



## Ćwiczenie 14 i 15

### Temat: Elementy kontroli stanu sanitarno-higienicznego zakładu przetwórstwa spożywczego i zakładu żywienia zbiorowego

W procesach przetwórstwa surowców rolno-spożywczych nadrzędnym zadaniem jest zminimalizowanie możliwości zanieczyszczenia surowców, półproduktów i produktów gotowych mikroflorą pochodzącą z reinfekcji. Źródłem zanieczyszczeń przetwarzanego surowca mogą być:

- media produkcyjne (woda, powietrze)
- pomieszczenia produkcyjne
- urządzenia (maszyny i aparaty)
- pracownicy

### WODA

W zakładach przetwórstwa spożywczego oraz żywienia zbiorowego można wyróżnić zasadniczo dwa typy wody: technologiczną i techniczną. **Woda technologiczna**, stosowana do mycia surowca, jego obróbki, oraz wchodząca w skład finalnego produktu, musi spełniać wymagania stawiane wodzie do picia. Jakość mikrobiologiczna wody ma szczególne znaczenie tam, gdzie jest ona jednym z głównych surowców, np. w winiarstwie czy piwowarstwie. Ewentualne zakażenia wniesione z wodą mogą poważnie zakłócić prawidłowość procesów fermentacyjnych. **Woda techniczna** stosowana w procesach chłodzenia, gaszenia, wytwarzania pary, nie musi spełniać takich wymogów o ile jest w odrębnym obiegu i nie styka się z wodą technologiczną i przetwarzanym surowcem.

Zadaniem analizy mikrobiologicznej wody jest określenie jej jakości pod względem mikrobiologicznym oraz jej przydatności do spożycia lub wykorzystania przemysłowego. Ewentualne nieprawidłowości pozwalają na wykazanie konieczności stosowania odpowiednich filtrów lub innych metod dezynfekcji wody.

W rutynowych badaniach wody określa się tzw. bakterie wskaźnikowe, wskazujące na zanieczyszczenie bakteriami typu fekalnego. Należą do nich bakterie grupy coli, bakterie grupy coli typu fekalnego (zwane też termotolerancyjnymi, ze względu na zdolność wzrostu w temperaturze 44°C), paciorkowce kałowe – przeważnie *Enterococcus faecalis*, beztlenowce przetrwalnikujące *Clostridium perfringens*, a także pałeczki *Pseudomonas aeruginosa*.

#### Pobieranie próby do badań.

Próbka wody przeznaczona do badania powinna odzwierciedlać jej faktyczny stan w tym czasie. Powinna być pobierana z miejsc reprezentatywnych w całym systemie dystrybucji wody. W celu poboru próbki wody wodociągowej do badań należy wylot kranu przetrzeć zwilżoną w denaturacie watą, opalić płomieniem palnika, odkręcić kran i przez 10min. pozostawić otwarty, aby spłynęły pierwsze partie wody. Po tym czasie pobrać ok. 400cm<sup>3</sup> wody do jałowej kolby. Naczynie, do którego pobieramy wodę, musi być zabezpieczone korkiem z waty lub korkiem ze szlifem. Ważne jest, aby możliwie jak najszybciej przeprowadzić badania pobranej wody. Jeżeli jest to niemożliwe na miejscu



należy próbkę zabezpieczyć do momentu przeprowadzenia analizy i przetrzymać ją w temp. chłodniczej. Jeżeli woda jest chlorowana, stosuje się dodatek 0,1 cm<sup>3</sup> 10% roztworu tiosiarczanu sodu w celu zneutralizowania związków chloru.

### **1. Standardowa analiza mikrobiologiczna wody obejmuje następujące oznaczenia:**

#### **1. Liczba bakterii tlenowych rosnących w 22°C**

- posiew wgłębnny po 1 cm<sup>3</sup> wody do sterylnej płytki
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 22°C/72 godz.
- po inkubacji zliczyć wyrosłe kolonie

#### **2. Liczba bakterii tlenowych rosnących w 37°C**

- posiew wgłębnny po 1 cm<sup>3</sup> wody do sterylnej płytki
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 37°C/48 godz.
- po inkubacji zliczyć wyrosłe kolonie

W temperaturze 37°C mogą rosnać organizmy pochodzące ze ścieków w tym drobnoustroje patogenne. Większość bakterii rosnących w temperaturze 22°C to typowe bakterie wodne lub glebowe, niezdolne do wzrostu w temperaturze 37°C.

#### **3. Liczba pałeczek grupy coli metodą filtrów membranowych**

- przefiltrować 2 porcje po 100 cm<sup>3</sup> przez filtry celulozowe o średnicy porów 0,45µm
- filtry umieścić w płytkach, na powierzchni podłoża wybiórczego-**agar z tergitolem**
- inkubacja: *E. coli* - w temp. 44°C/24 godz.; pałeczki grupy coli - w temp. 37°C/24 godz.
- po inkubacji sprawdzić czy wyrosły i ewentualnie policzyć charakterystyczne, żółte kolonie pałeczek grupy coli.

Na agarze laktozowym z solą tetrazolową TTC i Tergitolem 7 o produkcji kwasu z laktozy świadczy zmiana zabarwienia wskaźnika zmian pH - błękitu bromotymolowego z zielonego na żółty. Tergitol 7 hamuje wzrost bakterii Gram-dodatnich. Bakterie grupy coli rosną w postaci żółto-pomarańczowych kolonii, z wyraźnym zażółceniem pożywki pod powierzchnią filtra. Inne bakterie Gram-ujemne np. *Proteus* sp. czy *Pseudomonas* sp. rosną na tym podłożu w postaci kolonii o barwie czerwonej.

Bakterie grupy coli występują w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt stałocieplnych, jak również w glebie i w wodach powierzchniowych. Obecność bakterii grupy coli (przede wszystkim *E. coli*) jest dowodem skażenia wody zanieczyszczeniami fekalnymi, a często wskazuje na problemy z uzdatnianiem.

#### **4. Liczba paciorkowców kałowych z rodzaju *Enterococcus***

- przefiltrować 100 cm<sup>3</sup> przez filtr celulozowy o średnicy porów 0,45µm
- filtr umieścić w płytce, na powierzchni podłoża **Slanetz'a i Bartley'a**
- inkubacja w temp. 37°C/48 godz.
- po inkubacji sprawdzić czy wyrosły i ewentualnie policzyć charakterystyczne kolonie



(*Enterococcus* sp. rosna w postaci różowych lub bordowych drobnych kolonii).

Obecność paciorkowców kałowych w badanej wodzie świadczy o świeżym zanieczyszczeniu wody. Enterokoki są bardziej odporne na różne metody uzdatniania i dezynfekcji niż pałeczki grupy coli. Z tego względu ocena sanitarna wody w kierunku wykrywania obecności paciorkowców jest często uważana za postępowanie bardziej właściwe niż wykrywanie pałeczek *Escherichia coli*.

### 5. Liczba *Clostridium perfringens*<sup>1</sup>

- przefiltrować 100 cm<sup>3</sup> przez filtr celulozowy o średnicy porów 0,22µm
- filtr umieścić w płytce, na powierzchni podłoża agar siarczynowo-żelazawy
- inkubacja w temp. 37°C/48 godz.
- po inkubacji sprawdzić czy wyrosły i ewentualnie policzyć charakterystyczne czarne kolonie

Beztlenowe laseczki *Clostridium perfringens* ze względu na zdolność do tworzenia przetrwalników wykazują żywotność podczas długotrwałego przebywania w niekorzystnych warunkach. Ich obecność w badanej wodzie może świadczyć o odległym w czasie zanieczyszczeniu. Przetrwalniki *Clostridium perfringens*, bardzo odporne na działanie środków dezynfekcyjnych, są doskonałym wskaźnikiem skuteczności procesów uzdatniania i dezynfekcji wody.

### Wymagania mikrobiologiczne

| Wymagania podstawowe                                  |                               |
|---|-------------------------------|
| <i>E. coli</i>  | 0 w 100cm <sup>3</sup>        |
| <i>Enterococcus</i> sp.                               | 0 w 100 cm <sup>3</sup>       |
| Wymagania dodatkowe                                   |                               |
| bakterie grupy coli                                   | 0 w 100 cm <sup>3</sup>       |
| liczba bakterii tlenowych rosnących w (36±2)°C po 48h | do 50 jtk w 1cm <sup>3</sup>  |
| liczba bakterii tlenowych rosnących w (22±2)°C po 72h | do 100 jtk w 1cm <sup>3</sup> |
| <i>Clostridium perfringens</i>                        | 0 w 100 cm <sup>3</sup>       |

<sup>1</sup> grupę beztlenowców przetrwalnikujących redukujących siarczany (IV) bada się tylko w wodach powierzchniowych i mieszanych



## 2. Testy do szybkiego wykrywania bakterii grupy coli i *Escherichia coli* oraz enterokoków w wodzie - Readycount Coliform i Readycount Enterococci

Metoda jest bardzo prosta. Pożywka w postaci granulatu zapakowana jest w gotowych do użycia kapsułkach. Oznaczenie polega na dodaniu zawartości kapsułki do kolbki z badaną wodą o określonej objętości (100cm<sup>3</sup>) i wstawieniu do inkubacji w temp. 35-37°C/18-24 godz.



Do oznaczania pałeczek grupy coli i *Escherichia coli* stosowane jest podłoże z substratem chromogennym X-GAL oraz fluorogennym MUG i tryptofanem. Pałeczki grupy coli mają zdolność do rozkładu substratu X-GAL przez enzym galaktozydazę - po inkubacji następuje zmiana barwy badanej próbki wody na niebieskozieloną. *Escherichia coli* dzięki glukuronidazie rozkłada substrat MUG, czego efektem jest fluorescencja w świetle UV. Ponadto rozkłada tryptofan z wydzieleniem indolu, który po dodaniu odczynnika Kovačsa wykrywany jest w postaci czerwonej obrączki na powierzchni.

Do oznaczania obecności paciorkowców kałowych z rodzaju *Enterococcus* stosowane jest podłoże z azydkiem sodu i substratem chromogennym X-GLU. O obecności paciorkowców w badanej wodzie świadczy zmiana barwy próbki na niebieskozieloną na skutek rozkładu X-GLU przez enzym glikozydazę.





## POWIETRZE

Poznanie mikroflory powietrza ma istotne znaczenie do określenia warunków higienicznych panujących w zakładach przemysłu spożywczego oraz do określania mechanizmów zanieczyszczania i psucia się produktów spożywczych. Powietrze otaczając linię produkcyjną może stać się źródłem zanieczyszczenia produktu, a także stanowić swego rodzaju przenośnik mikroorganizmów.

Powietrze nie jest środowiskiem odpowiednim dla życia drobnoustrojów. W odróżnieniu od gleby i wody jest ośrodkiem okresowego przebywania mikroorganizmów, w którym nie mogą się one dzielić i rosnąć, lecz zachowują swój potencjał infekcyjny.

Najczęściej spotykana mikroflora powietrza to ziarniaki *Micrococcus* sp., *Sarcina* sp., *Staphylococcus* sp., przetrwalniki bakterii (*Bacillus* sp.), zarodniki grzybów strzępkowych z rodzajów *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor*; promieniowce, drożdże z rodzajów *Rhodotorula*, *Candida*, bakterie chorobotwórcze rozprzestrzeniające się drogą kropelkową.

Ilość i skład mikroflory powietrza jest zmienny i zależy od wielu czynników. Nad miastami znajduje się jej więcej niż nad lasami i polami. Najmniej skażone powietrze znajduje się nad górami, morzami, oceanami i lasami. Nie bez znaczenia jest także pora roku. W miesiącach zimowych mikroflora uwięziona jest w lodzie i zamrożonej glebie toteż mniej jej się dostaje do powietrza.

Liczba drobnoustrojów w pomieszczeniach zamkniętych, szczególnie o dużej liczbie ludzi i urządzeń, jest dużo większa niż w pomieszczeniach odkrytych. Człowiek jest źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza podczas mówienia, kaszlu, kichania. W zakładach przemysłowych stopień zanieczyszczenia powietrza zależy od:

- stanu sanitarnego pomieszczeń produkcyjnych, sprzętów, kanałów,
- higieny osobistej personelu,
- rodzaju i stanu mikrobiologicznego surowców, półproduktów i produktów,
- umaszynowania,
- rodzaju technologii.

### Metody badania stanu mikrobiologicznego powietrza

Oceniając stan mikrobiologiczny powietrza należy określić przede wszystkim skład oraz liczbę mikroorganizmów. Ważne jest, aby wybrać odpowiednią metodę poboru prób do badań. W mikrobiologii stosowane są tzw. metody hodowlane, wśród których wyróżniamy:

- **metodę sedymentacyjną** (tzw. metoda płytkowa Kocha) - polegającą na osiadaniu drobnoustrojów na powierzchni zestalonego podłoża agarowego pod wpływem naturalnych sił grawitacji. Zakłada się, że podczas 5 minut ekspozycji, na płycie Petriego o powierzchni 100cm<sup>2</sup> osiada tyle drobnoustrojów, ile znajduje się w 10 litrach powietrza.
- **metodę zderzeniową** – w której stosuje się wymuszone osiadanie drobnoustrojów na powierzchni podłoża hodowlanego za pomocą aparatu, który zasysa określoną objętość powietrza. Pozwala to na dokładne przeliczenie drobnoustrojów przypadających na określoną objętość powietrza.



- **metodę filtracyjną** – polegającą na przepuszczeniu określonej objętości powietrza przez jałowy filtr membranowy lub płyn fizjologiczny. Filtr przenosi się na zestalone podłoże i inkubuje, z płynu fizjologicznego wykonuje się posiew powierzchniowy na podłoże agarowe.

### **Ocena czystości powietrza metodą sedymentacyjną**

- przygotować dwie płytki z podłożami:  
**agar odżywczy** - do oznaczania liczby bakterii tlenowych  
**agar z chloramfenikolem** - do oznaczania liczby grzybów
- oznakować płytki niezmywalnym pisakiem
- ustawić płytki w miejscu gdzie chcemy przeprowadzić badanie powietrza
- otworzyć całkowicie płytki zdejmując z nich pokrywki i pozostawić je na czas 5, 10 lub 15 min (następuje sedymentacja komórek na powierzchnię płytki)
- po tym czasie zamknąć płytki i wstawić do inkubacji:  
agar odżywczy - 30°C/72 godz.  
agar z chloramfenikolem - 25°C/5 dni
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie, a liczbę bakterii i grzybów w 10 litrach powietrza (X) obliczyć ze wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 100}{b \cdot c}, \text{ gdzie}$$

- a- liczba kolonii wyrosłych na płytce
- b- powierzchnia płytki
- c- współczynnik czasu ekspozycji wynoszący 1 dla 5 min, 2-10min, 3-15min

Zanieczyszczenie powietrza w pomieszczeniach przeznaczonych do wykonywania analiz mikrobiologicznych nie powinno być większe niż 2jtk w 10 litrach.

### **Wymagania mikrobiologiczne**

|                           | Pomieszczenia produkcyjne przemysłu spożywczego | Sale wykładowe i sale ćwiczeń         |
|---------------------------|---|---------------------------------------|
| Liczba bakterii tlenowych | 500-600jtk/m <sup>3</sup>                       | nie więcej niż 2000jtk/m <sup>3</sup> |
| Liczba grzybów            | 0-50jtk/m <sup>3</sup>                          | nie więcej niż 2000jtk/m <sup>3</sup> |

### **CZYSTOŚĆ POWIERZCHNI (STOŁÓW, URZĄDZEŃ, TANKÓW, DESEK DO KROJENIA)**

Powierzchnie produkcyjne, tj. powierzchnie taśm produkcyjnych, przewodów, urządzeń, drobny sprzęt, będąc w bezpośrednim kontakcie z surowcem czy produktem mogą być źródłem ich zanieczyszczeń, a w konsekwencji powodować wady żywności. Nawet



dobrze umyte i właściwie zdezynfekowane powierzchnie nie są jałowe - pozostają na nich głównie nieliczne przetrwalniki oraz bakterie psychrotrofowe.

Mikrobiologiczne badanie czystości linii produkcyjnych i powierzchni zawsze należy poprzedzić ich wizualną kontrolą. Nie przeprowadza się badań mikrobiologicznych w przypadku wyraźnie brudnych powierzchni.

Próbki należy pobierać za pomocą gotowych wymazówek, tamponów z gazy lub też przy użyciu płytek odciskowych. Analizę mikrobiologiczną należy przeprowadzić nie później niż po 24 godzinach od momentu pobrania próbki do badań.

### **1. Badanie czystości powierzchni metodą szablonową**

Metoda stosowana do określenia czystości takich powierzchni jak stoły, urządzenia o dużej powierzchni, tanki, deski do krojenia itd.

- do wykonania oznaczenia potrzebne są jałowe tampony, szablon o powierzchni 20cm<sup>2</sup>, kolbka z 20cm<sup>3</sup> jałowego płynu płuczącego, pinceta
- szablon wyjąławia się w alkoholu i przykładą do badanej powierzchni
- tampon chwyta się jałową pincetą, moczy w płynie, odciska nadmiar cieczy o wewnętrzną ściankę naczynia i wyciera powierzchnię ograniczoną szablonem
- tampon wrzuca się z powrotem do kolbki z płynem i wytrząsa

Uwaga! Jeżeli powierzchnia była wcześniej dezynfekowana, do płynu płuczącego należy dodać roztwór neutralizatora.

### **Liczba bakterii tlenowych**

- posiew wgłębny po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do sterylnej płytki Petriego
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 30°C/72godz.
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie i przeliczyć na 1cm<sup>3</sup> badanej powierzchni

$$N_s = \frac{N \cdot F}{A} \cdot D, \text{ gdzie:}$$

*N*- liczba jtk w 1 cm<sup>3</sup> rozcieńczalnika (płynu płuczącego)

*F*- ilość rozcieńczalnika w cm<sup>3</sup>

*A*- badana powierzchnia w cm<sup>2</sup>

*D*- odwrotność stosowanego posiewach rozcieńczenia

### **2. Badanie czystości powierzchni z zastosowaniem płytek kontaktowych (Count-Tact)**

Metodę stosuje się do powierzchni płaskich i suchych >5,5cm<sup>2</sup>, takich jak powierzchnie ścian, podłóg, sprzętu lub ubrań. Oznaczenie wykonuje się specjalnymi płytkami kontaktowymi z podłożem agarowym o wypukłym menisku, który pozwala na pobranie materiału.

- oznakować płytki pisakiem



- zdjąć pokrywkę płytki, przyłożyć podłoże bezpośrednio do badanej powierzchni
- na płytę nałożyć przykrywkę
- inkubować, po inkubacji zliczyć wyrosłe na powierzchni podłoża kolonie.

### **3. Badanie czystości powierzchni metodą wymazów z powierzchni nie ograniczonej szablonem**

Metodę stosuje się dla powierzchni trudno dostępnych, wilgotnych, zakrzywionych, małych (<5,5cm). Wymazy z powierzchni nie określają liczby bakterii na 1 cm<sup>2</sup> lecz na całej badanej powierzchni. W tej metodzie szczególnie ważne jest właściwe pobranie próby celem zapewnienia powtarzalności wyników (zaleca się aby wymazy pobierane były z określonych miejsc przez tego samego pracownika)

- próbę pobiera się wymazówką zamoczoną wcześniej w jałowym roztworze soli fizjologicznej, dotykając powierzchnię badaną z każdej strony
- wymazówkę wkłada się do żelu transportowego i zakorkowuje, a następnie przeprowadza analizę (po uzyskaniu popłuczyn)



### **Liczba bakterii tlenowych**

- posiew wgłębny po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do sterylnej płytki Petriego
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 30°C/72godz.
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie i podać liczbę jednostek tworzących kolonie w przeliczeniu na całą badaną powierzchnię ( $N_{sw}$ ), korzystając ze wzoru:

$$N_{sw} = N \cdot F \cdot D, \text{ gdzie}$$

$N$ - liczba kolonii z posiewu 1cm<sup>3</sup> płynu płuczącego

$F$ - objętość płynu płuczącego

$D$ - odwrotność stosowanego w posiewach rozcieńczenia

### **4.Badanie czystości powierzchni z zastosowaniem barwnych pasków testowych HY-RISE<sup>Tm</sup>**

Test pozwala ocenić zanieczyszczenie powierzchni materiałem organicznym, np. resztkami produktów pozostałych po myciu. Metoda opiera się na oznaczaniu dinukletydu nikotynoadeninowego (NAD, NADH) lub fosforanu dinukletydu nikotynoadeninowego (NADP, NADPH) jako wskaźników obecności resztek poprodukcyjnych.

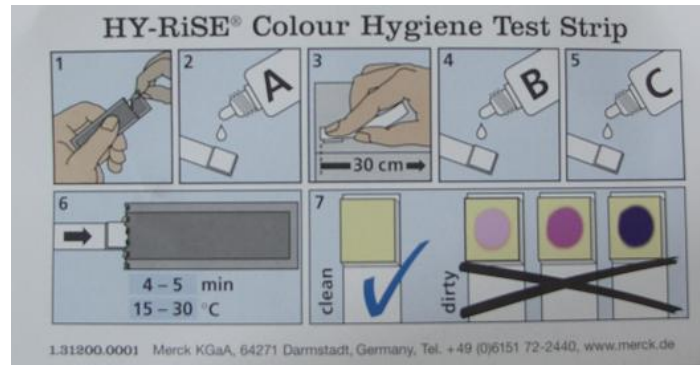






Zasada testu opiera się na reakcji enzymatycznej, której efektem jest powstanie różowo-purpurowego do fioletowego zabarwienia po 4-5 minutach. Materiał pobiera się w 10 punktach badanej powierzchni lub przez przeciągnięcie paska testowego przez długość ok. 30cm.

Test bardzo dobrze sprawdza się w ocenie po myciu powierzchni posiadających kontakt z żywnością i rękami np.: powierzchnie robocze, noże, deski do krojenia, mikrofalówki. Może być także stosowany do badania czystości rąk pracowników oraz badania czystości wody płuczającej w systemie CIP.



Poszczególne etapy badania czystości powierzchni z zastosowaniem testów paskowych HY-RiSE:

## CZYSTOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA RĄK PRACOWNIKÓW

Kadra pracownicza mająca kontakt z żywnością zobowiązana jest do przestrzegania zasad czystości i higieny. Tam, gdzie wytwarzana jest żywność, istotna część czynności wykonywana jest ręcznie, przez co istnieje duże niebezpieczeństwo zakażenia żywności. Częste mycie i dezynfekcja rąk mają duże znaczenie w zapobieganiu zakażeniom żywności.

Skład ilościowy i jakościowy mikroorganizmów zanieczyszczających ręce pracowników można podzielić na mikroflorę przejściową oraz osobniczą. W skład mikroflory przejściowej wchodzi najczęściej pałeczki grupy coli, paciorkowce kałowe i gronkowce koagulazujemne, które są usuwane podczas mycia rąk. Mikroflora osobnicza ma charakter stały, najczęściej ukrywa się w zagłębieniach skóry oraz zachyłkach gruczołów łojowych. Do jej usunięcia konieczne jest szczotkowanie rąk, przez co najmniej kilka minut przy użyciu mydeł antybakteryjnych o szerokim spektrum działania. W skład mikroflory osobniczej wchodzi przede wszystkim chorobotwórcze gronkowce koagulazododatnie.

Na skórę rąk drobnoustroje dostają się ze środowiska zewnętrznego, m.in. z wody, powietrza, ręczników lub urządzeń produkcyjnych. Skład ilościowy i jakościowy mikroorganizmów zanieczyszczających ręce zależy głównie od rodzaju przetwarzanego surowca, etapu produkcyjnego, a także od czystości powierzchni roboczych oraz higieny osobistej pracowników.

### Pobranie próby do badań.

- do wykonania oznaczenia potrzebne są 4 jałowe tampony, kolbka z 40cm<sup>3</sup> jałowego płynu Ringera, pinceta



- tampon chwyta się jałową pincetą, moczy w płynie, odciska nadmiar cieczy o wewnętrzną ściankę naczynia i wyciera powierzchnię wewnętrzną dłoni, przestrzenie między palcami oraz powierzchnię paznokci
- czynność powtarza się suchym tamponem
- w ten sam sposób próby pobiera się z drugiej dłoni
- tampony wrzuca się do kolbki z płynem i wytrząsa 5 minut
- wykonuje się posiewy

### Oznaczenia:

#### **1. Liczba bakterii tlenowych mezofilnych**

- posiew wgłębny po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do sterylnej płytki Petriego
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 30°C/72godz.
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie i przeliczyć na 40cm<sup>3</sup> płynu

#### **2. Obecność gronkowców koagulazododatnich**

- posiew po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn w 3 powtórzeniach do pożywki Giolitti-Cantoni
- inkubacja w temp. 37°C/24-48godz.
- po inkubacji określić czy obecne jest zaczernienie podłoża (wynik dodatni)
- jeżeli wynik jest dodatni należy dokonać posiewu potwierdzającego na podłożu RPF

#### **3. Obecność pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae***

- posiew po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn w 3 powtórzeniach do zbuforowanej wody peptonowej (etap przednamnażania),
- inkubacja w temp. 37°C/18godz.
- po inkubacji przenieść po 1cm<sup>3</sup> hodowli do bulionu EE (etap namnażania selektywnego)
- inkubacja w temp. 37°C/24godz.
- posiew potwierdzający na podłożu VRBD
- inkubacja w temp. 37°C/24godz.
- posiew wybranych, charakterystycznych kolonii na podłożu podstawowe
- inkubacja w temp. 37°C/24godz.
- potwierdzanie - test na obecność oksydazy i test fermentacyjny.

Bardzo często zamiast oznaczania obecności rodziny *Enterobacteriaceae* przeprowadza się oznaczenie obecności pałeczek grupy coli.

### Wymagania

| Liczba bakterii tlenowych mezofilnych | Obecność gronkowców koagulazododatnich | Obecność rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> lub pałeczek gr. coli | Stopień czystości rąk    |
|---------------------------------------|--|--|--------------------------|
| poniżej 100                           | nb.                                    | nb.  | ręce czyste              |
| 100-1000                              | nb.                                    | nb.  | ręce dostatecznie czyste |
| powyżej 1000                          | nb.                                    | nb.  | ręce brudne              |



## CZYSTOŚĆ OPAKOWAŃ

Opakowania poza funkcją reklamową spełniają przede wszystkim rolę ochronną przed zanieczyszczeniem i zakażeniem produktu. Niestety najczęściej opakowania nie są produkowane lub magazynowane w środowisku aseptycznym, a te wielokrotnego zastosowania nie zawsze są pozbawione mikroorganizmów.

### Pobieranie próby do badań:

- do badanego naczynia np. butelki wlać 20cm<sup>3</sup> NaCl z dodatkiem 0,05% tiosiarczanu sodu (inaktywator pozostałości detergentów i środków dezynfekujących) i zamknąć korkiem
- butelkę ustawić w pozycji poziomej i obracając ją płukać 20-krotnie całą jej powierzchnię
- popłuczyny przenieść do kolbki

### Oznaczenia:

#### 1. Liczba bakterii tlenowych mezofilnych

- posiew wgłębnym po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do sterylnej płytki Petriego
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 30°C/72godz.
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie i przeliczyć na 20cm<sup>3</sup> płynu płuczącego

#### 2. Obecność pałeczek grupy coli

- posiew po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn w 3 powtórzeniach do pożywki z laktozą, żółcią i zielenią brylantową
- inkubacja w temp. 30°C/48godz.
- po inkubacji określić czy obecne jest zmętnienie i gaz w rurce Dürhama

### Wymagania

| Pojemność opakowania | Liczba bakterii tlenowych | Obecność pałeczek grupy coli | Stopień czystości |
|----------------------|---------------------------|------------------------------|-------------------|
| 1 litr               | poniżej 1000              | nb.                          | dobry             |
| 1 litr               | poniżej 1500              | nb.                          | dostateczny       |
| 0,5 litra            | powyżej 500               | nb.                          | dobry             |
| 0,5 litra            | poniżej 750               | nb.                          | dostateczny       |
| 0,25 litra           | poniżej 200               | nb.                          | dobry             |
| 0,25 litra           | poniżej 500               | nb.                          | dostateczny       |

## CZYSTOŚĆ NACZYŃ STOŁOWYCH I SZTUĆCÓW

### Pobieranie próby do badań:

- jałowym, wilgotnym tamponem z waty o ciężarze 150mg, wykonać rozmaz z powierzchni użytkowej badanego przedmiotu:
  - w przypadku talerzy, kubków, szklanek – również z górnej krawędzi



- w przypadku sztućców uwzględnić też części wygięte i przestrzenie międzyzębowe
  - tampon umieścić w kolbce z 20cm<sup>3</sup> płynu płuczącego i wytrząsać przez 1 minutę

### **Oznaczenia:**

#### **1. Liczba bakterii tlenowych mezofilnych**

- posiew wgłębny po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do sterylnej płytki Petriego
- zalać upłynnionym agarem odżywczym
- inkubacja w temp. 30°C/72godz.
- po inkubacji policzyć wyrosłe kolonie i podać liczbę jednostek tworzących kolonie w przeliczeniu na całą badaną powierzchnię (N<sub>sw</sub>).

#### **2. Obecność pałeczek grupy coli**

- posiew po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn w 3 powtórzeniach do pożywki z laktozą, żółcią i zielenią brylantową
- inkubacja w temp. 30°C/48godz
- zmętnienie i gaz w rurce Dürhama w przynajmniej dwóch probówkach świadczy o obecności pałeczek grupy coli

Zgodnie z wymogami sanitarnymi naczynia uważa się za czyste, jeżeli liczba bakterii tlenowych na całej powierzchni przedmiotu nie przekracza 100, a pałeczki grupy coli są nieobecne w 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn.



### Część praktyczna – ćwiczenie 14

1. Badanie czystości rąk metodą tamponową
  - oznaczenie liczby bakterii tlenowych mezofilnych – posiew metodą wgłębną, bez powtórzeń,
  - oznaczenie obecności pałeczek grupy coli – posiew po 1 cm<sup>3</sup> popłuczyn do pożywki wybiórczej w 3 powtórzeniach.
2. Badanie czystości powietrza metodą sedymentacyjną
  - ½ grupy oznacza liczbą grzybów; ½ grupy oznacza liczbę bakterii (podłoża wylać bezpośrednio przed oznaczeniem, czas ekspozycji wg wskazań Prowadzącego).
3. Badanie czystości naczyń stołowych
  - oznaczenie liczby bakterii tlenowych mezofilnych – posiew metodą wgłębną, bez powtórzeń.
4. Badanie czystości fartuchów, telefonów itp. z zastosowaniem płytek odciskowych (wykonać wg wskazań Prowadzącego)
5. Badanie wody technologicznej z zastosowaniem metody filtrów membranowych – demonstracja.

### Część praktyczna – ćwiczenie 15

1. Odczytanie wyników posiewów z ćwiczenia 14 i porównanie uzyskanych wyników z wymaganiami.
2. **Zaliczenie końcowe** (poprawa wszystkich zaległości).