

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

НУКУССКИЙ ФИЛИАЛ ТашПМИ

Методические указания

для преподавателей и студентов II-III курсов факультета
«Медико-профилактическое дело» по ведению практического занятия
по микробиологии по теме:

«Санитарно-микробиологическое исследование воздуха»

Нукус - 2012

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

НУКУССКИЙ ФИЛИАЛ ТашПМИ

«СОГЛАСОВАНО»

Зам.директора по учеб. работе

_____ М.К. Курбаназаров

« ____ » _____ 2012 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор НФ ТашПМИ

_____ д.м.н. О.А. Атаниязова

« ____ » _____ 2012 г.

Методические указания

для преподавателей и студентов II-III курсов факультета
«Медико-профилактическое дело» по ведению практического
занятия по микробиологии по теме:

«Санитарно-микробиологическое исследование воздуха»

Составитель:

Шелепова О.Г., ассистент кафедры Микробиологии, мед.биологии и
мед.генетики

Рецензенты:

В.К. Абсаттарова – зам. главного врача Республиканского
Санитарно-эпидемического надзора РК, к.м.н.

Р.Ж. Нарымбетова – зам.директора по научной работе, зав. кафедрой
«Микробиологии, мед.биологии и мед.генетики»
Нукусского филиала Ташкентского
педиатрического медицинского института, к.б.н.

Методическое указание обсуждено в УМК Нукусского филиала
ТашПМИ

Протокол № _____ «_____» _____ 2012 год

Методическое указание утверждено на Ученом совете Нукусского
филиала ТашПМИ

Протокол № _____ «_____» _____ 2012 год

Секретарь Ученого Совета _____ Жиемуратова Г.К.

Введение. Воздух является неблагоприятной средой для жизни микроорганизмов. В нем они не находят пищи, подвергаются высушиванию, губительному действию прямых солнечных лучей и поэтому большая часть их погибает. Однако и сравнительно короткого пребывания микробов в воздухе бывает вполне достаточно, чтобы обусловить передачу патогенных бактерий и вирусов от больных здоровым и вызвать обширные эпидемии таких заболеваний, как грипп. Данное методическое указание определяет объем теоретических знаний и практических навыков, которыми должны овладеть студенты при изучении темы «Экология микробов. Микрофлора воды, воздуха, почвы. Санитарно-бактериологическая оценка микрофлоры». Программа разработана с учетом современных достижений науки и техники в области микробиологии, иммунологии и вирусологии.

Цель занятия: Дать студентам общие знания о микрофлоре воздуха, ее значении в переносе инфекционных заболеваний, санитарно-бактериологических показателях воздуха, патогенных и условно-патогенных микроорганизмах, находящихся в воздушном пространстве. Также ознакомить обучающихся со способами отбора проб воздуха для исследования, аппаратурой, применяемой при этом, способом подсчета общего микробного числа

Студент должен знать

1. Значение воздуха и воздушной микрофлоры для здоровья человека
2. Факторы, влияющие на состояние микрофлоры воздуха открытых и закрытых помещений
3. Микроорганизмы, имеющие значение для санитарно-бактериологического показателя воздуха закрытых помещений
4. Порядок санитарно-бактериологического исследования воздуха больниц, операционных
5. Способы отбора проб воздуха для исследования (седиментационный, аспирационный)
6. Аппаратура, применяемая для отбора проб воздуха для исследования
7. Строение и назначение аппарата Кротова, его механизм действия
8. Методы, применяемые для дезинфекции воздуха закрытых помещений

Студент должен уметь

1. Производить забор воздуха для исследования седиментационным способом
2. Определять общее количество бактерий в 1 м^3 воздуха по формуле Омелянского
3. Подбирать дифференциально-диагностические среды для выявления патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Основная задача санитарно-микробиологического исследования воздуха – гигиеническая и эпидемиологическая оценка воздушной среды, а также разработка комплекса мероприятий, направленных на профилактику передачи возбудителя инфекционных болезней аэрогенным путем.

Воздух занимает одно из ведущих мест, влияющих на здоровье и жизнедеятельность человека. Большинство микроорганизмов не задерживаются в воздухе, т.к. он не содержит питательных веществ и находится в постоянном движении. Кроме того, на них сильно действуют такие неблагоприятные факторы, как высушивание и ультрафиолетовые лучи солнечного света. Однако некоторые бактерии более устойчивы, например, туберкулезная палочка, споры клостридий, грибов могут долго сохраняться в воздухе. В естественных условиях в воздухе обнаруживаются сотни видов сапрофитных микроорганизмов, представленных кокками, споровыми бактериями, грибами, отличающимися большой устойчивостью к высушиванию и к другим неблагоприятным воздействиям внешней среды.

В закрытых помещениях факторы самоочистки воздуха слабее, т.к. плохо проветриваются, накапливается микрофлора, выделяемая через дыхательные пути человека, соответственно, загрязненность может быть значительно больше, чем воздух открытых пространств. Патогенные микроорганизмы попадают в воздух из мокроты, слюны при кашле, разговоре и чихании. Даже здоровый человек при каждом чихании выделяет в воздух 10 000 – 20 000 микробных тел, а больной – иногда во много раз больше. Микроорганизмы в воздухе находятся в состоянии аэрозоля (коллоидной системы, состоящей из воздуха и находящихся в нем капель жидкости или мельчайших твердых частиц. Выделяют 3 основные формы бактериального аэрозоля:

- **Капельная**, или крупноядерная фаза, состоит из бактериальных клеток, окруженных 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. Частицы имеют наименьшие размеры (0,05 мм в диаметре), легко перемещаются потоками воздуха, длительное время находятся в нем во взвешенном состоянии, скорость оседания частиц составляет 0,013 см/с, скорость перемещения превышает 30 см/с. Эта фаза представляет наибольшую эпидемиологическую опасность, т.к. в ее составе распространяются большинство возбудителей воздушно-капельных инфекций.
- **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». Она обладает свойством диспергироваться под воздействием даже малых потоков воздуха. Размер частиц варьирует от 0,01 до 1 мм, скорость перемещения в пределах 0,5-30 см/с. Эта фаза бактериального аэрозоля преобладает в воздухе жилых помещений и с ней рассеиваются патогенные микроорганизмы, устойчивые к высушиванию (микобактерии, клостридии, стафилококки, стрептококки, грибы). В 1 гр пыли может содержаться до 1 млн бактерий.

В соответствии с тремя фазами аэрозоля различают следующие способы передачи инфекционных агентов воздушным путем:

- Воздушно-капельный
- Капельно-ядерный
- Пылевой.

Большое значение имеет чистота воздуха в операционных, реанимационных и перевязочных отделениях больниц. Общее количество микробов в операционной до операции не должно превышать 500 в 1 м³, а после операции 1000 в 1 м³.

Нормативы: чистый воздух зимой: ОМЧ не более 4500, гемолитических стрептококков - до 35;
 грязный воздух зимой: ОМЧ более 7000, гемолитических стрептококков – до 124.

Таблица 1.
Нормативные показатели микробной обсемененности воздуха в помещениях больницы

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

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха проводят в плановом порядке: в больницах, операционных, детских учреждениях и т.д.

При этом определяют: 1) общее количество бактерий в 1 м³ воздуха;
 2) наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в 1 м³ воздуха (стафилококков синегнойной палочки, грибов, сальмонелл и др. грамотрицательных бактерий).

Выявление микроорганизмов в воздухе проводится при помощи специальных приборов и диагностических и дифференциально-диагностических сред.

Существует два основных способа отбора проб воздуха для исследования: 1) седиментационный – метод основан на механическом оседании бактерий на поверхность агара в чашках Петри; 2) аспирационный – основан на активном просасывании воздуха, с применением аппарата бактериоуловителя Речменского, прибора Дьяконова, прибора ПАБ-1, аппарата Кротова.

Аспирационный метод с применением *бактериоуловителя Речменского*. Действие прибора основано на протягивании через него воздуха с помощью аспиратора. Прибор заполняют стерильной содой. При просасывании воздуха через аппарат происходит распыление находящейся в приборе жидкости. После окончания просасывания жидкость, через которую был пропущен воздух, засевают по 0,1-0,2 мл на МПА в чашках Петри.

Прибор Дьяконова также основан на улавливании бактерий в жидкости, через которую пропущен воздух (рис.1).

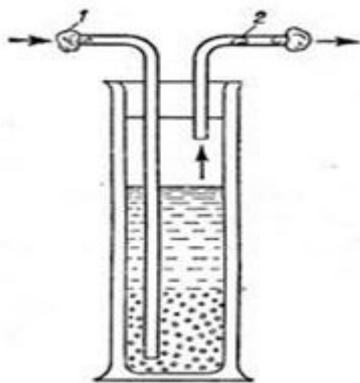


Рис.1. Прибор Дьяконова:
1- трубка для поступления воздуха;
2- трубка, выводящая воздух

Прибор ПАБ-1 предназначен для бактериологического исследования больших объемов воздуха в течение короткого промежутка времени. Получение проб воздуха производят со скоростью 125-150 л/мин. Принцип работы основан на улавливании микроорганизмов на электрод противоположного заряда. Большая скорость отбора воздуха имеет значение для обнаружения патогенных и условно-патогенных бактерий (например, синегнойной палочки в хирургических отделениях).

Аппарат Кротова основан на принципе удара струи воздуха на среду в чашках Петри. Аппарат состоит из трех частей: узла для отбора проб воздуха, ротаметра, электрической части питающего механизма (рис.2).

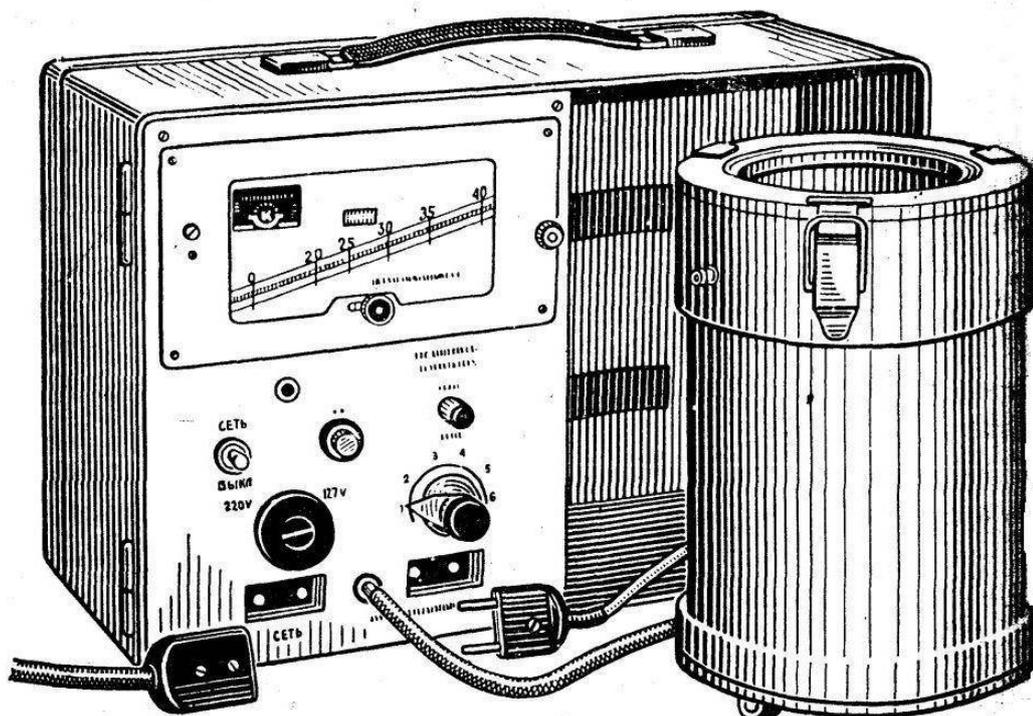


Рис.2. Аппарат Кротова для бактериологического исследования воздуха

Исследуемый воздух при помощи центробежного вентилятора, вращающегося со скоростью 4000-5000 об/мин, засасывается в щель прибора и ударяется о поверхность открытой чашки Петри со средой. Содержащиеся в воздухе микроорганизмы оседают на питательный агар. Для равномерного распределения микроорганизмов по всей поверхности столик с находящейся на нем чашкой вращается. Из прибора воздух выводится через воздухопроводную трубку, которая соединена с ротаметром, показывающим скорость протягивания воздуха через прибор.

Для проведения лабораторных работ по определению загрязнения воздуха закрытых помещений, в частности воздуха учебного кабинета седиментационным методом (методом оседания Коха), необходимо: чашки Петри с питательным агаром, термостат.

1 день исследования

Чашки Петри с питательной средой (мясо-пептонный агар) устанавливают в открытом виде горизонтально, на разном уровне от пола (20 см, 1 м). Чашки со средой экспонируют от 10 до 20 мин, в зависимости от предполагаемого загрязнения воздуха. Для выявления патогенной флоры используют элективные среды (желточно-солевой агар, висмут-сульфитный агар). Экспозиция в таком случае удлиняется до 2-3 часов. После экспозиции чашки закрывают и помещают в термостат на 24 ч при температуре 37⁰С.

2-день исследования

Чашки вынимают из термостата и производят подсчет колоний. Бактериальное загрязнение воздуха выражается общим числом микробов в 1 м^3 .

Для определения микробного числа подсчитывают колонии выросшие на чашках Петри (площадь поверхности агара в чашке равна $78,5 \text{ см}^2$) и расчет ведут по правилу *В.Л. Омелянского*: на поверхность площадью 100 см^2 за 5 мин оседает такое количество микробов, которое содержится в 10 л воздуха.

$$X = \frac{A \times 100 \times 5 \times 100}{B \times 10 \times T}$$

X – количество микробов в м^3 воздуха;

A – количество колоний в чашке;

T – время экспозиции, мин;

B – площадь чашки Петри в см^2 ($78,5 \text{ см}^2$);

100 – площадь (см^2), на которую происходило оседание микробов;

1000 – искомый объем воздуха в литрах;

5 – время по расчету Омелянского, мин;

10 – объем воздуха (л), из которого происходило оседание микробов.

При исследовании микрофлоры воздуха аспирационным методом необходим специальный аппарат Речменского, Дьяконова или Кротова. Воздух пропускают через аппарат, после чего чашки Петри вынимают их аппарата и помещают в термостат на 24 ч при температуре 37°C . Дальнейшее изучение аналогичное седиментационному методу. Расчет микробного числа производят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 1000}{V}$$

Где a – количество выросших на чашке Петри колоний; V – объем пропущенного через прибор воздуха, л; 1000 – искомый объем воздуха, л.

Например, за 10 мин пропущено 125 л воздуха, на поверхности выросло 100 колоний

$$\text{Число микробов в } 1 \text{ м}^3 \text{ воздуха} = \frac{100 \times 1000}{125} = 800$$

Для определения золотистого стафилококка забор производят на желточно-солевой агар. Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37°C в течение 24 часов и 24 часа выдерживают при комнатной температуре для выявления пигмента. Колонии, подозрительные на *S. aureus*, подлежат дальнейшей идентификации.

Для выделения гемолитического стрептококка используют кровяной агар с добавлением генцианового фиолетового.

В детских учреждениях воздух проверяют на наличие сальмонелл. Для этого воздух проверяют на наличие сальмонелл. Для этого воздух засевают в чашку со средой висмут-сульфитный агар.

При возникновении внутрибольничных инфекций стафилококковой этиологии проводят исследование на выявление источников и путей распространения инфекции: определяют идентичность стафилококков, выделенных из объектов окружающей среды, а также больных и обслуживающего персонала путем фаготипирования.

Для обеззараживания воздуха закрытых помещений используют разные методы. Эффективна вентиляция. В операционных и других помещениях больниц, микробиологических лабораториях, детских учреждениях применяют ультрафиолетовые лампы разной мощности. Иногда используют метод распыления химических веществ в парообразном состоянии, например формалина, пропиленгликоля, триэтиленгликоля: все они обладают высокой бактерицидной способностью.

Контрольные вопросы

1. Является ли воздух благоприятной средой для развития микроорганизмов?
2. Методы изучения микрофлоры воздуха
3. В каких учреждениях проводят плановое исследование микрофлоры воздуха?
4. Что определяют при санитарно-бактериологическом исследовании воздуха закрытых помещений?
5. Преимущества и недостатки седиментационного метода исследования
6. Дифференциальные и элективные среды, применяемые для определения микрофлоры воздуха
7. Устройство аппарата Кротова

Задача

За 10 мин через аппарат Кротова было пропущено 250 л воздуха. Выросло 150 колоний. Рассчитайте количество колоний в 1 м³ воздуха, используя формулу.

Задание

Возьмите 4 чашки Петри со средой МПА (мясо-пептонный агар), откройте их и установите на разном уровне от пола. Через 20 мин закройте чашки и поставьте в термостат. На следующий день подсчитайте количество выросших колоний, определите степень загрязнения воздуха.

Интерактивный метод

Игра «Вопросительный мяч»

На небольшой мяч приклеить листочки с вопросами по теме. На занятии преподаватель первым бросает мяч одному из студентов. Студент, поймавший мяч, читает вопрос, обращенный к нему, и отвечает на него. Если ответ верен, вопрос открепляется и мяч перебрасывается другому участнику. Если нет, мяч перебрасывается другому студенту. Игра продолжается пока не кончатся все вопросы, или пока все не ответят.

Количество вопросов должно соответствовать числу участников, или превышать их в 2 раза.

Оценивается по 1 баллу за правильный ответ.

Перечень примерных вопросов для игры:

1. Какие микроорганизмы могут составлять микрофлору воздуха?
2. От чего зависит состав микрофлоры воздуха?
3. Чем отличается воздух закрытых помещений от открытых?
4. Что такое аэрозоль?
5. Какие фазы аэрозоля различают?
6. Способы передачи инфекционных заболеваний воздушным путем?
7. Какие микроорганизмы служат санитарным показателем микрофлоры воздуха?
8. По каким критериям оценивают санитарно-гигиеническое состояние воздуха?
9. Что такое общее микробное число (ОМЧ)?
10. Роль золотистого стафилококка в воздухе закрытых помещений?
11. Роль синегнойной палочки, обнаруживаемой в операционном блоке?
12. Какие питательные среды применяют для определения микрофлоры воздуха?
13. Способы отбора проб воздуха для исследования?
14. На чем основан седиментационный способ отбора проб воздуха?
15. На чем основан аспирационный способ отбора проб воздуха?
16. Аппаратура, применяемая для отбора проб воздуха?
17. Преимущества седиментационного способа?
18. На чем основан метод отбора воздуха с применением аппарата Кротова?

Используемая литература:

1. Борисов Л.Б. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии", Москва, Медицина, 1979.
2. Воробьев А.А., Кривошеин Ю.С., Широкобоков В.П. Медицинская и санитарная микробиология, учебное пособие, 4-е издание, Медицина, Москва, 2010.
3. Мухамедов И.М. Микробиология, иммунология, вирусология, Ташкент, 2002.
4. Павлович С.А. Медицинская микробиология в графах, Минск, Высшая школа, 1986.
5. Покровский В.И. Медицинская микробиология. Москва, 2000.

