

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ

**РУЛ «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ВЕТЕРИНАРИИ ИМ С.Н. ВЫШЕЛЕСКОГО»**

УТВЕРЖДАЮ

Начальник Главного управления
ветеринарии с Государственной
ветеринарной и Государственной
продовольственной инспекциями
Минсельхоза Республики Беларусь



А.М. Аксенов
2007 г.

5 ЮНБ
10-15/587

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ
И САНИТАРНОЙ ОБРАБОТКИ ОБЪЕКТОВ,
ПОДЛЕЖАЩИХ ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОМУ
НАДЗОРУ**

Минск 2007

Нацыянальная

(Беларусь

УДК 619:614.3.48

Настоящие Методические указания подготовлены сотрудниками **РУЛ «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»** А.Э. Высоцкий, А.А. Богущ, А.П. Лысенко, И.И. Румачик, И.В. Фомченко, С.А. Иванов, М.И. Черник, С.А. Шуринова, Л.П. Адамович, М.А. Ананчиков

Рецензенты:

Н.А. Ковалев - доктор ветеринарных наук, профессор, академик Национальной академии наук Беларуси;

З.Н. Барановская - начальник отдела бактериологии ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр».

Методические указания разработаны на основе современных нормативных и директивных документов Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь с использованием материалов ВНИ-ИВСГиЭ, ВНИИВВиМ и Казанской ГАВМ им. Н.Э. Баумана. Предназначены для специалистов государственной ветеринарной службы, работников ветеринарно-санитарных отрядов и лабораторий, а также для сотрудников научно-исследовательских ветеринарных учреждений, студентов и преподавателей высших учебных заведений, курсов и факультетов слушателей повышения квалификации, занимающихся по специальности «ветеринарная медицина».

Методические указания рассмотрены и одобрены на Ученом совете РУЛ «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» (протокол №6 от 30 мая 2007 года).

© РУЛ «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»

ОГЛАВЛЕНИЕ

1	Введение	4
2	Бактериологический контроль качества гидроочистки (мойки)	5
3	Бактериологический контроль качества дезинфекции ...	7
4	Отбор проб для исследования	8
5	Методы контроля качества дезинфекции помещений ...	10
5.1	Метод исследования смывов	10
5.2	Метод отпечатков на тонкий слой плотной питательной среды	11
5.3	Контроль качества заключительной дезинфекции при туберкулезе	11
5.4	Оценка результатов контроля качества дезинфекции помещений	12
5.5	Метод бактериологического исследования воздуха помещений при проведении аэрозольной дезинфекции, в том числе в присутствии животных и птицы	13
5.6	Контроль качества профилактической аэрозольной дезинфекции, проводимой формальдегидом (параформальдегидом)	14
6	Контроль качества дезинфекции спецодежды	14
7	Контроль качества дезинфекции навоза, помета и стоков	14
8	Контроль качества дезинфекции транспортных средств ...	16
9	Контроль санитарной обработки доильного оборудования	16
10	Приложения	19

1 ВВЕДЕНИЕ

1.1 Настоящие Методические указания определяют порядок и методы контроля качества дезинфекции объектов, подлежащих ветеринарно-санитарному надзору.

1.2 Методические указания предназначены для ветеринарных лабораторий, лабораторий хозяйств и предприятий по переработке мяса и сырья животного происхождения, а также научно-исследовательских организаций и высших учебных заведений ветеринарного профиля, имеющих специализированную материально-техническую базу, квалифицированных специалистов, способных проводить исследования в соответствии с требованиями настоящих Методических указаний.

1.3 Разработка настоящих Методических указаний обусловлена широким внедрением новых химических дезинфицирующих средств и препаратов в практику животноводства.

1.4 В настоящих Методических указаниях используются следующие термины:

дезинфекция - уничтожение или удаление на объектах внешней среды патогенных и условно-патогенных микроорганизмов; она бывает профилактической и вынужденной;

профилактическая дезинфекция - это дезинфекция, которую проводят в благополучных по инфекционным болезням животных (птиц) хозяйствах с целью предотвращения заноса и распространения внутри их патогенных микроорганизмов, а также накопления в животноводческих помещениях и на других объектах условно-патогенной микрофлоры;

вынужденная дезинфекция - включает в себя текущую и заключительную дезинфекции;

текущая дезинфекция - это дезинфекция, которую проводят систематически в течение всего времени оздоровления хозяйства (фермы) с целью снижения контаминации объектов внешней среды патогенными микроорганизмами и уменьшения опасности перезаражения животных внутри хозяйства (фермы) и распространения болезни за его пределы;

заключительная дезинфекция - это дезинфекция, которую проводят в хозяйстве (на ферме) после прекращения выделения больных животных и осуществления мероприятий, гарантирующих лшсвидацию источника возбудителя инфекционной болезни, с целью полного уничтожения возбудителя на объектах внешней среды.

1.5 Объектами, подлежащими ветеринарно-санитарному надзору, являются:

- животноводческие (птицеводческие), вспомогательные и бытовые помещения;

- скотобазы, а также другие сооружения и имеющиеся в них оборудование;
- одежда и обувь обслуживающего персонала;
- транспортные средства, используемые для перевозки животных (птицы), яиц, молока, кормов, сырья, а также продуктов убоя;
- инвентарь и предметы ухода за животными и птицей;
- территория животноводческих (птицеводческих) ферм и комплексов;
- навоз (помет), стоки и другие объекты, которые могут быть фактором передачи возбудителя болезни здоровым животным (птице) от животных (птицы) с клинической и субклинической (скрытой) формами болезни.

1.6 Контроль качества ветеринарной дезинфекции проводят в три этапа.

1.6.1 Контроль подготовки объектов к дезинфекции (проверяют степень очистки поверхностей, их увлажненность, защиту электрооборудования и приборов, герметизацию помещений) осуществляет ветеринарный специалист, ответственный за ее проведение. Поверхности считаются чистыми и подготовленными для последующей дезинфекции, если можно рассмотреть свойства очищаемого материала (структура поверхности, цвет, рисунок и пр.), а в стекающей промывной воде должно отсутствовать помутнение.

1.6.2 Контроль за соблюдением установленных режимов дезинфекции (выбор препарата и метода дезинфекции, концентрация, температура раствора, равномерность увлажнения поверхностей дезинфицирующим раствором, соблюдение параметров производительности используемых машин и аппаратов, качество распыления раствора) проводит ветеринарный специалист, ответственный за это мероприятие.

1.6.3 Бактериологический контроль качества дезинфекции осуществляют специалисты ветеринарных лабораторий периодически или в сроки, установленные с учетом эпизоотической обстановки, технологии производства, целей дезинфекции и других конкретных особенностей.

2 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ГИДРООЧИСТКИ (МОЙКИ)

2.1 Качество заключительного этапа механической очистки - гидроочистки (мойки) периодически осуществляют специалисты ветеринарных лабораторий бактериологическим методом. Принцип метода заключается в установлении степени снижения общей бактериальной обсемененности после проведения гидроочистки с помощью проведения посевов на питательные среды.

2.2 Подготовка к исследованиям. В пробирках готовят стерильный физиологический раствор по 9 мл; на каждую исследуемую пробу-смыв

необходимо иметь 6-8 пробирок со стерильным физиологическим раствором.

2.3 С поверхностей помещения после механической очистки перед началом проведения гидроочистки отбирают по 5 проб-смывов, которые объединяют в одну пробу. Из каждого помещения отбирают по 3 объединенные пробы с пола и кормушек. Смывы берут тщательным промыванием поверхности размером 10x10 см (можно при помощи трафарета) увлажненным ватно-марлевым тампоном. По окончании промывки поверхности обследуемого объекта берут пробы-смывы аналогичным способом. Одновременно проводят посев воды, используемой для промывки. Тампоны отмывают в 10 мл стерильного физиологического раствора, затем 1 мл полученной взвеси стерильной пипеткой переносят в пробирку с 9 мл стерильного физиологического раствора. После тщательного перемешивания готовят серийные разведения (6-8), для каждого разведения используя отдельную стерильную пипетку с физиологическим раствором. Суспензию на питательную среду можно высевать поверхностным или глубинным способом.

2.4 При поверхностном способе культивирования на поверхность МПА из трех последних разведений стерильной пипеткой наносят 0,5 мл суспензии и равномерно распределяют её. Из каждого разведения делают параллельно два посева (до мойки и после). После посева чашки Петри помещают в термостат крышками вниз; инкубацию посевов проводят при 37°C в течение 24 часов.

2.5 При глубинном способе культивирования в чашку Петри вносят по 1 мл из каждого разведения и заливают 10-15 мл расплавленного и остуженного до 45°C МПА, затем агар и посевной материал тщательно перемешивают. Инкубацию посевов проводят аналогично вышеуказанному способу.

2.6 Учет результатов. По истечении срока инкубации посевов подсчитывают выросшие колонии, не открывая чашки Петри. Учитывают результаты только на тех чашках, где число колоний не превышает 300 КОЕ. Количество клеток на 1 см² поверхности исследуемого объекта вычисляют по формуле:

.у-100

, где

M - количество клеток на 1 см² поверхности; a - среднее число колоний при высевах данного разведения; 10 - коэффициент разведения; y - порядковый номер разведения; y - объем суспензии, взятой для посева в мл; 100 - площадь поверхности, с которой взята проба-смыв.

2.7 Оценка качества промывки. Если в результате проведения мойки объекта, подлежащего ветеринарно-санитарному надзору, достигается снижение общей бактериальной обсемененности его поверхностей на 85% и более, то проведенная промывка признается удовлетворительной. Если сни-

жение бактериальной обсемененности достигается менее чем на 85%, то промывка признается неудовлетворительной. В контрольных посевах проб воды, взятой у сопла брандспойта, общая бактериальная обсемененность не должна превышать 100 микробных тел в 1 мл воды.

3 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ

3.1 Бактериологический контроль качества дезинфекции должен проводиться согласно графика, без предварительного уведомления работников, ответственных за проведение дезинфекции, и исполнителей этих работ о времени и месте отбора проб для исследования.

3.2 При бактериологическом контроле качества дезинфекции животноводческих (птицеводческих) помещений, скотобаз и транспортных средств определяют наличие на поверхностях обеззараживаемых объектов жизнеспособных клеток санитарно-показательных микроорганизмов - бактерий группы кишечной палочки (*Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*), стафилококков (*aureus*, *epidermatis*, *saprophyticus*), микобактерий или спорообразующих аэробов рода *Bacillus*.

Качество обеззараживания спецодежды контролируют по выделению тест-микроорганизмов на искусственно контаминированных кусочках ткани, закладываемых в подлежащий обеззараживанию материал.

3.3 По наличию или отсутствию бактерий группы кишечной палочки определяют качество профилактической, текущей и заключительной дезинфекции при бруцеллезе, колибактериозе, лептоспирозе, листериозе, болезни Ауески, лейкозе, пастереллезе, сальмонеллезе животных и птиц, трихомонозе, кампилобактериозе, трипанозомозе, токсоплазмозе, инфекционном ринотрахеите, парагриппе-3 и вирусной диарее крупного рогатого скота, контагиозной эктиме, инфекционной агалактии и контагиозной плевропневмонии овец и коз, отечной болезни, инфекционном атрофическом рините, дизентерии, трансмиссивном гастроэнтерите, балантидиозе, гемофильной плевропневмонии и роже свиней, ринопневмонии лошадей, миксоматозе кроликов, микоплазмозе птицы, а также текущей дезинфекции при болезнях, указанных в п 4.3.4 (кроме туберкулеза, споровых и экзотических инфекций).

3.4 По наличию или отсутствию стафилококков контролируют качество текущей дезинфекции при туберкулезе, болезнях, вызываемых спорообразующими микроорганизмами, и экзотических инфекциях; заключительной дезинфекции при аденовирусных инфекциях, ящуре, оспе, туляремии, орнитозе (пситтакозе), диплококкозе, стафилококкозе, стрептококкозе, некробактериозе, катаральной лихорадке, бешенстве, чуме всех видов животных, злокачественной катаральной горячке, ринопневмонии и паратуберкулезном энтерите крупного рогатого скота, инфекционной катаральной лихорадке, копытной гнили и инфекционном мастите овец, везикулярной болез-

ни свиней, инфекционной анемии, инфекционном энцефаломиелите, эпизоотическом лимфангите, сапе и мыте лошадей, гепатите утят, вирусном энтерите гусят, инфекционном бронхите, ларинготрахеите, болезни Марека, болезни Гамборо, инфекционном энцефаломиелите, ньюкаслской болезни, вирусном энтерите, алеутской болезни, псевдомонозе и инфекционном гепатите плотоядных, хламидиозах, риккетсиозах, энтеровирусных инфекциях, гриппе сельскохозяйственных животных и птицы, дерматофитозах животных и птицы, актиномикозе крупного рогатого скота, а также болезнях, вызываемых неклассифицированными вирусами, и дезинфекции вагонов второй категории. Качество заключительной дезинфекции при дерматофитозах (трихофитии, микроспории, парша и др.) контролируют также по выделению соответствующих возбудителей (грибов).

3.5 Качество заключительной дезинфекции при туберкулезе контролируют по выделению стафилококков и микобактерий, а при сибирской язве, эмфизематозном карбункуле, бродзоте, злокачественном отеке, других споровых инфекциях и экзотических инфекциях, вагонов третьей категории - по наличию или отсутствию спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*.

4 ОТБОР ПРОБ ДЛЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Отбирают пробы для бактериологического контроля и доставляют их в лабораторию специалисты, работающие в ней, не несущие ответственность за её проведение.

4.2 Отбор проб проводят по истечении срока экспозиции, указанного в наставлении по применению каждого конкретного препарата или средства, до начала проветривания помещений; при дезинфекции спецодежды - по окончании цикла обработки (обеззараживания, стирки, ополаскивания и отжима).

4.3 Пробы-смывы (отпечатки) или соскобы для исследования берут с 10-20 различных участков поверхности животноводческого помещения (полов, стойл, проходов, стен, перегородок, столбов, кормушек, поилок и т.д.). При наличии на объекте участков поверхности с механическими загрязнениями пробы материала для исследования берут методом соскобов.

При контроле качества дезинфекции других объектов ветеринарного надзора пробы берут с 10-20 различных наименее доступных для дезинфекции участков поверхностей каждого помещения.

4.4 Для контроля качества текущей и заключительной дезинфекции при туберкулезе с каждого вида поверхности берут по пять смывов, которые объединяют в одну пробу. Из каждого помещения отбирают не менее 10 объединенных проб, в том числе по три пробы с пола и кормушек.

При заключительной дезинфекции одновременно берут пробы с территории фермы в разных направлениях от углов здания и от центра каждой

стены на расстоянии 5, 10 и 15 м (с учетом рельефа местности). Всего с прилегающей территории отбирают не менее 24 проб. Поверхностный слой грунта разрыхляют чистым скальпелем или ножом на глубину 3-5 см и отбирают в стерильную посуду 10-20 г исследуемого материала. Если прилегающая территория имеет твердое покрытие, пробы отбирают методом смывов.

4.5 Пробы-смывы отбирают стерильными ватно-марлевыми тампонами, смоченными в стерильном нейтрализующем растворе или воде после проведения дезинфекции и последующей экспозиции с участков, подвергаемых контролю.

Участки площадью 10x10 см тщательно протирают до полного снятия с поверхности всех имеющихся на ней загрязнений, после чего тампоны помещают в пробирку с нейтрализующей жидкостью. Плотные загрязнения (корочки) снимают с помощью стерильного скальпеля и переносят в эту же пробирку.

4.5.1 Ватные или марлевые тампоны для взятия смывов монтируют на алюминиевой проволоке или деревянном стержне, пропущенных через резиновую пробку. В пробирки разливают по 10 мл физиологического раствора, закрывают резиновыми пробками с вмонтированными тампонами и автоклавируют при 1 атм и течение 30 мин.

4.6 Пробы-отпечатки с нанесенной на предметное стекло тонким слоем плотной питательной среды отбирают путем накладывания их на исследуемый объект таким образом, чтобы питательная среда соприкасалась с его поверхностью. Через 2 минуты пробы-отпечатки отделяют от контролируемого объекта и помещают в ванны или пробирки, в которых их транспортировали. При взятии проб с труднодоступных или вертикальных поверхностей время контакта слоя питательной среды с объектом сокращается до 30 секунд.

4.7 Для нейтрализации хлорактивных препаратов служит раствор тиосульфата натрия (можно гипосульфит); препаратов на основе гидроокиси натрия, едкого калия, кальцинированной соды и других щелочных препаратов - уксусная кислота; формалина, параформа и других формальдегидсодержащих средств - аммиак; препаратов на основе глутарового альдегида - пиросульфит натрия; препаратов на основе перекиси водорода и органических кислот - бикарбонат натрия; препаратов из группы четвертичных соединений аммония - алкилсульфат, алкилсульфонат. Концентрация растворов нейтрализаторов должна быть в 10 раз меньше, чем дезинфицирующего препарата.

При использовании для дезинфекции щелочного раствора формальдегида участки сначала увлажняют раствором аммиака, затем дополнительно раствором уксусной кислоты.

При дезинфекции препаратами, для которых нет нейтрализаторов, применяют стерильную водопроводную воду или инактивирующую практи-

чески все классы дезинфицирующих препаратов смесь, состоящую из 3% твина-80 и 0,1% концентраций сапонины, цистеина и гистидина.

4.7.1 Нейтрализующие растворы готовят в концентрации в 10 раз меньше, чем концентрация использованного дезинфицирующего средства.

Раствор делают на стерильной воде в стерильной посуде и разливают в пробирки или флаконы с соблюдением правил стерильности (растворы уксусной кислоты и бикарбоната натрия можно стерилизовать автоклавированием). Раствор аммиака стерилизации не подлежит. Готовые пробирки (флаконы) можно хранить в течение пяти дней при комнатной температуре.

4.8 Пробы-смывы должны быть доставлены в лабораторию в течение 3-6 ч с момента взятия, пробы-отпечатки - не позднее 2 ч.

5 МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ ПОМЕЩЕНИЙ

5.1 Метод исследования смывов

5.1.1 Пробы, каждую в отдельности, отмывают в той же пробирке путем нескольких погружений и отжатий тампона. Последний удаляют, а жидкость центрифугируют 20-30 мин при 3000-3500 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливают, в пробирку наливают такое же количество стерильной воды, содержимое смешивают и снова центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают, а из центрифугата делают посевы

При наличии в смыве грубых механических примесей их растирают в пробирке стерильной стеклянной палочкой, после чего смыв переносят в центрифужную пробирку.

5.1.2 Для индикации кишечной палочки 0,3-0,5 мл центрифугата высевают в пробирки с модифицированной средой Хейфеца или КОДА- Посевы выдерживают 12-18 ч в термостате при температуре 37-38°C. Изменение зеленого цвета сред в желтый с помутнением их и образованием газа свидетельствует о наличии роста кишечной палочки. Другие изменения цвета (желтоватый, розовый, сероватый), наблюдаемые при росте микроорганизмов других видов, не учитывают.

В сомнительных случаях делают подтверждающий посев с жидких сред на агар Эндо. Посевы инкубируют 12-16 ч при температуре 37-38°C.

5.1.3 Для индикации стафилококков 0,3-0,5 мл центрифугата высевают в 5 мл мясопептонного бульона с 6,5% хлористого натрия. Через 24-40 ч инкубирования посевов при температуре 37-38°C делают пересевы бактериологической петлей на 8,5%-ный солевой мясопептонный агар. Посевы выдерживают в термостате 24-48 ч при температуре 37-38°C. Из выросших культур для подтверждения роста стафилококков готовят мазки, окрашивают по Грамму и микроскопируют.

5.1.4 Для индикации спорообразующих аэробов смывы обрабатывают, как указано в п. 5.1.1., но перед центрифугированием их прогревают 30 мин на водяной бане при 65°C, затем центрифугируют. Из центрифугата

каждой пробы делают посевы в одну пробирку с мясопептонным бульоном (МПБ) и на две чашки с мясопептонным агаром (МПА).

Для контроля качества дезинфекции при сибирской язве МПА может быть заменен дифференциально-диагностической средой. Посевы инкубируют 24-48 ч в термостате при 37°C. При наличии роста на МПА подсчитывают колонии и изучают морфологию их при малом увеличении микроскопа. В случае возникновения подозрения на выделение возбудителя сибирской язвы идентификацию такой культуры проводят по действующей методике.

При наличии роста на дифференциально-диагностической среде в крышку чашки Петри вносят 1-2 мл культуры при 20+2 °С в течение 1 мин, после чего визуально или под малым увеличением микроскопа проводят учет теста. Под действием паров аммиака происходит порозовение колоний микроорганизмов, обладающих фосфатазной активностью. *Vac.anthraxis* фосфатазной активностью не обладают и его колонии остаются бесцветными. При отсутствии роста или характерных колоний на плотных средах и наличии роста в МПБ делают дробные посевы из МПБ на плотную питательную среду.

5.1.5 При просмотре посевов учитывают общее число проб, в которых обнаружен рост санитарно-показательных микроорганизмов, а при споровой инфекции - и колонии непатогенных спорообразующих аэробов рода *Bacillus*.

5.2. Метод отпечатков на тонкий слой плотной питательной среды

5.2.1 Метод отпечатков приемлем в условиях промышленного ведения животноводства на комплексах, птицефабриках и других объектах, где имеются свои лаборатории.

5.2.2 Ванны и пробирки с пробами-отпечатками, доставленные в лабораторию, помещают на 16-18 ч в термостат при температуре 37°C.

5.2.3 После инкубирования пробы просматривают невооруженным глазом на наличие роста.

При отсутствии макроколоний и изменения среды пробы дальнейшим исследованиям не подвергают. В сомнительных случаях, когда отсутствует рост макроколоний, но изменены цвет или прозрачность среды, пробы-отпечатки высушивают на воздухе до полного подсыхания среды, фиксируют над пламенем, окрашивают по Муромцеву и микроскопируют с целью обнаружения микроколоний.

5.2.4 Учитывают общее число отпечатков, в которых обнаружен рост микроорганизмов.

5.3 Контроль качества заключительной дезинфекции при туберкулезе

5.3.1 Контроль качества заключительной дезинфекции при туберкулезе проводят параллельно двумя методами по выделению стафилококков (исследуются смывы) и микобактерий (исследуются соскобы).

5.3.2. Смывы обрабатывают, как указано в п. 5.1.1. Из центрифугата каждой объединенной пробы делают высев на среды для выделения стафи-

лококков (п. 5.1.3), а для выделения микобактерий готовят по шесть мазков на узких (1,2x7,5 см) предметных стеклах (п. 5.3.2.1). Пробы-соскобы подготавливают, как указано в п. 5.3.3. Мазки высушивают при комнатной температуре или в термостате в течение 2-3 ч, складывают их по два тыльной стороной и погружают в 8-12%-ный раствор серной кислоты на 15 минут. После этого стекла-мазки берут пинцетом и погружают на 5-10 секунд в стерильную дистиллированную воду, а затем переносят в пробирки со средой Сотона и помешают на 12 суток в термостат при 37-38°C.

5.3.2.1 Подготовка стекол для микрокультивирования микобактерий

Предметные стекла разрезают вдоль на узкие полоски размером 1,2x7,5 см, моют и помещают на 2 ч в хромпик (40 г двуххромовокислового калия высыпает в фарфоровую кружку или эксикатор и растворяют в небольшом количестве воды, затем осторожно добавляют концентрированную серную кислоту до общего объема 1 л).

После хромпика стекла вновь моют дистиллированной водой, протирают чистой льняной тканью, стерилизуют сухим жаром (160 °C) 2 ч и хранят в закрытых сосудах (эксикаторах).

5.3.3 Пробы почвы с прилегающей территории и соскобов с поверхности помещений (каждую в отдельности) помещают в колбу, заливают двух-трехкратным количеством дистиллированной воды, взбалтывают и фильтруют через двойной слой марли в узкогорлую колбу вместимостью 200-250 мл. К фильтрату добавляют 2-3 мл ксилола или авиационного бензина, встряхивают 5-10 минут и доливают дистиллированную воду до горлышка. Содержимое отстаивают 30 минут с целью получения флотата, из которого готовят мазки на узких предметных стеклах (п. 5.3.2.1).

5.3.4 При наличии роста стафилококков хотя бы в одной исследованной пробе, качество дезинфекции признают неудовлетворительным и дальнейшее исследование по выделению микобактерий прекращают.

5.3.5 Стекла с мазками извлекают из пробирок на 6-й, 8-й и 12-й день культивирования, высушивают, фиксируют, окрашивают по методу Циль-Нильсена и микроскопируют для обнаружения микроколоний микобактерий.

5.4 Оценка результатов контроля качества дезинфекции помещений

5.4.1 Качество профилактической дезинфекции помещений для содержания молодняка скота (птицы), взрослого поголовья и текущей дезинфекции изолированных секций (боксов, скотных дворов) с автономной системой жизнеобеспечения животных признают удовлетворительным при отсутствии роста санитарно-показательных микроорганизмов в 80% исследованных проб.

5.4.2 Качество текущей дезинфекции частично освобожденных от животных или неизолированных помещений признается удовлетворительным в случае выделения санитарно-показательных микроорганизмов из 30% исследованных проб.

5.4.3 Качество заключительной дезинфекции при ее контроле по выделению бактерий группы кишечной палочки, стафилококков, грибов и микобактерий признают удовлетворительным при отсутствии выделения названных культур во всех исследованных пробах.

5.4.3 При споровых инфекциях качество заключительной дезинфекции признают удовлетворительным при отсутствии роста *Bac.antracis*. При прямом посеве на МПА допускается рост не более трех колоний непатогенных спорообразующих аэробов рода *Bacillus* в смыве.

5.5 Метод бактериологического исследования воздуха помещений при проведении аэрозольной дезинфекции, в том числе в присутствии животных

5.5.1 Метод бактериологического исследования воздуха помещений осаждением (седиментационный метод по Коху) включает расстановку чашек Петри со стерильной питательной средой в нескольких местах помещения (в торцах, середине здания) на высоте нахождения животных.

В качестве питательной среды используют мясопептонный агар - для определения общей микробной обсемененности воздуха, молочно-солевой агар - для стафилококков, среду Эндо - для кишечной микрофлоры, среду Чапека или Сабуро - для спор грибов.

5.5.2 При определении микробной обсемененности воздуха чашки с питательной средой оставляют открытыми на 5 - 10 минут или дольше в зависимости от степени предполагаемого загрязнения. Затем чашки закрывают и помещают в термостат при температуре 37°C на 24 - 48 ч для бактерий, при температуре 20 - 25°C на 10 суток - для грибов, после чего подсчитывают количество выросших колоний.

5.5.3 Количество микрофлоры в воздухе рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{Ax100}{V \times T}, \text{ где}$$

V x T

X - количество микробных клеток в 1 м³;

A - количество выросших колоний в чашке Петри;

1001 - перерасчет на площадь 100 см²;

5 - время экспозиции, минут;

1002 - перерасчет 10 л воздуха на 1 м³;

V - площадь чашки Петри, см²;

T - время, в течение которого чашка Петри была открыта.

Принято считать, что на площади 100 см² за 5 минут из воздуха оседает примерно столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха.

5.5.4 Для более точного подсчета количества микроорганизмов в воздухе могут использоваться аппарат Кротова или другие устройства согласно инструкции по применению.

5.6 Контроль качества профилактической аэрозольной дезинфекции, проводимой формальдегидом (параформальдегидом)

5.6.1 Метод предназначен для быстрого (непосредственно после окончания экспозиции дезинфекции) контроля качества аэрозольной дезинфекции животноводческих помещений, проводимой формалином.

5.6.2 Метод основан на окрашивании индикаторной среды под воздействием газовой и капельной фаз аэрозоля формальдегида. В качестве индикатора используют среду Эндо, которая под воздействием формальдегида в процессе аэрозольной дезинфекции приобретает резко очерченное красное окрашивание

5.6.3 Перед проведением дезинфекции индикаторные пробирки (**приложение 3, п. 3.5**) размещают на полу, стенах и потолке помещения и на находящемся в нем оборудовании. Прикрепляют индикаторные пробирки с помощью пластилина, липкой ленты или других средств в труднодоступных местах (внутри оборудования, у щелей и т.д.). На одно помещение требуется в среднем 10-15 пробирок.

Перед размещением с пробирок снимают парафиновые колпачки. На полу помещения пробирки устанавливают, а на стенах прикрепляют открытым концом вверх, на потолке фиксируют открытым концом вниз.

5.6.4 Оценку качества дезинфекции проводят непосредственно после окончания экспозиции (12 или 24 ч). Линейкой с миллиметровой шкалой измеряют длину окрашенного столбика индикаторной среды, начиная с обреза пробирки. Дезинфекцию считают удовлетворительной, если глубина окрашивания среды после экспозиции 12 ч составляет не менее 18 мм, а после экспозиции 24 ч - 30 мм.

6 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ СПЕЦОДЕЖДЫ

6.1 Качество дезинфекции спецодежды, мешкотары и прочих изделий из тканевых материалов, подвергаемых обеззараживанию в камерах, методом замачивания в дезинфицирующем растворе, кипячением или по режимам одновременной стирки и дезинфекции, контролируют по выделению тест-культур микроорганизмов из тест-объектов, закладываемых в подлежащий обеззараживанию материал.

6.2 При контроле качества дезинфекции в очагах бактериальных (кроме туберкулеза) и вирусных инфекций в качестве тест-культуры используют музейные штаммы кишечной палочки, в очагах туберкулеза и малоизученных вирусных инфекций - золотистого стафилококка, в очагах споровых инфекций - *Vac.cereus*.

6.3 В качестве тест-объектов используют кусочки батистовой ткани, пропитанной соответствующей тест-культурой (**приложение 4**).

6.4 Тест-объекты (по 2 шт.) закладывают в стерильные мешочки размером 5x8 см, изготовленные в виде конверта из той же ткани, что и подлежащие обеззараживанию изделия. Мешочки с вложенными в них тест-

объектами помещают в карман спецодежды или пришивают нитками к подлежащим обеззараживанию изделиям.

При дезинфекции (методом замачивания в дезинфицирующих растворах, или кипячением) изделия с заложенными в них тест-объектами размещают послойно внизу, в середине и в верхней части емкости, а при обеззараживании в камере - в разных местах ее.

6.5 По истечении экспозиции дезинфекции или цикла стирка-отполаскивание-отжим при использовании метода одновременного обеззараживания и стирки мешочки с тест-объектами помещают в стерильные чашки Петри и доставляют в лабораторию для исследования.

В лаборатории после извлечения из мешочка каждый тест-объект промывают 5 мин в растворе соответствующего нейтрализатора (п. 4.7) и стерильной водопроводной воде (или дважды в воде, если нейтрализатор неизвестен), и помещают в пробирку с соответствующей питательной средой. Если дезинфекцию проводили методом кипячения без добавления кальцинированной соды, дополнительного промывания тест-объектов не требуется.

6.6 При контроле качества дезинфекции по выделению кишечной палочки посев проводят в среду КОДА или модифицированную среду Хейфеца, для выделения стафилококка - в солевой МПБ, для выделения *Vac.segeus* - в МПБ (пп. 3.1-3.4. приложения 3).

8.7 Качество дезинфекции признают удовлетворительным при отсутствии роста тест-культуры во всех пробах.

7 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ НАВОЗА, ПОМЕТА И СТОКОВ

7.1 Контроль за эффективностью обеззараживания навоза, помета и навозных стоков осуществляют микробиологическими методами по выживаемости индикаторных (санитарно-показательных) микроорганизмов: бактерий группы кишечной палочки, стафилококков и спор рода *Bacillus*.

7.2 При анаэробной ферментации жидкого навоза и помета контроль обеззараживания проводят по выживаемости стафилококков и энтерококков.

7.3 При контаминации навоза, помета и стоков возбудителем туберкулеза качество обеззараживания их контролируют по выживаемости стафилококков и энтерококков.

7.4 Качество обеззараживания при обсеменении органических отходов спорообразующими возбудителями сибирской язвы, ЭМКРА, бродзота, злокачественного отека, а также возбудителями экзотических инфекций контролируют по наличию или отсутствию аэробных спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*.

7.5 Пробы навоза, помета, стоков и их фракций отбирают из верхних, средних и нижних слоев масс в технологической системе удаления, обработки (подготовки) и хранения навоза, помета и стоков - из основных точек

(сооружений) технологической линии, включая исходные образцы, при выходе стоков из производственной зоны животноводческих объектов.

7.6 Обеззараживание органических отходов считают эффективным при отсутствии в 10 г (куб. см) пробы кишечных палочек, стафилококков, энтерококков или аэробных спорообразующих микроорганизмов в зависимости от вида возбудителей инфекционных болезней при трехкратном исследовании.

8 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ДЕЗИНФЕКЦИИ ТРАНСПОРТНЫХ СРЕДСТВ

8.1 Контроль качества дезинфекции осуществляется периодически, но не менее 2-3 раз в месяц, а также при возникновении необходимости и по требованию ветеринарной службы. Исследования проводят в объеме 3-5% транспортных средств от суточной нормы их обработки.

8.2 После мойки, перед дезинфекцией транспортных средств в них закладывают деревянные тест-объекты (по 3 на каждый объект: пол, стены и потолок) или с помощью трафаретов на поверхностях очерчивают квадраты размером 10x10 см, которые контаминируют суточной культурой золотистого стафилококка или 7-суточной культурой антракоида при спорообразовании не менее 90%. Культуры наносят из расчета 20 млн. микробных клеток на 1 см² поверхности. В качестве белковой нагрузки используют 0,3 г стерильного навоза на 100 см² поверхности или 1 мл сыворотки крови крупного рогатого скота.

8.3 По истечении экспозиции дезинфекции и времени нейтрализации с поверхности тест-объекта или поверхности транспортного средства отбирают пробы тщательным протирающим стерильными ватными тампонами, предварительно смоченными раствором нейтрализатора.

8.4 Каждый в отдельности тампон обрабатывают, как указано в п. 5.1.1, а из центрифугата делают посева на соответствующие среды - пл. 5.1.3, 5.1.4.

8.5 Проведенная дезинфекция признается удовлетворительной, если нет роста тест-микробов во всех исследуемых пробах.

9 КОНТРОЛЬ САНИТАРНОЙ ОБРАБОТКИ ДОИЛЬНОГО ОБОРУДОВАНИЯ

9.1 Контроль санитарного состояния доильного оборудования и молочной посуды осуществляют путем визуального осмотра и бактериологического исследования смывов с их рабочих поверхностей.

9.2 Визуальный контроль проводят доярки (операторы машинного доения) ежедневно в период между дойками коров. При этом в первую очередь обращают внимание на труднодоступные для мойки места: в доильных аппаратах - внутренняя поверхность сосковой резины, коллектора и шлан-

гов; на доильных установках - внутренняя поверхность молокопровода, фильтра и резиновых шлангов. При этом чистоту непрозрачных трубопроводов и шлангов проверяют путем пробного протирания их внутренних поверхностей ершом с удлиненной ручкой.

При наличии на поверхности оборудования видимых следов молочных остатков, неприятного запаха слизистых или минерализованных отложений санитарное состояние считается неудовлетворительным. Такое оборудование не используется до полного удаления указанных загрязнений.

9.3 Общее бактериальное обсеменение смывов с рабочих поверхностей молочного оборудования определяют ветеринарные специалисты в тех случаях, когда проводится контроль за качеством его санитарной обработки и когда необходимо устанавливать причину микробного обсеменения молока.

9.4 Смывы берут перед очередным доением коров стерильными ватными тампонами путем двукратного протирания во взаимно перпендикулярных направлениях со 100 см^2 площади обследуемого объекта. Смывы с некоторых узлов доильных аппаратов берут без учета площади: со всей поверхности коллектора и на длину стерженька тампона (12 см) при обследовании трубопроводов, резиновых шлангов и сосковой резины.

Для изготовления тампонов используют алюминиевые, деревянные или из нержавеющей стали стерженьки, на одном конце которых находится ватный валик 30×5 мм для взятия смыва а на другом - пробка. Расстояние от пробки до валика 12 см. Тампоны вставляют в пробирки, заворачивают в бумагу и стерилизуют в автоклаве при 1,0 атм, температуре 120°C и экспозиции 40 минут.

Непосредственно перед взятием смыва тампон переносят в пробирку с 10 см^3 стерильного физраствора отжимают о стенку пробирки от избытка влаги. После взятия смыва тампон погружают в эту же пробирку, устанавливают вертикально в термос со льдом и в таком положении транспортируют для исследования в ветеринарную лабораторию.

9.5 С целью получения изолированного роста колоний микробов смывную жидкость предварительно разводят в стерильной водопроводной воде или физиологическом растворе. Для этого из пробирки после тщательного отмывания и отжата тампона стерильной пипеткой переносят 1 см^3 содержимого в пробирку с 9 см^3 воды или физраствора, получая разведение 1:10. Новой стерильной пипеткой перемешивают содержимое первой пробирки и переносят 1 см^3 его во вторую пробирку и т.д. При этом получают разведение 1:100, 1:1000, 1:10 000. Из трех последних разведений по 1 см^3 жидкости переносят в стерильные бактериологические чашки Петри и заливают расплавленным и охлажденным до $40-45^\circ\text{C}$ мясопептонным агаром. Для получения более точных результатов посев из каждого разведения осуществляют в 3 чашки. После застывания и маркировки чашки помещают в термостат с температурой 37°C , а спустя 24-48 ч подсчитывают выросшие

колонии. На контроль берут чашки, на которых выросло 30-300 колоний и более.

9.6 Для подсчета общего количества бактерий в 1 см^3 образца число колоний, выросших на каждой чашке, умножают на соответствующее разведение. Выводят среднее арифметическое. Если смыв брали с площади 100 см^2 , чтобы выразить общую бактериальную обсемененность объекта на 1 см^2 , количество бактерий выросшее на 1 см^3 смыва умножают на 0,1. Для определения колититра 1 см^3 смыва вносят в пробирку с 5 см^3 среды КОДА, во вторую пробирку - 1 см^3 смыва после разведения 1:10. Пробирки помещают в термостат на 24 ч при температуре 37°C . Изменение цвета среды до зеленого, желто-зеленого или салатового свидетельствует о наличии бактерий группы кишечной палочки. Коли-титром считают то наименьшее количество смыва, выраженное в см^3 , в котором обнаружены бактерии группы кишечной палочки. Наличие патогенной микрофлоры в смывах определяют посевом на среду Булира.

9.7 Согласно Ветеринарно-санитарным правилам для молочно-товарных сельскохозяйственных организаций, личных подсобных и крестьянских (фермерских) хозяйств по производству молока (2005г.), микробная обсемененность исследуемой поверхности доильных установок не должна превышать 100 микробных клеток на 1 см^2 , коли-титр должен быть более 1. Патогенная микрофлора не допускается.

9.8 Осуществляется санитарно-бактериологический анализ воды, используемой для санитарной обработки молочного технологического оборудования на ферме, 1 раз в квартал согласно ГОСТ 18963.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Методы определения действующего вещества в дезинфицирующих средствах

1 Определение массовой доли натра едкого в препарате и его растворах

1.1 Аппаратура, реактивы и растворы.

Весы лабораторные общего назначения (ГОСТ 24104-88) с наибольшим пределом взвешивания 500 г, третьего класса точности.

Колба (ГОСТ 1770-74) исполнения 1 или 3, вместимостью 500 см³.

Пипетки (ГОСТ 29169-91) вместимостью 20 и 25 см³.

Бюретка (ГОСТ 20292-74) вместимостью 50 см³, ценой деления 0,1 см³.

Кислота соляная (ГОСТ 3118-77), химически чиста (х.ч.) или чистая для анализа (ч.да.), раствор концентрации 1 моль/дм³.

Барий хлористый (ГОСТ 4108-72) х.ч. или ч.д.а, 10%-ный раствор, предварительно нейтрализованный по фенолфталеину.

Фенолфталеин (ГФХ, стр. 830), 1%-ный спиртовой раствор.

Вода дистиллированная, не содержащая СО₂ (ГОСТ 6709-72).

1.2 Подготовка к анализу.

1.2.1 Приготовление анализируемого раствора твердого препарата.

Перед взятием навески с пробы препарата удаляют верхний выветрившийся слой. В стаканчик для взвешивания быстро отбирают около 20 г препарата и взвешивают. Навеску переносят в мерную колбу, приливают 300-400 см³ воды, растворяют, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

1.2.2 Приготовление анализируемого раствора жидкого препарата:

25 см³ препарата отбирают в предварительно взвешенный стакан вместимостью 100 см³, взвешивают, количественно переносят в мерную колбу, разбавляют водой до метки и перемешивают (раствор Б).

Растворы А и Б готовят из двух параллельных навесок.

1.3 Проведение анализа.

25 см³ раствора А и Б помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³, добавляют по 25 см³ каждого раствора хлористого бария, перемешивают и закрывают пробкой. Через 5 мин вводят две-три капли раствора фенолфталеина и титруют раствором соляной кислоты до обесцвечивания индикатора.

1.4 Обработка результатов.

Массовую долю натра едкого (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V - 0,04 - 500 - 100}{25m}$$

где:

V - объем раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование, см³,

m - масса навески, взятой для приготовления растворов А и Б, г;

0,04 - масса натрия едкого, соответствующая 1 см³ раствора соляной кислоты, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не превышают 0,2%.

2 Определение содержания формальдегида в формалине техническом, параформе и их растворах

2.1 Реактивы и растворы.

Кислота соляная (ГОСТ 3118-77), ч.д.а., или кислота серная (ГОСТ 4204-77), ч.д.а., растворы концентрации 1 и 0,1 моль/дм³.

Натрия гидроокись (ГОСТ 4328-77), ч.д.а., раствор концентрации 0,1 моль/дм³.

Натрий серноокислый - сульфит натрия (ГОСТ 195-77 или ГОСТ 429-76), ч.д.а., раствор безводного сульфита натрия 126 г или кристаллического 252 г растворяют в воде используя мерную колбу вместимостью 1 дм³ с последующим тщательным перемешиванием.

Тимолфталейн, ГФХ, стр.828,0,2%-ный раствор.

Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

2.2 Проведете анализа.

1,5-1,8 г формалина или 0,5-0,6 г параформа взвешивают в колбе с пробкой, содержащей 10 см³ дистиллированной воды результат взвешивания записывают до четвертого десятичного знака. При определении содержания формальдегида в рабочих растворах для исследования берут 5-25 см³ формалина или параформа в зависимости от предполагаемой их концентрации. К полученному раствору прибавляют две капли тимолфталейна и нейтрализуют раствором соляной или серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм³ ДО исчезновения голубой окраски или раствором гидроокиси натрия до появления бледно-голубой окраски.

Нейтральный раствор сульфита натрия переливают в колбу с навеской, перемешивают в течение 2 минут и титруют раствором соляной или серной кислоты концентрации 1 моль/дм³ до исчезновения голубой окраски.

2.3 Обработка результатов.

Массовую долю формальдегида (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,03003 \cdot 100}{m}$$

где: V - объем раствора соляной или серной кислоты концентрации точно 1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³;

0,03003 - масса формальдегида, соответствующая 1 см³ раствора соляной или серной кислоты - концентрации 1 моль/дм³, г;

m - масса анализируемой пробы, г.; ЮО-%.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не превышают 0,2%.

Результат округляют до первого десятичного знака.

3 Определение массовой доли углекислого натрия в кальцинированной соде (технической)

3.1 Реактивы и растворы.

Кислота серная (ГОСТ 4204-77), раствор в концентрации 1 моль/дм³.

Метиловый оранжевый (индикатор), 0,1%-ный водный раствор.

Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

3.2 Проведение анализа.

Взвешивают 2,3-2,5 г кальцинированной соды прокаленной при 270-300°C до постоянной массы, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³, растворяют в 20 см³ воды и титруют раствором серной кислоты в присутствии метилового оранжевого до изменения окраски раствора из желтой в оранжево-розовую.

3.3 Обработка результатов.

Массовую долю углекислого натрия (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{m \cdot 100}{0,05299 \cdot V}$$

m

где: V - объем раствора серной кислоты концентрации 1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³;

0,05299 - масса углекислого натрия, соответствующая 1 см³ раствора серной кислоты концентрации 1 моль/дм³;

m - масса навески кальцинированной соды, г.

100—%

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2%

4 Определение массовой доли перекиси водорода в препарате и его растворах

4.1 Реактивы и растворы

Калий марганцево-кислый (ГОСТ 20490-76), х.ч., 0,1 н раствор.

Серная кислота (ГОСТ 4204-77), х.ч., раствор 1:4.

Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

4.2 Проведение анализа.

0,15-0,20 г перекиси водорода или 1-2 мл рабочего раствора, взятые с погрешностью не более 0,0002 г (или 0,01 мл), помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³. Вносят 25 см³ воды, 20 см³ серной кислоты и титруют раствором марганцево-кислого калия до розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Одновременно проводят контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без анализируемого препарата.

4.3 Обработка результата*.

Массовую долю перекиси водорода (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$\frac{V_-(Y- Vx)}{m} \quad 0,0017$$

где: V - объем 0,1 н раствора марганцево-кислого калия, израсходованный на титрование анализируемого раствора, см³;

V_j - объем 0,1 н раствора марганцево-кислого калия, израсходованный на титрование контрольного опыта, см³;

0,0017 - масса перекиси водорода, соответствующая 1 см³ 0,1 н раствора марганцево-кислого калия, г;

m - масса навески (г) или объем раствора (мл), взятых для анализа; 100-%

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1%.

5 Определение массовой доли глутарового альдегида в препарате и его растворах

5.1 Реактивы и растворы

Пиросульфит натрия - Na₂S₂O₂ (ГОСТ 10575-76).

Йод (ГОСТ 4159-79) 0,1 н раствор.

Вода дистиллированная (ГОСТ J6709-72).

Раствор бисульфита натрия (NaHSO₃) готовят путем растворения в воде пиросульфита натрия из расчета 4 г Na₂S₂O₂ на 1 дм³ воды. Пиросульфит натрия взвешивают и растворяют в дистиллированной воде при тщательном перемешивании. Хранят в посуде, плотно закрытой пробкой.

5.2 Проведете анализа.

В три конические колбы мерной пипеткой вносят 25 см³ раствора бисульфита натрия, закрывают их притертыми пробками. Затем в колбы с бисульфитом натрия добавляют пробы анализируемого раствора глутарового альдегида (содержание около 0,025 г глутарового альдегида), взвешенные на аналитических весах с погрешностью не более 0,0002 г. Колбы оставляют при комнатной температуре на 30 мин, после чего непрореагировавший бисульфит натрия оттитровывают 0,1 н раствором йода до появления желтой окраски раствора.

Параллельно с рабочим проводят контрольный опыт, для чего в три конические колбы вносят по 25 см³ раствора бисульфита натрия и оттитровывают их 0,1 н раствором йода до появления желтого окрашивания. Ввиду большой смачиваемости стенок бюретки раствором йода (во избежание большой ошибки) титрование ведут при одинаковой скорости раствора йода во время рабочего и контрольного определений.

5.3 Обработка результатов анализа

Массовую долю глутарового альдегида определяют по формуле:

$$Y = \frac{0,25 \cdot K \cdot (V - V^x)}{m}$$

где X - массовая доля глутарового альдегида, %;

m - навеска раствора глутарового альдегида, г;

K - поправочный коэффициент к титру раствора йода;

V^x - объем раствора йода, пошедшего на титрование 25 см³ раствора бисульфита натрия (контрольной пробы), см³;

V - объем раствора йода, пошедший на титрование рабочей пробы, см³.

За результат анализа принимают среднее арифметическое трех определений, расхождение между максимальным и минимальным значениями которых не должно превышать 3%.

6 Определение массовой доли активного хлора в препаратах и их растворах

6.1 Реактивы и растворы

Вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

Калий йодистый (ГОСТ 4232-74), 10%-ный раствор.

Кислота серная (ГОСТ 4204-77), 5%-ный раствор

Крахмал растворимый (ГОСТ 10163-76), 1%-ный раствор. Натрий серноватисто-кислый (тиосульфат натрия) по стандарту СЭВ 223-75,0,1 н раствор.

6.2 Определение массовой доли активного хлора в хлорной извести, кальция гипохлорите нейтральном и в натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты.

1-1,5 г натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (кальция пшохлорита нейтрального) или 2,2-2,8 г хлорной извести взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в фарфоровую ступку, добавляют 30-40 см³ воды и растирают пестиком до образования однородной массы.

После отстаивания водный слой декантируют в мерную колбу вместимостью 500 см³. К остатку в ступке добавляют около 20 см³ воды, тщательно растирают и переносят всю массу в ту же колбу. В случае исследования натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты навеску сразу переносят в мерную колбу. Объем жидкости в колбе доводят до метки водой, тщательно перемешивают и, не давая осадку осесть, отбирают пипеткой 50 см³ раствора в коническую колбу вместимостью 500 см³. В эту же колбу вносят 10 см³ раствора йодистого калия, перемешивают, прибавляют 50 см³ раствора серной кислоты, закрывают колбу пробкой, снова перемешивают и помещают в темное место. Через 5 мин выделившийся йод титруют раствором серноватисто-кислого натрия до соломенно-желтого цвета, добавляя 1-2 см³ раствора крахмала и продолжают титрование до обесцвечивания раствора.

6.3 *Определение массовой доли активного хлора в растворах вышеуказанных препаратов (п. 6.2) и гипохлорита натрия.*

10 см³ раствора отбирают пипеткой и переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

10 см³ приготовленного раствора переносят пипеткой в коническую колбу вместимостью 250 см³, прибавляют 10 см³ йодистого калия и 20 см³ серной кислоты, перемешивают, закрывают колбу пробкой и ставят в темное место.

Через 5 мин титруют выделившийся йод до обесцвечивания раствора.

6.4. *Обработка результатов*

Массовую долю активного хлора (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,0035453 \cdot A}{m \cdot B} \cdot 100$$

где V- объем 0,1 н раствора серноватистокислового натрия, израсходованный на титрование анализируемой пробы, см³;

0,0035453 - масса активного хлора, соответствующая 1 см³ 0,1 н раствора серноватистокислового натрия, г;

A - исходный объем приготовленного раствора, см³;

m - масса навески препарата, г;

B - масса раствора, взятого для титрования, см³;

ЮО-%.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,3%.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Подготовка материалов для исследования методом отпечатков

3.1 Подготовка предметных стекол

Для исследования используют предметные стекла (размером 2,5x7,5 см) или предметные стекла, разрезанные вдоль на две половинки (1,2x7,5 см). Стекла предварительно кипятят 10-15 минут в 2-5%-ном растворе моющего средства. Затем поверхность предметных стекол с двух сторон натирают с помощью зубной щетки или ерша этим же порошком, слегка увлажненным водой, после чего тщательно промывают в проточной воде, ополаскивают дистиллированной, водой и высушивают на воздухе. Подготовленные стекла хранят в банке с притертой крышкой в сухом виде.

3.2 Обработка ванн и пробирок, предназначенных для транспортировки, хранения и инкубирования проб-отпечатков.

При взятии проб на широкие стекла используют пластмассовые ванны для окраски мазков крови на предметном стекле (ТУ 64-1), на узкие - бактериологические пробирки, закрытые резиновыми пробками.

Пластмассовые ванны разбирают и тщательно моют горячим мыльным раствором, после чего ополаскивают вначале водопроводной водой, затем 70%-ным этиловым спиртом или кипящей дистиллированной водой и обрабатывают в течение 2 часов ультрафиолетовыми лучами. На дно подготовленной ванны помещают стерильную фильтровальную бумагу, затем ванны собирают и закрывают крышками.

Бактериологические пробирки и резиновые пробки моют и стерилизуют общепринятым способом. Перед стерилизацией на дно пробирки помещают небольшой ватный тампон.

3.3 Подготовка предметных стекол со средой.

В стерильном боксе на предметные стекла наносят тонкий слой расплавленной питательной среды: для выделения группы бактерий кишечной палочки используют агар Эндо, стафилококков - 8,5%-ный солевой мясопептонный агар (рН 7,2-7,4). Количество нанесенной среды должно соответствовать 0,15 мл (четыре капли) для узкого предметного стекла и 0,33 мл (восемь капель) - для широкого.

Перед нанесением на стекло среду, находящуюся в пробирках, ставят в водяную баню и расплавляют. Затем в нее погружают стерильную пастеровскую пипетку. Температура воды в бане поддерживают в пределах 80-90°C.

Прогретые над пламенем горелки предметные стекла (берут корнцангом) раскладывают на ровной, строго горизонтальной поверхности стола. На них пипеткой наносят указанное количество питательной среды, отступив на 2-2,5 см от поперечного края стекла. Затем, расположив горизонтально пастеровскую пипетку, питательную среду быстро распределяют по средней трети поверхности стекла и подсушивают при комнатной температуре до появления вокруг питательной среды высушенной полосы шириной

0,5-1 мм. Широкие стекла со средой помещают в пластмассовые ванны, узкие - в пробирки.

Ванны и пробирки предварительно увлажняют путем внесения на дно 1 мл и 0,1 мл стерильной водопроводной воды соответственно.

Для удобства транспортировки ванны устанавливают в боксы, пробирки - в металлические пеналы или в специально приспособленную сумку.

Подготовленные предметные стекла с солевым агаром хранят при температуре 4°C до десяти суток, со средой Эндо - двое-трое суток (если нет видимого изменения цвета среды).

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Приготовление питательных сред

3.1 Среды для выделения кишечной палочки

3.1.1 Модифицированная среда Хейфеца.

К 1 л дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 5 г хлорида натрия и 4 г лактозы. Смесь доводят до кипения, затем фильтруют и после остывания определяют рН, который должен быть 7,4-7,8. Затем к среде добавляют в качестве индикатора 1 мл 5%-ного спиртового раствора розоловой кислоты и 2,3 мл 0,1%-ного водного раствора метиленовой сини. Среду разливают в пробирки по 5 мл и стерилизуют в автоклаве при 0,5 атм 15 мин. Исходный цвет среды - красновато-сиреневый.

3.1.2 Питательная среда КОДА сухая.

Состав и способ приготовления приведены в этикетке на упаковке среды.

3.2 Среды для выделения стафилококка

3.2.1 *Солевой мясопептонный бульон.* К обычному МПБ с рН 7,2-7,4 добавляют 6,5% натрия хлорида х.ч. или ч.д.а., перемешивают до полного растворения соли, разливают в пробирки по 5 мл и стерилизуют при 1 атм 20-30 мин.

3.2.2 *Солевой мясопептонный агар.* К расплавленному МПА добавляют 8,5% натрия хлорида х.ч. или ч.д.а., перемешивают до полного растворения соли, разливают в колбы и стерилизуют при 1 атм 20-30 мин. Перед использованием солевой агар разливают в стерильные бактериологические чашки по 10-15 см. После застывания среду подсушивают в термостате 1 ч.

3.3 Дифференциально-диагностическая среда для индикации *Bacanthracis*

3.3.1 Приготовление растворов ингредиентов

Полимиксина М сульфат во флаконе растворяют в стерильной дистиллированной воде, а затем последовательными разведениями стерильным 0,9%-ным раствором натрия хлорида доводят до концентрации 10000 ЕД/мл

Невиграмон переносят в стеклянный флакон или пробирку и растворяют в 25%-ном водном растворе аммиака при тщательном перемешивании стеклянной палочкой. Затем последовательно разводят стерильным 0,9%-ным раствором натрия хлорида до концентрации 100 мкг/мл.

Моющее средство "Прогресс" растворяют стерильной дистиллированной водой до 0,1%-ной концентрации

Гризеофульвин (в таблетках) тщательно растирают в ступке, затем растворяют в стерильной дистиллированной воде до содержания 100 мкг препарата в 1 мл.

Фенолфталеинфосфат натрия (заводской 10%-ный раствор) стерилизуют 30 мин на водяной бане при 56°C.

3.3.2 Приготовление дифференциально-диагностической среды:

100 мл питательного агара (в колбах) расплавляют в кипящей водяной бане и охлаждают до температуры 45-50°C. Затем в агар добавляют 0,5 мл полимиксина М сульфата, столько же невидграмона, гризеофульвии (при подозрении на загрязнение материала грибами), такое же количество моющего средства «Прогресс» и 0,1 мл фенолфталеинфосфата натрия.

После перемешивания среду разливают в чашки Петри (крышки открыты) и подсушивают 1,5-2 ч. Дифференциально-диагностическую среду после разлива можно хранить в холодильнике в течение одних-двух суток.

3.4 Среда Сотона для выделения микобактерий

В 940 мл дистиллированной воды растворяют 4 г аспарагина, 2 - лимонной кислоты, 0,5 - калия фосфорнокислого двузамещенного, 0,5 - сернокислой магнезии и 0,05 г лимоннокислого аммиачного железа. Затем добавляют 60 мл нейтрального глицерина. После полного растворения аспарагина и солей рН среды должен быть 7,4. Среду разливают по 200 мл в колбы вместимостью 250 мл и стерилизуют 30 мин в автоклаве при давлении 1,5 атм.

Перед использованием в колбу со средой Сотона добавляют 30 мл стерильной сыворотки крови крупного рогатого скота и разливают в стерильные пробирки по 7-8 мл.

3.5 Приготовление индикаторных пробирок для контроля качества дезинфекции аэрозолями формальдегида (параформальдегида)

Индикаторные пробирки - это стеклянные трубки диаметром 4-8 мм и длиной 40-50 мм, в качестве таких пробирок могут быть использованы пробирки Уленгута или отрезки пастеровских пипеток, запаянные с одного конца. Пробирки заливают расплавленной индикаторной средой до уровня обреза пробирок, запечатывают парафином и хранят 1 мес (со дня изготовления) при температуре 0-5 °С.

Для учета результатов без линейки на индикаторные пробирки при их изготовлении можно нанести две риски на расстоянии 18 и 30 мм от среза пробирки.

Для экспресс-метода контроля качества аэрозольной дезинфекции помещений используют среду Эндо, выпускаемую биологической промышленностью в сухом виде; 2%-ную взвесь сухой среды в дистиллированной воде доводят до кипения и пропускают через ватный фильтр, после чего среду заливают в пробирки при помощи пипеток.

3.6 Среды для выращивания грибов

3.6.1 *Среда Сабуро*. К 1,8 г расплавленного агара-агара добавляют 4 г глюкозы, 1 г пептона, перемешивают до полного растворения, добавляют воды до 100 мл, разливают в колбы и стерилизуют при 1 атм 20-30 мин (рН 7,2-7,4).

3.6.2 *Среда Чанека*. На 1л воды добавляют 30 г глюкозы, 2 г натрия азотнокислого, 1 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,5 мг магния сернокислого и калия хлористого, 0,01 г железа сернокислого, смешивают и

добавляют 20 г агар-агара. Разливают в колбы и стерилизуют при 1 атм 20–30 мин (рН 5,2–5,4).

3.7 Сухая среда Булира по Битковой и Иванову

Смешивают 3г маннита, 3г сухого бульона (без солей), 0,4г хлористого натрия и 0,012г нейтральрота. Все ингредиенты тщательно растирают в ступке. 5г полученного порошка при подогревании растворяют в 100 мл дистиллированной воды, затем раствор разливают в пробирки и колбы с поплавками и стерилизуют 20 минут текучим паром.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Подготовка тест-объектов для контроля качества спецодежды

В качестве тест-культур используют музейные штаммы кишечной палочки, золотистого стафилококка и *Vac. cereus*.

Батистовую ткань стирают, гладят, нарезают на кусочки размером 5x10 мм, которые раскладывают по 50 штук в чашки Петри. Чашки завертывают в плотную бумагу и стерилизуют 30 минут в автоклаве при температуре 110°C и давлении 0,5 атм.

Стерильные тест-объекты в той же чашке Петри заливают смесью 2 млрд взвеси тест-культуры и инактивированной сыворотки крови (или 40-50%-ной эмульсии кала животных), взятых в соотношении 1:1 (из расчета 1 мл на 1 тест-объект). Чашку Петри закрывают крышкой и оставляют при комнатной температуре на 20 минут. Затем тест-объекты переносят в другую чашку Петри на поверхность стерильной фильтровальной бумаги, положенной в два слоя на дно чашки, покрывают сверху листом стерильной фильтровальной бумаги, чашку закрывают крышкой. Через 10 минут тест-объекты переносят на поверхность листа стерильной фильтровальной бумаги в **чашки** Петри, подсушивают 20-30 минут в термостате при 37 °С.