

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
«ХАРКІВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ»

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до лабораторної роботи

«Повітря робочої зони.

Бактеріологічний аналіз»

з дисципліни «Виробнича санітарія»

для студентів спеціальності 263 «Цивільна безпека»

спеціалізації 263-1 «Охорона праці»

денної та заочної форм навчання

Харків 2018

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
«ХАРКІВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ»

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до лабораторної роботи

«Повітря робочої зони.

Бактеріологічний аналіз»

з дисципліни «Виробнича санітарія»

для студентів спеціальності 263 «Цивільна безпека»

спеціалізації 263-1 «Охорона праці»

денної та заочної форм навчання

Затверджено
редакційно-видавничою
радою університету,
протокол № 1 від 30.01.2018 р.

Харків
НТУ «ХП»
2018

Методичні вказівки до лабораторної роботи «Повітря робочої зони. Бактеріологічний аналіз» з дисципліни «Виробнича санітарія» для студентів спеціальності 263 «Цивільна безпека» спеціалізації 263-1 «Охорона праці» денної та заочної форм навчання/ уклад. Л.А. Васьковець. – Харків : НТУ «ХП», 2018. – 30 с.

Укладач: Л. А. Васьковець

Рецензент О. М. Древаль

Кафедра охорони праці та навколишнього середовища

ВСТУП

Повітря робочої зони може містити різноманітні мікроорганізми, які здатні викликати захворювання людини. Рівень мікробного забруднення повітря виробничих приміщень залежить від виду виробництва, характеру технологічних операцій, додержання санітарного режиму та ін. Воно може або супроводжувати весь процес виробництва, або виникати під час окремих технологічних операцій, чи бути у відходах виробництва тощо. На таких підприємствах повинен бути розроблений і впроваджений комплекс заходів для захисту робітників, які працюють у цих умовах. Заходи із оздоровлення умов праці ґрунтуються на результатах виробничого контролю рівня бактеріологічного забруднення повітряного середовища.

Мета роботи: знати методи бактеріологічного аналізу повітря робочої зони та набути практичні навички виконання досліджень.

1. Загальні положення

Біологічні фактори виробничого середовища займають важливе місце у структурі професійної захворюваності працівників різних галузей виробництва. За Державними санітарними нормами та правилами «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу», затвердженими наказом Міністерством охорони здоров'я України 08.04.2014 № 248 до *біологічних факторів*

належать: мікроорганізми - продуценти, живі клітини та спори мікроорганізмів, що містяться в бактеріальних препаратах, патогенні мікроорганізми. До патогенних належать ті мікроорганізми, що викликають інфекційні захворювання.

За механізмом впливу на організм людини вони поділяються на три основні види: *інфікуючі* – зараження організму людини відбувається шляхом потрапляння бактерій, вірусів, грибів або спор; *алергенні* – провокують виникнення алергічних реакцій в організмі; *токсичні* - впливають на організм людини завдяки токсинам, які виділяють бактерії і гриби.

Найчастіше біологічні фактори супроводжують біотехнологічне, сільськогосподарське і текстильне виробництво, тваринництво, птахівництво, медицину, харчову промисловість, переробку і утилізацію відходів, житлово-комунальне господарство. У машинобудівній галузі висока захворюваність професійними дерматитами спостерігається у станочників, що є результатом неконтрольованого розмноження мікроорганізмів у відпрацьованих мастильно-охолоджувальних рідинах.

Під час деяких біотехнологічних процесів число мікроорганізмів-продуцентів у повітрі виробничих приміщень може досягати десятків тисяч в 1 м^3 і варіювати зважаючи на стадію виробничого процесу від 2,5 тис./ м^3 до 3000 тис./ м^3 дріжджових клітин. Граничною є концентрація дріжджоподібних грибів в кількості 500-600 клітин в 1 м^3 повітря виробничого приміщення, перевищення її веде до розвитку алергічних реакцій у працівників. У повітрі птахофабрик кількість мікроорганізмів досягає 8 млн в 1 м^3 . Максимальна гранично допустима концентрація мікроорганізмів-продуцентів у повітрі робочої зони мікробіологічних виробництв обмежується 50 000 кл./ м^3 .

Мікроорганізми, які надходять в органи дихання у вигляді аерозолів, можуть діяти на мікрофлору організму, а також призводити до

сенсibilізації (підвищеної чутливості організму щодо повторної дії на нього чужорідних речовин або інших агентів). Під дією продуктів мікробіологічного синтезу можуть виникати астматичні явища, захворювання слизової оболонки рота і верхніх дихальних шляхів, ураження шкіри. На підприємствах мікробіологічного синтезу білково-вітамінних концентратів і ферментів присутні дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Вони можуть чинити вплив на мікрофлору організму, а також призводити до сенсibilізації, може виникнути кандидозносійство. Воно може призвести до розвитку дисбактеріозу в різних органах і системах, при яких гриб-продуцент пригнічує нормальну мікрофлору. Уражуються слизові оболонки порожнини рота, кишечника, жовчовивідних шляхів, верхніх дихальних шляхів і бронхів, очей, статевих органів і шкіри. У осіб, які безпосередньо контактують із суспензією, найчастіше відмічаються епідерміти. У виробничих приміщеннях з високим вмістом пилу виникають дерматоконіози з переважним ураженням шкіри поверхні кінцівок та передпліччя. Хворі скаржаться на біль в животі, метеоризм, диспепсичні явища та ін. Слизові оболонки гіперемічні (повнокровні), набряклі, вкриті білуватим нальотом, мають місце ерозії. Кандидоз органів дихання може проявлятися гострими і хронічними формами патології з переважним ураженням бронхіального дерева.

Відкритий технологічний процес на очисних спорудах господарсько-побутових стічних вод сприяє безпосередньому контакту персоналу із мікроорганізмами, серед яких переважають грампозитивні палички і коки, спорові бактерії і гриби. На сміття переробних заводах повітря робочої зони значно забруднене пліснявими грибами. Це може призвести до бактеріальної та грибової сенсibilізації працівників.

Біологічний фактор особливо характерний для медичних закладів, що здійснюють безпосереднє обслуговування хворих; санітарно-гігієнічне та протиепідеміологічне обстеження; для мікробіологічних лабораторій

різних закладів. Санітарно-епідеміологічні вимоги до організацій, що здійснюють медичну діяльність, визначені ДСП 9.9.5.035-99 «Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності».

Головним фактором розповсюдження аерогенних мікроорганізмів у лікарняних закладах є повітря закритих приміщень. Лікарняні захворювання найчастіше обумовлені спалахом стрептококів. Виявлена можливість забруднення приміщень такими збудниками бактеріальних і вірусних інфекцій, як гемолітичні стрептококи, менінгококи, віруси грипу, віспи та ін.

Для мікробіологічної оцінки повітря приміщень визначають такі показники: загальну кількість мікроорганізмів у 1 м³ (загальне мікробне число - ЗМЧ) повітря та кількість у 1 м³ санітарно-показових мікроорганізмів, тобто індикаторних мікроорганізмів, кількісний рівень яких характеризує епідеміологічну безпеку об'єктів довкілля (гемолітичних стрептококів, золотистих стафілококів, пліснявих грибів, дріжджів та ін.).

Оцінка забруднення повітря мікроорганізмами здійснюється за гранично допустимою концентрацією (ГДК), кл/м³. Оцінку умов праці за вмістом у повітрі робочої зони мікроорганізмів-продуцентів, препаратів, що містять живі клітини та спори мікроорганізмів проводять за кратністю перевищення їх ГДК (табл. 1).

За наявності в повітрі робочої зони одночасно двох або більше шкідливих чинників біологічного походження (мікроорганізми - продуценти, препарати, що містять живі клітини та спори мікроорганізмів, білкові препарати) або за наявності ризику професійного контакту з патогенними мікроорганізмами гігієнічну оцінку умов праці здійснюють за найвищим класом та ступенем шкідливості. Згідно Державним санітарним нормам та правилам «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості

та напруженості трудового процесу» біологічний фактор у загальній оцінці умов праці за ступенем шкідливості або небезпечності незалежно від кількості шкідливих чинників біологічного походження враховується як один самостійний фактор.

Таблиця 1 – Класи умов праці залежно від вмісту в повітрі робочої зони шкідливих чинників біологічного походження

Шкідливі чинники*		Класи умов праці					
		допустимий	шкідливий				небезпечний
		2	3.1	3.2	3.3	3.4	4
		перевищення ГДК, разів					
Мікроорганізми-продуценти, препарати, що містять живі клітини та спори мікроорганізмів*		≤ГДК	1,1-10,0	10,1-100,0	>100	-	-
Патогенні мікроорганізми**	Особливо небезпечні інфекції***	-	-	-	-	-	+
	Збудники інших інфекційних захворювань	-	-	+	+	-	-

Через високу небезпеку патогенних мікроорганізмів для здоров'я людини (збудників особливо небезпечних інфекційних захворювань) наявність їх у повітрі робочої зони виключають окрім виробничих приміщень спеціалізованих медичних закладів. Для робітників цих закладів умови праці визначають як небезпечні без проведення досліджень. Для працівників підприємств м'ясної і шкіряної промисловості та зайнятих на каналізаційних системах умови праці відносять до шкідливих без проведення досліджень повітря на вміст патогенних мікроорганізмів.

Державні нормативні документи для оцінки мікробіологічних показників повітря виробничих приміщень за ГДК мікроорганізмів-продуцентів, бактеріальних препаратів та їх компонентів у повітрі робочої зони в Україні на сьогодні відсутні. Введені у дію лише ДСП 9.9.5.035-99 «Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп

патогенності», які визначають вимоги особистої та суспільної безпеки роботи з небезпечними мікроорганізмами та «Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу», яка встановлює класи умов праці залежно від вмісту в повітрі робочої зони мікроорганізмів-продуцентів, препаратів, що містять живі клітини та спори мікроорганізмів й патогенних мікроорганізмів.

Для операційних і перев'язувальних загальна кількість мікроорганізмів повітря до роботи не повинна перевищувати відповідно 500 і 750, після роботи - 1000 і 1500 мікроорганізмів в 1 м³. Щодо патогенної кокової флори, то у 250 м³ повітря не повинно бути жодного її представника. В інших лікарняних приміщеннях повітря вважається чистим, якщо у ньому є не більше ніж 3500 мікроорганізмів на 1 м³- влітку і не більше ніж 5000 - взимку. У разі виявлення патогенних мікроорганізмів повітря вважається забрудненим і небезпечним.

На підприємствах харчової промисловості особливе значення відводиться виявленню санітарно-показових мікроорганізмів, збудників харчових отруєнь і псування харчових продуктів. У повітрі харчових виробничих цехів повинно бути присутні не більше 100-500 бактерій в 1 м³ залежно від характеру виробництва.

До приміщень з виробництва лікарської продукції висувають особливі вимоги з метою зведення до мінімуму ризику їх зараження мікроорганізмами. У приміщеннях, де проводиться фасування продукції (клас чистоти А) і приготування розчинів (клас чистоти С), межі мікробного забруднення становлять відповідно <1 і 100 КУО/м³ (КУО - колонійутворюючі одиниці: мікроорганізми). У повітрі тваринницьких виробничих приміщень кількість мікроорганізмів не повинна перевищувати 50000 клітин в 1 м³.

Повітря житлових приміщень вважається чистим, якщо у 1 м^3 повітря вміст бактерій літом не більше 1500 в 1 м^3 та взимку не більше 4500 в 1 м^3 . У сильно забрудненому повітрі літом знаходиться більше ніж 2500 бактерій в 1 м^3 та взимку більше 7000 в 1 м^3 . Повітря громадських приміщень вважається досить чистим, коли ЗМЧ складає 2000-4000, у тому числі, кількість гемолітичного стрептококу – 11-40 в 1 м^3 . В атмосферному повітрі територій населених місць кількість мікроорганізмів- продуцентів не повинна перевищувати $5 \cdot 10^2$ КУО/ м^3 .

Профілактика професійних захворювань мікробіологічного походження складається з комплексу протиепідемічних, санітарно-гігієнічних заходів, головною метою яких є покращення санітарно-гігієнічного стану виробничих об'єктів. Обов'язковим є дотримання гранично допустимих концентрацій мікроорганізмів у повітрі виробничих приміщень, застосування автоматизації і герметизації технологічних процесів, припливно-витяжної вентиляції та індивідуальних засобів захисту органів дихання, проведення профілактичних медичних оглядів. Пріоритетним є проведення контролю за рівнем мікробного забруднення повітря виробничих приміщень. Основним його етапом є визначення наявності у повітрі збудників захворювань та їх рівня.

Санітарно-мікробіологічне дослідження повітря можна розділити на такі етапи:

- 1) відбір проб;
- 2) обробка, транспортування, зберігання проб, отримання концентрату мікроорганізмів (якщо необхідно);
- 3) мікробіологічна оцінка повітря приміщень;
- 4) бактеріологічний посів, культивування мікроорганізмів;
- 5) ідентифікація виділеної культури.

2. Методи мікробіологічних досліджень повітря

У сучасних лабораторіях використовують різні методи мікробіологічних досліджень повітря.

Мікроскопічний - вивчення під мікроскопом виготовлених й забарвлення мазків із відібраних проб повітря. Він дає змогу швидко виявити характерні біологічні забруднювачі і має важливе значення при діагностиці професійних захворювань мікробіологічного походження.

Бактеріологічний метод зводиться до посіву біологічного матеріалу від відібраних проб повітря на відповідні живильні середовища, виділення чистої культури мікроорганізмів й визначення його виду, а, отже, і встановлення остаточного забруднювача повітря.

Серологічний метод базується на виявленні специфічних антитіл у сироватці крові хворих до певного збудника.

Біологічний (експериментальний) метод полягає у зараженні чутливих лабораторних тварин виділеною чистою культурою збудника, досліджуванім матеріалом або введенні бактерійних токсинів і відтворенні типової картини захворювання.

Алергічний метод дає змогу встановити діагноз за допомогою внутрішньошкірних алергічних проб, які виявляють стан підвищеної чутливості до збудника чи продуктів його життєдіяльності (алергенів). Наприклад, на туберкульоз (проба Манту), бруцельоз (проба Бюрне).

В атмосферному повітрі можуть знаходитись десятки й сотні видів сапрофітних мікроорганізмів – мікроорганізмів, що не спричиняють заразних хвороб. Серед них регулярно виявляють стафілококи, мікрококи, сарцини, спороносні палички, гриби, віруси. У повітрі закритих приміщень поряд із нешкідливими сапрофітами можуть виявлятися й патогенні мікроорганізми – мікроорганізми, здатні викликати інфекційні хвороби (менінгіту, коклюшу, туберкульозу, віруси грипу, парагрипу, кору та ін.). Санітарно-показовими бактеріями для повітря закритих приміщень є

золотисті стафілококи, альфа- і бета-гемолітичні стрептококи. Для повітря підприємств мікробіологічного синтезу – це організми- продуценти. Для інших - специфічні залежно від виду виробництва мікроорганізми.

Для кількісної оцінки забруднення повітря мікроорганізмами застосовують *седиментаційний, аспіраційний і фільтраційний методи*.

Седиментаційний метод Коха. Цей метод ґрунтується на принципі осадження мікробів на поверхні живильного середовища. Для цього дві чашки Петрі (рис. 1, 2), що заповнені живильним середовищем (наприклад, м'ясо-пептонним агаром – МПА, для визначення бактерій або агаром Сабуро – для визначення кількості грибків) відкривають і встановлюють на горизонтальній поверхні в місці взяття проби. Залежно від мікробного забруднення повітря експозиція чашок продовжується від 5-10 хв, при великій кількості бактерій, до 20-40 хв - при малій. Чашки з МПА закривають і поміщають у термостат при температурі 37 ± 1 °C на 24 год і ще витримують добу при кімнатній температурі. Посіви на агарі Сабуро - при $22,5 \pm 2,5$ °C упродовж 5 діб.



Рис. 1 - Зовнішній вигляд чашки Петрі

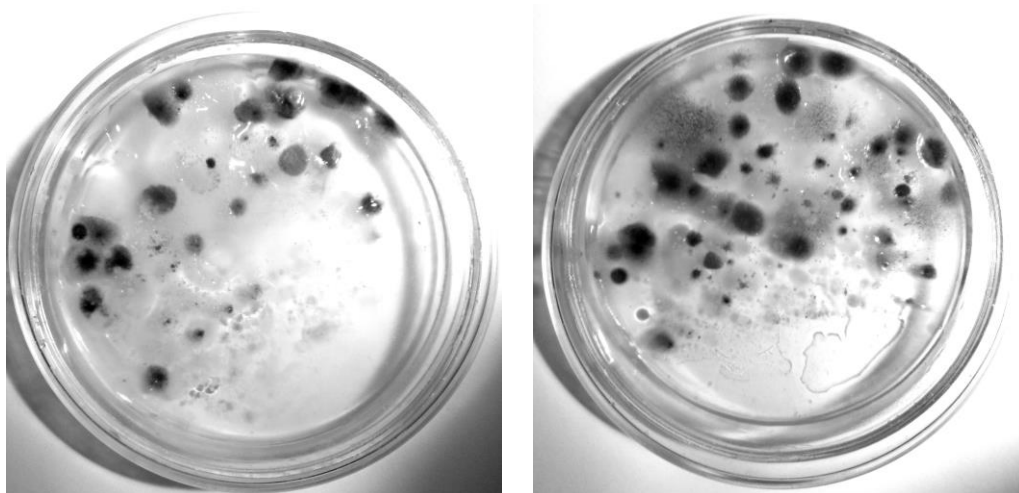


Рис. 2 - Чашки Петрі з колоніями мікроорганізмів

Для визначення загального мікробного числа повітря в 1м^3 підраховують кількість всіх колоній на МПА в двох чашках і знаходять середнє арифметичне. При цьому мають на увазі, що кожна колонія виросла з однієї клітини, що осіла на поверхні. Якщо колоній виросло небагато або вони дрібні, то їх підраховують за допомогою лупи. При великій кількості колоній дно чашки поділяють на сектори або використовують спеціальні наклейки (рис. 3) або пристосування (наприклад, Л.В. Бочарова) і проводять підрахунок у кожному секторі, а потім підсумовують результати. При дуже великій кількості колоній використовують лічильники колоній (рис. 4). Далі вивчають характер мікрофлори, готують мазки, виділяють чисті культури та ідентифікують їх.

Розрахунок виконують за В. Л. Омелянським, який вважав, що на поверхню 100 см^3 за 5 хвилин осаджується така кількість мікроорганізмів, яка знаходиться у 10 дм^3 повітря, за формулою (1):

$$X = \frac{n \cdot 5 \cdot 10^4}{t \cdot \pi \cdot r^2}, \quad (1)$$

де X – кількість колонійутворюючих організмів, КУО/м³ ; n – кількість колоній мікроорганізмів, які вирости на чашці; t – час осадження, хв; $\pi \cdot r^2$ – площа чашки Петрі; 5 і 10^4 – коефіцієнти перерахунку кількості мікроорганізмів в 1 м³.

Площа чашки залежно від діаметру наведена у табл. 2.

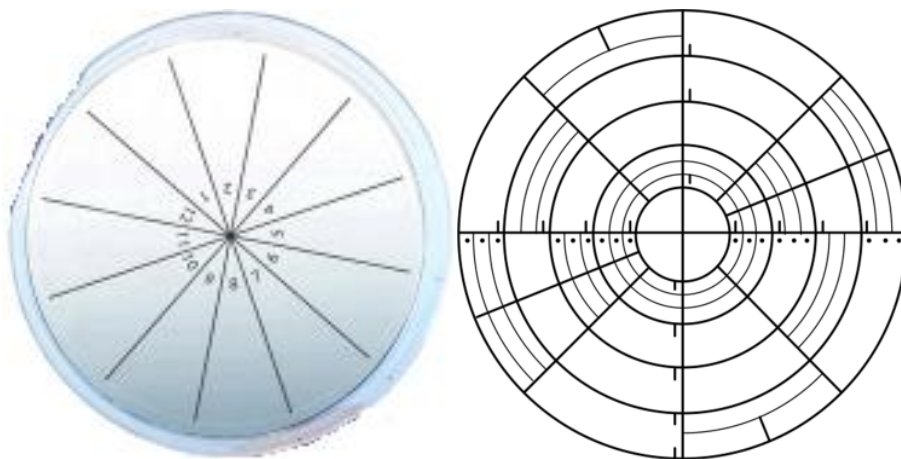


Рис. 3 – Наклейки на чашки Петрі



Рис. 4 – Лічильник колоній мікрорганізмів

Таблиця 2 – Площа чашок та їх діаметр

Діаметр чашки (в см)	Площа чашки (см ²)
8	50
9	63
10	78,5

Седиментацій метод не дає повного уявлення про кількісний вміст мікроорганізмів у повітрі приміщення через те, що має обмеження щодо вловлювання дрібнодисперсних фракцій мікробного аерозолі та припущення, що з однієї частки аерозолі виростає тільки одна колонія мікроорганізмів. У зв'язку з цим метод Коха використовують для орієнтовного визначення мікробного забруднення повітря приміщень. Втім, він може застосовуватися для дослідження динаміки мікробного забруднення повітря та ефективності санітарно-гігієнічних заходів.

Більш досконалими методами є *аспіраційні*. Вони дають можливість визначити не тільки якісний, а і кількісний вміст мікроорганізмів в певному об'ємі повітря. Ці методи ґрунтуються на примусовому осадженні мікроорганізмів з повітря на поверхню щільного поживного середовища (наприклад, МПА) або у вловлюючу рідину (м'ясо-пептонний бульйон, буферний розчин, ізотонічний розчин хлориду натрію та ін.).

Аспіраційний метод Кротова. Цей метод ефективно використовується для бактеріологічних досліджень повітря закритих приміщень та атмосферного повітря. Він ґрунтується на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища й прилипанні до нього бактерій. Дослідження проводять за допомогою апарату Кротова (рис. 5), який може вловлювати високодисперсні фази мікробного аерозолі.

Апарат складається з пристрою для відбору проб повітря, ротаметра, який регулює швидкість і кількість всмоктуваного повітря та електродвигуна. Прилад включають у електромережу, знімають кришку,

на спеціальний диск закріплюють відкриту чашку Петрі з живильним середовищем. Рукою надають їй інерційного руху за годинниковою стрілкою, закривають кришку апарату і включають двигун. Чашка обертається з постійною швидкістю 60 об/хв. Повітря із заданою швидкістю втягується через клиноподібну щілину плексигласової пластини, що закриває чашку Петрі з живильним середовищем.

При дослідженні загального мікробного числа пропускають, як правило, 100 дм³ повітря зі швидкістю 25 дм³/хв. Якщо визначають кількість індикаторних бактерій (золотисті стафілококи, альфа- і бета-гемолітичні стрептококи) об'єм досліджуваного повітря збільшують до 300-500 дм³. Після взяття проби чашку з посівом повітря знімають, закривають її й інкубують 18- 24 год при 37 °С і ще 24 год при кімнатній температурі.

Розрахунок загального мікробного числа проводять за формулою (2):

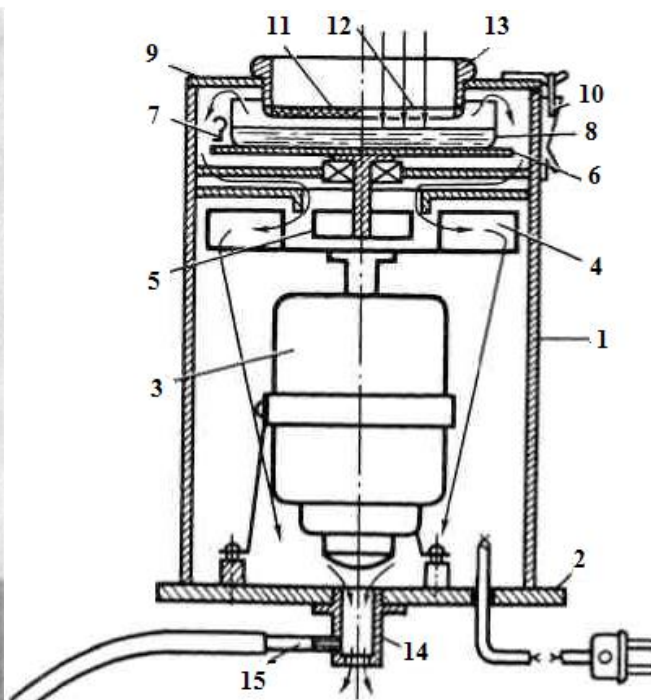
$$X = \frac{a \cdot 1000}{V} \quad (2)$$

де a - кількість колоній, що вирости в чашці Петрі; V – об'єм пропущеного через прибор повітря в дм³; 1000 - заданий об'єм повітря для визначення загального мікробного числа у повітрі

Фільтраційний метод. Відбір проб повітря проводять за допомогою різних бактеріовловлювачів Речменського, Дьяконова, Киктенко (рис. 6), приладів Андерсона. приладу відбору проб повітря (ПВП-1), пробовідбірника аерозольного бактеріологічного (ПАБ-1), бактеріально-вірусного електропреципітатора (БВЕП-1) та ін.



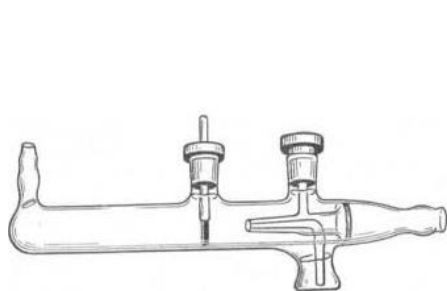
а)



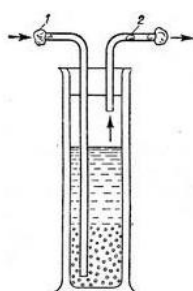
б)

Рис. 5 - Апарат Кротова (а – зовнішній вигляд ; б - схема конструкції):

1 – циліндричний корпус; 2 – основа корпусу; 3 – електромотор; 4 – центробіжний вентилятор; 5 – восьмилопатева крильчатка; 6 – диск; 7 – пружини; 8 – чашка Петрі; 9 – кришка приладу; 10 – накидні замки; 11 – диски з плексигласу; 12 – клиновидна щілина; 13 – розрізане кільце; 14 – штуцер з діафрагмою; 15 – відвідна труба



а)



б)



в)

Рис. 6 – Бактеріовловлювачі:

а - Речменського С. С.; б - Дьяконова П. П. в - Киктенко В. С.

Принцип дії бактеріовловлювачів зводиться до пропускання певного об'єму повітря через рідину (або фільтр) з наступним висівом мірної кількості її на живильні середовища. Далі підраховують число колоній, що виросли, та проводять відповідні перерахунки на весь об'єм рідини в приладі й визначають число мікроорганізмів у 1 м^3 повітря. При застосуванні фільтрів їх накладають на щільне живильне середовище. Підраховують число колоній, що виросли, та проводять відповідні перерахунки й визначають число мікроорганізмів у 1 м^3 повітря.

Прилад Речменского працює за принципом пульверизатору: при проходженні повітря через вузький отвір воронки рідина з приймача через капіляр у вигляді крапельок піднімається у циліндр. Краплі рідини ще більше подрібнюються, стикаючись із скляною лопаточкою і стінками посудини, створюється хмарка з дрібних краплинок, на яких і адсорбуються мікроорганізми, що знаходяться у повітрі. Насичені бактеріями краплі рідини стікають у приймач, а потім знову розпилюються, що забезпечує максимальне уловлювання бактерій з повітря. При роботі прилад поміщають під кутом $15-25^\circ$, що забезпечує стікання та уловлювання рідини в приймач. Швидкість відбору проб повітря через апарат Речменскій – $10-20 \text{ дм}^3 / \text{хв}$. Після закінчення роботи рідину з приймача забирають стерильною піпеткою і засівають (по $0,2 \text{ мл}$) на поверхню щільних поживних середовищ. Перевагою бактеріовловлювача Речменского є висока ефективність уловлювання бактеріальних аерозолів. Недоліки приладу полягають у трудомісткості його виготовлення, нестандартності одержуваних апаратів, їх великий крихкості і порівняно низької продуктивності.

Прилад П. П. Дьяконова складається з циліндричного скляної ємкості. Туди наливають стерильну рідину (поживний бульйон, пептону воду або фізіологічний розчин). Через резиновий корок у ємкість пропускають скляні трубки, одна з яких приєднується до аспіратору, а друга падає на

дно циліндра, по якій йде досліджуване повітря. Через стерильну рідину із швидкістю від 5 до 10 дм³/хв просочується певний об'єм повітря. У якості аспіратору можуть бути використані пиłosоси, повітродувки, насоси. На живильне середовище висівають 0,1–0,2 см³ рідини.

У бактеріовловлювачах використовують також і тверді нерозчинні фільтри (бактеріовловлювач В. С. Киктенко) та мембранні фільтри.

Бактеріовловлювач В. С. Киктенко (рис. 5) представляє собою скляну трубку з двома розширеннями, передня, кінцева частина якої заповнена скляною або бавовняною ватою. Вата просякнута сумішшю желатину і вазелинового масла. Через прилад пропускають повітря (від 100 до 300 дм³), потім виймають ватний тампон (фільтр), відмивають його у стерильному фізіологічному розчині і з отриманою суспензією проводять мікробіологічні дослідження.

Бактеріовловлювач Киктенко може бути використаний для мікробіологічного аналізу приміщень і атмосферного повітря, а також для відбору проб при негативних температурах. Для бактеріологічних досліджень застосовують також мембранні фільтри. Їх кип'ятять два рази по 20 хв у дистильованій воді, сушать у термостаті при 37 °С у чашці Петрі між двома шарами стерильного паперу. Для взяття проби мембранний фільтр поміщають у прилад для фільтрування типу Зейтца і через нього за допомогою повітродувки прокачують заданий об'єм повітря, після чого мембранний фільтр розміщують на поверхні щільного живильного середовища. Підраховують число колоній, що вирости, та проводять відповідні перерахунки й визначають число мікроорганізмів у 1 м³ повітря. За допомогою цього методу можна провести дослідження повітря на присутність і тих патогенних мікроорганізмів, які не культивуються на живильних середовищах.

Перевагою мембранних фільтрів є їх портативність і можливість концентрувати на них вміст великих обсягів повітря; до того ж, вони можуть використовуватися у зимових умовах.

Пробовідбірник аерозольний бактеріологічний (ПАБ-1). Механізм дії ПАБ-1 заснований на принципі електростатичного осадження частинок аерозолію (а отже, і мікроорганізмів) з повітря при проходженні його через прилад, в якому ці частинки отримують електричний заряд і осідають на електродах з протилежним знаком. На електродах для уловлювання аерозолів поміщають в горизонтальному положенні металеві піддони з твердими середовищами в чашках Петрі або рідким живильним середовищем (15-20 см³). Прилад переносний з великою продуктивністю 150-250 дм³/хв, тобто за 1 год можна відібрати 5-6 дм³ повітря. Його рекомендують застосовувати для дослідження великих обсягів повітря при виявленні умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, наприклад, при виявленні в повітрі палат лікарень збудників внутрішньолікарняних інфекцій, в атмосферному повітрі в місцях дощування при зрошенні сільськогосподарських земель стічними водами.

Прилад відбору проб повітря (ПВП-1) застосовується для дослідження повітря закритих приміщень на загальну мікробну забрудненість, для виявлення патогенних бактерій (наприклад, мікобактерій туберкульозу) і респіраторних вірусів у повітрі лікарняних палат. Відбір проб ґрунтується на принципі бактеріовловлювача Речменського. Великою його перевагою є портативність та висока продуктивність (20-25 дм³/хв). Колба приладу, де знаходиться вловлююча рідина, виготовляється з термостійкого пластигласу, капіляр - з нержавіючої сталі. У колбу вмонтований пульверизатор, який викликає розбризкування рідини під час прокачування повітря. Перед відбором повітря у колбу вносять 5–10 см³ вловлюючої рідини (наприклад, м'ясо-пептонний бульйон) і встановлюють її під кутом 10°, що забезпечує природне стікання рідини після

диспергування. Повітря, що проходить крізь колбу і пульверизатор, викликає утворення дрібних крапель вловлюючої рідини, на якій осідають мікроорганізми.

Бактеріально-вірусний електропреципітатор (БВЕП-1) Прилад заснований на аспіраційно-іонізаційному принципі дії. БВЕП-1 складається з осаджувальної камери, в яку вмонтовано електроди: негативний у вигляді трубки, через яку надходить повітря (і частинки аерозолі відповідно заряджаються негативно), і позитивний, на якому осідають бактерії.

Усі перераховані прилади та аналогічні дають більш точні результати порівняно з седиментаційним методом і вони можуть бути використані для оцінки бактеріального забруднення повітря робочої зони.

Для зниження чисельності мікроорганізмів у повітрі закритих приміщень застосовують такі засоби: а) хімічні - обробка озоном, двоокисом азоту, розпорошення молочної кислоти, б) механічні - пропускання повітря через спеціальні фільтри, в) фізичні - ультрафіолетове опромінення.

Для санації (знезараження) повітря приміщень ультрафіолетовим випромінюванням використовують бактерицидні опромінювачі, що складаються з бактерицидних ламп різного типу, так званих бактерицидних увіолевих ламп, як екранованих, так і неекранованих. При виборі їхньої кількості та потужності враховують певні правила: для неекранованих бактерицидних ламп середня питома потужність повинна бути на рівні 2-2,5 Вт на 1м^3 повітря. Їх включають за 1,5-2 години до початку роботи за відсутності персоналу; для екранованих бактерицидних ламп середня питома потужність повинна бути на рівні 1Вт на 1м^3 повітря. Їх експлуатують в присутності персоналу.

Принцип дії ультрафіолетового радіаційного обладнання ґрунтується на проходженні електричного розряду через розріджений газ, який

знаходиться у корпусі випромінювального обладнання, що є джерелом випромінювання.

Випромінювальне обладнання - це бактерицидні лампи, опромінювачі та установки. Бактерицидна лампа - штучне джерело випромінювання, у спектрі якого є переважно бактерицидне випромінювання в діапазоні довжин хвиль 205-315 нм. В Україні найбільшого поширення набули бактерицидні розрядні лампи низького тиску (РЛНТ) в кварцовому або увіолевому склі, у яких більше 60 % випромінювання припадає на лінію $\lambda=253,4$ нм. Їх ефективність досягає 30-35 % від споживаної електроенергії. Електрична потужність цих ламп перебуває в межах 4-300 Вт. Також як бактерицидні лампи використовують і ртутні лампи високого тиску (РЛВТ). Ефективність цих ламп значно нижча, ніж у РЛНТ – 8-12 %, але вони мають значно більший діапазон потужності 100÷12000 Вт і менші розміри.

Бактерицидний опромінювач - це електротехнічний пристрій, що складається з бактерицидної лампи (ламп), пускорегулювального апарату, відбивної арматури і ряду інших допоміжних елементів.

Тривалість роботи бактерицидної установки, при якій досягається необхідний рівень бактерицидної ефективності, різна в залежності від типу опромінювача: для закритих опромінювачів 1-2 години; для відкритих 0,25-0,5 години.

Робота бактерицидних ламп характеризується *радіометричними величинами*. Основними з них є *бактерицидний потік, бактерицидна доза і бактерицидна ефективність*. Від бактерицидної дози залежить ступінь дезінфекції повітря або поверхонь. Під бактерицидною дозою (дозою ультрафіолетового випромінювання) або експозицією слід розуміти щільність бактерицидної енергії випромінювання, або відношення енергії бактерицидного випромінювання до площі опромінюваної поверхні

(поверхнева доза, Дж/м²) чи обсягу об'єкта, що опромінюється (об'ємна доза, Дж/м³).

Значення бактерицидного потоку $\Phi_{e\chi}$ (одиниця вимірювань Вт) може бути обчислено з урахуванням відносної спектральної бактерицидної ефективності за формулою:

$$\Phi_{e\chi} = \Delta\lambda \sum_{205}^{315} \phi_{\lambda} S(\lambda)_{\text{від}}, \quad (3)$$

де 205 - 315 - діапазон довжин хвиль бактерицидного випромінювання, нм;

ϕ_{λ} - значення спектральної щільності потоку випромінювання, Вт/нм;

$S(\lambda)_{\text{від}}$ - значення відносної спектральної бактерицидної ефективності;

$\Delta\lambda$ - ширина спектральних інтервалів підсумовування, нм.

Ефективний бактерицидний потік $\Phi_{e\chi}$ оцінюється за його здатністю впливати на мікроорганізми. Бактерицидний потік становить частку від енергетичного потоку Φ_e джерела випромінювання в діапазоні довжин хвиль 205 - 315 нм, що ефективно витрачається на бактерицидну дію, тобто:

$$\Phi_{e\chi} = \Phi_e \cdot K_{e\chi}, \quad (4)$$

де $K_{e\chi}$ - коефіцієнт ефективності бактерицидної дії випромінювання джерела, значення якого знаходиться в межах від 0 до 1. Це значення $K_{e\chi}$ для ртутних ламп низького тиску складає 0,85, а для високого тиску - 0,42.

Результативність опромінення мікроорганізмів, або бактерицидна (антимікробна) ефективність - це рівень зниження мікробного обсіменіння повітряного середовища або на якій-небудь поверхні в результаті впливу ультрафіолетового випромінювання.

Ця величина оцінюється у відсотках - як відношення числа загиблених мікроорганізмів до їх початкового числа до опромінення. Бактерицидна

ефективність ламп залежить переважно від дози випромінювання (D_{UV} , Дж/м²):

$$D_{UV} = I \cdot t, \quad (5)$$

де I - середня інтенсивність або доза опромінення, Дж/м²; t - час впливу, с.

Коефіцієнт виживання мікробної або колонієутворюючої одиниці (КУО), яка підлягає впливу бактерицидного опромінення, експоненціально залежить від дози:

$$S = e^{kD_{UV}}, \quad (6)$$

де k - постійна дезактивації (інактивації), що залежить від конкретного виду КУО м²/Дж.

Отриманий коефіцієнт інактивації частки за один її прохід (η) через поле випромінювання, використовується як показник загальної ефективності випромінювання і показує відсоток або частку КУО, що інактивовані, після одного проходу через поле опромінення, а також залежить від S і завжди менше 1:

$$\eta = 1 - S \quad (7)$$

Значення параметра k для багатьох видів бактерій, грибків, цвілі отримані експериментальним шляхом і можуть відрізнятися один від одного на кілька порядків.

На роботу бактерицидних опромінювачів, крім перелічених чинників, впливають і інші фізичні параметри.

При відносній вологості більше 80 % бактерицидна дія ультрафіолетового випромінювання падає на 30 % через ефект

екранування мікроорганізмів. Запиленість колб ламп і відбивачів опромінювача знижує значення бактерицидного потоку до 10 %.

Зміна температури повітря в приміщенні впливає на потужність випромінювання ламп і УФ-доз. При температурі навколишнього повітря менше або дорівнює 10 або 40 °С і більше значення бактерицидного потоку ламп знижується на 10 % від номінального.

У сучасній практиці найбільш поширеними є такі опромінювачі:

1) *ВБН-150* - опромінювач бактерицидний настінний, який розміщують на висоті 1,5 – 2,5 м від рівня підлоги. Апарат складається з двох екранованих і двох неекранованих бактерицидних ламп ДБ-30 (30 Вт). Розрахований на об'єм повітря до 30 м³.

2) *ВБС-300* - опромінювач бактерицидний стельовий, що складається з 2 екранованих та 2 неекранованих бактерицидних ламп ДБ-30 (30 Вт). Розрахований на об'єм повітря до 30 м³.

3) *БПе-450* - опромінювач бактерицидний пересувний маячного типу, який має 6 бактерицидних ламп ДБ-30 (30 Вт). Оптимальний ефект досягається на відстані 5 метрів від об'єкта.

Колективом вчених кафедри Полтавського університету економіки і торгівлі (ПУЕТ) розроблена технологія та серія опромінювачів бактерицидного знезараження повітря та поверхонь. За конструктивним виконанням вони поділяються на дві групи: відкриті (установка бактерицидного знезараження повітря УБЗП-2) та закриті (установка бактерицидного знезараження повітря рекуперативного типу УБЗП-3). Відкриті опромінювачі призначені для знезараження приміщень тільки у відсутності людей або при їх короткочасному перебуванні. У закритих опромінювачах, їх іноді називають рециркуляторами, бактерицидний потік не має виходу за межі корпусу, тому ці опромінювачі можуть застосовуватися у приміщенні, де перебувають люди.

Установка УБЗП-2 (потужність – 20 Вт) призначена для знезараження повітря (поверхонь) на підприємствах, офісах, в побуті та ін. Установка УБЗП-3 для знезараження повітря більш потужна (35 Вт) і може використовуватися у навчальних та дитячих закладах, офісах, громадських місцях і підприємствах.

3. Порядок проведення роботи

1. Ознайомитися із загальними відомостями про бактеріологічний аналіз повітря робочої зони та технікою мікробіологічних досліджень, відповісти на контрольні запитання.

2. Визначити місце проведення досліджень. Визначити мікробне забруднення повітря приміщення методом седиментації (Коха). Для цього розташувати по дві чашки Петрі з живильним середовищем (МПА) у означених місцях і залишити у приміщенні з відкритими кришками на 5, 15 та 30 хвилин. Для визначення санітарно-показових бактерій беруть чашки Петрі з кров'яним МПА і час експозиції підвищують до 40 хв. Потім чашки Петрі з посівами розмістити в термостаті при 37 °С на 24 год та витримати при кімнатній температурі протягом 24 год.

3. Підрахувати колонії, що вирости, і розрахувати загальне мікробне число повітря (загальну кількість бактерій в 1 м³) – ЗМЧ, визначити та розрахувати кількість у 1 м³ санітарно-показових мікроорганізмів.

ЗМЧ та кількість у 1 м³ санітарно-показових мікроорганізмів визначити за формулою (1) та записати результати у зошит за формою (табл. 3).

4. Оцінити ступінь мікробіологічного забруднення повітря досліджуваних приміщень за ЗМЧ повітря та за кількістю у 1 м³ санітарно-показових мікроорганізмів за табл. 4.

5. Визначити ефект бактерицидної дії ультрафіолетового опромінення. Для оцінки ефекту бактерицидної дії ультрафіолетових променів застосувати пряме опромінення засіяних чашок Петрі з послідуочим підрахунком колоній, що вирости.

Таблиця 3 – Результати бактеріологічного аналізу повітря

Приміщення	Тривалість експозиції, хв	1-а чашка	2-га чашка	Середнє	Загальне мікробне число, кл/м ³ (мікробне число санітарно-показових мікроорганізмів, кл/м ³)	Характер забруднення повітря
Аудиторія	5					
	15					
	30					
Коридор	5					
	15					
	30					
Ідальня	5					
	15					
	30					

Для опромінення засіяних чашок Петрі може бути використане будь-яке джерело ультрафіолетового випромінювання (наприклад, бактерицидні лампи з ультрафіолетового скла БУВ-15 або БУВ-30, горизонтально вмонтовані у штатив).

Таблиця 4 – Критерії оцінки повітря приміщень за числом мікроорганізмів у 1 м³ повітря

Характер забруднення повітря	Влітку		Взимку	
	загальне мікробне число, кл/м ³	мікробне число санітарно-показових мікроорганізмів (у т.ч. стафілококів, гемолітичного стрептокока), кл/м ³	загальне мікробне число, кл/м ³	мікробне число санітарно-показових мікроорганізмів (у т.ч. стафілококів, гемолітичного стрептокока), кл/м ³
чисте	менее 1500	менее 16	менее 4500	менее 36
забруднене	более 2500	более 36	более 7000	более 124

Лампу встановити на окремому столі щоб не було струсів та поштовхів. Відкриті чашки Петрі, на які зроблений висів мікробів розмістити під ультрафіолетовими променями на різних відстанях від лампи і опромінювати протягом 2 хвилин. Після проростання і підрахунку бактерій виявити відстань, на якій бактерицидний ефект буде оптимальним, менш вираженим або можливий посилений ріст бактерій. Результати дослідів записують у зошит.

6. Розрахувати кількість екранованих і неекранованих бактерицидних ламп БУВ-25, потужність – 25 Вт (УБЗП-3 потужність – 35 Вт) та неекранованих (УБЗП-2, потужність – 20 Вт) для ефективної санації повітря приміщення. При цьому врахувати наступне: для неекранованих бактерицидних ламп середня питома потужність повинна бути на рівні 2-2,5 Вт на 1м³ повітря. Їх включають за 1,5-2 години до початку роботи за відсутності персоналу.

Для екранованих бактерицидних ламп середня питома потужність повинна бути на рівні 1 Вт на 1м³ повітря. Їх експлуатують в присутності персоналу.

4. Звіт

1. Мета роботи_____.
2. Метод визначення мікробного забруднення повітря приміщення
_____.
3. Приміщення, які досліджувалися_____.
4. Кількість точок у приміщенні, які досліджувалися_____.
5. Живильне середовище_____.
6. Діаметр чашки _____ , площа чашки _____ .
7. Час експозиції чашок у приміщенні _____ .
8. Умови культивування посівів (температура _____ , термін_____).
9. Кількість колоній мікроорганізмів_____.
10. Розрахунки кількості мікроорганізмів у 1 м3 повітря: _____.
11. Висновок про характер бактеріального забруднення приміщення
_____.
12. Кількість неекранованих і екранованих бактерицидних ламп для ефективної санації повітря приміщення_____.

5. Контрольні запитання

1. Які фактори виробничого середовища належать до біологічних?
2. На які групи поділяють біологічні фактори за механізмом впливу на організм людини?
3. Назвіть головні причини мікробіологічного забруднення повітря виробничих приміщень.
4. Як діє мікробіологічне забруднення повітря виробничих приміщень на працівників?

5. У чому полягає різниця впливу патогенних і сапрофітних мікроорганізмів на організм людини?
6. За якими мікробіологічними показниками контролюють повітря виробничих приміщень?
7. Охарактеризуйте прилади для відбору проб повітря для мікробіологічних досліджень.
8. Вкажіть особливості седиментаційного методу визначення мікробіологічного забруднення повітря.
9. Який з методів мікробіологічних досліджень повітря ґрунтується на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища й прилипанні до нього бактерій?
10. У чому особливості фільтраційного методу визначення мікробіологічного забруднення повітря?
11. Які заходи мають застосовуватися для профілактики професійних мікробіологічних захворювань?
12. Які засоби використовують для зниження чисельності мікроорганізмів у повітрі закритих приміщень?
13. За рахунок чого досягається бактерицидний ефект ультрафіолетових ламп?
14. За якими показниками оцінюється робота бактерицидних ламп?
15. Вкажіть фактори виробничого середовища, що впливають на роботу бактерицидних ламп.

Список джерел інформації

1. ДСанПіН. Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості трудового процесу // Затв. наказом міністерства охорони здоров'я України 08 квітня 2014 року № 248.

2. Люта В.А. Практикум з мікробіології : навч. посіб. / В. А. Люта, О. В. Кононов. - Київ: Медицина, 2008. - 184 с.

3. Гігієна праці : підручник / Ю. І. Кундієв, О. П. Яворовський, А. М. Шевченко та ін. ; За ред.: Ю. І. Кундієва, О. П. Яворовського. – Київ : ВСВ «Медицина», 2011. - 904 с.

4. Семенов А. О. Методи знезараження повітря в приміщеннях / Семенов А. О., Берлінова Л. В. // Доступ: dspace.puet.edu.ua/.

5. Семенов А. О. Використання ультрафіолетового випромінювання для бактерицидного знезараження води, повітря та поверхонь / Семенов А. О., Г. М. Кожушко, Н.В. Семенова // Науковий вісник НЛТУ України. – 2013. – Вип. 23.2. - С. 179-186.

Навчальне видання

Методичні вказівки
до лабораторної роботи
«Повітря робочої зони. Бактеріологічний аналіз»
з дисципліни «Виробнича санітарія»
для студентів спеціальності 263 «Цивільна безпека»
спеціалізації 263-1 «Охорона праці»
денної та заочної форм навчання

Укладач:

ВАСЬКОВЕЦЬ Людмила Антонівна

Відповідальний за випуск проф. *Березуцький В.В.*

Роботу до видання рекомендувала проф. *Пономаренко О. І.*

Редактор О. В. Козюк

План 2018 р., поз. 34.

Підписано до друку 24.07.2018. Формат 60х84 1/16 Папір офсет. Riso-друк. Гарнітура Times New Roman. Ум. друк. арк. 1,8 . Наклад 50 прим. Зам №13/07. Ціна договірна.

Видавничий центр НТУ «ХПІ», 61002, Харків, вул. Кирпичова, 2
Свідоцтво про державну реєстрацію ДК № 5478 від 21.08.2017 р.

Видавець ФОП Панов А.М. Свідоцтво ДК № 4847 від 06.02.2015 р.
Надруковано в поліграфцентрі «Влавке»
Харків, вул. Жон Мироносець, 10, оф. 6
Тел. +38 (057) 714-06-74, +30 (050) 976-32-87
copy@vlavke.com, <http://vlavke.com.ua>