперму та гамети (ЗУ №2498-XII).

5 первинне виробництво - виробництво, розведення та/або вирощування первинної продукції, у т.ч. збір врожаю, доїння, розведення та/або утримання сільськогосподарських тварин до моменту їх умертвіння (забою), заготівля меду та/або інших їстівних продуктів бджільництва, збір дикоросів (грибів, ягід, горіхів, інших плодів та/або рослин чи їх частин), добування (вилов) рибних продуктів, полювання на тварин (ЗУ №771/97-ВР).

первинне виробництво (primary production stage) – сукупність етапів виробництва харчової продукції, включно усі стадії – від ферми до збору урожаю або доставки тварин на бійню (*ISO 13307 Microbiology of food and animal feed. Primary production stage. Sampling techniques*).

6 санітарно-епідемічне благополуччя населення - стан здоров'я населення та середовища життєдіяльності людини, за якого показники захворюваності перебувають на усталеному рівні для даної території, умови проживання сприятливі для населення, а параметри факторів середовища життєдіяльності знаходяться в межах, визначених санітарним законодавством (ЗУ № 2573-IX).

РОЗДІЛ І ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1. Контроль харчового ланцюга

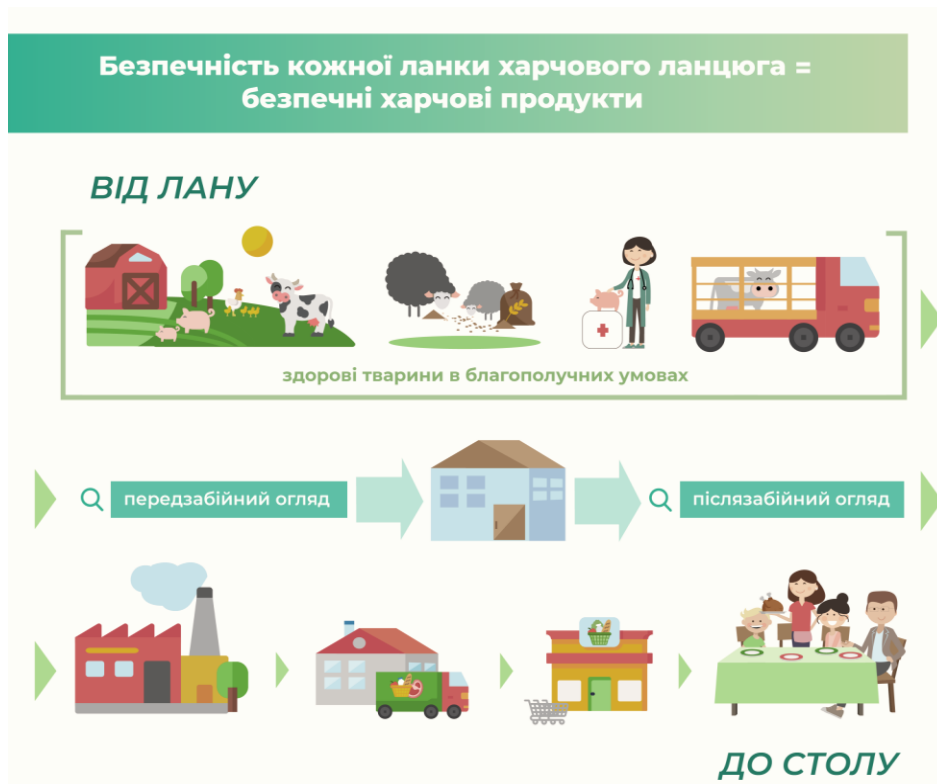
1.1. Контроль за забезпечення та виконання вимог на всіх етапах харчового ланцюга, починаючи з первинного виробництва, покладено на Державну службу України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів.



Вимоги законодавства про безпеку харчових продуктів обумовлюють необхідність постійного мікробіологічного та гігієнічного моніторингу первинного виробництва, процесів первинного та вторинного забруднення сировини на етапах обігу харчових продуктів: задля змоги контролювати санітарний стан потужностей, вчасно запроваджувати коригувальні дії і забезпечувати випуск безпечної екологічно чистої продукції; контролю умов зберігання сировини та харчових продуктів тваринного походження; перевірку показників безпеки сировини та харчових продуктів з метою перевірки постачальника.

На потужностях харчової індустрії використовуються різні типи гігієнічних поверхонь (кахель, пластик, нержавіюча сталь, дерев'яні та скляні покриття, харчовий алюміній тощо) які можуть служити джерелом мікробіологічного забруднення при порушенні правил санітарної гігієни.

Запроваджені оператором ринку процедури контролю використовуються з метою моніторингу біологічних небезпек і їх мінімізації шляхом усунення невідповідностей та запровадження превентивних заходів, щоб уникнути проблем з небезпечністю харчових продуктів. Доказом того, що профілактичні заходи застосовуються оператором ринку належним чином є підтвердуючі документи щодо проведених досліджень по мікробіологічним показникам: досліджуваних зразків змивів з поверхонь обладнання та інвентарю, що контактує з харчовим продуктом; досліджуваних зразків сировини та готових харчових виробів; досліджень проб води, як одного з інструментів контролю гігієни продовольчої сировини та продуктів харчування.



1.2. Вимоги щодо проведення поточного контролю біологічного забруднення поверхонь у виробничих зонах та зобов'язання оператора ринку ⁷ надати докази того, що всі процедури прибирання, миття та дезінфекції здійснюються з відповідною частотою і є ефективними (візуальний огляд, лабораторний моніторинг) передбачені в наступних нормативних актах:

✚ ДСТУ ISO 14698-1:2008 Якість повітря. Чисті приміщення та відповідні контрольовані середовища. Контролювання біозабруднень. Частина 1. Загальні принципи та методи (ISO 14698-1:2003, IDT),

✚ ДСТУ ISO 14698-2:2009 Приміщення чисті та пов'язані з ними контрольовані середовища. Контролювання рівня біологічної забрудненості. Частина 2. Оцінювання та інтерпретація даних щодо біологічної забрудненості (ISO 14698-2:2003, IDT),

✚ наказі МОЗ №548 від 19.07.2012, розд. V - VI «Мікробіологічні критерії для встановлення показників безпечності харчових продуктів»,

✚ п. 2.9.6. пункту 2.9 розділу II Вимог щодо розробки, впровадження та застосування постійно діючих процедур, заснованих на принципах Системи управління безпечністю харчових продуктів (НАССР).

⁷ **оператор ринку** - фізична або юридична особа, яка здійснює виробництво з метою введення в обіг та/або обіг товарів. До операторів ринку також належать оператори потужностей, які здійснюють забій тварин та/або знищення чи утилізацію товарів (Закон України «Про ветеринарну медицину та благополуччя тварин» №2498-XII).

оператор ринку - оператор ринку харчових продуктів, оператор ринку кормів, оператор ринку у сфері поводження з побічними продуктами тваринного походження, оператор потужностей, на яких утримуються тварини, оператор ринку матеріалів і предметів, призначених для контакту з харчовими продуктами (ЗУ № 2042-VIII).

1.3. Мікробіологічний контроль довкілля проводиться з метою:

- перевірки дотримання ветеринарно-санітарних та санітарно-гігієнічних вимог (виробничий та державний контроль) - контроль чистоти виробничих та побутових поверхонь і інвентарю;
- встановлення ефективності санітарної обробки (якість проведених робіт) та призначеності дезінфекції;
- моніторинг циркуляції мікроорганізмів в приміщенні при утриманні тварин, птиці та при виробництві продукції - моніторинг санітарного стану за патогенними та умовно-патогенними показниками;
- в разі зниження якості та безпечності, псування продукції;
- розслідування інфекційних захворювань тварин, звірів, птиці, бджіл, людей;
- визначити роль обладнання та рук персоналу в бактерійній контамінації харчового продукту по ходу технологічного процесу виробництва, звертаючи особливу увагу на виробництво готових страв, які пройшли термічну обробку або споживаних їх в їжу без попередньої термічної обробки;
- при введенні в експлуатацію нових виробничих приміщень або після тривалої перерви виробництва;
- після різних суттєвих ремонтних робіт або технічному обслуговуванні системи вентиляції;
- після змін в технологічному процесі, які впливають на умови чистого довкілля;
- після отримання незвичайних результатів;
- після змін в методах очистки та дезінфекції;
- після запланованих заходів, які могли підвищити рівень біозабруднення довкілля;
- при інших ситуаційних особливостях.

1.4. Кратність та періодичність відбору зразків з об'єктів довкілля встановлено:

- ❖ наказ МОЗу № 548 «Мікробіологічні критерії для встановлення показників безпечності харчових продуктів», регламентів (№ 2073),
- ❖ ДСТУ 8020 Приміщення тваринницькі. Методи визначення ефективності дезінфекції;
- ❖ програмами управління ризиками підприємств згідно протоколу плану НАССР, процедурі моніторингу оточуючого середовища виробництва відповідно до напрямку діяльності, враховуючи:
 - технології забою та первинної переробки різних видів тварин,
 - об'єм виробленої продукції,
 - епізоотичний стан місця, з якого надійшли тварини,

- епідеміологічний стан місця, в якому було раніше отруєння чи санітарне порушення,
- санітарний стан цехів забою і первинної переробки забійних тварин та інших потужностей з виробництва та реалізації харчових продуктів,
- виняткові ситуації.

Періодичність контролю за параметрами технологічних процесів і виробничого середовища, лабораторний моніторинг визначаються за результатами оцінки ризику, але не рідше, ніж це передбачено встановленими вимогами.

Частота проведення верифікації повинна підтвердити ефективну роботу системи НАССР, і залежить від особливостей технологічних процесів, виду харчового продукту, потужності, кваліфікації працівників, результатів попередніх перевірок, процедур моніторингу, кількості виявлених невідповідностей, природи небезпечних факторів.

Мікробіологічні критерії для поверхонь довкілля первинного виробництва, потужностей, об'єктів санітарних заходів та у сфері господарської діяльності для мікробіологічних випробувань наведені в [додатку 3](#).

1.5. Результати контролю якості миття та дезінфекції мають досягати достовірного мікробіологічного рівня випробуваного технологічного процесу, що мінімізує ризики мікробіологічного забруднення харчових продуктів під час обігу. Мікробіологічний контроль довкілля здійснюють шляхом лабораторних досліджень зразків змивів, відбитків, зішкребів з поверхонь, або альтернативними експрес-методами.



1.6. Для проведення профілактичних заходів спеціалістами ветеринарної медицини щодо недопущення захворювання птиці сальмонельозом, порядок проведення ветеринарно-санітарних заходів у випадках спалаху хвороби птиці на сальмонельоз у птахогосподарствах різних форм власності та порядок внутрішньогосподарського використання або подальшої реалізації одержаних яєць, м'яса та м'ясопродуктів від забою птиці та іншої продукції птахівництва при виявленні сальмонельозної інфекції у всіх птахогосподарствах незалежно від форм власності і відомчого підпорядкування фізичними особами - підприємцями, спеціалістами ветеринарної медицини, які здійснюють діяльність у сфері птахівництва дотримуються вимог (процедури відбору

зразків, кратність та кількість зразків) «Інструкції з профілактики та ліквідації сальмонельозу птиці» Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України 19.09.2016 № 310.

2. Санітарно-мікробіологічний контроль побуту

Санітарно-мікробіологічний стан побуту у сфері господарської діяльності, які можуть становити ризик для здоров'я людини, а саме, поверхні інвентарю, меблів і устаткування в перукарнях та салонах краси, в закладах з надання готельних послуг, в дитячих установах, лікувально-профілактичних закладах та інших проводять відповідно до діючих законодавчих регламентів і Державних санітарних правил та норм санітарного законодавства.

РОЗДІЛ II

ПІДГОТОВКА ВИТРАТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДО ВІДБОРУ ЗРАЗКІВ З ПОВЕРХОНЬ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ

1. Вимоги до витратних матеріалів та методів випробувань

В якості вказаних, у цих рекомендаціях, витратних матеріалів використовують відповідно до призначення, які сертифіковані та реєстровані в Україні, дотримані умови та термін їх зберігання. Також можуть бути замінені на сертифіковані та валідовані альтернативні методи та засоби.

Відбір зразків за допомогою комерційних засобів та методів повинні виконувати відповідно регламентованим інструкціям виробника.

2. Підготовка витратних матеріалів для відбору змивів

2.1. Тампон (swab, зонд-тампон) - стерильний, нетоксичний матеріал і який не пригнічує життєздатність мікроорганізмів для відбору зразків змивів (вата, віскоза) розміщений на аплікаторі, тампон накручений на петлі (в медицині - ректальній), паличці.

Тампони для відбору змивів роблять на металевих /пластикових/ дерев'яних стрижнях завдовжки 18-20 см, пропущених через ватно-марлеві, коркові, гумові або металеві пробки. Змонтовані тампони поміщають у пробірки, закривають їх та стерилізують за температури 121°C (1,0 атм) протягом 30 хв. Потім в кожному пробірці з тампоном наливають по 2 см³ стерильного розчинника, так, щоб ватний тампон знаходився над поверхнею рідини на висоті 2–3 см (рис. 1). Можна розлити розчинник і по 5 см³ або 10 см³, але обов'язково, щоб ватний тампон на стрижневі знаходився над поверхнею розчинника.

За відсутності тампонів допускається взяти марлеві серветки складено двічі-тричі кінцевим розміром 1,5-2 см х 1,5-2 см, упаковані кожна окремо у папір, стерилізувати 121°C (1,0 атм) протягом 30 хв. При цьому пробірки чи інша ємність з розчинником має бути для кожної серветки окремо.

2.2. В якості розчинника для відбору змивів можуть бути стерильні (121 атм, 15-20 хв): водопровідна вода, дистильована вода, фізіологічний розчин (хлорид натрію 8,5 г/дм³), пептонно-сольовий розчин (пептон - 1 г/дм³ та NaCl - 8,5 г/дм³), пептонно-буферна вода (ПБВ) рН 7,0 (пептон- 1 г/дм³, NaCl - 8,5 г/дм³, калій фосфорнокислий 1-зам. - г/дм³, натрій фосфорнокислий 2-зам. - г/дм³) та інші.

З метою виділення лістерій рекомендовані наступні розчинники для відбору зразків: стерильні пептонна вода (1 г/л), фізіологічний розчин або розчин Рінгера. Фосфатний буферний розчин (ПБВ) застосовувати для змивів, що досліджують на наявність лістерій не рекомендується.

2.3. Дозволяється відбирати зразки змивів безпосередньо у 5 см³ селективного середовища відповідно до призначення, а саме виділення певного виду мікроорганізмів, але дотримуючись терміну придатності середовища та так, щоб ватний тампон не спадав з петлі при відборі, оптимальніше віскозний тампон, або ватний тампон, який на стрижневі знаходиться над поверхнею середовища. Також, допускається поживні середовища розливати у пробірки, які окремо від аплікатора з тампоном (зонда, рис. 2.2.).

З метою виділення сальмонел допустимо в якості розчинника використовувати не лише пептонно-буферну воду, а також селективні бульйони, але за умови якщо інкубація зразків буде почато в день відбору.

Не рекомендується використовувати селективні бульйони для виділення патогенних бактерій замість розчинників для взяття змивів з об'єктів, які не підлягають наступному змиванню водою після дезінфекції та відбору змивів (наприклад, при використанні дезінфекційного засобу на основі перексиду водню, який не обов'язково змивати; див. інструкцію до дезінфекційного засобу), оскільки ці селективні бульйони можуть сприяти зростанню певних бактерій в місці відбору.

2.4. Дозволено застосовувати комерційні одноразові аплікатори (рис. 2.1, 2.2), в тому числі з транспортним середовищем (буферний розчин, Стюарт, Еймса, Кері Блейр, Amies), яке призначене для тих бактерій, які планують виділяти. Такі матеріали необхідно обирати лише ознайомившись з інструкцією використання та сертифікатом якості, де описане транспортне середовище.

2.5. Підготовлений до відбору зразків матеріал використовують упродовж доби, дотримуючись правил асептики, а за необхідності – згідно встановлених вимог до витратних матеріалів. В разі збереження в приміщенні/холодильнику за температури 1-8° С підготовлені пробірки з петлями та розчинником (дистильована вода, фізіологічний розчин, пептонно-буферна вода) – не довше семи діб.

Термін придатності комерційних аплікаторів указаний на пробірках чи у сертифікатах якості до них.



Рис. 1. Тампони для відбору змивів (ватні), готові до використання.



Рис. 2.1. Одноразові аплікатори для відбору змивів комерційного виробництва: без транспортного середовища, з петлею у пробірці.

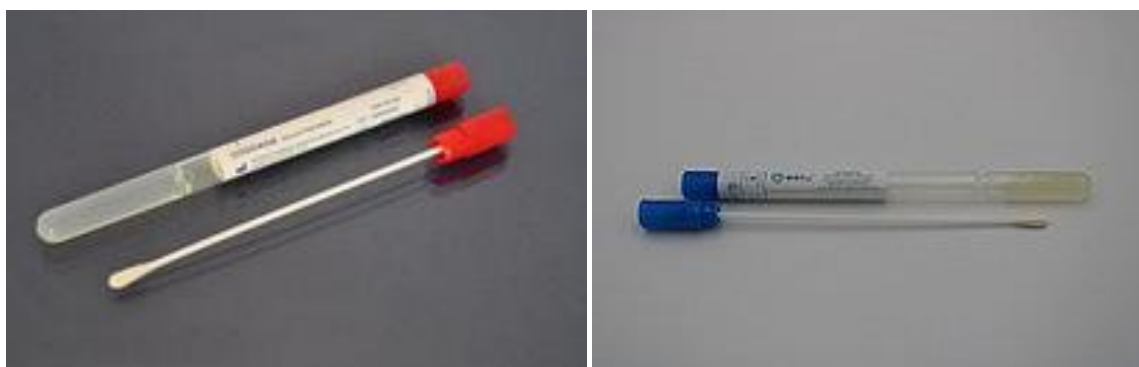


Рис. 2.2. Одноразові аплікатори для відбору змивів комерційного виробництва: пробірка з транспортним середовищем та окремо стерильною петлею для відбору

2.6. Також, для відбору зразків змивів методом тампону можуть служити стерильні тканині серветки (марлеві тампони Moore, бавовняні, рис. 3.1), чи губки (спонжі, рис. 3.2., 3.3), приблизно розміром 5 x 5 см, та інші аналоги для відбору змивів з поверхонь доквілля. Тканинні серветки чи спонжі нарізають та упаковують кожну окремо, стерилізують за 121°C протягом 30 хв.

За потребою, в контейнер (пластиковий пакет, стакан чи флакон), в який будуть поміщати губку після відбору змивів наливають розчинник в кількості 100 см³ на 100 см² дослідної площі.



Рис. 3.1 Марлеві серветки



Рис. 3.2. Гігієнічна губка для змивів з поверхонь



Рис. 3.3. Набори для відбору змивів губкою

2.7. За необхідності для вимірювання дослідної площі поверхні використовують стерильні трафарети розміром 10 x 10 см (100 см²), 4 x 5 см (20 см²), 5 x 5 см (25 см²). Це може бути багаторазовий металевий, одноразовий паперовий чи пластиковий шаблон (комерційний). Паперові вирізують та упаковують в індивідуальні упаковки або по п'ять, стерилізують, висушують.

Багаторазові металеві нестерильні трафарети перед накладанням на поверхню фламбують (проводять декілька разів над вогнем у верхній частині полум'я).



Рис. 4. Трафарети для відбору змивів

2.8. Необхідно враховувати яким методом будуть відбирати зразки з поверхні та заздалегідь аналізувати процедуру відбору, оскільки можливо необхідно взяти з собою спиртівку чи сухий спирт, сірники (запальничку), ножиці, пінцет, стерильні рукавички, додаткові ємкості/пакети та інший витратний матеріал.

3. Підготовка витратних матеріалів для відбору відбитків

Для відбору відбитків з поверхонь застосовують комерційні контактні (агарові) пластини - дипслайди або петрифільми (рис. 5), чи виготовляють витратні матеріали самостійно.

3.1. Використовувати комерційні системи, необхідно ті, які зареєстровані в Україні і мають відповідне призначення, (наприклад, сваб-системи, Новастріки, Хай-діпи, ОХОІD, Thermo Fisher Scientific інші виробники) вимоги до використання та транспортування згідно інструкції виробника. Вони представляють собою середовища на гнучкій платівці в пластиковому контейнері з кришкою.



Рис. 5.1 Дипслайди.



Рис. 5.2 Дипслайди.



Рис. 5.3. Петрифільми

Рис. 5 (5.1-5.3). Агарові пластини для відбору відбитків комерційного виробництва

3.2. Самостійно матеріали для відбитків виготовляють за допомогою смужок з фільтрувального паперу, мембранних фільтрів, або предметних скелець та щільних живильних середовищ.

Смужки фільтрувального паперу або мембранні фільтри змочують в розплавлених 3 % агарових середовищах (м'ясо-пептонний агар, Ендо, інший) і після затвердіння середовищ (5-6 хв.) злегка притискають стерильним пінцетом і переносять в пусті стерильні чашки Петрі.

Готують предметні скельця (розміром 2,5x7,5 см або 1,2x7,5 см). Скельця кип'ятять 10–15 хв у 2–5 % розчині миючого засобу. Потім йоржиком поверхнево з обох сторін предметне скло натирають порошком або миючим засобом, злегка зволожуючи водою. Після чого ретельно промивають скло під проточною водопровідною водою, ополіскуючи в дистильованій воді, й висушують.

Ванни, лотки та інший посуд, який використовується для приготування скелець для відбитків, попередньо ретельно миють гарячим мильним розчином, потім ополіскують водопровідною водою, далі обробляють 70% етиловим спиртом або кип'яченою дистильованою водою і знезаражують УФ-опроміненням впродовж 2 год.

У стерильному боксі на предметні скельця наносять тонкий шар розплавленого щільного поживного середовища (м'ясо-пептонний агар, Ендо, сольовий агар тощо). Прогріті над полум'ям предметні скельця, взяті корнцангами, розкладають на рівній горизонтальній поверхні столу. На них

піпеткою наносять агар, відступивши на 2 см від поперечного краю скла. На вузьке предметне скло наносять 0,15 см³ (4 краплі) і 0,33 см³ (8 крапель) – на широке. Потім піпеткою під кутом 30° розподіляють середовище по середній третині поверхні скла та підсушують на повітрі за кімнатної температури за асептичних умов.

Для переміщення агарових пластин застосовують пластмасові ванни (лотки) або інші ємності для предметних скелець (контейнери, чашки Петрі), що закриваються. На дно ємностей попередньо вносять 1 см³ стерильної дистильованої води / фізіологічного розчину для підтримання вологи.

Підготовлені скельця із середовищами зберігають за температури 3±2°C не більше 10 діб, з агаром Ендо – 2-3 доби в затемненому місці.

4. Матеріали для відбору зразків з підлоги на фермах

Для відбору зразків з підлоги у пташниках чи тваринницьких приміщеннях (для виявлення сальмонел) використовують бахіли чи стерильні шкарпетки. Для їх зволоження використовують наступні розчинники: 0,85 % розчин хлориду натрію, 0,1 % розчин пептону на нейтральній стерильній воді або стерильна вода з будь-яким іншим розчинником, дозволеним компетентним органом.

5. Підготовка нейтралізуючих рідин

Можна використовувати нейтралізуючі рідини (середовища) для зволоження тампона і взяття змивів з поверхонь дослідних об'єктів з метою нейтралізації дезінфекційних речовин.

Якщо дезінфікуючий засіб відомий, тоді до відповідного розчинника додають відповідний нейтралізуючий засіб. Перелік та рецептура нейтралізуючих середовищ ефективних до певних дезінфікуючих засобів наведені у додатку.

Не існує нейтралізуючого засобу, придатного для усіх випадків, але, разом з тим, запропоновано використання нейтралізуючого бульйону Ді-Інгли (M187, M1062, ТМ «Himedia») або розчин нейтралізатора загального призначення (див. додаток 2), які застосовують у випадку якщо невідомо який дезінфікуючий засіб використовували (дезінфікуючий засіб невідомого складу).

Нейтралізуючий засіб розливають по 0,5 см³ у пробірки, або нейтралізуючу рідину додають до основного розчинника в кількості 10 % від його об'єму.

Також, як розчинник для відбору змивів може служити нейтралізуючий бульйон Ді-Інгли (для змочування тампонів – 2 чи 5 см³ та для приготування подальшого висхідного десятикратного розведення – 8 чи 5 см³ перед посівом).

Нейтралізатори хімічного складу не використовують при дослідженні з метою виявлення лістерій. При цьому випробуванні можна використовувати нейтралізуюче середовище Ді-Інгли.

При дезінфекції препаратами, для яких немає нейтралізаторів, застосовують стерильну водопровідну воду.

РОЗДІЛ III

ВІДБІР ЗРАЗКІВ З ДОВКІЛЛЯ ДЛЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. Основні умови при відборі зразків з поверхонь довкілля

1.1. Відбір зразків з довкілля, поверхонь для лабораторних випробувань проводиться у відповідності до «Порядку відбору зразків та їх перевезення (пересилання) до уповноважених лабораторій для цілей державного контролю» та заповненням уніфікованої форми «Акту відбору зразків» (наказ МінАПК № 490 від 11.10.2018). Порядок визначає механізм та процедуру здійснення відбору зразків харчових продуктів, кормів, сіна, соломи, біологічних продуктів та патологічних матеріалів, побічних продуктів тваринного походження або будь-яких речовин (у т.ч. з довкілля), які пов'язані з виробництвом та/або обігом харчових продуктів, кормів, здоров'ям та благополуччям тварин, у тому числі, що вивозяться (пересилаються) з митної території України або ввозяться (пересилаються) на митну територію України з метою перевірки шляхом проведення простих або лабораторних досліджень (випробувань) відповідності законодавству про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин.

Порядок є обов'язковим для державних ветеринарних інспекторів (державних інспекторів) Держпродспоживслужби та операторів ринку.

Відбір зразків з довкілля, які пов'язані з виробництвом та/або обігом харчових продуктів, кормів, здоров'ям та благополуччям тварин, у тому числі, що вивозяться (пересилаються) з митної території України або ввозяться (пересилаються) на митну територію України, **проводиться** державними ветеринарними інспекторами (державними інспекторами) Держпродспоживслужби.

Відбір зразків здійснюється у порядку планового та позапланового відбору, за присутності оператора ринку або уповноваженої ним особи. Також відбір зразків може проводитися позапланово за ініціативи оператора ринку або уповноваженої ним особи у разі їх клопотання до Держпродспоживслужби, про що зазначається в акті відбору зразків. Такий відбір здійснюється уповноваженими на це особами (державні інспектори, офіційний лікар чи спеціаліст уповноваженої лабораторії).

При ввезенні (пересиланні) на митну територію України об'єктів відбір зразків **здійснюється** на призначених прикордонних інспекційних постах або пунктах пропуску на державному кордоні України або в зоні митного контролю на митній території України посадовими особами Держпродспоживслужби за участі представника державного органу, що реалізує державну політику у сфері державної митної справи, в присутності оператора ринку або уповноваженої ним особи у випадках, передбачених статтями 43, 45, 56 та 57 Закону України «Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові

продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин» № 2042-VIII.

При виробничому контролі, відбір зразків докільця здійснює офіційний лікар ветеринарної медицини або внутрішній аудитор оператора ринку, які працюють на даному підприємстві, або фахівці акредитованої лабораторії за умовами угоди.

На вимогу та за рахунок оператора ринку або уповноваженої ним особи здійснюється відбір додаткових юридично та аналітично ідентичних зразків, які передаються оператору ринку або уповноваженій ним особі та можуть бути використані ним для проведення альтернативних лабораторних досліджень (випробувань).

1.2. Відбір зразків засвідчується **актом** відбору зразків, що складається за формою, встановленою законодавством.

Акт відбору зразків складається у двох примірниках (додаток 1). Усі примірники підписуються посадовою особою Держпродспоживслужби, яка відібрала зразки, та присутніми при відборі оператором ринку або уповноваженою ним особою та представниками відповідних державних органів у разі їхньої участі у відборі зразків. Один примірник акту залишається у посадової особи, яка здійснила відбір зразків та склала акт, другий - вручається оператору ринку або уповноваженій ним особі.

Відібрані зразки і копія акту відбору зразків передаються до уповноваженої лабораторії, визначеної посадовою особою Держпродспоживслужби. Копія акту відбору зразків може направлятися електронною поштою, факсом, через інформаційно-телекомунікаційну систему Держпродспоживслужби або за допомогою інших засобів.

1.3. Відбір, транспортування та обробка зразків не повинні впливати на життєздатність та кількість відібраних мікроорганізмів. При цьому слід враховувати такі фактори: а) умови транспортування та зберігання, їх тривалість; б) використання нейтралізуючих агентів; с) використання осмотичних розчинів. Проби слід відбирати та поміщати у контейнери таким чином, щоб не допустити біозабруднення та не інгібувати зростання мікроорганізмів.

Перевезення (пересилання) відібраних зразків до уповноваженої лабораторії здійснюється з використанням матеріально-технічної бази територіальних органів Держпродспоживслужби або шляхом залучення у порядку, встановленому Законом України «Про публічні закупівлі», перевізника чи особи, яка надає послуги зв'язку (доставки).

1.4. Особа, яка відбирає зразки має бути одягнена в захисний халат, за необхідності чепчик (в закладах харчування та виробництва харчових продуктів) і бахіли (обов'язково на фермах). Руки перед відбором помити з милом, обробити дезінфікуючим засобом, або одягнути рукавички (для захисту фахівця з відбору зразків та для уникнення перехресного забруднення).

1.5. В разі відсутності забезпечення працівників Держпродспоживслужби відповідними витратними матеріалами, технічним забезпеченням, доцільно

залучати до відбору зразків представників лабораторії (уповноваженими особами), який обізнаний в особливостях відбору зразків в умовах асептики і антисептики, та при певних випадках епідеміологічних розслідувань.

2. Об'єкти відбору зразків

2.1. Зразки з об'єктів утримання/вирощування та перевезення тварин і птиці, при вирощуванні грибів/рослин, та інших, відбирають з прямих та опосередкованих місць їх контакту (з приладів, з інструментів, кормушок, поїлок, решіток, тари, транспортерів та іншого інвентарю, що знаходиться в приміщенні чи транспорті). При відборі зразків зі стійла, що пройшли дезінфекцію, оптимальним варіантом є взяття проб після того, як усі поверхні були висушені, з метою мінімізації інгібуючого впливу дезінфікуючих засобів, що відбираються разом із пробами.

2.2. Для прижиттєвої діагностики сальмонельозу птиці та для виявлення джерела збудника проводиться моніторинг щодо захворюваності та наявності сальмонел шляхом бактеріологічних випробувань зразків з поверхонь обладнання, інвентарю, стін та підлоги пташників, забійних та переробних цехів, кормобункерів та кормоцехів, кормоскладу, яйцескладу, сортувальних цехів холодильних (морозильних) камер, змиви з ящиків для транспортування одноденного молодняку, змиви з вивідних лотків інкубаторів, кліток, транспортерів, коробів, балок, повітропроводів, вентиляторів, інших поверхонь тощо; зразки підстилки, посліду та вологого сміття, які відібрані за допомогою шкарпеток чи бахіл. Кількість зразків відбирають згідно інструкції [13].

2.3. На станціях і пунктах штучного запліднення, змиви відбирають із посудин Д'юара, піхвових дзеркал, корнцангів, циліндрів, лійок, іншого посуду та інструментів, які використовують у роботі.

2.4. Відбір зразків здійснюється з поверхонь, що контактують з харчовою продукцією при її виробництві і обігу, де харчовий продукт піддається ризику забруднення. Також, відбирають з поверхонь, що не контактують з готовою харчовою продукцією, з метою вивчення циркуляції мікроорганізмів на виробництві, з місць зберігання та реалізації сировини і продукції. Контроль біологічного забруднення обладнання, інвентарю, посуду та рук на підприємствах з виробництва продуктів харчування доцільно проводити разом з відбором зразків сировини та харчових продуктів на різних етапах технологічного процесу.

2.5. В закладах громадського харчування дослідженню підлягають обладнання та інвентар, устаткування, машини, кухонні прилади, кухонна техніка, столові прилади, інструменти, руки працівників та інші засоби, поверхні яких безпосередньо та опосередковано контактують з харчовим продуктом під час його виробництва та обігу. Особливу увагу приділяють поверхням та інвентарю, що контактують з харчовими продуктами, які в подальшому не будуть проходити термічну обробку.

2.6. У дитячих установах та лікувально-профілактичних закладах з предметів побуту об'єктами дослідження є стіни, підлоги, підвіконня, ручки

дверей, обідні і пеленальні столи, посуд, іграшки, меблі, руки обслуговуючого персоналу, ігрові кімнати, спальні, приймальні тощо.

2.7. У перукарнях та салонах краси – робочі інструменти, інвентар, робочі поверхні, столи, одяг та руки персоналу.

2.8. Для контролю якості (ефективності) дезінфекції відбір зразків проводять після закінчення терміну експозиції дезінфекції (не раніше 2-3 год, але не пізніше 12-24 год), до провітрювання приміщень, до змивання водою дезінфікуючого розчину та перед початком роботи. З одягу працівників – після знезараження, прання, відтискання, прасування.

2.9. При контролі санітарного стану (тобто без проведення дезінфекції) відбір проводять в робочий час потужності/закладу.

2.10. Кількість контрольних точок (зразків змивів, відбитків, приміщень) визначаються конкретними умовами кожного нагляду/контролю (але не менше 10 з одного об'єкта), в залежності від епідемічної та епізоотичної ситуації, яка може мати вирішальне значення.

Зразки обмеженої кількості можуть не забезпечити об'єктивність санітарної оцінки. У разі необхідності більш докладного санітарно-бактеріологічного обстеження окремих ділянок виробництва, наприклад перевірки якості миття столового посуду і приладів, взяття змивів/відбитків проводиться за спеціальною програмою, складеною для кожного конкретного об'єкта/потужності.

Безпосередньо на підприємстві при кожному обстеженні встановлюють конкретні точки для взяття змивів в залежності від мети контролю мікробіологічного забруднення. Може бути передбачено відбір більш ніж одного зразку в одній точці. У різних точках може бути передбачений вибір різного числа проб.

Перелік дослідних об'єктів/точок навколишнього середовища харчового ланцюга включають у план виробничого контролю підприємства-потужності, що характеризують точки ризику.

3. Методи відбору зразків з поверхонь доквілля

Мікробіологічний аналіз поверхонь може проводитись декількома методами: змивів, відбитків, занурення. Наразі «золотим стандартом» у всьому світі вважається метод відбитків (що використовує контактні пластини), змиви використовують лише у випадках, коли поверхня не дозволяє зробити відбиток. В Україні традиційно віддають перевагу методу змивів, насамперед, через його відносну простоту та тому, що аплікатором можна взяти зразок з важкодоступних місць. Але стосовно власне випробувань метод відбитків має переваги: відсутня пробопідготовка (розведення змивів) та посів у рідке живильне середовище, а також тривалість дослідження, оскільки відбитки беруть зразу на агаризоване живильне середовище.

Вибраний метод відбору проб повинен враховувати специфіку конкретного випадку.

Методи відбору зразків для мікробіологічного дослідження об'єктів довкілля, в тому числі предметів побуту:

1) **Змив методом тампону:** зволженим стерильною рідиною (розчинником) тампоном/аплікатором/серветкою/губкою протирають досліджувану поверхню, тампоном/аплікатором/серветкою/губкою відмивають і віджимають, досліджують суспензію, висіваючи її в живильне середовище або інкубують в термостаті разом з тампоном, якщо для зволоження його використовували певне живильне середовище.

Метод змивів дає можливість об'єктивно оцінити санітарне утримання обстежуваних закладів/потужностей.

2) **Змив методом занурення та метод прямого змиву:** досліджуваний предмет занурюють у розчинник або розчинник наливають у досліджувану ємкість.

3) **Контактний метод або метод відбитків:** полягає в тому, що накладають на досліджувану поверхню агарові пластини. Цей метод ефективний при визначенні незначною кількості бактеріальної контамінації досліджуваних об'єктів (до 200 КУО).

Відбір зразків з довкілля харчового ланцюга на первинних його ланках, тобто в умовах тваринницьких та пташиних ферм, можуть здійснювати відповідно до ISO 13307. Відбір змивів та відбитків з поверхонь потужностей харчового ланцюга також проводять відповідно до ISO 18593 (ДСТУ ISO 18593).

4. Відбір зразків змивів методом тампону

4.1. Під тампоном розуміють ватний чи віскозний тампон на паличці, аплікатор, серветки, губки.

Змиви тампоном зі стін, панелей приміщення та холодильників відбирають на рівні 1-1,5 м від підлоги з площі 100 см² (10 x 10 см одне прикладання або 25 x 25 см по 4 рази). Змиви із стін холодильників площею не більше 5 м² дозволяється відбирати загальною пробою (одна петля на один холодильник або об'єднують зразки перед дослідженням).

Зі столів, дощок, тари, колод, терезів, столів, пилки, нарізних машин, пакувальних, вакуумних машин та інвентарю, тощо відбирають з площі в 100 см².

З дрібних предметів: ножів, сокир, виделок, ложок, мусатів, ополоників, спиць, решіток, частин м'ясорубки, лопастей фаршемісу, полотна пилки, посуду, пінцетів, скальпелів, ножиць та іншого інструменту, ручок дверей – з усієї поверхні. Одним тампоном відбирають з 2-5 дрібних предметів.

На виробництві продуктів фасованих у дрібній тарі, з конвеєру беруть вибірково змиви з 10-ти банок з партії (одна проба) та 10-ти кришок з внутрішньої поверхні.

Зі шлангів і трубопроводів, решіток, відер, баків, каструль, кормушок, поїлок змиви відбирають без обліку площини – із внутрішньої поверхні по всій довжині спірально.

Для поверхонь, що контактують з готовими до вживання харчовими продуктами, площа змиву складає не менше 500 см² (в цілому) і не менше 5 інвентарних об'єктів (ножі, крани, ємності), відбирають з рук працівників і інших об'єктів, які безпосередньо чи опосередковано контактують з готовими до вживання харчовими продуктами в процесі виробництва харчових продуктів.

При заборі змивів з тарілок, кришок протирають всю внутрішню поверхню.

При взятті змивів з дрібних предметів одним тампоном протирають три-п'ять однойменних об'єкта – 3-5 тарілки, 3-5 ложки і т.п. У столових приладів протирають їх робочу частину.

При дослідженні склянок (стаканів, чашок) протирають внутрішню поверхню і верхній зовнішній край стакана на 2 см до низу.

Змиви із санітарного одягу беруть перед початком роботи, протираючи одним тампоном чотири площі по 25 см² (нижня частина кожного рукава і дві площі з верхньої передньої частини спецодягу).

Змиви з рук відбирають перед початком роботи, протираючи поверхні долоні рук, проводячи вологим тампоном не менше п'яти разів по кожній долоні і пальцях, під нігтями.

Змиви з рук, з санітарного/робочого одягу, рушників беруться обов'язково у працівників, що мають справу з продукцією, яка не піддається надалі тепловій обробці (укладачі продукції в тари, персонал кухні, холодного цеху, буфетниці, офіціанти, продавців та ін.). З рукавичок беруть змиви тільки з боку долоней.

Дозволяється одним тампоном відібрати пробу-змив з трьох однакових предметів (столів, прилавків) – одна об'єднана проба (для ринків та інших приміщень площею понад 20 м²).

Для виявлення патогенних мікроорганізмів (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.* та ін.) зразки змивів відбирають без урахування площі, але вона має бути не меншою за 100 см² (навіть до 1000 см²).

Для визначення патогенних мікроорганізмів, з метою моніторингу циркуляції *Listeria monocytogenes* рекомендується досліджувати площу від 1000 см² до 3000 см².

Примітка. Для змиву з площі більше 100 см² рекомендується відбирати серветкою.

При проведенні змиву одразу у поживне середовище дослідну поверхню з якою торкався тампон/серветка/губка очищають від його залишків.

4.2. Процедура відбору змивів методом тампону за допомогою аплікаторів та тампонів на петлі. Зонд-тампоном чи аплікатором (розд. II, п.2.1) змоченим безпосередньо перед взяттям змиву в розчиннику, в горизонтально-вертикальному напрямі (до 10 разів у кожному, рис. 6) щільно протирають поверхню об'єкту, за необхідності користуються трафаретом (див. розд. II, п. 2.7), після чого повертають тампон у пробірку з розчинником. Якщо досліджувана поверхня об'єкту волога або жирна, то щільно протирають сухим тампоном.

Примітка. Невідповідна відтворюваність результатів досліджень, особливо кількісної оцінки, між виконавцями, може бути пов'язана з різною силою натиску на поверхню, особливо, якщо та не гладка.

Не дозволяється відбирати сухими тампонами, які змочують розчинником у одній і тій самій пробірці. Для цього має бути кожен розчинник для окремого аплікатора/тампона.

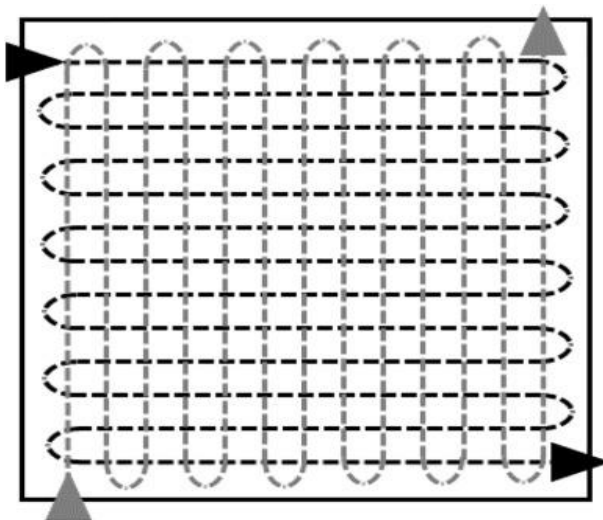


Рис. 6. Схема протирання поверхні (у горизонтально-вертикальному напрямі)



Рис. 7. 1



Рис. 7.2



Рис. 7.3

Рис 7. Відбір змивів аплікатором : 7.1 – з дошки, 7.2 – з слайстера, 7.3 – з рук)



Рис. 8. Відбір змивів аплікатором за допомогою рамки-трафарети 10x10 см

4.3. Процедура відбору змивів методом тампону за допомогою губки/серветки. Губки/серветки (розд. II, п. 2.6) слід використовувати для відбору проб з великих площ (понад 100 см²). У порівнянні із зонд-тампонами, губками можна більш енергійно протерти поверхні, і вони мають краще поглинаючу здатність.

Перед взяттям змивів з використанням губки/серветки, необхідно видалити надлишкову рідину з поверхні, з якої буде відібраний змив (в разі, якщо поверхня занадто мокра), обережним накладанням стерильного поглинаючого паперу.

Відкрити контейнер (чи пластиковий пакет), що містить губку та дістати її з дотриманням правил асептики (наприклад, використовують стерильні рукавички чи стерильний пінцет). В якості альтернативи, губка може бути захоплена через пластиковий пакет, якщо потягнути за перевернутий пакет рукою.

Якщо дослідна поверхня суха, необхідно губку змочити у розчиннику, без надлишку.

Протирають всю обрану поверхню енергійним зигзагоподібним рухом в двох перпендикулярних напрямках, змінюючи боку губки. Повернути губку в пластиковий пакет чи колбу та закрити так, щоб губка була захищена від забруднення і зберігалася вологою до початку проведення аналізу, та уникати протікання вмісту контейнера.

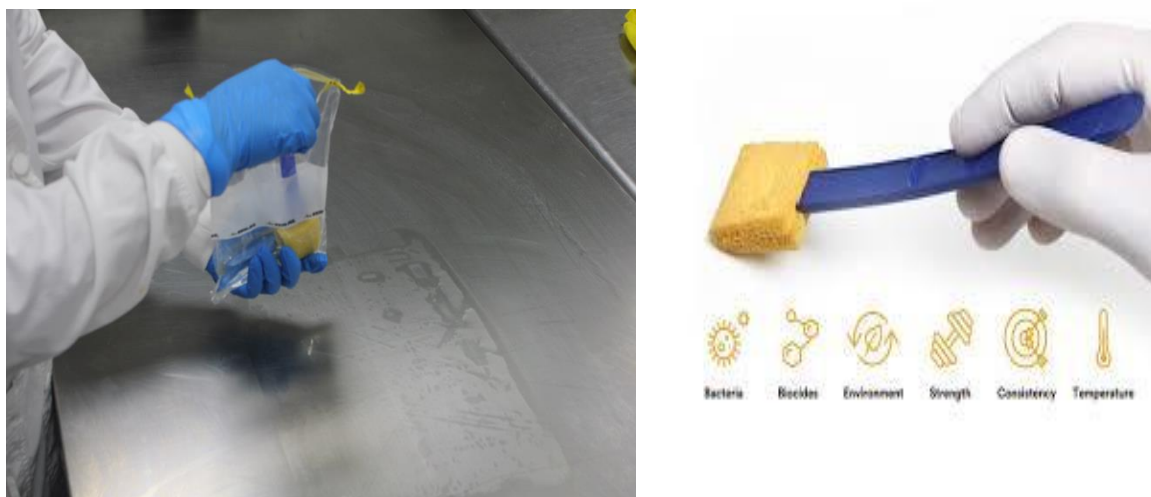


Рис. 9.1. Відбір змиву губкою на рукоятці

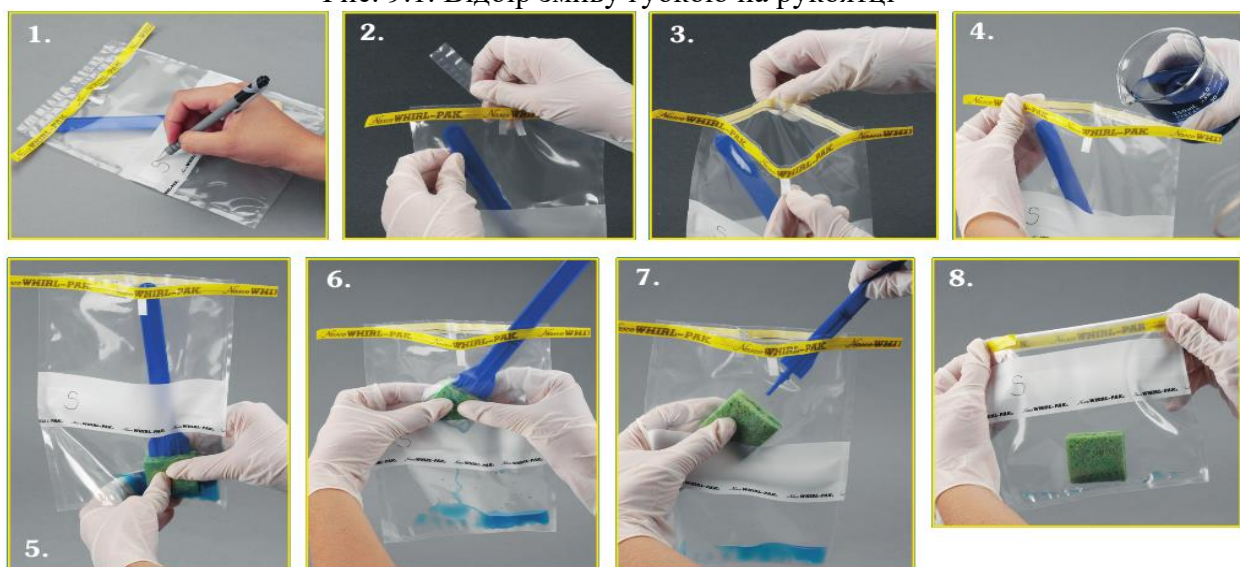


Рис. 9.2. Підготовка до відбору змиву губкою на рукоятці. Після фото 6 протирають поверхню за схемою на рис. 6 та поміщають у пакет як на фото 7 рис. 9.2.



Рис. 10. Відбір зразків змивів губкою та серветкою

4.4. В разі використання марлевих серветок розміром 1,5-2 см x 1,5-2 см в індивідуальних упаковках (розд. II, п.2.1), за відсутності тампонів/аплікаторів, використовують ємність з розчинником для кожного тампону окремо.

Асептично відкрити пакет з серветкою, взяти серветку стерильним пінцетом просякнути її розчинником з пробірки/ємності, відібрати змив як описано вище та помістити в ту саму ємність/пробірку, в якій змочували.

Примітка. Не можна змочувати усі серветки перед взяттям змиву в одній тій самій ємності.

5. Відбір зразків методом занурення та методом прямого змиву

Дослідний дрібний предмет (ножі м'ясорубки, іграшка, тощо) занурюють у визначену кількість стерильного розчинника (5-10 см³), або відповідну кількість розчинника (5-10 см³) наливають у досліджувану ємність (склянка, тощо). Ретельно струшують дослідний об'єкт з розчинником протягом 10 хвилин, а потім отриману змивну рідину використовують для дослідження.

Руки занурюють у розчинник та рухають пальцями по долоні (ніби чухають долоню).



Рис. 11. Відбір зразку змивів з рук методом занурення

Зразки змивів з пляшок, які використовують у пивовареному та безалкогольному виробництві, відбирають від кожної мийної машини або партії одноразового посуду по 5 - 10 одиниць (пляшок, банок, ін.). Відбір прямим змивом здійснюють двома способами: 1) після миття тари залишкову воду з усіх пляшок/склянок зливають в одну з них (або стерильну лабораторну ємність) і закорковують стерильним корком; 2) в одну з пляшок наливають стерильну водопровідну чи дистильовану воду (10 % від об'єму пляшки чи іншої дослідної тари) та послідовно ополіскують нею внутрішню поверхню 5 - 10 пляшок.

Корки (пробки), які використовують у пивовареному та безалкогольному виробництві, відбирають стерильним пінцетом в кількості 10 шт в стерильну широкогорлу колбу або в стерильний поліетиленовий пакет заливають 50-100 см³ стерильного розчинника і струшують протягом 5 хв. Потім стерильним пінцетом вилучають дослідні корки.

6. Нейтралізація дезінфекційних засобів

Якщо очікуються залишки дезінфікуючих засобів, до розчинника або середовища слід додати відповідні нейтралізатори перед відбором проб, щоб запобігти будь-якому інгібуючому впливу дезінфікуючих засобів на ріст мікроорганізмів.

У будь-яких точках відбору, де можливі залишкові кількості дезінфікуючих засобів, або коли проби відбирають відразу після дезінфекції (зволожена поверхня дезінфікуючим засобом), можна використовувати нейтралізуючі середовища для зволоження тампона і взяття змивів з обладнання. Але для цього необхідно знати заздалегідь хімічну характеристику (діючу речовину чи склад) дезінфікуючого засобу, яким проводили обробку. Універсального нейтралізатора для будь-якого дезінфікуючого засобу ще не існує. Перелік нейтралізаторів ефективних до певних дезінфікуючих засобів наведений у [додатку 2](#).

В разі використання нейтралізатора, спочатку петлю/тампон змочують у ньому, потім змивають з поверхні мікроорганізми і поміщають до розчинника, що у пробірці/пакеті/флаконі (фізіологічний розчин, ПБВ, дистильована чи водопровідна вода). Або, тампон змочують в розчиннику, який вже заздалегідь містить нейтралізуючу рідину.

При відборі зразків з довкілля, на предмет виділення лістерій, не використовують нейтралізатор.

7. Відбір зразків відбитків - контактний метод

Відбитки відбирають у рукавичках для уникнення контамінації руками агару. Агарові пластини на скельцях та фільтрувальному папері з контейнера (чашки Петрі) беруть стерильним пінцетом (фламбують або мають з собою достатню кількість). Дипслайди розкручують та дістають з контейнера тримаючи за кришку.

Відбитки відбирають шляхом прикладання агарових пластин до поверхні дослідного об'єкту (рис. 12) протягом 1-2 хв (або інші умови відповідно до інструкції виробника) так, щоб уся поверхня середовища торкалася до дослідної поверхні (однаковий тиск на всю дослідну поверхню), без обертальних та пересувних рухів.

Далі відбитки поміщають у стерильний посуд (ванну, контейнер, пробірку, чашку Петрі) для транспортування у лабораторію. Поверхню з якою торкалась контактна пластина очищають від залишків агару.

Якщо площа відбору вертикальна або важкодоступна, то експозиція контакту повинна тривати від 30 с до 1 хв. Площа дослідного об'єкту при контактному методі має бути не менше 20 см².



Рис. 12. Відбір зразку методом відбитку

8. Відбір зразків з підлоги за допомогою бахіл (шкарпеток)

Для відбору зразків з підлоги у тваринницьких приміщеннях та пташниках поверхню бахіл чи шкарпеток звожують шляхом їх занурення у розчинник (розд. II, п. 4), потім одягають на перші бахіли, які безпосередньо на взутті, для недопущення перехресного обсіменіння мікроорганізмами. Можна змочити бахіли/шкарпетки обливаючи їх вже одягнені. Відбір проводять ходінням, при цьому на бахіли/шкарпетки повинні чіплятися підстилка, послід, сміття.

Слід забезпечити, щоб усі ділянки пташника підпадали під відбір зразків пропорційним способом. 2-5 пар бахіл (шкарпеток) розраховані на 20-50 % пташника, зразки відбираються з усіх частин пташника, у тому числі із зон з твердим покриттям та із зон з ґратчастим покриттям (у разі якщо ходіння по них безпечно). При утриманні бройлерів на підлозі відбирають 5 зразків з п'яти секторів пташника (кожен сектор пташника не менше 100 м площі підлоги), захвачуючи підстилку з послідом та вологе сміття.

Після завершення відбору зразків бахіли чи шкарпетки акуратно знімають, вивертають таким чином, щоб не струсити те, що поприлипало, та поміщають у стерильну ємність або пакет з маркуванням.

9. Маркування зразків відібраних з поверхонь доквілля

Маркують змиви на першій пробірці позначають найменування потужності і номер зразку/пробірки (згідно акту відбору, [додаток 1](#)), дату відбору і час, мету дослідження за необхідності (у разі відбору змивів на декілька різних показників вибіркового пробірках).

Пакети/колби з губками та ємності з відбитками і бахілами чи шкарпетками маркують аналогічно пробіркам із змивами, відповідно до акту відбору.

10. Доставка зразків з доквілля

Недотримання умов транспортування зразків впливає на достовірність результатів випробувань.

Проби пакують таким чином, щоб не допустити перехресного забруднення, просочування рідини або її випаровування. Зразки мають бути легко ідентифіковані.

10.1. Доставка зразків змивів. Транспортувати зразки змивів необхідно в сумках-холодильниках у вертикальному положенні, щоб попередити витікання

розчинника, не довше, ніж 6 годин з моменту відбору, за температури 4-10 °С (при цьому відібрані зразки не повинні торкатись холодоагентів). При транспортуванні змивів за відсутності охолодження (термосумки з холодоелементами) зразки доставляють в лабораторію не пізніше 2-х год з часу відбору.

Якщо змиви відібрані для виявлення патогенної (сальмонел, лістерій, шигел) та умовно-патогенної (ешерихії, стафілококи, протей) мікрофлори (окрім ЗМЧ та колі-титр) умовою доставки допускається температура від +4°С але не вище 25°С, при цьому у акті вказати скільки часу зразки знаходились в умовах 18-25°С.

Зразки повинні бути досліджені одразу після отримання, але в край (наприклад, з причини далекої відстані) не пізніше 24 год з часу відбору при умові зберігання відібраного матеріалу за 0-4°С та з відміткою у акті відбору.

Зразки, які були відібрані комерційними аплікаторами у транспортне середовище доставляють впродовж терміну, який вказаний в інструкції з використання. Наприклад, транспортне гелеве середовище виробника «AMIES» з віскозним зонд-тампоном, можна дослідити на патогенну флору через 48 год за умови зберігання не вище 6°С; а набір ТМ «COPAN» Swab-Rinse Kit – транспортується і зберігається за 18-22°С.

Але найбільш придатним зразок залишається на протязі 24 годин, у випадку більшого терміну між відбором та початком дослідження призведе до недостовірних (хибних) результатів.

10.2. Доставка відбитків. Час доставки відбитків у лабораторію не повинен перевищувати 4 годин за кімнатної температури. За необхідності зразки відбитків необхідно транспортувати в сумках-холодильниках на льоду не довше 6 год (при цьому відібрані зразки не повинні торкатись холодоагентів).

10.3. Доставка зразків з підлоги. Зразки відібрані з підлоги за допомогою бахіл чи шкарпеток для виділення сальмонел можна доставляти за кімнатної температури (до 25°С) за умови, що дослідження розпочнеться не пізніше ніж через 24 години після їх відбору, інакше їх слід зберігати охолодженими (4-8°С) до початку лабораторного дослідження, яке повинно розпочатися не пізніше 48 годин від моменту відбору зразків.

11. Оформлення документів при відборі зразків з об'єктів довкілля

При відборі змивів та відбитків, а також повітря, складають акт відбору (додаток 1), де вказують:

найменування організації-об'єкту (потужності) та адресу,
напрямок діяльності,
дату і час початку та закінчення відбору зразків,
прізвище та ініціали осіб, які відібрали та у присутності кого,
перелік точок (місця) з яких вони відібрані,
в якому технічному та санітарному стані перебувають місця відбору,
роботи які виконувались під час відбору,

час доставки в лабораторію, та іншу необхідну інформацію, що впливає на результати досліджень (метод відбору, середовище чи розчинник у/на якій відбирали, за якого температурного режиму зберігали до надходження в лабораторію, температура в контейнері при транспортуванні, назва нейтралізуючої рідини, тощо),.

В акті відбору зразків змивів необхідно указати, наявність якого саме з бактеріофагів необхідно виявити, в залежності від епідемічної ситуації дитячого закладу, який обстежують: шигели, сальмонели, ешерихії (патогенні чи не патогенні).

12. Альтернативні методи контролю чистоти поверхонь

Також безпосередньо на виробництві харчових продуктів якість миття та ефективність дезінфекції можна щоразу перевірити прискореними валідованими альтернативними експрес-методами, використовуючи індикаторні сваби для виявлення АТФ, АДФ і АМФ мікроорганізмів (2 АДФ → АТФ + АМФ).

Один з таких способів контролю/моніторингу чистоти є люменометрія.

Метод заснований на люменометричному визначенні кількості АТФ, АДФ та АМФ.

При взаємодії молекул АТФ, АДФ та АМФ з реагентами (ферментом люциферин/люцифераза), що міститься у свабі, виділяється світіння. Його і виявляє прилад люмітестер – і переводить у світлові одиниці або в КУО.



Рис. 13. Люменометр

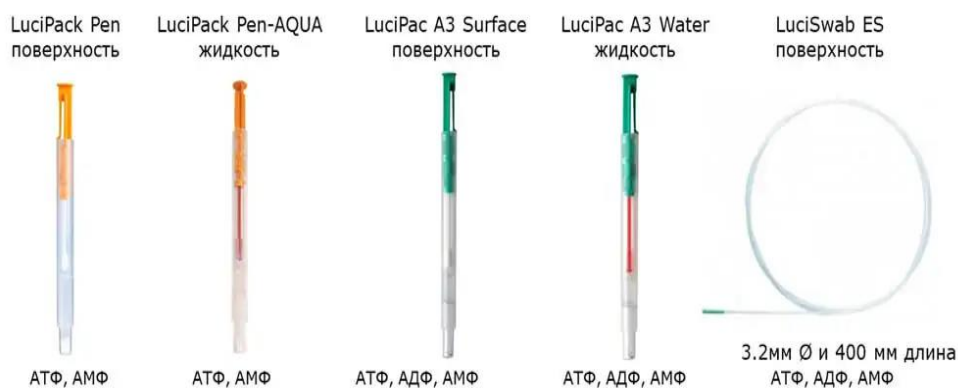


Рис. 14. Сваби для люменометрії

АТФ – аденозинтрифосфат - універсальна енергетична молекула, присутня у всіх живих організмах, включаючи нас з вами, їжу, напої, бактерії, плісняву та дріжджі. ■

• АДФ - аденозиндифосфат, нуклеотид у складі клітини. Бере участь в енергетичному обміні у всіх живих організмах, у процесах росту, руху та відтворення. ■

• АМФ - аденозинмонофосфат - нуклеотид, що у полімерізованому стані входить до складу РНК. ■

Також серед таких альтернативних методів моніторингу чистоти (якості миття) є встановлення білкового залишку харчових продуктів та сировини (АТФ) на робочих поверхнях, що теж є інформативним індикатором неякісного миття.

Оскільки, навіть найменша кількість вмісту білкових компонентів на поверхні, спричиняє утворення біоплівки, та є субстратом для розвитку і розмноження мікроорганізмів, цим самим останні можуть потрапляти в продукти харчування.

Для виробничого контролю існують швидкі хімічні тести для виявлення невидимих залишків їжі на поверхнях виробництва харчових продуктів після виконання звичайних процедур очищення та дезінфекції. Тест забезпечує миттєвий результат без необхідності використання лабораторного обладнання та інкубації. Наприклад, Path-Chek® Hygiene Protein, рис. 15.

Але такі хімічні тести не виявляють бактерій, тому як додатковий тест на вплив навколишнього середовища рекомендується проводити тести на певні харчові патогени, тобто лабораторний контроль за допомогою бактеріологічних досліджень змивів/відбитків з поверхонь.



Рис.15. Протеїнові тампони Path-Chek Hygiene Protein Swabs

Увага! Законодавство передбачає мікробіологічний контроль акредитованими лабораторіями.

Крім того, такі експрес-тести не є об'єктивними, оскільки не можливо встановити конкретного мікробіологічного агенту. Таким чином, бактеріологічний контроль є невід'ємною частиною для досягнення безпечності навколишнього середовища.

Лабораторні дослідження (випробування) для цілей державного контролю проводяться акредитованими лабораторіями, уповноваженими компетентним органом (ст. 22, п.1, ЗУ №2042-VIII).

З Р А З О К
А К Т
відбору зразків змивів/відбитків з поверхонь об'єктів для санітарно-мікробіологічного випробування

Оператор ринку : _____
(назва і адреса замовника)

Потужність (місце) відбору : _____
(напрямок діяльності підприємства, цех, громадські заклади, тваринницькі приміщення та ін..)

Дата відбору : " " 20__р. Час початку ____ год, час закінчення відбору ____ год.

Хто відібрав: _____
(посада, ПІ та ПБ)

В присутності: _____
(представник підприємства, інші присутні, посада, ПІ та ПБ)

Мета випробувань: *плановий, повторний, вимушений контроль якості дезінфекції / санітарного стану, інше*
(необхідне підкреслити)

Проведена обробка з використанням дезінфекційного засобу : _____
(назва, концентрація)

№ з /п	Об'єкт відбору (номер, назва, призначення тощо)	М/б показник

Примітка: _____
(інша необхідна інформація, що впливає на результат дослідження)

Хто відібрав : _____
(підпис) (Посада) (ПІ та ПБ)

В присутності : _____
(підпис) (Посада) (ПІ та ПБ)

Представник підприємства: _____
(підпис) (Посада) (ПІ та ПБ)

МП

Доставлено в лабораторію: « ____ » _____ 20__р., о ____ год.

Хімічні нейтралізатори дезінфікуючих засобів

Додаток 2.1. В якості нейтралізуючих речовин дезінфікуючих засобів використовують наступні:

Дезінфікуючі речовини	Нейтралізатори
Хлорвмісні препарати (галоген)	Розчин тіосульфат натрію (гіпосульфіту)
Лужні розчини	Розчин оцтова кислота
Формалін	Розчин аміак (нашатирний спирт)у
Кислоти, перекис водню та похідних	Розчин бікарбонату натрію
Катіонні ПАВ	Розчин сульфанолю
Альдегіди	L-гістидин, полісорбат-80
Феноли	Лецитин, сорбітолмоноолеат (полісорбат 80), лецитин і натрій тіосульфат
Альдегід глутаровий, лізолу, дезмолу та фенолвмісні препарати	Водопровідна вода
Композиційні препарати	Нейтралізатор загального призначення
Четвертинні солі амонію, амфотерициди	Лецитин, сорбітолмоноолеат (полісорбат 80)
Етанол	Сорбітолмоноолеат (полісорбат 80)

Додаток 2.2. Нейтралізуючі розчини, в залежності від застосовуваного дезінфікуючого агента, готують у 10 разів меншій концентрації, ніж використаний дезінфікуючий засіб. Їх готують на стерильній дистильованій воді у стерильному лабораторному посуді. Деякі нейтралізатори (оцтова кислота та бікарбонат натрію) розливають у флакони і стерилізують в автоклаві (121°C – 15-20 хв). Розчин аміаку стерилізації не підлягає. Зберігають готові розчини нейтралізаторів впродовж п'яти діб за кімнатної температури.

В залежності від застосовуваного дезінфікуючого агента в якості нейтралізатора використовують стерильні розчини наступних хімічних речовин:

- тіосульфат натрію (0,5 % - ний розчин або 0,5 % - ний розчин тіосульфат натрію, +1 % пептонна вода, + 3 % ТВІН-80). Застосовують при використанні для дезінфекції хлорвмісних, перекис водню, водовмісних препаратів. Препарат може бути доданий в 1% -ний розчин пептонною води;

- сульфанолю з молоком (на 1 дм³ розчину використовують 200 г сульфанолю, 100 см³ знежиреного молока і 700 см³ дистильованої води). Застосовують при використанні четвертинних амонієвих сполук;

- мило туалетне (0,5% - ний розчин). Застосовують при використанні препаратів на основі аніонних поверхнево активних речовин, гібитана;

- водопровідна вода - застосовують при використанні препаратів на основі фенолу, глутарового альдегіду;

- аміак (0,5 % -ний розчин). Застосовують при використанні формальдегіду або препаратів на його основі;

- * розчин з 1% пептонної води + 3 % ТВІН-80 + 0,3 % лецитину – при використанні інших дезінфектантів.

В пробірки з тампонами наливають по 0,5 см³ стерильного розчину нейтралізатора, і вважають за розчинник.

Додаток 2.3. Склад рідин нейтралізаторів загального призначення (НЗП)

НЗП №1: дистильована вода – 1000 см³, полісорбат (Твін)-80 – 3% (30 г/дм³), сапонін – 3% (30 г/дм³), гістидін – 0,1% (1 г/дм³), цистеїн – 0,1% (1 г/дм³).

НЗП №2: дистильована вода – 1000 см³, полісорбат-80 - 30 г, лецитин - 3 г, тіосульфат натрію - 5 г, L-гістидин - 1 г.

НЗП №3 (універсальний): дистильована вода – 1000 см³, полісорбат-80 - 30 г, лецитин - 3 г, тіосульфат натрію – 7,8 г, L-гістидин - 1 г, динатрій фосфат – 100,8 г.

Компоненти розчиняють у дистильованій воді при нагріванні. Стерилізують паром за 121°C протягом 15 хв. Зберігають у герметично закритій ємкості (контейнері), яка захищає від світла, за 5±3°C протягом 3 міс.

Додають 10 % нейтралізаторів загального призначення до розчинника (до рідини, якою змочують тампон) від об'єму (наприклад, розчинника 2 см³ + 0,2 см³ НЗП; 5 см³ розчинника + 0.5 см³ НЗП).

Додаток 2.4. Нейтралізуючий бульйон Ді-Інгли

Нейтралізуючий бульйон Ді-Інгли: гідролізат казеїну – 5 г, дріжджовий екстракт – 2,5 г, глюкоза фарм. – 10 г, бромкрезоловий пурпурний (чи інший індикаторний барвник) – 0,02 г. Компоненти змішати та розчинити у 1 дм³ дистильованої води, довівши до кипіння, помішуючи до повного розчинення частинок. Установити рН перед стерилізацією – 7,8. Автоклавувати при 1,1 атм (121° С) протягом 15 хв. Кінцеве рН має бути 7,6 ± 0,2.

Альтернатива – ПС виробника ТМ «Himedia» M187, M1062.

Додаток 3

Мікробіологічні критерії для поверхонь довкілля первинного виробництва, потужностей, об'єктів санітарних заходів та у сфері господарської діяльності для мікробіологічних випробувань

Гігієнічні нормативи мікробіологічної оцінки поверхонь довкілля включають показники безпеки - три групи мікроорганізмів:

➤ **санітарно-показові** – індикаторні мікроорганізми, кількісний рівень яких характеризує епідеміологічну безпеку об'єктів навколишнього середовища, сировини та продуктів. До яких належать мезофільні аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми (МАФАНМ, загальне бактеріальне забруднення – ЗБЧ, загальне мікробне число - ЗМЧ), аеробні мікроорганізми (АМ), колі-титр, титр ентерококів;

➤ **потенційно-патогенні мікроорганізми** – індикаторні мікроорганізми, кількісний рівень яких характеризує епідеміологічну безпеку. До них відносяться: ентерококи, бактерії групи кишкових паличок (БГКП, колі-форми), а саме: представники родів *Escherichia* (*Escherichia coli*), *Citrobacter*, *Enterobacter* (*Enterobacter sakazakii*), *Klebsiella*, *Serratia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Erwinia*; *Yersinia enterocolitica*, бактерії роду *Proteus* і *Providencia*, бактерії роду *Pseudomonas* в т. ч. синьогнійна паличка (*Ps. aeruginosa*), *Bacillus cereus*, анаероби - сульфітредуруючі клостридії (*Clostridium perfringens*) і їх спори, кампілобактерії (*Campilobacter spp.*), коагулазопозитивні стафілококи (в т. ч. *S. aureus*), інші;

➤ **патогенні мікроорганізми та їх токсини** – мікроорганізми, здатні спричинити захворювання людей та тварин: патогенні ентеробактерії серед яких *Salmonella spp.* і *Shigella spp.*, *Listeria monocytogenes*, патогенні плісняві гриби (*Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*);

➤ **мікроорганізми, що викликають псування продукту**, а саме: плісняві гриби, дріжджі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. ISO 13307-2013 Microbiology of food and animal feed. Primary production stage. Sampling techniques.
2. ISO 14698-1:2003 Cleanrooms and associated controlled environments — Biocontamination control — Part 1: General principles and methods. (ДСТУ ISO 14698-1:2008 Якість повітря. Чисті приміщення та відповідні контрольовані середовища. Контролювання біозабруднень. Частина 1. Загальні принципи та методи)
3. Ветеринарно-санітарні правила для боєнь, забійно-санітарних пунктів господарств та подвірного забою тварин. Наказом МінАПК № 4 від 14.01.2004 р
4. Гігієнічні вимоги до дрібнотоварного виробництва та обігу молока. Наказом МінАПК №209 від 07.04.2022 р.
5. Гігієнічні вимоги до виробництва та обігу харчових продуктів тваринного походження. Наказ МінАПК №813 від 20.10.2022 р.
6. ДСТУ ISO 18593:2006 (ISO 18593:2004, IDT) Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Мікробіологічний аналіз із використанням відбитків і змивів з поверхонь.
7. ДСТУ ISO 7218:2014 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови щодо мікробіологічних досліджень.
8. Державні санітарні правила та норми для перукарень різних типів. ДСПН 2.2.2.022-99.
9. Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» №771/97-ВР.
10. Закон України «Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я та благополуччя тварин» № 2042-VIII.
11. Закон України « Про ветеринарну медицину та благополуччя тварин» №2498-XII.
12. Закон України «Про систему громадського здоров'я» № 2573-IX
13. Інструкція з профілактики та ліквідації сальмонельозу птиці. Наказ МінАПК № 310 від 19.09.2016р .
14. Методичних вказівок щодо санітарно-мікробіологічного контролю потужностей, які підлягають ветеринарному нагляду / [Т.О. Гаркавенко, О.О. Каганець, О.В. Тімченко, О.В. Чубчик, І.В., Негай І.В., Семенчукова],- К., ДНДІЛДВСЕ, 2014 (протокол №1 від 19.12.2013).
15. Методичні рекомендації "Застосування тест-систем НоваСтрік для санітарно-бактеріологічного контролю об'єктів довкілля", наказ N 465 МОЗ України від 20.09.2004 р.
16. Мікробіологічні критерії для встановлення показників безпечності харчових продуктів» (Regl. ЄС №2073) Наказ МОЗ України № 548 від 19.07.2012 р.
17. Рекомендації щодо санітарно-мікробіологічного контролю дослідження змивів з поверхонь тест-об'єктів та об'єктів ветеринарного нагляду і контролю, - 2005 р.

Тімченко Оксана Василівна

кандидат ветеринарних наук, завідувач бактеріологічного відділу, лікар ветеринарної медицини Одеської регіональної державної лабораторії Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів, *ORCID ID: 0000-0003-0735-5069*

Кім Алла Анатоліївна

кандидат ветеринарних наук, головний спеціаліст відділу безпеки харчових продуктів та ветеринарної медицини Івано-Франківського міського управління Головного управління Держпродспоживслужби в Івано-Франківській області,
ORCID ID: 0000-0003-2161-6050

Богатко Надія Михайлівна

доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри ветеринарно-санітарної експертизи та лабораторної діагностики Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету
ORCID ID: 0000-0002-1566-1026

Скрипка Галина Андріївна

кандидат ветеринарних наук, асистент кафедри ветеринарної гігієни, санітарії і експертизи Одеського державного аграрного університету,
ORCID ID 0000-0002-3326-7604

Гурський Роман Йосипович

Начальник Івано-Франківського Головного управління Держпродспоживслужби в Івано-Франківській області

Ігор Дмитрович Раховський

Директор Івано-Франківської регіональної державної лабораторії державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів

Богатко Альона Федорівна

асистент кафедри епізоотології та інфекційних хвороб Білоцерківського національного університету
ORCID ID 0000-0001-8089-5884