

Вр 78
А.С. Руднев
По всем

ГОС.УПРАВЛЕНИЕ
 АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ КОМПЛИКС СССР
 (ГОСАГРОПРОМ СССР)
 ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ
 ВЕТЕРИНАРИИ ГОС.УПРАВЛЕНИЯ
 ВЕТЕРИНАРИИ ГОСАГРОПРОМА СССР
 121019, Москва, Б-19, Комитет Казанская,
 Для связи Москва, Москва-19,
 Главная ветеринария
 Рязанская 123, Лабиринт
 Москва 20: 59 17

432-3



Утверждаю
 Главный ветеринарный врач
 Главного управления
 ветеринарии Госагропрома СССР

Л.П.Маланин :

Л.П.Маланин

1988 г.

№ _____

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
 по контролю качества дезин-
 фекции объектов, подлежащих
 ветеринарному надзору

1. Общая часть.

1.1. Настоящие методические указания определяют порядок и методы контроля качества профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции объектов, подлежащих ветеринарному надзору.

1.2. Методические указания предназначены для специалистов ветеринарных лабораторий, а также лабораторий хозяйств, ДПС и предприятий по производству и переработке мяса и сырья животного происхождения.

1.3. Контроль качества проводят в три этапа.

1.3.1. Контроль подготовки объектов к дезинфекции (проверяют степень очистки поверхностей, их увлажненность, защиту электрооборудования и приборов, герметизацию помещений) осуществляет ветеринарный специалист, ответственный за проведение дезинфекции.

1.3.2. Контроль за соблюдением установленных режимов дезинфекции (выбор препарата и метода дезинфекции, концентрация, температура раствора, равномерность увлажнения поверхностей дезраствором, соблюдение параметров производительности используемых ма-

ОС НТИ "Техэксперт"

2

шин и аппаратов, качество распыла раствора) осуществляет ветеринарный специалист, ответственный за выполнение дезинфекции.

1.3.3. 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.

1.3.3.1. Бактериологический контроль качества дезинфекции должен быть неожиданным, без предварительного уведомления работников, ответственных за проведение дезинфекции, и исполнителей этих работ о времени и месте отбора проб для исследования.

1.3.3.2. При бактериологическом контроле качества дезинфекции определяют наличие на поверхностях обеззараживаемых объектов жизнеспособных клеток санитарно-показательных микроорганизмов - бактерий группы кишечной палочки (*Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*), стафилококков (*aureus*, *epidermatis*, *Saprophyliticus*), бактерий или спорообразующих аэробов рода *Bacillus*.

Качество обеззараживания спецдежды контролируют по выделенным тест-микроорганизмам из искусственно контаминированных кусочков тканей, закладываемых в подлежащий обеззараживанию материал.

1.3.3.3. По наличию или отсутствию бактерий группы кишечной палочки контролируют качество профилактической дезинфекции, вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции при бруцеллезе, колибактериозе, лептоспирозе, листериозе, болезни Ауески, лейкозе, пастереллезе, сальмонеллезах, трихомонозе, кампилобактериозе, трипанозомозах, токсоплазмозе, инфекционном ринотрахеите, парагриппе и вирусной диарее крупного рогатого скота, контагиозной энзиме, инфекционной амалактии и контагиозной плевропневмонии овец и коз, стадной болезни, инфекционном атрофическом рините, дизентерии, трансмиссивном гастроэнтерите, балантидиозе, гемофильной плевро-

пневмонии и роже свиней, ринопневмонии лошадей, пуллорозе-тифе птиц, миксоматозе кроликов, микоплазмозе птиц, а также текущей дезинфекции при болезнях, указанных в п. 1.3.3.4. (кроме туберкулеза, споровых и экзотических инфекций).

1.3.3.4. По наличию или отсутствию стафилококков контролируют качество текущей дезинфекции при туберкулезе, болезнях, вызываемых спорообразующими микроорганизмами и экзотических инфекциях; заключительной дезинфекции при туберкулезе, аденовирусных инфекциях, ящуре, оспе, туляремии, орнитозе (пситтакозе), диплококкозе, стафилококкозе, стрептококкозе, некробактериозе, катаральной лихорадке, бешенстве, чуме всех видов животных, злокачественной катаральной горячке, перипневмонии и паратуберкулезном энтерите крупного рогатого скота, инфекционной катаральной лихорадке, копытной гнили и инфекционном мастите овец, везикулярной лезни свиней, инфекционной анемии, инфекционном энцефаломиелите, изотическом лимфангоите, сапе и мыте лошадей, гепатите утят, русном 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 птиц, трихофитии, микроспории, других микозах животных и птиц, актиномикозе крупного рогатого скота, а также болезнях, вызываемых неклассифицированными вирусами.

Качество заключительной дезинфекции при микозах контролируют также по выделению соответствующих возбудителей.

1.3.3.5. Качество заключительной дезинфекции при туберкулезе контролируют по выделению стафилококков и микобактерий, при сибирской язве, эмфизематозном карбункуле, брэдзоте, злокачественном отеке, других споровых инфекциях и экзотических инфекциях - по

наличию или отсутствию спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*.

2. Отбор проб для исследования.

2.1. Отбор проб для бактериологического контроля и доставку их в лабораторию осуществляют лица, не несущие личной ответственности за качество дезинфекции и не находящиеся в подчинении работников, ответственных за ее проведение.

2.2. Отбор проб проводят по истечении срока экспозиции, указанной в соответствующих разделах действующих инструкций, до начала проветривания помещений; при дезинфекции спецодежды - по окончании цикла обработки (обеззараживания, стирки, ополаскивания и отжима).

2.3. Пробы (смывы, отпечатки, соскобы) для исследования берут с 10-20 различных участков поверхности животноводческого помещения (полов, стойл и 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 участков поверхностей каждого помещения, выбирая наименее доступные для дезинфекции.

2.3.1. Для контроля качества дезинфекции при туберкулезе с каждого вида поверхности берут по 5 смывов, которые объединяют в одну пробу. Из каждого помещения отбирают не менее 10 объединенных проб, в т.ч. по 3 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 стерильным скальпелем или

ножом на глубину до 3-5 см и отбирают в стерильную посуду 10-20 г исследуемого материала. Если прилегающая территория имеет твердое покрытие, пробы отбирают методом смывов, как указано выше.

2.4. После проведения дезинфекции и последующей экспозиции с участков, подвергаемых контролю, отбирают пробы стерильными ватно-марлевыми тампонами, смоченными в стерильном нейтрализующем растворе или воде (см. приложение п.2).

Участки площадью 10 x 10 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.

2.5. Для нейтрализации действия дезинфицирующих средств готовят специальные растворы в концентрации в 10 раз меньшей, чем концентрация применяемого дезинфектанта (см. приложение п.1).

Для нейтрализации хлоросодержащих дезинфицирующих средств используют раствор тиосульфата натрия (гипосульфита), щелочных растворов - раствор уксусной кислоты; формалина - раствор аммиака (нашатырный спирт); кислот, перекиси водорода и ее производных - раствор бикарбоната натрия.

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

При дезинфекции дезенолом, лизолом, феносмолином, фенолятом натрия и другими средствами, для которых нет нейтрализаторов, применяют стерильную водопроводную воду.

2.6. Взятие отпечатков на тонкий слой плотной питательной среды проводят лица, прошедшие подготовку по данному вопросу.

Предметные стекла с нанесенной средой (см. приложение п.3) извлекают корцангом из ванны или пробирок, не касаясь застывшей

питательной среды, и накладывают на исследуемый объект таким образом, чтобы питательная среда соприкасалась с его поверхностью. Через 2 мин. пробы-отпечатки отделяют от контролируемого объекта и помещают в ванны или пробирки, в которых они транспортировались. При взятии проб с труднодоступных или вертикальных поверхностей время контакта слоя питательной среды с объектом сокращают до 30 с.

2.7. Смывы должны быть доставлены в лабораторию в течение 3-6 ч с момента взятия, отпечатка - не позднее 2 ч.

3. Контроль качества дезинфекции помещений.

3.1. Метод бактериологического исследования смывов.

3.1.1. Пробы, каждую в отдельности, отмывают в той же пробирке путем нескольких погружений и отжатий тампона.

Отжатые тампоны удаляют, а жидкость центрифугируют при 3000-3500 об/мин в течение 20-30 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 посеvy.

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

3.1.2. Для индикации кишечной палочки 0,5 мл центрифугата высевает в пробирки с модифицированной средой Хейфеца или КОДА (см. приложение п.5.1.). Посевы выдерживают в термостате при температуре 37-38°C в течение 12-18 ч. Изменение сиренево-красного цвета среды в зеленый или салатный цвет с помутнением сред и газообразованием 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 жидких сред на агар Эндо. Посевы инкубируют при температуре 37-38°C в

течение 12-16 ч.

3.1.3. Для индикации стафилококков 0,5 мл центрифугата высевают в 5 мл мясо-пептонного бульона с 6,5% хлористого натрия. Через 22-24 ч инкубирования посевов при температуре 37-38°C делают пересевы бактериологической петлей на 6,5%-ный солевой мясопептонный агар. Посевы выдерживают в термостате 22-24 ч при температуре 37-38°C. Из выросших культур для подтверждения роста стафилококков готовят мазки, окрашивают их простым методом и микроскопируют.

3.1.4. Для индикации спорообразующих аэробов смывы обрабатывают как указано в пп.3.1.1., но перед центрифугированием их прогревают на водяной бане при 65°C в течение 30 мин, затем центрифугируют. Из центрифугата каждой пробы делают посевы в одну пробирку с МПБ и на 2 чашки с МПА (для контроля качества дезинфекции при сибирской язве МПА может быть заменен дифференциально-диагностической средой - см. приложение п.5.3). Посевы инкубируют в термостате при 37°C в течение 24-48 ч.

При наличии роста на МПА подсчитывают количество колоний, а также изучают их морфологию при малом увеличении микроскопа. В случае возникновения подозрения на выделение возбудителя сибирской язвы, идентификацию такой культуры проводят в порядке, предусмотренном действующими Методическими указаниями по данному вопросу.

При наличии роста на дифференциально-диагностической среде в крышку чашки Петри вносят 1-2 мл 25%-ного водного раствора аммиака, чашку (крышкой вниз) выдерживают при 20±2°C 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.

Вас. *anthracis* фосфатазной активностью не обладает 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, с которыми поступают как указано выше.

3.1.5. При просмотре посевов учитывают общее количество проб, в которых обнаружен рост санитарно-показательных микроорганизмов, а при споровой инфекции — и количество колоний непатогенных спорообразующих азробов рода *Bacillus*.

3.2. Метод отпечатков на тонкий слой плотной питательной среды.

3.2.1. Метод отпечатков является ускоренным методом выделения санитарно-показательных микроорганизмов с поверхностей животноводческих объектов и наиболее приемлем в условиях промышленного ведения животноводства на комплексах, птицефабриках и других объектах, где имеются лаборатории.

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

3.2.3. 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 произошло изменение цвета или прозрачности среды, пробы-отпечатки высушивают на воздухе до полного подсыхания среды, фиксируют над пламенем, окрашивают по Муромцеву и микроскопируют с целью обнаружения микроколоний.

3.2.4. Учитывают общее количество отпечатков, в которых обнаружен рост микроорганизмов.

3.3. Исследование с целью выделения микобактерий.

3.3.1. Контроль качества заключительной дезинфекции при ту-

беркулезе проводят параллельно двумя методами по выделению стафилококка и микобактерий.

3.3.2. Смывы обрабатывают как указано в пп. 3.1.1. Из центрифугата каждой объединенной пробы делают высев на среды для выделения стафилококков, с которыми поступают как указано в пп. 3.1.3., и готовят по 6 мазков на узких (1,2 x 7,5 см) предметных стеклах (см. приложение п.4). 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 мин. 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 помещают в термостат при 37-38°C на 12 суток.

3.3.3. Пробы почвы с прилегающей территории и соскобов с поверхности помещений, каждую в отдельности, помещают в колбу, добавляют 2-3 - кратным количеством дистиллированной воды, взбалтывают и фильтруют через двойной слой марли в узкогорлую колбу емкостью 200-250 мл. К фильтрату добавляют 2-3 мл ксилола или авиационного бензина, встряхивают 15-20 мин и доливают дистиллированной воды до горлышка. Содержимое отстаивают 30 мин с целью получения флотата, из которого готовят мазки на узких предметных стеклах. В дальнейшем с мазками поступают как указано в пп. 3.3.2.

3.3.4. При наличии роста стафилококков хотя бы в одной исследованной пробе качество дезинфекции признают неудовлетворительным и дальнейшее исследование по выделению микобактерий не проводят.

3.3.5. Стекла с мазками извлекают из пробирок на 6, 8, 12 день инкубирования, высушивают, фиксируют над пламенем горелки, окрашивают по Циль-Нильсену и микроскопируют для обнаружения микроколоний.

3.4. Оценка результатов исследования.

3.4.1. Качество профилактической дезинфекции помещений для получения и содержания молодняка животных (птицы) и текущей дезинфекции изолированных секций (боксов, скотных дворов) с автономной системой жизнеобеспечения животных признают удовлетворительным при отсутствии роста санитарно-показательных микроорганизмов в 90% исследованных проб.

При профилактической дезинфекции помещений для содержания взрослого поголовья и текущей дезинфекции частично освобожденных от животных или неизолированных помещений допускается выделение санитарно-показательных микроорганизмов из 20% исследованных проб.

3.4.2. 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.

При споровых инфекциях качество дезинфекции признают удовлетворительным при отсутствии роста *Bac. anthracis* при этом допускают рост в прямом посеве на МПА единичных (не более трех в смыве) колоний непатогенных спорообразующих аэробов рода *Bacillus*.

4. Контроль качества профилактической аэрозольной дезинфекции, проводимой формалином.

4.1. Настоящая методика предназначена для быстрого (непосредственно после окончания экспозиции дезинфекции) контроля качества аэрозольной дезинфекции животноводческих помещений, проводимой формалином.

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

4.3. Перед проведением дезинфекции индикаторные пробирки (см.

II

приложение п.6) размещают на полу, стенах и потолке помещения и находящемся в помещении оборудовании. Особо важно разместить пробирки в труднодоступных местах помещения: (внутри оборудования, у щелей и т.д.). На одно помещение требуется в среднем 10-15 пробирок. Индикаторные пробирки прикрепляют к поверхностям помещения с помощью пластилина, липкой ленты или других средств.

Перед размещением пробирок с последних снимают парафиновые колпачки. На полу помещения пробирки устанавливают открытым концом вверх, на стенах - срез пробирки должен находиться в вертикальной плоскости, на потолке - открытым концом вниз.

4.4. 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. Дезинфекция считается удовлетворительной, если глубина окрашивания среды после экспозиции 12 ч будет не меньше 18 мм, а после экспозиции 24 ч - 30 мм.

5. Контроль качества дезинфекции: спецодежды.

5.1. 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.

5.2. При контроле качества дезинфекции в очагах бактериальных (кроме туберкулеза) и вирусных инфекций в качестве тест-культур используют музейные штаммы кишечной палочки, в очагах туберкулеза и мало изученных вирусных инфекций - золотистого стафилококка, в очагах споровых инфекций - антракса.

5.3. В качестве тест-объектов используют кусочки батистовой ткани, импрегнированные соответствующей тест-культурой (см. при-

ложение п.7).

5.4. Тест-объекты закладывают по 2 шт. в стерильные мешочки размером 5 x 8 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 дезрастворах или кипячения изделия с заложенными в них тест-объектами размещают послойно (внизу, в середине и в верхней части емкости), а при дезинфекции в камерах - в разных местах камеры.

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

В лаборатории тест-объекты извлекают из мешочков, промывают по 5 мин в растворе соответствующего нейтрализатора (см. п.2.5) и стерильной водопроводной воде (или дважды в воде, если нейтрализатор не известен), и помещают каждый в отдельности в пробирки с соответствующими питательными средами. Если дезинфекцию проводили методом кипячения без добавления кальцинированной соды, дополнительного промывания тест-объектов не требуется.

5.6. При контроле качества дезинфекции по выделению кишечной палочки посев проводят в модифицированную среду Хейфеца или КОДА, для выделения золотистого стафилококка - в 6,5%-ный солевой МПБ, для выделения антракоида - в МПБ с которыми поступают как указано в пп. 3.1.2 - 3.1.4.

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

6. Методы определения содержания действующего вещества в дезинфицирующих средствах и их растворах.

6.1. Определение массовой доли едкого натра в препарате и его растворах.

6.1.1. Аппаратура, реактивы и растворы.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104-80 с наибольшим пределом взвешивания 500 г, 3-го класса точности.

Колба по ГОСТ 1770-74, исполнения I или 3, вместимостью 500 см³.

Пипетка по ГОСТ 20292-74, вместимостью 20, 25 см³.

Бюретка по ГОСТ 20292-74, вместимостью 50 см³ с ценой деления 0,1 см³.

Кислота соляная по ГОСТ 3118-77, х.ч. или ч.д.а. раствор (НСI) = 1 моль/дм³.

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

Фенолфталеин по ГОСТ 5850-72, 1%-ный спиртовой раствор.

Вода дистиллированная, не содержащая CO₂, готовят по ГОСТ 4517-75.

6.1.2. Подготовка к анализу.

6.1.2.1. Приготовление анализируемого раствора твердого препарата.

Перед взятием навески с пробы препарата удаляет верхний выветрившийся слой, в стаканчик для взвешивания быстро отбирают около 20 г препарата и взвешивают. Навеску количественно переносят в мерную колбу, приливают 300-400 см³ воды, растворяют, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают - раствор 1.

6.1.2.2. Приготовление анализируемого раствора жидкого препарата.

14

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.

6.1.3. Проведение анализа.

25 см³ раствора А и Б помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³, добавляют 20 см³ раствора хлористого бария, перемешивают и закрывают пробкой. Через 5 мин вводят 2-3 капли раствора фенолфталеина и титруют раствором соляной кислоты концентрации 1 моль/дм³ до обесцвечивания индикатора.

6.1.4. Обработка результатов.

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

$$X = \frac{V \cdot 0,04 \cdot 500 \cdot 100}{25 \cdot m} \quad , \quad \text{где}$$

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

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

0,04 - масса едкого натра, соответствующая 1 см³ раствора соляной кислоты концентрации точно 1 моль/дм³, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности = 0,95.

6.2. Определение содержания формальдегида в формалине техническом, параформе и их растворах.

6.2.1. Реактивы и растворы.

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

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328-77, ч.д.а., раствор концентра-

ции 0,1 моль/дм³;

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

Тимолфталейн, 0,2-ный раствор, готовят по ГОСТ 4919-77;

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

6.2.2. Проведение анализа.

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

В другую колбу помещают 50 см³ раствора сульфита натрия, добавляют 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 мин и титруют раствором соляной или серной кислоты концентрации 1 моль/дм³ до исчезновения голубой окраски.

6.2.3. Обработка результатов.

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

$$X = \frac{Y \cdot 0,03003 \cdot 100}{m}, \text{ где}$$

Y – объем раствора соляной или серной кислоты концентрации точно I моль/дм³, израсходованный на титрование, см³.

0,03003 – масса формальдегида, соответствующая I см³ раствора соляной или серной кислоты концентрации точно I моль/дм³, г;

m – масса анализируемой пробы, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2% при доверительной вероятности P = 0,95.

Результат округляют до первого десятичного знака.

6.3. Определение массовой доли углекислого натрия в кальцинированной соде технической.

6.3.1. Реактивы и растворы.

Кислота серная по ГОСТ 4204-77, раствор с $\left(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4\right) = \text{I моль/дм}^3$

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

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

6.3.2. Проведение анализа.

Взвешивают от 2,3 до 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.

6.3.3. Обработка результатов.

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

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

- V - объем раствора серной кислоты концентрации точно 1 моль/дм³, израсходованный на титрование, см³;
- 0,05299 - масса углекислого натрия, соответствующая 1 см³ раствора серной кислоты концентрации точно с ($\frac{1}{2} \text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4 = 1$ моль/дм³, г/см³);
- m - масса навески кальцинированной соды, г.

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

6.4. Определение массовой доли перекиси водорода в препарате и его растворах.

6.4.1. Реактивы и растворы.

Калий марганцовокислый по ГОСТ 20490-76, х.ч., 0,1 н. раствор.

Кислота серная по ГОСТ 4204-77, х.ч., раствор 1:4.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

6.4.2. Проведение анализа.

0,15-0,20 г перекиси водорода или 1,0-2,0 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 марганцовокислого калия до розовой окраски, не исчезающей в течение минуты.

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

6.4.3. Обработка результатов.

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

$$X = \frac{(V - V_0) \cdot 0,0017}{m} \cdot 100, \text{ где}$$

V_0 - объем точно 0,1 н. раствора марганцовокислого калия, израсхо-

18

дованный на титрование анализируемого раствора, см³;

V_1 - объем точно 0,1 н. раствора марганцовокислого калия, израсходованный на титрование контрольного опыта, см³;

0,0017 - масса перекиси водорода, соответствующая 1 см³ точно

0,1 н. раствора марганцовокислого калия, г;

m - масса навески (г), или объем раствора (мл) взятых для анализа.

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

6.5. Определение массовой доли глутарового альдегида в препарате и его растворах.

6.5.1. Реактивы и растворы.

Пиросульфит натрия ($\sqrt{Na_2S_2O_5}$) по ГОСТ 10575-76);

Йод по ГОСТ 4159-79, 0,1 н. раствор;

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72;

Раствор бисульфита натрия ($\sqrt{NaHSO_3}$) - готовят растворением в воде пиросульфита натрия из расчета 4,0 г $\sqrt{Na_2S_2O_5}$ на 1 дм³ воды. Взвешивают пиросульфит натрия и растворяют его в дистиллированной воде при тщательном перемешивании. Хранят в посуде, плотно закрытой пробкой.

6.5.2. Проведение анализа.

В 3 конические колбы вносят мерной пипеткой по 25 см³ раствора бисульфита натрия, закрывают их притертыми пробками. Затем в колбы с бисульфитом натрия вносят пробы анализируемого раствора глутарового альдегида (содержащие 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 оттитровывают непрореагировавший бисульфит натрия 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 истечения раствора йода во время рабочего и контрольного определений.

6.5.3. Обработка результатов анализа.

Массовую долю глутарового альдегида определяют по формуле:

$$X = \frac{25 \cdot N \cdot K (V_1 - V_2) \cdot 100}{1000 \cdot m} = \frac{0,25 \cdot K (V_1 - V_2)}{m}, \text{ где}$$

- X — массовая доля глутарового альдегида, %;
- m — навеска раствора глутарового альдегида, г;
- N — нормальность водного раствора йода;
- K — поправочный коэффициент к титру раствора йода;
- V_1 — объем раствора йода, пошедший на титрование 25 см³ раствора бисульфита натрия (контрольной пробы), см³;
- V_2 — 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%.

6.6. Определение массовой доли активного хлора в препаратах и их растворах.

6.6.1. Реактивы и растворы.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

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

Кислота серная по ГОСТ 4204-77, 5%-ный раствор.

Крахмал растворимый по ГОСТ 10163-76, 1%-ный раствор.

Натрий серноватистокислый (тиосульфат натрия) по СТ СЭВ 223-75, 0,1 н раствор.

20

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

1-1,5 г натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты или кальция гипохлорита 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 количественно 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 затем 10 см³ раствора йодистого калия, перемешивают, прибавляя 50 см³ раствора серной кислоты, закрывают колбу пробкой, снова перемешивают и помещают в темное место. Через 5 мин выделившийся йод титруют раствором серноватистокислого натрия до соломенно-желтого цвета, добавляют 1-2 см³ раствора крахмала и продолжают титрование до обесцвечивания раствора.

6.6.3. Определение массовой доли активного хлора в растворах вышеуказанных препаратов (п.6.6.2.) 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, прибавляя 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.

6.6.4. Обработка результатов.

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

$$X = \frac{Y \cdot 0,0035453 \cdot A \cdot 100}{M \cdot B}, \text{ где}$$

Y – объем точно 0,1 н. раствора серноватистокислого натрия, израсходованный на титрование анализируемой пробы, см³;

0,0035453 – масса активного хлора, соответствующая 1 см³ точно

0,1 н. раствора серноватистокислого натрия, г;

A – исходный объем приготовленного раствора, см³;

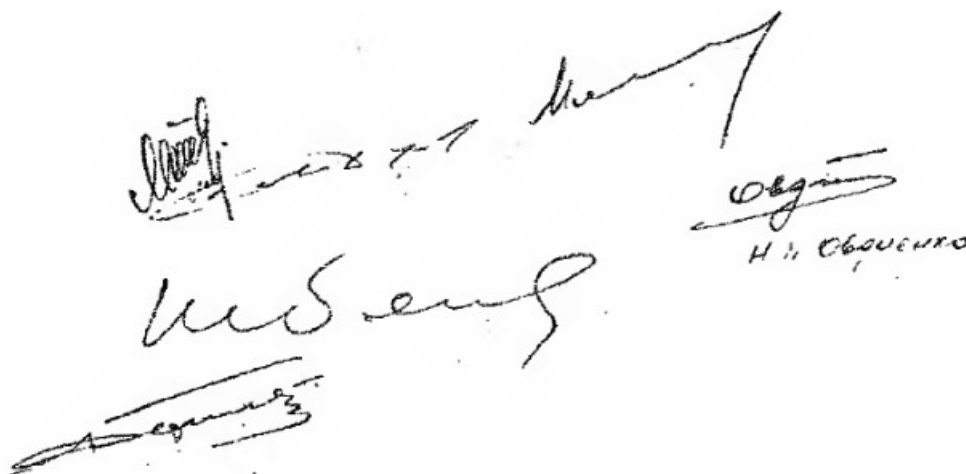
M – масса навески препарата, г;

B – масса раствора, взятого для титрования, см³.

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

С утверждением настоящих "Методических указаний ..." отменяется действие Приложения 4 к "Инструкции по проведению ветеринарной дезинфекции, дезинвезии, дезинсекции и дератизации" утвержденной 8.12.1968 г. "Методики бактериологического контроля качества дезинфекции при туберкулезе", утвержденной 20.05.82 г. "Методических указаний по ускоренному выделению санитарно-показательных микроорганизмов с поверхностей животноводческих объектов для контроля качества дезинфекции", утвержденных 2.07.86г., п.13 "Инструкции по ветеринарно-санитарной обработке вагонов после перевозки животных, продуктов и сырья животного происхождения", утвержденной 17.12.85г. (бактериологический контроль качества дезинфекции).

Методические указания по контролю качества дезинфекции разработаны Всесоюзным ордена Дружбы народов научно-исследовательским институтом ветеринарной санитарии, Всесоюзным ордена Ленина научно-исследовательским институтом экспериментальной ветеринарии им. Я.Р.Коваленко, Центральной ветеринарной лабораторией и Омским ветеринарным институтом.



Handwritten signatures and stamps. One signature is clearly legible as "И.И. Соболенко". There are several other illegible signatures and a large, stylized signature at the top.

Приложение

к Методическим указаниям по контролю качества дезинфекции объектов, подлежащих ветеринарному надзору.

1. Приготовление нейтрализующих растворов.

Нейтрализующие растворы готовят в концентрации в 10 раз меньшей чем концентрация использованного дезинфицирующего средства.

Раствор готовят 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 5 дн при комнатной температуре.

2. Приготовление тампонов.

Ватные или марлевые тампоны для взятия смывов монтируют на алюминиевой проволоке, пропущенной через резиновую пробку. В пробирки разливают по 10 мл физиологического раствора, закрывают резиновыми пробками с смонтированными тампонами и стерилизуют автоклавированием при 1 атм в течение 30 мин.

3. Подготовка материалов для исследования методом отпечатков.

3.1. Подготовка предметных стекол. Для исследования используют предметные стекла (размером 2,5 x 7,5 см) или стекла, разрезанные вдоль на две половинки (1,2 x 7,5 см). Стекла предварительно кипятят 10-15 мин в 2-5%-ном растворе моющего порошка типа "Лотос", "Новость" и т.п., 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 65-70%-ным этиловым спиртом или кипящей дистиллированной водой и облучают в течение 2 ч ультрафиолетовыми лучами. На дно обработанной указанным способом 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 мясо-пептонный агар (рН 7,2-7,4). Количество нанесенной среды должно соответствовать 0,15 мл (4 капли) для узкого предметного стекла и 0,33 мл (8 капель) для широкого.

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

Прогретые над пламенем горелки предметные стекла раскладывают на ровной, строго горизонтальной поверхности стола. Предметные стекла берут корцангом, слегка подогревают и наносят пипеткой ука-

занное количество питательной среды, отступя на 2-2,5 см от поперечного края стекла. Затем, расположив горизонтально пастеровскую липетку, питательную среду быстро распределяют по средней трети поверхности стекла. Распределив среду, стекла раскладывают на строго горизонтальную поверхность стола 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, внося на дно 1 или 0,1 мл стерильной водопроводной воды соответственно.

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

Подготовленные предметные стекла с соевым агаром хранятся при температуре +4°C до 10 сут, со средой Эндо - 2-3 сут (если нет видимого изменения цвета среды).

4. Подготовка стекол для микрокультивирования микобактерий.

Предметные стекла разрезают вдоль на узкие стекла размером 1,2 x 7,5 см, моют и помещают на 2 ч в хромпик, который готовят следующим образом: берут двуххромовокислый калий (40 г) помещают в фарфоровую кружку или эксикатор и растворяют в небольшом количестве воды, затем добавляют осторожно концентрированную серную кислоту до общего объема 1 л.

После хромпика стекла вновь моют дистиллированной водой, протирают чистой льняной тканью, стерилизуют сухим жаром (100°C) в течение 2 ч и хранят в закрытых сосудах (эксикаторах).

5. Приготовление питательных сред.

5.1. Среды для выделения кишечной палочки.

5.1.1. Модифицированная среда Хейфеца.

К 1 л дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 5 г хло-

ряда натрия и 4 г лактозы. Смесь доводят до кипения, затем фильтруют и после остывания определяют pH, который должен быть в пределах 7,4-7,8. Затем к среде добавляют в качестве индикатора 1 5%-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.

5.1.2. Питательная среда КОДА сухая. Состав и способ приготовления приведены в этикетке на упаковке среды.

5.2. Среды для выделения стафилококка.

5.2.1. Солевой мясо-пептонный бульон. К обычному МПБ с pH 7,2-7,4 добавляют 6,0% натрия хлорида квалификации "ХЧ" или "ЧД" перемешивают до полного растворения соли, разливают в пробирки 5 мл и стерилизуют при 1 атм в течение 20-30 мин.

5.2.2. Солевой мясо-пептонный агар. К расплавленному МПА добавляют 6,0% натрия хлорида квалификации "ХЧ" или "ЧДА", 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 среды ее подсушивают в термостате в течение 1 ч.

5.3. Дифференциально-диагностическая среда для индикации *Bac. anthracis*

5.3.1. 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.

Назиграмон переносят в стеклянный флакон или пробирку и разводят 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.

Мощное средство "Прогресс" разводят 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 (продажный 10%-ный раствор) для стерилизации прогревают на водяной бане при 56°C в течение 30 мин.

5.3.2. Приготовление дифференциально-диагностической среды.

Питательный агар в колбах по 100 мл расплавляют в водяной бане и охлаждают до температуры 45-50°C. Затем в агар добавляют основные растворы:

полимиксина М сульфата	- 0,5 мл
невиграмона	- 0,5 мл
гризеофульвина	- 1,0 мл
мощного средства "Прогресс"	- 1,0 мл
фенолфталеинфосфата натрия	- 0,1 мл

Примечание: гризеофульвин добавляют в среду при подозрении на загрязнение материала грибами.

После перемешивания среду разливают в чашки Петри и подсушивают в течение 1,5-2 ч с открытыми крышками. Дифференциально-диагностическую среду после разлива можно хранить в холодильнике в течение 1-2 сут.

5.3.3. Готовую дифференциально-диагностическую среду выпускает Ставропольский НИИВС (355100, г.Ставрополь, ул. Биологическая, 20).

5.4. Среды для выделения микобактерий.

5.4.1. Среда Сотона.

В 940 мл дистиллированной воды растворяют 4 г аспарагина

(-аспаргин $C_4H_8N_2O_3$), 2 г лимонной кислоты, 0,5 г калия фосфорнокислого двухзамещенного, 0,5 г сернокислой магнезии, 0,05 г лимоннокислого аммиачного железа, а затем добавляют 60 мл нейтрального глицерина. После полного растворения аспарагина и солей pH среды должен соответствовать показателю 7,4. Среду разливают по 200 мл в колбы емкостью 250 мл и стерилизуют 30 мин в автоклаве при 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.

5.4.2. Среда Петраньяни. Ингредиенты: Молоко цельное 300 мл, крахмал картофельный 12 г, пептон 2 г, картофель очищенный, мелко нарезанный, 2 клубня размером с яйцо.

Указанные ингредиенты тщательно смешивают в колбе, смесь несколько минут кипятят на водяной бане. После этого колбу оставляют на водяной бане еще на 1 час. К охлажденной до 50 градусов смеси добавляют 8 целых яиц и 2 желтка, 24 мл глицерина, 20 мл 2%-ного стерильного водного раствора малахитовой зелени, хорошо перемешивают, фильтруют через воронку с двойным слоем марли, разливают по пробиркам и стерилизуют, как указано ниже.

5.4.3. Среда Гельберга - ингредиенты: яйца цельные 6 шт., желтки 4 шт., молоко 100 мл, картофельный отвар 100 мл, солевой раствор 100 мл, 2%-ный водный раствор малахитовой зелени 7,5 мл.

Молоко, картофельный отвар и солевой раствор готовят заранее и хранят в холодильнике.

Молоко предварительно ставят на одни сутки в холодильник, снимают сливки, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в бутылочки по 110 мл и стерилизуют текущим паром в аппарате Коха два дня подряд: в первый день - 15 мин., во второй - 10 мин. (после стерилизации во флаконе остается 100 мл молока).

Для приготовления картофельного отвара картофель моют щеткой с мылом, чистят, заливают двойным количеством водопроводной воды (на 1 кг картофеля берут 2 л воды), кипятят 15 мин, отстаивают и верхний слой фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Отвар разливают во флаконы по 110 мл, стерилизуют в автоклаве, при этом температуру доводят до 120°C, после чего автоклав отключают.

Для приготовления солевого раствора берут 1 г двузамещенного фосфорно-кислого калия (K_2HPO_4), 1 г лимоннокислого натрия, 1 г сернокислого магния, 6 г пептона, 30 мл глицерина химически чистого, воды дистиллированной до 1000 мл.

Соли растворяют в небольшом количестве воды, добавляют глицерин и остальную воду. Раствор слегка подогревают, фильтруют через бумажный фильтр, разливают во флаконы по 110 мл и стерилизуют в автоклаве так же, как и картофельный отвар.

Приготовление среды в банке с бусами и взбитыми яйцами добавляют по 100 мл молока, картофельного отвара, солевого раствора и 7,5 мл 2%-ного водного раствора малахитовой зелени, смесь тщательно размешивают, разливают по пробиркам и стерилизуют, как указано ниже.

5.4.4. Среда Левенштейна-Венсена - ингредиенты:

Однозамещенный фосфорнокислый калий (KH_2PO_4)	- 2,4 г
Сернокислый магний ($MgSO_4$)	- 0,24 г
Лимоннокислый магний $[(C_6H_5O_7)_2]Mg \cdot 5H_2O$	- 0,6 г
Аспарагин ($C_4H_8N_2O_3$)	- 3,6 г
Глицерин химически чистый ($C_3H_8O_3$)	- 12 мл
Вода дистиллированная	- до 600 мл

Соли растворяют в указанной последовательности, раствор стерилизуют 2 ч. текучим паром.

Питательную среду готовят следующим путем: в колбу, содержащую 30 г картофельной муки, постепенно добавляют 600 мл солевого

раствора, смесь нагревают, постоянно взбалтывая, на кипящей бане до вязкой консистенции. Затем к охлажденной смеси добавляют 1 л профильтрованной через марлю яичной массы, хорошо смешивают и доливают 20 мл стерильного 2%-ного водного раствора малахитовой зелени. Смесь тщательно встряхивают и разливают по пробиркам (рН готовой среды 6,8-7,0).

Все яичные среды, приготовленные по указанным прописям, разливают в пробирки по 4-5 мл, помещают для свертывания в аппарат Коха в наклонном положении и стерилизуют в течение двух суток при 85°C по 40 мин в сутки или один раз при 90°C в течение 1 часа.

После стерилизации на дне пробирки должно остаться небольшое количество конденсационной жидкости. В случае ее отсутствия добавляют в каждую пробирку перед стерилизацией (при двукратной стерилизации - перед второй стерилизацией) по 0,5-1,0 мл физиологического раствора.

Для контроля стерильности яичные среды помещают в термостат на сутки. При посевах и пересевах материала и культур рекомендуется применять свежие среды. Среды хранят в сухом прохладном месте не более двух недель.

6. Приготовление индикаторных пробирок для контроля качества дезинфекции аэрозолями формальдегида.

6.1. Индикаторные пробирки представляют собой 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 среза пробирок, запечатывают парафинем и хранят при температуре 0-5°C. Срок хранения - 1 месяц со дня изготовления.

На индикаторные пробирки при их изготовлении можно нанести две риски на расстоянии 18 и 30 мм от среза пробирки - тогда на-

добность в использовании линейки при учете результатов отпадает.

6.2. Для экспресс-метода контроля качества аэрозольной дезинфекции помещений используют среду Эндо, выпускаемую биопромышленностью в сухом виде. 2%-ную взвесь сухой среды в дистиллированной воде доводят до кипения и фильтруют через ватный фильтр, после чего среду заливают в пробирки с помощью пипеток.

7. Подготовка тест-объектов.

7.1. В качестве тест-культур используют музейные штаммы кишечной палочки, золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* шт. 209-P) и антракоида (*Bac. anthracoides* шт. 96).

Музейные культуры хранят при температуре -4°C в виде сухой культуры в ампулах (после лиофильной сушки) не более двух лет; в виде посевов на МПА (посев уколом) под слоем стерильного вазелинового масла (толщина слоя 1,5-3 мм) не более шести месяцев.

7.2. Подготовка тест-объектов для контроля качества дезинфекции спецодежды. Батистовую ткань стирают, гладят и нарезают на кусочки размером 5 x 10 мм, раскладывают их по 50 шт в чашки Петри. Чашки закрывают в плотную бумагу и стерилизуют в автоклаве при температуре 110°C (0,5 атм), в течение 30 мин.

Стерильные тест-объекты в той же чашке Петри заливают смесью 2-миллиардной 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 мин, после чего тест-объекты переносят в другую чашку Петри на поверхность стерильной фильтровальной бумаги, положенной на дно чашки в 2 слоя, покрывают сверху листом стерильной фильтровальной бумаги, чашку закрывают крышкой. Через 10 мин тест-объекты переносят на поверхность листа стерильной фильтровальной бумаги, подсушивают в термостате при 37°C в течение 20-30 мин.

з.203-200