Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях

Методические указания
МУК 4.2.2942—11

Издание официальное

Москва • 2011

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях

Методические указания
МУК 4.2.2942—11

ББК 51.21
М54

М54 **Методы** санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—12 с.

ISBN 978—5—7508—1028—4

1. Разработаны ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (А. И. Верещагин, М. В. Зароченцев, И. В. Новокшонова, М. А. Ярославцева); ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (А. В. Тутельян, С. Ш. Рожнова); ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора (И. М. Абрамова, Л. Г. Пантелеева, Н. Ф. Соколова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 15 июля 2011 г.

ББК 51.21

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 11.08.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 0,75

Тираж 200 экз. Заказ 101

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

1. Область применения 4
2. Нормативные ссылки 5
3. Методы санитарно-бактериологических исследований 5
3.1. Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды 5
3.2. Исследования микробной обсемененности объектов внешней среды 7
4. Правила отбора проб для контроля стерильности изделий медицинского назначения в лечебных организациях 9
5. Бактериологический контроль эффективности обработки рук персонала 11
6. Мероприятия, обеспечивающие асептические условия при посевах 11
6.1. Требования к помещению для посева на стерильность 11
6.2. Подготовка бокса, инструментов и персонала к работе 11
7. Контроль стерильности питательных сред 12

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
15 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях

Методические указания
МУК 4.2.2942—11

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания предназначены для специалистов органов, осуществляющих функции по контролю и надзору в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, организаций и учреждений Роспотребнадзора, лечебно-профилактических и других организаций независимо от организационно-правовой формы и формы собственности.

1.2. Методические указания устанавливают методы санитарно-бактериологических исследований в учреждениях здравоохранения, других организациях лечебного профиля. Объектами санитарно-бактериологических исследований, на которые распространяются настоящие методические указания, являются:

- воздушная среда;
- объекты окружающей среды, в т. ч. изделия медицинского назначения, зонды, катетеры, бужи, резиновые перчатки и другие изделия из резин и металлов, шовный материал, подготовленный к использованию, и прочее, спецодежда;
- руки персонала.

1.3. Номенклатура, кратность и объем санитарно-бактериологических исследований устанавливается действующими нормативно-методическими документами с учетом санитарно-эпидемиологической обстановки.

1.4. Для санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности изделий медицинского назначения в учреждениях здравоохранения и других организациях лечебного профиля могут быть использованы питательные среды лабораторного и промышленного приготовления, расходные материалы, биологические препараты, указанные в настоящих методических указаниях. Применение других коммерческих питательных сред (расходных материалов, биологических препаратов) допускается при наличии методик исследования, утвержденных и разрешенных к применению в установленном порядке.

2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

2.2. МУ 287-113 от 30.12.1998 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

2.3. МУ 4.2.2723—10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды».

3. Методы санитарно-бактериологических исследований

3.1. Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды

3.1.1. Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды проводят в помещениях лечебных организаций в зависимости от их функционального назначения на санитарно-микробиологические показатели:

- общее количество микроорганизмов в 1 м^3 воздуха (КОЕ/м^3);
- количество колоний *S. aureus* в 1 м^3 воздуха (КОЕ/м^3);
- количество плесневых и дрожжевых грибов в 1 м^3 воздуха.

3.1.2. Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппаратов и устройств, разрешенных к применению в установленном порядке.

Количество пропущенного воздуха должно составлять 100 дм^3 для определения общего количества микроорганизмов, дрожжевых и плес-

невых грибов и 250 дм^3 для определения *S. aureus*. Исследование воздуха седиментационным методом не допускается.

3.1.3. Для определения общего количества микроорганизмов в 1 м^3 воздуха забор проб проводят на питательный агар типа МПА, СПА, ГРМ-агар и другие, приготовленные согласно инструкций по применению. Посевы инкубируют при температуре 37 °С в течение (48 ± 2) ч, подсчитывают количество выросших колоний и производят перерасчет на 1 м^3 воздуха. При наличии роста колоний дрожжевых и плесневых грибов, их подсчитывают и делают пересчет на 1 м^3 воздуха. В протоколе количество дрожжевых и плесневых грибов указывают отдельно.

Примечание: При переносе аппаратов и устройств для отбора проб воздуха из одного помещения в другое их поверхность обрабатывают раствором дезинфицирующего средства. Столик, внутренние стыки, крышку и прочие части прибора с внутренней и внешней стороны протирают спиртом (70 %).

3.1.4. Схема бактериологического исследования на стафилококк.

1. Первый день.

Для определения наличия *S. aureus* забор проб проводят на желточно-солевые среды на основе сред: элективно-солевой агар, стафилококк-агар, маннитолагар или среда № 10 по ГФ XII, агар Байд-Паркер. Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37 °С (48 ± 2) ч.

2. Второй—третий день.

На вышеуказанных средах стафилококк растет в виде круглых, блестящих, маслянистых, выпуклых, пигментированных колоний. Следует учитывать, что стафилококки, выделенные от человека, дают положительную лецитовителлазную реакцию в 60—70 % случаев. Отвивка на скошенный агар для дальнейшего исследования не менее 2 колоний, подозрительных на стафилококк. Для исследования отвивают прежде всего колонии, дающие положительную лецитовителлазную реакцию (образование радужного венчика). При отсутствии на чашках таких колоний дальнейшему исследованию подвергаются пигментированные колонии, схожие по морфологии со стафилококком. При одновременном наличии на чашках колоний стафилококка, отличающихся по пигменту, следует отвивать не менее двух колоний различного вида. Пробирки с посевом помещают в термостат при 37 °С на (24 ± 2) ч.

3. Четвертый день.

После инкубации у выделенных штаммов проверяют морфологию, тинкториальные свойства (окраска по Граму) и наличие плазмокоагулирующей активности в реакции плазмокоагуляции (РПК).

Окраску по Граму проводят общепринятым методом. Под микроскопом окрашенные по Граму стафилококки имеют вид фиолетово-

синих кокков, располагающихся гроздьями или небольшими кучками («кружево»).

Если культура обладает только плазмокоагулирующей или только лецитовителлазной активностью, то для окончательного ответа требуется учитывать другие признаки, позволяющие определить принадлежность штамма к виду *S. aureus* (ферментация маннита, гемолитическая активность).

При необходимости, после выделения чистой культуры, проводят определение чувствительности/устойчивости к антибиотикам, дезинфицирующим средствам, бактериофагам.

4. Пятый день.

Учет результатов дополнительных тестов. Окончательная выдача ответа.

3.2. Исследования микробной обсемененности объектов внешней среды

3.2.1. Бактериологическое исследование микробной обсемененности объектов внешней среды предусматривает определение стафилококков, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, синегнойной палочки. Отбор проб с поверхностей различных объектов осуществляют методом смывов. По эпидемиологическим показаниям номенклатура исследований микробной обсемененности объектов внешней среды может быть расширена.

3.2.2. Взятие смывов производят стерильными ватными тампонами, вмонтированными в пробирки. Для увлажнения тампонов в пробирки наливают по 2,0 мл стерильной 0,1 % пептонной воды с добавлением нейтрализаторов дезинфицирующих средств.

3.2.3. При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета общей площадью примерно 100 $см^2$.

3.2.4. Для обнаружения стафилококков делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл 6,5 % солевого бульона. Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение (24 ± 2) ч, после чего делают высев на желточно-солевые среды на основе сред: элективно-солевой агар, стафилококкагар, манитолагар или среда № 10 по ГФ XII, агар Байд-Паркер. Дальнейшие исследования выделенных культур стафилококков проводят по п. 3.1.4.

3.2.5. Для обнаружения бактерий группы кишечных палочек делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл среды

Кесслера. Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение (24 ± 2) ч и делают пересев на среду Эндо. Выросшие колонии на среде Эндо подвергают дальнейшему изучению для установления их возможной принадлежности к патогенным энтеробактериям.

3.2.6. Для обнаружения сальмонелл делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл одной из сред обогащения (магниевая, селенитовая или среда Раппапорта-Вассилиадиса). Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение 18—20 ч, делают пересев на среду Эндо и висмут-сульфит агар с последующим отбором подозрительных колоний и их идентификацией.

3.2.7. Для обнаружения синегнойной палочки делают высев на среду № 8 (бульон для накопления стафилококков и синегнойной палочки) и среду № 9 (для определения синегнойной палочки по наличию пигмента пиоцианина) или питательные среды в соответствии с ГФ XII. Колонии, подозрительные на синегнойную палочку (колонии с ровными или слегка волнистыми краями, гладкой блестящей поверхностью с характерным запахом и пигментом, однако, следует учесть, что запах и пигмент могут сильно варьировать или вообще отсутствовать), пересевают на скошенный агар.

P. aeruginosa – грамотрицательная, подвижная, оксидазоположительная палочка, окисляющая, но не ферментирующая глюкозу, дающая рост при 42 °С.

3.2.8. Ориентировочный перечень объектов, подлежащих санитарно-бактериологическому контролю методом смывов:

А. Операционный блок:

- интубационная трубка;
- маска наркозного аппарата;
- тройник наркозного аппарата;
- гофрированная трубка;
- ларингоскоп;
- роторасширитель;
- дыхательный мешок;
- емкости и приспособления для мытья и обработки рук;
- фартуки (клеенчатые или полиэтиленовые);
- рабочие столы;
- операционный стол;
- шланг вакуум-отсоса, внутренняя часть емкости;
- шланг кислородной подводки;
- клапан вдоха;

• стойки для введения лекарственных средств и вспомогательные приспособления;

• ручка бестеневой лампы;

• руки персонала, участвующего в операции;

• медицинские изделия многократного применения;

Б. Послеоперационные палаты, отделения, палаты реанимации и интенсивной терапии:

• кровать и постельное белье, подготовленные для больного;

• полотенца и приспособления для обработки рук персонала;

• руки персонала;

• шланг кислородной подводки;

• запасная наркозная аппаратура (набор реанимационной укладки);

• шланг вакуум-отсоса, внутренняя часть емкости;

• внутренняя поверхность шкафов и холодильников (для хранения лекарственных средств, градусников);

• медицинские изделия многоразового использования;

В. Перевязочные, процедурные:

• кушетка и приспособления для перевязок;

• полотенца и приспособления для обработки рук персонала;

• руки персонала;

• спецодежда персонала;

• мебель (медицинские столы, тумбочки);

• оборудование для химической стерилизации (стойки, чехлы для хранения стерильных эндоскопов, емкости с крышкой для химической стерилизации);

• гибкая часть эндоскопов и оптика;

• внутренняя поверхность шкафов и холодильников для хранения лекарственных препаратов и изделий медицинского назначения;

• внутренняя и наружная поверхности бактерицидных камер для хранения простерилизованных изделий медицинского назначения.

4. Правила отбора проб для контроля стерильности изделий медицинского назначения в лечебных организациях

4.1. Отбор проб на стерильность производит специалист после прохождения инструктажа по технике выполнения отбора проб для микробиологического анализа.

4.2. Все изделия медицинского назначения, подлежащие контролю, направляют в микробиологическую лабораторию в упаковке, в которой осуществляли их стерилизацию, дополнительно заворачивают в стерильную простыню или помещают в стерильную наволочку.

При стерилизации изделий в неупакованном виде в отделении отбор проб проводят в стерильные емкости, соблюдая правила асептики.

Контроль стерильности проводят путем прямого посева (погружения) изделий целиком (при их небольших размерах) или отдельных деталей (разъемные изделия) и фрагментов (отрезанные стерильными ножницами кусочки шовного, перевязочного материала и т. п.) в питательные среды. При посеве изделия или его части непосредственно в питательную среду количество среды в пробирке (колбе, флаконе и т. д.) должно быть достаточным для полного погружения изделия или его части.

При проверке стерильности более крупных изделий проводят отбор проб методом смывов с различных участков поверхности изделий: с помощью стерильного пинцета (корнцанга) каждый участок тщательно протирают марлевой салфеткой (размер салфетки 5 × 5 см), увлажненной стерильной питьевой водой. Каждую салфетку помещают в отдельную пробирку (колбу, флакон) с питательной средой.

У изделий, имеющих функциональные каналы, рабочий конец опускают в пробирку с питательной средой и с помощью стерильного шприца или пипетки 1—2 раза промывают канал этой средой.

Контроль стерильности проводят путем прямого посева (погружения) изделий целиком (при их небольших размерах) или отдельных деталей (разъемные изделия) и фрагментов (отрезанные стерильными ножницами кусочки шовного, перевязочного материала и т. п.) в питательные среды.

4.3. Для контроля стерильности используют следующие питательные среды: тиогликолевую, бульон Сабуро (с ингибитором посторонней микрофлоры – теллурит калия или левомицетин).

При контроле изделий каждого наименования обязателен одновременный посев на обе указанные питательные среды.

На каждый вид исследуемого материала используют по две пробирки каждой среды.

При посеве изделия или его части непосредственно в питательную среду количество среды в пробирке (колбе, флаконе и т. д.) должно быть достаточным для полного погружения изделия или его части.

4.4. Посевы в тиогликолевой среде выдерживают в термостате при температуре 32 °С. Посевы в бульоне Сабуро – при температуре 20—22 °С в течение 14 суток при контроле изделий, простерилизованных растворами химических средств и газовым методом, в течение 7 суток – простерилизованных физическими методами (паровой, воздушный).

4.5. Учет результатов исследования на стерильность.

При отсутствии роста микроорганизмов во всех пробирках (колбах, флаконах) делают заключение о стерильности изделий. Материал не стерилен при росте микрофлоры.

5. Бактериологический контроль эффективности обработки рук персонала

5.1. Смывы с рук персонала производят стерильными марлевыми салфетками размером 5 × 5 см, смоченной в нейтрализаторе. Марлевой салфеткой тщательно протирают ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. После отбора проб марлевую салфетку помещают в широкогорлые пробирки или колбы с физиологическим раствором и стеклянными бусами, встряхивают в течение 10 мин. Жидкость засевают глубинным способом на 2 чашки Петри с мясопептонным агаром (по 0,5 мл) и в 2 пробирки с 0,5 %-м сахарным бульоном (по 1 мл). Посевы инкубируют при температуре 37 °С в течение 48 ч.

5.2. Учет результатов.

Отсутствие роста патогенных и условно патогенных бактерий.

6. Мероприятия, обеспечивающие асептические условия при посевах

6.1. Требования к помещению для посева на стерильность

6.1.1. Контроль стерильности изделий проводят с соблюдением асептических условий, исключающих возможность вторичной контаминации изделий микроорганизмами.

Контроль стерильности изделий проводят в боксах с ламинарным потоком воздуха. При отсутствии боксов с ламинарным потоком воздуха контроль стерильности проводят в боксированных помещениях (бокс с предбоксником).

6.1.2. В боксированном помещении поверхность пола, стен, потолка, мебели должна быть гладкой, без щелей, устойчивой к многократному действию моющих и дезинфицирующих средств. Полы должны быть нескользкими, иметь гидроизоляцию. Поверхность столов не должна иметь швов и трещин.

6.1.3. Боксы оборудуют приточно-вытяжной вентиляцией (с преобладанием притока над вытяжкой) с подачей в них воздуха через бактериальные фильтры. В боксе и предбоксник устанавливают бактерицидные облучатели в соответствии с нормами, предусмотренными действующими нормативно-методическими документами.

6.2. Подготовка бокса, инструментов и персонала к работе

6.2.1. Перед проведением работы поверхности в помещениях бокса и предбоксника (стены, пол, оборудование и др.), а также внутренние поверхности бокса с ламинарным потоком воздуха обрабатывают раствором дезинфицирующего средства, разрешенного к применению в установленном порядке.

6.2.2. Через 45—60 мин после обработки в бокс вносят все необходимые для работы материалы и инструменты, кроме образцов изделий.

6.2.3. Перед началом работ бокс с ламинарным потоком воздуха включают на время, достаточное для обеспечения полного обмена воздуха, а затем помещают в него необходимый для работы материал.

6.2.4. В боксе и предбокснике перед работой включают бактерицидные облучатели.

6.2.5. Инструменты, посуду и спецодежду, используемые в работе, предварительно стерилизуют при следующем режиме: температура 132 °С, время стерилизационной выдержки – 90 мин; изделия из резин (перчатки и т. д.) – при температуре 120 °С в течение 60 мин.

6.2.6. Перед посевом исследуемый материал вносят в предбокснике, предварительно снимая наружную мягкую упаковку. В предбокснике пакеты, биксы протирают снаружи с помощью стерильного пинцета (корнцанга) стерильной салфеткой (ватным тампоном), обильно смоченной раствором дезинфицирующего средства, обладающего спороцидными свойствами, разрешенного к применению в установленном порядке, и оставляют на 30 мин. При поступлении изделий, упакованных в два слоя (бумага, перманганаты, ткани), первый слой снимают в предбокснике и изделия во внутренней упаковке сразу переносят в бокс.

6.2.7. Перед входом в бокс работники лаборатории тщательно моют руки теплой водой с мылом, вытирают их стерильным полотенцем (салфеткой), надевают в предбокснике бахилы, стерильные халаты, 4-слойные маски, шапочки и стерильные перчатки.

6.2.8. В процессе посева в боксе проверяют обсемененность воздуха. Для этого на рабочий стол ставят 2 чашки с мясопептонным агаром (МПА), открывая их на 15 мин, затем чашки помещают в термостат при температуре 37 °С на (48 ± 2) ч. Допускается рост не более трех колоний неспорообразующих сапрофитов.

7. Контроль стерильности питательных сред

Для контроля стерильности питательные среды после изготовления и стерилизации помещают в термостат при температуре 37 °С на (48 ± 2) ч.

Бульон Сабуро контролируют полностью (всю приготовленную серию пробирок или колб).

Для тиогликолевой среды термостатируют 1 % от общего числа приготовленных пробирок или колб каждой серии. Для проведения исследований материала на стерильность эту часть сред не используют.

gost.e-ecolog.ru