

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (ПГУ)

Н.А. Правосудова, В.Л. Мельников

Основы санитарной микробиологии

Учебно-методическое пособие для студентов медицинских
вузов

ИИЦ ПГУ, Пенза 2013

УДК 579.63

П68

Методическое пособие подготовлено на кафедре микробиологии, эпидемиологии и инфекционных болезней медицинского института ПГУ.

Пособие составлено в соответствии с программой по микробиологии, вирусологии для студентов медицинских вузов.

Изложены задачи и методы санитарной микробиологии. Приведены методы санитарно-микробиологического обследования объектов, актуальных в плане возникновения и распространения инфекций

Учебно-методическое пособие рекомендовано для самостоятельной подготовки студентов к практическим занятиям.

Оглавление.

Список сокращений	4
1. Задачи санитарной микробиологии.....	5
2. Методы санитарной микробиологии.....	6
2.1. Понятие о санитарно-показательных микроорганизмах	7
2.2. Характеристика основных групп СПМ	9
2.3. Косвенные показатели загрязнения	11
3. Принципы санитарно-микробиологических исследований.....	14
4. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха	16
4.1. Микрофлора воздуха	16
4.2. Исследование воздуха	18
5. Санитарно-микробиологическое исследование воды.	27
5.1. Микрофлора воды.....	27
5.2. Исследование воды.....	28
6. Санитарно-микробиологическое исследование почвы.	52
6.1. Микрофлора почвы.....	52
6.2. Исследование почвы.....	54
7. Санитарный режим лечебно-профилактических учреждений	60
7.1. Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в лечебно-профилактических организациях (ЛПО).	62
7.2. Санитарно-микробиологическое исследование оборудования, рук и спецодежды персонала	85
7.3. Санитарно-бактериологическое исследование перевязочного, шовного и другого хирургического материала	87
7.4. Исследование на носительство золотистого стафилококка	88
8. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов	89
8.1. Микрофлора пищевых продуктов.....	89
8.2. Исследование пищевых продуктов.....	90
8.3. Санитарно микробиологическое исследование молока и молочных продуктов.....	96
Список литературы.	103

Список сокращений

СПМ - санитарно-показательные микроорганизмы

БГКП - бактерии группы кишечной палочки

ВБИ - внутрибольничные инфекции

КМАФАМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

КОЕ - колониеобразующие единицы

ЛПО – лечебно-профилактические организации

ЛПУ – лечебно-профилактические учреждения

ЛКП - лактозоположительные кишечные палочки

ОМЧ – общее микробное число

МАФАМ или МАФАНМ – мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы

МПА – мясо-пептонный агар

ОЧС – общее число сапрофитов

ТКБ - термотолерантные колиформные бактерии

1. Задачи санитарной микробиологии.

Санитарная микробиология – медико-биологическая наука, исследующая закономерности существования потенциально опасных для человека микроорганизмов в окружающей среде и обуславливаемые ими процессы, которые могут непосредственно или косвенно оказывать вредное влияние на здоровье людей.

Санитарная микробиология относится к группе профилактических наук и находится на стыке микробиологии, гигиены и эпидемиологии.

Объектами изучения санитарной микробиологии являются:

- потенциально патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы внешней среды,
- физические, химические и биологические факторы внешней среды, способствующие или препятствующие существованию этих групп микроорганизмов во внешней среде и их проникновению в организм человека.

Важнейшими задачами санитарной микробиологии являются:

1) изучение закономерностей обмена (круговорота) потенциально опасных для человека микробов между микропопуляциями людей, животных и совокупностью объектов окружающей среды, включая условия существования микробов в этих трех средах;

2) поиск и использование микробиологических методов оценки безопасности для человека пищевых продуктов, воды, воздуха и разнообразных предметов и материалов;

3) разработка нормативов, устанавливающих соответствие качественного и количественного состава микрофлоры конкретных объектов внешней среды гигиеническим требованиям;

4) оценка путей воздействия человека и животных на окружающую среду. В результате промышленной и индивидуальной деятельности людей происходит контаминация объектов окружающей среды патогенными

микроорганизмами, при этом особое внимание уделяется изучению нарушений процессов самоочищения воды, почвы;

5) выдвижение рекомендаций с целью оздоровления внешней среды посредством антимикробных мероприятий и оценки их эффективности.

2. Методы санитарной микробиологии

Методы, используемые в санитарной микробиологии, можно разделить на 2 группы: прямые и косвенные.

Прямые методы предполагают непосредственное обнаружение возбудителей инфекционных болезней или их токсинов в объектах окружающей среды.

Для определения патогенных микроорганизмов могут быть использованы следующие методы:

- прямой посев исследуемого материала на 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, иммунолюминисцентного и радиоиммунного анализов.

Методы прямого обнаружения — наиболее точные и надёжные критерии оценки эпидемиологической опасности внешней среды. Несмотря на то, что в настоящее время разработаны методы прямого, ускоренного и количественного определения потенциально патогенных микробов, данный метод имеет целый ряд недостатков. 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 получаемые отрицательные результаты прямого определения патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды еще не говорят с достоверностью об их отсутствии.

Косвенные методы предполагают определение общего числа микробов и обнаружение санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ).

2.1. Понятие о санитарно-показательных микроорганизмах

Микроорганизмы, обитающие в кишечнике или в верхнем отделе дыхательных путей человека и животных и постоянно выделяющиеся окружающую среду, называются *санитарно-показательными*.

По количеству СПМ можно косвенно судить о возможном присутствии патогенов во внешней среде. То есть при их определении исходят из предположения, что чем больше объект загрязнен выделениями человека и животных, тем больше будет СПМ и тем вероятнее присутствие патогенов.

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.

Все санитарно-показательные микроорганизмы являются индикаторами биологического загрязнения. Выделяют несколько групп микроорганизмов, обнаружение которых в объектах окружающей среды говорит о различных видах загрязнения. Но между группами СПМ нет четких границ, так как некоторые микроорганизмы являются показателями различных видов загрязнения.

Группа А включает *обитателей кишечника человека и животных*. Они являются индикаторами *фекального загрязнения*. В нее входят бактерии группы кишечной палочки (БГКП) – эшерихии, цитробактер, энтеробактер, клебсиеллы. Кроме того, в эту группу входят энтерококки, протеи, сальмонеллы, клостридии, термофилы, бактериоиды, бактериофаги и др.

Группа В включает *обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки*. Они являются индикаторами *орального загрязнения*. В нее входят стафилококки (*S. aureus*), а также зеленящие и гемолитические стрептококки, постоянно обитающие на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и выделяющиеся в воздушную среду при разговоре, кашле, чиханье.

Группа С включает *микроорганизмы-сапрофиты, обитающие во внешней среде*. Они являются индикаторами *процессов самоочищения*. В нее входят аммонифицирующие, нитрифицирующие бактерии, некоторые спорообразующие бактерии, грибы, актиномицеты, сине-зеленые водоросли и др.

2.2. Характеристика основных групп СПМ

Бактерии группы кишечной палочки. Группа кишечных палочек относится к семейству Enterobacteriaceae и включает рода: *Escherichia*, *Citrobacter* и *Enterobacter*. Бактерии, относящиеся к этим родам, очень сходны между собой по морфологическим и биологическим свойствам.

К бактериям группы кишечных палочек относятся грамотрицательные, не образующие спор палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа при 37°C в течение 24-48 ч или сбраживающие глюкозу с образованием кислоты и газа при 37°C в течение 24 ч и не обладающие оксидазной активностью. На среде Эндо они растут в виде темно-красных колоний с металлическим блеском или без него либо в виде розовых колоний с темным центром.

Термотолерантные колиформные бактерии обладают теми же характеристиками, но дополнительно сбраживают лактозу с образованием кислоты и газа при 44,5 °C через 24 ч.

Обнаружение бактерий группы кишечных палочек следует рассматривать как показатель фекального загрязнения объекта исследования, а их количество позволяет судить о степени этого загрязнения. Санитарно-показательное значение отдельных родов бактерий группы кишечных палочек неодинаково. Обнаружение бактерий рода *Escherichia* в пищевых продуктах, воде, почве, на оборудовании свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, что имеет большое санитарное и эпидемиологическое значение. Считают, что бактерии родов *Citrobacter* и *Enterobacter* являются показателями более давнего (несколько недель) фекального загрязнения и поэтому они имеют меньшее санитарно-показательное значение по сравнению с бактериями рода *Escherichia*.

Бактерии рода *Enterococcus* являются нормальными обитателями кишечника, но выделяются во внешнюю среду в меньших количествах, чем кишечные палочки. Энтерококки быстрее отмирают в воде и почве. Как

правило, они не размножаются в этих объектах, что позволяет рассматривать их как показатель *свежего фекального загрязнения*.

Присутствие энтерококков считают дополнительным показателем фекального загрязнения воды и других объектов. Однако их выделение требует более сложных при приготовлении сред и растут они медленнее.

Бактерии рода *Proteus* обитают как в кишечнике человека и животных (*P. mirabilis*), так и в гниющих остатках (*P. vulgaris*). Присутствие протеев в объектах окружающей среды свидетельствует об их загрязнении разлагающимися субстратами и крайне неблагоприятном санитарном состоянии.

Бактерии рода *Clostridium*. К санитарно-показательным клостридиям относят группу грамположительных, спорообразующих анаэробных палочек, редуцирующих сульфит (почернение среды Вильсона-Блера) при инкубации в условиях 45°C в течение 12—24 ч. Эта группа в основном представлена *Cl. perfringens*, которые встречаются в кишечнике большинства людей в значительно меньших количествах, чем кишечная палочка. Клостридии более, устойчивы, чем не образующие спор БГКП и энтерококки. Присутствие микроорганизмов рода *Clostridium* в различных объектах окружающей среды свидетельствует об их фекальном загрязнении, причем как свежем, так и давнем. Определение санитарно-показательных клостридий рекомендуют проводить в почве и воде, а также при выборе новых источников водоснабжения.

Термофильные бактерии представлены полиморфной группой преимущественно спорообразующих бактерий, способных размножаться при 50-70°C (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis* и др.). Во внешней среде термофилы обнаруживают на субстратах, загрязненных навозом или компостом, так как в процессе гниения в этих субстратах создается оптимальная температура для роста этих микробов.

Бактериофаги кишечных бактерий – эшерихий, шигелл и сальмонелл – постоянно обнаруживают там, где есть бактерии, к которым

они адаптированы. Однако колифаги выживают во внешней среде дольше (8-9 мес.), чем соответствующие бактерии (4-5 мес.), а также способны адаптироваться к другим видам бактерий.

Стафилококки (*S. aureus*), а также зеленящие и гемолитические стрептококки являются санитарно-показательными микроорганизмами загрязнения воздуха закрытых помещений. Источниками загрязнения патогенными стрептококками и стафилококками являются больные люди, страдающие хронической инфекцией, и здоровые люди – носители. Во внешней среде стрептококки сохраняют жизнеспособность в течение примерно тех же сроков, что и возбудители дифтерии, а стафилококки — даже дольше. Чем большее количество стрептококков обнаруживают в воздушной среде, тем вероятнее возможность заражения человека воздушно-капельными инфекциями. Нарастание обсемененности воздуха *S. aureus* и частое его обнаружение свидетельствуют о санитарно-эпидемиологическом неблагополучии. В лечебных учреждениях вторичным источником обсеменения воздуха золотистым стафилококком могут быть загрязненные постельные принадлежности, белье, с которых эти микроорганизмы попадают в воздух. Наиболее полную картину воздушно-капельного загрязнения воздуха дает определение и стрептококков, и стафилококков. Однако ввиду того, что стрептококки довольно трудно культивировать, в лабораторной практике ограничиваются выделением *S. aureus*.

2.3. Косвенные показатели загрязнения

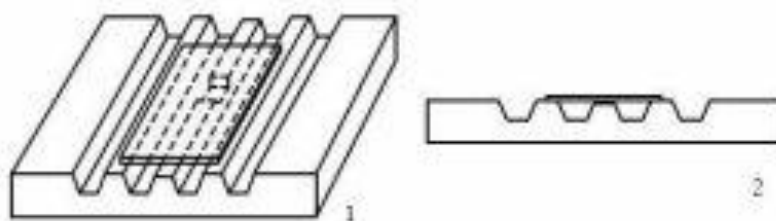
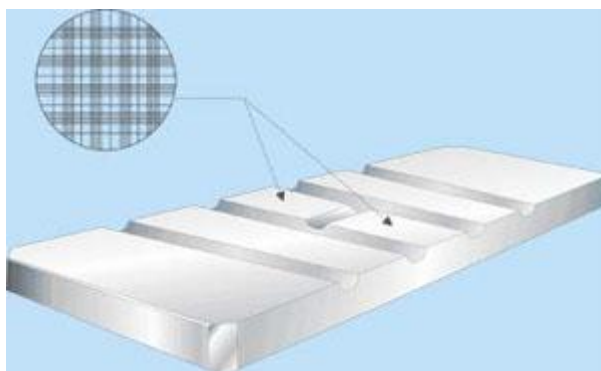
В качестве косвенных показателей загрязнения объектов окружающей среды используют общее микробное число, титр или индекс санитарно-показательных микробов.

Общим микробным числом (ОМЧ) называют количество микробов (мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных) в 1 мл жидкости, 1 г твердого вещества или 1 кубометре воздуха.

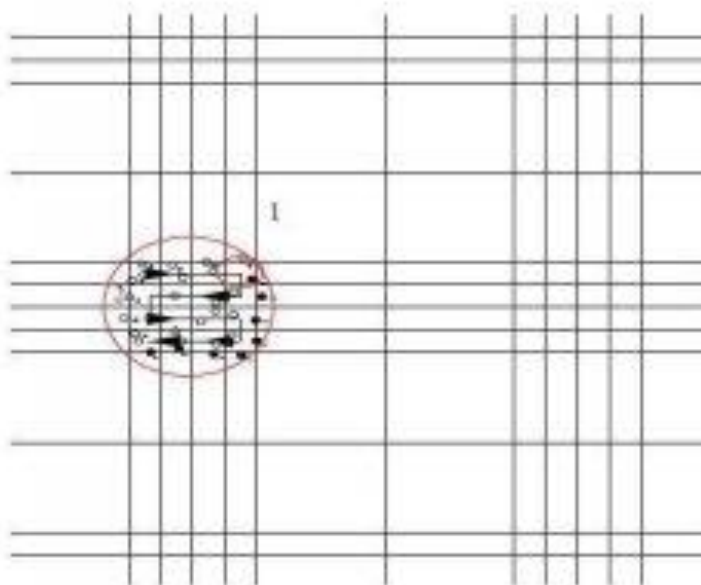
Существует два метода определения микробной обсемененности: метод прямого подсчета и метод количественного посева проб исследуемого объекта или его разведений на питательные среды.

Прямой подсчет микроорганизмов в исследуемом объекте проводится под микроскопом в счетных камерах Горяева (рис. 1) 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 прост и удобен, однако он имеет ряд существенных недостатков, снижающих его ценность. К недостаткам этого метода можно отнести: невозможность подсчитать бактерии, когда образуются их скопления или когда они «прилипают» к частицам исследуемого субстрата; невозможность подсчитать мелкие микроорганизмы, не говоря уже о вирусах; отсутствие возможности отличить живые микроорганизмы от погибших. Из-за этого метод довольно редко используется. Создание автоматических приборов для регистрации общей микробной обсемененности, таких как фотоэлектрические и электронные счетчики, делает метод прямого подсчета более перспективным.



Камера Горяева:
1 – вид сверху; 2 – вид сбоку



Сетка Горяева:
1 – маленький квадрат, 2 – большой квадрат

Рис. 1. Камера Горяева.

Метод количественного посева исследуемого материала на плотные питательные среды применяется наиболее часто. Для определения делают мерные посева материала на питательный агар с подсчетом выросших колоний (1 колонию обычно образует 1 клетка). Результат выражают в колониобразующих единицах (КОЕ) — КОЕ/мл, КОЕ/г или КОЕ/м³.

Индекс — количество СПМ в единице объема (1 литр, 1 г или 1 кубометр) материала.

Титр — наименьший объем (в мл), или весовое количество (в г) материала, в котором еще обнаруживаются СПМ.

Титр и индекс определяют путем посева материала на питательные и среды и подсчета числа санитарно-показательных микроорганизмов.

3. Принципы санитарно-микробиологических исследований

Точность санитарно-микробиологических исследований обеспечивается благодаря соблюдению основных принципов:

1. Правильное взятие проб для санитарно-микробиологических исследований с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта, и правил стерильности. 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. Как правило, объекты исследования содержат разнообразные микроорганизмы, распределение которых неравномерно. Поэтому берут серию проб из разных участков исследуемого объекта, 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. 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.

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 течение биохимических процессов, происходящий в норме в исследуемом объекте, технологию их производства. В ходе исследования необходимо оценить 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.

4. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха

4.1. Микрофлора воздуха

Воздух — среда, не поддерживающая размножение микроорганизмов; это определяется отсутствием питательных веществ и недостатком влаги. Кроме того, в воздухе более выражено микробицидное действие солнечных лучей УФ-спектра.

Загрязнение воздуха микробами происходит из почвы, воды, от животных, людей и растений. Состав микрофлоры воздуха разнообразен и значительно изменяется в зависимости от условий. Воздух верхних слоев атмосферы, а также горный и морской воздух содержит очень мало микроорганизмов. В населенных местах их значительно больше, особенно в летнее время. Особенно сильно микроорганизмами насыщен атмосферный воздух над крупными городами. Это связано с тем, что микроорганизмы в воздухе находятся в состоянии аэрозоля. Выделяют три основные фазы бактериального аэрозоля.

Капельная, или крупноядерная фаза состоит из бактериальных клеток, окружённых водно-солевой оболочкой. Диаметр частиц около 0,1 мм и более. Частицы оседают довольно быстро: длительность пребывания в воздухе составляет несколько секунд, а скорость перемещения — в среднем 30 см/с.

Мелкоядерная фаза образуется при высыхании частиц первой фазы и состоит из бактериальных клеток, сохранивших только химически связанную воду на своей поверхности и свободную воду внутри клеток. В этой фазе частицы имеют наименьшие размеры, легко перемещаются потоками воздуха, длительное время находятся в нём во взвешенном состоянии. Это

наиболее устойчивая фаза, так как диаметр большинства частиц не превышает 0,05 мм, а скорость оседания частиц составляет, в среднем, 0,013 см/с. При этом скорость их передвижения превышает 30 см/с, поэтому они могут рассеиваться на большие расстояния. Эта фаза представляет наибольшую эпидемиологическую опасность, так как в её составе распространяется большинство возбудителей воздушно-капельных инфекций, особенно малоустойчивых к внешним воздействиям (например, возбудитель коклюша).

Фаза «бактериальной пыли». Из первых двух фаз бактерии могут переходить в состав более крупных частиц, оседающих в виде пыли на различных предметах, образуя так называемую «бактериальную пыль». Её важное свойство — способность легко диспергироваться под воздействием даже малых токов воздуха. Размер частиц варьирует от 0,01 до 1 мм. В зависимости от размера частиц и скорости воздушных течений, скорость их перемещения находится в пределах 0,5-30 см/с. Вследствие длительного пребывания во взвешенном состоянии и способности частиц проникать в дистальные отделы лёгких, мелкодисперсная бактериальная пыль также представляет эпидемиологическую опасность. Эта фаза бактериального аэрозоля преобладает в воздухе жилых помещений и с ней рассеиваются патогенные микроорганизмы, устойчивые к высушиванию (микобактерии, клостридии, стафилококки, стрептококки, грибы).

Микрофлора атмосферного воздуха и микрофлора воздуха жилых помещений различается.

Микрофлора атмосферного воздуха. Среди микроорганизмов атмосферного воздуха доминируют виды, обитающие в почве. Стафилококки и стрептококки обнаруживают лишь в 3,7% проб, взятых в местах большого скопления людей. В атмосферном воздухе в основном встречаются следующие группы микроорганизмов:

- Пигментообразующие кокки в солнечные дни составляют до 70-80% всей флоры (пигмент защищает бактерии от инсоляции).

- Почвенные споровые и гнилостные микроорганизмы. Их содержание резко увеличивается в сухую и ветреную погоду.
- Плесневые грибы и дрожжи. Их содержание увеличивается при повышении влажности воздуха.

В атмосферном воздухе постоянно происходят процессы самоочищения за счет осадков, инсоляции, температурных воздействий и других факторов. В свою очередь атмосферный воздух сам по себе — фактор очищения воздуха жилых помещений.

Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна и относительно стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре. К ним можно отнести стафилококки, стрептококки, дифтероиды, пневмококки, менингококки, различные вирусы и др. Основной источник загрязнения воздуха патогенными видами — бактерионосители. Уровень микробного загрязнения зависит главным образом от плотности заселения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, регулярные проветривания и влажная уборка помещений снижает обсеменённость воздуха в 30 раз (по сравнению с контрольными помещениями). *Самоочищения воздуха закрытых помещений не происходит.*

4.2. Исследование воздуха

Воздух может служить фактором передачи респираторных вирусных заболеваний (ОРВИ), гриппа, туберкулеза, дифтерии, менингококковой инфекции, туберкулеза, ветряной оспы и др. 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.

При санитарно-бактериологическом исследовании воздуха проводят:

1) определение общей бактериальной обсемененности воздуха (общее число бактерий в 1 м³);

2) выявление санитарно-показательных микроорганизмов;

3) по эпидемическим показаниям выделение вирусов и патогенных бактерий из воздуха закрытых помещений;

4) при исследовании атмосферного воздуха дополнительное определение качественного состава микрофлоры с учетом наличия спорообразующих аэробов и анаэробов, которые служат показателем загрязненности воздуха микроорганизмами почвы.

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 родов *Salmonella*, *Escherichia*.

При оценке санитарного состояния закрытых помещений (табл. 1 и 2) в зависимости от задач исследования определяется 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.

Как показатель запылённости и отсутствия влажной уборки расценивают присутствие спорообразующих палочек, а показателем повышенной влажности — плесневых грибов. Показатель плохой освещённости — отсутствие пигментообразующих форм бактерий (иногда этот показатель может быть определён по заданию фтизиатров).

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 и т.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).

Таблица 1. Нормативные показатели воздуха жилых помещений.

Степень загрязненности	Зима	Лето
Чистый воздух	ОМЧ не более 4500, гемолитических стрептококков - до 35	ОМЧ не более 1500, гемолитических стрептококков - до 16;
Грязный воздух	ОМЧ не более 7000, гемолитических стрептококков – до 124	ОМЧ не более 2500, гемолитических стрептококков - до 36

Таблица 2. Нормативные показатели микробной обсемененности воздуха в некоторых помещениях больницы

	ОМЧ	Золотистый стафилококк (в 250 л)
Операционные до начала работы	не более 500	не допускается
Операционные во время работы	не более 1000	не допускается
Родильные комнаты	не более 1000	не допускается
Палаты для недоношенных детей	не более 750	не допускается

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.

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 (определение патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов, ОМЧ).

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.

Методы отбора проб воздуха для бактериологического исследования подразделяют на:

1) аспирационные, основанные на активном просасывании воздуха с помощью различных приборов;

2) седиментационные, основанные на принципе механического оседания микробов.

Седиментационный - наиболее старый метод, широко распространен благодаря простоте и доступности, однако является неточным. Его используют только при исследовании воздуха закрытых помещений. 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 кровяной агар (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.

Аспирационные методы основаны 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.). Аспирационные методы используют при исследовании воздуха, как закрытых помещений, так и атмосферного.

В настоящее время широко применяется при исследовании воздуха закрытых помещений прибор Кротова (рис. 2). Принцип работы этого аппарата 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.

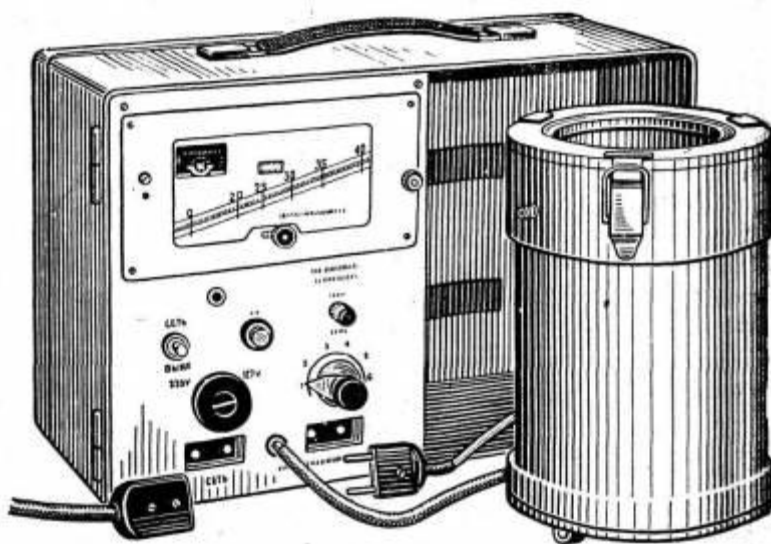


Рис. 2. Аппарат Кротова.

В практике санитарной службы при аспирационном взятии проб используются также 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.

При использовании любого из перечисленных приборов получаемые результаты являются приблизительными, однако они дают более правильную оценку обсемененности воздуха в сравнении с седиментационным методом. Во многих случаях отбор проб совмещен с этапом посева.

Определение общего микробного числа

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 бактерий, грибов и актиномицетов.

Подсчитывают количество колоний на обеих чашках, вычисляют среднее арифметическое и делают перерасчет на количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Количество каждой группы колоний (пигментных, беспигментных, плесеней, бактерий, актиномицетов) выражают в процентах по отношению к общему числу.

При определении микробного числа методом седиментации по Коху подсчитывают колонии выросшие на чашках Петри (площадь поверхности агара в чашке равна 75 см²) и расчет ведут по правилу В.Л. Омелянского: на поверхность площадью 100 см² за 5 мин оседает такое количество микробов, которое содержится в 10 л воздуха.

$$X = \frac{A \times 100 \times 100}{75 \text{ см}^2},$$

где X - количество микробов в 1 м³; A - количество колоний на агаре в чашке Петри.

Результаты получаются заниженными примерно в 3 раза по сравнению с данными, получаемыми при использовании аппарата Кротова.

Определение стафилококков

Отбор проб воздуха проводится с помощью аппарата Кротова в количестве 250 л на 2—3 чашки с желточно-солевым агаром и на чашку с кровяным агаром. Чашки инкубируют при температуре 37°С в течение 48 ч. Изучают культуральные признаки всех видов колоний, из подозрительных готовят мазки и окрашивают по Граму.

Подсчитывают количество выросших колоний стафилококков и определяют число микробов в 1 м³ воздуха.

При возникновении внутрибольничных инфекций стафилококковой этиологии проводят исследования, направленные на выявление источников и путей распространения инфекции: путем фаготипирования определяют

идентичность стафилококков, выделенных из объектов окружающей среды, а также от больных и обслуживающего персонала.

Определение стрептококков

Отбор проб воздуха при исследовании на наличие α - и β -гемолитических стрептококков производят с помощью аппарата Кротова на чашки с кровяным агаром. 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). Подсчет количества выросших колоний проводят на 1 м³ с последующим контрольным микроскопированием и выборочным пересевом колоний на кровяной агар или сахарный бульон.

Определение патогенных микроорганизмов.

Ввиду малой концентрации патогенных микроорганизмов в воздухе закрытых помещений, их выделение является достаточно трудной задачей. По эпидемиологическим показаниям в воздухе определяют наличие сальмонелл, микобактерий, вирусов и т.д.

При исследовании 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 подращивания (получение накопительной культуры), а затем высевают на элективную среду.

При исследовании воздуха на наличие микобактерий туберкулеза используют среду Левенштейна-Иенсена, коринебактерий дифтерии – среду Клауберга.

5. Санитарно-микробиологическое исследование воды.

5.1. Микрофлора воды.

В воде формируются определенные биоценозы с преобладанием микроорганизмов, адаптировавшихся к условиям местонахождения. Количественный и качественный состав микрофлоры воды зависит от состава и концентрации минеральных и органических веществ, температуры, рН, скорости движения воды, массивности поступления ливневых, фекально-бытовых и промышленных сточных вод. Количество микробов прямо пропорционально степени загрязненности водоемов. Особенно богаты микроорганизмами пруды, ручьи, озера густо населенных районов. В закрытых водоемах (озера, пруды) наблюдается определенная закономерность в распределении бактерий. Состав микроорганизмов различен на поверхности воды и на дне водоемов. Наиболее обильно заселена микроорганизмами вода на глубине 10-100 см. В более глубоких слоях их количество значительно снижается. Ключевые воды и воды артезианских колодцев наиболее чисты.

Микрофлора воды активно участвует в процессе самоочищения от органических отходов. Утилизация органических отходов связана с деятельностью постоянно обитающих в воде микроорганизмов, т.е. составляющих аутохтонную микрофлору. В пресных водоемах находятся различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.), кокковидные (микрочкокки), извитые и нитевидные (актиномицеты). На дне водоемов, в иле увеличивается количество анаэробов. При загрязнении воды органическими веществами появляется большое количество непостоянных (аллохтонных) представителей микрофлоры воды, которые исчезают в процессе самоочищения воды.

Вода – фактор передачи возбудителей многих инфекционных заболеваний. Вместе с загрязненными ливневыми, талыми и сточными водами в озера и реки попадают представители нормальной микрофлоры человека и животных (кишечная палочка, цитробактер, энтеробактер,

энтерококки, клостридии) и возбудители кишечных инфекций (брюшного тифа, паратифов, дизентерии, холеры, лептоспироза, энтеровирусных инфекций, криптоспориоза и др.). Некоторые возбудители могут даже размножаться в воде (холерный вибрион, легионеллы).

5.2. Исследование 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, а также лептоспирозы, сибирская язва, туляремия, 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.

Исследованию подлежит вода централизованного водоснабжения, колодцев, открытых водоемов, бассейнов, сточные воды.

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.

При санитарно-микробиологическом исследовании воды определяются различные показатели в зависимости от поставленной задачи и характера исследуемого объекта (табл. 3)

Таблица 3. Требования к микробиологической чистоте воды

Наименование объекта контроля	Определяемые микробиологические показатели	Требование	Нормативный документ
Вода питьевая централизованных систем водоснабжения	ОМЧ Общие колиформные бактерии Термотолерантные колиформные бактерии Колифаги Споры сульфит-редуцирующих бактерий	Не более 50 (в 1 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 20 мл)	СанПиН 2.1.4.1074-01.
Вода питьевая при нецентрализованном использовании местных источников	Общие колиформные бактерии ОМЧ Дополнительные: Термотолерантные колиформные бактерии Колифаги	отсутствие (в 100 мл) 100 (в 1мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл)	СанПиН 2.1.4.1175-02
Вода в водных объектах в рекреации	Число лактозоположительных кишечных	Не более 1000 (в 1 дм ³) при	ГОСТ 17.1.5.02-80

	палочек (ЛКП) Дополнительные: Общие колиформные бактерии Термотолерантные колиформные бактерии Колифаги Возбудители кишечных инфекций	использовании объекта для купания Не более 500 (в 100 мл) Не более 100 (в 100 мл) Не более 10 (в 100 мл) отсутствие	СанПиН 2.1.5.980-00
Вода купально-плавательных и спортивных бассейнов с пресной и морской водой	Общие колиформные бактерии Термотолерантные колиформные бактерии Колифаги Staphylococcus aureus Дополнительные: Возбудители кишечных инфекций Pseudomonas aeruginosa	не более 1 (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие (в 100 мл) отсутствие	СанПиН 2.1.2.1188-03
Сточные воды после очистки и обеззараживания, отводимые в водные объекты	Общие колиформные бактерии Колифаги Термотолерантные колиформные бактерии Фекальные стрептококки Патогенные микроорганизмы	не более 100 (в 100 мл) не более 100 (в 100 мл) не более 100 (в 100 мл) не более 10 (в 100 мл) отсутствие	МУ 2.1.5.800-99

Контроль воды питьевой централизованных систем водоснабжения

Пробы воды отбирают с целью определения качества воды в магистральных распределительных сетях, поступающих от производителя; в

распределительной внутридомовой сети; фактически потребляемой из крана (такие пробы отбирают в особых случаях).

Для исследования воды магистральных и внутридомовых распределительных сетей отбор производят из специальных кранов. Перед отбором воды проводят подготовительные мероприятия (табл. 4).

Таблица 4. Характеристика подготовительных мероприятий перед забором воды.

Место отбора	Наименование мероприятия		
	Удаление приспособлений и вкладышей	Проведение дезинфекции крана	Спуск воды обильным потоком
Магистральная распределительная сеть	Да	Да	Да (не менее 10 мин.)
Внутридомовая распределительная сеть	Да	Да	Нет (минимальный поток воды только для смывания используемого дезинфектанта)
Кран потребителя	Нет	Нет	Нет

Стерилизацию крана проводят путем фламбирования (горящим тампоном, смоченным 96%-ным этиловым спиртом). Возможно проводить дезинфекцию путем погружения горла крана на 2-3 мин в стакан гипохлорита, этилового или изопропилового спирта.

При определении качества воды из крана потребителя (например, при вспышках инфекционных заболеваний для выявления источника микробного загрязнения, возможно внесенного потребителем) отбор проб проводят с учетом загрязнения внешней поверхности крана, а также всех приспособлений, используемых потребителем. В этом случае перед отбором проб кран, а также дополнительные приспособления не дезинфицируют и не производят предварительный слив воды.

Для отбора проб воды питьевой используют стерильные флаконы емкостью 500 мл с притертой резиновой, корковой или каучуковой пробкой. Бумажный колпачок с пробкой снимают с флакона непосредственно перед ее заполнением, не касаясь руками горлышка флакона и пробки. При необходимости исследования воды на присутствие возбудителей кишечных инфекций количество воды увеличивают до 2,5 л.

Качество питьевой воды должно соответствовать гигиеническим нормативам перед ее поступлением в распределительную сеть, а также в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети. Безопасность питьевой воды в эпидемическом отношении определяется ее соответствием нормативам по микробиологическим показателям, представленным в таблице 3.

Санитарно-микробиологическое исследование питьевой воды включает определение ОМЧ, количества колиформных бактерий, термотолерантных колиформных бактерий, спор сульфитредуцирующих клостридий и колифагов.

ОМЧ позволяет оценить уровень микробного загрязнения питьевой воды, дополняя показатели фекального загрязнения, а также позволяет выявить загрязнение из других источников, например, промышленные сбросы. Увеличение этого показателя даже в пределах норматива, выявленное повторно, служит сигналом для поиска причины загрязнения.

Показателем степени фекального загрязнения служит количество бактерий семейства Enterobacteriaceae. Обнаружение в питьевой воде этих бактерий указывает на потенциальную эпидемическую опасность водоиспользования из-за возможного присутствия в ней представителей патогенных кишечных бактерий. Термотолерантные колиформные бактерии способны ферментировать лактозу при температуре 44 С в течение 24 часов. Так как это свойство быстро утрачивается, то обнаружение бактерий с такими свойствами говорит о свежем фекальном загрязнении. При определении этих двух показателей проводится трехкратное исследование по

100 мл отобранной пробы воды. Превышение норматива по общему числу колиформных бактерий не допускается в 95% проб, отбираемых в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети в течение 12 месяцев, при количестве исследуемых проб не менее 100 за год.

Колифаги являются индикаторами эффективности охраны грунтовых вод и очистки питьевой воды. Определение этого показателя проводится только в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть.

Споры сульфитредуцирующих бактерий устойчивы к обеззараживанию и действию неблагоприятных факторов среды. Этот показатель рекомендован для оценки эффективности технологических процессов очистки воды. Обнаружение клостридий в воде перед поступлением в распределительную сеть указывает на недостаточную очистку и на то, что устойчивые к обеззараживанию патогенные микроорганизмы, вероятно, не погибли при очистке.

При обнаружении в пробе питьевой воды термотолерантных колиформных бактерий и (или) общих колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится их определение в повторно взятых в экстренном порядке пробах воды. В таких случаях для выявления причин загрязнения одновременно проводится определение хлоридов, азота аммонийного, нитратов и нитритов. При обнаружении в повторно взятых пробах воды общих колиформных бактерий в количестве более 2 в 100 мл и (или) термотолерантных колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится исследование проб воды для определения патогенных бактерий кишечной группы и (или) энтеровирусов.

Исследования питьевой воды на наличие патогенных бактерий кишечной группы и энтеровирусов проводится также по эпидемиологическим показаниям по решению центра госсанэпиднадзора.

Контроль воды питьевой при нецентрализованном водоснабжении

Источниками нецентрализованного водоснабжения являются подземные воды, захват и подача которых осуществляется путем устройства и специального оборудования водозаборных сооружений (колодцы, скважины, каптажи родников).

Отбор проб из скважин, родников и колодцев проводят с целью определения качества воды в водоносном горизонте; в водопункте (скважине, колодце); качества потребляемой воды. Пробы отбирают при помощи стационарно установленного насоса и постоянно установленного металлического крана. Подготовительные мероприятия перед забором воды проводят в соответствии с ГОСТ Р 53415-2009 в зависимости от цели отбора.

Если скважина или колодец не имеют стационарно установленного насоса, то отбор проб проводят с использованием временно установленного насоса (в водоносном горизонте); стерильного батометра (рис. 3, 4) (в водопункте); ведра, ковша, бидона (в точке потребления). Отбор проб из фонтанирующих скважин проводят из устья скважины. Из родников отбор проб воды проводят на выходе из каптажного сооружения или в месте выхода родника на поверхность земли. Пробы, взятые из фонтанирующих скважин или головки родника, характеризуют качество подземных вод в водоносном горизонте.

Отбор воды проводят в стерильные емкости.

При санитарно-микробиологическом исследовании питьевой воды нецентрализованного водоснабжения определяют ОМЧ, количество общих и термотолерантных колиформных бактерий, количество колифагов. По своим свойствам вода должна соответствовать нормативам, приведенным в таблице 3.

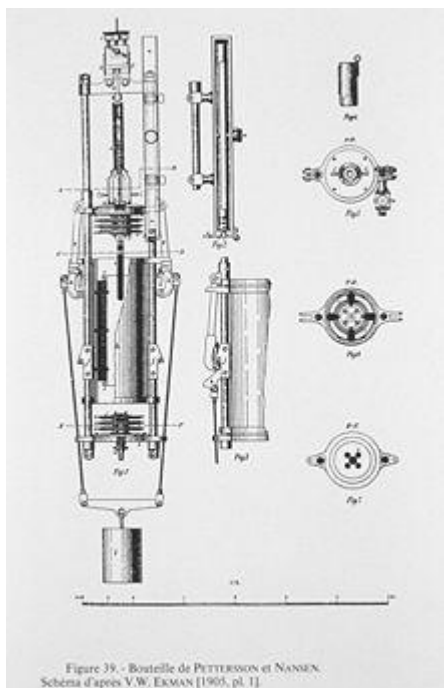


Рис. 3. Батометр Экмана.



Рис. 4. Батометр Никсина.

С целью обеспечения постоянства качества воды, безопасности и приемлемости водоснабжения населения контроль должен включать в себя систематическое санитарное обследование не только источника водоснабжения, оборудования и устройств, но и территории, прилегающей к водозаборным сооружениям. Центры государственного санитарно-эпидемиологического надзора осуществляют плановый или выборочный контроль за качеством воды источников нецентрализованного водоснабжения общего пользования, а также контроль по разовым заявкам от индивидуальных пользователей. Если при контроле качества воды отмечено превышение микробиологических показателей по сравнению с нормативами, следует выполнить повторный отбор проб воды и провести дополнительные исследования. При стойком ухудшении качества воды проводят установление его причины и устранение. Эти мероприятия включают в себя чистку, промывку и при необходимости профилактическую дезинфекцию. Если не удалось выявить или ликвидировать причину ухудшения качества воды, то вода в колодце (каптаж) должна постоянно обеззараживаться

хлорсодержащими препаратами. Контроль за эффективностью обеззараживания воды в колодце (каптаже) проводится центром государственного санитарно-эпидемиологического надзора в установленные им сроки.

Контроль воды водных объектов, используемых для рекреации.

Зоной рекреации водного объекта является водный объект или его участок с прилегающим к нему берегом, используемый для отдыха.

При санитарно-микробиологическом исследовании воды водных объектов, используемых для рекреации, определяют число лактозоположительных кишечных палочек (ЛКП) в 1 дм³ (табл. 3).

В случае превышения числа ЛКП при использовании водного объекта для купания для решения вопроса о необходимости проведения оздоровительных мероприятий или закрытия пляжа проводят дополнительные исследования на наличие сальмонелл, шигелл, энтеровирусов и стафилококков. При отсутствии в исследуемых пробах сальмонелл тифа и паратифов, шигелл и при благоприятной эпидемической ситуации по согласованию с органами санитарно-эпидемиологической службы может быть продолжена эксплуатация водного объекта, если число ЛКП не будет превышать 10000 в 1 дм³. При необходимости уточнения характера и установления источника микробного загрязнения проводятся исследования воды на содержание *E.coli*, энтерококков, фагов кишечных палочек.

Контроль качества воды водных объектов проводится ежегодно перед началом купального сезона на расстоянии 1 км вверх по течению от зоны купания на водотоках и на расстоянии 0,1 - 1,0 км в обе стороны от нее на водоемах и в море, а также в границах зоны купания; в период купального сезона не менее чем в двух точках, выбранных в соответствии с характером, протяженностью и интенсивностью использования зоны купания.

Поверхностные пробы отбирают с глубины 10-30 см от поверхности воды, придонные – с глубины 30-50 см от дна. Отбор проб проводят с использованием различных плавучих средств, мостов и других

приспособлений в местах, где глубина водоема не менее 1-1,5 м. Не допускается проводить отбор проб с берега. Если в местах купания глубина воды менее 1 м, то допускается отбирать пробы на меньшей глубине. Следует принять меры к минимизации взмучивания донных отложений.

Пробы воды рекомендуется отбирать батометром или другими специальными устройствами, которые должны быть стерильными.

Частота отбора проб устанавливается в каждом конкретном случае местными органами санитарно-эпидемиологической службы, но не менее двух раз по всем показателям до начала купального сезона и не менее четырех раз в месяц в период купального сезона (для установления числа ЛКП).

Контроль воды бассейнов

Качество пресной воды, поступающей в ванну плавательного бассейна, должно отвечать гигиеническим требованиям, предъявляемым к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Качество морской воды в местах водозаборов для плавательных бассейнов должно отвечать по физико-химическим и бактериологическим показателям гигиеническим требованиям, предъявляемым к прибрежным водам морей в местах водопользования населения.

Отбор проб воды в плавательных бассейнах осуществляют с целью оценки качества воды:

1. поступающей (для бассейнов всех типов);
2. до и после фильтров (для бассейнов рециркуляционного типа и с морской водой);
3. после обеззараживания перед подачей воды в ванну (при наличии этого этапа);
4. в ванне плавательного бассейна.

Отбор проб для целей 1-3 проводят из специальных пробоотборных кранов. Для этого предварительно из крана удаляют дополнительные приспособления и вкладыши, проводят его стерилизацию фламбированием и

спускают минимальный объем воды, необходимый для удаления продуктов стерилизации.

При исследовании воды, поступающей в плавательный бассейн после очистки и обеззараживания, пробу отбирают в местах трубопровода, удаленных от места ввода дезинфектанта, там, где его остаточное содержание стабильно.

Отбор проб воды в ванне плавательного бассейна производится не менее чем в 2 точках (глубокой и мелкой части): поверхностный слой толщиной 0,5 - 1,0 см и на глубине 25 - 30 см от поверхности зеркала воды в количестве одного литра с соблюдением правил стерильности.

В процессе эксплуатации бассейна определяют основные микробиологические показатели: ОМЧ, количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, термотолерантных колиформных бактерий, золотистого стафилококка, колифагов и дополнительные – возбудителей кишечных инфекций, синегнойную палочку (табл. 3).

Основные микробиологические показатели определяют 2 раза в месяц.

Получение неудовлетворительных результатов исследований воды по основным микробиологическим показателям является основанием для полной смены воды в ванне бассейнов с проточной системой водообмена, в т.ч. малых бассейнов с площадью зеркала воды не более 100 м², а также бассейнов с морской водой. Обнаружение в пробах воды возбудителей кишечных инфекционных и (или) синегнойной палочки является основанием для полной смены воды в ванне вне зависимости от вида бассейна и системы водообмена.

Контроль сточных вод.

Сточные воды являются основным источником микробного загрязнения объектов окружающей среды, в т.ч. поверхностных пресных и морских вод, подземных водоносных горизонтов и почвы. Санитарно-микробиологическое исследование сточных вод проводят с целью проверки эффективности их очистки и обеззараживания перед их отведением в водные

объекты, используемые для хозяйственно-питьевого, культурно-бытового и рыбохозяйственного водопользования, при применении в промышленном водоснабжении в открытых и закрытых системах, а также при отведении на поля орошения. В ряде случаев исследуют сточные воды неочищенные или на этапах очистки до хлорирования для контроля работы очистных сооружений.

Пробы сточных вод рекомендуется отбирать батометром или другими специальными устройствами, которые должны быть стерильными. 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.

В сточных водах, прошедших очистку и обеззараживание, определяют ОМЧ, определение колиформных бактерий, колифагов (таб. 3). В качестве индикаторных микроорганизмов в ряде стран рекомендуется использовать термотолерантные колиформные бактерии, *E.coli*, фекальные стрептококки.

Периодичность производственного контроля при обеззараживании сточных вод зависит от их вида и дальнейшего использования.

Хранение и транспортировка проб воды

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 пробы необходимо в чистых продезинфицированных контейнерах, предохранять от резких толчков (чтобы не замочить пробки), замерзания, действия солнечных лучей.

Предпочтительно охладить пробы до температуры $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, используя аккумуляторы холода.

Исследование воды должно быть проведено как можно быстрее, максимальный срок хранения проб до анализа (включая транспортировку) 8 часов при температуре $5\pm 3^{\circ}\text{C}$. При более длительном и неправильном хранении может наступить размножение или гибель микрофлоры.

Определение общего микробного числа.

Сущность метода заключается в определении в 1 см^3 воды общего содержания мезофильных аэробов и факультативных анаэробов, способных расти на питательном агаре данного состава при температуре 37°C в течение 24 ч, образуя колонии, видимые при увеличении в 2-5 раз.

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 производят посев проб воды на питательные среды с последующим подсчетом выросших колоний.

Объем воды для посева выбирают с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. Водопроводную воду засевают в объеме 1 мл, воду открытых водоемов – в объемах 1; 0,1 и 0,01 мл. Для посева $0,1\text{ см}^3$ и меньших объемов воды используют разведения анализируемой воды. Для этого в пробирку с 9 см^3 стерильной воды вносят 1 см^3 анализируемой воды. Другой стерильной пипеткой продуванием воздуха тщательно перемешивают содержимое пробирки, отбирают из нее 1 см^3 и переносят в чашку, что будет соответствовать посеву $0,1\text{ см}^3$ анализируемой воды. При необходимости посева меньших объемов воды этой же пипеткой переносят 1 см^3 содержимого первой пробирки в следующую с 9 см^3 стерильной воды. Посев 1 см^3 из второй пробирки будет соответствовать посеву $0,01\text{ см}^3$ анализируемой воды и т.д.

С флаконов с пробой воды снимают бумажные колпачки, вынимают пробки, горлышки фламбируют, после чего воду тщательно перемешивают осторожным продуванием воздуха через стерильную пипетку.

Засев каждого разведения проводят глубинным способом. Для этого стерильной пипеткой отбирают по 1 мл воды и вносят в 2 стерильные чашки, слегка приоткрывая крышку. После внесения воды в чашки Петри ее заливают 10-12 см³ остуженного питательного агара. Воду быстро смешивают с агаром, осторожно наклоняя или вращая чашку по поверхности стола. После этого чашки оставляют на горизонтальной поверхности до застывания среды. После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат и выращивают при 37°С в течение 24 ч.

Воду из открытых водоемов засевают параллельно на две серии чашек, одну из которых инкубируют при температуре 37° С в течение 24 ч, а другую – при 20-22°С 48 ч. При температуре 20°С 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.

Для выявления плесневых и дрожжевых грибов исследуемую воду засевают по 0,5 мл на среду Сабуро и инкубируют при комнатной температуре в течение 3 — 4 сут. Подсчитывают число выросших колоний и также рассчитывают среднее арифметическое. Результат (ОМЧ) вычисляют путем суммирования среднего арифметического числа бактерий, дрожжевых и плесневых грибов и выражают в КОЕ/мл.

Учет результатов. Колонии, выросшие как на поверхности, так и в глубине агара, подсчитывают с помощью лупы с увеличением в 2-5 раз или прибора для счета колоний. Для этого чашку кладут вверх дном на черный фон. Для большей точности счета каждую подсчитанную колонию отмечают со стороны дна тушью или чернилами для стекла.

Оценивают только те разведения, при посеве которых на чашке выросло от 30 до 300 колоний. При посеве 1 см³ неразведенной пробы учитывают любые количества колоний, но не превышающие 300. Если в чашке с наиболее высоким разведением выросло свыше 300 колоний и анализ нельзя повторить, то допускается подсчитывать колонии с помощью пластинки с сеткой и лупы при сильном боковом освещении. Подсчитывают не менее 20 квадратов площадью 1 см² каждый в разных местах чашки, затем выводят среднее арифметическое число колоний на 1 см², значение которого умножают на площадь чашки в см², вычисленную по формуле: $S = \pi r^2$.

Результат подсчета колоний в каждой чашке выражают в количестве бактерий на 1 см³ анализируемой воды с учетом посеянного объема. За окончательное количество бактерий принимают среднее арифметическое результатов подсчета на двух параллельных чашках или разных разведений. Результаты округляют следующим образом: если результат находится в пределах чисел от 1 до 100, то записывают те числа, которые получены; если результат находится в пределах чисел от 101 до 1000, то результат округляют до 10; если результат находится в пределах чисел от 1001 до 10000, то результат округляют до 100 и т. д.

Количество колоний учитывают, ориентируясь на одну чашку, в случаях: если на другой чашке при посеве из разведения выросло менее 20 колоний; при ползучем росте бактерий, распространившихся на всю поверхность чашки или значительные зоны, маскирующем рост других колоний; при количестве колоний свыше 300.

Счетную пластинку рекомендуется применять при подсчете количества колоний, когда на обеих чашках отмечен ползучий рост. При этом просчитывают квадраты на свободных от сплошного роста местах чашки.

Прямой микроскопический метод определения общего количества микроорганизмов 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 или специальный аппарат Долгова-Разумова.

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:

$$X = S * N * 10^6 / (S_1 * V)$$

где S - фильтрующая площадь прибора (мм²);

10⁶ - переводной коэффициент квадратных миллиметров в квадратные микрометры;

N - среднее количество бактерий в одном квадрате;

S₁ - площадь квадрата окулярного микрометра (мкм²);

V- объем профильтрованной воды (мл).

Определение колиформных бактерий (БГКП).

Количество колиформных бактерий выражают в виде коли-титра или коли-индекса. *Коли-титр воды* – минимальное количество БГКП в 1 л воды. *Коли-индекс воды* – количество БГКП в 1 л воды.

Для определения этих показателей используют метод мембранных фильтров и титрационный (бродильный) метод.

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 использованием 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.

Фильтрование производят с помощью специальных приборов или фильтра Зейтца. Перед посевом воды фильтровальный аппарат стерилизуют фламбированием после обтирания ватным тампоном, смоченным спиртом. После охлаждения на нижнюю часть фильтровального аппарата (столик) кладут фламбированным пинцетом стерильный мембранный фильтр, прижимают его верхней частью прибора (стаканом, воронкой) и закрепляют устройством, предусмотренным конструкцией прибора. 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 пробы воды зависит от целей исследования. При анализе воды, поступающей в водопроводную сеть, и в наиболее характерных ее точках необходимо анализировать объем не менее 333 см³, профильтровывая этот объем не менее чем через два фильтра.

На этапах очистки анализируют не менее двух десятикратных объемов воды, выбранных в зависимости от ее качества таким образом, чтобы на

одном из фильтров выросло не более 30 колоний бактерий группы кишечных палочек. При этом необходимо ориентироваться на результаты предыдущих анализов воды в этих же пунктах (например, для воды после первичного хлорирования могут быть выбраны объемы 10 и 100 см³; для воды необеззараженной - 0,1, 1 и 10 см³). При анализе воды неизвестного качества следует засеивать 3-4 десятикратных объема (например, из водопроводной сети можно фильтровать 3; 30; 100; 200 см³ воды; по этапам очистки - 0,1; 1; 10; 100 см³ воды).

Для фильтрования 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°С в течение 24 ч. При окончательном результате учитывают колонии, выросшие на обоих фильтрах.

При наличии в воде БГКП 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. С культурой грамтрицательных бактерий лактозополо-

жительных колоний ставят оксидазный тест для дифференциации бактерий семейства Enterobacteriaceae от Pseudomonadaceae (последние являются оксидазообразующими бактериями). Для этого фильтр с выросшими на нем колониями бактерий переносят пинцетом, не переворачивая, на кружок фильтровальной бумаги, смоченной диметил-п-фенилендиамином. При наличии оксидазы реактив окрашивает колонию в синий цвет. 2-3 колонии, не изменившие окраску (оксидазоотрицательные) засевают в пробирку с полужидкой средой с 0,5% раствором глюкозы и инкубируют при 37°C. При появлении кислоты и газа результат считают положительным. Подсчитывают число красных колоний на фильтре и определяют коли-индекс.

Колииндекс (индекс ОКБ, БГКП) высчитывают следующим образом: количество бактерий группы кишечных палочек, выросших в анализируемом объеме воды, умножают на 1000 см³ и делят на этот объем воды.

$$\text{индекс} = \frac{K \cdot 1000}{V}$$

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

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

Пример 1. При посеве трех объемов воды по 100 см³ на одном фильтре выросло три колонии бактерий группы кишечных палочек, на двух других нет роста; коли-индекс равен $(3 \cdot 1000) : 300 = 10$.

Пример 2. При посеве 10 и 100 см³ воды на одном фильтре выросла одна колония, на другом выросло пять колоний; коли-индекс равен $(6 \cdot 1000) : 110 = 54$.

Если на одном из фильтров сплошной рост бактерий и подсчет их невозможен, тогда в расчет принимают тот объем воды, при фильтровании которого на фильтре выросли изолированные колонии.

Для перевода индекса в титр используют формулу:

$$\text{Титр} = \frac{1000}{\text{Индекс}}$$

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 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 разбавлений получить хотя бы один отрицательный результат. При исследовании на этапах очистки и обеззараживания засевают 100; 10; 1 и 0,1 см³ воды; на выходе в водопроводную сеть и в наиболее характерных ее точках засевают три объема по 100 см³, три объема по 10 см³ и три объема по 1 см³.

Посев воды производится в глюкозопептонную среду (1% пептонная вода, 0,5% раствор глюкозы, 0,5% раствор хлорида натрия, индикатор Андрее, поплавков). Для посевов больших объемов воды используют концентрированную среду, содержащую 10-кратные количества указанных веществ. Так, посев 100 мл воды производят в 10 мл концентрированной

среды, 50 мл - в 15 мл концентрированной среды, 10 мл - в 1 мл 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 в поплавке), делают высев петлей штрихами на поверхность среды Эндо, разделенной на 3-4 сектора. Посевы выдерживают в термостате при температуре 37°C в течение 16-18 ч. При наличии на среде Эндо характерных для БГКП 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, сбрасывающих глюкозу при 37°C с образованием кислоты и газа. Таким образом, положительный ответ выдается через 40—42 ч.

Результат выражается в виде индекса (титра) БГКП, цифровое выражение которого определяют по таблицам: при анализе питьевой воды на выходе в водопроводную сеть и из нее – по табл. 5 и 6; при анализе воды на этапах очистки и обеззараживания – по табл. 7.

Таблица 5. Определение индекса БГКП при исследовании 300 см³ воды.

Количество положительных результатов анализа воды из:			Коли-индекс	Пределы индекса (доверительные границы)		Коли-титр
трех флаконов по 100 см ³	трех пробирок по 10 см ³	трех пробирок по 1 см ³		нижний	верхний	
0	0	0	Менее 3	-	-	Более 333
0	0	1	3	0,5	9	333
0	1	0	3	0,5	13	333
1	0	0	4	0,5	20	250
1	0	1	7	1	21	143
1	1	0	7	1	23	143
1	1	1	11	3	36	91

1	2	0	11	3	36	91
2	0	0	9	1	36	111
2	0	1	14	3	37	72
2	1	0	15	3	44	67
2	1	1	20	7	89	50
2	2	0	21	4	47	48
2	2	1	28	10	149	86
3	0	0	23	4	120	43
3	0	1	39	7	130	26
3	0	2	64	15	379	16
3	1	0	43	7	210	23
3	1	1	75	14	230	13
3	1	2	120	30	380	8
3	2	0	93	15	380	11
3	2	1	150	30	440	7
3	2	2	210	35	470	5
3	3	0	240	36	1300	4
3	3	1	460	71	2400	2
3	3	2	1100	150	4800	0,9
3	3	3	Более 1100	-	-	Менее 0,9
			0			

Таблица 6. Определение коли-индекса БГКП при исследовании 500 см³ воды.

Количество положительных результатов анализа воды из пяти флаконов по 100 см ³	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

Таблица 7. Определение индекса БГКП при исследовании воды по этапам очистки.

Объем исследуемой воды, см ³				Коли-индекс	Коли-титр
100	10	1,0	0,1		
-	-	-	-	Менее 9	Более 111
-	-	+	-	9	111
-	+	-	-	10	105

+	-	-	-	23	43
+	-	+	-	94	10
+	+	-	-	230	4
+	+	-	+	960	1
+	+	+	-	2380	0,4
+	+	+	+	Более 2380	Менее 0,4

Определение термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ)

ТКБ определяют теми же методами, как и БГКП, кроме последнего этапа идентификации, который проводится по ферментации лактозы на полужидкой питательной среде при 44,5°C. В случае роста на среде Эндо типичных лактозоположительных колоний, Гр(-), оксидазоотрицательных, способных ферментировать лактозу при 44,5°C, их учитывают как ТКБ, индекс или титр определяют по таблице 6.

Определение колифагов.

Присутствие колифагов (бактериофагов, паразитирующих на *E. coli*) определяют методом агаровых слоев по Грациа.

Для определения используют чувствительные музейные культуры микроорганизмов (тест-организмы): мутант *Salmonella taphimurium*, 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.

За 18-24 часа перед проведением анализа необходимо сделать посев тест-культуры *E.coli* K₁₂ F⁺ на скошенный питательный агар (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 45°C 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 мл на 100 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 37°C на 18-24 ч.

В результате индикаторная культура образует равномерный сплошной рост, а при наличии колифагов в этом «газоне» образуются прозрачные бляшки («негативные колонии» бактериофага). 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.

Определение спор сульфитредуцирующих клостридий.

Испытуемую воду вносят в расплавленную и остуженную среду Вильсона—Блера. Среда содержит тиосульфат (гипосульфит) и бесцветную соль железа. В результате прорастания спор, размножения клостридий и восстановления ими сульфита образуется сульфид железа, который придает среде черный цвет.

Количественно эти микроорганизмы в воде можно определить методом мембранной фильтрации или прямым посевом.

Перед посевом пробу воды прогревают на водяной бане при температуре $75\pm 5^\circ\text{C}$ в течение 15 мин для уничтожения вегетативных форм. При исследовании хлорированной воды, ее можно не прогревать. Применяя метод мембранной фильтрации, пробу воды определенного объема пропускают через фильтр, который затем помещается в пробирку с подготовленной расплавленной питательной средой верхней стороной внутрь (пробирка с питательной средой после посева должна быть немедленно охлаждена в холодной воде во избежание попадания воздуха) или в чашку Петри на поверхность питательной среды, которая затем заливается той же питательной средой толстым слоем.

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

Сверху посева воды заливают горячим (75-80°C) 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 44°C в течение 24 ч.

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

6. Санитарно-микробиологическое исследование почвы.

6.1. Микрофлора почвы.

Почва состоит из минеральных и органических соединений. Она – продукт жизнедеятельности микроорганизмов, осуществляющих процесс её формирования, самоочищения, круговорота азота, углерода, серы и железа в природе. Микроорганизмы почвы фиксируют азот из воздуха (около 100 млн т ежегодно), образуют гумус почвы и высвобождают питательные вещества для растений, выполняют санитарную функцию почвы. Почва является основной средой обитания многих микробов. Отсюда они поступают в воду и обсеменяют воздух.

Микрофлора почвы включает все известные группа микроорганизмов: споровые и неспорообразующие бактерии, актиномицеты, грибы, спирохеты, археобактерии, простейшие, сине-зеленые водоросли, микоплазмы и вирусы. В 1 г почвы насчитывается до 6 млрд микробных тел.

Очаговость распространения микроорганизмов – главная особенность их экологии в почве, позволяющая сохранить виды почвенных

микроорганизмов и специфичность группировок по горизонтам почвы. В верхних слоях обитают актиномицеты и аэробы. В нижних – грибы и анаэробы. Количественный состав микроорганизмов почвы неравномерен. Самый поверхностный слой толщиной 1—2 мм содержит мало микроорганизмов, так как они быстро погибают под действием солнечных лучей и высыхания. Следующий слой, глубиной 10—20 см, наиболее обсеменен разнообразными микроорганизмами, под влиянием которых в нем протекают бурные биохимические процессы. По мере увеличения глубины количество микробов постепенно уменьшается, но их обнаруживают даже на значительной глубине. Независимо от глубины наиболее густо всегда заселена околокорневая (ризосферная) зона растений. Качественный состав околокорневой микрофлоры зависит от вида растений, но во всех случаях преобладает грибная флора. Количество микроорганизмов околокорневой зоны в тысячи раз превышает микробное число не занятой растениями почвы. Этот факт используется при обезвреживании почвы, обсемененной патогенными бактериями.

На качественный и количественный состав микрофлоры почвы влияет тип почвы, её плодородие, влажность, аэрация и физико–химические свойства. На микробиоценоз почвы существенно влияет деятельность человека: обработка почвы, внесение удобрений, мелиорация, загрязнение отходами производств.

Патогенные микроорганизмы могут попасть в почву с выделениями человека и животных. Особо опасным в санитарном отношении является загрязнение почвы необезвреженными отходами животноводства (навоз, моча, трупы животных). Самоочищающая способность почвы ограничена, а методы обеззараживания почвы громоздки и малоэффективны (например, 5 кг хлорной извести на 1 м³ почвы).

Патогенные для человека микроорганизмы можно разделить на три группы.

К первой группе относятся патогенные микробы, для которых почва является постоянным местом обитания. Это возбудители ботулизма, актиномицеты, грибы, вызывающие микозы.

Вторая группа представлена споровыми микроорганизмами, для которых почва является вторичным резервуаром, где они сохраняются длительное время (десятилетия). К ним относятся возбудители сибирской язвы, столбняка и газовой гангрены.

Третья группа — патогенные микробы и вирусы, которые, попадая в почву с выделениями человека и животных, сохраняются там от нескольких часов до нескольких месяцев (кишечная палочка, сальмонеллы, шигеллы). Опасность передачи через почву заболеваний, вызванных этими возбудителями, невелика и зависит от интенсивности обсеменения микробами.

6.2. Исследование почвы.

Санитарно-микробиологическое исследование почвы необходимо для выявления и предотвращения распространения возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных.

Исследование почвы можно разделить на предупредительный и текущий санитарный надзор.

Предупредительный надзор осуществляют:

а) при планировке, строительстве и реконструкции вновь заселяемых участков и населенных мест;

б) при выборе участков для строительства лечебно-профилактических и аптечных учреждений, санаториев, детских учреждений;

в) при решении вопросов водоснабжения и канализации населенных территорий;

г) при санитарной оценке пляжей, мест коллективного отдыха и т.д.

Текущий санитарный надзор осуществляют:

а) при оценке санитарного состояния почвы и ее способности к самоочищению после загрязнений (например, почву детских садов, больниц, зон отдыха исследуют 2 раза в год);

б) при контроле за почвенными и биотермическими методами обезвреживания сточных вод и отходов (1—4 раза в месяц);

в) по эпидемическим показаниям для выяснения возможного пути передачи инфекционных заболеваний.

При осуществлении текущего санитарного надзора рекомендуется сокращенный анализ. Он включает: определение ОМЧ, БГКП, титра строгих анаэробов, термофильных бактерий, нитрифицирующих бактерий. В полный санитарно-микробиологический анализ дополнительно входят: определение численности и процентного отношения спор к общему количеству микроорганизмов, количество актиномицетов, грибов, целлюлозоразрушающих микроорганизмов и аммонификаторов, основных групп почвенного микробиоценоза и ряд дополнительных исследований (например, токсичность почв для микроорганизмов). По эпидемическим показаниям в ходе исследований проводят обнаружение патогенных микроорганизмов: сальмонелл, шигелл, возбудителя сибирской язвы, патогенных клостридий.

Санитарно-показательные микроорганизмы почвы.

К санитарно-показательным микроорганизмам, которые определяют в почве, относятся БГКП, *Clostridium perfringens*, термофильные и нитрифицирующие бактерии (табл. 8).

По количеству БГКП судят о фекальном загрязнении почвы и о наличии прочих энтеробактерий. Важным критерием санитарного состояния почвы и ее способности к самоочищению является содержание *Clostridium perfringens*. Эти микроорганизмы свидетельствуют о фекальном загрязнении, при этом эшерихии исчезают уже через 4—5 мес, а клостридий обнаруживают в титре 0,01 г. Определение термофильных бактерий помогает оценить загрязнение почвы навозом, компостом или сточными водами и

стадию разложения их органического субстрата. Появление нитрифицирующих бактерий указывает на развитие процесса самоочищения. Для более полной оценки процесса самоочищения определяют также группы микроорганизмов, быстро разрушающих органический субстрат: бациллы, актиномицеты, грибы.

Таблица 8. Требования к микробиологической чистоте почв

Категория почвы	Титр БГКП	Титр нитрифицирующих бактерий	Титр клостридий	Индекс термофильных микроорганизмов
Чистая	>1,0	>0,1	> 0,001	100 — 1000
Загрязненная	0,9-0,01	0,09-0,001	0,009-0,0001	1001 — 100000
Сильно загрязненная	< 0,009	< 0,0009	< 0,00009	10001 – 4000000

При попадании в почву органических веществ сразу же повышается общее микробное число (ОМЧ), а также общее число сапрофитов (ОЧС). Обычно в грязных почвах $ОМЧ > ОЧС$, а в чистых $ОМЧ = ОЧС$ или $ОМЧ < ОЧС$. Сначала размножаются гетеротрофы, обладающие очень высокой ферментативной активностью и представленные семейством псевдомонад, аэромонад и др. В этот период в почве много фекальных бактерий (БГКП, энтерококки, *Cl. perfringens*), протеолитов, разлагающих белки, пептоны, аммонификаторов (микробов, расщепляющих белки до NH_3). Для самого свежего загрязнения характерна большая обсемененность почвы энтерококками, БГКП, *Cl. perfringens*, термофилами и отсутствие нитрификаторов.

В процессе самоочищения почвы состав микрофлоры меняется. По мере повышения кислотности в почве появляются ацидофильные микроорганизмы: молочнокислые бактерии, дрожжи, грибы, плесени, актиномицеты. По мере накопления аммиака в почве начинают размножаться нитрификаторы, т. е. микроорганизмы, окисляющие MN_3 до нитритов и

нитратов. Эти микроорганизмы завершают цикл превращений органических веществ в неорганические. За окисление NH_3 до HNO_2 ответственны нитрифицирующие бактерии (Nitrosomonas), а за окисление HNO_2 в HNO_3 — нитробактерии (Nitrobacter). Одновременно с процессами нитрификации идут процессы денитрификации, т.е. восстановление нитратов в нитриты, а далее в газообразный азот. На этом этапе ОМЧ почвы становится низким. Видовой состав и численность микрофлоры стабилизируется. Активные вегетативные формы спорообразующих бактерий и грибов уступают покоящимся спорам бацилл, актиномицетам, грибам. В чистых почвах всегда доминируют покоящиеся споры. Спорообразование всегда говорит о законченных процессах минерализации почвы.

Сочетание ОМЧ и нитрификаторов используют для распознавания и отличия чистых почв от почв, бывших загрязненными, но находящихся на стадии минерализации. Для них характерно низкое ОМЧ, но высокое число нитрификаторов. То же самое можно сказать и при сопоставлении общего числа сапрофитов и процентов спорных аэробов. Если процент спорных форм к ОЧС высок (40—60%), то это характерно для чистых почв, если же низок (25%), то почва загрязнена.

Отбор и подготовка проб.

Перед отбором пробы заполняют сопроводительные документы с описанием местности (характер рельефа, растительности и т.д.), предполагаемых источников загрязнения. Пробы отбирают с прямоугольного участка размером не менее чем 5 x 5 м из 5 точек («метод конверта»). При этом в условиях асептики берут с глубины 20—25 см образцы для приготовления смешанной пробы весом 1 кг.

Пробу помещают в стерильную посуду, маркируют. Исследование пробы желательно проводить в тот же день, допускается хранение материала в течение 24 часов при температуре 4-5°C.

Перед исследованием образцы почвы освобождают от крупных включений, растирают в ступке и просеивают через стерильное сито с

диаметром пор 3 мм. Масса навесок для исследования зависит от цели исследования. Навеску почвы помещают в стерильную колбу и заливают стерильной водопроводной водой в соотношении 1:10. Полученную смесь встряхивают 10-15 мин, затем 2-3 мин. отстаивают. Полученную суспензию используют для приготовления последующих разведений.

Определение ОМЧ.

ОМЧ почвы определяют глубинным посевом (на плотной среде) из 10-кратных разведений или методом прямой микроскопии (по Перфильеву).

Для глубинного посева готовят несколько разведений почвенной суспензии (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} и т.д.) Для посева выбирают разведения исходя из загрязненности почвы. По 0,1 мл выбранных разведений смешивают с 40 мл расплавленного и остуженного до 45°C питательного агара, после чего выливают вторым слоем в чашки Петри с питательным агаром. Посевы инкубируют при 28-30°C в течение 72 часов и подсчитывают количество выросших колоний. Для подсчета колоний выбирают такие разведения почвенной суспензии, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Затем делают пересчет на 1 г почвы с учетом разведений.

При использовании прямого метода по Б.В. Перфильеву к 1 мл почвенной суспензии в разведении 1:10 добавляют 1-2 капли раствора акридинового оранжевого. Затем каплю суспензии помещают в капиллярную камеру. Капилляр помещают на предметное стекло, фиксируют парафином и исследуют при помощи люминесцентной микроскопии. Затем делают пересчет на 1 г почвы.

Определение коли-индекса.

Если предполагается невысокая степень фекального загрязнения, БГКП в почве определяют бродильным методом или методом мембранных фильтров; при высокой степени — прямым посевом почвенной суспензии в разведении 1:10 на среду Эндо.

Метод мембранных фильтров проводят также как и при исследовании воды. Предварительно почвенную суспензию 1:10 центрифугируют при 2000

об/мин в течение 5 мин, затем 5-10 мл суспензии фильтруют через мембранные фильтры.

При титрационном методе из приготовленных разведений почвенной суспензии делают посевы в питательную среду Кесслера (1% пептона, 5% желчи, 0,25% лактозы, генциановый фиолетовый). Из разведения 1:10 10 мл засевают во флакон с 50 мл среды, что соответствует 1 г почвы. Для посева меньших количеств (0,1 и 0,01 г почвы) делают разведение 1:100 и по 1 мл из разведений 1:10 и 1:100 соответственно засевают в пробирки с 9 мл среды. Далее методика соответствует определению коли-индекса воды.

Определение перфрингенс-титра

Перфрингенс-титр почвы – минимальное количество почвы, в котором еще определяются *Clostridium perfringens*.

Из приготовленных 10-кратных разведений почвенной суспензии по 1 мл переносят в два параллельных ряда пробирок. Один ряд прогревают при 80°C 15 мин для уничтожения вегетативных форм. Далее пробирки заливают свежеприготовленной средой Вильсона-Блера. Посевы инкубируют при 43°C в течение 24-48 часов, после чего учитывают результаты по образованию черных колоний. Из колоний делают мазки, окрашивают по Граму и обнаруживают типичные грамположительные палочки.

Определение термофильных бактерий.

Число термофильных бактерий определяют глубинным посевом различных разведений на плотные среды (МПА) с инкубированием при 60°C в течение суток. Из каждого разведения рекомендуется засеять по 2-3 параллельные чашки.

Определение нитрифицирующих бактерий.

Титр нитрифицирующих бактерий определяют посевом из 10-кратных разведений почвенной суспензии на жидкую синтетическую среду Виноградского. Посевы инкубируют при 28°C в течение 14-15 суток. На 5-7 день можно проверить образование азотистой или азотной кислоты при помощи дифениламина. Для этого на стеклянную пластину помещают каплю

среды и добавляют несколько капель дифениламина (в концентрированной серной кислоте), синее окрашивание свидетельствует о присутствии нитратов.

7. Санитарный режим лечебно-профилактических учреждений

Лечебно-профилактические учреждения (ЛПУ) — больницы, родильные дома, лечебно-диагностические стационары и центры — ввиду своих особенностей представляют угрозу возникновения и распространения внутрибольничных инфекций (ВБИ). Для сведения к минимуму возможности возникновения и распространения ВБИ в учреждениях необходимо поддерживать санитарный режим.

Санитарный режим ЛПУ включает:

- организационные меры (контроль за режимом поступления, пребывания и выписки пациентов, за службой крови и ее препаратов, за назначением инвазивных манипуляций и антимикробных средств, за режимом стерилизации и дезинфекции в ЛПУ);
- медицинские осмотры и обследование персонала (при поступлении на работу и периодические профилактические): на возбудителей венерических инфекций, туберкулеза, на носительство золотистого стафилококка, патогенных энтеробактерий (результаты осмотров заносят в индивидуальную санитарную книжку);
- работу только в спецодежде, соответствующей выполняемым операциям (для работы в асептических условиях необходим комплект стерильной одежды);
- соблюдение сроков хранения стерильного материала;
- соблюдение правил личной гигиены, влажную уборку помещений (оборудования, стен, полов) с применением дезинфицирующих средств;
- дезинфекция ультрафиолетом воздуха в операционном блоке, перевязочных и др.;

- соблюдение правил использования дезинфицирующих и антисептических средств (в том числе сроков хранения);
- дезинфекцию использованных материалов;
- проведение санитарно-микробиологических исследований.

Цель санитарно-микробиологических обследований ЛПУ — предупреждение ВБИ, ликвидация эпидемиологически опасных ситуаций.

В ЛПУ бактериологическому обследованию подлежат операционный блок, послеоперационные палаты, отделения и палаты реанимации и интенсивной терапии, перевязочные, хирургические кабинеты, эндоскопические процедурные, залы гемодиализа.

В акушерских стационарах бактериологическому обследованию подлежат родильные залы, операционный блок, процедурные, детские палаты и палаты интенсивной терапии; комнаты сбора, пастеризации и хранения грудного молока; палаты послеродового отделения.

Объектами бактериологического обследования являются воздух, поверхности оборудования, руки хирурга и всех работающих в операционном блоке, кожные покровы операционного поля, хирургический шовный материал, подготовленный к использованию. Также осуществляют контроль стерильности изделий медицинского назначения (хирургический инструментарий, зонды, катетеры и т.д.), эффективности текущей и заключительной дезинфекции. Кроме того, проводят обследование персонала на носительство золотистого стафилококка.

Для различных помещений ЛПУ характерен свой набор устройств и оборудования, подлежащие микробиологическому контролю. В перевязочной комнате исследуют смывы с кушетки для перевязок, полотенца для рук персонала, халата медсестры, рабочего стола, щетки на раковине, внутреннюю поверхность холодильника для хранения лекарств. В наркозной комнате исследуют смывы с маски наркозного аппарата, ларингоскопа роторасширителя, дыхательного мешка. В предоперационной палате контролируют микробную обсемененность ёмкостей и щеток для мытья рук

хирургов; в операционном зале – рабочий стол анестезиолога, шланг вакуум-насоса, шланг кислородной подводки, операционный стол, хирургические инструменты и шовный материал; в послеоперационной палате – кровать, полотенце для рук персонала, шланг кислородной подводки, термометры. Кроме того, исследованию подлежат лекарственные формы для инъекций, для обработки слизистых и ухода за кожей новорожденных, материалы для операционной в биксах, катетеры и др.

В плане самоконтроля лаборатории ЛПУ проводят санитарно-микробиологические исследования 1-4 раза в месяц в зависимости от цели и объекта исследования, лаборатории Центров гигиены и эпидемиологии — 1 раз в 2 года и внепланово (по эпидпоказаниям, в случае санитарного неблагополучия).

7.1. Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в лечебно-профилактических организациях (ЛПО).

В целях профилактики внутрибольничных инфекций в лечебно-профилактической организации осуществляются дезинфекционные и стерилизационные мероприятия, которые включают в себя работы по профилактической и очаговой дезинфекции, дезинсекции, дератизации, обеззараживанию, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

В ЛПУ должны быть отдельные емкости с рабочими растворами дезинфекционных средств, используемых для обработки различных объектов: для дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации изделий медицинского назначения, а также для их предварительной очистки; для дезинфекции поверхностей в помещениях, мебели, аппаратов, приборов и оборудования; для обеззараживания уборочного материала, отходов классов Б и В. Емкости с рабочими растворами дезинфекционных средств должны быть снабжены плотно прилегающими крышками, иметь четкие

надписи с указанием средства, его концентрации, назначения, даты приготовления, предельного срока годности раствора.

Дезинфекционные мероприятия

Профилактическая дезинфекция осуществляется в формах:

- плановой;
- по эпидемиологическим показаниям;
- по санитарно-гигиеническим показаниям.

Плановая профилактическая дезинфекция проводится систематически в ЛПО при отсутствии в них ВБИ, когда источник возбудителя не выявлен и возбудитель не выделен, с целью уменьшения микробной обсемененности объектов внутрибольничной среды и предупреждения распространения микроорганизмов через изделия медицинского назначения, руки и кожные покровы медицинского персонала и больных, а также освобождения помещений ЛПО и окружающей территории от членистоногих и грызунов.

При плановой профилактической дезинфекции в ЛПО проводится:

- обеззараживание всех видов поверхностей внутрибольничной среды, обеспечивающее гибель санитарно-показательных бактерий и уменьшение контаминации микроорганизмами различных объектов, в том числе воздуха, предметов ухода за больными, посуды и других;
- обеззараживание изделий медицинского назначения с целью умерщвления бактерий и вирусов (в том числе возбудителей парентеральных вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции); обеззараживанию подлежат все изделия медицинского назначения, включая эндоскопы и инструменты к ним, после их использования у пациента;
- дезинфекция высокого уровня эндоскопов, используемых в диагностических целях (без нарушения целостности тканей, то есть при "нестерильных" эндоскопических манипуляциях), обеспечивающая гибель всех вирусов, грибов рода Кандида, вегетативных форм бактерий и большинства споровых форм микроорганизмов;
- гигиеническая обработка рук медицинского персонала;

- обработка рук хирургов и других лиц, участвующих в проведении оперативных вмешательств и приеме родов;
- обработка операционного и инъекционного полей;
- полная или частичная санитарная обработка кожных покровов;
- обеззараживание медицинских отходов классов Б и В;
- дезинсекция, обеспечивающая освобождение или снижение численности членистоногих в помещении и на окружающей территории;
- дератизация, обеспечивающая освобождение помещений от грызунов и снижение их численности на окружающей территории.

Профилактическая дезинфекция по эпидемиологическим показаниям проводится с целью не допустить распространения возбудителей ВБИ и их переносчиков в отделениях (палатах) из соседних отделений (палат). Она проводится с учетом эпидемиологических особенностей конкретной внутрибольничной инфекции (инкубационный период, устойчивость и длительность выживания возбудителя на объектах, имеющих наибольшее эпидемиологическое значение) и режимов применения средств обеззараживания (дезинфекции, дезинсекции, дератизации).

Профилактическая дезинфекция по санитарно-гигиеническим показаниям проводится как разовое мероприятие в помещениях организаций, находящихся в неудовлетворительном санитарном состоянии по методике проведения генеральных уборок.

Очаговая дезинфекция проводится при выявлении источника инфекции (больные, носители) в стационарах (отделениях), амбулаторно-поликлинических организациях любого профиля с учетом эпидемиологических особенностей инфекции и механизма передачи ее возбудителя. Целью этих мероприятий является предупреждение распространения возбудителей инфекций от больных (носителей) с их выделениями и через объекты, имевшие контакт с больными в стационаре (отделении) и за его пределами. При этом обеззараживаются различные объекты, имеющие эпидемиологическое значение в передаче возбудителя;

проводится гигиеническая обработка рук медицинского персонала, полная или частичная обработка кожных покровов больных и персонала; дезинсекция и дератизация.

Очаговая дезинфекция осуществляется в формах текущей и заключительной очаговой дезинфекции. Текущая очаговая дезинфекция объектов внутрибольничной среды в окружении больного проводится с момента выявления у больного внутрибольничной инфекции и до выписки (или перевода в другое отделение/стационар).

В ходе текущей очаговой дезинфекции проводится систематическое обеззараживание потенциально контаминированных выделений больного и всех объектов внутрибольничной среды, с которыми больной имел контакт: изделий медицинского назначения, предметов ухода, посуды, белья, поверхностей в помещениях, в том числе мебели и оборудования, обеззараживание медицинских отходов классов Б и В, дезинсекция и дератизация. При текущей дезинфекции проводится гигиеническая обработка рук медицинского персонала, полная или частичная обработка кожных покровов больных и персонала, инъекционного поля.

Заключительная очаговая дезинфекция проводится после выписки, смерти или перевода больного в другое отделение или стационар с целью обеззараживания объектов внутрибольничной среды, с которыми он контактировал в процессе пребывания в стационаре.

В ходе заключительной очаговой дезинфекции обеззараживаются поверхности помещений, в которых находился больной и места общего пользования; поверхности оборудования и приборов; изделия медицинского назначения; предметы ухода за больным, медицинские отходы; обеззараживаются постельные принадлежности, нательное белье и вещи больного, выдаваемые ему перед выпиской; обеззараживается санитарный транспорт, перевозивший больного; проводится полная или частичная санитарная обработка кожных покровов больных перед выпиской; проводится дезинсекция и дератизация.

В целях предупреждения возможного формирования резистентных к дезинфектантам штаммов микроорганизмов следует проводить мониторинг устойчивости госпитальных штаммов к применяемым дезинфицирующим средствам с последующей их ротацией (последовательная замена дезинфектанта из одной химической группы на дезинфектант из другой химической группы) при необходимости.

Мероприятия по дезинфекции водных систем ЛПО (систем водоснабжения, централизованных систем кондиционирования и увлажнения воздуха и др.) проводятся с целью профилактики распространения легионеллезной инфекции. Микробиологический мониторинг на наличие легионелл необходимо осуществлять не реже 2 раз в год для централизованных систем кондиционирования и увлажнения воздуха, систем горячего и холодного водоснабжения и ежеквартально для бассейнов.

Требования к проведению дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации изделий медицинского назначения

Медицинские изделия многократного применения подлежат последовательно: дезинфекции, предстерилизационной очистке, стерилизации, последующему хранению в условиях, исключающих вторичную контаминацию микроорганизмами. Предстерилизационная очистка и стерилизация проводятся в централизованных стерилизационных отделениях (ЦСО), а при их отсутствии в отделениях ЛПО.

Изделия 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. Для дезинфекции изделий медицинского назначения применяют дезинфицирующие средства, обладающие широким спектром антимикробного (вирулицидное, бактерицидное, фунгицидное - с активностью в отношении грибов рода Кандида) действия. Дезинфекцию

изделий выполняют ручным (в специально предназначенных для этой цели емкостях) или механизированным (моюще-дезинфицирующие машины, ультразвуковые установки) способом.

При проведении дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации растворами химических средств изделия медицинского назначения погружают в рабочий раствор средства с заполнением каналов и полостей. Разъемные изделия погружают в разобранном виде, инструменты с замковыми частями замачивают раскрытыми, сделав этими инструментами в растворе несколько рабочих движений. Объем емкости для проведения обработки и объем раствора средства в ней должны быть достаточными для обеспечения полного погружения изделий медицинского назначения в раствор; толщина слоя раствора над изделиями должна быть не менее одного сантиметра.

Дезинфекцию способом протирания допускается применять для тех изделий медицинского назначения, которые не соприкасаются непосредственно с пациентом или конструкционные особенности которых не позволяют применять способ погружения.

После дезинфекции изделия медицинского назначения многократного применения должны быть отмыты от остатков дезинфицирующего средства.

Предстерилизационную очистку изделий осуществляют после дезинфекции или при совмещении с дезинфекцией в одном процессе (в зависимости от применяемого средства): ручным или механизированным способом. Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки азопирамовой или амидопириновой проб на наличие остаточного количества крови, а также путем постановки фенолфталеиновой пробы на наличие остаточных количеств щелочных компонентов моющих средств (только в случаях применения средств, рабочие растворы которых имеют pH более 8,5).

Контроль качества предстерилизационной очистки проводят ежедневно. Контролю подлежат: в стерилизационной - 1% от каждого

наименования изделий, обработанных за смену; при децентрализованной обработке - 1% одновременно обработанных изделий каждого наименования, но не менее трех единиц. Результаты контроля регистрируют в журнале.

Стерилизации подвергают все изделия медицинского назначения, контактирующие с раневой поверхностью, кровью (в организме пациента или вводимой в него) и/или инъекционными препаратами, а также отдельные виды медицинских инструментов, которые в процессе эксплуатации соприкасаются со слизистой оболочкой и могут вызвать ее повреждение.

Изделия однократного применения, предназначенные для осуществления таких манипуляций, выпускаются в стерильном виде предприятиями-изготовителями. Их повторное использование запрещается.

Стерилизацию изделий медицинского назначения осуществляют физическими (паровой, воздушный, инфракрасный) или химическими (применение растворов химических средств, газовый, плазменный) методами, 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 в руководстве по эксплуатации стерилизатора конкретной модели.

Паровым методом стерилизуют общие хирургические и специальные инструменты, детали приборов, аппаратов из коррозионно-стойких металлов, стекла, белье, перевязочный материал, изделия из резин, латекса и отдельных видов пластмасс.

Воздушным методом стерилизуют хирургические, гинекологические, стоматологические инструменты, детали приборов и аппаратов, в том числе изготовленные из коррозионно-нестойких металлов, изделия из силиконовой резины. Перед стерилизацией воздушным методом изделия после предстерилизационной очистки обязательно высушивают в сушильном шкафу при температуре 85°C до исчезновения видимой влаги.

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. 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.

Газовым методом стерилизуют изделия из различных, в том числе термолабильных материалов, используя в качестве стерилизующих средств окись этилена, формальдегид, озон. Перед стерилизацией газовым методом с изделий после предстерилизационной очистки удаляют видимую влагу. Стерилизацию осуществляют в соответствии с режимами применения средств для стерилизации конкретных групп изделий, а также согласно инструкциям по эксплуатации стерилизаторов, разрешенных к применению.

Плазменным методом, используя стерилизующие средства на основе перекиси водорода в плазменных стерилизаторах, стерилизуют хирургические, эндоскопические инструменты, эндоскопы, оптические устройства и приспособления, волоконные световодные кабели, зонды и датчики, электропроводные шнуры и кабели и другие изделия из металлов, латекса, пластмасс, стекла и кремния.

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.

Инфракрасным методом стерилизуют стоматологические и некоторые другие инструменты из металлов.

При паровом, воздушном, газовом и плазменном методах изделия стерилизуют в упакованном виде, используя бумажные, комбинированные и пластиковые стерилизационные упаковочные материалы, а также пергамент и бязь (в зависимости от метода стерилизации). Упаковочные материалы используют однократно. При паровом методе, кроме того, используют стерилизационные коробки с фильтрами. При воздушном и инфракрасном методах допускается стерилизация инструментов в неупакованном виде (в открытых лотках), после чего их сразу используют по назначению.

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

Стерилизация изделий в неупакованном виде допускается только при децентрализованной системе обработки в следующих случаях: при стерилизации изделий медицинского назначения растворами химических средств; при стерилизации металлических инструментов термическими методами (гласперленовый, инфракрасный, воздушный, паровой) в портативных стерилизаторах. Все изделия, простерилизованные в неупакованном виде, целесообразно сразу использовать по назначению. Запрещается перенос их из кабинета в кабинет.

При необходимости инструменты, простерилизованные в неупакованном виде одним из термических методов, после окончания стерилизации допускается хранить в бактерицидных (оснащенных ультрафиолетовыми лампами) камерах в течение срока, указанного в руководстве по эксплуатации оборудования, а в случае отсутствия таких камер - на стерильном столе не более 6 часов. Изделия медицинского назначения, простерилизованные в стерилизационных коробках, допускается

извлекать для использования из стерилизационных коробок не более чем в течение 6 часов после их вскрытия.

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.

Все манипуляции по накрытию стерильного стола проводят в стерильном халате, маске и перчатках с использованием стерильных простыней. Обязательно делают отметку о дате и времени накрытия стерильного стола. Стерильный стол накрывают на 6 часов. Не использованные в течение этого срока материалы и инструменты со стерильного стола направляют на повторную стерилизацию.

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

Контроль стерилизации

Контроль стерилизации включает контроль работы стерилизаторов, проверку значений параметров режимов стерилизации и оценку ее эффективности.

Контроль работы стерилизаторов в ЛПУ включает контроль после монтажа и ремонта аппарата и контроль в процессе его эксплуатации. Последний подразделяют на плановый контроль, самоконтроль и контроль по показаниям, который проводят при получении неудовлетворительных результатов контроля стерильности изделий медицинского назначения, неудовлетворительных результатов физического, химического и бактериологического контроля.

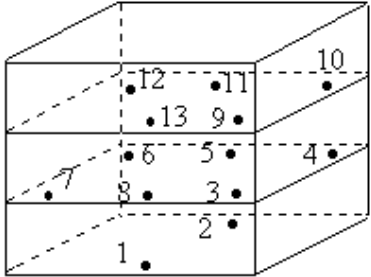
Контроль работы стерилизаторов проводят: физическим (с использованием контрольно-измерительных приборов), химическим (с использованием химических индикаторов) и бактериологическим (с

использованием биологических индикаторов) методами. Параметры режимов стерилизации контролируют физическим и химическим методами.

При проведении контроля контрольные тесты (максимальные термометры, химические тесты, термохимические индикаторы и биотесты) упаковывают вместе в пакеты из упаковочной бумаги (ОСТ 42-21-2-85), нумеруют и размещают по схеме в контрольные точки паровых (табл. 9) и воздушных (табл. 10) стерилизаторов.

Таблица 9. Расположение контрольных точек в паровых стерилизаторах

Емкость камеры стерилизатора (тип аппарата, куб. дм)	Число контрольных точек	Расположение контрольных точек	
		Описание	Схема
до 100	5	для стерилизаторов прямоугольных; т.1 - у загрузочной двери, т.2 - у противоположной стенки (разгрузочной двери);	
свыше 100 до 750 включительно	11	для стерилизаторов круглых вертикальных; т.1 - в верхней части камеры; т.2 - в нижней части	

свыше 750	13	<p>камеры для стерилизаторов круглых горизонтальных;</p> <p>т.1 - у загрузочной двери;</p> <p>т.2 - у противоположной стенки (разгрузочной двери);</p> <p>т.3-т.13 - в центре стерилизационных коробок или внутри стерилизуемых упаковок, размещенных на разных уровнях, против часовой стрелки.</p>	
-----------	----	--	---

Примечание: контрольные точки 1 и 2 находятся в стерилизационной камере вне стерилизуемых изделий.

Таблица 10. Расположение контрольных точек в воздушных стерилизаторах

Емкость камеры стерилизатора (тип аппарата, куб. дм)	Число контрольных точек	Расположение контрольных точек
до 80	5	т.1 - в центре камеры, т.2, т.3 - в нижней части камеры: справа (т.2) и

		слева (т.3) на одинаковом удалении от двери и задней стенки, т.4,т.5 - в нижней части камеры: справа (т.4) и слева (т.5) у двери
свыше 80 однокамерные	15	т.1,т.2,т.3 - в центре камеры на трех уровнях сверху вниз, т.4-т.15 - по углам на трех уровнях (т.4-т.7 - низ, т.8-т.11 - середина, т.12-т.15 - верх), размещая против часовой стрелки
свыше 80 двухкамерные	30	аналогичным образом для каждой камеры

Примечание: контрольные тесты помещают на расстоянии не менее 5 см от стенок стерилизационной камеры.

Физический метод контроля работы стерилизаторов осуществляют с помощью средств измерения температуры (термометр, термометр максимальный), давления (мановакуумметр) и времени (секундомер, часы).

Контроль параметров режимов работы паровых стерилизаторов

Контроль температурного параметра режимов работы паровых стерилизаторов осуществляют с использованием термометра ртутного стеклянного максимального с диапазоном измерения от 0 до 150°C. Погрешность измерения не должна превышать +-1°C. Упакованные термометры нумеруют и размещают в контрольные точки 1 и 2 камеры паровых стерилизаторов в соответствии с табл. 9. По окончании цикла стерилизации регистрируют показания термометров и сопоставляют их между собой, а также с номинальной температурой стерилизации.

Давление в стерилизационной камере парового стерилизатора измеряют при помощи мановакуумметра. Предел измерения от 0,1 до 0,5 МПа (от 1 до 5 кгс/кв.см).

Хронометраж цикла стерилизации проводят с помощью механического секундомера, класс точности 2,0 или часов наручных механических с погрешностью суточного хода ± 1 минута.

Контроль параметров режимов работы воздушных стерилизаторов.

Контроль температурного параметра режимов работы воздушных стерилизаторов в течение цикла стерилизации проводят путем наблюдения за показаниями приборов, установленных на стерилизаторе (термометр, индикаторные устройства на панели аппарата). Распределение температур внутри загруженной стерилизационной камеры проводят с использованием термометра ртутного стеклянного максимального с диапазоном измерения от 0 до 200°C. Погрешность измерения температуры не должна превышать ± 1 °C.

Хронометраж цикла стерилизации проводят как для паровых стерилизаторов.

Химический метод контроля предназначен для оперативного контроля одного или в совокупности нескольких параметров режимов работы паровых и воздушных стерилизаторов.

Химический метод контроля работы стерилизаторов осуществляют с помощью химических тестов и термохимических индикаторов.

Химический тест представляет запаянную с обоих концов стеклянную трубку, заполненную смесью химического соединения с органическим красителем или только химическим соединением, изменяющим свое агрегатное состояние и цвет при достижении определенной для него температуры плавления (таб. 11, 12).

Упакованные химические тесты нумеруют и размещают в контрольные точки паровых (табл. 9) и воздушных (табл. 10) стерилизаторов. По окончании стерилизации химические тесты вынимают из стерилизатора и визуально определяют изменение их агрегатного состояния и цвета. При неудовлетворительном результате контроля равномерное расплавление и

изменение цвета химических тестов отсутствует, т.е. заданная температура стерилизации не была достигнута.

Таблица 11. Химические тесты для контроля температурных параметров режимов работы паровых стерилизаторов

№	Наименование составных частей	Цвет, форма кристаллов, запах	Температурный параметр, подлежащий контролю, °С
1	Антипирин краситель	Бесцветные кристаллы или белый порошок без запаха	110+2
2	Резорцин краситель	Белый или со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым характерным запахом	110+2
3	Сера элементарная	Желтые кристаллы	120+2
4	Кислота бензойная Краситель	Бесцветные игольчатые кристаллы или белый порошок	120+2
5	Д(+)-Манноза Краситель	Бесцветные кристаллы в виде ромбических призм	132+-2
6	Никотинамид Краситель	Белый кристаллический порошок со слабым запахом	132+-2

Таблица 12. Химические тесты для контроля температурных параметров режимов работы воздушных стерилизаторов

№	Наименование составных частей	Цвет, форма кристаллов, запах	Температурный параметр,

			подлежащий контролю, °С
1	Левомецетин	Белый или белый со слабым желто-зеленым оттенком кристаллический порошок без запаха	160
2	Кислота винная	Порошок белого цвета или прозрачные бесцветные кристаллы	180
3	Гидрохинон	Бесцветные или светло-серые серебристые кристаллы	180
4	Тиомочевина	Блестящие бесцветные кристаллы	180

Термохимические индикаторы (рис. 5) предназначены для оперативного контроля одного (температура) или совокупности нескольких параметров режимов работы паровых (температура, наличие остаточного воздуха, присутствие водяного насыщенного пара под избыточным давлением) и воздушных стерилизаторов (температура и время стерилизации). Термохимический индикатор представляет собой полоску бумаги, на которую нанесена термоиндикаторная краска. Определение параметров, достигнутых в процессе стерилизации, основано на изменении цвета термоиндикаторной краски при достижении "температуры перехода", строго определенной для каждой краски.



Рис. 5. Термохимические индикаторы.

Пронумерованные термохимические индикаторы размещают в контрольные точки воздушных стерилизаторов (приклеивают или прикрепляют на пакеты с контрольными тестами или на упаковку стерилизуемых изделий). По окончании стерилизации термохимические индикаторы вынимают из стерилизатора и визуально определяют изменение их цвета.

Бактериологический метод контроля предназначен для контроля эффективности работы стерилизаторов на основании выявления гибели спор тест-культур. Бактериологический метод контроля работы стерилизаторов осуществляют с помощью биотестов. Биотест (рис. 6) представляет собой дозированное количество тест-культуры на носителе (или в нем), помещенном в упаковку. Упаковка предназначена для сохранения целостности носителя со спорами и предупреждения вторичного обсеменения после стерилизации. Биотесты для контроля работы паровых стерилизаторов представляют собой стеклянные флаконы или чашечки из алюминиевой фольги, содержащие высушенные споры тест-культуры *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718. Биотесты для контроля работы воздушных стерилизаторов представляют собой упакованные носители, содержащие высушенные споры тест-культуры *Bacillus licheniformis* штамм G. Упакованные биотесты нумеруют и размещают в контрольные точки паровых (табл. 9) и воздушных (табл. 10) стерилизаторов. По окончании стерилизации биотесты вынимают из стерилизатора, помещают в

полиэтиленовый пакет и в тот же день доставляют в бактериологическую лабораторию с сопроводительным бланком.



Рис. 6. Биоиндикаторы для контроля качества паровой стерилизации.

В бактериологической лаборатории с соблюдением правил асептических условий биотесты вынимают из упаковки. Во флаконы вносят 1 мл питательной среды и закрывают стерильными резиновыми пробками (N 7,5) с целью предупреждения высыхания питательной среды (в случае отсутствия резиновых пробок во флаконы вносят 5 мл питательной среды и закрывают стерильными ватно-марлевыми пробками), диски из фильтровальной бумаги и чашечки из фольги пинцетом, который обжигают в пламени, помещают в бактериологические пробирки с 5 мл питательной среды. Учет результатов бактериологического контроля проводят путем ежедневного визуального осмотра всех биотестов с питательной средой.

При обнаружении неудовлетворительных результатов любого вида контроля в процессе стерилизационного цикла и после его окончания загрузку считают непростерилизованной. Аппарат прекращают использовать, анализируют правильность осуществления требуемого режима стерилизации, правильность загрузки и исправность аппарата. При обнаружении неисправностей необходимо вызывать представителя ПО "Медтехника" для ее устранения. Стерилизатор разрешают использовать после устранения причин неудовлетворительной работы стерилизатора и получения удовлетворительных результатов контроля.

Показателем качества работы стерилизаторов при соблюдении заданных условий их эксплуатации является соответствие отклонения температуры в различных точках камеры стерилизатора регламентированным, о чем свидетельствуют:

- показания максимальных термометров;
- изменение исходного состояния химических тестов (агрегатное состояние и цвет);
- изменение цвета термохимических индикаторов;
- отсутствие роста тест-культур в биотесте при культивировании после стерилизации.

Эффективность стерилизации оценивают на основании результатов бактериологических исследований при контроле стерильности изделий медицинского назначения.

Стерилизаторы подлежат бактериологическому контролю после их установки (ремонта), а также в ходе эксплуатации не реже двух раз в год в порядке производственного контроля.

Контроль работы дезинфекционных камер.

В целях обеспечения надежного обеззараживания вещей дезинфекционные камеры подвергаются техническому, термическому и бактериологическому контролю.

Технический контроль дезинфекционных камер имеет своей целью установить исправность как камеры, так и ее оборудования (манометр, термометр, вентили), а также паропроводов и воздухопроводов.

Термический контроль позволяет определить степень нагрева в термических дезинфекционных камерах. Проводится при помощи термометров: градуированная часть наружного термометра расположена за пределами камеры, конец его с ртутным шариком введен внутрь камеры.

Показания наружных термометров камеры свидетельствуют лишь о температуре воздуха и пара в камере, но не о температуре, которая в этот период времени была в обеззараживаемых вещах, находящихся в камере. Для

определения температуры в обеззараживаемых вещах, обеспечивающей бактерицидный (инсектицидный) эффект, используются максимальные термометры. В загрузочной камере максимальные термометры должны размещаться в толще вещей (под воротниками, в карманах или складках одежды). Для этого термометры укладывают в специальные мешочки-кисеты совместно с тест-объектами и размещают в 9-и (рис. 7) или 15-ти (рис. 8) точках по схеме, на двух уровнях: в верхней и средней частях камеры.

1	7	4
2	8	5
3		6
	9	

Рис. 7. Схема расположения контрольных точек при объеме дезинфекционной камеры 2 м³

1		4
2		5
3		6
	7	
	8	
	9	
10		13
11		14
12		15

Рис. 8. Схема расположения контрольных точек при объеме дезинфекционной камеры более 2 м³

Такое размещение термометров позволяет получить сведения о температурном режиме в различных частях камеры. При проведении температурного контроля дезкамер принято добавлять еще один термометр, который помещается в камере на уровне углового (внешнего) термометра и служит для проверки показаний последнего.

При равномерном распределении температуры в вещах, находящихся в камере, разница в показаниях термометров (перепады) допускается в следующих пределах:

- 3 °С - при паровом способе дезинфекции;
- 5 - 7 °С - при паровоздушном способе дезинфекции;
- 2 - 5 °С - при пароформалиновом способе дезинфекции.

При этом должно быть учтено, что низшая граница перепада температур должна соответствовать нижней границе проверяемого режима дезинфекции по показаниям наружного термометра:

- 100 - 104 °С - при паровом способе дезинфекции;
- 80 - 97 °С - при паровоздушном способе дезинфекции;
- 49 - 57 °С - при пароформалиновом способе дезинфекции.

Причиной несоответствия указанных параметров температуры может быть неправильная загрузка камеры (превышение установленных норм загрузки или переуплотнение в отдельных местах камеры). При исключении этой причины необходимо тщательно обследовать техническое состояние камеры.

Бактериологический контроль осуществляется при помощи эталонных культур микроорганизмов:

- при обработке вещей из очагов инфекций, вызванных неспорообразующими микробами, - золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*), штамм 906;
- при обработке вещей из очагов туберкулеза - непатогенная микобактерия (*Mycobacterium*), штамм В-5;
- при обработке вещей из очагов инфекций, вызванных спорообразующими микробами, - культура *Bacillus cereus*, штамм 96, в споровой форме (антракоид).

Тест-культуры должны обладать типичными свойствами и следующей устойчивостью:

- *Staphylococcus aureus* - к температуре 60 °С в течение 25 мин., к 2%-ному раствору формалина в течение 20 мин.;

- *Mycobacterium*, штамм В-5, - к температуре 60 °С при 60 мин. экспозиции, к 5%-ному раствору формалина при экспозиции 25 мин.;

- споры *B.cereus*, штамм 96, - к действию текучего пара в течение 4 - 6 мин. или кипячению в течение 25 мин.

Для поддержания устойчивости культуры следует хранить при температуре +4 °С. Стафилококк и *B.cereus* - на мясопептонном агаре (МПА) в столбике под слоем стерильного вазелинового масла; культуру В-5 - на картофельно-глицериновой среде или 2-процентном глицериновом МПА. Можно хранить культуры в запаянных ампулах, лиофильно высушенные. Пересевать рабочие культуры стафилококка, *B.cereus* и В-5 следует не реже одного раза в 3 месяца.

Индикаторами биологического контроля эффективности дезинфекции вещей в камерах служат инсулиновые флаконы с сухими культурами бактерий (индикатор биологический БИК-ИЛЦ), приготовленные по стандартной методике и упакованные в упаковочную ленту. Приготовленные таким образом носители нумеруют и помещают в мешочек размером 10 x 15 см, в котором имеется специальное отделение для максимального термометра. Мешочки размещают в контрольные точки (рис. 7, 8). После проведения испытания индикаторы извлекают из мешочков, помещают в полиэтиленовый пакет и с соответствующим направлением доставляют в лабораторию для дальнейшего исследования. В бактериологической лаборатории при соблюдении правил асептики проводят исследование. С этой целью биологические индикаторы извлекают из упаковки и добавляют (в т.ч. и в контрольные) по 1 мл цветной питательной среды с индикатором бромтимоловым синим, а в пробирки Эппендорфа - по 0,5 мл этой же среды. Посевы с индикаторами биологическими *Staphylococcus aureus* и *B.cereus* инкубируют в термостате при температуре 37±1 °С в течение 2 суток. Учет результатов проводят путем ежедневного визуального осмотра. При наличии

роста культуры цвет среды в присутствии индикатора меняется с синезеленого на желтый. В этом случае делают высев на плотные питательные среды - мясопептонный или желточно-солевой агары - для сопоставления выделенной культуры с контрольной.

В случае обнаружения роста хотя бы в одном из посевов индикатора биологического проводят повторный контроль работы камеры. При этом более тщательно проверяют ее техническое состояние, норму загрузки вещей, правильность их размещения в камере.

Контроль качества мероприятий по дезинфекции и стерилизации в ЛПО

Контроль качества дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации изделий медицинского назначения проводят ответственные лица в рамках производственного контроля, а также органы, уполномоченные осуществлять государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

Производственный контроль включает:

- наличие в организации официально изданных санитарно-эпидемиологических правил и нормативов;
- назначение лиц, ответственных за организацию и осуществление производственного контроля;
- организацию лабораторно-инструментальных исследований;
- контроль наличия в организации документов, подтверждающих безопасность и безвредность продукции, работ и услуг;
- визуальный контроль уполномоченными должностными лицами за выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, соблюдением санитарно-эпидемиологических правил, разработкой и реализацией мер, направленных на устранение выявленных нарушений.

Критериями оценки качества проведения дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в ЛПО являются:

- отрицательные результаты посевов проб со всех объектов внутрибольничной среды (в том числе контроль стерильности);
- показатели обсемененности воздуха, не превышающие установленные нормативы;
- отсутствие в помещениях ЛПО грызунов, подтвержденное с применением субъективной оценки и объективных методов обнаружения;
- отсутствие в помещениях ЛПО членистоногих, подтвержденное с применением субъективной оценки и объективных методов обнаружения.

7.2. Санитарно-микробиологическое исследование оборудования, рук и спецодежды персонала

Бактериальное загрязнение определяют путем изучения микрофлоры смывов, сделанных с рук и поверхностей исследуемых объектов.

В зависимости от целей исследования в смывах определяют:

- 1) общую бактериальную обсемененность с пересчетом на 1 см² исследуемой площади;
- 2) наличие БГКП;
- 3) наличие золотистого стафилококка, синегнойной палочки и других патогенных микробов.

Требования к микробиологической чистоте: присутствие БГКП, синегнойной палочки, протеев, стафилококка в смывах не допускается.

Отбор проб. С рабочих столов, оборудования, рук и спецодежды персонала пробы отбирают методом смыва стерильным ватным тампоном.

Взятие смывов производят стерильным ватным тампоном или марлевыми салфетками, размером 5x5 см, простерилизованными в бумажных пакетах или в чашках Петри. Для увлажнения тампонов и салфеток в стерильные пробирки наливают по 2 мл стерильного физиологического раствора. Салфетку захватывают стерильным пинцетом, увлажняют физиологическим раствором из пробирки, после протирания исследуемого объекта помещают в ту же пробирку.

При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета площадью примерно в 100-200 см².

Смывы с кожи операционного поля и рук хирургов производят стерильными марлевыми салфетками размером 5x5 см², смоченными в растворе нейтрализатора или в физиологическом растворе. Руки обследуемого протирают, начиная с тыльной части ладони, далее ладонь, межпальцевые поверхности, ногтевые ложа и подногтевые поверхности.

Для определения общего микробного числа в исследуемом смыве к 2 мл изотонического раствора хлорида натрия, используемого для увлажнения тампона (или салфетки), прибавляют еще 8 мл и тампон тщательно отмывают встряхиванием со стеклянными бусами в течение 10 мин. Отмывную жидкость (1:10) засевают глубинным способом по 0,5 мл на 2 чашки Петри с МПА. Посевы инкубируют при температуре 37°С в течение 48 часов. Затем подсчитывают количество выросших колоний, делая перерасчет на 1 см² исследуемой поверхности.

Для определения БГКП производят посев в среду обогащения, для чего тампон (марлевую салфетку) погружают в среду Кесслера или 10—20% желчный бульон. Через сутки инкубирования при 37°С делают пересев на среду Эндо. После инкубации в термостате при 37°С в течение 18—24 ч, подозрительные колонии микроскопируют, пересевают в среду Гисса с глюкозой и выдерживают при 43°С 24 ч. Затем производят учет результатов.

Для обнаружения стафилококков делают посев непосредственно с тампона на желточно-солевой агар. Кроме того, в качестве среды накопления используют бульон с 6,5% хлорида натрия и бульон с 1% глюкозы, разлитые по 0,5 мл в пробирки, куда засевают по 0,2—0,3 мл смывной жидкости. Посевы инкубируют при 37°С в течение 24 ч, а затем делают пересев на чашки с ЖСА. Дальнейшее исследование проводится по общепринятой методике обнаружения стафилококков.

Для выявления синегнойной палочки специальные посевы можно не производить. Обычно колонии синегнойной палочки удается выявить на кровяном агаре или на среде Эндо. Колонии, подозрительные на синегнойную палочку, пересевают на скошенный агар, содержащий 2-5% глицерина или маннита. Колонии синегнойной палочки дают на поверхности скошенного агара обильный рост с зеленоватым оттенком, маслянистой консистенции с характерным медовым запахом. Выделенную культуру окрашивают по Граму, микроскопируют, определяют гемолитические свойства путем высева на чашку с кровяным агаром.

7.3. Санитарно-бактериологическое исследование перевязочного, шовного и другого хирургического материала

Исследование перевязочного, шовного и другого хирургического материала проводят на стерильность. Контроль стерильности изделий проводят путем погружения в питательные среды. В исключительных случаях, когда необходимо проверить стерильность инструмента больших размеров, пробы забирают методом смыва, стерильной марлевой салфеткой размером 5x5 см², предварительно увлажненной стерильным физиологическим раствором или стерильной водопроводной водой.

Посевы исследуемого материала делают в боксе с соблюдением правил асептики. Кетгут предварительно выдерживают сутки в 10% растворе гипосульфита для нейтрализации спиртового раствора йода, в котором его обычно хранят, а затем еще сутки в стерильной дистиллированной воде. Шелк перед посевом сутки выдерживают в стерильной дистиллированной воде.

Исследуемый материал вносят в две пробирки с сахарным бульоном Хоттингера, в тиогликолевую среду и бульон Сабуро. Посевы в сахарном бульоне и тиогликолевой среде инкубируют при 37°C, а в среде Сабуро — при 20—22°C. Посевы выдерживают в термостате в течение 14 сут, просматривая их каждый день. При появлении роста микробов делают мазок,

окрашивают по Граму, микроскопируют. Дальнейший ход исследования зависит от вида микроорганизма.

Материал считается стерильным при отсутствии роста во всех пробирках.

7.4. Исследование на носительство золотистого стафилококка

Для выявления носителей золотистого стафилококка медицинский персонал ЛПУ, а также родильных домов, детских больниц, детских поликлиник, отделений патологии новорожденных, недоношенных обследуют при поступлении на работу и в дальнейшем - 1 раз в 6 месяцев.

Забор материала из передних отделов носа осуществляют одним стерильным ватным тампоном из обеих половин носа. Сбор материала из зева проводят с поверхности миндалин стерильным ватным тампоном, либо путем смыва. В последнем случае обследуемый полощет горло 5,0 мл стерильного физиологического раствора. Смыв собирают в стерильную колбу (желательно с бусами), закрывают пробкой и встряхивают в течение 10-15 минут до получения однородной суспензии. При этом обязательным условием является взятие материала натощак (не ранее, чем через 2-3 часа после приема пищи). Посев исследуемого материала на питательные среды должен проводиться не позже, чем через 2 часа после его забора.

Посев на желточно-солевой или желточно-молочно-солевой агар проводят тампоном, которым забирали материал. Тампон следует многократно поворачивать, чтобы перенести на питательную среду максимальное количество взятого материала. В другом варианте: взятый тампоном материал помещают в пробирку с 0,5 мл стерильного физиологического раствора. Тампон ополаскивают в жидкости встряхиванием пробирки в течение 10 минут, затем отжимают о внутренние стенки пробирки и удаляют. Жидкость многократно перемешивают

пипеткой. Отдельной пипеткой на чашку с ЖСА наносят 0,1 мл исследуемого смыва и тщательно растирают шпателем.

При посеве смыва из зева на питательную среду наносят 0,1 мл жидкости и растирают по поверхности среды шпателем.

Чашки инкубируют 2 суток при температуре 37°C, после чего подсчитывают общее число выросших колоний и отдельно колоний различной морфологии. Особое внимание обращают на колонии, обладающие лецитиназной активностью. Делают пересчет на объем жидкости, используемой для смыва, или на один тампон.

Массивность обсеменения, выражающаяся показателем 10^2 микробных клеток, снимаемых на тампон, является показателем умеренной обсемененности верхних дыхательных путей. При таком обсеменении выделение возбудителя во внешнюю среду, как правило, не имеет места. Если показатель 10^3 и более микробных клеток, снимаемых на тампон, то обсемененность высокая. При таком обсеменении происходит выделение возбудителя во внешнюю среду как при различных экспираторных актах, так и при спокойном дыхании. Повторное выделение микроорганизмов в высокой концентрации (10^3 КОЕ и более) свидетельствует о микробоносительстве. Для санации микробоносители проходят специальные процедуры с применением антимикробных воздействий.

8. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов

8.1. Микрофлора пищевых продуктов

Пищевые продукты могут содержать разнообразную микрофлору. Естественная и безвредная микрофлора пищевых продуктов представляет собой сложный биоценоз, который служит биологической защитой от нежелательных микроорганизмов. Вместе с тем отдельные виды микроорганизмов могут оказывать влияние на качество пищевых продуктов. При нарушении обработки, хранения или реализации продуктов эти

микроорганизмы могут, размножившись до значительного уровня, привести к порче продукта и пищевому отравлению.

Микрофлора пищевых продуктов подразделяется на специфическую и неспецифическую.

Специфическая микрофлора пищевых продуктов представлена микроорганизмами, которые используются для приготовления продуктов, формирующие продукт или специально добавляемые в него для придания определенных вкусовых и питательных качеств. Они являются обязательным звеном в технологии приготовления продуктов. Специфические микроорганизмы используют в приготовлении всех кисломолочных продуктов, хлеба, пива, вина, в квашении овощей и т.д. Контроль над чистотой этих культур и их сохранением осуществляют микробиологи лабораторий соответствующих предприятий пищевой промышленности. Санитарный микробиолог должен знать специфическую микрофлору для того, чтобы уметь отличить её от неспецифической, загрязняющей продукты.

Неспецифическая микрофлора пищевых продуктов – это микроорганизмы, случайно попадающие на пищевые продукты из окружающей среды. Её составляют сапрофиты, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также виды, вызывающие порчу пищевых продуктов. Степень загрязнённости посторонней микрофлорой зависит от многих факторов: правильности заготовки самого пищевого продукта, его транспортировки, хранения, технологии последующей обработки и, на всех этапах, от соблюдения санитарного режима. Особую опасность представляет инфицирование пищевых продуктов патогенными микроорганизмами, многие из которых способны не только длительно сохранять жизнеспособность в продуктах, но и интенсивно размножаться в них.

8.2. Исследование пищевых продуктов

Пищевые продукты являются благоприятной средой для сохранения и размножения многих патогенных микроорганизмов благодаря наличию различных ростовых факторов, витаминов и др. Пищевые продукты обычно

невозможно полностью освободить от присутствия микроорганизмов без риска изменения их вкусовых качеств. Через пищевые продукты могут передаваться возбудители многих инфекционных болезней — брюшного тифа и паратифов, сальмонеллёзов, дизентерии, эшерихиозов, ботулизма, холеры, бруцеллёза, сибирской язвы и вирусных инфекций (ящур, полиомиелит и др.). Пищевые токсикоинфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, возникают после употребления в пищу зараженных пищевых продуктов. Обсеменение их микробами может происходить на всех этапах заготовки, хранения и приготовления.

Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов проводят с целью:

1. Контроля качества сырья, используемого в производстве пищевых продуктов и оценка санитарно-гигиенических условий их изготовления;
2. Контроля режимов хранения пищевых продуктов и оценки санитарно-гигиенических условий их транспортировки и реализации;
3. Контроля над обеспечением эпидемической безопасности пищевых продуктов.

Гигиенический контроль пищевых продуктов предусматривает их оценку по следующим показателям:

- величине общей микробной обсемененности (мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФАМ));
- наличию санитарно-показательных микроорганизмов: БГКП, энтерококков;
- присутствию условно-патогенных бактерий (кишечной палочки, золотистого стафилококка, *Bacillus cereus*, бактерий рода *Proteus*, клостридий, *Vibrio parahaemolyticus*);
- наличию патогенных микроорганизмов (сальмонелл, *Listeria monocytogenes*, бактерий рода *Yersinia* и др.);
- присутствию специфических возбудителей микробной порчи продукта (дрожжи, плесневые грибы, молочнокислые микроорганизмы);

- количеству микроорганизмов заквасочной микрофлоры и пробиотических микроорганизмов (молочнокислые, пропионовокислые микроорганизмы, дрожжи, бифидобактерии, ацидофильные бактерии и др.) – для продуктов с нормируемым уровнем биотехнологической микрофлоры и в пробиотических продуктах.

В пищевых продуктах не допускается наличие патогенных микроорганизмов и возбудителей паразитарных заболеваний, их токсинов, вызывающих инфекционные и паразитарные болезни или представляющих опасность для здоровья человека и животных. Для различных групп пищевого сырья и продуктов питания действуют соответствующие стандарты (ГОСТы) и критерии санитарного благополучия, а в случае их отсутствия придерживаются гигиенических требований к качеству. Обычно при этом нормируется масса (вес) продукта, в котором не допускается присутствие БГКП, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, а также указывается допустимое микробное число продукта, в КОЕ/г(мл).

Основными показателями качества продуктов являются ОМЧ и наличие патогенных микроорганизмов. Обнаружение последних ввиду трудоемкости проводят лишь при первичной обработке мяса и анализе мясных продуктов, молока (не всегда), а также при контроле консервного производства.

Отбор проб для исследования проводят в соответствии с ГОСТ Р 54004-2010 «Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний» с учетом требований нормативно-технической документации на конкретный вид продукта.

Объем выборки (количество выборочных единиц) для определения микробиологических показателей безопасности зависит: от степени опасности выявляемых микроорганизмов (при выявлении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов количество отбираемых проб увеличивается); от восприимчивости к инфекции потребителя, для которого

предназначен пищевой продукт (для продуктов детского и диетического питания количество отбираемых проб увеличивается).

Перед отбором проб визуально оценивают внешний вид упаковки и (или) продукта. Лабораторные пробы продуктов для микробиологических испытаний отбирают до отбора проб для физико-химических и органолептических испытаний. Пробы продуктов для микробиологических испытаний отбирают в стерильную посуду, горло которой предварительно обжигают в пламени горелки, или в стерильную пластиковую посуду, в стерильные полиэтиленовые пакеты, в стерильную фольгу. Пробы отбирают с помощью стерильных инструментов. Масса (объем) лабораторной пробы продукта устанавливается в соответствии с нормативно-технической документацией на конкретный вид продукции и должна быть достаточной для проведения микробиологических испытаний. Лабораторные пробы формируют из отбираемых мгновенных проб.

Отбор проб от кусковой продукции.

От кусковой продукции массой нетто не более 1000 г отбирают суммарные пробы путем взятия мгновенных проб из разных мест и с различной глубины, а также с поверхностных слоев, соприкасающихся с тарой, в одну посуду или каждую пробу, отобранную из разных мест, в отдельную посуду в зависимости от цели испытания. Пробы отбирают ложкой, половником, пинцетом или другим инструментом, в зависимости от вида и размера кусков продукта.

От кусковой продукции массой 1000 г и более пробы отбирают одним из следующих методов:

- отрезают или вырезают часть продукта ножом, пилой или другим инструментом. У изделий квадратной формы разрез делают перпендикулярно к грани, у изделий продольной формы - перпендикулярно продольной оси, у шарообразных изделий - клинообразно.

- продукт в нескольких местах режут ножом, отбирают скальпелем продукт с поверхности разреза и из глубины;
- срезают поверхностный слой продукта толщиной от 0,5 до 1 см ножом или проволокой, отбирают продукт, находящийся под срезанным слоем, при помощи скальпеля или прободоотборника (буравчика или зонда). При отборе пробы из глубины продукта специальным прободоотборником просверливают продукт в разных местах не менее чем до половины высоты куска. Часть продукта, попавшая в прободоотборник, является мгновенной пробой;
- от твердого или хрупкого продукта пробы отбирают при помощи долота или другого инструмента.

Отбор мгновенных проб повторяют до тех пор, пока не отберут массу (объем) продукта, необходимую для формирования лабораторной пробы, при этом массу (объем) мгновенных проб допускается не устанавливать.

Отбор проб от жидкой или пастообразной продукции

Из емкости вместимостью не более 1000 см³ пробу отбирают пипеткой или металлическим половником. Если продукт неоднороден по высоте емкости, то содержимое ее перед отбором пробы тщательно перемешивают.

Из емкости вместимостью 1000 см³ и более пробу отбирают с различной глубины не менее чем из трех слоев продукта в одну посуду или каждую пробу в отдельную посуду, в зависимости от цели испытания.

При отборе проб из резервуара, оснащенного краном, кран сначала промывают, вытирают ватой, пропитанной этиловым спиртом, и обжигают в пламени. Предварительно выпускают от 0,1 до 1 дм³ жидкости (в зависимости от вместимости резервуара и размера диаметра крана) и только после этого отбирают пробы в посуду таким образом, чтобы жидкий (пастообразный) продукт попадал непосредственно в посуду.

Отбор проб от сыпучих продуктов

Пробу от сыпучего продукта отбирают после его тщательного перемешивания мешалкой или половником. Пробу от продукта, который не

может быть перемешан, отбирают путем взятия мгновенных проб из разных мест и с различной глубины, а также с поверхностных слоев, соприкасающихся с тарой, в одну посуду или каждую пробу, отобранную из разных мест, в отдельную посуду в зависимости от цели испытания.

Отбор проб от продукции смешанной консистенции

Пробы отбирают таким образом, чтобы в них входили все компоненты в соотношении, в котором они находятся в продукте. Допускается в зависимости от особенностей анализируемого продукта, цели испытания и предполагаемой микробальной загрязненности отбирать пробы от каждого компонента отдельно.

Транспортирование и хранение. Каждую отобранную лабораторную пробу маркируют этикетками с указанием наименования продукта, предприятия-изготовителя, номера партии, даты отбора проб (с указанием часа отбора проб), цели микробиологического испытания.

Пробы замороженных продуктов упаковывают определенным способом, обеспечивающим сохранение проб в замороженном состоянии при температуре, не превышающей -15°C (термос, изотермическая коробка, обкладка сухим льдом). Пробы скоропортящихся продуктов транспортируют при температуре $+5^{\circ}\text{C}$ не более 6 ч. Пробы консервов и продуктов транспортируют в соответствии с условиями транспортирования продукции, установленными в нормативно-технической документации на конкретный вид продукции.

Методика исследования. Перед проведением исследования пробы гомогенизируют и готовят их серийные разведения (1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 и т. д.). Для получения гомогенных суспензий исследуемого материала иногда используют изотонический раствор хлорида натрия с добавлением твина-80 или 0,1%-ю пептонную воду.

Определение общей микробной обсемененности. ОМЧ определяют у тех продуктов и блюд, которые не должны содержать специфических микроорганизмов. Методики исследования жидких и плотных продуктов

такие же, как для воды и почвы соответственно, но посеы инкубируют при 30°C в течение 72 ч.

Определение БГКП проводят бродильным методом, который описан выше.

Определение *Staphylococcus aureus*. Определенное количество исследуемого материала засевают в солевой бульон для накопления стафилококков, инкубируют при 37°C в течение 24 ч. При помутнении среды делают высевы на желточно-солевой агар для получения изолированных колоний, которые затем идентифицируют по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, наличию плазмокоагулазы.

Определение других условно-патогенных и патогенных микроорганизмов проводят с использованием соответствующих накопительных и дифференциально-диагностических сред.

8.3. Санитарно микробиологическое исследование молока и молочных продуктов

Молоко и молочные продукты могут содержать различные микроорганизмы. При изготовлении кисломолочных продуктов в молоко после пастеризации добавляют закваску, которая характеризует специфическую микрофлору данного продукта. Неспецифическую микрофлору молока составляют гнилостные микробы, аэробные и анаэробные бациллы, плесени и многие другие. Обсеменение молока микробами происходит уже в процессе дойки, и интенсивность его зависит от соблюдения санитарно-гигиенических условий при получении молока. Плохие условия хранения молока способствуют нарастанию в нем микрофлоры. Патогенные микроорганизмы могут попадать в молоко в процессе его получения и транспортировки из окружающей среды или могут содержаться в молоке больных животных (стафилококки, бруцеллы, микобактерии туберкулеза). Через молоко и молочные продукты могут передаваться возбудители различных заболеваний.

При санитарно-микробиологическом исследовании молока и других молочных продуктов производят определение:

- 1) общего количества бактерий (КМАФАнМ);
 - 2) количества БГКП;
 - 3) *S. aureus*;
 - 4) патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы;
 - 5) для некоторых видов молочных продуктов - *L. monocytogenes*, плесневые грибы и дрожжи;
- б) по эпидемическим показаниям проводят бактериологическое исследование для выявления возбудителя заболевания, возникновение которого связывают с употреблением данного продукта.

Качество молока и молочных продуктов определяется в соответствии с показателями СанПиН 2.3.2.1078-01 (табл. 13).

Таблица 13. Санитарно-микробиологические нормативы для молока и некоторых видов молочной продукции.

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г), не более	Масса продукта (г, см ³), в которой не допускаются			
		БГКП	Патогенные, в том числе сальмонеллы	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Молоко сырое: высший сорт	3×10^5		25		
первый сорт	5×10^5		25		
второй сорт	4×10^6		25		
Молоко, сыворотка молочная, пахта пастеризованные (в потребительской таре)	1×10^5	0,01	25	1	25
Сливки пастеризованные:	1×10^5	0,01	25	1	25

(в потребительской таре)					
Жидкие кисломолочные продукты, в т.ч. йогурт, со сроками годности не более 72 час.		0,01	25	1,0	
Молоко сгущенное с сахаром (в потребительской таре)	2×10^4	1,0	25		
Молоко коровье сухое цельное	5×10^4	0,1	25	1,0	
Сыры (твердые, полутвердые, рассольные, мягкие)		0,001	25	не более 500 КОЕ/г	25
Мороженое закаленное	1×10^5	0,01	25	1,0	25

Отбор проб. Перед вскрытием тары с продукцией крышки фляг, бочек, банок и т. д. очищают от загрязнений, промывают и протирают. В первую очередь проводят отбор проб для микробиологических анализов.

Отбор точечных проб жидких, вязких и сгущенных продуктов проводят кружкой или черпаком вместимостью 0,1; 0,25; 0,5 дм³ (л) с жесткой ручкой длиной от 50 до 100 см. Отбор точечных проб полутвердых, твердых и сыпучих продуктов проводят шпателями, ножами или специальными шупами. При составлении объединенной пробы молока и молочных продуктов число точечных проб от каждой единицы тары с продукцией, включенной в выборку, должно быть одинаковым.

Пробы отбирают в стерильную посуду, закрывают ее корковыми, пластмассовыми или обернутыми фольгой резиновыми пробками или крышками. Допускается отбирать пробы масла, сыра, сухих молочных продуктов в пергамент.

Пробы молока и молочных продуктов должны доставляться в лаборатории сразу после их отбора. До начала анализа пробы молока и молочных продуктов следует хранить при температуре от 2 до 8°C. пробы мороженого — при температуре не выше -2°C. Анализ проб продуктов проводят сразу после доставки их в лабораторию, но не позднее, чем через 4 ч после их отбора.

Подготовка проб к исследованию.

Подготовку проб к анализу в зависимости от вида молочной продукции проводят согласно ГОСТ 9225-84.

Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта. Из проб молока, сливок, сметаны, кисломолочных продуктов, мороженого, масла отбирают стерильной пипеткой 10 см³ и вносят в 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера. Масло и мороженое вносят в растворы, подогретые до 40-45°C. К приготовленным навескам по 10 г творога, творожных изделий; сгущенных молочных консервов и сухих молочных продуктов добавляют 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера, подогретых до 40—45°C и взбалтывают в течение 3—5 мин до возможно более полного эмульгирования. К навеске сыра 10 г постепенно добавляют 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или лимонно-кислого натрия или фосфатного буфера, подогретых до 40—45°C, и тщательно перемешивают до полного эмульгирования. Получают разведение 1:10. Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т. д.

При посеве на чашки Петри посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этом случае пользуются одной пипеткой.

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАМ)

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с табл. 14.

Таблица 14. Количество продукта, используемого для посева на питательные среды.

Наименование продукта	Засеваемые объемы или масса, см ³ или г		
	Молоко и сливки сырые	0.0001	0.00001
Масло	0,01	0,001	0,0001
Молоко и сливки пастеризованные	0,1	0.01	0,001
Молоко или сливки сгущенные с сахаром	0.1	0.01	0,001
Молоко сухое	0,01	0,001	
Мороженое	0,1	0.01	
Плавленный сыр	0,1	0.01	0,001
Лактоза	0.1	0,01	

Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в табл. 10. Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 см³ в одну чашку Петри с расплавленным и охлажденной до температуры 40—45°C питательным агаром. Допускается посев исследуемого продукта на чашки Петри из одного и того же разведения в количестве 1 и 0,1 см³. Сразу после посева содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри инкубируют при температуре 30°C 72 часа.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке.

КМАФАМ в 1 см³ или 1 г продукта в единицах вычисляют по формуле:

$$X = n * 10^m,$$

где n — количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m — число десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое, полученное по всем чашкам.

Определение БГКП

В среду Кесслер производят посев в количествах, указанных в табл. 15.

Таблица 15. Количество продукта, необходимого для определения БГКП.

Наименование продукта	Засеваемые объемы или масса, см ³ или г	Количество пробирок или колбочек со средой, засеваемых из каждого разведения
Молоко и сливки сырые	От 0,1 до 0,00001	1
Масло	1; 0,1; 0,01	1
Молоко и сливки пастеризованные	1; 0,1; 0,01	1
Молоко или сливки сгущенные с сахаром	1 или 0,1	1
Молоко сухое	0,1	1
Мороженое	0,1	1
Сыр зрелый	От 0,1 до 0,001	1

По 1 см³ соответствующих разведений продукта засевают в пробирки с 5 см³ среды Кесслер. Пробирки с посевами помешают в термостат при 37°C на 18—24 ч. При исследовании мороженого пробирки с посевом выдерживают в термостате в течение 48 ч.

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов после инкубации дают заключение об отсутствии в нем БГКП. При наличии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов считается, что БГКП обнаружены в нем.

Определение специфической микрофлоры кисломолочных продуктов.

Так как кисломолочные продукты готовят с использованием микробных заквасок, то они должны содержать определенный набор микроорганизмов. Для определения микрофлоры используют метод микроскопирования. Метод основан на просмотре под микроскопом

препаратов, окрашенных метиленовым голубым, для ориентировочной характеристики микрофлоры кисломолочных продуктов.

Для приготовления препарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю исследуемого материала и распределяют на площади около 1 см². При исследовании творога и творожных изделий на стекло наносят каплю воды, вводят в нее петлей продукт, тщательно перемешивают и растирают на площади 1 см². Препарат высушивают, фиксируют на пламени горелки, окрашивают метиленовым голубым и микроскопируют.

Список литературы.

1. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2001. – 736 с.
2. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология: Учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А.А.Воробьев, Ю. С. Кривошей, В.П. Ширококов. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 464 с.
3. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. вузов. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 591 с.
4. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / под ред. В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 768 с.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. В.В. Теца. – М.: Медицина, 2002. – 352 с.
6. ГОСТ 17.1.5.02-80 Охрана природы. Гидросфера. Гигиенические требования к зонам рекреации водных объектов
7. ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа
8. ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа
9. ГОСТ 25102-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных бактерий
10. ГОСТ 26809-86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу
11. ГОСТ Р 51921-2002 Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*
12. ГОСТ Р 53415-2009 Вода. Отбор проб для микробиологического анализа

13. ГОСТ Р 54004-2010 Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний.
14. Инструкция по бактериологическому контролю комплекса санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях (отделениях хирургического профиля, в палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии)
15. Методические указания по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов №15/6-5 от 28.02.91.
16. МУ 2.1.5.800-99 Организация госсанэпиднадзора за обеззараживанием сточных вод
17. МУК 4.2.1035-01 Контроль дезинфекционных камер
18. МУК 4.2.1018-01 Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды
19. ПРИКАЗ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 12 апреля 2011 г. N 302н (в ред. Приказа Минздрава России от 15.05.2013 N 296н) Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда.
20. СанПиН 2.1.2.1188-03 Плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества
21. СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества
22. СанПиН 2.1.4.1175-02 Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников

23. СанПиН 2.1.5.980-00 Гигиенические требования к охране поверхностных вод
24. СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов
25. СанПиН 2.1.5.980-00 Гигиенические требования к охране поверхностных вод
26. СанПиН 2.1.3.2630-10 “Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность”