

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«МУРМАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «МГТУ»)

«ММРК имени И.И. Месяцева» ФГБОУ ВО «МГТУ»

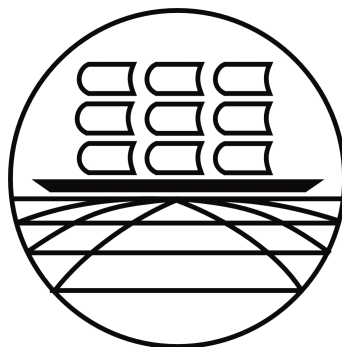
УТВЕРЖДАЮ
Начальник ММРК им. И.И. Месяцева
ФГБОУ ВО «МГТУ»



И.В. Артеменко

(подпись)

«31» августа 2019 г.



МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКИМ РАБОТАМ

Учебной дисциплины: ОП. 03 Микробиология, санитария и гигиена
программы подготовки специалистов среднего звена (ППССЗ)
специальности: 35.02.09 Ихтиология и рыбоводство
по программе базовой подготовки
форма обучения: очная

Мурманск
2019

Рассмотрено и одобрено на заседании

Методической комиссии преподавателей дисциплин профессионального
цикла специальностей отделения Промышленное рыболовство

Председатель МК

В.А. Обносков

Протокол от «29» мая 2019 г.

Автор (составитель): Литвинова М.Ю. доцент кафедры микробиологии и биохимии
ФГБОУ ВО «МГТУ», кандидат биологических наук

Содержание

1	Практическая работа 1 Определение общего числа микроорганизмов в исследуемой пробе воды.	4
2	Практическая работа 2 Пищевые отравления и гельминтозы	6
3	Практическая работа 3 Пищевые инфекции	9
4	Практическая работа 4 Лабораторные методы определения свежести гидробионтов	11
5	Практическая работа 5 Дезинфекция и стерилизация	13
6	Практическая работа 6 Определение активного хлора в дезинфицирующих средствах	17

Практическая работа 1

Определение общего числа микроорганизмов в исследуемой пробе воды

Цель работы: определить общее микробное число в водоёме, расположенном в рекреационной зоне города с помощью метода мембранных фильтров и глубинного метода посева.

В связи с тем, что определение патогенных бактерий при биологическом анализе воды представляет собой непростую и трудоёмкую задачу, в качестве критерия бактериологической загрязнённости используют подсчет общего числа образующих колонии бактерий в 1 мл воды. Полученное значение называют общим микробным числом.

Выявление микроорганизмов и их учет можно произвести путем высева проб в простые жидкие и агаризованные питательные среды. Для учета некоторых гетеротрофных* сапротрофных** бактерий используют рыбопептонный агар (РПА). Обычно число сапротрофных микроорганизмов, выращенных на РПА, соответствует степени загрязнённости воды органическими веществами и косвенно характеризует ее санитарное состояние. Для выделения бактерий и подсчета общего микробного числа в основном используют метод фильтрации через мембрану (рис.1) и глубинным посевом.

Принцип метода заключается в том, что пробы воды (объем зависит от типа водоема и степени его эвтрофикации) фильтруют через мембранные фильтры. Затем фильтры стерильно раскладывают на поверхность агаризованной среды для проращивания осевших на них микроорганизмов. После инкубации подсчитывают количество колоний, выросших на поверхности мембранных фильтров.

Задание:

- нарисовать схему посева для глубинного метода посева;
- определить общее микробное число в водоёме методом мембранных фильтров;
- определить общее микробное число в водоёме глубинным методом посева;
- сделать вывод о качестве воды природного водоема.

Материалы и оборудование: стерильные чашки Петри, стерильные мембранные фильтры; фильтровальный прибор; водоструйный насос; рыбопептонный агар (РПА); стерильный пинцет; 70%-й спирт; спиртовка; термостат; стерильные колбы.

Методика проведения работы

Пробы воды для микробиологического исследования отбирают с соблюдением правил стерильности в стерильную стеклянную посуду с притертыми или ватно-марлевыми пробками. В стоячих водоемах пробы отбирают с помощью батометров, погруженных на уровень 10-15 см от дна,

в проточных водоемах - около берега и в центре течения. При плановом санитарном контроле отбирают не менее 500 мл воды. Микробиологическое исследование выполняют не позднее 2 ч с момента взятия пробы (либо при условии хранения при температурах 1-5 °С не более 6 ч).

Фильтры стерилизуют кипячением в дистиллированной воде по 1-5 мин. Фильтры с дефектами отбрасывают.

Сделать серию последовательных разведений (10^2 - 10^6) воды из водоема (в зависимости от предполагаемой степени загрязнения). По 10 мл воды из каждого разведения пропустить через мембранные фильтры, наложенные на предварительно профламбированную поверхность фильтровального прибора, используя водоструйный насос. В результате на поверхности мембраны остаются все находящиеся в воде

бактерии (рис.1). Каждую пробу анализировать в 2-кратной повторности. Разлить по 20 мл РПА в чашки Петри.

Мембранные фильтры с бактериями стерильным пинцетом поместить фильтратом на поверхность питательной среды в чашки Петри на 24 ч. Чашки перевернуть и инкубировать при температуре 30-37 °С в термостате.

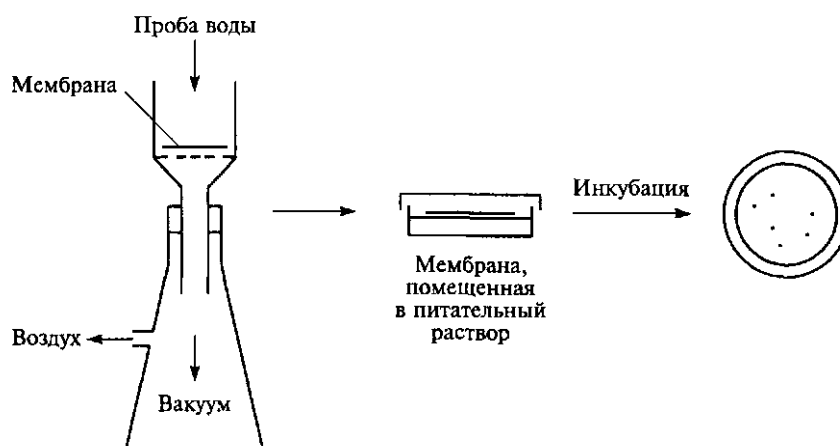


Рис.1. Схема учёта микроорганизмов методом мембранных фильтров

По истечении времени инкубации подсчитать количество колоний микроорганизмов на поверхности питательного агара, которые можно наблюдать на чашках Петри. Подсчет следует провести на всех параллельных чашках и найти среднее значение.

Численность клеток гетеротрофных микроорганизмов в 1 мл воды рассчитать по формуле $A = \frac{NR}{w}$, где N - число колоний на чашке, кл; R - разведение, из которого произведен посев; 10 - пересчет на 1 мл.

Посев можно провести глубинным методом. Для этого по 1 мл исследуемой воды из разведений 10^2 - 10^6 внести в чашки Петри, залить сверху расплавленным и охлажденным до 45-50°C РПА, круговыми движениями по столу размешать посев. Дать застыть, перевернуть чашку и инкубировать в термостате 24 ч при 30-37°C. Подсчет общего микробного числа сделать с учетом разведений.

После подсчета всех колоний на чашке их можно сгруппировать по культуральным признакам, сделать мазки, прокрасить по Граму для оценки морфологических характеристик и определить микроорганизмы до рода (или до вида).

Таблица 1

Классы качества воды природных водоемов по бактериальным показателям

Показатель	Классы качества воды				
	предельно чистая	чистая	удовлетворительно чистая	загрязненная	грязная
Численность бактерий планктона, млн кл/мл	<0,3	0,3-1,5	1,6-5,0	5,1-11,0	> 11,0
Численность гетеротрофных бактерий, тыс. кл/мл	<0,1	0,1-1,0	1,1-5,0	5,1-10,0	> 10,0
Численность	< 0,003	0,003-2,0	2,1-10,0	11,0-100	> 100

бактерий группы кишечной палочки, тыс. кл/мл					
--	--	--	--	--	--

Высокое микробное число свидетельствует об общей бактериологической загрязненности воды и высокой вероятности наличия патогенных организмов (табл.1). По табл. 1 определить, к какому классу качества относится вода из тестируемого водоема, находящегося в рекреационной зоне города. Полученные результаты записать в тетради и сделать вывод.

Контрольные вопросы

1. Раскройте понятия «гетеротрофные организмы» и «сапротрофы».
2. Что называют общим микробным числом?
3. О чём свидетельствует высокое микробное число?
4. В чём сущность метода мембранных фильтров?
5. Расскажите о глубинном методе посева в плотные среды.
6. Сравните полученные результаты, полученные с помощью метода мембранных фильтров и глубинного метода посева. Какой из методов, по вашему мнению, лучше? Почему?

Практическая работа 2

Пищевые отравления и гельминтозы

Цель: ознакомить обучающихся с причинами пищевых отравлений и объяснить опасность самолечения пищевых отравлений;

Пищевые отравления - это незаразные заболевания, возникающие после употребления пищевых продуктов, массивно обсемененных определенными видами микроорганизмов или содержащих токсические вещества микробной и немикробной природы.

Пищевые отравления наиболее обширный тип пищевых заболеваний. При употреблении продуктов, массивно обсемененных микроорганизмами или содержащих их продукты жизнедеятельности (токсины), возможны как массовые вспышки пищевых отравлений, так и единичные случаи.

Классификация пищевых отравлений. Пищевые отравления по этиологии подразделяются на микробные, немикробные и неустановленной этиологии.

1. Микробные пищевые отравления делятся на 3 вида:

1. Токсикоинфекции - пищевые отравления, возникающие при употреблении пищи, содержащей массивные количества живых клеток специфического возбудителя и их эндотоксинов, высвобождающихся после гибели возбудителя и разрушении клетки.
 2. Токсикоинфекции вызывают условно-патогенные микроорганизмы - E.coli, бактерии рода Proteus, Bac.cereus, Cl.perfringens, Vibrio parahaemolyticus и др.
 3. Токсикозы (интоксикации) - пищевые отравления, возникающие при употреблении пищи, содержащей токсины, накопившиеся в результате размножения специфического возбудителя. При этом живые клетки самого возбудителя могут отсутствовать или обнаруживаться в небольших количествах. Токсикозы подразделяются на 2 группы:
 - бактериальные токсикозы - стафилококковый токсикоз и ботулизм;
 - микотоксикозы - вызванные микотоксинами плесневых грибов
- Миксты** - пищевые отравления смешанной причины - малоизученные комбинации условно-патогенных микроорганизмов друг с другом и пр.

2. Немикробные пищевые отравления - включают три подгруппы: отравление продуктами, ядовитыми по своей природе; отравление продуктами, ядовитыми при определенных условиях; отравление примесями химических веществ (тяжелые металлы, пестициды, нитраты, диоксины, ПАУ и другие контаминанты).

3. Пищевые отравления неустановленной этиологии - алиментарная пароксизмально-токсическая миоглобинурия (Гаффская, Юковская, Сартландская болезнь), причиной которых является озерная рыба некоторых районов мира в отдельные годы.

Пищевые отравления обычно являются следствием санитарных и технологических нарушений при изготовлении, хранении и реализации пищевых продуктов, приводящих к инфицированию и размножению в них возбудителей заболеваний.

К факторам, способствующим возникновению пищевых отравлений микробной природы относят:

- ✓ наличие источника инфекции - им может быть человек (больной или здоровый) и животные;
- ✓ наличие условий обсеменения сырья и готовых продуктов;
- ✓ готовые продукты, в отличие от сырых, чаще служат причиной пищевых отравлений вследствие снижения в них уровня микробов-антагонистов;
- ✓ высокая степень исходного обсеменения сырья микроорганизмами;
- ✓ недостаточная эффективность тепловой обработки пищевых продуктов;
- ✓ нарушение температуры, сроков хранения и реализации пищевых продуктов.

Задания:

1. Письменно ответьте на вопросы:

1. Что такое пищевые отравления и вследствие чего они возникают у человека?
2. Каковы санитарные правила обработки проросшего картофеля?
3. В каких случаях возникает отравление цинком и медью?

2. Заполните недостающие звенья и поставьте стрелки в схеме пищевых отравлений

ПИЩЕВЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ	МИКОТОКСИКОЗЫ (МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ)	1. Продуктами, ядовитыми по своей природе
	ТОКСИКОЗЫ	
Отравление условно-патогенными грибами	1. Ботулизм 2.	1. 2.

		3. Афлотоксикоз
--	--	-----------------

3. Используя учебный материал, заполните таблицу:

Пищевое отравление	Возбудитель	Признаки заболевания	Причины возникновения
Ботулизм			
Эрготизм			
Стафилококковое отравление			

4. Используя учебный материал, заполните таблицу:

Отравление продуктами ядовитыми по своей природе	
Растительного происхождения	
Животного происхождения	
Отравление продуктами ядовитыми при определенных условиях	
Растительного происхождения	
Животного происхождения	
Отравления примесями токсических веществ	

5. Используя учебный материал, заполните таблицу:

Микотоксины	Основные продуценты	Источники микотоксинов	Заболевание, синдром
Афлатоксины			
Трихотеценовые микотоксины			
Патулин			
Охратоксин А			
Эргоалкалоиды			

6. Используя учебный материал, заполните таблицу:

Съедобные грибы		Несъедобные грибы	
Безусловно съедобные	Условно съедобные	Ядовитые	

7. Письменно ответьте на вопросы:

- ✓ Что собой представляют глисты?
- ✓ Назовите стадии развития гельминтов
- ✓ Какие органы могут поражаться глистами?
- ✓ Как называются гельминты, которые поражают органы человека?
- ✓ Как происходит заражение человека гельминтами?
- ✓ Какие меры профилактики глистных заболеваний необходимо выполнять на рабочем месте предприятия общественного питания?

8. Используя учебный материал, заполните таблицу:

Виды гельминтов	Размер и форма	Паразитирует в органах	Человек заражается через
<i>Круглые гельминты</i>			
1. Аскариды			
2. Трихинеллы			
<i>Ленточные гельминты</i>			
3. Цепень бычий или свиной (солитёр)			
4. Широкий лентец			
5. Эхинококк			
6. Описторхисы (кошачья двуустка)			

Практическая работа 3

Пищевые инфекции

Цель: ознакомить обучающихся с причинами кишечных инфекций и объяснить опасность самолечения;

1. Письменно ответьте на вопросы:

- ✓ Почему острые кишечные инфекции называют болезнями «грязных рук»?
- ✓ Пищевые инфекционные заболевания подразделяются на:

2. Используя учебный материал, заполните таблицу:

	Название инфекционных заболеваний	Возбудитель	Пути заражения	Меры предупреждения
1	дизентерия			
2	брюшной тиф			
3	холера			
4	сальмонеллёз			
5	бруцеллёз			
6	туберкулёз			

7	сибирская язва			
8	ящур			
9	Гепатит А			

1. Споры *Cl.botulini* погибают при температуре:

А – 60⁰С через 30 минут

Б - 60⁰С мгновенно

В - 120⁰С через час

Г - 120⁰С мгновенно

Д - 120⁰С через 20 минут

2. Максимальная длительность инкубационного периода при пищевых токсикоинфекциях:

А – 12-24 часа

Б – 2-3 дня

В – 4-5 дней

Г – 6-7 дней

Д – 7-10 дней

3. Шигеллезы относятся к

А – антропонозам

Б – зоонозам

В – сапронозам

Г – зооантропонозам

4. Основные продукты питания, с которыми чаще всего связаны пищевые отравления стафилококковой этиологии:

А – рыба домашнего посола

Б – хлебобулочные изделия

В – гусиные яйца

Г – кондитерские изделия с кремом

Д – компоты домашнего приготовления из косточковых плодов

5. Гельминтозы, передающиеся человеку при употреблении в пищу мяса:

1 – тениидоз

2 – описторхоз

3 – аскаридоз

4 – энтеробиоз

5 – трихинеллез

6 – дифиллоботриоз

7 – эхинококкоз

6. Заболевания животных, которые могут передаваться человеку с молоком:

1 – бруцеллез

2 – ботулизм

3 – сальмонеллез

4 – туберкулез

5 – эхинококкоз

6 – трихинеллез

7. Пищевые отравления микробной природы

1. токсикоинфекции

2. отравления продуктами, приобретшими ядовитые свойства

3. алиментарно-токсическая алейкия

4. ботулизм
5. отравления грибами

8. Возникновение стафилококковой интоксикации связано с употреблением

1. продуктов домашнего консервирования
2. молока и молочных продуктов
3. мясного фарша
4. зерновых продуктов
5. кондитерских изделий с кремом

9. Образование ботулотоксина задерживают

1. низкие температуры
2. анаэробные условия
3. высокие температуры
4. среды, содержащие более 11% хлористого натрия
5. среды с рН в пределах 4,5

Практическая работа 4

Лабораторные методы определения свежести гидробионтов

При обнаружении признаков несвежести гидробионтов проводят бактериоскопию, определяют сероводород с подогреванием пробы и концентрацию водородных ионов, содержание аминокислотного азота и продуктов первичного распада белков в бульоне (реакция с сернистой медью), ставят реакцию на пероксидазу и редуцтазную пробу, проводят люминисцентный анализ. В необходимых случаях для характеристики пищевых и кормовых достоинств гидробионтов дополнительно определяют химический состав, биологическую ценность, видовую принадлежность микроорганизмов и содержание влаги в мясе исследуемых гидробионтов.

Бактериоскопия. На предметных стеклах делают два мазка-отпечатка: один из поверхностных слоев мышц, расположенных под кожей, второй из глубоких слоев мышц, находящихся около позвоночного хребта. Препараты подсушивают на воздухе, фиксируют трехкратным проведением над пламенем горелки и окрашивают по Граму. Просматривают несколько полей зрения и высчитывают среднее арифметическое число микробов в одном поле зрения микроскопа.

Рыба свежая - в мазках-отпечатках из поверхностных слоев мышц микробов пет или единичные в поле зрения, препарат плохо окрашен, на предметном стекле не видны остатки разложившейся ткани.

Рыба сомнительной свежести — в мазках-отпечатках из поверхностных слоев мышц 30-50 микроорганизмов в поле зрения, из глубоких слоев 10-20. Мазок окрашен удовлетворительно, на предметном стекле видны распавшиеся волокна мышечной ткани.

Рыба недоброкачественная - в мазках-отпечатках из поверхностных слоев мышц 80 микроорганизмов и более в поле зрения (больше палочковидных), препарат хорошо окрашен, на предметном стекле много остатков мышечной ткани.

Концентрация водородных ионов (рН). К 5 г фарша мяса гидробионтов добавляем 50 мл дистиллированной воды и настаиваем 30 мин. при периодическом помешивании, фильтруем через бумажный фильтр. Фильтрат используем для исследования. Определяем рН с помощью потенциометра (рН метра) или индикаторной бумаги. У гидробионтов свежих фильтрат слегка опалесцирует:

свежая рыба имеет рН до 6,9;
сомнительной свежести – 7 - 7,2;
недоброкачественная – 7,3 и выше.

Качественная реакция на сероводород.

В широкую пробирку рыхло накладывают 15-20 г рыбного фарша. На полоску фильтровальной бумаги наносят каплю 10%-ного щелочного раствора уксуснокислого свинца, диаметр капли должен быть не более 4-5 мм. Полоску бумаги закрепляют пробкой так, чтобы она свешивалась до середины пробирки. Пробирку помещают в водяную баню при температуре 50-55°C на 15 минут. Затем вынимают бумажку и читают реакцию.

Рыба свежая - полоска фильтровальной бумаги, смоченная 10%-м щелочным раствором уксуснокислого свинца, остается белой;

Рыба сомнительной свежести - на бумаге появляется слабо бурое пятно;

Рыба недоброкачественная - бумага приобретает цвет от бурого до темно-коричневого.

Реакция на пероксидазу. В бактериологическую пробирку вносят 2 мл водной вытяжки (1:10) из жаберной ткани и добавляют 5 капель 0,2%-го спиртового раствора бензидина. Содержимое пробирки взбалтывают, после чего вносят две капли 1 %-го раствора перекиси водорода.

Вытяжка из жабр свежей рыбы приобретает синюю окраску, переходящую через 1-2 мин в коричневую; вытяжка из жабр рыбы сомнительной свежести приобретает менее интенсивную окраску, которая через 3-4 мин переходит в коричневую; вытяжка из жабр недоброкачественной рыбы не имеет синей окраски и приобретает коричневый цвет.

Редуктазная проба. В бактериологическую пробирку вносят 5 г фарша из мяса гидробионтов, заливают двойным количеством дистиллированной воды, встряхивают и оставляют на 30 мин. Затем наливают 1 мл 0,1%-го водного раствора метиленового голубого, пробирку интенсивно встряхивают для равномерной окраски фарша, заливают слоем вазелинового масла толщиной 0,5-1 см. Смесь помещают в термостат при 37 °С и периодически ведут наблюдение за обесцвечиванием экстракта. Чем быстрее произойдет обесцвечивание вытяжки из гидробионтов, к которой добавлен метиленовый голубой, тем больше содержится в ней фермента редуктазы (дегидразы), а следовательно, и больше микроорганизмов, его продуцирующих.

Определение аммиака и солей аммония реактивом Несслера и числа Несслера. В пробирку наливают 2 мл фильтрата и добавляют 0,5 мл реактива Несслера, содержимое пробирки слегка взбалтывают и оставляют на 5 мин, после чего читают реакцию.

Фильтрат из свежей рыбы бледно-желтого цвета, из рыбы подозрительной свежести - желто-оранжевого, из несвежей - оранжевый с выпадением багряно-красного осадка. После предварительной оценки результатов реакции определяют число Несслера. Жидкость центрифугируют в течение 3 мин. и интенсивность окраски сравнивают с цветом жидкостей в пробирках бихроматной шкалы.

В свежей рыбе число Несслера до 1,0;
подозрительной свежести - от 1,2 до 1,4;
в несвежей - 1,6-2,4 и выше.

Для изготовления основного раствора бихроматной шкалы 0,1 г мелко растёртого двуххромовокислого калия ($K_2Cr_2O_7$) растворяют в растворе серной кислоты и доводят объём раствора этой же кислотой до 100 см³. Допускается для разбавления применять воду или серную кислоту других концентраций.

Изготовление растворов различных показателей цветности.

Люминесцентный анализ. Свечение рыбы в ультрафиолетовых лучах различно в зависимости от степени свежести.

Водные экстракты из мяса свежей рыбы светятся фиолетовым цветом, экстракты из мяса рыбы сомнительной свежести – зелено-голубым и из недоброкачественной рыбы – сине-голубым цветом.

Поверхностные покровы свежей рыбы флуоресцируют однородным матово-сероватым цветом с фиолетовым оттенком. Непигментированные места свежей рыбы имеют голубоватую окраску. Окраска спинных мышц на разрезе синевато-голубоватая, кровь в сосудах дает темно-коричневое свечение.

На поверхности рыбы сомнительной свежести находят единичные интенсивно светящиеся и легко удаляемые точки или пятна зеленовато-желтого и голубого цвета. Они особенно заметны на жаберных крышках, приголовных плавниках и боковых линиях. Мышцы на разрезе флуоресцируют тускло-сиреневым цветом с желтым оттенком, а кровь в сосудах - коричнево-оранжевым цветом. На поверхности недоброкачественной рыбы обнаруживают многообразно флуоресцирующие пятна и полосы различных цветов. Мышцы на разрезе синевато-серые с желто-зеленоватым оттенком и с ярко-голубыми очагами.

Практическая работа 5 **Дезинфекция и стерилизация**

Цели занятия:

Общие цели:

- систематизировать знания о влиянии факторов среды на микроорганизмы;
- сформировать и закрепить знания и умения по теме "Дезинфекция и стерилизация";

Развивающие цели:

- развивать логическое мышление;
- развивать способности к системному действию в профессиональной ситуации.

Воспитательные цели:

- воспитывать творческое мышление,
- воспитывать стремление к самосовершенствованию, приобретению новых знаний;
- воспитывать самостоятельность в решении проблем в области профессиональной деятельности;
- воспитывать позитивное взаимодействие и сотрудничество с коллегами.

ЧАСТЬ 1

1.1. Составьте словарь основных терминов и понятий темы, для чего выпишите эти термины и поясните их значение:

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1) Антисептика - | 3) Стерилизация - |
| 2) Асептика - | 4) Дезинфекция - |

1.2. Устно ответьте на вопросы:

- 1) Чем отличается антисептика от асептики?
- 2) Укажите основной недостаток антисептики.
- 3) Чем отличается дезинфекция от стерилизации?

ЧАСТЬ 2

1.1. Внимательно изучите таблицу №1 "Методы стерилизации".

ТАБЛИЦА № 1. МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ

№	Метод стерилизации	Факторы воздействия на микроорганизмы	Область применения	Примечания
1	Прокаливание на открытом огне (фламбирование)	Температура более 200°	Мелкие металлические и стеклянные предметы.	Не рекомендуется фламбировать ножницы и сукальпели, так как под действием пламени режущая поверхность становится тупой.
2	Стерилизация сухим жаром или горячим воздухом	В сушильных шкафах и печах Пастера при t° 160°-170° в течение часа.	Лабораторная посуда, металлические инструменты, минеральные масла.	Нельзя использовать для стерилизации жидкостей, резины, пластмасс, тканей и т.п.
3	Кипячение в воде	Температура 100° в течение 20-30 минут.	Посуда, металлический инструмент, шприцы.	<i>Стерилизация неполная - сохраняются споры!</i>
4	Стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование)	Сочетанное воздействие давления до 2-х атм., насыщенного пара и t° до 134°	Посуда, инструмент, резина, бельё, некоторые питательные среды, полимерные материалы. Патологический материал и отработанные культуры	Малоэффективен для стерилизации вазелина и др. масел, песка. Нельзя использовать для сред, содержащих сахара и белковые вещества, так как разрушается их химическая структура.
5	Стерилизация текучим паром (дробная стерилизация)	Обработка паром при t°100 дробно - 3 дня по 30 мин.	Для материалов и питательных сред, разрушающихся при t° выше 100° (среды, содержащие сахара, полимерные материалы)	При первом прогревании паром споры не погибают, прорастают и уничтожаются при последующих прогреваниях (в течение 3-х дней).
6	Тиндализация (дробная пастеризация)	Дробное прогревание при t° 60-66° по 1 часу в течение 5-6 дней	Для веществ, разрушающихся при t° 100° (белоксодержащие жидкости и т.п.)	-"- "-- "-- "-- "-- "--
7	Холодная стерилизация	Фильтрация через бактериальные фильтры	Для отделения бактерий от продуктов их жизнедеятельности или стерилизации жидкостей, изменяющихся при нагревании (сыворотки крови, лекарств, биопрепаратов).	Используется в лабораториях, на биофабриках и в фармацевтической промышленности. <i>Стерилизация неполная - сохраняются вирусы!</i>
8	Газовая стерилизация	Обработка в камерах окисью этилена или формальдегидом в присутствии пара при t° 40-80°	Стерилизация сложного медицинского оборудования, аппаратуры, постельных принадлежностей.	Неэффективна для стерилизации питательных сред, жидкостей и масел, так как газы не проникают в толщу объекта.
9	Лучевая стерилизация	Ультрафиолетовые лучи(неионизирующее излучение)	Стерилизация воздуха и открытых поверхностей предметов и помещений.	<i>Предварительная механическая и химическая дезинфекция многократно повышают надёжность стерилизации.</i>

		Ионизирующее излучение (гамма-лучи)	Для больших количеств медицинского оборудования, приборов, лекарственных препаратов в промышленных условиях	
--	--	--	---	--

1.2. Прочитайте вопросы "на понимание". Попробуйте ответить на них, используя информацию из таблицы №1 "Методы стерилизации". Ответы запишите, а в случае затруднений выпишите вопрос и подчеркните его.

ВОПРОСЫ НА ПОНИМАНИЕ

- 1) Почему фламбированием можно стерилизовать только мелкие предметы?
- 2) Почему стерилизация кипячением считается неполной, если обрабатывают предметы, инфицированные споровыми формами микроорганизмов?
- 3) Эффективность автоклавирования (стерилизации перегретым паром под давлением) выше, чем стерилизация текущим паром или кипячением. Почему?
- 4) В каких случаях Вы предложили бы заменить дробную стерилизацию текущим паром тиндализацией?
- 5) Можно ли назвать профильтрованную через бактериальный фильтр воду из реки стерильной?
- 6) Почему для стерилизации питательных сред, жидкостей, масел газовая стерилизация не применяется?
- 7) Для надёжной стерилизации оборудования ультрафиолетовыми лучами применяется предстерилизационная обработка: влажная уборка с добавлением моющих средств. Почему?

ЧАСТЬ 3

3.1. **Письменно** ответьте на вопросы:

- 1) Какие **методы (способы)** дезинфекции используются для воздействия на инфекционный процесс?
- 2) Для каких целей применяют механический метод дезинфекции?
- 3) Какие факторы включает в себя физический метод дезинфекции?
- 4) Как осуществляется химический метод дезинфекции?
- 5) Какие факторы определяют **эффективность** физических методов дезинфекции?
- 6) От каких факторов зависит **эффективность** воздействия на микроорганизмы химических веществ?
- 7) Сделайте самостоятельное заключение: как изменится эффективность дезинфекции при использовании комбинированного воздействия физических и химических факторов? Приведите пример такого воздействия.

При дезинфекции используют три метода (способа): механический, физический и химический.

Механический метод – это удаление возбудителей инфекционных болезней с различных объектов различными **способами**: путём протирания их влажной ветошью, обмывания, чистки пылесосом, щётками и т. д. Полного удаления возбудителя при этом методе не наблюдается, но значительно снижается их концентрация.

Физический метод включает применение пара, кипячения, пастеризации, огня, сухого горячего воздуха, ультрафиолетовых лучей и некоторых других факторов. Наиболее эффективно применение сочетаний разных факторов: физических, механических и химических, механических и химических и т.п. Например, эффективность кипячения намного возрастает, если в воду добавляют 1-2 % соды. Эффективность дезинфекция и стерилизации инструментария намного возрастает, если предварительно проводится механическая очистка от загрязнителей (предстерилизационная обработка).

Химический метод наиболее широко применяется в практике и осуществляется химическими веществами. Чаще других для дезинфекции применяются хлорсодержащие

препараты: хлорная известь, хлорамины, двутретиосновная соль гипохлорита кальция (ДТСГК) и хлор-бета-нафтол.

Хлорная известь представляет собой порошок белого цвета. В состав хлорной извести входит несколько химических соединений, основным из которых является гипохлорит кальция $Ca(OCl)_2$, так как из него выделяется активный хлор. Гипохлорит кальция составляет 25% веса хлорной извести, 75% приходится на долю разных соединений кальция и воды (балласт). Нерастворимые соединения составляют около 30% от веса препарата. Бактерицидные свойства хлорной извести целиком зависят от содержания в ней активного хлора. Активным хлором называется такой хлор, который можно вытеснить из препарата какой-либо кислотой.

Промышленность выпускает хлорную известь с содержанием активного хлора от 28% до 38%. Хлорная известь является нестойким химическим соединением. Она быстро разлагается под действием света (особенно солнечного), углекислоты, влаги, высокой температуры. Потери активного хлора даже при правильном хранении составляют от 1% до 4% в месяц. Хлорную известь полагается исследовать на содержание активного хлора не реже 1 раза в три месяца. Если хлорная известь содержит менее 16% активного хлора, то она не должна применяться для дезинфекции.

Сухой препарат хлорной извести следует хранить в нежилом помещении в защищённом от света месте в таре, не подверженной коррозии.

Хлорная известь обладает бактерицидным и спороцидным действием. Её используют при текущей, заключительной и профилактической дезинфекции. Она применяется в сухом виде (для обеззараживания жидких субстратов), а также в виде осветлённых растворов или хлорноизвесткового молока с концентратцией 10 – 20 % активного хлора. Такие растворы называются **основными** или **маточными** и используются для приготовления **рабочих растворов**. Основной 10 – 20% раствор можно хранить в тёмной посуде в защищённом от света месте в течение 3-5 месяцев.

Рабочие растворы готовят непосредственно перед употреблением из основных (концентрированных) растворов с известным содержанием активного хлора путём добавления к соответствующему количеству холодной воды. Расчёт количества основного раствора хлорной извести для приготовления нужного объёма рабочего раствора проводят по формуле:

$$(1) \quad X = \frac{C_{\text{раб}} \cdot V_{\text{раб}}}{C_0}$$

где X – количество основного раствора, необходимое для приготовления рабочего раствора (в литрах);

$C_{\text{раб}}$ – нужная концентрация рабочего раствора (в %);

$V_{\text{раб}}$ – нужный объём рабочего раствора (в литрах);

C_0 – исходная концентрация основного раствора (в %).

При дезинфекции осветлёнными растворами хлорной извести необходимо учитывать и побочное влияние препарата, связанное с механизмом его действия. Не рекомендуется применять их в холодное время года, в сырых и трудно проветриваемых помещениях, для обработки тканей и металлических предметов.

Хлорамины – хлорсодержащие вещества, из которых наиболее часто применяется хлорамин Б – желтоватое или белое кристаллическое вещество со слабым запахом хлора. Сухой препарат содержит обычно 26,6% активного хлора и является весьма стойким. При правильном хранении потери активного хлора не превышают 0,1% в год. Условия хранения такие же, как и для хлорной извести. При соблюдении правил хранения проверка сухого препарата на содержание активного хлора проводится один раз в три года. Бактерицидные свойства выражены сильнее, чем у фенола и лизола, но слабее, чем у хлорной извести.

Применяется в виде водных растворов при различных инфекциях для заключительной, профи-лактической и текущей дезинфекции в детских и лечебных учреждениях, жилых помещениях. Хлорамин хорошо растворяется в воде до концентрации 10%, не образуя осадка. Растворы хлорамина можно готовить в воде комнатной температуры или подогретой до 50 - 60° С. Горячие растворы обладают большей бактерицидностью. Растворы хлорамина можно хранить до 15 суток.

Количество хлорамина, требуемого для приготовления 1 л рабочего раствора нужной концентрации (в граммах), рассчитывают по формуле:

$$(2) \quad X = \frac{C_{\text{раб}} \cdot 100}{26,6}$$

где :

X – количество хлорамина в граммах, необходимое для приготовления 1 литра рабочего раствора;

C раб. – концентрация рабочего раствора;

26,6 – концентрация активного хлора в порошке хлорамина.

Задача № 1

Для дезинфекции необходимо приготовить 5 литров 2% рабочего раствора хлорной извести. Какое количество 20% маточного осветлённого раствора хлорной извести потребуется для этой цели?

Ответ: 0,5 литра 20% раствора.

Задача №2

Для обеззараживания лабораторной посуды нужно заполнить ёмкости раствором хлорамина с концентрацией 3% активного хлора. Сколько граммов порошка хлорамина с содержанием 25% активного хлора требуется взять для приготовления трёх литров такого раствора?

Ответ: 36 г хлорамина.

Задача №3

Для дезинфекции санитарного транспорта необходимо провести влажную уборку 1% раствором хлорамина. Сколько литров такого раствора можно приготовить из 100 г сухого порошка хлорамина?

Ответ: 26,3 литра 1% раствора хлорамина.

Практическая работа 6

Определение активного хлора в дезинфицирующих средствах.

Цель - Определение содержания активного хлора в хлорной извести (в препарате и его растворах)

Аппаратура, реактивы и растворы. Весы лабораторные, измерительная колба или мерный цилиндр на 100, 200, 250, 500 или 1000 см³; пипетки на 10, 25, 50 или 100 см³; эрленмейеровская колба на 250-500 см³; бюретка 50 см³; 2%-ный раствор йодистого калия; соляная кислота; деци- или санинормальный раствор серноватистокислого натрия (гипосульфата); 1%-ный раствор крахмала (индикатор).

Ход определения.

Порошки и таблетки. Навеску пробы средствосодержащую 0,05-0,1 г активного хлора, из стаканчика количественно переносят в коническую колбу с помощью 30-50 см дистиллированной воды.

Жидкости. Средства массовой концентрации активного хлора от 3,0 до 60,0 г/дм. Пробу отбирают пипеткой и затем помещают в коническую колбу. Средства с массовой

концентрацией активного хлора свыше 60,0 до 200,0 г/дм. Пробу пипеткой помещают в мерную колбу, доводят объем дистиллированной водой до метки, перемешивают и 10 см раствора пипеткой переносят в коническую колбу. Аналогичная подготовка допускается для средств с массовой концентрацией активного хлора от 20,0 до 60,0 г/дм при объеме пробы средства 10 см.

Проведение определения. В колбу с пробой средства, добавляют 10 см раствора йодистого калия, 10 см раствора серной кислоты, перемешивая после добавления каждого реактива, закрывают колбу пробкой и выдерживают в темном месте 5 мин. Выделившийся йод титруют раствором серноватисто-кислого натрия до полного обесцвечивания раствора.

Массовую долю (X) или массовую концентрацию (X) активного хлора в процентах или в граммах на кубический дециметр соответственно вычисляют по формулам:

- для порошков и таблеток:

$$X_1 = \frac{V \cdot 0,003545 \cdot 100}{m} ;$$

- для жидкостей с массовой концентрацией активного хлора от 3,0 до 60,0 г/дм:

$$X_2 = \frac{V \cdot 0,003545 \cdot 1000}{V_1} ;$$

- для жидкостей с массовой концентрацией активного хлора от 20,0 до 200,0 г/дм,

$$X_2 = \frac{V \cdot 0,003545 \cdot 1000}{V_1 \cdot 10} ,$$

где V - объем раствора серноватисто-кислого натрия концентрации точно $c(\text{Na S O} \cdot 5\text{H O})=0,1$ моль/дм, израсходованный на титрование, см; 0,003545 - масса активного хлора, соответствующая 1 см раствора серноватисто-кислого натрия концентрации точно $c(\text{NaSO}_5\text{HO})=0,1$ моль/дм, г; m - масса средства, взятая для анализа (для порошков и таблеток), г; V - объем пробы жидкого средства, взятой для анализа, см. Результаты определения округляют до второго десятичного знака.