

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ**

КАСИМОВА ИРОДА КАДИРОВНА

**«САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»
УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

**По направлению
Медико-профилактическое дело - 5510300**

Андижан – 2020

Авторы:

Касымова И.К.

- к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии АГМИ

Рецензенты:

Расулов Ф.Х.

- к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, иммунологии и клинической аллергологии Ферганский филиал ТМА,

Салиева М.Х.

- к.м.н., доцент заведующая кафедрой общей гигиены

До настоящего времени в Республике Узбекистан не было учебного пособия по санитарной микробиологии касающегося специальности медицинской профилактики, а существующие общие вопросы санитарной микробиологии (принципы и методы, учение о санитарно-показательных микроорганизмах, патогенные микроорганизмы в окружающей среде), а также специальные, касающиеся санитарно-микробиологической оценки качества объектов окружающей среды (воды, почвы, воздуха, предметов обихода и оборудования).

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	4
Предисловие.....	5
Введение.....	6
Общие понятия санитарной микробиологии.....	7
Принципы санитарно-микробиологических исследований	34
Общая характеристика методов санитарно-микробиологических исследований	36
САНИТАРНО - МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОДЫ	41
Методы санитарно-микробиологического исследования воды.....	45
Хранение и транспортировка проб воды.....	46
Определение числа сапрофитных микроорганизмов.....	49
Прямой микроскопический метод определения общего количества микроорганизмов.....	51
Определение бактерий группы кишечных палочек.....	53
Определение термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ).....	57
Санитарно-микробиологическая оценка воды.....	61
САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОЧВЫ	
Микрофлора почвы.....	62
Определение бактерий группы кишечных палочек.....	66
Оценка санитарного состояния объектов окружающей среды.....	69
САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОЗДУХА...70	
Методы отбора проб воздуха и приборы.....	72
Определение патогенных микроорганизмов в воздухе.....	78
Список использованной литературы.....	84
Приложения:.....	86

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген

АТ – антитела

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа

ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИЛ – интерлейкин

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ – колония образующая единица

ЛПС – липополисахарид

ПТГ – паратиреоидный гормон

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЯЛ – полиморфно-ядерные лейкоциты

РА – реакция агглютинации

РИТ – реакция иммобилизации трепонем

РИФ – реакция иммунофлюоресценции

РМП – реакция микропреципитации

РПГА – реакция пассивной гемагглютинации

РСК – реакция связывания комплемента

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ХВГ – хронический вирусный гепатит

ХРАС – хронический рецидивирующий афтозный стоматит

IgG - иммуноглобулин класса G

IgM - иммуноглобулин класса M

IgE – иммуноглобулин класса E

sIgA – секреторный иммуноглобулин класса A

CD – клеточные детерминанты

ПРЕДИСЛОВИЕ

Произошедшие в последние годы в стране радикальные социально-экономические и политические перемены требуют принципиально новых подходов в решении вопросов охраны окружающей среды и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Одним из таких подходов является совершенствование системы подготовки специалистов, профессиональная деятельность которых будет связана с природоохранной сферой. Разработка природоохранных мероприятий по предотвращению и устранению биологического загрязнения окружающей среды, оказывающего непосредственное влияние на здоровье человека, является предметом внимания именно специалистов-экологов. В связи с этим преподавание в вузах общей микробиологии невозможно без акцентирования внимания студентов на различных аспектах санитарной микробиологии.

Известно, что микробы являются санитарами нашей планеты. Они очищают загрязненную воду и землю, разлагая трупы животных, остатки растений. Вполне очевидно, что невозможно переоценить значение микробов в жизни на нашей планете. Если хотя бы на мгновение представить такую невероятную ситуацию, что микробы исчезли на земле, то жизнь её в современном виде прекратилась бы везде: в почве, воздухе и воде.

Во все времена одной из проблем человечества была и до сих пор остается проблема производства и доставки безопасных по микробиологическим критериям пищевых продуктов.

В предлагаемом учебном пособии автор стремился обобщить основные сведения о санитарной микробиологии, которые отсутствуют в учебниках по медицинской микробиологии или освещены в них кратко.

Впервые в условиях Республики Узбекистан предложено учебное пособие по санитарной микробиологии, что позволит использовать его для обучения магистров и студентов на соответствующих кафедрах.

Все замечания в отношении содержания, структуры учебного пособия и изложения материала авторами будут приняты с благодарностью.

Введение

Санитарная микробиология - наука, изучающая микрофлору окружающей среды (в том числе патогенные бактерии и вирусы), ее жизнедеятельность и вызываемые в результате этого процессы, которые могут непосредственно или косвенно оказывать неблагоприятное влияние на окружающую среду и здоровье людей.

Началом развития санитарной микробиологии как науки принято считать 1888 г., когда впервые французский врач Е. Массе предложил учитывать наличие кишечной палочки в качестве показателя фекального загрязнения воды. Как наука, санитарная микробиология базируется на основных положениях микробиологии, гигиены и эпидемиологии, постоянно разрабатывая методы контроля за санитарным состоянием воды, почвы, пищевых продуктов и предметов быта.

Результаты исследований в области санитарной микробиологии используются в первую очередь в профилактической и лечебной медицине, а также практически во всех отраслях народного хозяйства. В связи с этим перед санитарной микробиологией стоят следующие задачи:

- *разработка*, совершенствование методов исследования объектов окружающей среды - воды, воздуха, почвы, пищевых продуктов, предметов быта и т.д. При этом используются последние достижения естественных наук;
- *оценка* путей воздействия человека и животных на окружающую среду. В результате общественной и индивидуальной деятельности людей происходит контаминация объектов окружающей среды патогенными микроорганизмами, при этом особое внимание уделяется изучению нарушений процессов самоочищения воды, почвы. Знание законов развития живой материи биосферы позволяет оценивать возможности самоочищения объектов окружающей среды (почвы, воды), создавать методы активного вмешательства человека в процессы, происходящие в природе, в целях ее сохранения и оздоровления;
- *разработка* нормативных документов, определяющих соответствие микрофлоры объектов окружающей среды гигиеническим требованиям, в том числе характеристику по микробиологическим показателям;
- *разработка* рекомендаций и мероприятий по оздоровлению объектов окружающей среды, контроль за их выполнением.
- *охрана* окружающей среды. Эта задача является одной из главных, т.к. на основе закономерностей взаимодействия человека с факторами окружающей среды, разрабатываются научно обоснованные рекомендации по сохранению здоровья человека.

Общие понятия санитарной микробиологии

Санитарная микробиология – это медико-биологическая наука, исследующая закономерности существования потенциально опасных для человека микроорганизмов в окружающей среде и обусловливаемые ими процессы, которые могут оказать вредное влияние на здоровье людей. Она неразрывно связана с эпидемиологией и гигиеной, так как цель проводимых в рамках данной науки исследований – изучение путей попадания болезнетворных микроорганизмов в окружающую человека среду, условий и особенностей их выживания вне организма-хозяина и проникновения их в организм человека. Конечными результатами подобных исследований становятся разрабатываемые санитарными микробиологами рекомендации, на которых базируются санитарно-гигиенические требования к объектам окружающей человека среды.

В большинстве стран мира такие требования носят законодательный характер и для их реализации существуют специальные санитарно-эпидемиологические службы. В постсоветских странах, включая Республику Беларусь, они являются самостоятельной частью систем здравоохранения и представляют собой территориально привязанную сеть учреждений, в обязанность которых входит осуществление постоянного санитарного надзора. Основой такой сети являются лаборатории практического назначения, предназначенные для проведения анализа объектов окружающей среды на предмет их потенциальной опасности для здоровья человека – санитарно-эпидемиологические станции (СЭС). В 90-х гг. XX в. СЭС в Беларуси были переименованы в территориальные (сельские район-ные, городские районные, городские, областные, республиканский) центры ги-гиены и эпидемиологии при полном сохранении их основной структуры. В состав таких центров любого уровня обязательно входит бактериологическая лаборатория, позволяющая осуществлять санитарно-микробиологический анализ воды, почвы, воздуха и продуктов питания.

Для оценки санитарно-микробиологического состояния объектов окружающей среды разработаны специальные методы и определенные показатели, основные из которых – микробное число, титр и индекс.

Микробное число (оно же общее микробное число), сокращенно МЧ (или ОМЧ), отражает количество бактерий в 1 г твердого продукта или почвы, 1 мл исследуе-мой жидкости и в 1 м³ воздуха, способных образовать колонии на плотной мясо-пептонной среде (МПА) при 37 °С в течение 24–48 ч.

Уже из приведенной формулировки видна специфичность и санитарно-эпидемиологическая направленность данного показателя. Он указывает не на реальное количество микроорганизмов в исследуемом объекте, а в основном на число тех бактерий, которые попадают в него из организмов высших животных и человека, так как температура и состав питательной среды обеспечивают именно им оптимальные условия для размножения. При этом следует учесть, что некоторые сапротрофные обитатели естественных микробоценозов также способны формировать колонии в указанных условиях, поэтому для большинства часто подвергающихся санитарно-бактериологическому анализу объектов установлены нормы их обычной микробной обсемененности, т. е. те значения ОМЧ, которые характерны для них постоянно. Обычно число тех или иных бактерий в конкретном микробоценозе регулируется совокупностью имеющихся здесь биотических и абиотических факторов и колеблется незначительно. Превышение этих значений, как правило, указывает на загрязнение объекта выделениями из организма человека или животных, а значит, и на степень его потенциальной опасности. Логика здесь проста – чем выше данный показатель, тем более вероятно присутствие патогенных и условно-патогенных бактерий, местом постоянного обитания которых являются организмы высших животных.

Для определения микробного числа воды или другой жидкости проводят отбор проб в стерильную посуду с соблюдением рекомендованных правил асептики. Доставленные в лаборатории пробы высевают без разведений и (или) после соответствующих десятикратных разведений в мясо-пептонный агар обычно в количестве 1 мл на чашку Петри. Как правило, используется следующий метод посева:

в стерильную чашку Петри без среды вносится засеваемый объем, затем добавляется расплавленная и охлажденная до 50–60 °С агаризованная среда в количестве 10–15 мл и жидкости быстро перемешиваются до начала застывания среды. После полного застывания агара чашки переносят в термостат с температурой 37 °С.

Твердые объекты (почва, ряд пищевых продуктов) анализируются путем предварительного внесения определенных навесок в установленный объем стерильного физиологического раствора (например, 30 г вещества в 270 мл физраствора), затем все механически взбалтывается (желательно до образования однородной суспензии), отстаивается для оседания крупных частиц, и далее полученная жидкость высеивается по описанной выше схеме.

Исходя из сути ОМЧ как показателя понятно, что по ряду причин он не может быть высокоточным. Конечно, идеальными показателями опасности окружающей среды были бы сведения о наличии в ней непосредственных

возбудителей инфекционных заболеваний. Однако их прямое обнаружение при широко осуществляемом постоянном санитарно-микробиологическом анализе на протяжении практически всего XX в. так и оставалось мечтой санитарных микробиологов. Имевшиеся в распоряжении микробиологов методы видовой идентификации бактерий по физиолого-биохимическим и тем более определяющим патогенность и вирулентность свойствам в большинстве случаев требовали недель или даже месяцев, в течение которых опасность заражения, если она имелась, успевала реализоваться. Естественно, что для профилактики инфекционных болезней, ради которой и проводился собственно санитарно-бактериологический анализ, такой подход неприемлем. Поэтому, разрабатывая методики санитарного надзора, микробиологи избрали путь косвенного выявления потенциальной опасности, выражающийся, в частности, в определении ОМЧ.

Совершенствуя анализ в рамках этого же пути, санитарные микробиологи подобрали приемлемые по времени выполнения методики, позволяющие отличить бактерии из микробиоты высших животных и человека от постоянных обитателей естественных водоемов и почв. Так сложилось представление о санитарно-показательных микроорганизмах (сокращенно СПМ или в некоторых изданиях СПМО), широко применяемое в санитарной микробиологии.

Для того чтобы те или иные микроорганизмы получили статус санитарно-показательных, они должны отвечать следующим критериям:

- должны быть симбионтами человека и (или) других высших животных, т. е. постоянными обитателями поверхностей (преимущественно слизистых оболочек) этих организмов;

- должны выделяться из мест своего обитания в окружающую среду в ходе естественных процессов (дефекация, дыхание, чихание, кашель);

- должны существенно не увеличивать свою численность вне организма-хозяина в естественных условиях;

- должны выживать в окружающей среде не меньшее (а желательно большее) время, чем возбудители инфекционных заболеваний (облигатные патогены);

- должны иметь четко тестируемые морфологические и физиолого-биохимические свойства, по которым их можно отличить от свободноживущих;

- выявление указанных выше свойств должно осуществляться в наиболее короткие сроки (до 48 ч);

- методы выявления должны быть осуществимы в минимально оборудованных бактериологических лабораториях персоналом со средним специальным медицинским образованием;

- материальные затраты на проведение анализа должны быть по возможности небольшими.

Три последних критерия продиктованы практическими условиями работы санитарно-эпидемиологических служб и фактически определяют возможность признания системами здравоохранения тех или иных стран данных микроорганизмов в качестве санитарно-показательных.

Следует подчеркнуть, что определение принадлежности бактерий к той или иной группе санитарно-показательных микроорганизмов не является видовой идентификацией. Оно должно указывать только на принадлежность к данной группе, а не к конкретному роду или виду. Это отражается и в официально принятых названиях групп санитарно-показательных микроорганизмов.

В качестве примера можно привести одну из наиболее старых, введенных в употребление еще в конце XIX в., группу санитарно-показательных микроорганизмов с названием «Бактерии группы кишечной палочки» (сокращенно БГКП). Как известно, одними из постоянных обитателей толстого кишечника высших животных являются бактерии из вида *Escherichia coli*, которые постоянно выделяются из кишечника в процессах дефекации. Это хорошо соответствует первому и второму из приведенных выше критериев. Согласно пятому критерию были выбраны несколько легкотестируемых (и в целом соответствующих всем остальным критериям) признаков: палочкообразная форма клетки, грамотрицательность, способность размножаться и сбраживать лактозу с образованием кислоты и газа при 37 °С, отсутствие у этих бактерий оксидазной активности. Этих свойств явно недостаточно для признания этих бактерий представителями вида *Escherichia coli*, однако с точки зрения санитарного надзора этого вполне достаточно для выявления факта фекального загрязнения объекта. Поэтому, характеризуя объект по результатам санитарно-микробиологического анализа, в случае выявления бактерий с указанными свойствами неграмотно сообщать об обнаружении кишечной палочки, т. е. *Escherichia coli* (что сплошь и рядом происходит при оповещении населения о причинах, например, запрета на купание в тех или иных водоемах в летний период), а следует использовать принятое наименование данной группы санитарно-показательных микроорганизмов.

О том, что БГКП соответствует всем основным предъявляемым к СПМ критериям, свидетельствует описание наиболее часто применяемого

метода их выявления. Он называется двухэтапным бродильным методом и заключается в следующем. В первые сутки проводят посев исходного анализируемого материала, а при необходимости (например, при анализе сильно загрязненной воды или почвы) его разведением с шагом 10 в жидкую лактозо-пептонную среду, содержащую 1 % лактозы и какой-либо краситель, являющийся индикатором pH среды. На дне пробирки должен находиться стеклянный поплавок. Засеянные пробирки помещают в термостат с температурой 37 °С и инкубируют в течение ночи. На следующее утро просматривают пробирки и отмечают, в каких из них наблюдается помутнение среды, изменение ее цвета, соответствующее кислым значениям pH, и всплытие поплавка. Наличие указанных изменений позволяет уже после первого этапа сделать предварительное заключение о наличии бактерий искомой группы.

Для окончательного заключения необходимо провести второй этап, на котором из пробирок с указанными изменениями производят посев бактериальной петлей на плотную среду Эндо таким образом, чтобы при росте культуры получить изолированные колонии. (Среда Эндо содержит 1 % лактозы и оттитрованный раствором сульфита натрия до слабо-розового цвета основной фуксин (pH готовой среды 7,4). На такой среде при росте бактерий, образующих при утилизации лактозы органические кислоты, фуксин из-за сдвига pH приобретает интенсивную красную окраску.) Засеянные чашки помещают в термостат и инкубируют в течение ночи при 37 °С, после чего просматривают чашки в целях определения цвета сформировавшихся колоний. Наличие колоний темно-красного цвета, иногда с металлическим блеском, подтверждает принадлежность бактерий к искомой группе. Однако для окончательного вывода осуществляют приготовление мазка, для чего берут половину колонии, а вторую половину используют для определения оксидазной активности.

Приготовленный мазок фиксируют над пламенем спиртовки и окрашивают по методу Грама. Для определения оксидазной активности половину анализируемой колонии растирают по поверхности фильтровальной бумаги, пропитанной раствором диметилпарафенилендиамина. При наличии оксидазной активности бумага должна окрашиваться в красный цвет.

После микроскопирования анализируемых мазков и обнаружения в них палочкообразных бактерий розового цвета при отсутствии у изучаемых бактерий оксидазной активности делается окончательный вывод о присутствии в анализируемом образце бактерий группы кишечных палочек.

Как видно, все применяемые для выявления БГКП методы легковыполнимы в обычной бактериологической лаборатории, не требуют значительных материальных затрат и реализуются в течение 48 ч.

Описанный метод позволяет не только обнаружить присутствие БГКП, но и определить их количество. Зная, какие объемы анализируемых проб и соответствующих разведений засеивались на первом этапе, рассчитывают количество анализируемых бактерий в данном образце. Результаты таких расчетов могут быть выражены либо в виде титра, либо в виде индекса. Это два взаимосвязанных санитарно-микробиологических показателя, применяемых для оценки загрязненности объектов конкретными группами санитарно-показательных микроорганизмов.

Титр – это выраженное в граммах или кубических сантиметрах (миллилитрах) количество исследуемого материала, в которых содержится один представитель конкретной группы СПМ.

Индекс – это количество микроорганизмов конкретной группы в определенном объеме или навеске анализируемого объекта. Для большинства твердых и жидких нестерилизованных объектов расчет приводится на 1 г или 1 мл, для подвергающейся специальной очистке или артезианской воды (питьевая вода) – на 1 л, для воздуха – на 1 м³.

Оба показателя, приводимые для одного конкретного объекта, отражают одну и ту же степень обсемененности бактериями данной группы СПМ и могут быть при желании конвертированы. Например, для питьевой воды из городской водо-проводной сети по БГКП допустимым считается титр 333. Это значит, что при выражении через индекс питьевая вода в городах может содержать 3 клетки БГКП в одном литре.

Следует отметить, что в русскоязычной литературе по санитарии и гигиене конца XX в. – начала XXI в. для обозначения бактерий группы кишечных палочек, сбраживающих лактозу с образованием кислоты и газа при 37 °С, используется еще одно название – «общие колиформные бактерии» (сокращенно ОКБ). Это связано с тем, что по мере накопления сведений об обитающих в кишечнике человека граммотрицательных бактериях выявлялась неоднородность БГКП как группы. В частности, выяснилось, что некоторые бактерии этой группы отличаются от остальных способностью делиться и сбраживать лактозу при температуре 43–44,5 °С и одновременно обладают меньшей выживаемостью вне кишечника хозяев, чем другие БГКП. Такие сведения послужили основанием для выделения отдельной группы санитарно-показательных микроорганизмов, указывающих не просто на фекальное загрязнение объекта, а на так называемое свежее фекальное загрязнение, произошедшее в течение трех

суток до отбора проб. Эта группа фигурирует в литературе и нормативных документах под тремя названиями – «фекальные кишечные палочки» (они же «фекальные колиформные бактерии», сокращенно ФКП и ФКБ соответственно) и «термотолерантные колиформные бактерии» (ТКБ).

Часть медиков и санитарных микробиологов рассматривают эту группу СПМ не как отдельную, а как подгруппу внутри БГКП.

Для выявления бактерий этой группы (подгруппы) из трех объемов лакто-зо-пептонной среды, в которых при суточной инкубации при 37 °С образовались кислота и газ, проводят пересев бактериальной петлей в жидкую лактозную среду с борной кислотой и проводят культивирование в течение суток при 43 °С. Возможно также использование вместо лактозной среды с борной кислотой желчно-лактозной среды с красителем бриллиантовым зеленым или красителем кристаллическим фиолетовым (среда Кесслера), но инкубирование в этом случае проводится при 44,5 °С. (Добавление в среды борной кислоты или указанных красителей препятствует размножению грамположительных бактерий, что позволяет некоторым авторам при описании методик называть эти среды селективными, т. е. средами обогащения.) Во всех засеваемых емкостях должны находиться утопленные поплавки, поскольку результат фиксируется по помутнению среды и газообразованию.

При наличии роста в указанных условиях и всплытии поплавков делается предварительный вывод о присутствии ФКП (ТКБ), для окончательного вывода проводят второй этап описанной выше методики выявления БГКП (ОКБ). Тем-но-красные колонии на среде Эндо, грамтрицательные палочки в микроскопическом мазке и отсутствие оксидазной активности подтверждают предварительный вывод.

Показано, что некоторые штаммы, отнесенные по санитарному анализу к ФКБ, являются, по сути, энтеропатогенными вариантами *Escherichia coli* и могут служить причиной пищевых токсикоинфекций. Исходя из этого в некоторых нормативных документах, регламентирующих санитарный анализ продуктов питания, персонала и оборудования пищеблоков, бактерии, выявленные на среде Кесслера, могут проходить под названием *Escherichia coli* или *coli*-группа. Еще раз подчеркнем, что с микробиологической точки зрения это неверно, так как при санитарном анализе полная видовая идентификация не проводится.

Уже на начальных этапах применения БГКП как указывающих на фекальное загрязнение санитарно-показательных микроорганизмов выяснилось, что проводимый на их основе санитарный анализ не является абсолютно точным. Поэтому поиск кандидатов в СПМ был продолжен и в

1910 г. в качестве индикаторов фекального загрязнения были предложены грамположительные кокки, в те времена относимые к роду *Streptococcus*. Два вида этого рода постоянно обнаруживались микробиологами в содержимом кишечника человека и некоторых видов высших животных, из-за чего и получили свои названия – *S. faecalis* и *S. faecium*, что переводится как фекальный и кишечный. Уже тогда их условно называли энтерококками, подчеркивая тем самым их приверженность к обитанию в пище-варительном тракте, и именно под этим названием они вошли в санитарную микробиологию как группа СПМ. В 1984 г. эти два вида были перенесены из рода *Streptococcus* в новый род *Enterococcus* с сохранением их видовых эпитетов и теперь называются *E. faecalis* и *E. faecium*.

Энтерококки как санитарно-показательные микроорганизмы отвечают всем основным предъявляемым к СПМ критериям и даже имеют некоторые преимущества. В частности, они менее устойчивы к факторам окружающей среды, чем БГКП, поэтому их наличие всегда трактуют как свежее фекальное загрязнение. Кроме того, у энтерококков нет аналогов среди свободноживущих бактерий, что уменьшает вероятность получения ложноположительных результатов при санитарном анализе. В отличие от БГКП они выдерживают температуру 60 °С, поэтому их выделение используют для проверки качества пастеризации ряда пищевых продуктов (в частности, молока, котлет и подобных мясных изделий), и более устойчивы к обработке воды хлором, что узаконило энтерококкметрию как обязательный пункт проверки воды.

Для их быстрого выявления в течение XX в. предлагались различные методы, которые основывались на использовании сред, содержащих вещества, подавляющие рост грамотрицательных бактерий, и вещества, дающие при росте энтерококков выраженные цветные реакции. В качестве селективирующих агентов с 30-х гг. XX в. использовали азид натрия, а со второй половины XX в. – антибиотики (полимиксин или канамицин).

Как один из вариантов таких методик можно привести посев анализируемых проб в жидкую щелочно-полимиксиновую среду, содержащую мясопептонный бульон, дрожжевой экстракт, глюкозу, хлорид натрия, карбонат натрия, гидрофосфат натрия и бромтимоловый синий как индикатор на рН. Значение рН исходной среды – 10,4. Перед использованием в среду добавляется антибиотик полимиксин до конечной концентрации 200 ЕД на мл. Если после культивирования при 37 °С в течение ночи регистрируется помутнение и изменение цвета среды на желтый (закисление среды), производится высев петлей на плотную молочно-ингибиторную среду и инкубирование посевов в течение ночи. Молочно-ингибиторная

среда представляет собой мясо-пептонный агар, содержащий 20 % обезжиренного мо-лока, 0,02 % теллурита калия и 0,012 % кристаллического фиолетового. Колонии энтерококков на такой среде крупные, гладкие, имеют темно-серую или черную окраску, иногда вокруг колонии наблюдается просветление среды из-за расщепления казеина выделяемыми энтерококками протеазами. Наличие в приготовленных из таких колоний мазках кокков, образующих короткие цепочки, позволяет сделать заключение о наличии СПМ-группы энтерококков.

При определении энтерококков в относительно чистой воде (например, морской или питьевой) фильтруют определенные объемы воды через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм, после чего фильтр помещают на одну из плотных селективных сред, чаще всего для этих целей используют среду Сланца – Бертли или среду Турчинского. Формирование на этих средах колоний определенной морфологии и цвета считают достаточным для выявления принадлежности к данной группе СПМ.

Еще одной основной группой санитарно-показательных микроорганизмов являются анаэробные спорообразующие сульфитредуцирующие бактерии. Их также относят к СПМ, указываящим на фекальное загрязнение среды, поскольку входящие в нее бактерии постоянно обитают в толстом кишечнике человека и других позвоночных. Однако присутствие в объектах окружающей среды бактерий этой группы не трактуется как косвенное свидетельство наличия способных к эпидемическому распространению патогенов, что отличает их от истинных СПМ. Тем не менее значительное снижение титра по этой группе автоматически ставит объект под запрет использования по санитарным показателям.

Данный парадокс легко объяснить, если знать, что эта группа включает в себя представителей рода *Clostridium*. Эти симбиотические клостридии, обитая в просвете толстого кишечника, проявляют себя как комменсалы, но при попадании на раневые поверхности и возникновении в мышечных тканях анаэробных условий проявляют весь свой набор факторов патогенности, вызывая тяжелейшие постраневые инфекции со смертельным исходом – столбняк и гангрену. Кроме того, пероральное попадание таких клостридий в верхние отделы тонкого кишечника приводит к развитию энтеритов и пищевых токсикоинфекций. Особое значение имеет тот факт, что, являясь облигатными анаэробами, они редко находят условия для активного существования вне толстого кишечника животных и при попадании в окружающую среду быстро переходят в состояние споры.

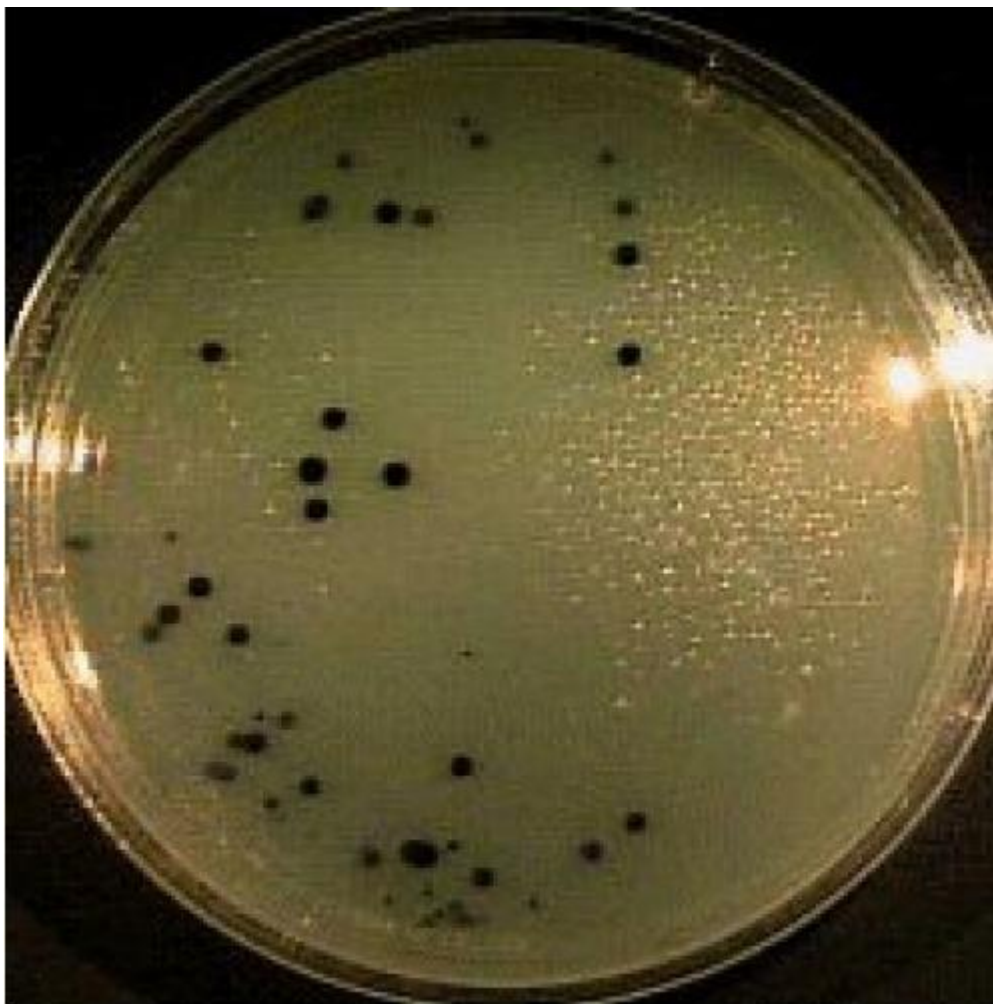
Основное место сохранения и накопления спор этих клостридий – почвы, загрязняемые в течение длительного времени фекалиями животных

или людей. Из почв они разносятся водой и ветром, попадают в водоемы и в производимые с нарушением санитарных норм пищевые продукты. Поэтому при санитарном анализе не только почв, но и всех используемых человеком объектов окружающей среды их определение обязательно, поскольку среди таких клостридий встречаются особо опасные возбудители травматических и пищевых клостридиозов человека, в частности *Clostridium tetani*, *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. botulinum*. Но при плановых санитарных мероприятиях для определения статус-контроля (соответствия действующих объектов законодательно принятым для них санитарным правилам и нормам) и при плановом производственном контроле из-за длительности методик и экономии средств не осуществляется видовая идентификация, а проводится выявление этой группы СПМ. Следует отметить, что основное название для этой группы – анаэробные спорообразующие сульфитредуцирующие бактерии – в медицинской литературе достаточно часто укорачивают, используя как синонимы следующие: сульфитвосстанавливающие клостридии, сульфитредуцирующие клостридии, иногда даже группа *Clostridium perfringens*. Как и в случае с БГКП, применение последнего из этих названий считается неграмотным – при обычном санитарном анализе бактерии не определяются до вида. Видовая идентификация проводится только при чрезвычайном, а не плановом контроле и на основании специальных распоряжений в случае необходимости (например, при массовых пищевых отравлениях с тяжелыми последствиями или других чрезвычайных обстоятельствах).

Один из основных методов выявления анаэробных спорообразующих сульфитредуцирующих бактерий заключается в следующем. Анализируемую жидкость (воду или предварительно полученную взвесь твердого материала, например «почвенную болтушку») разводят с шагом 10 и из каждого разведения переносят по 1 мл в две пробирки, формируя тем самым два так называемых параллельных ряда пробирок. Один ряд пробирок прогревают при температуре 80 °С в течение 15 мин или при 90 °С в течение 10 мин, второй ряд оставляют без температурного воздействия. Затем во все пробирки обоих рядов вносят расплавленную и охлажденную до 45 °С среду Вильсона – Блера в таком количестве, чтобы до края пробирки оставалось около 1 см. Содержимое пробирки быстро перемешивают круговыми движениями и опускают ее для быстрого охлаждения в холодную воду, после чего немедленно закрывают пробирку резиновой пробкой. Эта процедура необходима для создания внутри пробирки анаэробных условий – среда вытесняет большую часть воздуха, а резиновая пробка предотвратит его

попадание внутрь пробирки при культивировании, которое положено проводить в течение 24 ч при температуре 43 °С.

При учете результатов просматривают пробирки на просвет и регистрируют наличие и цвет сформировавшихся в толще агара колоний. Колонии бактерий анализируемой группы должны иметь в среде Вильсона – Блера черный цвет, развивающийся в результате образования при жизнедеятельности бактерий этой группы сульфида железа. Указанная среда (ее второе название – «железо-сульфитный агар») представляет собой обогащенный глюкозой мясо-пептонный агар, содержащий в определенных пропорциях сульфит натрия и хлорное железо. Способность редуцировать сульфиты до сульфид-ионов является отличительным признаком симбиотических клостридий, который и выявляется при взаимодействии сульфид-ионов с ионами железа.



При учете сравнивают между собой пробирки из параллельных рядов – приблизительно одинаковое количество колоний черного цвета в прогретых и непрогретых пробирках указывает на формирование таких колоний из прорастающих спор, тем самым подтверждается способность к спорообразованию бактерий данной группы.

Для окончательного заключения бактерии из развившихся в толще агара колоний бактериальной петлей переносят на предметное стекло, готовят мазок и окрашивают его по Граму. Наличие в препарате палочкообразных грам-положительных бактерий подтверждает выявление СПМ-группы анаэробных спо-рообразующих сульфитредуцирующих бактерий.

Для выявления фекального загрязнения кроме вышеуказанных групп СПМ могут использоваться еще две – это бактерии группы протей и так называемые ко-лифаги. Данные по этим группам менее показательны и обычно дополняют сведения, полученные при выделении основных групп СПМ.

В толстом кишечнике животных и человека обитают представители всех пяти видов рода *Proteus*, однако эти же виды широко распространены в водоемах и почвах. Поэтому о фекальном загрязнении может свидетельствовать только значительное отличие индекса или титра для этой группы по сравнению с нормальными для данного объекта значениями. Метод выявления бактерий группы протей основан на их способности перемещаться по поверхности плотных питательных сред лучше, чем другие подвижные бактерии. Он заключается в посеве бактериальной петлей из анализируемого материала и его десятикратных разведений в конденсационную воду свежеприготовленного скошенного агара. Посев необходимо производить таким образом, чтобы петля не соприкасалась с поверхностью среды выше конденсационной воды. После 24–48-часового культивирования пробирок в вертикальном положении при 37 °С просматривают поверхность скошенного агара. Наличие прозрачной пленки бактериального роста на поверхности указывает на присутствие бактерий искомой группы.

Колифаги как группа санитарно-показательных микроорганизмов в корне отличаются от описанных выше СПМ тем, что представляют собой вирусы. Как известно, вирусы способны репродуцироваться только в клетках своего хозяина и проявляют при этом ярко выраженную хозяйскую специфичность. У постоянных обитателей толстого кишечника млекопитающих также есть свои вирусы, часть из них – бактериофаги кишечной палочки *Escherichia coli* – называют ко-лифагами. Поскольку кишечная палочка редко встречается в окружающей среде в значительных количествах, размножения колифагов в окружающей среде не происходит, а значит, их наличие в анализируемых объектах трактуется как фекальное загрязнение.



Показано, что вирусные частицы колифагов могут сохраняться в водоемах и почвах в жизнеспособном состоянии более 9 мес., поэтому оценивать по их количеству загрязненность бактериальными патогенами проблематично. Но объекты окружающей среды могут быть опасны в плане распространения вирусных заболеваний человека, в частности, кишечных инфекций, вызываемых энтеро-вирусами, для которых выживаемость в почве и воде сопоставима с выживаемостью бактериофагов. Поэтому к концу XX в. интерес санитарных микробиологов к колифагам как дополнительной группе СПМ возродился на новой основе и часть стран ввела определение колифагов в схемы обязательного контроля за качеством питьевой воды из систем централизованного водоснабжения (водопроводная вода в городах).

Для выявления колифагов рекомендован простой в выполнении двухслойный метод титрования бактериофагов по Грациа, в котором в качестве бактериальной культуры используются штаммы лабораторных *Escherichia coli*, производные от *E. coli* K12. Индекс для этой группы представляет собой количество бляшкообразующих единиц (БОЕ) на 1 мл, а для очищенной воды на 1 л.

В дополнение к уже упомянутым группам СПМ при санитарно-микробиологическом анализе определенных объектов на фекальное загрязнение может быть рекомендовано определение следующих групп: сальмонеллы, *Clostridium perfringens*, синегнойная палочка, бактероиды, кандиды, акинетобактеры, аэромонады. Для их выявления используются специальные дифференциально-диагностические среды и методические указания, узаконенные в системах санитарного надзора. Помимо фекального загрязнения окружающей среды, возможно и оральное загрязнение. В этом случае речь идет о попадании в воздух микроорганизмов из дыхательных путей человека или других высших животных. Как и в случае с фекальным загрязнением, в санитарно-микробиологическом контроле воздуха применяется не прямое выявление патогенов, а обнаружение санитарно-показательных микроорганизмов. Основная группа СПМ здесь одна – стафилококки воздушной среды.

Указанное название следует трактовать именно с позиций санитарной микробиологии, поскольку воздух не является постоянной средой обитания ни для каких микроорганизмов, а обнаружить бактерии в воздухе можно в момент их временного пребывания там. В атмосферном воздухе (вне жилых, производственных, лечебных и других помещений) в небольших количествах присутствуют споры бактерий и находящиеся на пылевых частицах сапротрофные бактерии в вегетативном состоянии. Такой воздух, как правило, не представляет опасности в плане распространения инфекционных заболеваний. В местах длительного пребывания людей воздушная среда существенно загрязняется мельчайшими капельками жидкости, выбрасываемыми из верхних дыхательных путей человека при разговоре, чихании, кашле. Внутри таких капель практически всегда обнаруживаются бактерии нормальной микробиоты дыхательных путей человека и потенциально могут присутствовать патогенные микроорганизмы.

Время пребывания бактерий в воздухе определяется размерами капель образующегося аэрозоля. Больше всего содержащих бактерии аэрозольных частиц образуется при чихании – одномоментно выбрасывается около 60 000 капель с диаметром от 1 до 2000 мкм. Крупные капли (диаметр свыше 100 мкм) имеют наибольшую скорость разлета, преодолевают расстояние порядка 3 м, но быстро (в течение нескольких секунд) оседают под действием силы тяжести. Таких капель образуется менее 10 %, а основную массу возникающего при чихании аэрозоля составляют гораздо более опасные в санитарно-эпидемиологическом отношении капли меньшего размера. Время пребывания их в воздухе исчисляется часами, а иногда и сутками, причем находящиеся внутри таких капель бактерии достаточно долго сохраняют жизнеспособность. Аэрозоль, образующийся при кашле, менее опасен в силу меньшего количества мелких частиц, еще меньше образуется их при разговоре.

Процессы естественного оседания таких капель, а значит, и очищения воздуха, существенно зависят от условий конкретных помещений, частоты их проведения и проведения влажной уборки. Последнее важно потому, что при попадании осевших капель на пылевые частицы и повторном попадании этих частиц в воздух усиливается плотность бактериального загрязнения и продлевается стадия санитарного неблагополучия.

С учетом всего вышесказанного за воздухом некоторых используемых человеком помещений устанавливается санитарный надзор, в ходе которого определяется общее микробное число и индекс стафилококков как СПМ. Наиболее простым методом определения этих показателей является седиментационный (он же метод Коха). Для его реализации залитые

средой чашки Петри расставляют в помещении на высоте стола доньшком вниз, после чего снимают крышки и выдерживают чашки в открытом состоянии в течение определенного времени. Обычным временем для определения микробного числа считается 10–15 мин, для определения индекса стафилококков – 40 мин. Место расположения чашек в помещении выбирают исходя из его формы, для прямоугольных и квадратных помещений традиционно используется метод «конверта» – четыре чашки по углам и одна в центре. Питательной средой для определения ОМЧ служит обыкновенный мясо-пептонный агар, для стафилококков – желточно-солевой агар. Для его приготовления к МПА добавляют NaCl до концентрации 7,5–10 % и 15–20 % по объему эмульсии желтка куриного яйца в физрастворе. Повышенная концентрация NaCl ограничивает рост других бактерий, а наличие желтка позволяет выявить характерную для стафилококков лецитиназную активность. Экспонированные положенное время чашки Петри помещают в термостат на 37 °С и после инкубирования в течение ночи подсчитывают количество образовавшихся колоний.

Для расчета таких показателей, как ОМЧ или индекс (для воздуха они приводятся на 1 м³), при седиментационном методе пользуются формулой Омелянского: $ОМЧ = (N \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100) / (S \cdot T)$, базирующейся на допущении, что при отсутствии дополнительных потоков воздуха (при естественном оседании) на поверхность площадью 100 см² в течение 5 мин оседает количество микроорганизмов, находящееся в 10 л воздуха. Обозначения в этой формуле следующие: N – среднее количество колоний на одной чашке Петри, S – площадь поверхности среды в одной чашке, T – время экспозиции (пребывания чашки в открытом состоянии во время отбора пробы).

Для более точного определения показателей используют специальные приборы, принцип действия которых основан на прокачивании определенного объема воздуха через прибор. При этом возможны два варианта улавливания находящихся в прокачиваемом воздухе микроорганизмов. В первом варианте воздух, проходя через имеющуюся в крышке прибора узкую щель, соударяется с поверхностью среды в чашке Петри, находящейся на вращающемся в период забора пробы столике. На этом так называемом ударно-прибивном принципе устроены прибор Киктенко, прибор Соколянского, бактериоуловитель Кротова и др. Во втором варианте воздух продувается через жидкость (как, например, в бактериоуловителе Дьяконова) или мембранный фильтр (фильтрационный принцип). В дальнейшем из жидкости делается посев на соответствующие

плотные питательные среды или на такие среды переносится экспонированный фильтр.

Кроме свидетельствующих о фекальном загрязнении СПМ (иногда их называют СПМ группы I, а по терминологии О. К. Поздеева – СПМ группы А) и СПМ для оценки состояния воздуха (они составляют группу II или группу В), к санитарно-показательным организмам относят и те, которые прямо не связаны с санитарно-эпидемиологическим состоянием среды. Они были введены для контроля за процессами очистки загрязненных промышленно-канализационными стоками вод и почв (что также входит в круг задач санитарной микробиологии) и составляют группу III (группу С). В нее входят протеолитические сапротрофы, аммонификаторы и нитрификаторы, аэромонасы и бделловибрионы, споровые микроорганизмы, грибы и актиномицеты.

Заканчивая описание применяемых в настоящее время принципов и методов санитарного надзора за средой, следует отметить, что с развитием молекулярно-биологических методов исследования в современной санитарной микробиологии наблюдается заметный сдвиг в сторону все большего использования прямых методов выявления патогенов в объектах окружающей среды на базе различных видов амплификации молекул ДНК. Вне всякого сомнения, будущее за этими методами, которые стремительно совершенствуются и одновременно упрощаются в плане их практического использования. Однако в наше время их внедрение в практику работы санитарных служб ограничивается высокой стоимостью реактивов и приборного оснащения лабораторий. Поэтому даже в развитых странах классические методы санитарной микробиологии, базирующиеся на оценке санитарного состояния по СПМ, остаются основными.

Из используемых человеком природных объектов окружающей среды в первую очередь санитарному надзору подвергается вода. Санитарно-микробиологическое исследование воды зависит от степени и характера ее использования людьми, а также от источников водоснабжения. Обязательному санитарному контролю подвергаются:

- 1) питьевая вода централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения (так называемая водопроводная вода);
- 2) вода подземных и поверхностных источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения;
- 3) децентрализованная питьевая вода (из колодцев, артезианских скважин и родников);
- 4) вода всех типов естественных водоемов в зонах рекреации;

- 5) пресная и морская вода плавательных бассейнов;
- 6) хозяйственно-бытовые сточные воды после обеззараживания и очистки.



Для каждого из перечисленных вариантов воды существуют законодательно установленные нормативы по ОМЧ и конкретным группам СПМ. В частности, для питьевой воды централизованного водоснабжения в расчете на 100 мл допускается ОМЧ 5000, ОКБ, ТКБ и колифаги должны отсутствовать. Анаэробные сульфит-редуцирующие спорообразующие бактерии не должны выявляться в 20 мл. Эти показатели с определенным запасом гарантируют безопасность потребляемой воды, так как для питьевой воды из колодцев, родников и артезианских скважин допускается титр ОКБ 100 и ОМЧ 1000 КОЕ/мл.

Пресная вода, поступающая в бассейны для плавания, должна соответствовать воде централизованного водоснабжения, но в процессе эксплуатации она подвергается санитарному контролю не менее одного раза в 10 дней. Пробы отбираются с глубины 20–30 см и не менее чем в двух точках в глубокой и мелкой части бассейна. В 100 мл воды для купания в бассейне должны отсутствовать ОКБ, ТКБ, а колифаги могут присутствовать в количестве 2 БОЕ. Для поддержания воды бассейнов в таком состоянии она периодически подвергается дезинфицирующей обработке.

Кроме того, почва в местах обитания людей и высших животных аккумулирует в течение длительного времени споры возбудителей газовой гангрены, столбняка и ботулизма. Практически всегда травматические клостридиозы возникают при попадании на раневые поверхности почвенных частиц, содержащих такие споры, а пищевые клостридиозы – в результате

контаминации пищевых продуктов почвой при нарушении технологии их изготовления.

Исходя из этого основными санитарно-микробиологическими показателями для являются ОМЧ, титр БГКП, титр анаэробных спорообразующих сульфитредуцирующих бактерий. В случаях аварийных ситуаций в системах очистки сточных вод и канализации, а также во время массового заболевания людей к определению обычных показателей добавляют выявление энтерококков (их наличие укажет на свежее фекальное загрязнение), термофильных бактерий (укажет на загрязнение компостами из фекальных масс животных и твердых бытовых отходов) и конкретных патогенных микроорганизмов, вызвавших вспышку инфекционного заболевания.

Безопасной (чистой) считается почва, в которой титры БГКП и анаэробных спорообразующих сульфитредуцирующих бактерий 1 г и выше, загрязненной (опасной) она становится при титрах этих СПМ 0,01–0,001 г и чрезвычайно опасной признается, если оба титра менее 0,001 г.

Предупредительный санитарный надзор за состоянием почв осуществляется во время отведения земельных участков под новые населенные пункты и строительство зданий определенного назначения в уже существующих населенных пунктах. Во время текущего государственного санитарного надзора в местах постоянного проживания людей оценивается состояние естественной и искусственно созданной почвы на территориях, прилегающих к жилым и общественным зданиям, и в обязательном порядке на детских и спортивных площадках. Также обязательным является санитарный анализ почв во время текущего санитарного надзора за очистными сооружениями канализации и сооружениями по утилизации и обезвреживанию твердых бытовых отходов.



Сроки анализов в ходе текущего санитарного надзора утверждаются главным санитарным врачом определенной административной единицы на основе санитарных норм и правил, принятых законодательно. В случаях возникновения аварийных ситуаций и эпидемий назначаются дополнительные мероприятия в целях выявления источников загрязнений.

Во всех случаях забор проб должен осуществляться согласно установленным инструкциям и методическим указаниям, при этом пробы должны быть показательными для всей обследуемой территории. Для этого взятую из пяти мест на обследуемом участке почву после доставки в лабораторию тщательно перемешивают и растирают в фарфоровой ступке, удаляя посторонние примеси (корни, камни и т. п.). Навески усредненной таким образом пробы вносят в заданный объем стерильной водопроводной воды или физиологического раствора и интенсивно перемешивают в целях смыва бактерий с поверхности почвенных частиц (приготавливают так называемую «почвенную болтушку»). После отстаивания полученную жидкость разводят 3–5 раз с шагом 10 и проводят определение необходимых показателей.

Воздух как среда обитания человека также должен соответствовать санитарным нормам. По силе и характеру воздействия воздушной среды на здоровье людей следует разделять воздух открытых пространств (так называемый атмосферный воздух) и воздух закрытых помещений. Атмосферный воздух подвергается санитарному контролю по его загрязненности газами и твердыми частицами, возникающий в основном за счет промышленно-производственной деятельности человека. С точки зрения его участия в распространении возбудителей инфекционных заболеваний он практически всегда считается чистым по сравнению с воздухом закрытых помещений.

Для жилых помещений по санитарно-микробиологическим показателям воздух считается чистым, если в расчете на 1 м³ ОМЧ меньше 3000, индекс стафилококков меньше 75, а стрептококков меньше 10. Удовлетворительно чистый воздух характеризуется ОМЧ от 3001 до 4000, индексом стафилококков 76–100, индексом стрептококков 11–40. При повышении этих показателей до 7000, 150 и 120 соответственно воздух становится слабозагрязненным, а при превышении этих цифр загрязненным. Такие же требования предъявляются к общественным помещениям, где люди находятся в рабочее время или во время зрелищных мероприятий.



Особое внимание уделяется в больницах. Для больничных палат установлены разные режимы в летний и зимний периоды. В летний период воздух признается сильно загрязненным при ОМЧ больше 5000, индексе стафилококков больше 52 и индексе стрептококков больше 36. По зимнему режиму в палатах о сильном загрязнении свидетельствуют ОМЧ более 7000, индекс стафилококков более 124, индекс стрептококков более 102.

Для помещений хирургических отделений вне зависимости от сезона нормы более строгие. В операционных до начала работы ОМЧ должно быть менее 500, во время работы может возрастать до 1000, индекс стафилококка до начала работы и после ее окончания – 0. В перевязочных до начала работы, как и в операционных, во время работы – ОМЧ не более 2000, индекс стафилококков – не более 4.

Санитарно-микробиологический контроль пищевых продуктов по вполне понятным причинам сопоставим с соответствующим контролем питьевой воды. Однако санитарные нормы для каждого производимого продукта питания и реализуемых в системе общепита блюд могут существенно различаться в зависимости от его свойств. Наиболее опасными по санитарно-микробиологическим критериям являются молоко и молочные продукты, яйца домашней птицы, мясо, рыба и продукты из них. Это связано с высокой вероятностью попадания на такие продукты патогенных и условно-патогенных бактерий из организмов животных или почвы при несоблюдении правил заготовки сырья, транспортировки и хранения продукта. Часть таких продуктов потребитель получает без снижающей количество бактерий промышленной обработки, что повышает риск передачи возбудителей инфекционных заболеваний. Менее опасными считаются сухие

продукты питания (крупы, макаронные изделия), но и для них существуют законодательно установленные санитарно-микробиологические нормы, поскольку их инфицирование возможно при неправильном хранении и порче их грызунами.

Особое внимание в гигиене питания уделяют продуктам растительного происхождения, употребляемым в сыром виде. Их обсемененность возбудителями инфекционных болезней связана с почвенными загрязнениями при выращивании, сборе и транспортировке. Однако их санитарно-микробиологический контроль осуществлять считается нецелесообразным, потребитель сам должен следить за чистотой употребляемых в пищу овощей и фруктов.

Для большинства пищевых продуктов промышленного производства санитарно-микробиологический контроль осуществляется производителем в ходе процессов их производства и упаковки, для чего при таких производствах существуют бактериологические лаборатории. Тем не менее государственными службами санэпиднадзора проводится плановое обследование поступающих в торговую сеть и хранящихся на складах пищевых продуктов.

Особое внимание обращается на соблюдение узаконенных нормативов при взятии проб, так как они должны быть показательными в отношении всей партии исследуемого продукта. Перед отправкой в лабораторию пробы помещают в соответствующую закрывающуюся тару, которая опломбируется. Транспортировку осуществляют в кратчайшие сроки, желательно с использованием сумок-холодильников. Такой же принцип в обязательном порядке соблюдается при отборе проб полуфабрикатов в кулинариях и блюд, приготовленных в предприятиях общепита.

В лабораториях пробы жидких и полужидких продуктов тщательно перемешивают. Если продукт обладает резкокислой реакцией, его подщелачивают стерильным 10% раствором бикарбоната натрия до 7,2–7,4 pH. Крем, мороженое и сливочное масло перед посевом помещают для расплавления в водяную баню с температурой не выше 43 °C. Для посевов продуктов плотной консистенции обычно приготавливают 10% взвесь, для чего стерильно из разных мест анализируемой пробы берут навеску, суммарно составляющую 15 г, измельчают ее в го-могенизаторе или растирают в стерильной ступке, после чего добавляют 135 мл стерильного физиологического раствора или стерильной водопроводной воды. Полученную взвесь анализируют подобно жидким продуктам. В зависимости от предполагаемой обсемененности и наличия в продукте собственной микробиоты делается необходимое количество 10-кратных разведений.

При обычном санитарно-микробиологическом анализе определяют ОМЧ

и показатели в основном для таких групп СМП, как БГКП и анаэробные спорообразующие сульфитредуцирующие бактерии, для ряда продуктов определяют наличие вспомогательных групп СПМ – стафилококков и стрептококков в мороженом, кремах для пирожных и напитках или сальмонелл для куриного мяса и яиц. При наличии эпидемиологических указаний проводят анализ на выявление конкретных возбудителей инфекционных заболеваний. При плановой проверке предприятий общепита параллельно с исследованием пищевых продуктов может осуществляться санитарный контроль за столами для приготовления пищи, разделочными досками, используемой для приготовления пищи водой и смывами с кожи рук работников пищеблока, связанных с приготовлением и раздачей пищи.

При пищевых отравлениях посетителей пищеблока проводятся дополнительные внеплановые исследования по расширенной программе в целях выявления причин отравления или заболевания и установления вины лиц, ответственных за качество пищи в данном учреждении. При возбуждении уголовного дела в случаях смертельных исходов отравления исследования проводят специалисты судебно-медицинской экспертизы.

Несмотря на то, что профилактика инфекционных заболеваний получила в XX в. широкое распространение, основной задачей медицины всегда было и остается лечение (терапия) заболевших.

Патогенность - способность микроорганизмов вызывать заболевание. Этот принцип является свойством вида. Например, *Corynebacterium diphtheriae* (микроорганизмы, вызывающие заболевание дифтерией) считаются патогенными для человека, однако отдельные штаммы этого вида могут сильно различаться по степени патогенности (в и р у л е н т н о с т и) . Следовательно, вирулентность - признак штамма, а не вида. Поэтому можно говорить о высоко- низко- и даже авирулентном штамме определенного вида. Вирулентность микроорганизмов определяется двумя факторами:

и н в а з и в н о с т ь ю , т.е. способностью размножиться в организме хозяина, и т о к с и г е н н о с т ь ю , т.е. способностью образовывать токсины - вещества, повреждающие органы (ткани) хозяина. Некоторые виды патогенных микроорганизмов повреждают макроорганизм при помощи косвенного механизма, вступающего в действие при условии предварительного контакта с тем же возбудителем. Это явление называется повышенной чувствительностью, или аллергией. В этом случае участвует иммунная реакция чувствительного хозяина на компонент клетки паразита.

Токсигенность. Впервые это явление наблюдали исследователи в конце XIX века, работая с микроорганизмами *Clostridium tetani* (возбудитель столбняка) и *Corynebacterium diphtheriae*. Фильтраты, освобожденные от клеток микроорганизмов, вводили опытным животным. При вскрытии погибших животных обнаруживались симптомы, характерные для соответствующей инфекционной болезни. Как выяснилось позже, не все бесклеточные фильтраты патогенных микроорганизмов были токсичными, это позволило предполагать экзогенную и эндогенную природу бактериальных токсинов.

Исследование структуры токсинов и их локализации стало возможным лишь с развитием химической и биологической наук. Однако даже в настоящее время эти исследования часто бывают затруднены вследствие различия условий и конечных результатов культивирования клеток *in vivo* и *in vitro*, а также ввиду сложности подбора системы для культивирования возбудителя той или иной болезни. К примеру, токсичные вещества возбудителей сибирской язвы (*Bacillus anthracis*) и чумы (*Yersinia pestis*) - это комплексы двух или более веществ, которые не обладают токсическим действием как в изолированном состоянии, так и вне организма-хозяина. Например, токсин возбудителя холеры (*Vibrio cholerae*) был обнаружен только при введении фильтратов культуры в изолированную петлю кишечника кролика.

Как правило, экзотоксины - вещества белковой природы, а эндотоксины - комплексы липополисахаридов с белками, находящимися в наружных слоях клеточных стенок (для Грам (-) микроорганизмов).

Патогенные микроорганизмы попадают в окружающую среду с выделениями больных людей и животных, носителей соответствующих инфекций, а также с трупами погибших от инфекционных заболеваний. Патогенные микроорганизмы могут передаваться от одного хозяина другому, этот процесс называется *инфекцией*, а при возникновении патологического процесса - *инфекционным заболеванием*.

ТОНКОСТЕННЫЕ, ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ		ТОЛСТОСТЕННЫЕ, ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ	
Менингококки		Пневмококки	
Гонококки		Стрептококки	
Вейлонеллы		Стафилококки	
Палочки		Палочки	
Вибрионы		Бациллы*	
Кампилобактерии, Хеликобактерии		Клостридии*	
Спириллы		Коринебактерии	
Спирохеты		Микобактерии	
Риккетсии		Бифидобактерии	
Хламидии		Актиномицеты	

*Расположение спор: 1 – центральное, 2 – субтерминальное, 3 – терминальное

Рисунок 1. Основные формы бактерий

Болезнетворные микроорганизмы проникают в организм хозяина различными путями:

- с пищей или водой;
- с взвешенными в воздухе частицами пыли или влаги;
- путем прямого контакта с больным (носителем инфекции);
- через укус любого носителя инфекции;
- в результате попадания на поврежденные участки кожи.



Непосредственное обнаружение возбудителей инфекционных болезней в объектах окружающей среды (несмотря на то, что в настоящее время разработаны методы прямого, ускоренного и количественного их определения) имеет целый ряд трудностей. К ним относятся следующие:

- патогенные микроорганизмы находятся в окружающей среде непостоянно - сравнительно легко их можно обнаружить в период эпидемии той или иной инфекции, но очень трудно - в межэпидемические периоды. Основная же деятельность санитарных микробиологов направлена на предупреждение возникновения эпидемий и поэтому вся работа ведется в межэпидемические периоды;
- концентрация патогенных микроорганизмов в окружающей среде значительно уступает непатогенным и распространение их в объектах неравномерно;
- при выделении патогенных микроорганизмов методами культивирования на питательные среды, даже ингибиторные, они неизбежно страдают от конкуренции сапрофитной флоры.

В связи с вышеизложенным очевидно, что получаемые отрицательные результаты прямого определения патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды еще не говорят с достоверностью об их отсутствии.

В качестве косвенных показателей загрязнения объектов окружающей среды используют показатели их общей обсемененности (КМАФАнМ - количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) и наличие в них микроорганизмов-комменсалов

(сапрофитных микроорганизмов) млекопитающих. Микроорганизмы-сапрофиты постоянно обитают в кишечнике или в верхнем отделе дыхательных путей человека и животных, многие из них относятся к условно-патогенной микрофлоре, т.е. могут проявлять свои патогенные свойства только при определенных условиях. Такие микроорганизмы называются *санитарно-показательными*.

Основные требования, предъявляемые к санитарно-показательным микроорганизмам, следующие:

- 1) постоянное обитание в естественных полостях организма человека и животных (которые являются их единственной природной средой обитания - биотопом) и выделение их в большом количестве в окружающую среду;
- 2) продолжительность выживания их в окружающей среде должна быть такой же или большей, чем патогенных микроорганизмов, выводимых из организма теми же путями;
- 3) не должны размножаться в окружающей среде;
- 4) не должны сколько-нибудь значительно изменять свои биологические свойства при попадании в окружающую среду;
- 5) должны быть достаточно типичными, с тем, чтобы их дифференциальная диагностика осуществлялась без особого труда;
- 6) индикация, идентификация и количественный учет должны производиться современными, простыми, легко доступными и экономичными микробиологическими методами.

Находя в исследуемом материале представителей микрофлоры полости рта, делают заключение о попадании слизи из дыхательных путей, в которой могут содержаться и возбудители дифтерии, скарлатины, туберкулеза и пр. инфекционных болезней дыхательных путей. К сапрофитным микроорганизмам слизистых оболочек верхних дыхательных путей (являющихся санитарно-показательными микроорганизмами) относятся зеленящий стрептококк -, гемолитический стрептококк - *Streptococcus haemolyticus*, в отдельных случаях стафилококк - *Staphylococcus pyogenes* (aureus).



Обнаруживая в объектах окружающей среды представителей микрофлоры кишечника, делают заключение о фекальном загрязнении и возможной опасности присутствия брюшнотифозных, дизентерийных палочек, сальмонелл и др. возбудителей кишечных инфекций. Из постоянных обитателей кишечника в качестве санитарно-показательных микроорганизмов приняты следующие: БГКП (бактерии группы кишечных палочек), энтерококки (*Enterococcus*, *Str.faecalis*, *Str.faecium*), сульфитредуцирующие анаэробы - преимущественно *Clostridium perfringens*, бактерии группы *Proteus*, кишечные бактериофаги. Причем, санитарно-показательное значение бактериофагов особенно возросло в последнее время в связи со вспышками вирусных заболеваний, а некоторых странах фаговый тест является обязательным при санитарно-микробиологическом исследовании воды.

Принципы санитарно-микробиологических исследований

Принципы, которыми руководствуются микробиологи при санитарно микробиологических исследованиях, исходят из основной задачи, разрешаемой ими: определение возможности присутствия в исследуемом объекте патогенных микроорганизмов или токсинов, образующихся при их жизнедеятельности, а также обнаружение и оценка степени порчи изучаемого объекта (особенно пищевых продуктов). Эти принципы можно охарактеризовать следующим образом:

1. *Правильное взятие проб* для санитарно-микробиологических исследований с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта, и правил стерильности. Ошибки, допущенные при взятии проб, приводят к получению неправильных результатов, и исправить их уже нельзя. При упаковке и транспортировке проб необходимо создавать такие условия, чтобы не допустить гибели или размножения исходной микрофлоры в исследуемом объекте. Сохранение материала допускается только в условиях холодильника и не более 6-8 ч. Каждая проба сопровождается документом, в котором указывают название исследуемого материала, номер пробы, время, место взятия, характеристику объекта, подпись лица, взявшего пробу.



2. *Проведение серийных анализов.* Этот принцип исходит из особенностей исследуемых объектов. Как правило, вода, почва, воздух и другие объекты содержат разнообразные микроорганизмы, распределение которых неравномерно, к тому же микроорганизмы, находясь в биоценологических отношениях, подвергаются взаимному влиянию, что ведет к гибели одних и активному размножению других. Поэтому берут серию проб из разных участков исследуемого объекта, по возможности большее количество проб, что позволит получить более достоверную характеристику объекта. Доставленные в лабораторию пробы смешивают, затем точно

отмеряют необходимое количество материала - *среднее* по отношению к исследуемому материалу в целом.

3. *Повторное взятие проб.* Данная операция необходима для получения сопоставимых результатов. Это связано прежде всего с тем, что исследуемые объекты весьма динамичны (вода, воздух и т.п.), сменяемость микрофлоры в них во времени и пространстве очень велика. Патогенные микроорганизмы попадают в окружающую среду, как правило, в небольшом количестве, к тому же и распределяются в ней неравномерно. Поэтому повторное взятие проб позволяет более точно определить биологическую контаминацию объектов окружающей среды.

4. *Применение стандартных методов* исследования, утвержденных соответствующими ГОСТами и инструкциями, что дает возможность в различных лабораториях получать сравнимые результаты.

5. *Использование одновременно комплекса тестов* для получения разносторонней санитарно-микробиологической характеристики. Применяют *прямой метод* обнаружения патогенных микроорганизмов и *косвенный*, позволяющий судить о загрязнении объектов окружающей среды выделениями человека и животных и его степени. К косвенным тестам относится определение общего микробного числа, количественного и качественного состава санитарно-показательных микроорганизмов. Применение косвенных методов оценки потенциальной возможности загрязнения объектов окружающей среды патогенными микроорганизмами, использование обходного пути для изучения обсемененности материалов, является особенностью санитарно-микробиологических исследований.

6. *Проведение оценки исследуемых объектов по совокупности полученных результатов* при использовании санитарно-микробиологических тестов с учетом других гигиенических показателей, указанных в соответствующих ГОСТах и нормативах (органолептических, химических, физических и т. д.). Всегда необходимо учитывать, что развитие микробов тесно связано с другими факторами окружающей среды, которые могут оказывать как благоприятное, так и неблагоприятное влияние, усиливая или ограничивая возможности размножения патогенных микроорганизмов и накопления их токсинов. Следует учитывать и то, что почти любой объект исследования имеет собственную микрофлору, которая вызывает специфические биохимические процессы, и те изменения в объектах, которые обусловлены посторонними микроорганизмами. Грамотный микробиолог должен хорошо знать ход биохимических процессов, происходящий в норме в исследуемом объекте (почва, вода), технологию производства, уметь определить характер вредного воздействия попавших

микробов, возможные последствия такого воздействия и рекомендовать конкретные мероприятия по их предупреждению.

7. Ответственность специалистов за точность обоснования выводов и заключений о состоянии исследуемых объектов. При санитарно-микробиологическом исследовании выявляется степень порчи пищевых продуктов (или других объектов), пригодность их к употреблению, возможная опасность для здоровья населения. Запрещение использовать пищевые продукты, воду водоемов и др., закрытие предприятия из-за санитарного неблагополучия наносят определенный экономический ущерб. Ответственность за такое решение несет врач санитарной службы.

В целях предотвращения попадания и развития патогенных микроорганизмов на пищевые продукты на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания постоянно проводят санитарно-микробиологический контроль всех объектов, контактирующих с продукцией - воздуха, воды, оборудования, тары, упаковочных материалов, рук обслуживающего персонала, а также непосредственных источников обсеменения продукции - сырья, вспомогательных материалов.

Общая характеристика методов санитарно-микробиологических исследований

При организации планового санитарно-микробиологического контроля на предприятиях пищевого профиля используют, прежде всего, косвенные методы определения присутствия патогенных микроорганизмов. При этом для оценки санитарного состояния объектов окружающей среды используют количественные и качественные микробиологические показатели.

Обзор методов, которые используются при санитарно-микробиологическом контроле, представлен в виде схемы на рисунке 1.

Количественные показатели характеризуют степень обсемененности данного объекта микроорганизмами, т.е. общее микробное число в единице веса (объема) - обычно в 1г (1см³). Существует два метода определения микробной обсемененности: метод прямого подсчета и метод количественного посева проб исследуемого объекта или его разведений на питательные среды.

Прямой подсчет микроорганизмов в исследуемом объекте проводится под микроскопом в счетных камерах Горяева или в камерах, специально сконструированных для счета бактерий. Предварительно пробу исследуемого объекта подвергают обработке, чтобы получить гомогенную взвесь. Для лучшего учета бактерий в исследуемую суспензию добавляют краситель, чаще всего эритрозин. Можно проводить прямой подсчет и на мембранных фильтрах, через которые пропускают исследуемую жидкость или взвесь.

Метод прямого подсчета применяется в экстренных случаях, когда необходимо срочно дать ответ о количественном содержании бактерий, например, при авариях в системе водоснабжения, при оценке эффективности работы очистных сооружений и т. п. Метод прямого подсчета кажется простым и удобным, однако он имеет ряд существенных недостатков, снижающих его ценность и из-за этого довольно редко используется. Существенным недостатком его является невозможность подсчитать бактерии, когда образуются их скопления или когда они «прилипают» к частицам исследуемого субстрата, не удастся подсчитать мелкие микроорганизмы, не говоря уже о вирусах. И наконец, метод прямого подсчета не дает возможности отличить живые микроорганизмы от погибших. Создание автоматических приборов для регистрации общей микробной обсемененности, таких как фотоэлектрические и электронные счетчики, делает метод прямого подсчета более перспективным.

Метод количественного посева исследуемого материала на плотные питательные среды применяется наиболее часто. Из приготовленных серийных десятикратных разведений исследуемой жидкости или суспензии по 1 мл переносят в стерильные чашки Петри (начиная с большего разведения, каждое разведение отдельной пипеткой) и заливают расплавленным и остуженным до 45—50 °С мясопептонным агаром - МПА (глубинный посев). Для равномерного смешивания чашки слегка двигают по поверхности стола и после застывания агара помещают в термостат.

После инкубации подсчитывают число выросших колоний и с учетом разведения высчитывают число жизнеспособных микробов в единице объема исследуемого объекта. Если посева выращивали при 30 °С, то показателем общей обсемененности исследуемого материала является КМАФАнМ (или МАФАнМ). КМАФАнМ не определяют только у продуктов, при производстве которых используют заквасочные культуры. В зависимости от вида продукта и способа его производства этот показатель может свидетельствовать об общем санитарно-эпидемиологическом состоянии продукта, свежести или начальной стадии порчи внешне доброкачественного

продукта, хотя во многих случаях метод считается приблизительным из-за невозможности выявить все микроорганизмы в объекте на одной питательной среде, т.к. их физиолого-биохимические свойства различны. Кроме того, режим инкубации также не соответствует требованиям всех микроорганизмов в ассоциации, не дают роста микробы, находящиеся в комочках исследуемого объекта, а если и наблюдается рост колоний, то, возможно, не из одной особи. Наконец, часть микроорганизмов теряет способность к размножению в силу антагонизма, конкуренции и других причин. Несмотря на недостатки этого показателя, для многих продуктов КМАФАнМ нормируется.

В обязательном порядке контролируются санитарно-показательные микроорганизмы, обнаружение которых также является косвенным показателем биологической контаминации исследуемого материала патогенными микроорганизмами. Превышение нормативов по допустимому содержанию санитарно-показательной микрофлоры свидетельствует о возможном присутствии тех или иных патогенных микробов.

Для количественной характеристики применяются две группы методик: определения титра и индекса.

Титр - это тот наименьший объем исследуемого материала (в миллилитрах) или весовое количество (в граммах), в котором обнаружена хоть одна особь санитарно-показательного микроорганизма. Например, для определения титра кишечной палочки в воде засевают несколько разных объемов (от 100 до 0,1 или до 0,01 мл в зависимости от предполагаемой степени загрязнения объекта) в жидкие сахарные питательные среды. Размножение в них кишечных палочек регистрируется по наличию брожения-расщепления углевода до кислоты и газа. Пересев на плотные дифференциально-диагностические среды и идентификация выросших колоний позволяют выяснить те объемы, в которых присутствовала кишечная палочка. Затем с помощью специальных таблиц, определяют колич-титр. Набор таблиц входит в ГОСТ.

Индекс - количество особей санитарно-показательного микроба, обнаруженного в определенном объеме (количестве) исследуемого объекта. Для воды, молока, других жидких продуктов - в 1 л, для почвы, и пищевых продуктов - в 1 г. Индекс - величина, обратная титру, поэтому перерасчет титра в индекс и обратно можно производить по формуле:

$$титр \equiv_{индекс} \frac{1000}{индекс}; индекс = \frac{1000}{титр} . \quad (1)$$

Соответственно для почвы и пищевых продуктов:

$$\text{титр} = \frac{1}{\text{индек}}; \text{индекс} = \frac{1}{\text{тит}} \cdot (2)$$

Индекс чаще определяют путем применения мембранных фильтров или посева различных разведений исследуемых субстратов на питательные среды.

Выбор того или иного санитарно-показательного микроорганизма зависит от исследуемого объекта и конкретной задачи. Соответственно говорят, например, о титре или индексе протей или маслянокислых бактерий и т.п. Нередко (и во многих ГОСТах это узаконено) одновременно исследуется и ведется количественный учет двух или более санитарно-показательных микроорганизмов.

Качественные показатели указывают на отсутствие (присутствие) микробов конкретных видов в определенной массе продукта.

Прямое выявление в пищевых продуктах патогенных или условно-патогенных микробов и их ядов проводится в соответствии с существующими нормативными документами. Обычно проверяют наличие микроорганизмов *p.p.Salmonella*, *Staphylococcus*, *Cl.botulinum* и их токсинов, *Cl.perfringens*, *Bac.cereus* и др. Согласно требованиям ГОСТов патогенные микроорганизмы и их токсины должны отсутствовать в определенном объеме (массе) материала, подвергнутого исследованиям (25, 50 г и т.д.).

Санитарно-микробиологическое исследование объекта на присутствие патогенных микроорганизмов проводится работниками СЭС в плановом порядке, а также внепланово - по эпидемическим показаниям. Для определения патогенных микроорганизмов могут быть использованы следующие методы (рис.1):

- прямой посев исследуемого материала в питательные среды;
- предварительная концентрация патогенных микроорганизмов пропусканием исследуемого объекта (жидкой консистенции) через мембранные фильтры или посевом в среды накопления;
- обнаружение патогенных микроорганизмов методом заражения чувствительных животных (биопроба);
- применение ускоренных методов: серологических, люминесцентно-серологических и радиоизотопного.

Для иллюстрации последней группы методов ниже представлена общая характеристика ускоренных методов исследования воды. Наибольшее применение получил метод люминесцентно-серологический, который в настоящее время рекомендуется для обнаружения в воде микроорганизмов *p.p.Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* и др. Метод иммунофлюоресценции основан на способности антител, предварительно обработанных различными флюорохромами (флюоресцеина изотиоцианат, родамина сульфохлорид, родамина сульфотриид и др.), адсорбироваться на поверхности микробной клетки и вызывать ее свечение. Метод флюоресцирующих антител применяется в трех модификациях: прямой, непрямой и непрямой метод с добавлением комплемента. *При прямом методе* каплю исследуемой воды, в которой предполагается наличие патогенных бактерий, помещают на предметное стекло, обрабатывают специфической к искомому микроорганизму люминесцирующей сывороткой и наблюдают под люминесцентным микроскопом. На темном фоне препарата при положительном результате видна яркая флюоресценция по периферии клеток. *При непрямом методе* обработка препаратов происходит в два этапа: специфической иммунной сывороткой выявляют присутствие соответствующих бактерий, на следующем этапе обнаруживают образовавшийся комплекс обработкой меченой иммунной сывороткой, содержащей антитела к глобулинам специфической сыворотки. Этот метод имеет существенное преимущество перед прямым, так как для выявления любых бактерий используется одна меченая сыворотка против антител – глобулинов, содержащихся в специфической сыворотке (как правило, глобулинов кролика).

При непрямом методе с добавлением комплемента препарат обрабатывают в 3 этапа: сначала специфической к искомому микробу иммунной сывороткой, затем - комплементом, который адсорбируется на комплексе антиген - антитело, и, наконец, иммунной противокomплементарной флюоресцирующей сывороткой.

Для повышения эффективности метода следует предварительно концентрировать бактерии в исследуемой воде на мембранных фильтрах центрифугированием или посевом в среды обогащения. В этом случае люминесцентно-серологическим методом удастся обнаружить энтеробактерии при наличии в пробах воды даже единичных клеток в 1 мл. Метод флюоресцирующих антител рекомендуется применять при индикации в воде возбудителей туляремии, чумы, бацилл сибирской язвы. Однако люминесцентно-серологический метод является только сигнальным методом

индикации патогенных бактерий в воде, и при положительном его результате должно проводиться тщательное бактериологическое исследование воды.

Для ускоренного обнаружения БГКП в воде был предложен радиоизотопный метод (Корш Л.Е., 1978). Принцип метода заключается в определении количества БГКП по количеству метаболической двуокиси углерода, выделяемой при жизнедеятельности бактерий из элективных сред, меченных ^{14}C . Результат можно получить через 5-6 ч.

САНИТАРНО- МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОДЫ

Цели и задачи санитарно-микробиологического исследования воды. Поскольку вода используется при производстве любого вида продукции, а также непосредственно в пищу, соответствие ее качества санитарно-микробиологическим показателям чрезвычайно важно. Водным путем могут передаваться кишечные инфекции - холера, брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, дизентерия, гепатит А, полиомиелит, а также лептоспирозы, сибирская язва, туляремия, туберкулез, сап, Ку-лихорадка, различные грибковые заболевания. В связи с этим основной целью санитарно-микробиологического исследования воды является определение наличия в воде патогенной и условно-патогенной микрофлоры, и, следовательно, источника этого попадания, а также предупреждение распространения инфекционных заболеваний среди населения.



Санитарно-микробиологическое исследование воды проводится в следующих случаях:

- 1) при выборе источника централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и периодическом контроле этого источника;
- 2) при контроле эффективности обеззараживания питьевой воды централизованного водоснабжения;
- 3) при наблюдении за подземными источниками централизованного водоснабжения, за такими как артезианские скважины, почвенные воды и т. д.;
- 4) при определении состояния и степени пригодности воды источников индивидуального водопользования (колодцев, родников и т.д.);
- 5) при наблюдении за санитарно-эпидемиологическим состоянием воды открытых водоемов: водохранилищ, прудов, озер, рек;
- 6) при контроле эффективности обеззараживания воды плавательных бассейнов;
- 7) при проверке качества и степени очистки сточных вод;
- 8) при определении очага водных вспышек инфекционных болезней.

Все санитарно-микробиологические исследования воды регламентируются соответствующей НТД (табл.1).

Таблица 1

Перечень нормативно-технической документации по санитарно-микробиологическому контролю воды

Названия документов	НТД
1	2
Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Гигиенические, технические требования и правила выбора	ГОСТ 2761—84
Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа	ГОСТ 18963—73
Охрана природы. Гидросфера. Гигиенические требования к зонам рекреации водных объектов	ГОСТ 17.1.5.02—80
Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества морских вод	ГОСТ 17.1.3.08—82
Вода питьевая. Полевые методы санитарно-микробиологического анализа	ГОСТ 24849-81
Вода питьевая. Отбор проб (Российский государственный стандарт)	Р51XXX-00
Требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников	СанПиН 2.1.4.544-96

Продолжение таблицы 1

1	2
Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества	СанПиН 2.1.4.559-96
Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды (4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы.). М.: Минздрав России	МУК 4.2.1018-01

При санитарно-микробиологическом исследовании воды определяются различные показатели в зависимости от поставленной задачи и характера исследуемого объекта (табл. 2)

Таблица 2

Ориентировочные показатели, контролируемые в воде из разных источников

Объекты исследования	Обязательные исследования	Дополнительно Рекомендуемые
1	2	3
Вода питьевая централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения	Число колоний сапрофитов БГКП	E. coli
Вода питьевая при нецентрализованном использовании местных источников	БГКП	—
Вода подземных источников централизованного водоснабжения	Число колоний сапрофитов БГКП	E. coli
Вода поверхностных источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения в черте населенных пунктов	ЛКП	Число колоний Сапрофитов E.coli; Энтерококки; Колифаги Сальмонеллы; Шигеллы; Энтеровирусы

Продолжение таблицы 2

1	2	3
Вода в водных объектах в рекреации	ЛКП	Число колоний Сапрофитов E. coli, Энтерококки Колифаги, Стафилококки

		Сальмонеллы, Шигеллы Энтеровирусы
Вода купально- плавательных и спортивных бассейнов с пресной и морской водой	БГКП Число колоний сапрофито в Стафилоко кки	Энтеровирусы E. coli
Хозяйственно- бытовые сточные воды после очистки и обеззараживания	ЛКП	Сальмонеллы Шигеллы Энтеровирусы

Методы санитарно-микробиологического исследования воды

Важным правилом является соблюдение стерильности: забор воды производят в стерильную посуду стерильными приборами и обязательно продезинфицированными (денатури-рованным этиловым спиртом или другим дезинфицирующим средством) руками. Отбор проб воды выполняет санитарный врач, его помощник или специально проинструктированный сотрудник лаборатории.



Хранение и транспортировка проб воды

Достоверность получаемых результатов и выводов зависят от правильности забора проб.

Вода для санитарно-бактериологического анализа забирается в объеме 0,5 л в стеклянные бутылки или флаконы, закрытые ватно-марлевыми пробками и завязанные сверху бумажными колпачками. При

необходимости исследования воды на присутствие возбудителей кишечных инфекций количество воды увеличивают до 2,5 л.



Для взятия проб воды из глубины (открытых водоемов, колодцев, бассейнов и т. д.) используют специальные приборы: батометр, приборы Исаченко, Рутнера и др. Батометр представляет собой металлический каркас длиной 0,5—1 м (рис.6). Каркас изготавливается из металла, не подвергающегося коррозии, и может компактно складываться, так как состоит из отдельных колец. Дно каркаса свинцовое и служит грузилом. Внутри устанавливают стерильную бутылку, закрытую стерильной резиновой или корковой пробкой с кольцом, к которому привязана веревка. При погружении в воду на необходимую глубину, потягивая за веревку, пробку открывают, сосуд заполняется водой, о чем свидетельствует прекращение появления пузырьков воздуха на поверхности воды. Веревку опускают, бутылка автоматически закрывается. После извлечения батометра притертую пробку заменяют стерильной ватной (которая должна быть завернута в бумагу и находиться в комплекте с батометром).

Для взятия проб с большой глубины (более 30 м) можно использовать приборы Исаченко, Рутнера, Романенко-Младова.

При отсутствии батометров пробу воды можно отбирать с помощью бутылки, в пробку которой монтируют две стеклянные трубки, соединенные резиновым шлангом. Одна трубка длинная и доходит до дна бутылки, другая - короткая. К резиновому шлангу привязывают веревку. Бутылку на тросе опускают в водоем и на заданной глубине, дернув за веревку, снимают резиновую перемычку со стеклянных трубок, вода начинает поступать в длинную трубку, а через короткую выходит воздух. После отбора пробы, бутылку вынимают из водоема, тут же закрывают ватными пробками отверстия стеклянных трубок и отправляют на исследование.

Для взятия проб питьевой воды используют склянки емкостью 0,5—1 л. При взятии проб воды из кранов, их предварительно обжигают пламенем горящего ватного тампона, смоченного спиртом, затем полностью открывают и в течение 10 мин воду спускают. Воду наливают в бутылки с соблюдением стерильности, не смачивая горлышко, чтобы не допустить замачивания пробки. Родниковую воду берут непосредственно из струи или из середины текущего родника, на расстоянии 10-15 см от поверхности и дна. Артезианскую и колодезную воду забирают на глубине 10—15 см от поверхности воды. Из проруби пробы отбирают на глубине 10—15 см от нижнего края льда. Из открытых водоемов, как правило, берут серию проб на разном удалении от берега на различной глубине с учетом места водозабора и движения воды.

Лед, используемый на пищевых предприятиях и в хранилищах, также подвергается санитарно-микробиологическому исследованию. Для анализа берут кусок льда не менее 2 кг, в лаборатории его обмывают стерильной водой и стерильными инструментами из глубины вырубают несколько кусочков так, чтобы общая масса была около 500 г. Лед помещают в стерильную посуду и оставляют при комнатной температуре, после растаивания исследуют как воду.

Пробы сточных вод также забирают в стерильные бутылки. Однако объем каждой пробы может колебаться от 500 до 10 мл в зависимости от места взятия (при проверке отдельных этапов очистки, после обработки, перед сбросом в водоем) и от задач анализа.



Все взятые для исследования пробы воды пронумеровываются, в сопроводительном документе должно быть указано: наименование водоема, водоисточника, его местонахождение; описание места отбора проб (для водоемов - расстояние от берега и глубина), близость источников загрязнения, быстрота течения, метеорологические условия - температура воды, воздуха, наличие осадков, ветра, волн и т. д.; дата взятия пробы (час,

число, месяц, год), цель исследования. Сопроводительный документ подписывается лицом, бравшим пробу, с указанием его должности.

Транспортировать воду следует в сумках-холодильниках или в ящиках с термоизолирующей прокладкой (температура в которых не более 1—2°C), предохранять от резких толчков (чтобы не замочить пробки), замерзания, действия солнечных лучей.

Исследование воды должно быть проведено не позднее 2 ч с момента отбора пробы, лишь в виде исключения допускается хранение пробы до 6 ч при температуре 4-5°C. При более длительном и неправильном хранении может наступить размножение или гибель микрофлоры.

Доставленные пробы воды регистрируют в специальном журнале с пронумерованными и прошитыми страницами.

Определение числа сапрофитных микроорганизмов

К сапрофитным микроорганизмам, населяющим водоемы, относятся мезофильные аэробы и факультативные анаэробы, способные на питательной среде образовывать колонии, видимые при увеличении в 2-5 раз. Количество микроорганизмов, вырастающих в виде колоний, соответствует степени загрязнения воды органическими веществами, что характеризует состояние воды. Поэтому общее количество сапрофитных микробов следует рассматривать как существенный косвенный показатель санитарного состояния воды.

Определение общего микробного числа воды можно проводить методом серийных десятикратных разведений с посевом на мясопептонный агар (МПА) и методом прямого микроскопического подсчета микроорганизмов в исследуемой воде.

При определении первым методом посеvy выращивают в зависимости от цели исследования при температуре 37° С в течение 24 ч, или при 20-22°C -48 ч, или при обоих температурных режимах параллельно. Например, при выборе нового источника водоснабжения определяют две группы сапрофитов: 1) вырастающих при температуре 20-22 °С в течение 48 ч, 2) вырастающих при 37°C в течение 24 ч. При температуре 20°C вырастает большее количество сапрофитов и именно они являются наиболее активными участниками процесса самоочищения водоема. В местах большого загрязнения сточными водами численное значение обеих групп сапрофитов близко, поэтому динамика численности этого показателя считается чувствительным индикатором загрязнения водоемов, особенно

органическими веществами. При определении числа сапрофитов при двух температурных режимах делают параллельно каждый посев на 2 чашки Петри со средой (в двух повторностях). Объем воды для посева выбирают с таким расчетом, чтобы на чашках выросло не менее 20, но не более 300 колоний (табл. 4). Перед посевом пробы тщательно перемешивают, затем готовят 10-кратные разведения (при сильном загрязнении). Засев каждого разведения - в количестве 1 мл глубинным способом.

После инкубации (при 20 и 37⁰С) подсчитывают все колонии, выросшие как на поверхности среды, так и в глубине ее. При прямом подсчете с обратной стороны дна чашки карандашом по стеклу отмечают каждую подсчитанную колонию (чтобы не учесть ее дважды).

Если на агаре в чашках выросло много колоний (более 300) или они расплывчатые, а анализ нельзя повторить, то подсчет можно вести при помощи специальных камер или прибора для счета колоний. Этот прибор значительно облегчает подсчет, так как он ведется с помощью лупы, дающей увеличение колоний в 2 раза, что ускоряет работу и упрощает процесс определения количества колоний. Аппарат состоит из металлического корпуса, на верхней части которого находится круглая пластинка из термостойкого матового стекла с нанесенной на нем сеткой. Под стеклом вмонтирована электрическая лампочка, которая освещает сетку. Чашка с посевом, помещенная на стекло, снизу подсвечивается.



Рис.2. Прибор для счета колоний в чашках.

Подсчет колоний ведется с помощью электропера авторучки, соединенной с автоматическим счетчиком. При каждом надавливании на ручку (в момент нанесения на обратной стороне дна чашки точки пером в месте нахождения колоний) при электроконтакте на автоматический счетчик поступает импульс, что регистрируется появлением очередной цифры на табло счетчика.

Конечный результат – ОМЧ - рассчитывают по формуле:

$$ОМЧ = \frac{K \cdot P \cdot (3)}{V}$$

где ОМЧ - общее микробное число, колонийобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов в 1 мл исследуемой воды;

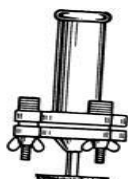
К- количество колоний на чашке Петри;

Р- фактор разведения;

V- объем, засеваемый на чашку, мл.

Вычисляют среднеарифметическую величину для каждого разведения (при засеве на 2 и более чашки Петри параллельно). Если колоний выросло так много, что они не поддаются счету, или наблюдается рост расплывчатых колоний по всей поверхности агара, то в результате отмечают «сплошной ползучий рост».

Прямой микроскопический метод определения общего количества микроорганизмов



Этот метод впервые был предложен в 1932 г. А.С. Разумовым. Сущность метода заключается в концентрации бактерий на мембранных фильтрах (при пропускании через них исследуемой воды), последующем окрашивании эритрозином и микроскопировании.

Прямой метод удобен тем, что результат, т. е. количество микроорганизмов в 1 мл воды, может быть получен в течение нескольких часов. Поэтому рекомендуется использовать прямой метод, если необходимо дать

быструю санитарную оценку воды: при оценке процесса естественного самоочищения водоемов, при оценке эффективности работы очистных

сооружений на всех этапах и т.д. Для фильтрования воды используют мембранные фильтры, фильтр Зейтца (рис.8) или специальный аппарат Долгова-Разумова. Мембранные фильтры - тонкие (0,1-0,5 мм) круглые пластинки из нитроклетчатки или ацетилцеллюлозы диаметром 35 мм. В зависимости от размера пор различают фильтры марки Ф(фильтрующие): № 1 - 350 нм; № 2 - 500 нм; № 3 - 700 нм; № 4 - 900 нм; № 5 - 1200 нм.

Фильтры с осевшими на них микроорганизмами высушивают, помещая на фильтровальную бумагу в чашках Петри в термостат или в сушильный шкаф, а затем окрашивают карболовым эритрозином (5 г эритрозина на 100 мл 5% раствора фенола). При окрашивании фильтры кладут нижней поверхностью в чашку Петри на фильтровальную бумагу, предварительно смоченную эритрозином, и выдерживают в течение 1 ч (можно до 18 ч) с закрытой крышкой. Окраска и последующая промывка препарата происходит через поры мембранного фильтра. Остатки эритрозина отмывают, помещая фильтр в чашку Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой. Так делают 3-5 раз, перекладывая фильтр из одной чашки в другую на бумагу, смоченную дистиллированной водой, до тех пор пока бумага под фильтром не перестанет окрашиваться. После последней промывки поверхность фильтра остается розовой (за счет окрашенных бактерий), а края его становятся бледно-розовыми.

Затем мембранный фильтр с окрашенными микроорганизмами высушивают и помещают на предметное стекло, предварительно капнув каплю иммерсионного масла на стекло и на фильтр, который накрывают тонким покровным стеклом. Микроскопируют с иммерсионным объективом, в окуляр вкладывают сетчатый микрометр, разделенный на мелкие квадраты. Подсчитывают микроорганизмы в 20 полях зрения (в каждом поле зрения в 4 маленьких квадратах, расположенных по диагонали). Расчет общего количества бактерий в 1 мл. (X) ведется по формуле:

$$X = \frac{S \cdot N \cdot 10^6}{S_1 \cdot V}, \quad (4)$$

где S - фильтрующая площадь прибора (мм²);

10⁶ - переводной коэффициент квадратных миллиметров в квадратные микрометры;

N - среднее количество бактерий в одном квадрате;

S_l - площадь квадрата окулярного микрометра (мкм^2); V - объем профильтрованной воды (мл).

Определение бактерий группы кишечных палочек

Понятие «*бактерии группы кишечных палочек*» включает различных представителей семейства Enterobacteriaceae: родов Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella и др. По нормативной документации к БГКП относятся грамотрицательные, не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37°C в течение 5—24 ч (приложение 3, табл. 3.1). По международной классификации такие микроорганизмы относят к *общим колиформным бактериям (ОКБ)*. Они попадают в окружающую среду, в том числе и в воду, с испражнениями человека и животных, поэтому обнаружение их свидетельствует о фекальном загрязнении и эпидемической опасности в отношении кишечных инфекций.

БГКП (ОКБ) можно определять двумя методами: методом мембранных фильтров и титрационным (бродильным) методом.

Исследование воды методом мембранных фильтров. Метод основан на фильтрации установленного объема воды через мембранные фильтры, выращивании посевов на дифференциально-диагностической среде и последующей идентификации колоний по культуральным и биохимическим признакам.

Перед употреблением мембранные фильтры проверяют на отсутствие трещин, отверстий, пузырей и кипятят в дистиллированной воде в течение 10 мин (при этом нельзя допускать скручивания фильтров). Для полного удаления из фильтров остатков растворителей, которые применяются при их изготовлении, кипячение следует повторить 3-5 раз со сменой дистиллированной воды. Подготовленные таким образом фильтры сохраняются в банках с дистиллированной водой или в сухом виде. В день постановки опыта фильтры повторно стерилизуют кипячением в дистиллированной воде в течение 10 мин.

Фильтрацию производят с помощью специальных приборов или фильтра Зейтца (рис. 9). Перед посевом воды аппарат стерилизуют фламбированием. После остывания на фильтровальный столик, на котором расположена сетка, стерильным пинцетом помещают мембранный фильтр, прижимают его воронкой или металлическим цилиндром и плотно закрепляют специальными винтами. Отросток колбы, в которую фильтруется

вода, с помощью резиновой трубки соединяют с водоструйным или масляным насосом для создания вакуума в приемном сосуде (около 0,25 атм).

Объем воды для посева выбирают с учетом таблицы 4, он должен быть таким, чтобы на фильтре выросло не более 30 изолированных колоний. *Рекомендуемый объем питьевой воды - 300мл.* Исследуемую воду каждого объема фильтруют не менее чем через 2 фильтра.

В воронку или стакан наливают необходимые объемы воды, начиная с меньших, а затем большие, каждый раз меняя фильтры. Самый меньший объем воды - 1 мл - следует фильтровать через фильтр, предварительно смоченный стерильной водой. После фильтрования верхнюю часть прибора снимают и фильтр осторожно (при сохранении вакуума для удаления излишка влаги на фильтре) стерильным пинцетом переносят на среду Эндо в чашку Петри. Фильтр накладывают вверх поверхностью, на которой осели бактерии, избегая появления пузырьков воздуха между фильтром и средой. На одну чашку можно разместить 4 фильтра, под каждым на дне чашки следует надписать объем воды, номер пробы и число. Если вода мутная, то фильтрование ведется сразу через два фильтра: предварительный фильтр № 6 (для задержания крупных частиц) помещают на фильтр № 2. После фильтрования оба фильтра переносят на среду Эндо. Чашки с фильтрами помещают в термостат и инкубируют при температуре 37°C в течение 24 ч. При окончательном результате учитывают колонии, выросшие на обоих фильтрах.

При наличии в воде БГКП (ОКБ) на фильтрах появляется рост типичных для этих бактерий колоний: темно-красные с металлическим блеском или красные, розовые с красным центром, имеющие четкий отпечаток на обратной стороне фильтра. Бактерии из таких колоний окрашивают по Граму и микроскопируют. Окраску по Граму можно заменить на тест Грегерсена (приложение 3). С культурой грамотрицательных бактерий лактозоположительных колоний ставят оксидазный тест (приложение 3) для дифференциации бактерий семейства *Enterobacteriaceae* от *Pseudomonadaceae* (последние являются оксидазообразующими бактериями). Оставшуюся часть оксидазоотрицательной Гр(-) изолированной колонии засевают в пробирку с полужидкой лактозной средой и инкубируют при 37°C, 48 ч. При появлении кислоты и газа за более короткий промежуток времени, результат считают положительным.

Индекс ОКБ (БГКП) рассчитывают по формуле:

$$\text{индекс} = \frac{K \cdot 1000}{V}, \quad (5)$$

где K- количество проверенных (БГКП) колоний на фильтрах;
на^V принадлежность к ОКБ

V- объем профильтрованной воды через фильтры, на которых велся учет.

Например, профильтровано по 100 мл в трех повторностях, на одном фильтре выросло 5 колоний, на другом - 2, на третьем - нет роста.

Индекс ОКБ будет равен: $[(5 + 2) \times 1000] : 300 = 23$ КОЕ (колонийобразующих единиц). Для перевода индекса в титр используют формулу (1), для рассмотренного случая: Титр=1000:23=43,5мл. В соответствии с ГОСТ, у воды питьевой индекс ОКБ должен быть не более 3, у воды плавательного бассейна – не более 10.

Метод мембранных фильтров является современным, точным, менее трудоемким и более дешевым в сравнении с титрационным методом. Он удобен и тем, что позволяет концентрировать бактерии, содержащиеся в значительном объеме воды на небольшой поверхности фильтра. Однако одним из самых существенных недостатков метода является то, что этим методом выявляется меньшее количество бактерий в сравнении с титрационным. Для большей точности рекомендуется исследование воды проводить параллельно обоими методами.

Титрационный метод исследования воды. Метод основан на накоплении бактерий после посева установленного объема воды в жидкую питательную среду, с последующим пересевом на дифференциально-диагностическую среду и идентификации колоний по культуральным и биохимическим тестам.

Объем засеваемой воды зависит от характера исследуемого объекта, но обязательно посев ведется в 2-3, а в некоторых случаях- в 5-ти повторностях.

Объемы воды выбирают с таким расчетом, чтобы в одном из разбавлении получить хотя бы один отрицательный результат.

Посев воды производится в глюкозопептонную среду (ГПС): 100 мл воды - в 10 мл концентрированной среды, 50 мл – в 15 мл концентрированной среды, 10 мл - в 1 мл также концентрированной среды; 1 мл и последующие разведения - в 10 мл глюкозопептонной среды

нормальной концентрации. Большие объемы воды засеваются во флаконы или колбы, меньшие - в пробирки. Посевы инкубируют в термостате в течение суток при температуре 37°C.

Из пробирок с посевами, в которых наблюдается помутнение (а также образование кислоты и газа), делают высев на сектора в чашки со средой Эндо. Посевы выдерживают в термостате при температуре 37°C в течение 16-18 ч. При наличии на среде Эндо характерных для БГКП (ОКБ) колоний (красных с металлическим блеском) следует провести все тесты, перечисленные выше. Положительный ответ на наличие БГКП дается в том случае, если наблюдается рост характерных колоний, образованных оксидазоотрицательными, Гр(-) бактериями, сбраживающих лактозу при 37°C с образованием кислоты и газа. Обращают внимание также на отпечаток, окрашенный в красный цвет, на среде после снятия изучаемой колонии. Таким образом, положительный ответ выдается через 40—42 ч. Так же, как и при определении БГКП методом мембранных фильтров, если на среде Эндо выросли лактозоотрицательные колонии (розовые, бесцветные, мелкие красные), то их принадлежность к БГКП (ОКБ) подтверждается отрицательной окраской по Граму, отрицательным оксидазным тестом, способностью ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре 37°C и отсутствием протеолитической активности (при посеве на среду Эндо с молоком).



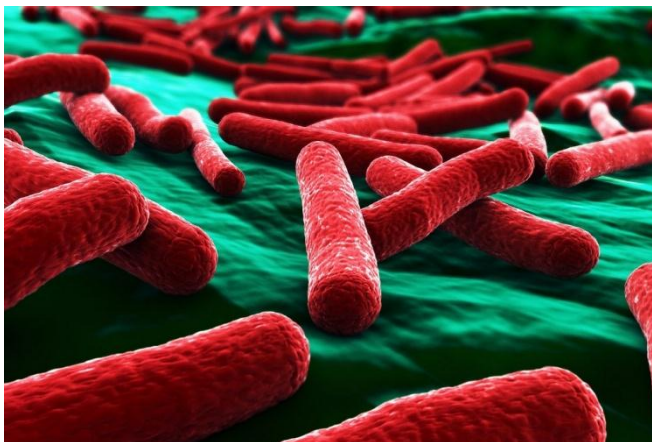
Определение термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ)

Из всех бактерий, входящих в состав БГКП, наибольшее санитарно-показательное значение имеют микроорганизмы рода *Escherichia*. По способности расщеплять лактозу при температуре 37°C из БГКП (ОКБ) принято выделять Гр(-) бактерии, которые способны ферментировать лактозу при температуре 44,5°C. К ним относится *E. coli*, не растущая на цитратной среде. В соответствии с международной классификацией эту группу бактерий называют *термотолерантные колиформные бактерии - ТКБ*.

Определение *E. coli*

Определение *E. coli* является дополнительным показателем для расшифровки происхождения биологической контаминации, определения свежести фекального загрязнения, при оценке качества воды в случае превышения норматива. Такое исследование проводится при периодических анализах воды, а также при неожиданных изменениях в основных показателях - индекса ОКБ, ТКБ. Группа бактерий, условно обозначаемых как *E. coli*, включает лактозоположительные кишечные палочки, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре 43-44,5°C в присутствии ингибиторов посторонней микрофлоры и образующие индол при той же температуре. В основном это

бактерии рода *Escherichia*, но могут быть отнесены в эту группу и представители других родов, обладающие такими же свойствами (например, *Citrobacter* и др.). *E. coli* определяют теми же методами: мембранных фильтров, прямого посева и титрационным.



Различие - на этапе исследования свойств микроорганизмов, выросших на среде Эндо. Результат исследования выражают количеством *E. coli* в 1 л (Coli-индекс).

Метод прямого посева применяется при определении *E. coli* в сточных водах и сильно загрязненной воде водоемов. На чашки со средой Эндо засевают по 0,1—0,5 мл пробы воды (по 4 дозы из каждой пробы), тщательно втирают шпателем и инкубируют в течение 16—18 ч при температуре 37°C. Учитывают рост характерных колоний, определяют биохимические свойства бактерий и определяют коли-индекс, ориентируясь на таблицы.

Определение энтерококков

Энтерококки в последние годы привлекают к себе внимание как микроорганизмы - показатели фекального загрязнения. Они обнаруживаются в окружающей среде, куда попадают с испражнениями человека, животных, птиц, насекомых, являясь постоянными обитателями кишечника. В почве и воде они сохраняются до 6 недель, но не размножаются и не изменяют свои основные биологические свойства. Выживаемость энтерококков в воде приближается к выживаемости патогенных энтеробактерий. Они устойчивы к повышению температуры (нагревание до 55—60° С выдерживают в течение 1 ч), хорошо переносят низкую температуру, обладают значительной устойчивостью к хлору. Все это дает право считать энтерококки вторым после кишечной палочки санитарно-показательным микроорганизмом при исследовании воды.

Особое значение имеет определение энтерококков в воде плавательных бассейнов как более устойчивых к действию обеззараживающих веществ, чем БГКП.

Определение энтерококков проводят методом мембранных фильтров, титрационным, а при большой загрязненности воды (свыше 30 бактерий в 1 мл) -методом прямого посева.

Сущность метода мембранных фильтров состоит в концентрации энтерококков из определенного объема воды на мембранных фильтрах с последующим подрачиванием микробов на специальных средах, идентификации и определении индекса энтерококков.

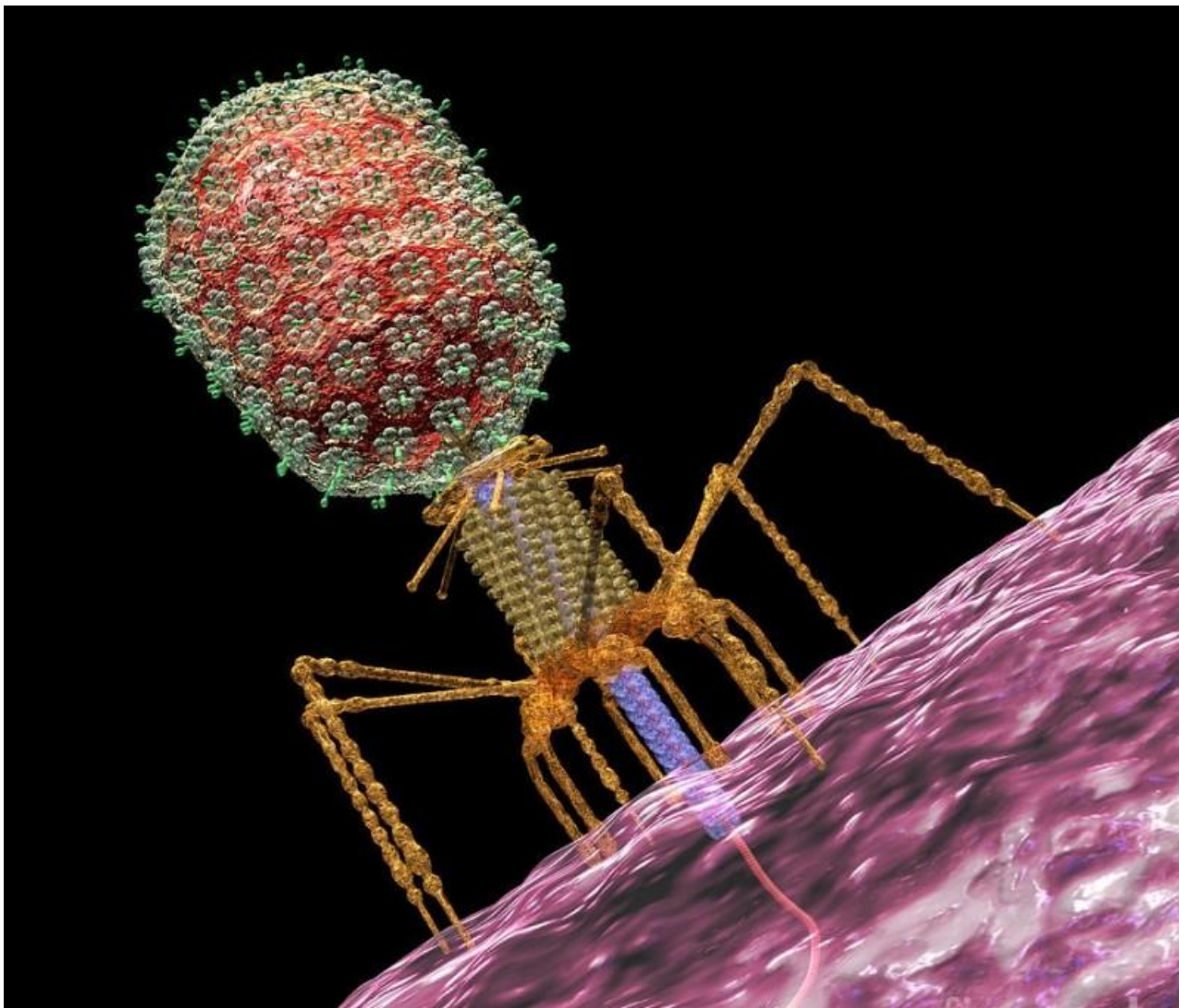
Метод прямого посева предполагает посев в стерильные пробирки 20 мл воды следующим образом: по 10мл в 2 пробирки (объемом не менее 30 мл), или по 5 мл в 4 пробирки (объемом не менее 15 мл).

Сверху посевы воды заливают горячим (75-80⁰С) железосульфитным агаром в количестве, превышающем объем воды в 2 раза. Среду заливают по стенке пробирки, стараясь не допустить образования пузырьков воздуха. Пробирки с посевами быстро охлаждают в стакане с холодной водой, инкубируют при 44⁰С в течение 24 ч.

Количественному учету подлежат только те посевы, где получены изолированные колонии. Подсчитывают черные колонии, выросшие как на фильтре, так и в толще питательной среды. Результат анализа выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) спор сульфит-редуцирующих клостридий в определенном объеме воды (подвергнутой анализу)

Определение бактериофагов

Присутствие бактериофагов в воде, говорит о фекальном загрязнении, и является индикатором или сигналом о возможном присутствии энтеровирусов. Поэтому методы определения бактериофагов (в т.ч. и колифагов) включены в методические указания Минздрава России (2001г.) и регламентированы Международными стандартами (ИСО 10705-1:1995; 10705-2:2000; 10705-3; 10705-4).



Существует несколько методов количественного и качественного определения бактериофагов в воде.

Все методы основаны на чувствительности музейных культур микроорганизмов и предполагают использование следующих тест-организмов (по международным стандартам): мутант *Salmonella typhimurium*, непатогенный для человека, штамм *Escherichia coli* K-12 Hfr из соответствующей коллекции культур ATCC 23631 или NTCT12486, штамм *E.coli* рода CN, называемый WG5, а также бактериофаги MS2, NCTC12487 или ATCC 15597 для контроля чувствительности тест-организмов.

Международным стандартом регламентируются методы определения бактериофагов РНК типа F и соматических бактериофагов, которые позволяют определить присутствие/отсутствие бактериофагов, а также дать их количественную оценку (ИСО 10705-1).

Бактериофаги РНК типа F - это бактериальные вирусы, способные инфицировать определенный штамм хозяина с помощью F-фимбрий или половых фимбрий. Соматические бактериофаги являются непатогенными

для человека, однако являются устойчивыми к внешним факторам, особенно к высушиванию.

Прямой метод выявления бактериофагов. Данный метод представлен в методических указаниях МЗ РФ- МУК 4.2.671-97 и применяется при определении исследований по эпидпоказаниям или в случае необходимости получения результатов в короткие сроки.

Ход определения. За 18-24 часа перед проведением анализа необходимо сделать посев тест-культуры *E.coli* K12 F+(Рос.гос.ин-т мед.и биол.препаратов им. Л.А. Тарасевича) на косяк с питательным агаром (МПА). Перед проведением анализа сделать смыв с косяка 5 мл стерильной водопроводной воды и по стандарту мутности приготовить взвесь тест-организма в концентрации 10⁹ бакт. клеток/мл.

Расплавить и остудить до 45⁰С 2%-ный питательный агар. Исследуемую воду 100 мл внести в 5 стерильных чашек Петри (по 20 мл в каждую). В питательную среду добавить смыв *E.coli* (из расчета 1,5 мл на 150 мл агара) и хорошо перемешать. Полученной смесью залить по 30 мл сначала пустую чашку Петри (контроль), а затем все чашки, содержащие исследуемую воду. Содержимое чашек перемешивают вращательными движениями. После застывания питательной среды чашки переворачивают вверх дном и ставят для инкубирования в термостат при 37⁰С на 18-24 ч.

Учет результатов проводят путем подсчета и суммирования бляшек, выросших на 5-ти чашках Петри. Результаты выражают в бляшкообразующих единицах (БОЕ) на 100 мл воды.

В контрольной пробе бляшки должны отсутствовать.

Санитарно-микробиологическая оценка воды

Оценка качества воды производится комплексно: по санитарно микробиологическим показателям с учетом органолептических, гельминтологических и химических данных и регламентируется соответствующими ГОСТами, санитарными правилами и методическими указаниями. Безусловным показателем загрязненности воды является обнаружение патогенных микроорганизмов. В этом случае вода считается непригодной для любых целей.

При оценке питьевой воды руководствуются основным требованием: она не должна содержать патогенные бактерии и вирусы. При санитарно-бактериологической оценке воды колодцев исходят из того, чтобы в 1 л БГКП содержалось не более 10. Показателем фекального загрязнения воды

колодцев является обнаружение энтерококков. Отсутствие обеззараживания колодезной воды, возможность биологической контаминации (осадки, просачивание загрязненных ливневых и грунтовых вод и т.д.) делают ее эпидемически опасной, и поэтому требуется постоянный контроль. При обнаружении в воде энтерококков вода считается непригодной к употреблению, и колодец подлежит очистке.

Если при выборе нового источника водопользования коли-индекс воды водоема превышает 10 000 в 1 л, то проводится дополнительное исследование на присутствие *E. coli* и энтерококков как показателей свежего фекального загрязнения и непосредственное обнаружение патогенных бактерий - сальмонелл и шигелл.

При индексе *E. coli*, энтерококков более 1000 в 1 л вода водоема расценивается как загрязненная, причем контаминация считается свежей, а вода - опасной в эпидемическом отношении.

В последние годы разработаны и предложены [Григорьева Л. В., 1975] дополнительные критерии оценки санитарного состояния водоемов, в которые включены показатели титра энтерококков, перфрингенс-титр и индекс бактериофагов.

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОЧВЫ

Микрофлора почвы

С выделениями человека и животных, с различными хозяйственно-бытовыми и промышленными отходами в почву поступает громадное количество разнообразных микроорганизмов. Так, в фекалиях человека обнаружено более 60 видов микроорганизмов, относящихся к 8-10 различным семействам. Преобладающей флорой являются анаэробы (до 96% от всех видов): бифидобактерии, лактобактерии, пептококки, бактероиды; в меньшем количестве встречаются микроорганизмы *p.p. Escherichia, Enterococcus, Proteus, Clostridium*, грибы *Candida* и др. Биологическое загрязнение почвы особенно велико в неканализованных землях и на территориях тех предприятий, где могут скапливаться органические отходы (например, бойни и т. д.), на хозяйственных дворах, в животноводческих комплексах, на пляжах и прилегающих к ним участках. Со сточными водами микроорганизмы попадают в иловые осадки, а затем при использовании недостаточно обеззараженных иловых осадков и сточных вод на полях орошения может происходить инфицирование почвы, а затем ягодных культур и овощей, выращиваемых на таких полях. Бактерии, адсорбируясь на

поверхности частиц и осадков сточных вод, могут некоторое время сохранять свою жизнедеятельность и вирулентность.

К первой группе патогенных микроорганизмов, постоянно обитающих в почве, относится небольшое количество микроорганизмов. Среди них особенное внимание заслуживают клостридии ботулизма (*Clostridium botulinum*), которые попадают в почву с испражнениями человека и животных. Образуя споры, микроорганизмы остаются в почве неопределенно долго. Об этом следует всегда помнить при консервировании (особенно домашнем) всех овощей, грибов и других продуктов, которые могут содержать остатки земли, а следовательно, и споры.

Вторая группа включает спорообразующие патогенные микроорганизмы (бациллы сибирской язвы - *Bacillus anthracis*, клостридии столбняка - *Clostridium tetani*, газовой гангрены - *Cl.perfringens*, *Cl.novyi*), которые попадают в почву с фекалиями человека и животных, другими выделениями, а также с трупами погибших животных. Почва для них является вторичным резервуаром, поскольку при благоприятных условиях клостридии могут размножаться и сохраняться в виде спор длительное время. Например, споры бациллы сибирской язвы обнаруживаются в почве лугов и выпасов, загрязненных спорами возбудителя через десятки лет, причем *B. anthracis* оказались способными вегетировать в почве. Вегетация микроба в почве осуществляется при температуре не ниже 12°C, достаточной влажности и наличии гумуса и микроэлементов.

В третью группу включены патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека и животных и сохраняющиеся в течение нескольких недель или месяцев. Все эти микроорганизмы - сальмонеллы, шигеллы, вибрионы, бруцеллы, микобактерии, лептоспиры, возбудители сапа и др. не образуют спор и поэтому быстро гибнут в результате воздействия различных физических и биологических факторов.

Многие из представителей нормальной микрофлоры человека, попадая в почву, вступают в ее биоценоз, участвуют в биохимических процессах, а отдельные виды бактерий остаются постоянными обитателями почвы. Поэтому трудно строго разделить микрофлору почвы на постоянную и временно обитающую в ней.

Качественный состав микрофлоры почвы очень разнообразен: множество видов бактерий (преимущественно спорообразующих), актиномицетов, спирохет, архибактерий, простейших, сине-зеленых водорослей, микоплазм, грибов, вирусов. Разнообразные микроорганизмы почвы обитают в водных и коллоидных пленках, которые как бы обволакивают почвенные частицы. Состав и соотношения между

различными группами микроорганизмов изменяются в зависимости от вида почвы, способов ее обработки, содержания органических веществ, влаги, от климатических условий и многих других причин.

Микроорганизмы в почве находятся в сложном биоценозе, характеризующемся различными взаимоотношениями как между собой, так и с растениями. В околокорневой зоне растений бактерий особенно много: они образуют зону интенсивного размножения и повышенной активности, называемой *ризосферой*. Микрофлора ризосферной зоны почвы отличается специфичностью для каждого вида растений. Микроорганизмы обладают положительным хемотаксисом в отношении корневых выделений растений и, участвуя в процессах минерализации органических соединений (накапливающихся отмерших клеток корней), обеспечивают растения легкоусвояемыми минеральными веществами, веществами типа витаминов и ауксинов, способствующих активизации метаболизма растений.

Количество микроорганизмов в почве достигает нескольких миллиардов в 1 г. Больше всего их в унавоженной почве и почве, подвергающейся обработке (пахоте и аэрации), - до 4,8—5,2 млрд., меньше - в лесной почве, в песках - 1,2—0,9 млрд. Живая масса микроорганизмов в почве на 1 га в среднем составляет около 1000 кг.

Распределение микробов в почве неравномерно. На поверхности и в слое толщиной 1—2 мм относительно мало микробов, несмотря на постоянное обсеменение почвы, что объясняется губительным действием ультрафиолетовых лучей солнца и высушивания. Наиболее обильна микрофлора на глубине 10—20 см. В этом слое протекают основные биохимические процессы превращения органических веществ, обусловленные жизнедеятельностью разнообразных микроорганизмов, последовательно сменяющих друг друга. В более глубоких почвенных слоях флора становится скудной и на глубине 4—5 м микроорганизмы обнаруживаются в очень малых количествах. Вода, получаемая из артезианских скважин, практически стерильна, что можно объяснить фильтрационными свойствами почвенных комочков и отсутствием необходимых органических соединений для питания бактерий.

В составе микрофлоры почвы принято выделять физиологические группы микроорганизмов, участвующие в различных процессах постепенного разложения органических веществ: протеолитические, липолитические, амилолитические. Среди этих микроорганизмов большую роль в порче пищевых продуктов (преимущественно белковых) играют бактерии (и грибы) - аммонификаторы.

В отдельных случаях (неправильная организация сбора с/х сырья, нарушение режимов хранения и т.п.) сырье, используемое для производства продуктов питания, может быть контаминированным микрофлорой почвы, которая сохраняется в нем. Поэтому очень важно изучать качественный состав микроорганизмов почвы, их физиолого-биохимические свойства, способы их обезвреживания.

В знание микрофлоры почвы и тех условий, в которых протекает ее жизнедеятельность, необходимо для правильной оценки санитарно-микробиологических исследований не только собственно почвы, но и объектов, контактирующих (прямо или косвенно) с ней.

В Особенное влияние на отмирание патогенных микроорганизмов оказывают антагонистические свойства представителей микрофлоры почвы. Именно на последнем свойстве микрофлоры основаны работы, направленные на повышение антибиотических свойств почвы (озеленение травами территорий населенных мест, способствующее размножению антагонистов-актиномицетов), улучшающие антибактериальные свойства и повышающие активность процесса самоочищения почвы.

Патогенные микроорганизмы и представители нормальной микрофлоры, в частности *Escherichia*, находясь в окружающей среде, где условия их существования резко меняются, нередко изменяют свои свойства. Гибель БГКП и некоторых сапрофитных бактерий предшествует усилению процесса нитрификации - конечному этапу разложения органических веществ. Показателем активности самоочищения почвы может считаться увеличение микрофлоры, участвующей в процессе нитрификации.

Таким образом, естественные процессы, протекающие в почве под влиянием ее микрофлоры, обуславливают самоочищение почвы от попавших в нее микроорганизмов, обезвреживание и уничтожение отходов и нечистот. При правильном управлении этими процессами опасность передачи инфекционных болезней через почву может быть сведена к минимуму.

Наряду с положительной ролью микрофлоры почвы в синтезе и минерализации органических веществ, необходимо отметить те отрицательные последствия, которые наносят микроорганизмы почвы народному хозяйству, разрушая строительные конструкции, подвергая порче сельскохозяйственную продукцию. Поэтому при производстве пищевых продуктов очень важно не допускать попадания почвенной микрофлоры на сырье и продукцию на любом этапе производственного процесса.

Микробиологическое исследование почвы является важным звеном в ее санитарной оценке.

Целью санитарно-микробиологического исследования почвы является обнаружение и предотвращение распространения возбудителей инфекционных заболеваний. Эти мероприятия складываются из нескольких этапов, а именно: предупредительный надзор. Его проводят в следующих случаях:

1) при планировке, строительстве и реконструкции вновь заселяемых участков и населенных мест; 2) при выборе участков для строительства детских дошкольных учреждений, пионерских лагерей, санаториев и т. д.; 3) при строительстве водохранилищ; 4) при решении вопросов водоснабжения и канализации населенных территорий; 5) при санитарной оценке земли на полях орошения, где используются навоз, компосты, стоки животноводческих комплексов и т. д.; 6) при определении санитарного состояния почвы, загрязняемой различными ядохимикатами; 7) при санитарной оценке пляжей, мест коллективного отдыха и т. д; текущий санитарный надзор осуществляется: 1) при оценке санитарного состояния поверхностных слоев почвы для установления степени влияния биологической контаминации на способность почвы к самоочищению; 2) при контроле за почвенными и биотермическими методами обезвреживания сточных вод и отходов; 3) по эпидемическим показаниям для выяснения возможного пути передачи инфекционной болезни через почву, сроков выживаемости в ней патогенных микроорганизмов, а также возможности заражения воды (открытых водоемов и грунтовых), овощей (выращиваемых на орошаемых землях).

Определение бактерий группы кишечных палочек

При исследовании почв на присутствие БГКП рекомендуется применение титрационного метода при предполагаемой невысокой степени фекального загрязнения, метод мембранных фильтров используется при анализе малозагрязненных почв. При высокой степени фекального загрязнения рекомендуется делать прямой посев почвенной суспензии (1:10) на среду Эндо.

Титрационный метод. Из приготовленных разведений почвенной суспензии делают посевы во флаконы и пробирки с жидкой питательной средой Кесслера: 10 мл (из разведения 1:10) в 50 мл среды, по 1 мл из последующих разведений - в 9 мл среды. Посевы инкубируют в течение 48 ч при температуре 37°C. При отсутствии во флаконе и пробирках роста, характеризующегося газообразованием и помутнением, дается отрицательный ответ на присутствие БГКП. Если в засеянных сосудах

обнаруживается рост в виде помутнения среды или помутнения и газообразования, следует сделать высев в чашки Петри со средой Эндо, инкубировать 24 ч при температуре 37°C. Дальнейшей идентификации (аналогично определению БГКП в воде) подвергаются типичные для *Escherichia* красные или розовые с металлическим блеском колонии. Результат выражается в коли-индексе, т. е. количество БГКП, обнаруженных в 1 г почвы.

Метод мембранных фильтров. Метод применяется как ускоренный для определения БГКП. Почвенную суспензию 1:10 центрифугируют при 2000 об/мин в течение 5 мин для осаждения крупных частиц, затем 5-10 мл суспензии фильтруют через мембранные фильтры № 3. Дальнейший ход исследования такой же, как при определении БГКП в воде.

Прямой посев почвы. Почва из мест интенсивного фекального загрязнения засеивается в количестве 0,1 или 0,05 мл суспензии, разведенной от 1:10 до 1:1 000 000, в чашки Петри на среду Эндо. Метод прямого посева используется и при посеве менее загрязненных почв, в этом случае берется почвенная суспензия в разведениях от 1:10 до 1:1000. Посевы выращивают в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч. Дальнейшая идентификация выросших колоний ведется по общепринятой методике.

Определение общей численности сапрофитных бактерий Общее число сапрофитных бактерий определяется количеством микроорганизмов, обнаруживаемым в 1 г исследуемой почвы. Этот показатель имеет относительное значение, так как свидетельствует о биологическом состоянии почвы в момент исследования. Санитарное значение численности сапрофитных бактерий учитывается в комплексе с другими санитарно-микробиологическими показателями, исходя из особенностей исследуемой почвы.

Для определения общей численности почвенных сапрофитов могут быть использованы два метода: посев на плотные питательные среды и метод прямой микроскопии.

Посев почвенной суспензии производят на МПА глубинным способом. Разведения выбирают с учетом загрязненности почвы. Посевы инкубируют при 28-30°C в течение 72 ч и подсчитывают количество выросших колоний. Для подсчета берут такие разведения почвенной суспензии, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Если вырастает более 150 колоний, то ведется счет на 1/4 площади чашки с последующим перерасчетом на всю площадь. Из суммы колоний, подсчитанных на всех чашках, выводят

среднеарифметическое и затем определяют число колоний на 1 г почвы (с учетом разведений).

Метод прямой микроскопии почвы является очень трудоемким и требует специальной аппаратуры. Чаще всего пользуются методом капилляроскопии по Б.В. Перфильеву и Д.Г. Габе. Для микроскопии к 1 мл почвенной суспензии в разведении 1:10 добавляют 1-2 капли 1% раствора акридинового оранжевого и затем помещают каплю суспензии в специальную капиллярную камеру. Капилляр кладут на предметное стекло и фиксируют парафином. Подсчет микроорганизмов ведется с помощью люминесцентного микроскопа. Последующим перерасчетом устанавливается количество микроорганизмов в 1 г почвы.

Определение в почве сальмонелл и шигелл

Загрязнение почвы сальмонеллами происходит в результате непосредственного попадания фекалий, преимущественно животных, в меньшей степени - человека. Практически у всех домашних и многих диких животных сальмонеллы обнаружены как комменсалы и как возбудители острых сальмонеллезов. Шигеллы попадают в почву с испражнениями человека.

Все представители рода *Salmonella* являются потенциально патогенными для человека, вызывая заболевания, разнообразные по клинической картине (от тяжелых сальмонеллезов до бактерионосительства) и продолжительности. Часто заболевание протекает легко, что приводит к быстрому выздоровлению, поэтому больные не обращаются к врачу, оставаясь вне поля зрения санитарно-эпидемиологической службы и становясь возможными носителями сальмонелл. Конечно, человек выделяет бактерий значительно меньше по сравнению с животными, но выделяемые им сальмонеллы адаптированы к его организму и потому эпидемически более опасны. Для определения сальмонелл в почве могут быть использованы два метода: посев в среду накопления и метод коагуляции с последующим высевом на дифференциально-диагностические среды.

Первый метод более простой: для обнаружения сальмонелл в подготовленную почвенную суспензию вносят ингредиенты магниевой среды «М» (из расчета объема суспензии), инкубируют при температуре 37°C в течение 18-20 ч. Затем делают посев на висмут-сульфитную среду (обычно 3-5 чашек). Идентификация выросших колоний проводится по методике определения сальмонелл. Шигеллы обнаруживают параллельно - посевом в селенитовую среду.

При выделении сальмонелл из почвы методом коагуляции и центрифугирования по Фикеру к 500 мл почвенной суспензии добавляют 1,7 мл 10%-ного стерильного раствора сульфата железа и 2 мл 10%-ного стерильного раствора бикарбоната натрия (для подщелачивания, которое способствует коагуляции). Суспензию тщательно взбалтывают и ставят в холодильник на 1 ч для образования хлопьев, прозрачную жидкость сливают, а осадок и надосадочную жидкость с хлопьями переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 5 мин при 5000 об/мин. После центрифугирования жидкость над осадком сливают, а осадок обрабатывают 1 мл 25%-ного раствора виннокислого калия (добавляя по каплям до полного растворения осадка) и делают высев на чашки с висмут-сульфитным агаром и средой Плоскирева. Параллельно оставшийся осадок заливают желчным бульоном. Посевы помещают в термостат при температуре 37°C. Для выявления сальмонелл из желчного бульона через 5 и 20 ч делают высев на дифференциально-диагностические среды. Дальнейшая идентификация сальмонелл и шигелл ведется по обычной схеме.

Для обнаружения сальмонелл и шигелл можно непосредственно исходную почвенную суспензию фильтровать через мембранные фильтры, затем их переносят на дифференциально-диагностические среды для подращивания.

Патогенные микроорганизмы в почве можно обнаруживать, используя иммунолюминесцентный метод, постановку биопробы (при выявлении клостридий столбняка и ботулизма).

Санитарно-микробиологическая оценка почвы. Ее производят по комплексу показателей: общее количество сапрофитных микроорганизмов и наличие санитарно-показательных микробов - БГКП, перфрингенс и др.

Оценка санитарного состояния объектов окружающей среды

При оценке санитарно-микробиологического состояния объектов исходят из цели обследования и назначения этих объектов. Официальных регламентаций о состоянии, составе микрофлоры различных объектов практически нет.

Имеющиеся инструктивные материалы по санитарно-микробиологическому контролю предприятий общественного питания и торговли пищевыми продуктами указывают на то, что фекальное загрязнение должно быть исключено, т. е. не должно быть БГКП на оборудовании (не соприкасающимся с сырыми продуктами), на вымытой посуде. На всех обследуемых предметах обихода и оборудования не должны обнаруживаться

патогенные микроорганизмы: их присутствие указывает на реальную опасность заражения. К сожалению, не всегда удается избежать фекального загрязнения на производстве, в больницах и т.д. В связи с этим, исходя из опыта санитарной практики, если БГКП обнаруживаются только в 5% проб, взятых с предметов обихода и оборудования, санитарно-гигиеническое состояние обследуемого предприятия (лечебного учреждения) расценивается как удовлетворительное.

По показателям общей обсемененности: санитарное состояние поверхности считается отличным, если ОМЧ на 1см² не превышает 100, хорошим - при микробном числе от 100 до 1000, удовлетворительным - более 1000, плохим - более 10000.

В то же время выделение патогенных стафилококков в клиниках хирургического профиля и в родильных домах с предметов обихода и от персонала свидетельствует о санитарном неблагополучии. В этом случае проводится обязательное определение фагов и антибиотикограммы выделяемых стафилококков.

При обследовании различных объектов на стерильность (перевязочный и шовный материал, системы переливания крови, шприцы, иглы, грудное молоко, жидкость для питья детей и т.д.) не должно быть роста во всех посевах.

При оценке санитарно-гигиенического состояния предметов обихода и оборудования можно ориентироваться на критерии (табл. 1.5 приложения 1), разработанные и предложенные Л. В. Григорьевой и др. (1977).

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОЗДУХА

Воздух не является благоприятной средой для жизнедеятельности микроорганизмов. Однако, попадая в воздух, многие микроорганизмы способны какое-то время находиться в жизнеспособном состоянии. Среди них большая группа патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Человек, болеющий инфекциями верхних дыхательных путей, выделяет микроорганизмы при разговоре, чихании, кашле и т.д. Через воздух передается группа заболеваний, которая так и называется инфекции дыхательных путей с воздушно-капельным и воздушно-пылевым механизмами передачи. К таким инфекциям относятся грипп, корь, коклюш, скарлатина, дифтерия, натуральная оспа, легочная форма чумы, менингит, туберкулез, ветряная оспа, паротит и другие.



Задачами санитарно-микробиологического исследования воздуха являются гигиеническая и эпидемиологическая оценка воздушной среды, и, как следствие, разработка комплекса мероприятий, направленных на профилактику аэрогенной передачи возбудителей инфекционных болезней. *Объектами* санитарно-микробиологического исследования воздуха закрытых помещений являются: воздух больниц (операционные, отделение реанимации, родильные залы роддомов, и т.п.), детских садов, школ, поликлиник, аптек, производственных цехов и вспомогательных помещений на предприятиях различного профиля (пищевых, микробного синтеза и т.п.), а также мест массового скопления людей -кинотеатров, спортивных залов и т. д.

Впоследнее время внимание санитарных микробиологов привлекают крупные животноводческие комплексы и птицефабрики. Так было показано, что в воздухе птицефабрик содержится большое количество микроорганизмов — до 8 млн в 1 м³, которые, попадая в атмосферный воздух, переносятся потоками воздуха на большие расстояния; среди них микроорганизмы *p.p. Staphylococcus, Streptococcus, Clostridium, Bacillus*, грибы рода *Aspergillus* и др.

Санитарно-микробиологическое исследование атмосферного воздуха в крупных городах проводится в плановом порядке и в некоторых случаях по эпидемическим показаниям. Исследование атмосферного воздуха в местах орошения земледельческих полей сточными водами методом дождевания проводится с целью обнаружения микроорганизмов *p.p. Salmonella, Escherichia*.

При оценке санитарного состояния закрытых помещений в зависимости от задач исследования определяется общая бактериальная обсемененность (общее микробное число), присутствие санитарно-показательных

микроорганизмов (стафилококков, α - и β -гемолитических стрептококков), а также непосредственно патогенных микроорганизмов (в зависимости от характера помещений - микобактерий туберкулеза, коринебактерий дифтерии, дрожжей и мицелиальных грибов и пр.). Например, при исследовании воздуха медицинских учреждений определяется присутствие микроорганизмов, относящихся к условно-патогенной флоре (синегнойная палочка, бактерии рода *Proteus* и ряд других грамотрицательных палочек), вызывающих внутрибольничные инфекции.

При исследовании воздуха на предприятиях пищевого профиля, общественного питания помимо показателя общей обсемененности определяют те группы микроорганизмов, которые являются характерными возбудителями порчи данных видов продукции или могут встречаться в данном производственном помещении (дрожжи и грибы - в холодильниках, стафилококки - в цехе производства мороженого ит.п.).

На предприятиях микробиологической промышленности, где в производстве используются актиномицеты, грибы, спорообразующие бациллы, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и др., изучается присутствие и количественное содержание в воздухе микробов-продуцентов с целью предупреждения воздействия их на организм работающих людей (возможность заболевания и развития сенсibilизации).

При изучении присутствия микроорганизмов различных физиологических групп в воздухе используют питательные среды разного назначения (как стандартные, так и элективные или дифференциально-диагностические), в зависимости от цели исследования.

Методы отбора проб воздуха и приборы

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха можно разделить на 4 этапа:

- 1) отбор проб;
- 2) обработка, транспортировка, хранение проб, получение концентрата микроорганизмов (если необходимо);
- 3) бактериологический посев, культивирование микроорганизмов;
- 4) идентификация выделенной культуры.

Отбор проб, как и при исследовании любого объекта, является наиболее ответственным. Правильное взятие проб гарантирует точность исследования. В закрытых помещениях точки отбора проб устанавливаются из расчета на каждые 20 м² площади - одна проба воздуха, по типу конверта: 4 точки по

углам комнаты (на расстоянии 0,5 м от стен) и 5-я точка - в центре. Пробы воздуха забираются на высоте 1,6—1,8 м от пола на уровне дыхания в жилых помещениях. Пробы необходимо отбирать днем (в период активной деятельности человека), после влажной уборки и проветривания помещения. Атмосферный воздух исследуют в жилой зоне на уровне 0,5—2 м от земли вблизи источников загрязнения, а также в зеленых зонах (парки, сады и т.д.) для оценки их влияния на микрофлору воздуха.

Следует обратить внимание на то, что при отборе проб воздуха во многих случаях происходит посев его на питательную среду.

Все методы отбора проб воздуха можно разделить на седиментационные и аспирационные.

Седиментационный - наиболее старый метод, широко распространен благодаря простоте и доступности, однако является неточным. Метод предложен Р. Кохом и заключается в способности микроорганизмов под действием силы тяжести и под влиянием движения воздуха (вместе с частицами пыли и капельками аэрозоля) оседать на поверхность питательной среды в открытые чашки Петри. Чашки устанавливаются в точках отбора на горизонтальной поверхности. При определении общей микробной обсемененности чашки с мясопептонным агаром оставляют открытыми на 5—10 мин или дольше в зависимости от степени предполагаемого бактериального загрязнения. Для выявления санитарно-показательных микробов применяют среду Гарро или Туржецкого (для обнаружения стрептококков), молочно-солевой или желточно-солевой агар (для определения стафилококков), суслоагар или среду Сабуро (для выявления дрожжей и грибов). При определении санитарно-показательных микроорганизмов чашки оставляют открытыми в течение 40—60 мин.

По окончании экспозиции все чашки закрывают, помещают в термостат на сутки для культивирования при температуре, оптимальной для развития выделяемого микроорганизма, затем (если этого требуют исследования) на 48

ч оставляют при комнатной температуре для образования пигмента пигментообразующими микроорганизмами.

Седиментационный метод имеет ряд недостатков: на поверхность среды оседают только грубодисперсные фракции аэрозоля; нередко колонии образуются не из единичной клетки, а из скопления микробов; на применяемых питательных средах вырастает только часть воздушной микрофлоры. К тому же этот метод совершенно непригоден при исследовании бактериальной загрязненности атмосферного воздуха.

Более совершенными методами являются *аспирационные*, основанные на принудительном осаждении микроорганизмов из воздуха на поверхность плотной питательной среды или в улавливающую жидкость (мясо-пептонный бульон, буферный раствор, изотонический раствор хлорида натрия и др.). В практике санитарной службы при аспирационном взятии проб используются аппарат Кротова, бактериоуловитель Речменского, прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-1), пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1), бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1), прибор Киктенко, приборы Андерсена, Дьяконова, МБ и др. Для исследования атмосферы могут быть использованы и мембранные фильтры № 4, через которые воздух просасывается с помощью аппарата Зейтца. Большое разнообразие приборов свидетельствует об отсутствии универсального аппарата и о большей или меньшей степени их несовершенства.

Прибор Кротова. В настоящее время этот прибор широко применяется при исследовании воздуха закрытых помещений и имеется в лабораториях СЭС.



Принцип работы аппарата Кротова (рис. 2) основан на том, что воздух, просасываемый через клиновидную щель в крышке аппарата, ударяется о поверхность питательной среды, при этом частицы пыли и аэрозоля прилипают к среде, а вместе с ними и микроорганизмы, находящиеся в воздухе. Чашку Петри с тонким слоем среды укрепляют на вращающемся столике аппарата, что обеспечивает равномерное распределение бактерий на ее поверхности. Работает аппарат от электросети. После отбора пробы с определенной экспозицией чашку вынимают, закрывают крышкой и помещают на 48 ч в термостат. Обычно отбор проб проводят со скоростью 20-25 л/мин в течение 5 мин.

Таким образом, определяется флора в 100-125 л воздуха. При обнаружении санитарно-показательных микроорганизмов объем исследуемого воздуха увеличивают до 250 л.

Бактериоуловитель Речменского представляет собой полый стеклянный цилиндр, внутри которого впаяна стеклянная воронка с капилляром, сообщающимся с приемником (рис. 3).

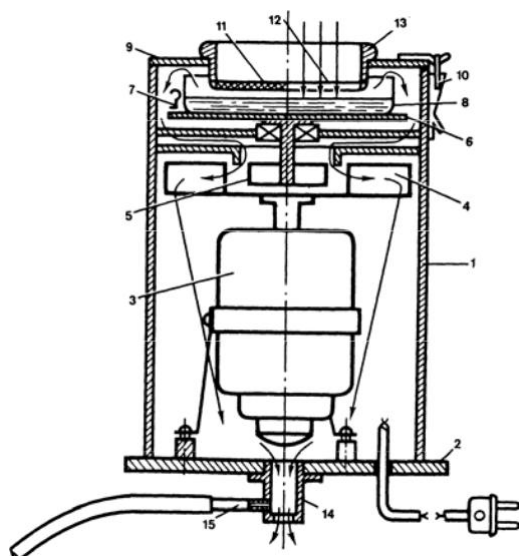


Рис. 3. Аппарат Кротова (схема конструкции):

- 1 - цилиндрический корпус; 2 - основание корпуса; 3 - электромотор; 4 - центробежный вентилятор; 5 - восьмилопастная крыльчатка; 6 - диск; 7 - пружины; 8 - чашка Петри; 9 - крышка прибора; 10 - накидные замки; 11 - диски из плексигласа; 12 - клиновидная щель; 13 - разрезное кольцо; 14 - штуцер с диафрагмой; 15- выводная труба.

Приемник перед забором пробы воздуха заполняется 3—5 мл улавливающей жидкости (водой, мясопептонным бульоном, изотоническим раствором хлорида натрия).

Прибор Речменского работает по принципу пульверизатора: при прохождении воздуха через узкое отверстие воронки жидкость из приемника через капилляр в виде капелек поднимается в цилиндр. Капли жидкости еще больше дробятся, ударяясь о стеклянную лопаточку и стенки сосуда, создавая облачко из мелких капелек, на которых и адсорбируются находящиеся в воздухе микроорганизмы. Насыщенные бактериями капли жидкости стекают в приемник, а затем опять диспергируются, что обеспечивает максимальное улавливание бактерий из воздуха. При работе прибор помещают под углом 15—25°, что обеспечивает стекание улавливающей жидкости в приемник. Скорость отбора проб воздуха через аппарат Речменского — 10-20 л/мин. По окончании работы жидкость из приемника забирают стерильной пипеткой и засевают (по 0,2 мл) на поверхность плотных питательных сред. Преимуществом бактериоуловителя Речменского является высокая эффективность улавливания бактериальных аэрозолей. Недостатки прибора заключаются в трудности его изготовления, нестандартности получаемых аппаратов, их большой хрупкости и сравнительно низкой производительности.

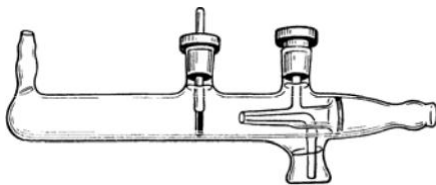


Рис. 4. Схема устройства прибора Речменского

Прибор ПОВ-1 (прибор для отбора проб воздуха). Отбор проб воздуха с помощью прибора ПОВ-1 (рис. 4). Основан на том же принципе, что и в бактериоуловителе Речменского.



Рис. 5. Прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-1)

Большим преимуществом являются серийный выпуск этого прибора (что дало возможность оснастить им лаборатории СЭС), его портативность, более высокая производительность (20—25 л/мин). Колба прибора, в которую помещается улавливающая жидкость, изготавливается из термостойкого плексигласа, капилляр из нержавеющей стали. В колбу вмонтирован пульверизатор, вызывающий диспергирование улавливающей жидкости при просасывании воздуха. Такое устройство дает возможность легко очищать и стерилизовать колбу с диспергирующим устройством простым кипячением в течение 30 мин (автоклавирование недопустимо, так как оно вызывает деформацию цилиндра).

Перед забором проб воздуха в колбу вносят 5-10 мл улавливающей жидкости (чаще всего мясопептонный бульон) и устанавливают ее под углом 10° , что обеспечивает естественное стекание жидкости после диспергирования. Воздух, проходя через колбу и пульверизатор, вызывает образование мелких капелек улавливающей жидкости, на которых оседают микроорганизмы. Прибор ПОВ-1 применяется для исследования воздуха закрытых помещений на общую микробную обсемененность, для обнаружения патогенных бактерий (например, микобактерий туберкулеза) и респираторных вирусов в воздухе больничных палат.

Пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1). Механизм действия ПАБ-1 основан на принципе электростатического осаждения частиц аэрозоля (а следовательно, и микроорганизмов) из воздуха при прохождении его через прибор, в котором эти частицы получают электрический заряд и осаждаются на электродах с противоположным знаком. На электродах для улавливания аэрозолей помещают в горизонтальном положении металлические поддоны с твердыми средами в чашках Петри или жидкой питательной средой (15—20 мл). Прибор переносной с большой производительностью 150-250 л/мин, т.е. за 1 ч можно отобрать 5—6 м³ воздуха. Его рекомендуют применять для исследования больших объемов воздуха при обнаружении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, например, при выявлении в воздухе палат больниц возбудителей внутрибольничных инфекций (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staph. aureus* и др.), определении сальмонелл и эшерихий в атмосферном воздухе в местах дождевания при орошении земледельческих полей сточными водами.

Бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1). Прибор основан на аспирационно-ионизационном принципе действия. БВЭП-1 состоит из осадительной камеры, в которую вмонтированы электроды: отрицательный в виде приводящей трубки, через которую поступает воздух (и частички аэрозоля соответственно заряжаются отрицательно), и положительный, на котором оседают бактерии.

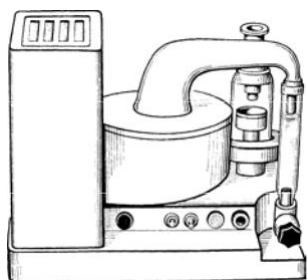


Рис.6. Бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1)

Прибор представляет собой металлическую чашу с улавливающей жидкостью (рис.5). В качестве улавливающей среды применяют мясопептонный бульон, 0,5% мясопептонный агар, а при минусовых температурах - смесь 66,7% глицерина с 33,3% мясопептонного бульона. Прибор переносной, работает от электросети и обладает значительно большей эффективностью в сравнении с аппаратом Кротова.

Прибор МБ. Этот прибор служит не только для определения общей микробной обсемененности, но и для отбора проб воздуха с аэрозольными частицами различных размеров. Прибор МБ построен по принципу «сита» и представляет собой цилиндр, разделенный на 6 горизонтальных полос, на каждую из которых помещают чашки Петри с МПА. Воздух просасывается, начиная с верхней ступени, в пластине которой отверстия самые крупные, и чем ниже ступень, тем меньше размером отверстия (через последние проходят только тонкодисперсные фракции воздушного аэрозоля). Прибор рассчитан на улавливание частиц аэрозоля размером более 1 мкм при скорости отбора воздуха 30 л/мин. Уменьшение числа отверстий обеспечивает более равномерное распределение по питательной среде аэрозоля из воздуха. Для улавливания еще более мелких частиц аэрозоля можно добавлять дополнительно фильтр из фильтрующего материала АФА.

При использовании любого из перечисленных приборов получаемые результаты являются приблизительными, однако они дают более правильную оценку обсемененности воздуха в сравнении с седиментационным методом. Поскольку и отбор и санитарно-микробиологические исследования воздуха не регламентированы ГОСТ, то можно использовать любой прибор для оценки бактериальной загрязненности воздуха. Во многих случаях отбор проб совмещен с этапом посева.

Для снижения численности микроорганизмов в воздухе закрытых помещений применяют следующие средства: а) химические - обработка озоном, двуокисью азота, распыление молочной кислоты, б) механические - пропускание воздуха через специальные фильтры, в) физические - ультрафиолетовое облучение.

Определение общей численности сапрофитных бактерий

Общая бактериальная обсемененность воздуха или микробное число - это суммарное количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха. Для определения общего количества бактерий в воздухе закрытых помещений забирают две пробы (объемом по 100 л каждая) на чашки Петри с

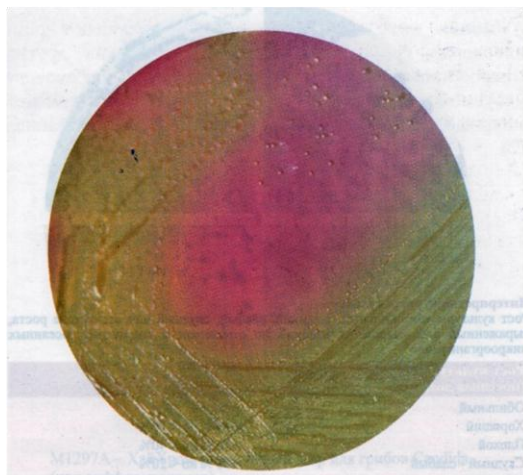
МПА при помощи любого прибора (чаще всего аппарата Кротова), либо седиментационным методом, расставляя чашки с питательной средой по принципу конверта. Чашки с посевом помещают в термостат на сутки, а затем на 48 ч оставляют при комнатной температуре. Экспозиция чашек с посевами на свету дает возможность подсчитать отдельно количество пигментных колоний (желтых, белых, розовых, черных, оранжевых и др.), количество спорообразующих бацилл, грибов и актиномицетов.

Подсчитывают количество колоний на обеих чашках, вычисляют среднее арифметическое и делают перерасчет на количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Бациллы образуют колонии, как правило, крупные, круглые, с неровными краями, сухие, морщинистые. Колонии грибов с пушистым налетом (*Mucor* и *Aspergillus*) и плотные -зеленоватые или сероватые (*Penicillium*). Актиномицеты образуют беловатые колонии, вросшие в агар. Количество каждой группы колоний (пигментных, беспигментных, плесеней, бацилл, актиномицетов) выражают в процентах по отношению к общему числу.

При определении микробного числа методом седиментации по Коху подсчитываются колонии, выросшие на МПА в чашках Петри, и расчет ведется по В.Л. Омелянскому. Если придерживаться этой методики, на чашку площадью 100 см² за 5 мин оседает такое количество микробов, которое содержится в 10 л воздуха.

Определение стафилококков

Стафилококки являются одним из наиболее распространенных микроорганизмов в воздухе закрытых помещений, что обусловливается значительной устойчивостью их к различным факторам окружающей среды. Обнаружение патогенных стафилококков в воздухе закрытых помещений имеет санитарно-показательное значение и свидетельствует об эпидемическом неблагополучии. Отбор проб воздуха проводится с помощью аппарата Кротова в количестве 250 л на 2—3 чашки с молочно-желточно-солевым агаром (или молочно-солевым, желточно-солевым) и на чашку с кровяным агаром. Чашки инкубируют при температуре 37°C в течение 48 ч. Изучают культуральные признаки всех видов колоний (см. приложение 3), из подозрительных готовят мазки и окрашивают по Граму.



**Маннит-солевой агар
*S.aureus***



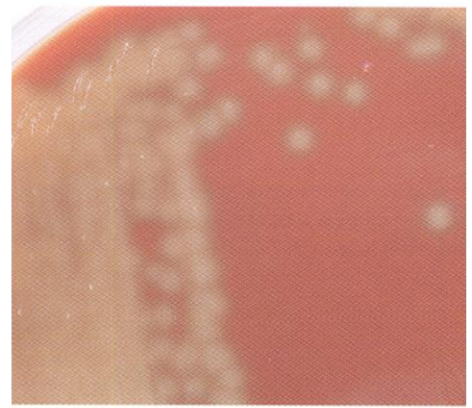
**- Основа агара Бэрда-Паркера
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)**

Помимо качественной характеристики отдельных колоний, подсчитывают количество выросших колоний стафилококков в 1 м³ воздуха.

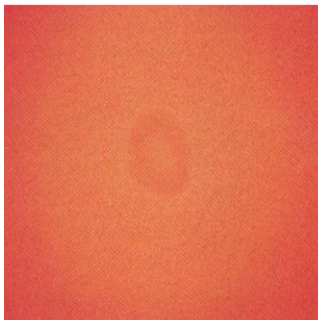
Определение стрептококков

Стрептококки также являются санитарно-показательными микроорганизмами воздуха, в который они попадают от больных скарлатиной, тонзиллитами, ангиной и носителей стрептококков. Отбор проб воздуха при исследовании на наличие α - и β -гемолитических стрептококков производят с помощью аппарата Кротова на чашки с кровяным агаром, средами Гарро и Туржецкого. Забирают 200—250 л воздуха, чашки с посевами выдерживают в термостате 18—24 ч и затем еще 48 ч при комнатной температуре (после предварительного просмотра и учета). Идентификацию проводят по общепринятой методике (см. приложение 3).

Зеленящие стрептококки образуют на кровяном агаре зеленовато-серые колонии, которые окружены непрозрачными зонами оливкозеленоватого цвета.

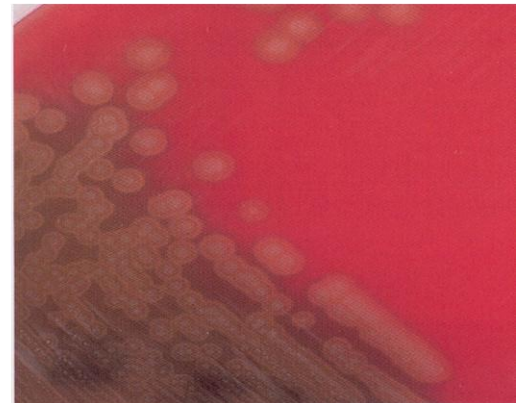




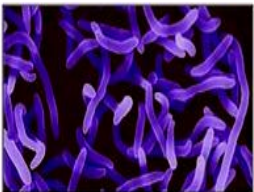

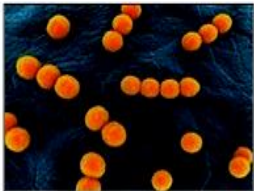
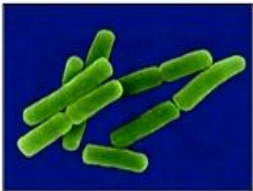


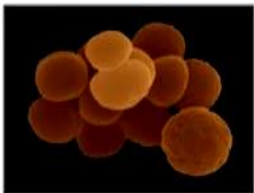

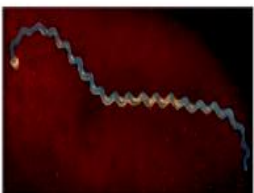
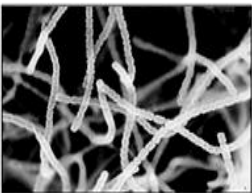
Рост на шоколадном агаре.



α-гемолиз

Рост на кровяном агаре.



Circular (Coccus)	Rod-shaped (Bacillus)	Curved Forms	Other Shapes
 Diplo- (in pairs)	 Coccobacilli (oval)	 Vibrio (curved rod)	 Helicobacter (helical)
 Strepto- (in chains)	 Streptobacilli	 Spirilla (coil)	 Corynebacterium (club)
 Staphylo- (in clusters)	 Mycobacteria	 Spirochete (spiral)	 Streptomyces (filaments)

Определение патогенных микроорганизмов в воздухе

Ввиду малой концентрации патогенных микроорганизмов в воздухе закрытых помещений, их выделение является достаточно трудной задачей.

При расшифровке внутрибольничных инфекций определяют в воздухе присутствие стафилококков, стрептококков, синегнойной палочки, сальмонелл, протеев и др. Отбор проб воздуха производят с помощью ПАБ-1 в объеме не менее 1000 л. Посев производят на соответствующие элективные среды. Если используется жидкая среда как улавливающая жидкость, то пробирку с жидкостью помещают в термостат на сутки для подрачивания (получение накопительной культуры), а затем высевает на элективную среду.

При исследовании воздуха на наличие микобактерий туберкулеза отбор проб производят с помощью прибора ПОВ-1 в объеме 250—500 л воздуха. В качестве улавливающей жидкости берут среду Школьниковой, которую затем обрабатывают 3% раствором серной кислоты (для подавления сопутствующей микрофлоры) и центрифугируют. Осадок засевают в пробирки на одну из яичных сред, чаще среду Левенштейна - Иенсена.

Инкубируют при 37°C до 3 мес. Отсутствие роста в течение 3 мес дает возможность выдать отрицательный ответ. Пробирки первый раз просматривают через 3 нед, затем каждые 10 дней. Выделенную культуру идентифицируют, определяют ее вирулентность (заражением морских свинок - биопроба) и при необходимости определяют устойчивость к лекарственным препаратам.

При определении в воздухе коринебактерий дифтерии для посева воздуха используют чашки со средой Клауберга.

В последние годы определяют в атмосферном воздухе в районах дождевания земледельческих полей, при орошении их сточными водами, сальмонеллы в случае появления заболевания среди персонала станций орошения или населения. Отбор проб производят с помощью аппарата Кротова на чашки с висмут-сульфитным агаром. Исследуют не менее 200 л воздуха. Выделенная культура идентифицируется по обычной схеме определения сальмонелл.

1. связи с развитием микробиологической промышленности возникла необходимость исследования воздуха с целью обнаружения грибов-продуцентов при производстве антибиотиков, ферментных препаратов, при изготовлении кормовых дрожжей и др. Для исследования воздуха на плесневые грибы рода *Candida* отбор проб производят с помощью аппарата Кротова в объеме от 100 до 1000 л на чашки со средой Чапека, суслоагаром (для обнаружения плесневых грибов) и с метабисульфит-натрий-агаром (МБС-агар) с добавлением антибиотиков (для обнаружения дрожжеподобных грибов рода *Candida*). Чашки инкубируют в термостате при температуре 26—27°C в течение 3—4 сут (для плесневых грибов) и при 35—37°C в течение 2—3 сут (для грибов - продуцентов и дрожжеподобных рода *Candida*). Идентификация проводится с учетом особенностей плодоносящих гиф и характера мицелия. Считают, что концентрация дрожжеподобных грибов в количестве 500—600 клеток в 1 м³ воздуха рабочего помещения является предельной, превышение ее ведет к развитию аллергических реакций у рабочих.

Оценка воздуха по санитарно-микробиологическим показателям в соответствии с нормативами представлена в таблица 1.1, 1.2 (приложение 1).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богданов В.М. и др. Техническая микробиология пищевых продуктов/ В.М. Богданов, Р.С. Баширова, К.А. Кирова и др. - М.: Пищ.пр-сть, 1968. – 743 с.
2. Мудрецова-Висс К.А., Кудряшова А.А., Дедюхина В.П. Микробиология, санитария и гигиена: учеб.для вузов. 7-е изд. - М.: ИД «Деловая литература», 2001. – 388 с.
3. Санитарная микробиология / Н.В.Билетова, Р.П.Корнелаева, Л.Г.Кострикина и др./ Под ред. С.Я.Любашенко. - М.:Пищ.пр-сть, 1980. – 352 с.
4. Мармузова Л.В. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. - М.: ИРПО, Академия, 2000. – 132 с.
5. Борисов, Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. М., 2002.
6. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб., 2002.
7. Медицинская микробиология / под ред. акад. В. И. Покровского, проф. О. К. Поздеева. М., 1999.
8. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева и М. Н. Бойченко. М., 2010.
9. Поздеев, О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. М., 2001. Berman, J. J. Taxonomic Guide to Infectious Diseases. Understanding the Biologic
10. Classes of Pathogenic Organisms / J. J. berman. Academic Press is imprint of Elsevier, 2012.
11. Engleberg, N. G. Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease / N. G. Engleberg, V. DiRita, T. S. Dermody. Fifth edition. Lippincott, 2013.
12. Medical Microbiology and Infection. Lecture Notes. Fifth edition / T. Elliott [et al.]. Wiley-Blackwell, 2011
13. Мудрецова-Висс К.А., Кудряшова А.А., Дедюхина В.П. Микробиология, санитария и гигиена: учеб. для вузов. -7-е изд. - М.: ИД «Деловая литература», 2001. – 388 с.
14. Санитарная микробиология / Н.В. Билетова, Р.П. Корнелаева, Л.Г. Кострикина и др. Под ред. С.Я. Любашенко. - М.:Пищ.пр-сть, 1980. – 352 с.

15. Мармузова Л.В. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. - М.: ИРПО, Академия, 2000. – 132 с.
16. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам: энциклопедический справочник. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Изд-во«Протектор», 2000. – 848 с.
17. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. Под ред. А.А.Воробьева, Ю.С.Кривошеина. - М.: Мастерство, Высш.шк., 2001. – 224 с.
18. Санитарная микробиология и вирусология / З.Н. Кочемасова, С.А. Ефремова, А.М. Рыбакова - М.: Медицина, 1987. –352 с.
19. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды: методические указания. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2001. – 42 с.
20. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер.с англ. / Под ред. Дж. Хоулта и др. - М.: Мир, 1997.
21. Методы общей бактериологии: В 3-х т.- Пер. с англ. / Под ред. Ф. Герхардта и др. - М.: Мир, 1983.

П Р И Л О Ж Е Н И Е

ПРОФИЛАКТИКА ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Санитарно-эпидемиологические правила

СанПиН № 0304-12

Издание официальное

Ташкент 2012 г.

СОСТАВИТЕЛИ:

Аллаберганова Н.М. - зав. отделом по санэпиднадзору за ЛПУ и
Турсунова Д. А. профилактике ВИЧ/СПИД РесЦГСЭН МЗРУз;
Мирзабаев Д.С. - ведущий специалист ГУСЭН Минздрава РУз, к.м.н.;
Кудашева Л. В. - ведущий специалист ГУСЭН Минздрава РУз, к.м.н.;
Кучкарова М. Р. - зав. эпидемиологическим отделом РесЦГСЭН, к.м.н;
Миршина О. П. - зав. лабораторией гигиены планировки населенных
мест, жилых и общественных зданий НИИ СГПЗ МЗ
РУз, к.м.н., с.н.с.;
- главный специалист МЗ РУз, зав. отделом
коммунальной гигиены РесЦГСЭН МЗ РУз, к.м.н.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Шоумаров С. Б. - директор НИИ СГПЗ МЗ РУз, к.м.н.
Маматкулов И. Х. - главный эпидемиолог МЗ РУз, заведующий
Хошимов Ш. Х. лабораторией НИИ ЭМИЗ МЗ РУз, д.м.н., профессор;
- главный врач Республиканского
специализированного Центра хирургии им. акад.
В.Вахидова, д.м.н., профессор

Настоящие санитарные правила и нормы рассмотрены и одобрены на заседании Комитета по гигиенической регламентации потенциально

неблагоприятных факторов окружающей человека среды при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан.

Х. Профилактика внутрибольничных инфекций в стоматологических поликлиниках (кабинетах)

1. Организация мероприятий по профилактике внутрибольничных инфекций в стоматологических поликлиниках (кабинетах)

1.1. В данной главе устанавливаются основные требования к комплексу организационных, лечебно-профилактических, санитарно-гигиенических, противоэпидемических и дезинфекционных мероприятий, проведение которых обеспечивает предупреждение возникновения и распространения внутрибольничных инфекционных заболеваний в стоматологических поликлиниках (кабинетах).

1.2. Стоматологические поликлиники (кабинеты) могут размещаться в отдельно стоящих зданиях, в приспособленных помещениях, встроенных (встроенно-пристроенных) в здания жилого и общественного назначения, в том числе в многопрофильных больницах, поликлиниках, санаториях, школах и других учреждениях, предприятиях и организациях, где требуется оказание стоматологической помощи.

1.3. Набор помещений определяется мощностью стоматологической поликлиники и видами деятельности, в соответствии действующего нормативного документа.

1.4. Размещение и эксплуатация рентгеновских кабинетов, аппаратов (в том числе радиовизиографов), а также устройство, оборудование и эксплуатация физиотерапевтических кабинетов, применение лазеров должны отвечать действующим нормативным документам.

1.5. Для организации стоматологического приема детей в поликлиниках этого профиля выделяются отдельные кабинеты. Не допускается использование кабинетов взрослого приема для приема детского населения по графику. Для организации приема детей следует по возможности выделять отдельный отсек с ожидальной и санузелом.

1.6. Оказание медицинской помощи беременным проводится в медицинских стоматологических поликлиниках для взрослых, стоматологических кабинетах сельских врачебных пунктов или женских консультаций.

1.7. В целях соблюдения противоэпидемического режима врач должен работать совместно со средним медицинским персоналом, осуществляющем обработку рабочих мест, дезинфекцию.

1.8. Требования к условиям труда и личной гигиене (в том числе, правила обработки рук) медицинского персонала принимаются в соответствии с приложением настоящего приказа.

1.9. Ответственность за организацию и проведение дезинфекционных (дезинфекция, дезинсекция, дератизация) и стерилизационных (предстерилизационная очистка, стерилизация) мероприятий, а также за обучение персонала по данным вопросам, несет руководитель стоматологической поликлиники, который руководствуется настоящей инструкцией и другими действующими нормативно-методическими документами.

2. Санитарно-противоэпидемические мероприятия

2.1. Все стоматологические кабинеты должны быть обеспечены изделиями медицинской техники и медицинского назначения в количестве, достаточном для бесперебойной работы с учетом времени, необходимого для их обработки между манипуляциями у пациентов: на каждое рабочее место врача-стоматолога – не менее 6 наконечников (по два угловых, прямых, турбинных), на каждое посещение – индивидуальный смотровой стоматологический комплект, состоящий из набора инструментов (лоток, зеркало стоматологическое, пинцет зубохирургический, зонд стоматологический), пакет с ватными валиками, пакет с пинцетом (для работы со стерильными инструментами, необходимыми для каждого пациента). При необходимости набор доукомплектовывают другими инструментами (зонд стоматологический пуговчатый, зонд

пародонтологический градуированный, гладилки, шпатель, экскаваторы и др.).

2.2. Стерильные изделия выкладывают на стоматологический столик врача (на стерильный лоток или стерильную салфетку) непосредственно перед манипуляциями у конкретного пациента.

Под рабочей поверхностью стола (на полке, в ящике), допускается размещать приборы и аппараты для проведения различных стоматологических манипуляций, пломбировочные материалы.

2.3. Нагрудные салфетки после каждого пациента подлежат смене. Одноразовые салфетки утилизируются, многоразовые сдаются в стирку.

2.4. Для ополаскивания рта водой используют одноразовые или многоразовые стаканы индивидуально для каждого пациента.

2.5. Требования к санитарному содержанию помещений

2.5.1. Влажную уборку помещений проводят не менее двух раз в день (между сменами и после окончания работы) с использованием моющих средств (по режимам дезинфекции при бактериальных инфекциях) способами орошения и/или протирания. Мытье оконных стекол должно проводиться не реже 1 раза в месяц изнутри и не реже 1 раза в 3 месяца снаружи (весной, летом и осенью).

2.5.2. Дезинфекцию поверхностей предметов, находящихся в зоне лечения (столик для инструментов, кнопки управления, клавиатура, воздушный пистолет, светильник, плевательница, подголовник и подлокотники стоматологического кресла) проводят после каждого пациента. Для этих целей используют дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в присутствии пациентов, обладающие широким спектром антимикробного (вирулицидное, бактерицидное, фунгицидное - с активностью в отношении грибов рода Кандида) действия. Выбор режимов дезинфекции проводят по наиболее устойчивым микроорганизмам – между вирусами или грибами рода Кандида (в туберкулезных медицинских организациях – по микобактериям туберкулеза).

2.5.3. Один раз в неделю в операционном блоке, хирургическом кабинете, стерилизационной (автоклавной) проводят генеральную уборку помещений.

В остальных подразделениях генеральную уборку проводят один раз в месяц.

2.5.4. При проведении текущих и генеральных уборок выполняются требования приложения №3 настоящих санитарных правил.

2.5.5. Изделия медицинского назначения, применяемые в стоматологии, отличаются разнообразием по конструкции, по составу входящих в них материалов, по назначению и поэтому требуют тщательного выбора метода и средства дезинфекции.

2.5.6. Стоматологические изделия, выдерживающие воздействие высоких температур, дезинфицируют кипячением или воздействием сухого горячего воздуха, предстерилизационная очистка проводится так же, как и др. мед. инструментария.

2.5.7. Для дезинфекции стоматологических инструментов рекомендованы средства на основе альдегидов, спиртов, катионных ПАВ, содержащих кроме действующих веществ, анионные и неионогенные ПАВ, ингибиторы коррозии и другие компоненты.

По окончании дезинфекционной выдержки изделия промывают проточной питьевой водой.

2.5.8. Дезинфекцию способом протирания допускается применять для тех изделий медицинской техники и медицинского назначения, которые не соприкасаются непосредственно с пациентом или конструкционные особенности которых не позволяют применять способ погружения (наконечники, переходники от турбинного шланга к наконечникам, микромотор к механическим наконечникам, наконечник к скелеру для снятия зубных отложений, световоды светоотверждающих ламп). Для этих целей не рекомендуется использовать альдегидсодержащие средства. Обработку наконечников после каждого пациента допускается проводить следующим образом: канал наконечника промывают водой, прочищая с помощью специальных приспособлений (мандрены и т. п.), и продувают воздухом;

наконечник снимают и тщательно протирают его поверхность (однократно или двукратно - до удаления видимых загрязнений) тканевыми салфетками, смоченными питьевой водой, после чего обрабатывают одним из предназначенных для этой цели дезинфицирующих средств (с учетом рекомендаций фирмы-производителя наконечника), а затем в паровом стерилизаторе.

2.5.9. Дезинфекцию стоматологических оттисков осуществляют после их предварительного промывания водой с соблюдением мер противозидемической защиты. Во время промываний оттисков следует избегать разбрызгивания смывных вод.

2.5.10. Дезинфекцию оттисков проводят способом погружения в раствор дезинфицирующего средства. Выбор дезинфицирующего средства обусловлен видом оттискового материала. Набор дезинфицирующих средств для обеззараживания оттисков из силиконовых материалов шире, чем для оттисков из альгинатных материалов.

2.5.11. Дезинфекцию стоматологических оттисков, заготовок зубных протезов проводят после применения у пациентов перед направлением в зуботехническую лабораторию и после их получения из зуботехнической лаборатории непосредственно перед применением. Выбор дезинфицирующего средства обусловлен видом оттискового материала. После дезинфекции изделия промывают питьевой водой для удаления остатков дезинфицирующего средства.

2.5.12. Обеззараживание стоматологических отсасывающих систем проводят после окончания работы, для чего через систему прокачивают раствор дезинфицирующего средства, рекомендованного для этих целей; заполненную раствором систему оставляют на время, указанное в инструкции по применению средства. После окончания дезинфекционной выдержки раствор из системы сливают и промывают ее проточной водой.

2.5.13. Полировочные насадки, карборундовые камни, предметные стекла подлежат дезинфекции, очистке и стерилизации.

2.5.14. Предстерилизационную очистку и стерилизацию проводят в отделениях (пунктах) централизованной стерилизации.

2.5.15. Стерилизации подвергают все инструменты и изделия, контактирующие с раневой поверхностью, кровью или инъекционными препаратами, а также отдельные виды медицинских инструментов, которые в процессе эксплуатации соприкасаются со слизистой оболочкой и могут вызвать ее повреждения:

- стоматологические инструменты: пинцеты, зонды, шпатели, экскаваторы, штопферы, гладилки, коронкосниматели, скеллеры, стоматологические зеркала, эндодонтические инструменты, штифты, стоматологические диски, фрезы, разделительные металлические пластинки, матрицедержатели, ложки для снятия оттисков, инструменты для снятия зубных отложений, пародонтальные хирургические инструменты (кюретки, крючки разных модификаций и др.), инструменты для пломбирования каналов зуба (плагеры, спредеры), карпульные шприцы, различные виды щипцов и кусачек для ортодонтического кабинета, пылесосы;
- ультразвуковые наконечники и насадки к ним, наконечники, съемные гильзы микромотора к механическим наконечникам, канюли к аппарату для снятия зубного налета;
- хирургические инструменты: стоматологические щипцы, кюретажные ложки, элеваторы, долота, наборы инструментов для имплантологии, скальпели, корнцанги, ножницы, зажимы, гладилки хирургические, шовные иглы;
- лотки для стерильных изделий медицинского назначения, инструменты для работы со стерильным материалом, в том числе пинцеты и емкости для их хранения.

2.5.16. Стерилизацию изделий медицинского назначения, применяемых в стоматологии, осуществляют физическими (паровой, воздушный, инфракрасный, применение среды нагретых стеклянных шариков) или химическими (применение растворов химических средств, газовый)

методами согласно действующим документам, используя для этого соответствующие стерилизующие агенты и типы оборудования. Выбор адекватного метода стерилизации зависит от особенностей стерилизуемых изделий. Стерилизацию осуществляют по режимам, указанным в инструкции по применению конкретного средства и руководстве по эксплуатации стерилизатора конкретной модели.

При стерилизации воздушным методом запрещается использование оборудования, относящегося к лабораторному (шкафы типа ШСС).

2.5.17. Наконечники, в том числе ультразвуковые, и насадки к ним, эндодонтические инструменты с пластмассовыми хвостовиками стерилизуют только паровым методом.

2.5.18. Запрещается перенос их из кабинета в кабинет неупакованные простерилизованные стоматологические инструменты. При необходимости инструменты, простерилизованные в неупакованном виде одним из термических методов, после окончания стерилизации допускается хранить в разрешенных к применению в установленном порядке бактерицидных (оснащенных ультрафиолетовыми лампами) камерах в течение срока, указанного в руководстве по эксплуатации оборудования. В случае отсутствия таких камер - на стерильном столе не более 6 ч. Изделия медицинского назначения, простерилизованные в стерилизационных коробках, допускается использовать в течение не более чем 6 ч. после их вскрытия.

Требования к гигиене рук медицинского персонала

1. В целях профилактики ВБИ обеззараживанию подлежат руки медицинских работников (гигиеническая обработка рук, обработка рук хирургов) и кожные покровы пациентов (обработка операционного и инъекционного полей, локтевых сгибов доноров, санитарная обработка кожных покровов).

В зависимости от выполняемой медицинской манипуляции и требуемого уровня снижения микробной контаминации кожи рук медицинский персонал

осуществляет гигиеническую обработку рук или обработку рук хирургов. Администрация организует обучение и контроль выполнения требований гигиены рук медицинским персоналом.

2. Для достижения эффективного мытья и обеззараживания рук необходимо соблюдать следующие условия: коротко подстриженные ногти, отсутствие лака на ногтях, отсутствие искусственных ногтей, отсутствие на руках колец, перстней и других ювелирных украшений. Перед обработкой рук хирургов необходимо снять также часы, браслеты и пр.

3. Медицинский персонал должен быть обеспечен в достаточном количестве эффективными средствами для мытья и обеззараживания рук, а также средствами для ухода за кожей рук (кремы, лосьоны, бальзамы и др.) для снижения риска возникновения контактных дерматитов. При выборе кожных антисептиков, моющих средств и средств для ухода за кожей рук следует учитывать индивидуальную переносимость.

4. Гигиеническая обработка рук.

4.1 Гигиеническую обработку рук следует проводить в следующих случаях:

- перед непосредственным контактом с пациентом;
- после контакта с неповрежденной кожей пациента (например, при измерении пульса или артериального давления);
- после контакта с секретами или экскретами организма, слизистыми оболочками, повязками;
- перед выполнением различных манипуляций по уходу за пациентом;
- после контакта с медицинским оборудованием и другими объектами, находящимися в непосредственной близости от пациента.
- после лечения пациентов с гнойными воспалительными процессами, после каждого контакта с загрязненными поверхностями и оборудованием;
- после посещения туалета и т. д.

4.2. Гигиеническая обработка рук проводится двумя способами:

- гигиеническое мытье рук мылом и водой для удаления загрязнений и снижения количества микроорганизмов;

- обработка рук кожным антисептиком для снижения количества микроорганизмов до безопасного уровня.

4.3. Для мытья рук применяют жидкое мыло с помощью дозатора (диспенсера) или твердое (брусковое), помещаемое в магнитные или другие мыльницы, конструкция которых не позволяет мылу размокать. Вытирают руки индивидуальным или одноразовым полотенцем (салфеткой).

4.4. Гигиеническую обработку рук спиртосодержащим или другим, предусмотренном для применения антисептиком (без их предварительного мытья), проводят путем втирания его в кожу кистей рук в количестве, рекомендуемой инструкцией по применению, обращая особое внимание на обработку кончиков пальцев, кожи вокруг ногтей, между пальцами.

4.5. При использовании дозатора, новую порцию антисептика (или мыла) наливают в дозатор после его дезинфекции, промывания водой и высушивания. Предпочтение следует отдавать локтевым дозаторам и дозаторам на фотоэлементах.

4.6. Кожные антисептики для обработки рук должны быть легко доступны на всех этапах лечебно-диагностического процесса. В подразделениях с высокой интенсивностью ухода за пациентами и с высокой нагрузкой на персонал (отделения реанимации и интенсивной терапии и т.п.) дозаторы с кожными антисептиками для обработки рук должны размещаться в удобных для применения персоналом местах (у входа в палату, у постели больного и др.). Следует также предусматривать возможность обеспечения медицинских работников индивидуальными емкостями (флаконами).

4.7. Необходимо осуществлять постоянный контроль выполнения требований гигиены рук медицинскими работниками и доводить эту информацию до сведения персонала с целью повышения качества медицинской помощи.

К одним из средств индивидуальной защиты медицинского персонала и пациентов является использование резиновых перчаток. Различают три вида перчаток:

- хирургические

- смотровые
- хозяйственные

Хирургические перчатки. Применяются во всех случаях, предполагающих контакт с подкожными тканями или выделениями крови. Наиболее предпочтительным для этих процедур является использование стерильных перчаток; допускается, однако, использование хирургических перчаток, прошедших дезинфекцию высокого уровня (ДВУ), если отсутствуют стерильные перчатки, или если стерилизация по каким-либо причинам является невозможной. Рекомендуется, по возможности, пользоваться одноразовыми хирургическими перчатками, поскольку надлежащая обработка многоразовых перчаток представляет собой достаточно трудоемкий процесс. Перчатки, подвергнутые ДВУ, могут использоваться при контактах с поврежденным кожным покровом или с неповрежденной слизистой оболочкой.

При проведении оперативных вмешательств используются только стерильные перчатки.

Смотровые перчатки. Должны использоваться при контакте с неповрежденными слизистыми оболочками. Смотровые перчатки обычно изготавливаются из резины (латекса) или винила и могут поставляться в россыпной или индивидуальной упаковке. Перчатки этого типа являются чистыми, но не стерильными или прошедшими ДВУ. Допускается их повторное употребление. При каждой внутривенной манипуляции смотровые перчатки необходимо менять. Внутримышечные и подкожные манипуляции допускается проводить без перчаток, за исключением инфекционных стационаров.

Хозяйственные перчатки. Плотные резиновые перчатки используются при обращении с зараженными инструментами и другими предметами, отходами, постельным бельем, а также при уборке помещений и обработке зараженных поверхностей. Эти перчатки можно использовать неоднократно после регулярного мытья, споласкивания.

Если рекомендуемый тип перчаток отсутствует, необходимо следовать следующим правилам:

- Если нет стерильных перчаток, можно пользоваться перчатками после дезинфекции высокого уровня (ДВУ).
- Если нет смотровых перчаток, допускаются использовать стерильные перчатки или перчатки после ДВУ.
- Если нет технических перчаток, то в зависимости от выполняемой работы можно использовать чистые, стерильные перчатки или перчатки после ДВУ.

Медицинский персонал лечебных учреждений должен быть обеспечен комплектом сменной одежды: халатами, шапочками или косынками, масками, сменной обувью (тапочками), хранение их надлежит осуществлять в индивидуальных шкафчиках. В наличие должен быть комплект спец. одежды для экстренной ее замены в случае загрязнения. Верхняя одежда должна храниться в гардеробе для персонала.

Нахождение в медицинской одежде и обуви за пределами лечебного учреждения не допускается.

Студенты, занимающиеся в операционных блоках, родильных залах, перевязочных стационаров (отделений), в т. ч. инфекционного, фтизиатрического, кожно-венерологического профилей, должны иметь чистую спец. одежду (тапочки, медицинский халат, шапочку или колпачок).

Необходимо внедрить и применять физические барьеры — защитные очки или лицевые щитки, маски, пластиковые фартуки, если предполагается разбрызгивание или расплескивание инфицированных жидкостей.

1. Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях

1.1. Дезинфекция, предстерилизационная очистка и стерилизация изделий медицинского назначения (далее изделия) направлены на профилактику внутрибольничных инфекций у пациентов и персонала лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ).

1.2. Дезинфекцию изделий проводят с целью уничтожения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов — вирусов (в том числе возбудителей парентеральных вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции), бактерий (включая, микобактерии туберкулеза, грибов) на изделиях медицинского назначения, а также в их каналах и полостях.

1.3. Дезинфекции подлежат все изделия после применения их у пациента.

1.4. Изделия медицинской техники и медицинского назначения после применения подлежат дезинфекции независимо от дальнейшего их использования (изделия однократного и многократного применения). Дезинфекцию можно проводить физическими и химическими методами. Выбор метода зависит от особенностей изделия и его назначения.

1.5. Для дезинфекции изделий медицинской техники и медицинского назначения применяют дезинфицирующие средства, обладающие широким спектром антимикробного (вирулицидное, бактерицидное, фунгицидное - с активностью в отношении грибов рода Кандида) действия. Выбор режимов дезинфекции проводят по наиболее устойчивым микроорганизмам – между вирусами или грибами рода Кандида (в туберкулезных медицинских организациях – по микобактериям туберкулеза).

1.6. Изделия медицинского назначения многократного применения, которые в процессе эксплуатации могут вызвать повреждение кожи, слизистой оболочки, соприкасаются с раневой поверхностью, контактируют с кровью или инъекционными препаратами подлежат дезинфекции на месте. После дезинфекции изделия подвергают предстерилизационной очистке.

1.7. После дезинфекции изделия медицинского назначения многократного применения должны быть отмыты от остатков дезинфицирующего средства в соответствии с рекомендациями, изложенными в инструкции по применению конкретного средства.

1.8. Изделия многократного применения, подлежащие стерилизации, перед стерилизацией подвергают предстерилизационной очистке.

1.9. Предстерилизационную очистку проводят с целью удаления с изделий белковых, жировых и механических загрязнений, а также остатков лекарственных препаратов.

1.10. В качестве средств дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации используют только предназначенные физические и химические средства.

1.11. При выборе дезинфекционных средств необходимо учитывать рекомендации изготовителей изделий медицинского назначения, касающиеся воздействию конкретных дезинфекционных средств на материалы этих изделий.

1.12. Ёмкости с растворами дезинфицирующих, моющих и стерилизующих средств должны быть снабжены крышками, иметь четкие надписи с указанием названия средства, его концентрации, назначения, даты приготовления (для готовых к применению средств, разрешенных для многократного использования указывают, то же).

1.13. Рекомендации по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации сложных по конструкции изделий (эндоскопы, медицинские инструменты к гибким эндоскопам и др.), а также дополнительные сведения, касающиеся различных аспектов указанных видов обработки изделий осуществляется согласно действующих нормативных документов.

1.14. При проведении дезинфекции применяются дезинфекционные средства, согласно инструкции.

1.15. Предстерилизационная очистка является важным этапом в процессе проведения стерилизации.

1.16. Запрещается проведение предстерилизационной очистки медицинского инструментария и других медицинских изделий в отделениях стационаров, операционных блоках, перевязочных и т. д.

1.17. В ОЦС принимается медицинский инструментарий, прошедший обеззараживание в 0,5% хлорсодержащем дезинфектанте с экспозицией не

менее 10 мин. или в другом дезинфектанте согласно применяемой инструкции, а также их промывке в воде.

1.18. Предстерилизационная очистка медицинского инструментария и приравненных к ним изделий, проводятся только в отделениях (пунктах) централизованной стерилизации, согласно таблице № 2. В стационарах, где проводятся микрохирургические оперативные вмешательства, допускается проведение предстерилизационной очистки и стерилизации в операционных блоках.

1.19. Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки азопирамовой, амидопириновой проб (согласно инструкции) на наличие остаточного количества крови и биологических субстратов организма, а также путем постановки фенолфталеиновой пробы на наличие остаточных количеств щелочных компонентов моющих средств.

1.20. Стерилизация — это процесс уничтожения всех микроорганизмов (бактерии, грибки и паразиты), в том числе бактериальных спор, с неживых предметов паром под высоким давлением (автоклав), сухим жаром (сушильно-стерилизационный шкаф), химическим методом.

1.21. Стерилизацию проводят с целью умерщвления на изделиях или в изделиях микроорганизмов. Стерилизации подлежат все изделия, соприкасающиеся с раневой поверхностью, контактирующие с кровью в организме пациента или вводимой в него, инъекционными препаратами, а так же изделия, которые в процессе эксплуатации контактируют со слизистой оболочкой и могут вызвать её повреждение.

1.22. Стерилизацию осуществляют физическими (паровой, воздушный, в среде нагретых шариков) и химическими (применение растворов химических средств, газовый) методами согласно таблицы № 3, 4, 5.

1.23. Хирургическое белье, перевязочный материал укладывают в стерилизационные коробки параллельно движению пара. Запрещается плотно укладывать материал. Норма загрузки стерилизационных коробок

хирургическим бельем и перевязочным материалом представлена в таблице № 1.

1.24. Резиновые перчатки перед стерилизацией пересыпают внутри и снаружи тальком для предохранения их от склеивания. Между перчатками прокладывают марлю или бумагу, каждую пару перчаток заворачивают отдельно в марлю или бумагу и в таком виде помещают в стерилизационную коробку или в другую упаковку. В целях уменьшения неблагоприятного воздействия пара резиновые перчатки, как и другие изделия из резин, стерилизуют при температуре 120-122°C.

1.25. Паровым методом стерилизуют лигатурный шовный материал: нити хирургические шелковые кручёные, нити хирургические капроновые крученые, шнуры хирургические полиэфирные (далее — лигатурный шовный материал).

1.26. Лигатурный шовный материал готовят к стерилизации в виде косичек, мотков, наматывая на катушки, стеклянные палочки и т. д. Подготовленный лигатурный шовный материал заворачивают в два слоя упаковочного материала (при размещении в стерилизационной коробке — в один слой упаковочного материала) в количестве, рассчитанном на одну операцию. Нити хирургические капроновые крученые стерилизуют паром только при температуре 120-122°C; лигатурный шовный материал других видов допускается стерилизовать, кроме того, при температуре 130-134°C. Лигатурный шовный материал хранят в той же упаковке, в которой он был простерилизован, в специальных шкафах для стерильных изделий. Неиспользованный стерильный лигатурный шовный материал, в случае нарушения условий или истечения срока хранения, может быть повторно (еще лишь один раз) простерилизован паровым методом при температуре 120-122°C.

1.27. Стерилизация в пароформалиновых камерах допускается после проведения дезинфекции, предстерилизационной очистки и только в камерах заводского изготовления, имеющих соответствующий паспорт и

регулирующий концентрацию паров. Пароформалиновые камеры должны быть установлены в специально предназначенных помещениях с наличием соответствующей вентиляции.

1.28. При проведении дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации растворами химических средств изделия медицинского назначения погружают в рабочий раствор средства (далее – «раствор») с заполнением каналов и полостей. Разъемные изделия погружают в разобранном виде, инструменты с замковыми частями замачивают раскрытыми, сделав эти инструменты в растворе несколько рабочих движений.

1.29. Объем емкости должен обеспечить полное погружение изделий медицинского назначения в раствор; толщина слоя раствора над изделиями должна быть не менее одного сантиметра.

1.30. Химический метод стерилизации с применением растворов химических средств, как правило, применяют для стерилизации изделий, в конструкции которых использованы термолабильные материалы, не позволяющие использовать другие официально рекомендуемые, доступные методы стерилизации.

Для химической стерилизации применяют растворы альдегидсодержащих, кислородсодержащих и некоторых хлорсодержащих средств, проявляющих спороцидное действие.

При стерилизации растворами химических средств все манипуляции проводят, строго соблюдая правила асептики; используют стерильные емкости для стерилизации и отмывания изделий стерильной питьевой водой от остатков средства. Изделия промывают согласно рекомендациям, изложенным в инструкции по применению конкретного средства.

1.31. При стерилизации химическим методом с применением растворов химических средств отмытые стерильной водой простерилизованные изделия используют сразу по назначению или помещают на хранение в стерильную

стерилизационную коробку с фильтром, выложенную стерильной простыней, на срок не более 3 суток.

1.32. При паровом, воздушном и газовом методах изделия стерилизуют в упакованном виде, используя стерилизационные упаковочные одноразовые материалы или многоразовые контейнеры (стерилизационные коробки с фильтрами), разрешенные применительно к конкретному методу стерилизации в установленном порядке.

1.33. Хранение изделий, простерилизованных в упакованном виде, осуществляют в шкафах, рабочих столах. Сроки хранения указываются на упаковке и определяются видом упаковочного материала и инструкцией по его применению.

1.34. В стоматологических медицинских организациях (кабинетах) допускается применять гласперленовые стерилизаторы, в которых стерилизуют боры различного вида и другие мелкие инструменты при полном погружении их в среду нагретых стеклянных шариков. Не рекомендуется использовать данный метод для стерилизации рабочих частей более крупных стоматологических инструментов, которые невозможно полностью погрузить в среду нагретых стеклянных шариков.

1.35. Бактерицидные камеры, оснащенные ультрафиолетовыми лампами, допускается применять только с целью хранения инструментов для снижения риска их вторичной контаминации микроорганизмами в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Запрещается применять такое оборудование с целью дезинфекции или стерилизации инструментов.

1.36. При стерилизации изделий в неупакованном виде воздушным методом не допускается хранение простерилизованных изделий в воздушном стерилизаторе и их использование на следующий день после стерилизации.

1.37. Не допускается использование простерилизованных изделий медицинского назначения с истекшим сроком хранения после стерилизации.

1.38. Учет стерилизации изделий медицинского назначения ведут в соответствующем журнале.

2. Контроль качества предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения

2.1. Самоконтроль в ОЦС (ОЦС) проводят ежедневно.

2.2. Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки азопирамовой или амидопириновой пробы на наличие остаточного количества крови, а также путем постановки фенолфталеиновой пробы на наличие остаточных количеств щелочных компонентов моющих средств.

2.3. Контроль качества предстерилизационной очистки на остаточное количество крови (азопирам, амидопириновая) — 10% от каждого наименования изделия обработанных за смену, но не менее 3-4 проб.

2.4. Контроль качества на остаточное количество щелочи (фенолфталеиновая проба) — на каждую партию прополосканных в дистиллированной воде изделий не менее 3-4 проб.

3. Методика приготовления реактивов для постановки проб

3.1. Азопирамовая проба

Азопирам содержит 10% амидопирина, 0,10-0,15% солянокислого анилина, 95% этилового спирта.

Готовый раствор может храниться в плотно закрытом флаконе в темном месте в холодильнике 2 месяца, при комнатной температуре 18-23°C не более одного месяца.

Умеренное пожелтение реактива в процессе хранения без выпадения осадка не снижает его рабочих качеств.

Приготовление рабочего раствора: непосредственно перед проверкой качества очистки готовят рабочий раствор, смешивая равные объемы азопирама и 3%-ного раствора перекиси водорода.

Приготовленный раствор азопирама наносят на кровавое пятно. Если не позже чем через 1 мин появляется фиолетовое окрашивание, переходящее затем в сиреневый цвет, реактив пригоден к употреблению, если

окрашивание в течение 1 мин не появляется, то реактивом пользоваться нельзя. Рабочим раствором обрабатывают исследуемые изделия, протирают тампонами, смоченными реактивом, различные поверхности аппаратуры и оборудования, наносят несколько капель на исследуемый предмет.

В присутствии следов крови менее чем через 1 мин. после контакта реактива с загрязненным участком появляется вначале фиолетовое окрашивание, затем быстро, в течение нескольких секунд, переходящее в розово-сиреневое. Буроватое окрашивание наблюдается при наличии на исследуемых предметах ржавчины, фиолетовое - при наличии хлорсодержащих окислителей.

Особенности реакции:

- окрашивание, наступившее позже чем через 1 мин после обработки исследуемых предметов, не учитывается;
- исследуемые предметы должны иметь комнатную температуру. Нельзя подвергать проверке горячие предметы;
- рабочий раствор держать на ярком свете или при повышенной температуре запрещается;
- рабочий раствор азопирама должен быть использован в течение 1-2 ч.

После проверки, независимо от результатов, следует удалить остатки азопирама с исследуемых предметов, обмыв их водой или протерев тампоном, смоченным водой или спиртом, а затем повторить предстерилизационную очистку этих предметов.

3.2. Амидопириновая проба

Готовят 5% спиртовой раствор амидопирина на 96% этиловом спирте. Данный раствор должен храниться во флаконе с притертой пробкой в холодильнике. Срок годности раствора - 1 месяц.

Готовят 30% раствор уксусной кислоты и 3% раствор перекиси водорода на дистиллированной воде.

Смешивают равные количества 5% спиртового раствора амидопирина, 30% раствора уксусной кислоты и 3% раствора перекиси водорода. Реактив готовят перед применением.

При постановке азопирамовой или амидопириновой пробы, окрашивание реактивов, наступившее позже, чем через I мин. после постановки пробы, не учитывается.

3.3. Фенолфталеиновая проба

Готовят 1% спиртовой раствор фенолфталеина на 96% этиловом спирте; раствор хранят во флаконе с притертой пробкой в холодильнике в течение месяца.

4. Методика постановки проб

Контролируемое изделие протирают марлевой салфеткой, смоченной реактивом или наносят 2-3 капли реактива на изделие с помощью пипетки.

4.1. Учёт результатов постановки проб:

при положительной азопирамовой пробе, в присутствии следов крови немедленно или не позднее, чем через I мин, появляется вначале фиолетовое, затем быстро в течение нескольких секунд переходящее в розово-сиреневое или буроватое окрашивание реактива.

Азопирам, кроме гемоглобина, выявляет наличие на изделиях остаточных количеств пероксидаз растительного происхождения (растительных остатков), окислителей (хлорамина, хлорной извести), стирального порошка с отбеливателем, хромовой смеси для обработки посуды и др., а также ржавчины (окислов и солей железа) и кислот. При наличии на исследуемых изделиях ржавчины и указанных выше окислителей наблюдается бурое окрашивание реактива, в остальных случаях происходит окрашивание в розово-сиреневый цвет.

при положительной амидопириновой пробе о наличии остаточного количества крови на изделиях свидетельствует немедленное или не позже, чем через I мин. после контакта реактива с кровью, появление сине-фиолетового окрашивания различной интенсивности.

при положительной фенолфталеиновой пробе о наличии на изделиях остаточных количеств щелочных компонентов моющего средства свидетельствует появление розового окрашивания реактива.

В случае положительной пробы на кровь или на остаточные количества щелочных компонентов моющих средств, всю группу контролируемых изделий, от которой отбирали контроль, подвергают повторной очистке до получения отрицательных результатов. Результаты контроля отражают в журнале учета качества предстерилизационной обработки по форме № 366/У.

ЖУРНАЛ

Учета качества предстерилизационной обработки

Начат «__» _____ 20__ г.

Окончен «__» _____ 20__ г.

Дата	Способ обработки	Применяемое средство	Результаты выборочного химического контроля обработанных изделий	Фамилия лица, проводившего контроль			
1	2	3	Наименование изделий	Количество (штук)	Из них загрязненных кровью	Моющими и средствами	8

5. Контроль стерилизации

5.1. Контроль параметров режимов стерилизации проводят физическим (с помощью контрольно-измерительных приборов: термометров, мановакуумметров и др.) и химическим с использованием химических

индикаторов (ИВС и ИКПВС-Медтест, Стеритест-В, П, Вл-Винар, Медис-В, Фарматест-Винар и другими). Эффективность стерилизации оценивают на основании результатов контроля стерильности изделий, подвергнутых стерилизации отражают в журнале работы стерилизаторов воздушного, парового (автоклава) (Ф 257/У)

ЖУРНАЛ

Работы стерилизаторов воздушного, парового (автоклава)

Начат «___» _____ 20__ г. Окончен «___» _____ 20__ г.

Дат а №	Мар ка, ые изделия	Стерилизуем ков стерилизации	Упа ка (мин)	Время	Режим	Тест-контроль	Под пис ь
стер и- лиз ато ра воз душ ног о, па- ров ого	Наиме новани е стерил изуемы х издели й	колич еств о	Начал о стерил изаци и	Конец стерил изаци и	давл е темпе ратур а	Биолог ически й	терми чески й
							хими чески й

Применение химических тест-индикаторов позволяет обнаружить несоблюдение режима стерилизации, обусловленное технической неисправностью стерилизаторов, нарушением правил их загрузки, ошибкой в установке значений параметров или их сбоем, и тем самым уменьшить вероятность использования нестерильных изделий.

5.2. На упаковке индикаторов указаны их наименование, срок годности, номер партии, штамп ОТК и реквизиты предприятия-изготовителя. Хранить индикаторы следует в упаковке изготовителя при температуре от 5°C до 40°C и относительной влажности не выше 85%, в защищённом от солнечного света месте. Гарантийный срок годности - 24 месяца.

5.3. Все операции с индикаторами - их размещение в камере стерилизатора, выемку, интерпретацию результатов и документирование - осуществляет персонал, проводящий стерилизацию.

5.4. Индикаторы рекомендуется применять в каждом цикле стерилизации. Количество индикаторов, закладываемых в стерилизатор, зависит от объема камеры стерилизатора. При каждом цикле стерилизации применяются как наружные, так внутренние тест-индикаторы.

Объём стерилизационной камеры парового стерилизатора	Количество точек, в которые закладываются индикаторы
до 100 включительно	5
от 100 до 750 включительно	11

5.5. От листа с индикаторами по линиям перфорации отрывают необходимое количество индикаторов и нумеруют их в соответствии с нумерацией контрольных точек (рис.1). Индикаторы помещают в камере стерилизатора с внешней стороны упаковок и стерилизационных коробок (биксов) со стерилизуемыми изделиями по возможности придерживаясь расположения контрольных точек (рис.1). В каждую точку помещают не менее одного индикатора.

Объём стерилизационной камеры	Число контрольных точек	Расположение контрольных точек
До 100 включительно	5	Для стерилизаторов вертикальных т. 1 - в верхней части камеры; т. 2 - в нижней части камеры; т. 3-5 - в центре стерилизационных коробок Для стерилизаторов круглых горизонтальных: т. 1 - у загрузочной двери; т. 2 - в противоположной стенке; т. 3 - 5 - в центре стерилизационных коробок
Свыше 100 до 750 включительно	До 11	Для стерилизаторов круглых 750 горизонтальных и стерилизаторов включительно прямоугольных

- 1 - у загрузочной двери;
- 2 - в противоположной стенке;
- т. 3-11 - в центре стерилизационных коробок

5.6. Для закрепления индикатора с его обратной стороны удаляют часть защитного бумажного покрытия, закрывающего липкий слой со стороны логотипа. Закрепление индикаторов необходимо производить при использовании стерилизационных коробок - на бирку коробки.

5.7. Не допускается размещать индикаторы типа СТЕРИКОНТ-П внутри стерилизуемых изделий и упаковок. Для контроля условий стерилизации внутри изделий и упаковок необходимо использовать индикаторы серии "СТЕРИТЕСТ-П" и подобного типа.

5.8. По окончании цикла стерилизации оценивают изменение цвета индикаторной метки каждого индикатора. Если, на всех индикаторах цвет индикаторной метки изменяется на темный сине-фиолетовый, соответствующий цвету эталона сравнения или стал темнее него, то были соблюдены требуемые значения критических параметров режима стерилизации, все изделия загрузки считаются простерилизованными.

5.9. Если индикаторная метка хотя бы одного индикатора полностью или частично сохранила желтый цвет, либо изменила цвет на зеленый или коричнево-зеленый, легко отличимый от цвета эталона сравнения, то не были соблюдены требуемые значения критических параметров режима стерилизации в камере стерилизатора. Все изделия загрузки считаются нестерильными. В этом случае проверяют соблюдение правил загрузки стерилизатора и правильность установки параметров, переупаковывают изделия в новые упаковки, заменяют индикаторы и подвергают изделия повторной стерилизации.

5.10. Использованные (наружные) индикаторы подклеиваются в журнал учёта стерилизации (форма 257/у) в выделенные для этого колонки и хранятся в качестве документа в архиве в течение 3 лет после использования. Индикаторы с липким слоем не требуют нанесения дополнительного клея и

подклеиваются в журнал после снятия с его липкого слоя защитной бумаги. Журнал ведется и хранится в ОЦС.

5.9. Перед извлечением простерилизованных материалов и инструментов (до вскрытия стерилизационных коробок/упаковок):

- визуально оценивают плотность закрытия крышки стерилизационной коробки или целостность стерилизационной упаковки однократного применения;
- проверяют цвет индикаторных меток химических индикаторов, в том числе на стерилизационных упаковочных материалах;
- проверяют дату стерилизации;
- на бирке бикса, упаковочном пакете ставят дату, время вскрытия и подпись вскрывавшего.

Контроль условий стерилизации внутри упаковок и изделий – осуществляется с применением «внутренних» индикаторов. По ним персонал клинических отделений перед непосредственным использованием медицинских изделий и материалов контролирует их стерильность.

Внутренние тест-индикаторы вынимаются из стерилизационных коробок и клеиваются в регистрационный журнал кабинетов ЛПУ.

Журнал должен быть пронумерован, прошнурован, скреплен подписью руководителя и печатью учреждения.

6. Требования к медицинскому персоналу отделения (пункта) централизованной стерилизации

6.1. При поступлении на работу и во время работы, средний мед персонал проходит предварительный (периодический) медицинский осмотр в соответствии с действующими нормативными документами.

6.2. Персонал ОЦС должен быть обеспечен спецодеждой и обувью.

6.3. Персонал должен быть проинструктирован в части методики, техники производственной работы, выполнения правил техники безопасности, противоэпидемического и дезинфекционного режимов.

6.4. Перед поступлением на работу в ОЦС мед. персонал предварительно обязан пройти обучение в базовой (показательной) ОЦС по режиму работы и методике проведения предстерилизационной обработки, не менее одной недели. Запрещается обучение на работе в ОЦС только посредством проведения лекций, со стороны специалистов центров госсанэпиднадзора, управления здравоохранения областей, г. Ташкента и Минздрава Республики Каракалпакстан и др. специалистов. 70% обучения на базовой ОЦС должно быть посвящено практическим занятиям.

Организации, проводящие обучение по режиму стерилизации и автоклавирования, должны иметь лицензию на право преподавания.

Выдача сертификатов по режиму стерилизации и автоклавирования проводится учреждением имеющим право на выдачу соответствующего документа.

6.5. Медицинский персонал, обслуживающий стерилизующее оборудование (автоклав, сухожаровой шкаф) перед поступлением в ОЦС, а далее 1 раз в год должен проходить обучение на специальных курсах и иметь удостоверение о допуске к работе на данных аппаратах.

6.6. Ежегодно стерилизуемое оборудование должно проходить государственную поверку. На каждый вид оборудования должен быть технический паспорт с отметкой в нем прохождения ежегодной поверки.

Требования к санитарному содержанию помещений, оборудования и инвентаря

1. Все помещения, оборудование, медицинский и другой инвентарь должны содержаться в чистоте. Администрация ЛПУ организует предварительный и периодический (не реже 1 раза в год) инструктаж персонала,

осуществляющего уборку помещений по вопросам санитарно-гигиенического режима и технологии уборки.

2. Хранение моющих и дезинфекционных средств должно осуществляться в таре (упаковке) изготовителя, снабженной этикеткой, на стеллажах, в специально предназначенных местах.

3. Необходимо иметь отдельные емкости с рабочими растворами дезинфекционных средств, используемых для обработки различных объектов:

- для дезинфекции изделий медицинского назначения;
- для дезинфекции поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов и оборудования;
- для обеззараживания уборочного материала, для обеззараживания отходов классов Б и В.

Емкости с рабочими растворами дезинфекционных средств должны быть снабжены плотно прилегающими крышками, иметь четкие надписи или этикетки с указанием средства, его концентрации, назначения, даты приготовления, предельного срока годности раствора.

4. При работе с дезинфекционными средствами необходимо соблюдать все меры предосторожности, включая применение средств индивидуальной защиты, указанные в инструкциях по применению.

5. Уборочный инвентарь (тележки, емкости, ветошь, швабры) должен иметь четкую маркировку или цветовое кодирование с учетом функционального назначения помещений и видов уборочных работ и храниться в выделенном помещении. Схема цветового кодирования размещается в зоне хранения инвентаря.

6. Мытье оконных стекол должно проводиться 1 раз в квартал и по мере загрязнения.

7. Генеральная уборка помещений палатных отделений и других функциональных помещений и кабинетов должна проводиться по графику не

реже 1 раза в месяц, с обработкой стен, полов, оборудования, инвентаря, светильников.

8. Генеральная уборка операционного блока, перевязочных, родильных залов, процедурных, манипуляционных, стерилизационных, и других помещений с асептическим режимом проводится один раз в неделю.

9. Вне графика генеральную уборку проводят в случае получения неудовлетворительных результатов микробной обсемененности внешней среды и по эпидемиологическим показаниям.

10. Для проведения генеральной уборки персонал должен иметь специальную одежду и средства индивидуальной защиты (халат, шапочка, маска, резиновые перчатки, резиновый фартук и др.), промаркированный уборочный инвентарь и чистые тканевые салфетки.

11. Генеральная уборка проводится мытьем стен, имеющих санитарно-гигиеническое покрытие. Также проводится мытье дверей, окон, плинтусов, осветительных приборов, оборудования.

12. Генеральные уборки проводятся при одномоментном использовании 2-х ведер:

- в первом ведре готовится моющий комплекс, состоящий из 0,5% раствора хлорсодержащего дезинфектанта, в которое добавляется моющее средство — 50 гр., кусковое хозяйственное мыло или 25 гр. любого моющего порошка;
- во втором ведре — чистая вода.

- в начале ветошь погружается в ведро с моющим раствором, слегка отжимается и протирается небольшой участок, подлежащий мытью. Затем использованная ветошь ополаскивается в ведре с чистой водой. В последующем данный процесс повторяется.

13. Этапы проведения генеральной уборки:

- перед проведением генеральной уборки в начале помещения проветриваются — не менее 20 минут;
- затем все поверхности протираются моющее—дезинфицирующим раствором;

- далее протираются ветошью с чистой водой и кварцуются (30 мин.)

Примечание: Ежедневно рекомендуется чередовать применение дезинфицирующих средств: хлорсодержащие, перекись водорода или другие дезинфектанты.

14. Расход дезинфицирующего раствора на 1 кв. м. — 100 мл.

В лечебно-профилактических учреждениях соматического профиля, родильных комплексах (отделениях), хирургических стационарах (отделениях) текущая уборка коридоров, палат проводится 3 раза, в т.ч. 1 раз в день с применением моющих средств. Дезинфекционные средства применяются по показанию (при загрязнении биологическими жидкостями организма). В инфекционных, туберкулезных и кожно-венерологических стационарах (диспансерах) текущая уборка проводится 3 раза в день, в том числе 1 раз с применением дезинфицирующих средств.

15. Текущая уборка операционных блоков, перевязочных, процедурных, перевязочных и манипуляционных кабинетов проводится не реже 3-х раз в день, в том числе один раз с применением дезинфекционных средств.

16. Рабочие поверхности обрабатываются 0,5% хлорсодержащим дезинфекционным раствором или другим дезинфекционным средством, согласно инструкции.

17. Количество чистых ветошей должно быть достаточное, но не менее 10-15 штук. Повторное применение использованной ветоши не допускается. Сбор использованных ветошей проводится в отдельную емкость, с последующей стиркой, сушкой и хранением в чистой ёмкости.

18. Перед началом текущей уборки помещения должны проветриваться в течение 20 минут. После каждой уборки включают бактерицидную лампу.

19. Использованный уборочный инвентарь (швабра, ведра) обеззараживают в растворе дезинфицирующего средства, затем прополаскивают в воде и сушат. Уборочный инвентарь для пола и стен должен быть отдельным, иметь четкую маркировку, применяться отдельно для кабинетов, коридоров, санузлов.

20. Хранение уборочного инвентаря необходимо осуществлять в специально выделенном помещении или специально отведенном месте.
21. Сбор грязного белья осуществляется в закрытой таре (клеенчатые или полиэтиленовые мешки, специально оборудованные и маркированные бельевые тележки или другие аналогичные приспособления) и передаваться в центральную кладовую для грязного белья в прачечной. Временное хранение грязного белья в отделениях (не более 12 часов) допускается в помещениях для грязного белья с водостойкой отделкой поверхностей. Помещение и инвентарь ежедневно моются и дезинфицируются.
22. Стирка белья должна осуществляться в специальных прачечных или прачечной в составе ЛПУ.
23. Транспортировка чистого белья из прачечной и грязного белья в прачечную должна осуществляться в упакованном виде (в контейнерах) специально выделенным автотранспортом.
24. Перевозка грязного и чистого белья в одной и той же таре не допускается. Стирка тканевой тары (мешков) должна осуществляться одновременно с бельем.
25. Хранение суточного запаса чистого белья отделения проводится в специально выделенном помещении на стеллажах или в шкафах. Для детей пеленки хранятся отдельно от остального белья на специальных полках в шкафу или в отдельном шкафу. Разрешается использование личной (домашней) одежды больного.
26. После выписки (смерти) больного, а также по мере загрязнения, матрацы, подушки, одеяла должны подвергаться дезинфекционной камерной обработке из родильных комплексов, детских стационаров (отделений), учреждений фтизиатрического, кожно-венерологического, инфекционного профилей, а также из стационаров (отделений) хирургического профилей. В случае использования для покрытия матрацев чехлов, из материала, допускающего влажную дезинфекцию камерная обработка не требуется. Дезинфекционной обработке подлежат кровать и тумбочка пациента.

27. Устранение текущих дефектов отделки (ликвидация протечек на потолках и стенах, следов сырости, плесени, заделка трещин, щелей, выбоин, восстановление отслоившейся облицовочной плитки, дефектов напольных покрытий и других) должно проводиться незамедлительно.

28. В период проведения текущего или капитального ремонта функционирование помещений должно быть прекращено.

29. Не допускается проведение ремонтных работ поэтажно или поблочно в одном здании.

30. В ЛПУ не должно быть синантропных членистоногих, крыс и мышевидных грызунов. Проведение дезинсекции и дератизации должно осуществляться в соответствии с санитарными правилами специализированными организациями.

31. Сбор, временное хранение и удаление отходов различных классов опасности в ЛПУ осуществляется в соответствии с санитарными правилами по обращению с медицинскими отходами.

РАЗДЕЛЫ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ, ПО КОТОРЫМ ПРОВОДИТСЯ КОНТРОЛЬ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ

Природные микробиоценозы. Экологические связи в микробиоценозах. Симбиоз. Комменсализм, нейтрализм, конкуренция, паразитизм, хищничество. Динамичность экологических связей, Экологические среды микроорганизмов. Свободноживущие и паразитические микробы.

Микрофлора почвы. Источники и пути попадания паразитических микробов в почву. Условия и сроки их выживания в почве. Санитарно-показательные микроорганизмы почвы.

Микрофлора водоёмов. Условия и сроки выживания микробов в воде. Микробиологические показатели доброкачественности питьевой воды.

Микрофлора атмосферного воздуха и воздуха жилых помещений.

Пути попадания, условия и сроки выживания микробов в воздухе. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха. Значение микрофлоры воздуха для родильных отделений и палат новорожденных.

ПЕРЕЧЕНЬ ДЕМОНСТРАЦИЙ:

1. Результат первого этапа определения коли-титра и коли-индекса водопроводной воды двухфазным бродильным методом.

Изучают результат посева водопроводной воды (500 мл воды в глюкозо-пептонную среду – 4 бутылки или колбы по 100 мл воды и 10 пробирок по 10 мл воды), находят забродившие пробы по наличию пузырьков газа в поплавке. Обсуждают дальнейший ход исследования:

- посев на среду Эндо;

- мазок из выросших колоний, окраска по Граму;

- оксидазный тест. Стеклой палочкой снимают 2-3 изолированных колонии с грамтрицательными палочками и наносят штрихом на фильтровальную бумагу, смоченную индикатором для выявления оксидазы. При отрицательном оксидазном тесте цвет бумаги не меняется. Отрицательный оксидазный тест указывает на принадлежность бактерий к родам *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*. Грамотрицательные бактерии семейства *Pseudomonadaceae* и другие грамтрицательные бактерии, обитающие в воде, дают положительный результат оксидазного теста;

- при отрицательном оксидазном тесте грамтрицательные палочки вновь исследуют в бродильном тесте, для чего их вносят в полужидкий питательный агар с 0,5% глюкозы и инкубируют при 37°C в течение суток. При положительном результате определяют коли-титр и коли-индекс по таблицам ГОСТа, следуя таблице:

Количество положительных результатов анализа воды из 5 флаконов по 100 мл	Коли-индекс	Пределы индекса (доверительные границы)		Коли- титр
		нижний	верхний	
0	Менее 2	0	6,0	Более 455
1	2	0,1	12,6	455
2	5	0,5	19,2	196
3	9	1,6	29,4	109
4	16	3,3	52,9	62
5	Более 16	8,0	-	Менее 62

ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ:

РАБОТА 1. Определение микробного числа воздуха родильной палаты.

Цель работы: Обучение методу оценки чистоты воздуха родильной палаты по микробному числу и по содержанию санитарно-показательных микроорганизмов.

Примечания: 1. Санитарно-бактериологическое обследование воздуха проводят седиментационным методом. Время посева воздуха на открытую чашку Петри 60 минут.

2. Микробное число воздуха родильной палаты должно быть не более 1500 в 1 куб.м воздуха. Зелёящих и гемолитических стрептококков, патогенных стафилококков не должно быть.

3. На занятии студенты получают результат посева воздуха на МПА – для подсчёта колоний и вычисления микробного числа, на ЖСА – для выявления патогенных стафилококков, на кровяном агаре – для выявления зелёящих и гемолитических стрептококков.

4. Микробное число воздуха вычисляют по формуле Омелянского:

$$A \times 100 \times 1000 \times 5$$

$X = \text{-----}$, где

$V \times 10 \times T$

X – количество микробов в 1 куб.м воздуха,

A – количество колоний в чашке,

B – площадь чашки,

T – время, в течение которого чашка Петри была открыта,

5 – время по расчёту Омелянского,

10 – объём воздуха (в литрах), из которого происходит оседание микробов за 5 минут

100 – площадь (в кв. см), на которую происходило оседание микробов,

1000 – искомый объём воздуха (в литрах).

Расчёт площади чашки Петри в зависимости от её диаметра:

8 см – 50 кв. см, 9 см – 63 кв. см, 10 см – 78,5 кв. см.

РАБОТА 2. Определение микробного числа воздуха палаты новорожденных.

Цель работы: Обучение методу оценки чистоты воздуха палаты новорожденных по микробному числу и по соержанию санитарно-показательных микроорганизмов.

Примечания: 1. Обратить внимание студентов на количество и разнообразие колоний. Оценка результатов при использовании седиментационного метода посева воздуха в течение 60 минут в две чашки Петри производится по суммарному числу колоний, выросших на чашках оценивают результат. При наличии менее 250 колоний воздух считается чистым, 250 – 500 колоний – загрязнение средней степени, при количестве более 500 – воздух загрязнён.

2. Норма для санитарно-микробиологической оценки воздуха палаты новорожденных: микробное число не более 250, суммарное количество зеленыящих и гемолитических стрептококков и патогенных стафилококков не более 12 (суммарный подсчет колоний этих бактерий на ЖСА и кровяном агаре).

РАБОТА 3. Определение микробного числа водопроводной воды.

Цель работы: Определение микробного числа водопроводной воды и оценки её микробной загрязнённости.

Примечания: 1. Норма для санитарно-микробиологической оценки водопроводной воды: микробное число не должно превышать 100.

2. Микробное число равно количеству колоний выросших при посеве 1 мл воды в чашку Петри с МПА.

РАБОТА 4. Определение стерильности резиновой соски, предназначенной для кормления ребенка.

Цель работы: Оценка качества стерилизации резиновой соски.

КОНТРОЛЬ КОНЕЧНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ:

1. Ситуационные задачи:

ЗАДАЧА 1. Вы хотите определить коли-титр и коли-индекс воды.

1. Как будете проводить забор водопроводной воды?

2. Как будете проводить забор воды из водоёма?

ЗАДАЧА 2. Вы хотите произвести забор воздуха для подсчёта микробного числа аспирационным методом.

1. Перечислите приборы, которые можно использовать для этих целей.

2. Сформулируйте принцип их действия.

ЗАДАЧА 3. В лабораторию поступило молоко для санитарно-микробиологического исследования.

1. Какие показатели будут изучены с этой целью?

2. Что для этого следует приготовить?

ЗАДАЧА 4. При санитарно-бактериологическом обследовании водопроводной воды обнаружили результаты: микробное число 125, коли-титр 250, коли-индекс 4.

1. Ваше заключение?

ЗАДАЧА 5. При санитарно-бактериологическом обследовании воздуха операционной до операции обнаружили результаты: микробное число 8500, патогенных стафилококков и стрептококков нет.

1. Ваше заключение?

2. Тестовые вопросы:

1. Обсеменение объектов окружающей среды микроорганизмами из выделения человека и животных:

- А. Биологическая контаминация** Б. Инфекционное заболевание
В. Инфекционный процесс Г. Биологическое выделение
Д. Загрязнение

2. Микрофлора – часть биоценоза определённой экосистемы:

- А. Аутохтонная** Б. Биологическая В. Биоценозная
Г. Аллохтонная

3. Микрофлора – продукт биологической контаминации данной экосистемы:

- А. Аллохтонная** Б. Биологическая В. Биоценозная
Г. Аутохтонная

4. Представители аутохтонной микрофлоры почвы и воды:

1. Кишечная палочка **2. Азотфиксирующие бактерии** 3. Уробактерии
4. Железобактерии

5. Представители аутохтонной микрофлоры почвы и воды:

- А. Правильного ответа нет** Б. Кишечная палочка В. Сальмонеллы
Г. Шигеллы Д. Б.В.Г

6. Патогенные представители аутохтонной микрофлоры почвы:

- 1. Актиномицеты** **2. Плесневые грибы** 3. Сальмонеллы
4. Клостридии ботулизма

7. Патогенные бактерии, для которых почва является вторичным резервуаром инфекции:

1. Возбудители холеры 2. Возбудители чумы **3. Возбудители столбняка**

4. Возбудители сибирской язвы 5. Возбудители газовой гангрены

8. Патогенные микроорганизмы, для которых почва является вторичным резервуаром инфекции, отличаются способностью образовывать:

А. Споры Б. Капсулу В. Пили Г. Л-формы Д. Жгутики

9. Представители аутохтонной микрофлоры воздуха:

1. Золотистый стафилококк 2. Гемолитический стрептококк 3. Споры грибов

4. Споры бактерий 5. Сарцины

10. Патогенные микроорганизмы попадают в почву и воду:

1. С отбросами 2. Со сточными водами 3. С биологическими выделениями

4. с трупами людей 5. С трупами животных

11. Патогенные микроорганизмы в воздух попадают:

1. С мокротой 2. Из почвы 3. С поверхности предметов 4. Из воды

12. В виде капельно-ядерных и пылевых аэрозолей через воздух передаются инфекции:

1. Кишечные 2. Раневые 3. Воздушно-пылевые 4. Воздушно-капельные

13. Санитарно-показательные микроорганизмы воды и почвы:

1. Кишечная палочка 2. Сальмонеллы 3. Холерный вибрион
4. Бактерии рода цитробактер 5. Бактерии рода энтеробактер

14. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха:

1. Золотистый стафилококк 2. Альфагемолитический стрептококк
3. Бетагемолитический стрептококк 4. Споры грибов 5. Сарцины

15. Общее количество микробов в 1 мл жидкости, 1 г твердого вещества:

А. Микробное число Б. Сапробность В. Биоценоз В. Титр
Д. Микробная взвесь

16.Количество особей кишечной палочки в одном объёме исследуемого материала:

А. Коли-индекс Б. Коли-титр В. Микробное число Г. Кишечное число
Д. Микробная взвесь

ОСНАЩЕНИЕ ЗАНЯТИЯ:

Учебные таблицы, бактериологический набор, микроскопы, иммерсионное масло, предметные стёкла, демонстрационный материал.

РАБОТА 1. Чашки с посевом воздуха родильной палаты на МПА. ЖСА, кровяной агар. Камера для подсчета колоний.

РАБОТА 2. Чашки с посевом воздуха на МПА.

РАБОТА 3. Стерильная чашка Петри, стерильная градуированная пипетка, пробирка с расплавленным и остуженным до 45°С МПА, флакон с исследуемой водой. Демонстрационный результат посева воды.