

Дезинфекция, средства и методы дезинфекции

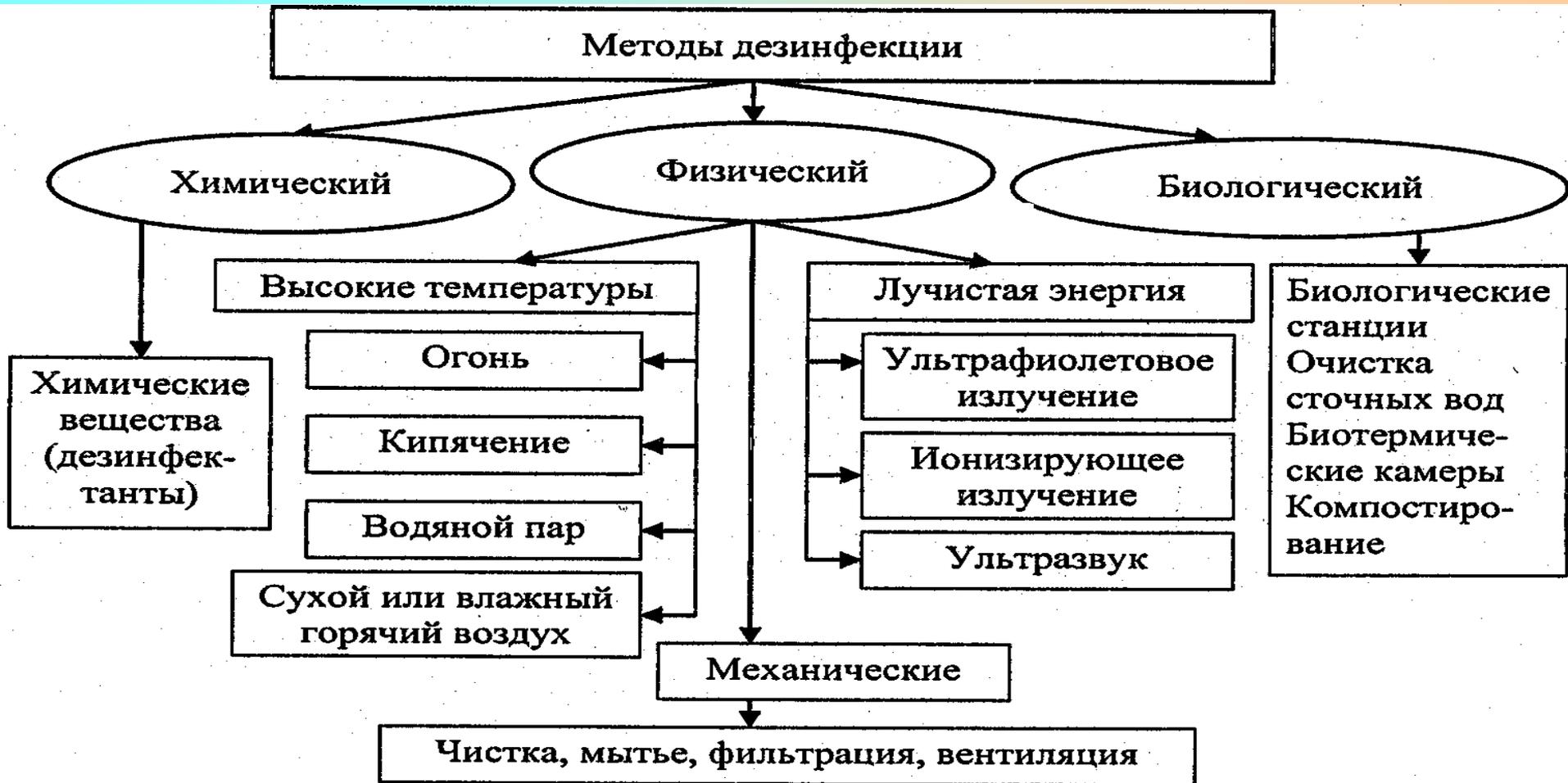
С.А. Сороченко

Биологическая безопасность в лабораторных условиях

дисциплина, которая занимается правилами безопасного обращения и защитой от распространения инфекционных и вредных биологических веществ в условиях микробиологической лаборатории

Основопологающим принципом биологической безопасности является обеззараживания (деконтаминации) материалов, оборудования на всех стадиях технологического процесса в микробиологической лаборатории

Классификация методов и способов дезинфекции



Физический метод дезинфекции

Предполагает использование таких агентов:

- механические
- тепловые
- излучение

Механические способы дезинфекции

Обеспечивается в основном удаление, а не уничтожение микроорганизмов
(вытряхивание, выколачивание, чистка, мытье, фильтрация, вентиляция)

Температурное воздействие

Источниками тепла являются:

- ОГОНЬ
- горячая вода
- сухой или влажный
горячий воздух
- водяной пар

Автоклав

Аппарат для стерилизации паром под давлением инструментов, большинства питательных сред для выращивания микроорганизмов, для обеззараживания инфицированного материала, спецодежды и т. п.

Давление водяного пара при температурах выше 100°C

Температура, °C	Давление пара кгс/см ²
119,6	1,0
122,6	1,2
124	1,3
126,8	1,5
128,1	1,6
129,3	1,7
130,6	1,8
131,7	1,9

Для большинства целей стерилизацию правильно загруженных автоклавов обеспечат следующие циклы:

1. Выдержка в течение 3 минут при температуре 134 °С
2. Выдержка в течение 10 минут при температуре 126 °С
3. Выдержка в течение 15 минут при температуре 121 °С
4. Выдержка в течение 25 минут при температуре 115 °С.

Виды автоклавов

Тупиковые - односторонняя загрузка и выгрузка, оборудованы одной торцевой крышкой

Проходные - двухсторонняя загрузка и выгрузка, оборудованы двумя открывающимися торцевыми крышками

Автоклавы, работающие под давлением.

Загружаются сверху и нагреваются с помощью газа, электричества или других видов энергии. Пар образуется в результате кипения воды в основании автоклава, а воздух поднимается вверх и выходит через выпускной клапан. После удаления воздуха клапан закрывается и нагревание уменьшается. Давление и температура повышаются до достижения клапаном заранее установленного уровня. В конце цикла нагревание прекращается и температура понижается до 80 °С или ниже, после чего можно открыть крышку.

Паровой стерилизатор ВКО-50



Стерилизатор паровой ГК-100-3



ДВУХДВЕРНЫЙ АВТОКЛАВ И ПЕРЕДАТОЧНЫЙ ШЛЮЗ



Дезинфекционная камера паровая

Устройство для воздействия на обрабатываемые объекты водяным паром атмосферного или повышенного давления, подаваемым в камеру сверху и вытесняющим из нее воздух; Д. к. п. обычно приспособлены для проведения обработки паровоздушным и пароформалиновым методом.

Пароформалиновый способ

Действующим агентом является паровоздушная смесь в сочетании с формальдегидом при температуре от 40 до 59°C

Дает возможность обеззараживать без порчи кожаные, меховые и резиновые изделия

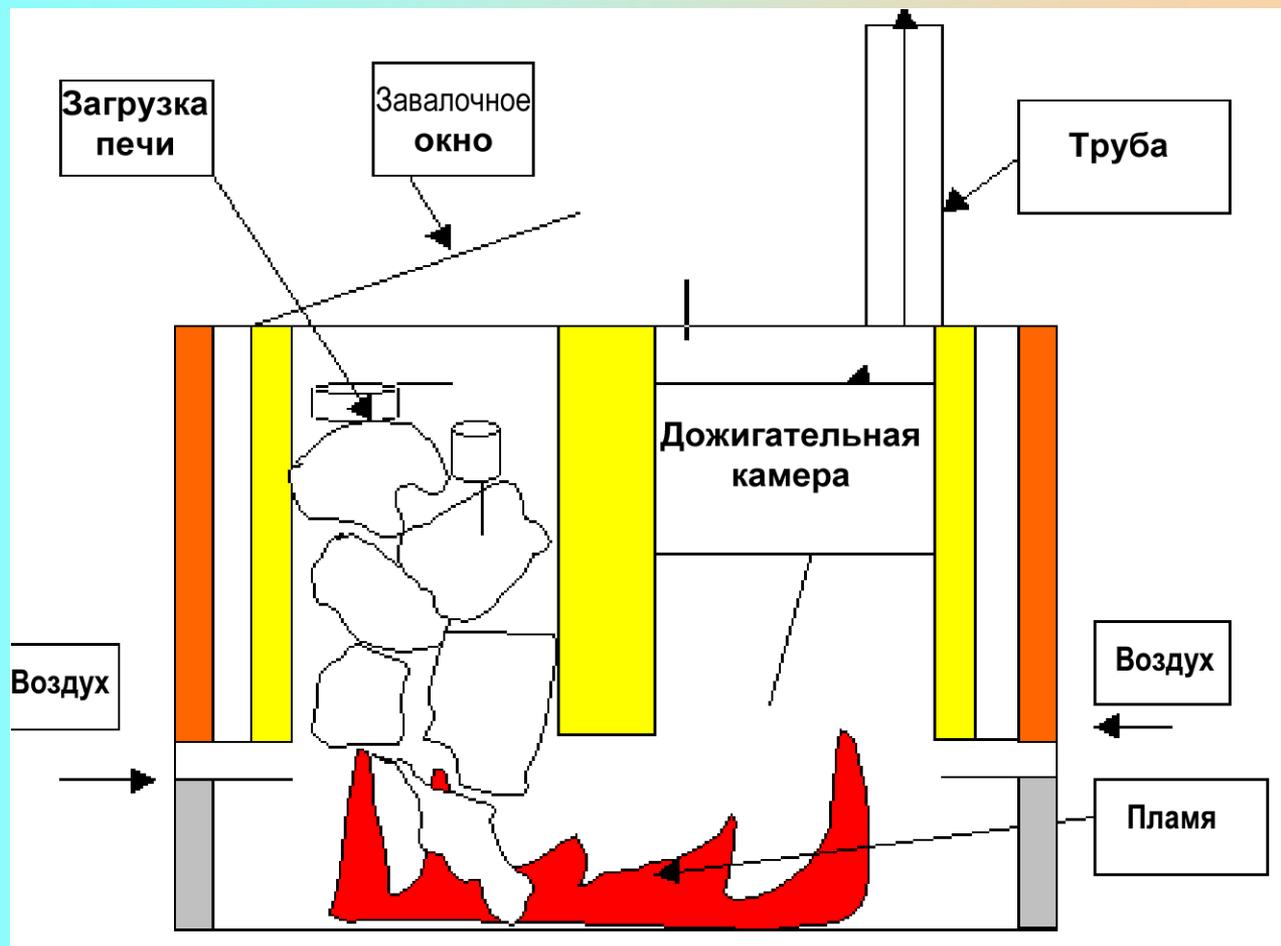
Сжигание

- Материалы для сжигания должны переноситься в мусоросжигатель в мешках, желательно в пластиковых. Сотрудники, работающие с мусоросжигателем, должны быть надлежащим образом проинструктированы относительно загрузки и контроля температуры

Режим сжигания

Температура в первичной камере должна быть не менее 800°C , а во вторичной камере – не менее 1000°C

Печь для сжигания



Ультрафиолетовое излучение

Охватывает диапазон длин волн от 100 до 400 нм

Разбит на три поддиапазона:

- УФ-А (315 - 400 нм)
- УФ-В (280 - 315 нм)
- УФ-С (100 - 280 нм)

Бактерицидным действием обладает

Ультрафиолетовое излучение с
диапазоном длин волн 205 - 315 нм

Проявляется в деструктивно-
модифицирующих фотохимических
повреждениях ДНК клеточного ядра
микроорганизма

Приводит к гибели микробной клетки в
первом или последующем поколении.

**Наибольшей бактерицидностью
обладают**

**Ультрафиолетовые лучи,
имеющие длину волны в
пределах 250-260 нанометров**

Чувствительность к УФ

- более чувствительны вирусы и бактерии в вегетативной форме (палочки, кокки)
- менее чувствительны грибы и простейшие микроорганизмы
- наибольшей устойчивостью обладают споровые формы бактерий

Облучатели УФ

- открытые (потолочные или настенные)
- комбинированные
- закрытые

Оценке бактерицидной эффективности УФ

В качестве санитарно-показательного микроорганизма принимается *S. aureus* (золотистый стафилококк)

Бактерицидная эффективность для патогенной микрофлоры должна быть не менее 70%

Эффективность УФ облучения

оценивается по степени снижения микробной обсемененности воздуха, поверхностей ограждений и оборудования под воздействием облучения на основе оценки уровня микробной обсемененности до и после облучения

Для определения общего содержания микроорганизмов в 1 м³ воздуха отбор проб производят на 2%-ном питательном агаре. После инкубации посевов при 37 °С в течение 24 ч производят подсчет выросших колоний и делают пересчет на 1 м³ воздуха

Седиментационный метод

На рабочий стол ставят 2 чашки Петри с 2%-ным питательным агаром и открывают на 15 мин. Посевы инкубируют при температуре 37 °С в течение 48 ч.

При росте не более 3 колоний на чашке уровень микробной обсемененности воздуха считается допустимым

Химический метод дезинфекции

Химические дезинфицирующие средства



Некоторые механизмы действия химических дезинфицирующих веществ

- Деполяризация пептидогликана клеточной стенки бактерий
 - Повышение проницаемости клеточной мембраны
 - Денатурация ферментов микроорганизмов
 - Окисление метаболитов и ферментов
 - Растворение липопротеиновых структур
 - Повреждение генетического аппарата или блокирование его функций.

Галоидсодержащие вещества

Хлорсодержащие

Неорганические

Органические

Йодсодержащие

Спиртовые растворы йода,
калия йодида, йодофоры

Бромсодержащие

Дибромантин, Аквабор

Механизм действия хлорсодержащих соединений

При растворении хлорактивных соединений в воде образуются соли и хлорноватистая кислота (HOCl), которая действует как окислитель, выделяя кислород или как хлорсоединение, выделяя хлор. Происходит хлорирование амино- и геминогрупп протоплазмы клетки, что приводит к денатурации белков и нуклеиновых кислот.

Неорганические хлорсодержащие соединения хлора:

- хлорная известь
- известь белильная
- нейтральный гипохлорит кальция (НГК)
 - двутретьосновная соль гипохлорита кальция (ДТСГК)
 - гипохлорит натрия.

Хлорная известь

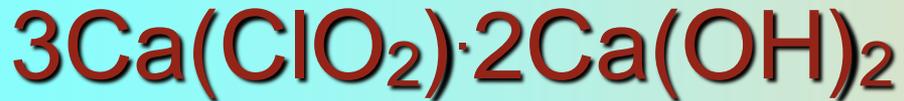
Смесь:

- гипохлорита кальция $\text{Ca}(\text{OCl})_2$
- хлорида кальция CaCl_2
- карбоната кальция CaCO_3
- гидрата окиси кальция $\text{Ca}(\text{OH})_2$

содержит 28—35% активного хлора

Применяется - в виде сухого порошка,
3-10% осветленных растворов.

Двутретьосновная соль гипохлорита кальция



содержит 47-52% активного хлора,
обладает - бактерицидным,

вирулицидным, фунгицидными и
спорицидными свойствами

Применяют для дезинфекции в виде
сухого порошка и растворов.

Нейтральный гипохлорит кальция ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$)

Получают хлорированием известкового
молока в присутствии гипохлорита натрия
или без него, с последующим
выделением кристаллогидрата
гипохлорита кальция и его
высушиванием.

Содержит 70% активного хлора.

Физико-химические показатели гипохлорита кальция

- Массовая доля активного хлора- 45-54%
- Порошкообразный пылящий продукт белого цвета с резким запахом хлора
- Коэффициент термостабильности- не менее 0,8

Гипохлорит натрия

Химическим гермицидом с широким спектром действия. Обычно он продается в виде отбеливателя

Водного раствора гипохлорита натрия (NaOCl), который можно разбавлять в воде

для получения различных концентраций активного хлора.

Гипохлориты

Взрывобезопасны. Не горючи. Однако при контакте с жидкими маслообразными органическими веществами и пылевидными органическими продуктами может вызвать их загорание. Емкости могут взрываться при нагревании.

Диоксид хлора

Диоксид хлора (ClO_2) – это дезинфицирующее средство и окислитель, который часто проявляет активность при более низких концентрациях, чем концентрации, необходимые при использовании гипохлорита натрия.

В газообразном состоянии диоксид хлора является нестойким и быстро разлагается на газообразный хлор (Cl_2) и газообразный кислород (O_2) с выделением тепла. Однако диоксид хлора растворяется в воде и в виде водного раствора является стабильным.

Генератор диоксида хлора



Органические хлорсодержащие соединения:

- хлорамин Б
- дезам
- ДП-2
- дихлор-1
- сульфохлорантин
- хлорцин
- хлордезин.

Хлорамин Б ($C_6H_5SO_2NClNa$) натриевая соль бензол-хлор-сульф-амида— порошок, содержащий 26—28% активного хлора. Хорошо растворяется в воде при комнатной температуре. Растворы сохраняют активный хлор в течение 15 дней. Концентрация растворов в практических условиях составляет 0,5-1-2-3-5%. Горячие растворы хлорамина (50-60°C) обладают более высоким обеззараживающим действием.

Антимикробные характеристики хлорамина Б

Обладает высокой активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (включая микобактерии туберкулеза), вирусов, возбудителей - сибирской язвы, чумы, холеры.

В лаборатории для дезинфекции используется 3% раствор хлорамина Б.

Сравнительная характеристика некоторых хлорсодержащих дезинфектантов

Основные свойства и показатели	Гипохлорит кальция технический	Хлорная известь	Хлорамин Б	Сульфохлорантин Д
Действующее вещество	Гипохлорит кальция из отходов хлорпотребляющих производств	Хлорид – гипохлорид кальция техн.	Хлораминбензолсульфат натрия	1,3-дихлор 5,5-диметилгидантоин (дихлорантин), а также другие функциональные добавки
Препаративная форма	Порошок	Порошок	Порошок	Порошок
Запах препарата	Сильный	Сильный	Значительный	Умеренный
Срок хранения, лет	5	0,5	1	3
Раздражающее действие на кожу и глаза	Сильное раздражающее	Сильное раздражающее	Значительное	Умеренное местно-раздражающее действие при повторном воздействии
Срок хранения раб. растворов, сут	6	1	7	14
Многokратное использование	Нет	Нет	Нет	Да
Активность в отношении: туберкулеза	Активен	Активен	Активен	Активен
вирусных инфекций	Активен 1%	Активен 3%	Активен 3%	Активен 0,2%
Моющие св-ва	Нет	Нет	Нет	Да
Расход, мл/м ²	500	300	300	150
Условия хранения	Проветриваемые складские помещения	Проветриваемые складские помещения	Проветриваемые складские помещения	Проветриваемые складские помещения
Обработка поверхностей в присутствии больных	Не допускается	Не допускается	Не допускается	Производится

Кислородсодержащие дезинфектанты:

- перекись водорода
- надкислоты
- перманганат калия.

Механизм действия кислородсодержащих дезинфектантов

Антимикробное действие препаратов связано с образованием свободных радикалов, которые повреждают липиды клеточной мембраны, ДНК и другие важные компоненты клетки.

Перекись водорода

Перекись водорода (H_2O_2) была впервые получена французским химиком Л.Ж. Тенаром в 1818 г. Концентрации перекиси водорода выпускаемые химическими предприятиями: - 35%, 50%, 60% и 70% по весу.

Перекись водорода

Бесцветная прозрачная слегка вязкая жидкость со слабым своеобразным запахом, смешивающаяся с водой в любых соотношениях. Молекулярный масса - 34,02.

Пожаровзрывоопасная жидкость,
является сильным окислителем.

Перекись водорода

- при длительном применении не накапливается в организме
- не оказывает токсического и аллергенного действия
- проявляет такие дополнительные лечебные эффекты, как механическая очистка места аппликации, дезодорация, стимуляция кровоснабжения и регенерации тканей; препарат быстро разлагается на свету.

Антимикробные характеристики перекиси водорода

- связаны с ее высокой окислительной активностью
- чувствительны грам+ и грам- бактерии, вирусы и патогенные грибы
- для дезинфекции - 3-6% растворы H_2O_2 .

Надкислоты

- Средства на основе надмуравьиной и надуксусной кислоты, легко смешиваются с водой и спиртом, обладают сильными окислительными свойствами
- Состав С-4: 17мл. 30% перекиси водорода, 8,1мл. 85% муравьиной кислоты, дистиллированная вода до 1 литра. используют для обработки рук хирургов.

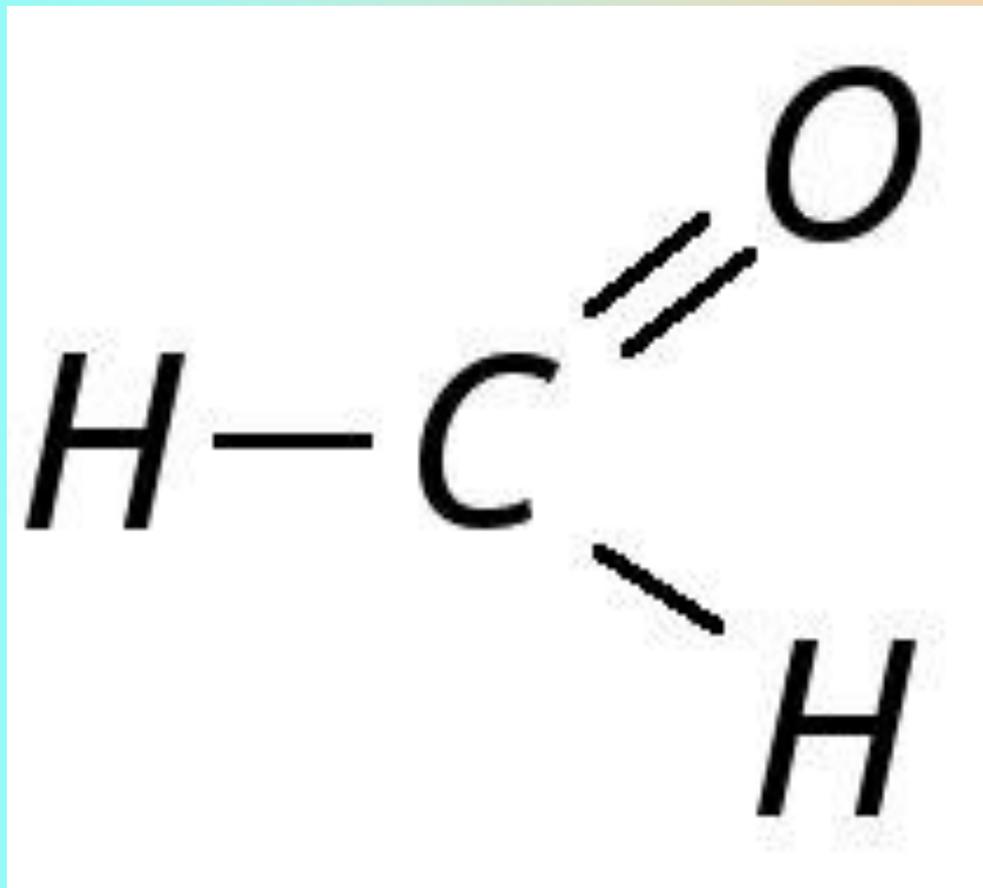
Альдегиды

Типичный представитель формальдегид (муравьиный альдегид) (CH₂O) — газообразное, бесцветное вещество, с острым запахом. Существует промышленный способ получения формальдегида окислением метана:

$$\text{CH}_4 + \text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$$

Водный раствор формальдегида - *формалин*

Формалин- 40,0% р-р формальдегида
(CH₂O)

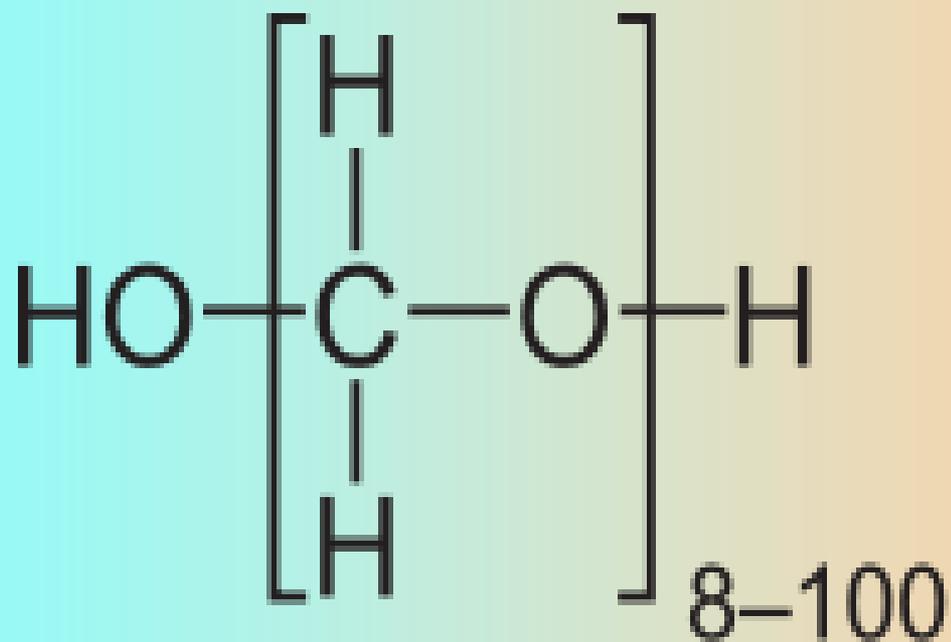


Параформальдегид (англ. *PFA*, также параформ)

продукт полимеризации формальдегида, состоящий из 8-100 остатков.

Параформальдегид обычно имеет более легкий запах формальдегида.

Параформальдегид



Щелочи

Обладают бактерицидным и вирулицидным действием.

Разрушают микробную клетку, гидролизуют белки, омыляют жиры, расщепляют углеводы. Наличие органических веществ не оказывают существенного влияния на бактерицидное действие.

Для дезинфекции используют следующие щёлочи:

1. NaOH- 2%, 10%
2. NH₄OH- для нейтрализации формальдегида
3. Препарат коспас- (смесь, содержащая едкий натр, едкий кали, карбонат натрия, сульфат калия и др.).

Спирты

- препараты на основе этанола, пропанола, изопропанола и др. Этиловый спирт (70%) обладает бактерицидным (кроме микобактерий туберкулеза), вирулицидным (включая ВИЧ) действием
- на основе спиртов разработаны препараты: ИД-220, Гротанат и др., которые предназначены для обеззараживания инструментов в стоматологической практике
- отрицательные свойства спиртов - способность фиксировать органические загрязнения.

Поверхностно-активные вещества (ПАВ)

- анионные
- катионные
- амфотерные (содержат основные и кислотные группы)
- к катионным ПАВ относятся четвертичные аммониевые соединения (ЧАС).

Четвертичные аммониевые соединения

по широте антимикробного спектра уступают хлорактивным и фенольным соединениям, но хорошая растворимость в воде. отсутствие запаха и коррозирующих свойств, сравнительно невысокая токсичность для человека делают их ценными дезинфицирующими средствами.

Некоторые препараты ЧАС разрешены к применению в ЛПУ- амфолан, вертосепт, велталекс, велтолен, септустин, вертосепт-С, аламинол, септодор-форте, септодор-арома.

Амфолан

Смесь катионных и амфолитных ПАВ. Хорошо растворим в воде.

Водные растворы в концентрации 0,025% действуют губительно на:

- золотистый стафилококк, брюшнотифозную и кишечную палочки в течение 5-15 минут;
- синегнойную палочку в течение 25 минут.

Используют препарат для проведения текущей дезинфекции в очагах бактериальных инфекций (кроме туберкулеза) и для профилактики внутрибольничных инфекций.

Химические дезинфекционные средства, применяемые в газообразном виде

Формальдегид (альдегид муравьиной кислоты)- бесцветный газ с удушливым запахом, обладающим сильным раздражающим действием для слизистых верхних дыхательных путей и глаз, хорошо растворим в воде, выпускается в виде 40% водного раствора (формалин).

Применяют в дезинфекционных камерах (путем распыления или испарения) для термолабильных материалов, для газовой дезинфекции

Формальдегид для газовой дезинфекции

45 весовых частей формалина и 22 части H_2O , а затем добавляют 30 частей KMnO_4 . При взаимодействии формалина с марганцовокислым калием идет бурная реакция, сопровождающаяся высокой температурой, в результате чего формалин быстро закипает и испаряется. Для дезинфекции берут 40-50 мл формалина (40 % формальдегида) на 1 м^3 помещения при температуре $25\text{-}30^\circ\text{C}$, относительной влажности 70 % и экспозиции 5-6-12 часов.

АВТОМАТИЧЕСКАЯ УСТАНОВКА ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ ПОМЕЩЕНИЙ ФОРМАЛЬДЕГИДОМ



Первая стадия: Оператор программирует полный цикл обеззараживания с панели управления.

Вторая стадия: Автоматически испаряется 40% водный раствор формальдегида и оказывает свое дезинфицирующее/стерилизующее действие

Третья стадия: Автоматически испаряется 25% раствор аммиака, нейтрализующий токсическое действие формальдегида. В результате реакции аммиака с формальдегидом образуется не токсичный гексаметилентетрамин.

Деконтаминация БББ

Производится в соответствии со стандартным протоколом стандарта EN12469 (Европейский стандарт для боксов биологической безопасности) с использованием формалина и аммиака. Стандарт ANSI/NSF49 (Американский стандарт для боксов II класса) рекомендует производить деконтаминацию при помощи параформальдегида и бикарбоната аммония.

Распылитель формалина для деконтаминации боксов БББ



Режим обработки формалином

- газовая дезинфекция воздуха лабораторных, рабочих и вспомогательных помещений из расчета 25-30 мл. формалина на 1 м^3
- обработка пневмокостюмов в камере КДФ - 60°C , 4 часа.

Дезинфекцию в лаборатории
подразделяют на:

- Текущую

- Заключительную

Заключительная дезинфекция *проводится:*

- перед планово-предупредительным ремонтом
- при возникновении не штатных ситуаций

Методы дезинфекции с использованием химических дезинфицирующих средств

- Влажный метод дезинфекции
- Аэрозольный метод дезинфекции
- Дезинфекция бактерицидными пенами
- Газовый метод дезинфекции.

Влажный метод дезинфекции

Основан на обработке поверхностей различных объектов растворами химических дезинфицирующих средств путем мелкокапельного их орошения.

При данном методе дезинфекции на 1 м² обрабатываемой площади затрачивается от 200-1000 мл раствора в зависимости от объекта обработки и его поверхностей.

Аэрозольный метод дезинфекции

Сущность данного метода заключается в том, что водные растворы химических дезинфицирующих средств с помощью специальных генераторов распыляются до туманообразного состояния - аэрозоля. Аэрозоль из дезсредства может быть получен и безаппаратным способом - путем химической возгонки. Данный способ обработки позволяет значительно сократить расход дезсредств на единицу обрабатываемой поверхности - расход составляет от 10-20 мл/м³.

Дезинфекция бактерицидными пенами

Бактерицидные пены представляют собой препаративную форму дезинфектантов, получаемую спомощью пеногенераторов из рабочего раствора дезинфицирующего средства, в котором содержится биологически мягкое поверхностно активное вещество (ПАВ).

Бактерицидные пены подразделяются на: среднекратные (кратность 1:60 - 1:100), когда из 1 литра рабочего раствора получают 60-100 литров пены; предназначены для обработки различных поверхностей; высокократные (кратность 1:100 - 1:1000) предназначены для обработки различных объектов путем объемного их заполнения (вагоны и т.д.).

Газовый метод дезинфекции

ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии разработан и широко апробирован уникальный метод дезинфекции почвы на глубину не менее 2-х метров с использованием газов- окиси этилена и бромистого метила. Аналогов использования газового метода обработки как почвы, так и сырья животного происхождения (шерсть, пушно-меховое и кожевенное сырье) не существует.

Факторы, влияющие на эффективность химических дезинфектантов

- Наличие органических веществ
- Тип и интенсивность микробного загрязнения
- Концентрация дезинфектанта
- Экспозиция
- Характер обрабатываемого объекта
- Температура и рН, при которых происходит дезинфекция.

Контроль качества дезинфекции

Химическими методами

Бактериологическими методами

Химический метод

- Лабораторный метод
- Метод экспресс-пробы

Метод экспресс-пробы

контроль дезинфектантов с помощью индикаторных бумаг, пропитанных раствором метола

определение:

- активного хлора в растворах- (Хлор-тест)
- перекиси водорода- (Пероксид-тест)
- нейтрального анолита-(Миллихлор)

Суть метода заключается в следующем: при взаимодействии активного хлора, содержащегося в определяемом растворе, с метолом индикаторная полоска быстро (30 сек.) меняет цвет на сиренево-зеленую гамму оттенков в зависимости от концентрации активного хлора. Цвет полоски сравнивают со шкалой цветности, где каждой концентрации раствора соответствует определенный цвет бумаги.

Шкала состоит из трех частей:

- определение концентрации раствора хлорамина, которым обработаны поверхности;
- определение концентрации растворов хлорной извести и гипохлорита кальция.

Экспресс-метод используют для определения качества наиболее часто используемых растворов следующих концентраций: 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10%.

Бактериологический контроль качества дезинфекции

Осуществляется методом смывов. Для нейтрализации дезинфицирующих агентов используются специальные химические вещества (тиосульфат натрия). Бактериологический контроль качества работы дезинфекционных камер проводится ежемесячно с использованием специальных тест-объектов.

Добросовестное и правильное
использование
микробиологических технологий
и оборудования залог успеха
лаборатории, при этом хорошо
обученный персонал
остаются основными
звеном биологической
безопасности в лабораторных
условиях

Благодарю за внимание