

ОБУЧАЮЩИЙ СЕМИНАР

Умиралиева Лазат Бекеновна
Кандидат технических наук

ЛЕКЦИЯ 1.

Принципы ХАССП. Терминология и методология анализа рисков и определение критических контрольных точек.

Программы, лежащие в основе системы ХАССП. Понятие о надлежащих практиках.

Основанием и исходными данными для разработки явились возросшие требования к качеству и безопасности мяса и мясной продукции, а также необходимость в развитии экономически эффективных технологий холодильного хранения, обеспечивающих увеличение сроков хранения животноводческой продукции.

Обеспечение населения Республики Казахстан качественными пищевыми продуктами, в том числе мясом и мясной продукцией является важной стратегической задачей государства. Мясо и мясные продукты относятся к числу скоропортящихся пищевых продуктов, поскольку длительное их хранение в обычных условиях без специальной обработки невозможно. Наряду с различными методами консервирования скоропортящихся пищевых продуктов в настоящее время наиболее эффективными являются методы холодильной обработки и хранения. Применение методов холодильной технологии при обработке мясных продуктов, в отличие от других способов консервирования, оказывает значительно меньшее воздействие на естественные вкусовые и органолептические свойства мясных продуктов. При холодильной обработке достигается наиболее полное сохранение первоначальных натуральных свойств мяса и субпродуктов, обеспечивается минимальное изменение пищевой ценности мяса. Холодильная обработка мяса и субпродуктов и их хранение при соответствующих низких температурах являются одним из наиболее совершенных приемов предупреждения или замедления порчи этих продуктов. Обработка холодом обуславливает подавление жизнедеятельности микроорганизмов, а также замедление химических и биохимических процессов, происходящих в продукте под действием собственных ферментов, кислорода воздуха, тепла и света.

На развитие микроорганизмов большое влияние оказывает, помимо температуры, относительная влажность воздуха. Чем ниже относительная влажность и температура, тем хуже развиваются микроорганизмы. Кроме параметров хранения (температуры и влажности воздуха) на степень обсемененности мяса микроорганизмами влияют санитарно-гигиенические условия содержания, транспортирования, подготовки к убою скота, переработки туш, обескровливания, съемки шкур, извлечения внутренних органов и зачистки туш; ветеринарное состояние животного при забое, т.е. огромное количество эндогенных и экзогенных факторов.

Таким образом, характер и глубина изменений при охлаждении и последующем хранении мяса, зависят от вида и качества сырья, но не в меньшей степени и от условий и режима холодильной обработки. Своевременно выявить степень зараженности камер плесенью и патогенными бактериями, принять соответствующие меры позволяет микробиологический контроль.

В связи с этим, исследования в направлении изучения влияния санитарного состояния холодильного оборудования на сроки хранения мяса и мясной продукции в современных условиях для обеспечения безопасности хранения и оборота мяса и мясной продукции весьма актуальны.

В соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» с 15 февраля 2015 года все компании, занимающиеся производством пищевой продукции, должны разработать, внедрить и поддерживать процедуры, которые основаны на принципах НАССР (ХАССП)

НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Points) – Анализ опасностей и критические контрольные точки. Это система, которая по результатам анализа рисков позволяет предприятию сосредоточить контроль на критических контрольных точках (ККТ). Данная система не является системой нулевых рисков, но помогает снизить риски.

На этом этапе группа ХАССП должна составить перечень всех опасных факторов. Идентификация рисков включает анализ используемого сырья и материалов и выявление рисков, которые ожидаются на каждом этапе технологической схемы от приемки сырья до отгрузки потребителю готового продукта. Затем необходимо провести анализ выявленных опасных факторов. При оценке опасных факторов следует учитывать вероятность возникновения опасных факторов и тяжесть последствий для здоровья потребителей.

Не существует универсального перечня опасных факторов для пищевых предприятий, каждая компания должна провести анализ рисков, учитывая собственную специфику, свой технологический процесс, оборудование, поступающее сырьё и материалы, степень внедрения программ предварительных условий.

Разработка и внедрение ХАССП на предприятии необходимо для обеспечения контроля за безопасностью при производстве пищевой продукции. Анализ рисков производственных процессов — первый этап в структуре разработки системы ХАССП. С помощью данного инструмента определяются все возможные опасные факторы и создается база для определения контрольных критических точек. В качестве объекта анализа, в пищевом производстве может выступать технологический процесс или готовая продукция. В общественном питании, эксперты берут за основу готовые блюда или цеха, объединенные в группы: холодный, горячий, мясной, рыбный, кондитерский, заготовочный и т.д. Чтобы найти все критические контрольные точки в общественном питании или на пищевом производстве необходимо провести большую подготовительную работу:

- Проанализировать каждый этап производства и технологического процесса
- Обнаружить, выявить и идентифицировать наиболее опасные факторы
- Оценить насколько высоки риски влияния опасных факторов на готовую продукцию и какие из них являются самыми значимыми
- Определить методы контроля и предотвращения опасностей, разработать журналы и инструкции

Главная задача разработки и внедрения системы ХАССП — провести анализ рисков для всех производственных процессов и выявить критические контрольные точки для каждого этапа. В начале своей работы, группа ХАССП анализирует всю цепочку — от выращивания или поступления сырья на предприятие, до этапа передачи готовой продукции дистрибьюторам или потребителям. Для каждого опасного фактора, специалисты определяют угрозы, способные повлиять на итоговый продукт, и разрабатывают предупреждающие действия.

Все угрозы исходящие от персонала, сырья, оборудования и окружающей среды подразделяются на:

- микробиологические
- химические
- физические
- аллергены (выделяют в отдельную группу)

После определения и составления полного списка угроз, специалисты по ХАССП проводят идентификацию критических контрольных точек с помощью инструмента — дерево принятия решений. Таким образом можно сформулировать определение для ККТ

Критические контрольные точки в ХАССП - это инструмент контроля в форме различных мероприятий, направленных на повышение безопасности при выпуске продуктов питания и приготовления блюд в общепите. Другими словами, ККТ в системе ХАССП — представляют собой этапы производственного процесса, в которых влияние опасных факторов может превысить допустимые значения риска, тем самым привести к производству небезопасной продукции и тяжелым последствиям для потребителей.

По стандарту ГОСТ Р 51705.1, в обязательном порядке, для каждой критической контрольной точки рабочая группа ХАССП определяет

- границы предельных значений, с помощью которых осуществляется контроль за ККТ;
- программу мониторинга, в которой указывается детальная информация, кто, как и когда осуществляет контроль за ККТ;
- корректирующие действия — мероприятия, направленные на снижение рисков или устранение последствий превышения предельных значений ККТ;
- итоговый документ — план ХАССП, в котором указывается вся информация по каждой ККТ.

Примеры критических контрольных точек

Система ХАССП разрабатывается для каждого отдельного юридического лица, и имеет свои особенности, присущие конкретному производству. Однако, примеры критических контрольных точек ХАССП, в некоторых случаях могут быть похожими, иметь схожую структуру и природу.

Критические контрольные точки на пищевом производстве

В качестве примера анализа рисков на пищевом производстве, рассмотрим комбинат по изготовлению кондитерских изделий: печенья, шоколадных плиток, конфет и других сладостей. Опасные факторы для нашего предприятия можно найти в каждой группе:

Физические – мелкие вредители (крысы, насекомые и т.д.), а также продукты их жизнедеятельности; посторонние попадания от персонала (ногти, волосы и т.д.); мелкие части оборудования (открутившиеся гайки, выпавшие болты и т.д.).

Микробиологические – разнообразные дрожжи, бактерии, чьи токсины способны повлиять на безопасность продукта на каждом этапе производства и навредить конечному потребителю.

Химические – остатки моющих средств, веществ по борьбе с вредителями, материалов для обслуживания производства и прочее.

Представленный список не является исчерпывающим. На кондитерском производстве может присутствовать гораздо больше критических точек. Анализируя каждый опасный фактор, группа ХАССП должна принять решение — является ли контрольная точка критической или нет.

Согласно требованиям ТР ТС 021/2011, система ХАССП должна быть внедрена и поддерживаться на предприятии. Линейные сотрудники, не входящие в рабочую группу ХАССП, должны иметь общее представление об основных принципах программы, а также уметь работать в системе согласно разработанным для предприятия инструкциям и процедурам. Члены рабочей группы ХАССП, должны обладать более глубокими знаниями, а именно:

- уметь проводить внутренний аудит,
- делать анализ рисков,
- выявлять критические контрольные точки,
- задавать предельные значения для ККТ,
- правильно общаться с контролирующими органами.

Провести обучение по ХАССП можно с привлечением экспертов из консалтинговой компании. Каждый специалист прошедший учебу, получает сертификат внутреннего аудитора по ХАССП, а также сертификат о прохождении обучения по ХАССП.

Программы предварительных условий

ППУ - это общие действия по контролю за соблюдением требований безопасности, в частности - гигиенических норм, на всех этапах производства пищевой продукции. ППУ позволяют структурировать и задокументировать все те элементы пищевой безопасности, контроль за которыми является предварительным условием для разработки системы менеджмента пищевой безопасности.

Наглядными примерами ППУ могут служить:

- общий контроль поступающего сырья и поставщиков;
- поддержание необходимых санитарно-гигиенических условий в помещениях;
- соблюдение личной гигиены сотрудниками предприятия;
- проведение мероприятий по дезинфекции и дезинсекции помещений;
- регулярная очистка рабочих поверхностей от загрязнений.

ППУ - это основа для системы ХАССП. В этой программе отражаются мероприятия и процедуры, направленные на создание условий эксплуатации, при которых производственная среда, инфраструктура и производственные процессы изначально безопасны для итогового продукта. Ключевое слово в данной аббревиатуре - **предварительные**, потому что без соблюдения этих условий невозможно функционирование системы ХАССП.

ЛЕКЦИЯ 2

Апробация биолюминесцентного метода исследования с использованием люминометра EnSURE™ Touch и тест систем Ultrasnap для контроля чистоты поверхности.

АТФ-люминометры – Это приборы, обеспечивающие мониторинг биологических загрязнений в различных сферах: пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве, HoReCa. Действие приборов основано на эффекте биолюминесценции.

Биолюминесценция – это способность живых микроорганизмов выделять энергию в форме света, в том числе в ходе определенных химических реакций. Все растительные, животные и бактериальные клетки, в том числе дрожжи и плесень, содержат аденозинтрифосфат (АТФ). При контакте АТФ с ферментами люциферин/ люцифераза происходит выделение света.

АТФ-люминометр измеряет силу указанного свечения, определяя степень биологического загрязнения образца.

Чистота означает безопасность и качество.

Выявление микроорганизмов

Microsnap Coliform — тест на бактерии группы кишечной палочки

Microsnap E.Coli — определение бактерии E.Coli

Microsnap Enterobacteriaceae (EB) — тест на энтеробактерии

Microsnap Total Viable Count — тест на общее микробное число

Индикаторные тесты

InSite Listeria — тест для определения бактерии листерий

InSite Salmonella — тест для определения бактерий сальмонелла

InSite™ L. mono Glo — это скрининг-тест на Listeria spp. и Listeria monocytogenes (L. mono)

Этот метод может быть рекомендован для экспресс-контроля санитарного состояния холодильного оборудования, оценки эффективности мойки и дезинфекции холодильных помещений и их инвентаря, а также для осуществления производственного контроля в условиях отсутствия на производстве бактериологической лаборатории.

Для исследования санитарного состояния холодильного оборудования мясоперерабатывающих предприятий рекомендуется использование люминометра EnSURE™ Touch и тест систем Ultrasnap для контроля чистоты поверхности, а также тест систем MSTES10 Microsnap Total Enrichment (для обогащения теста на ОМЧ) и MSTOTAL Microsnap Total Detection (тест на ОМЧ) для учёта общего микробного числа (ОМЧ).

1. Использование люминометра EnSURE и тестов Ultrasnap для контроля чистоты поверхности.

EnSURE™ Touch - это усовершенствованная система мониторинга, которая собирает, анализирует данные всех тест-систем, производимых компанией Hygiene™. EnSURE™ Touch - разработан и адаптирован под ваше рабочее место, предоставляя данные, необходимые для аудита и управления качеством.

Характеристики

- Множество тестов - один прибор
- Автоматическое преобразование RLU в КОЕ
- Результат за 10 секунд
- Выявление E.coli, Coliform, КМАФАнМ за 7 часов;
- Удобный 5" сенсорный экран;
- Возможность сохранять до 1000000 результатов на приборе;
- Операционная система Андроид 2 Гб внутренней памяти;
- Интуитивно понятная навигация;
- Облачное хранение данных;
- Программный комплекс SureTrend™ Cloud.

Тесты Ultrasnap представляют собой расходные пробирки для отбора проб. Данные тесты применяются только с приборами: SystemSURE PLUS и EnSURE. Тесты предназначены для контроля санитарно-гигиенического состояния технологического оборудования, различных поверхностей в режиме реального времени после проведения санитарной обработки. Прибор EnSURE с применяемыми тестами Ultrasnap идентифицирует вещество - аденозинтрифосфат (АТФ). АТФ – универсальная энергетическая молекула, участвующая в биохимических процессах, протекающих в живых системах. Данные молекулы содержатся во всех животных, растительных, плесневых, бактериальных и дрожжевых клетках.

Принцип работы тестов заключается в явлении биолюминесценции. Биолюминесценция – процесс испускания света живыми организмами. Тесты содержат специальный жидкий реагент – люциферин-люциферазу, который вступает во взаимодействие с молекулами АТФ, результатом данной реакции является испускание квантов света. Данный свет, количественно прямо пропорционален количеству АТФ. Чувствительность метода АТФ-люцинометрии - 1 фемтомоль (10^{-15} моля) АТФ, что примерно соответствует 5-50 КОЕ.

Прибор EnSURE измеряет интенсивность данного света и предоставляет информацию об уровне загрязнения в течение 15 секунд в числовых значениях RLU. Данные значения RLU являются характеристикой интенсивности свечения люминесценции ($1\text{RLU} = 10^{15}\text{моль АТФ} = 5-50\text{ КОЕ}$).

Отбор пробы. Отбор пробы проводится в асептических условиях. Не следует касаться руками тампона и внутренних поверхностей теста. Возьмите пробирку теста Ultrasnap™, покрутите и вытащите тампон. Тампон пропитан лизирующим (разрушающим клеточные стенки) веществом, поэтому возможно образование конденсата внутренней поверхности пробирки.

Подготовьте сухой исследуемый участок поверхности размером 10 x 10 см² (см. схему 1. А1.). Если поверхность имеет неправильную форму (шероховатая), проследите, чтобы смывы с нее производились все время одинаково. Также в ряде случаев смывы необходимо взять с резьбовых и трубопроводных соединений; для таких соединений смыв необходимо

брать с максимально возможной рабочей площади соединения. После смыва с исследуемой поверхности поместите плотно тампон обратно в пробирку. Данный смыв может храниться в таком состоянии не более 4 часа, прежде чем его активируют; однако после активирования теста необходимо произвести измерение в течение 60 секунд.

Активирование. Чтобы активировать тест Ultrasnap™ возьмите пробирку и двумя пальцами согните ампулу вперед-назад, ломая запорный клапан (см. схему 1. С). Дважды сожмите ампулу, выдавите всю жидкость в пробирку через ось тампона. Встряхивая пробирку в течение 5-10 сек (см. схему 1. D.).

Измерение. Предварительно включите прибор EnSURE. Вставьте Ultrasnap в прибор EnSURE, закройте крышку и нажмите кнопку "OK" (см. схему 1. E.). Держите прибор строго в вертикальном положении. Подробнее смотрите в «Руководстве пользователя SystemSURE Plus и EnSURE»

Интерпретация результатов. По умолчанию для прибора EnSURE значения меньше 10 соответствуют чистым поверхностям, значения в интервале 11 -29 - это предупреждение о том, что поверхность отмыта недостаточно хорошо, а если результат превышает 30, то поверхность считается грязной.

Контроль. Для проверки системы калибровки прибора рекомендуется ежегодно проводить поверку прибора в соответствующих метрологических организациях своего региона.

Предосторожности

1. Не используйте случайно активированный Ultrasnap
2. Не отбирайте тампоном большое количество пробы
3. При измерении держите прибор EnSURE вертикальном положении
4. Проводите измерение в течение минуты после активирования Ultrasnap
5. Не подвергайте Ultrasnap действию прямых солнечных лучей

Хранение. Тампоны Ultrasnap необходимо хранить в холодильнике при 2-8°C. Перед использованием следует выдержать тампоны при комнатной температуре 2-5 минут. Тампоны выдерживают хранение в течение 6 недель при комнатной температуре (<25°C). Срок годности тестов 12 месяцев.

Использование люминометра EnSURE и тестов MicroSnap TOTAL (Total Microbial Activity Test) для количественного учета микроорганизмов (ОМЧ)

Необходимые компоненты анализа:

1. MicroSnap TOTAL Enrichment Swab Device (MSTES100) – специальная пробирка для взятия смыва с различных поверхностей, жидкостей и суспензий из продуктов питания.
2. MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) – пробирка для измерения общего микробного числа (ОМЧ).

Описание и назначение. MicroSnap TOTAL (Total Microbial Activity Test) – быстрый биолуминогенный тест для выявления и подсчета общего количества бактерии на поверхности или в образце менее чем за 8 часов. MicroSnap TOTAL состоит из Enrichment Swab Device – специальная питательная среда для роста бактерий и Detection Device – тест пробирка содержащая специальный биолуминогенный реактив, который выявляет по биометкам все бактерии, в том числе плесневые грибы.

Методика состоит из двух этапов: на первом этапе требуется короткая 7 часовая инкубация, на втором этапе непосредственное измерение и получение результата.

Во время 7 часовой инкубации в питательном бульоне идет рост микроорганизмов. В результате роста микроорганизмы выделяют ферментные биомаркеры в питательную среду, таким, образом, что, чем больше количество бактерий, тем выше концентрация биомаркеров. На втором этапе исследования происходит смешивания специального реагента с биомаркерами бактерий. В результате такого взаимодействия происходит испускание света (биолуминесценция). Данный свет фиксируется люминометром EnSURE. (Световой поток прямо пропорционален концентрации биомаркеров и бактерий, присутствующих в среде).

Оборудование необходимое для анализа: Люминометр EnSURE (Hygiena), термостат с фиксированной температурой в 37°C.

Этап: Определение

Методика определения ОМЧ (общего микробного числа) описана ниже и графически на иллюстрированных схемах:

А. Перед началом анализа достаньте тест-пробирку из холодильника MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) и оставьте при комнатной температуре на 10 минут. После 10 минутной выдержки возьмите тест-пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) и встряхните об ладонь.

В. Для выявления ОМЧ поместите обогащенный образец из пробирки MicroSnap TOTAL Enrichment Swab Device (MS-TES100) в тест-пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) по метке.

Пробирку MicroSnap TOTAL Enrichment Swab Device (MS-TES100) используйте в качестве пипетки Пастера. Внесите 2-3 капли обогащенного бульона по мерную риску в пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100).

С. Активируйте тест-пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) для выявления ОМЧ. Согните наконечник и переломите запорный клапан. Сожмите наконечник пипетки и полностью выдавите реагент.

Д. Осторожно встряхните пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100).

Е. Поместите пробирку MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) в люминометр EnSURE, закройте крышку и нажмите кнопку «ОК», чтобы начать измерение. Результаты появятся, через 15 сек.

Интерпретация результатов:

Результаты, которые видны на люминометре EnSURE, отображаются в относительных световых единицах (RLU). В таблице показаны пороговые значения наличия (отсутствия) бактерий после 7 часового культивирования.

Таблица. Пороговое значение(RLU) наличия/отсутствия бактерий в КОЕ/г или мл после 7 часового культивирования при температуре не ниже 37 °С.

КОЕ/мл или г.	EnSURE
≤ 10	≤ 10
≤ 20	≤ 20
≤ 30	≤ 30
≤ 50	≤ 50
≤ 100	≤ 100
≤ 1000	≤ 1000
Сплошной рост	≥ 5000

Меры безопасности:

1. Пробирки предназначены для одноразового использования. Не используйте их повторно.

2. Не используйте пробирки после истечения срока годности.

3. Взятие образцов должно производиться стерильным способом, чтобы не допустить перекрестной контаминации.

4. Обеспечьте рекомендованную температуру и время для теста.

5. При измерении держите люминометр EnSURE в строго вертикальном положении.

Компоненты тест-пробирок MicroSnap не представляют никакого риска здоровью при правильном использовании. Использованные пробирки утилизировать в соответствии с нормативными документами.

Хранение и срок годности тест-пробирок MicroSnap TOTAL Enrichment Swab Device (MS-TES100), MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100):

Храните тест пробирки MicroSnap TOTAL Enrichment Swab Device (MS-TES100), MicroSnap TOTAL Detection Device (MS-TOTAL100) при температуре 2-8 °С Срок годности

тест систем составляет 12 месяцев.

Метод количественного анализа микроорганизмов с использованием готовых тест-салфеток или подложек

Готовые подложки, например, RIDA@COUNT и Compact Dry, представляют собой высокотехнологичный продукт нового поколения. Уникальные превосходные характеристики запатентованных подложек делают их незаменимыми для организации эффективного санитарно-гигиенического мониторинга на любом предприятии (в рамках НАССР) или при инспекционном контроле.

Использовать в соответствии с инструкцией производителя.

Метод индикации биологических плёнок

В настоящее время существует нормативный документ в виде «Методических рекомендаций МР 4.2.0161-19. МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПЛЁНОК МИКРООРГАНИЗМОВ НА АБИОТИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ», позволяющий обнаруживать биопленки. Согласно этим рекомендациям, к методам и этапам индикации биологических плёнок относятся:

- Визуальная индикация мест локализации биоплёнок с помощью каталазного экспресс-теста (первый этап). Чувствительность каталазного экспресс-теста, при условии соблюдения всех рецептурных характеристик индикатора, - от 10⁴ кл/мл бактерий. Каталазный индикатор (в соответствии с п 8 Приложения 1) наносится на очищенную и продезинфицированную исследуемую поверхность, не допуская взбалтывания, в соответствии с инструкцией производителя (порядка 2,0 – 3,0 мл на 5 см² поверхности) распылением с расстояния от 10 до 15 см. При положительной реакции, в течение 5-30 секунд после нанесения индикатора начинается процесс барботирования (образования микропузырьков при реакции выделения кислорода), что является подтверждением наличия каталазоположительных форм бактерий, в том числе в состоянии биологической плёнки на исследуемой поверхности;

- Визуальная индикация мест локализации биоплёнок с помощью флуорохромных красителей и дальнейшей визуализации их при помощи специального освещения (второй этап). Флуорохромный индикатор наносится на обрабатываемую поверхность в количестве 3-5 мл распылением с расстояния от 10 до 15 см. После нанесения индикатора, через 5-10 секунд, обработанную поверхность промывают дистиллированной водой, без применения механических методов обработки поверхности. Положительная реакция визуализируется в специальных защитных очках с красно-оранжевым фильтром согласно ГОСТ Р 12.4.230.1 (ЕН 166), в проходящем зеленом свете фонарика. Отрицательная реакция заключается в отсутствии свечения (или флуоресценции) красителя, что указывает на отсутствие загрязнения на исследуемых поверхностях.

Этапность и очередность тестов не является обязательной. Тесты применяются в зависимости от конкретных поставленных задач.

- разрушение экзополисахаридного матрикса биоплёнки специальными ферментными индикаторами с последующим отбором и микробиологическим исследованием проб смывов и (третий этап). Ферментный тест, включающий применение ферментных индикаторов перед проведением бактериологических смывов, позволяет провести разрушение структур ЭПМ, в результате чего бактериальные клетки освобождаются от защитного барьера и могут быть уничтожены, удалены или идентифицированы в ходе последующих процедур.

Ферментный индикатор согласно пункту 10 Приложения 1 представляет собой стерильный раствор, основным действующим веществом которого является смесь специальных энзимов из группы карбогидраз в рабочем растворе, содержащем функциональные и технологические компоненты, увеличивающие эффективность раствора и обладающие бактерицидным, фунгицидным и бактерицидным действием (катионные ПАВ, растворители и стабилизаторы активности).

8 Ферментный индикатор применяют методом протирания или локального

распыления на поверхности перед проведением отбора проб смывов. Метод распыления применяют при обработке небольших по площади или труднодоступных поверхностей. Индикатор в виде раствора или в виде пены (при наличии специальной насадки на триггер-распылителе) наносится на поверхности в достаточном количестве (порядка 5 мл на 10 см²) с расстояния 10-15 см. После нанесения индикатора на поверхность время экспозиции составляет 10 минут.

Отбор проб для проведения микробиологических исследований осуществляют методом смывов с чистых поверхностей различных объектов и проводят после обязательного проведения процедур, указанных в предыдущих пунктах.

Отбор проб смывов с объектов больничной среды и производственной среды предприятий по производству пищевой продукции осуществляется при следующих условиях:

- при отборе смывов с поверхности необходимо использовать тампон (губку, ткань, салфетку), увлажненный нейтрализатором ферментного индикатора и/или нейтрализатором соответствующего дезинфицирующего средства в случае отбора смывов после дезинфекции, либо пептонной водой – в остальных случаях;
- смывы с площади меньше или равной 10×10 см (100 см²) отбирают стерильным тампоном с хлопком или синтетическим материалом;
- при отборе смывов с площади более 100 см² следует использовать губку, ткань, салфетку;
- смывы с мелких объектов (поверхность которых менее 100 см²) берут со всей поверхности;
- если при взятии смывов с ровной поверхности используются металлические рамки-трафареты, ограничивающие площадь взятия смывов, то такие рамки-трафареты должны быть стерильны;
- смывы с перчаток берут только с наружной стороны ладонной поверхности перчатки;
- смывы с санитарной одежды отбирают с помощью тампонов с четырех участков, каждый из которых должен быть не менее 25 см², а именно нижняя часть каждого рукава и две площадки с верхней и средней частей передних пол одежды;
- для отбора проб в труднодоступных небольших участках рекомендуется использовать тампоны.

2. При определении объектов, которые подлежат санитарно-бактериологическим исследованиям на выявление биоплёнок, основное внимание необходимо уделять объектам, которые имеют постоянный и периодический контакт с жидкостями и органическими веществами, которые могут быть использованы бактериями в качестве питательных веществ.

Труднодоступные места, такие как отверстия или щели в волокнистом, пористом, трудно моющемся оборудовании, пустотелые материалы, являются потенциальными участками для отбора проб на наличие биоплёнок. Для отбора проб в труднодоступных и недоступных местах необходима разборка оборудования. Выбор места отбора проб должен определяться в соответствии с поэтапной проверкой технологической цепи (процесса).

В действующих требованиях ТР ТС 034/2013, принятых решением Совета ЕЭК от 09.10.2013г №68, Приложение 1, п.6, КМАФАНМ по показателям микробиологической безопасности в образцах мяса не должно превышать значений 5x10⁶ КОЕ/г, а в колбасе 1x10³ КОЕ/г; в 1,0 г мяса не должны присутствовать микроорганизмы группы БГКП (колиформы); в 25 г не должно содержаться патогенных микроорганизмов, в т.ч. *Salmonella*, *L. monocytogenes*; в 1,0 г мясных продуктов не должны содержаться клетки *Staphylococcus aureus*; в 0,1 г мясных продуктов не должны обнаруживаться сульфитредуцирующие бактерии.

Нормативное содержание других микроорганизмов в 1 г мяса в странах Таможенного союза зависит от способа технологической обработки продукта, например мясо в отрубях

без упаковки или упакованное, подходов к холодильной обработке, сроков годности и ряда других факторов.

К категории высокого риска контаминации относят охлажденное и замороженное мясное сырье (мясо в тушах, полутушах, четвертинах и отрубках, мясо в блоках, мясо птицы, мясо механической обвалки, субпродукты), полуфабрикаты, а также сырокопченые (сыровяленые) изделия.

К категории низкого риска контаминации относят продукцию, подвергнутую тепловой обработке с достижением температуры в центре продукта не менее $(70\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

Продукцию высокой категории риска, поступившую на мясоперерабатывающее предприятие, исследуют на наличие патогенов один раз в 15 дней. Продукцию низкой категории риска контролируют один раз в 20 дней.

Апробация биолюминесцентного метода исследования с использованием люминометра EnSURE™ Touch и тест систем Ultraspap для контроля чистоты поверхности.

Тесты Ultraspap представляют собой расходные пробирки для отбора проб. Отбор пробы проводится в асептических условиях. Тесты предназначены для контроля санитарно-гигиенического состояния технологического оборудования, различных поверхностей в режиме реального времени после проведения санитарной обработки. Прибор EnSURE с применяемыми тестами Ultraspap идентифицирует вещество - аденозинтрифосфат (АТФ). АТФ – универсальная энергетическая молекула, участвующая в биохимических процессах, протекающих в живых системах. Данные молекулы содержатся во всех животных, растительных, плесневых, бактериальных и дрожжевых клетках.

Принцип работы тестов заключается в явлении биолюминесценции. Биолюминесценция – процесс испускания света живыми организмами. Тесты содержат специальный жидкий реагент – люциферин-люциферазу, который вступает во взаимодействие с молекулами АТФ, результатом данной реакции является испускание квантов света. Данный свет, количественно прямо пропорционален количеству АТФ. Чувствительность метода АТФ-люминометрии - 1 фемтомоль (10^{-15} моля) АТФ, что примерно соответствует 5-50 КОЕ.

Прибор EnSURE измеряет интенсивность данного света и предоставляет информацию об уровне загрязнения в течение 15 секунд в числовых значениях RLU. Данные значения RLU являются характеристикой интенсивности свечения люминесценции (1RLU = 10-15 моль АТФ=5-50 КОЕ).

Исследования проводили по методике, предлагаемой производителем. Люминометр считает объем образовавшегося света и всего через 15 секунд выводит на дисплей информацию об уровне загрязнения. Вывод прост, чем выше показания измерительного прибора, тем выше уровень загрязнения. По умолчанию для прибора EnSURE значения меньше 10 соответствуют чистым поверхностям, значения в интервале 11-29 - это предупреждение о том, что поверхность отмыта недостаточно хорошо, а если результат превышает 30, то поверхность считается грязной.

Апробацию люминометра проводили при исследовании санитарного состояния двух холодильных камер с температурой $-4,6^{\circ}\text{C}$ (на момент исследования в камерах хранилась охлажденная говядина в тушах, 7 суток хранения) и -17°C (на момент исследования в камерах хранилась подмороженная говядина в отрубках, 7 суток хранения). Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты биолюминесцентного метода исследования санитарного состояния стен холодильного оборудования

Объект исследования	Показания люминометра EnSURE Touch Hygiene	Показатели ОМЧ (КОЕ/г)
Холодильная камера для	5 RLU	$0,25-2,5 \times 10^2$

охлаждения мяса (-4,6 ⁰ С, говядина в тушах)		
Холодильная камера для подмораживания мяса (-17 ⁰ С, говядина в отрубках)	7 RLU	0,35-3,5 x10 ²

Результаты апробации биолюминесцентного метода исследования санитарного состояния стен холодильного оборудования согласуются с результатами микробиологического метода исследования стех холодильных камер и не превышают требования СанПиН, исследованные холодильные камеры являются чистыми.

Для того, чтобы проверить границы биолюминесцентного метода нами были исследованы также холодильные камеры с температурой -4,6⁰С (для хранения охлажденной говядины в тушах) и +4,5⁰С (для хранения готовой продукции), после мойки, перед дезинфекцией. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты апробации биолюминесцентного метода исследования санитарного состояния стен и стеллажей холодильного оборудования после мойки, перед дезинфекцией

Объект исследования	Показания люминометра EnsureTouchHygiene	Показатели ОМЧ (КОЕ/г)
Поверхность стен		
Холодильная камера для охлаждения мяса (-4,6 ⁰ С)	45RLU	0,23-2,3x10 ³
Холодильная камера для готовой мясной продукции (+4,5 ⁰ С)	14 RLU	0,70-7,0 x10 ²
Поверхность стеллажей		
Холодильная камера для охлаждения мяса (-4,6 ⁰ С)	61 RLU	0,31-3,05 x10 ³
Холодильная камера для готовой мясной продукции (+4,5 ⁰ С)	17 RLU	0,85-8,50 x10 ²

В ходе апробации биолюминесцентного метода исследования санитарного состояния стен и стеллажей холодильного оборудования, после мойки, перед дезинфекцией, было показано, что поверхность стеллажей микробиологически грязнее поверхности стен. Все поверхности в исследуемых холодильниках после мойки, но без дезинфекции, содержат достаточно высокое количество микроорганизмов. При этом, поверхность стеллажей в камере для охлажденного мяса более грязная (0,31-3,05 x10³ КОЕ/г), чем поверхность стеллажей в холодильнике для готовой продукции(0,85-8,50 x10² КОЕ/г). Санитарное состояние стеллажей в камере для охлажденного мяса нарушает требования СанПиН.

Мясо, в том числе мясной сок, содержат большое количество питательных веществ, попадая на стеллажи, они являются идеальной средой для размножения большинства микроорганизмов, а также инициируют биопленкообразование. Биопленки образуются на поверхностях основного и вспомогательного оборудования в труднодоступных местах технологического оборудования, и служат постоянным источником контаминации. Использование люминесцентного метода оценки санитарного состояния подтвердил, что

недостаточно тщательная очистка и мойка, без дезинфекции не позволяют избавиться от микробиологического загрязнения и биопленок.

Апрбацию биолюминесцентного метода проводили в процессе хранения мяса говядины (морозильная камера -19°C) и колбас (холодильная камера $+4^{\circ}\text{C}$) в течение месяца. Показания люминометра при оценке санитарного состояния стен и полок холодильного оборудования на данном рисунке.



Результаты исследования показали, что при хранении мяса в морозильнике при температуре -19°C в течение 30 дней, микробная обсемененность стен и полок остается низкой и соответствует требованиям СанПиН. А вот при хранении колбас в холодильнике при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ к 14 дням хранения растет количество микроорганизмов на стенах и полках, при этом срок хранения колбасы уже истек. К 30 дням, микробиологическое загрязнение превышает нормы СанПиН. Проведенное исследование подтверждает, что в чистом продезинфицированном холодильнике, источником контаминации в процессе хранения становится остаточная микрофлора мяса или мясных изделий.