

## Тема : Асептика, антисептика. Выделение чистых культур аэробов (I этап)

### АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Основатель учения об антисептике Д. Листер и его современники под антисептикой понимали меры по уничтожению возбудителей воспалительного процесса с помощью химических веществ в ране во всех объектах внешней и внутренней среды, которые соприкасаются с раной. В настоящее время применение антимикробных веществ на интактных и поврежденных поверхностях кожи и слизистых оболочках с целью предупреждения развития инфекционных заболеваний предлагается расценивать как антисептику, а применение антимикробных веществ для микробной деконтаминации объектов внешней среды с целью предупреждения развития инфекционных заболеваний – как дезинфекцию.

Асептика как комплекс мер, направленных на предупреждение попадания микроорганизмов в операционное поле или в лекарственное средство, обеспечивается соблюдением правил, включающим стерилизацию. Провизор должен помнить о том, что в целом ряде случаев присутствие микробов в лекарственных средствах, на медицинском оборудовании, инструментах и т.п. является недопустимым. Все инструменты, лабораторная посуда, питательные среды должны быть стерильными, что достигается применением различных методов стерилизации. Невыполнение этих условий может нанести вред здоровью больного, способствовать распространению инфекции.

Выделение и идентификация чистых культур бактерий необходимы для определения микробного загрязнения лекарственного сырья и готовых лекарственных форм, а также составляют бактериологический метод лабораторной диагностики инфекционных заболеваний.

### ЦЕЛИ ОБУЧЕНИЯ

**Цель (общая):** Уметь выбрать наиболее целесообразный метод стерилизации лекарственных средств, инструментария, питательных сред, растворов и контролировать правильность стерилизации

#### *Конкретные цели:*

1. Оценивать возможности различных видов стерилизации, выбрать наиболее целесообразный метод стерилизации данного лекарственного средства, инструментария, питательных сред, растворов и др.
2. Проводить контроль правильности стерилизации
3. Анализировать ход выделения чистой культуры аэробных микроорганизмов на 1-ом этапе

## СОДЕРЖАНИЕ ОБУЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО К ЦЕЛЯМ

### *ОСНОВНЫЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ*

1. Влияние внешних факторов на микроорганизмы (физических, химических, биологических)
2. Виды стерилизации: в пламени, кипячением, сухим жаром, паром под давлением, текучим паром; пастеризация и тиндализация; стерилизация фильтрованием облучением УФ-лучами; стерилизация с применением химических факторов
3. Контроль качества стерилизации
4. Асептика, антисептика, дезинфекция
5. Принципы выделения чистых культур аэробных бактерий

### ОСНОВНЫЕ ТЕРМИНЫ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ

Факторы внешней среды, оказывающие влияние на микроорганизмы, подразделяют на физические, химические и биологические.

**Физические факторы.** К физическим факторам внешней среды, влияющим на жизнедеятельность микроорганизмов, относятся температура, влажность, свет и др.

*Влияние температуры.* Микроорганизмы могут переносить значительные колебания температуры. В зависимости от температуры, к которой микроорганизмы приспособились в процессе длительной эволюции, их подразделяют на психрофилы, мезофилы и термофилы. Устойчивыми к высокой температуре являются споры бацилл (от нескольких минут до нескольких часов). Микроорганизмы весьма устойчивы к охлаждению и замораживанию. Очень устойчивыми к низкой температуре являются вирусы.

*Влияние влажности.* Различные виды микроорганизмов не в одинаковой степени чувствительны к высушиванию, при котором происходит потеря воды, в результате чего наступает гибель клетки.

*Влияние света.* Прямые солнечные лучи, особенно ультрафиолетовые, оказывают бактерицидное действие. Ультрафиолетовое облучение применяют на предприятиях мясной промышленности для обеззараживания воздуха, поверхности оборудования и различных предметов с помощью бактерицидных ламп.

*Влияние излучений.* Большие дозы рентгеновских лучей инактивируют ферменты, замедляют рост и предотвращают размножение микробов.

*Влияние ультразвуковых волн.* Ультразвуковые волны обладают значительной механической энергией, способной инактивировать ферменты, токсины, разрушать микробную клетку.

*Влияние давления.* Микроорганизмы устойчивы к высоким давлениям.  
**Химические факторы.** Большие концентрации химических веществ действуют на микроорганизмы бактериостатически или бактерицидно, вызывая их гибель. Химические вещества, вызывающие гибель

микроорганизмов, получили название дезинфицирующих. Эффективность действия химических веществ зависит от химической природы этого вещества, его концентрации, температуры, реакции среды, вида микроорганизма и др. Вещества, применяемые для уничтожения микробов, должны быть в растворенном состоянии. Чем легче вещество адсорбируется микробной клеткой, тем сильнее его действие. Химические вещества в зависимости от их действия на микробную клетку можно разделить на следующие группы:

вещества, повреждающие только клеточную стенку, не изменяющие внутренней структуры микроба (мыла, жирные кислоты);

вещества, вызывающие повреждение оболочки и клеточных белков (фенол, крезол и их производные);

вещества, вызывающие денатурацию белков (формальдегид - 40%-ный раствор формалина);

вещества, вызывающие инактивацию ферментов (соли тяжелых металлов - соли ртути, меди, серебра и др.).

Наиболее чувствительными к химическим веществам являются микробы, не образующие спор, вегетативные формы. Реакция среды (рН - показатель концентрации водородных ионов) оказывает влияние на рост и развитие микроорганизмов.

**Биологические факторы.** В процессе жизнедеятельности микроорганизмы находятся в различных взаимоотношениях между собой и с другими организмами. Эти взаимоотношения в процессе длительной эволюции складывались в соответствии с общебиологическим законом симбиоза (сожительства) живых существ. В природе взаимоотношения между микробами и другими организмами существуют в виде различных форм симбиоза, метабиоза и антагонизма. Симбиоз между организмами может проявляться в виде комменсализма, мутуализма и паразитизма.

**Методы и способы стерилизации.** Целесообразность применения того или иного метода стерилизации и его способов зависит от особенности материала, подлежащего стерилизации, его физических и химических свойств. Продолжительность стерилизации зависит от стерилизуемого объекта, стерилизующего агента и его дозы, температуры и влажности окружающей среды.

#### ***Физический метод стерилизации***

К способам физического метода стерилизации относятся высушивание, сжигание и прокаливание, кипячение, пастеризация и тиндализация, горячий воздух (сухой жар), ультразвук, ультрафиолетовое и радиоактивное излучение, ток высокой частоты, солнечный свет.

Наиболее распространенным способом стерилизации предметов, допускающих применение высокой температуры, является стерилизация огнем, горячим воздухом и насыщенным водяным паром под давлением.

Прокаливание в пламени горелки или фламбирование – способ стерилизации, при котором происходит полное обеспложивание объекта. Одним из наиболее простых и распространенных способов физического

метода стерилизации, применяемых в медицинской практике, является стерилизация горячим воздухом (сухим жаром). Сухожаровая стерилизация осуществляется в сушильных шкафах (печах Пастера).

Стерилизация насыщенным паром под давлением – это наиболее надежный и чаще всего применяемый способ стерилизации перевязочного материала, воды, некоторых лекарственных средств, питательных сред, мягкого инвентаря, инструментов, а также для обеззараживания отработанного зараженного материала. Стерилизация паром под давлением осуществляется в специальных аппаратах – автоклавах. При автоклавировании происходит полное уничтожение всех микроорганизмов и спор.

Полное обеспложивание материалов и предметов, не допускающих применения стерилизации высокой температурой, достигается путем *повторно проводимой стерилизации водяным паром в аппарате Коха* при температуре не выше 100 градусов. Этот способ носит название дробной стерилизации. Пастеризация предложена Пастером и предназначена в основном для уничтожения в основном бесспорных микроорганизмов. Пастеризацию проводят при 60 – 70 градусах от 15 до 30 минут, при 80 градусах от 10 до 15 минут.

Многие изделия из-за их особенностей (консервант, вакцины, жидкие лекарственные и другие средства) невозможно стерилизовать общепринятыми способами и методами. Используемая в таких случаях дробная (5 – 6 кратная) стерилизация при 60 градусах в течение 1 часа носит название тиндализации.

Кипячение – способ стерилизации, применяемый для обеспложивания шприцев многократного пользования, хирургических инструментов, резиновых трубок, стеклянной и металлической посуды.

Стерилизация фильтрованием применяется в тех случаях, когда субстраты не выдерживают нагревания, в частности, для сред, содержащих белки, для сывороток, некоторых антибиотиков, витаминов, летучих веществ. Способ заключается в фильтровании жидкостей через специальные фильтры, имеющие мелкопористые перегородки и поэтому задерживающие клетки микроорганизмов (мембранные фильтры и фильтры Зейтца, «свечи» Шамберлана, Беркфельда).

При ультрафиолетовом облучении бактерицидный эффект обеспечивают лучи длиной 200 – 450 нм., источником которых являются бактерицидные лампы.

### **Механический метод стерилизации**

Механические способы стерилизации позволяют удалить микробы с поверхности предметов. К ним относятся обмывание, вытряхивание, подметание, влажное протирание, проветривание, вентиляция, обработка пылесосом, стирка.

### **Химический метод стерилизации**

Внедрение в практику лечебных учреждений большого числа изделий из термолabileльных материалов (н-р: пластмассы) способствует

внедрению радиационного, газового способов обеззараживания и стерилизации растворами дезинфицирующих средств.

### **Биологический метод стерилизации**

Биологическая стерилизация основывается на применении антибиотиков. Этот метод широко используется при культивировании вирусов

Для получения объективной оценки качества стерилизации ее контроль должен проводиться комплексно:

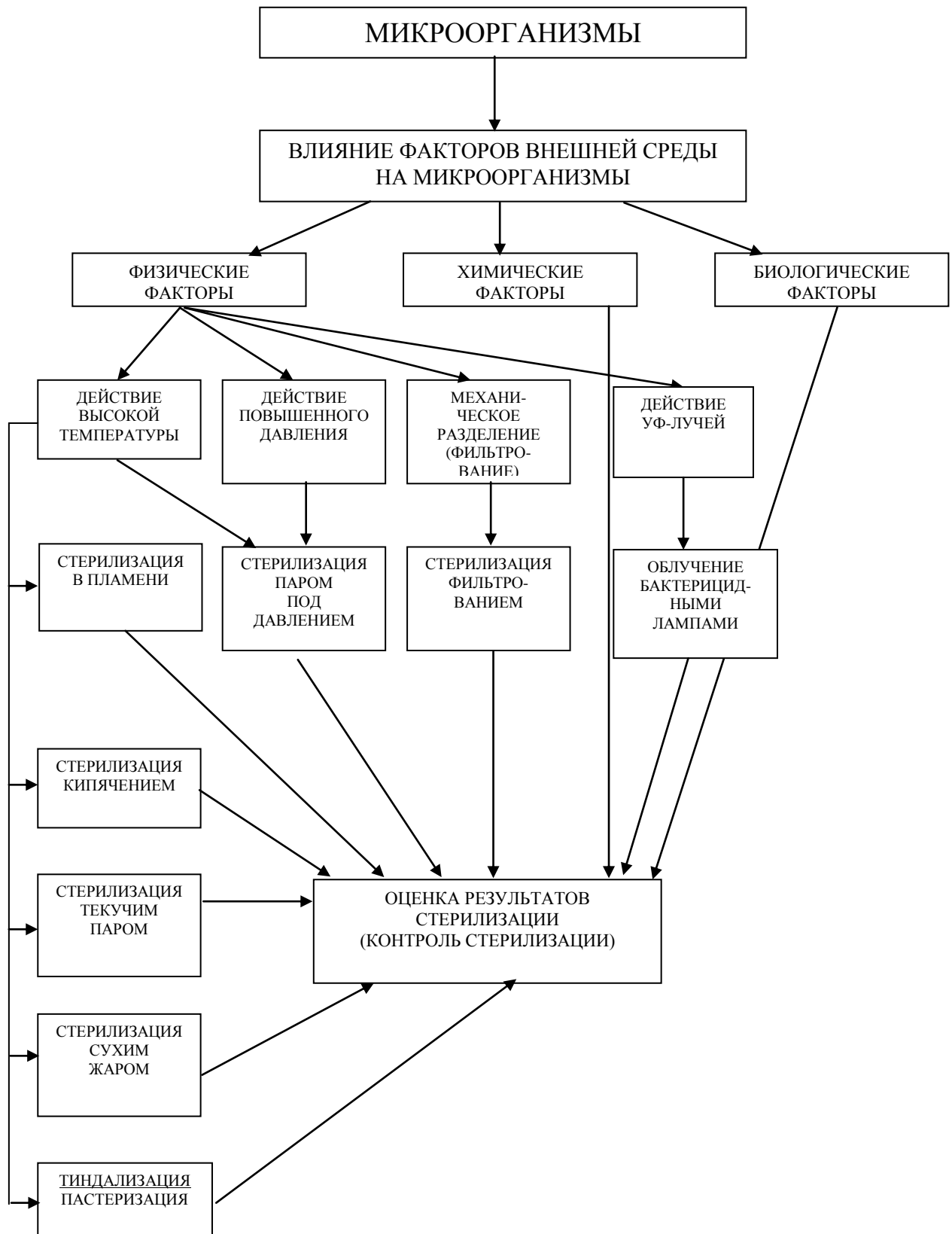
- физическими методами — с помощью контрольно-измерительной аппаратуры (термометры, манометры, таймеры);
- химическими методами — с помощью химических индикаторов (индикаторы типа ИС, химические тесты), которые помещают в контрольные точки.
- бактериологическими методами.

**Методы уничтожения или подавления жизнедеятельности условно-патогенных микроорганизмов.**

**Дезинфекция**— совокупность химических, физических и механических способов ПОЛНОГО УНИЧТОЖЕНИЯ вегетативных и споровых форм определенных групп микроорганизмов. ЦЕЛЬ – предупреждение передачи возбудителей через объекты внешней среды. Для этого чаще используют химические вещества с широким спектром микробоцидного действия (дезинфектанты).

**Методика выделения чистой культуры бактерий аэробов и факультативных анаэробов (I этап):** Исследуемый материал (гной, мокрота, испражнения, смывы со слизистой, кровь, моча, спинномозговая жидкость и др.) берут в соответствии с предполагаемым местом локализации возбудителя. Делается посев на чашку Петри с плотной питательной средой таким образом, чтобы механически разобщить особи микроорганизмов и получить изолированные колонии. В некоторых случаях, когда в качестве исследуемого материала используется кровь, моча, спинномозговая жидкость, материал сразу засевают на жидкую питательную среду. После инкубации в термостате при оптимальной температуре из посева на жидкой питательной среде делают пересев в чашку Петри. Чашки с посевом выдерживают в термостате при 37 градусах в подавляющем большинстве случаев 24 часа.

ГРАФ ЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ТЕМЫ:  
«Влияние внешних факторов на микроорганизмы. Стерилизация»



## **Источники информации**

### Рекомендуемая литература:

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. / За ред. В.П. Широбокова. - [2-е вид.]. – Вінниця: Нова книга, 2011. – С.132-138.
2. Микробиология: Учебник для студентов фармацевтических ВУЗов и фармацевтических факультетов медицинских институтов / Дикий И.Л., Холупяк И.Ю., Шевелева Н.Е., Стегний М.Ю.- 2-е издание.-К.: ИД «Профессионал», 2004.-С. 212-222, 258,259.
3. Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям: Учебное пособие для студентов высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.И. Сидорчук, И.Ю. Холупяк и др. – Х.: Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2002.- С. 67-70, 144-147.

### Дополнительная литература:

1. Мікробіологія з основами імунології: підручник / Данілейченко В.В., Федечко Й.М., Корнійчук О.П. – 2-е видання, перероблене та доповнене.- К.: Медицина, 2009.- С. 81- 90, 218-224.

Во время работы с литературой для лучшего усвоения содержания обучения используйте граф логической структуры темы.

### **Задания для проверки достижения конкретных целей обучения**

#### Задание 1

В централизованную автоклавную для стерилизации поступили питательные среды с веществами, которые изменяются при температуре выше 100°C, среды, которые содержат нативные белки, чашки Петри, пипетки. Какой метод стерилизации необходимо выбрать для сред с веществами, которые изменяются при температуре выше 100°C?

- A. Химический
- B. Кипячение
- C. Сухим жаром
- D. Текучим паром
- E. Паром под давлением

#### Задание 2

В больнице необходимо провести контроль качества стерилизации инструмента в автоклаве с помощью биологического метода. Какие микроорганизмы наиболее целесообразно использовать с этой целью?

- A. Споровые

- В. Капсульные
- С. Кислотоустойчивые
- Д. Патогенные
- Е. Термофильные

### Задание 3

При производстве лекарственных препаратов необходимо соблюдать комплекс мер, направленных на предупреждение микробной контаминации. Как называются эти меры?

- А. Дезинфекция
- В. Дератизация
- С. Антисептика
- Д. Асептика
- Е. Стерилизация

### Задание 4

Для роста и размножения бактерий большое значение имеют температурные условия. Некоторые виды могут размножаться при низких температурах (0 - 20°C). Как называются такие микроорганизмы?

- А. Мезофильные
- В. Термофильные
- С. Галофильные
- Д. Психрофильные
- Е. Гемофильные

### Задание 5

Для подготовки к проведению исследования в микробиологической лаборатории необходимо простерилизовать пипетки, чашки Петри и другие лабораторные изделия из стекла. Какие из перечисленных ниже методов подходят для стерилизации таких изделий?

- А. В пламени, кипячение
- В. Кипячение, пастеризация
- С. Сухим жаром, паром под давлением
- Д. Пастеризация, тиндализация
- Е. Тиндализация, фильтрование

### Задание 6

При стерилизации в течение 1 часа чашек Петри в сушильном шкафу кроме химического контроля применили контроль качества стерилизации с помощью максимального термометра. Какая температура на нём после окончания сеанса свидетельствует о правильном режиме стерилизации?

- А. 200°C
- В. 140°C
- С. 170°C



D. 120°C

E. 100°C

### Задание 7

После завершения работы в лаборатории студент должен привести в порядок свое рабочее место, провести дезинфекцию поверхности стола, инструментария. Какое химическое вещество он должен при этом использовать?

A. Хлорамин

B. Соляную кислоту

C. Формалин

D. Хлороформ

E. Эфир

### Задание 8

С целью выделения чистой культуры в лаборатории произвели посев лекарственного средства с признаками микробной порчи на плотную питательную среду. С какой целью выбрана такая среда?

A. Для ускорения роста микробов

B. Для изучения культуральных свойств микробов

C. Для механического разделения микробов на поверхности агара

D. Для совместного культивирования микрофлоры

E. Для выбора врачебной терапии

### ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ

1.-E, 2.-A, 3.-D, 4.-D, 5.-C, 6.-D, 7.-A, 8.-C.