

Методы стерилизации в микробиологии

Объекты стерилизации

- Микробиологическая посуда (пробирки, чашки Петри, колбы и т.д.)
- Среды для выращивания микроорганизмов
- Боксы и помещения, в которых ведут работу с микробиологическими объектами
- Отработанные материалы (наконечники, чашки Петри, мазки и т.д.)

Виды стерилизации:

- **насыщенный высокотемпературный водяной пар** (стерилизация паром),
- **сухой горячий воздух** (стерилизация жаром)
- **газ** (стерилизация газовая), (например этиленоксид – бесцветный газ)
- **химические вещества** (стерилизация химическая), 2 %-ного щелочного водного раствора глютаральдегида и 20 %-ного раствора формальдегида в 70 %-ном этаноле.
- **радиационный метод** (лучевая стерилизация),
- **фильтрование** через мелкопористые фильтры (механическая стерилизация),
- **многократное прогревание** жидкостей на водяной бане при 100°C (дробная стерилизация) или 56°C (тиндализация), .
- **Термическое – обжигание и кипячение**, однократное прогревание при 100°C
- **облучение УФЛ** не относятся к методам стерилизации, так как не обеспечивают полного уничтожения микроорганизмов, особенно спор.

Стерилизация паром

(автоклав)

- Воздействие – температура, давление пара

- Упаковка: биксы, крафт-пакеты, бумага-ламинат, бязь.
- Материалы: полимеры, стекло, латекс, ткань, коррозионностойкие металлы.
- Достоинства: высокая проникаемость пара, большой выбор упаковки, дольше сохраняется стерильность, дешевый и простой в использовании метод.
- Недостатки: увлажнение изделий, вызывает коррозию металлов.



Температура стерилизации	100–145°C
Давление пара атмосферы	0,4-2,5

Стерилизация жаром

Условия стерилизации:

при 180 °С – 1/2 ч,

при 170 °С – 1 ч,

при 160 °С – 2 ч,

при 150 °С – 2,5 ч,

при 140 °С – 3 ч,

при 120 °С – 6 ч.



- Упаковка: крафт-пакеты, бязь.
- Материалы: металл, текстильные изделия.
Достоинства: дешевый, простой метод, не вызывает коррозии металла, не происходит увлажнения упаковки и изделий.
- Недостатки: ограниченный выбор упаковки, медленное и неравномерное прогревание изделий, необходимость использования более высоких температур, невозможность использовать материалы из резины, полимеров.

Газовая стерилизация

- Стерилизующий агент – формальдегид или этилен-оксид.

- Упаковка: бумага-ламинат, пергамент, крафт-бумага.
- Материалы: полимеры, стекло, металл.
- Достоинства: невысокая температура, использование любых материалов.
- Недостатки: токсичность для персонала и взрывоопасность при несоблюдении техники безопасности, продолжительный цикл стерилизации.



Радиационный метод

необходим для стерилизации изделий из термолабильных материалов.

Стерилизующий агент – ионизирующие γ и β излучения.

Упаковка: помимо бумажных используют пакеты из полиэтилена.

Достоинства: надолго сохраняется стерильность в упаковке.

Недостатки: дороговизна метода.

Радиационный – основной метод промышленной стерилизации.

Используется предприятиями, выпускающими стерильные изделия однократного применения.



Бактериальная фильтрация

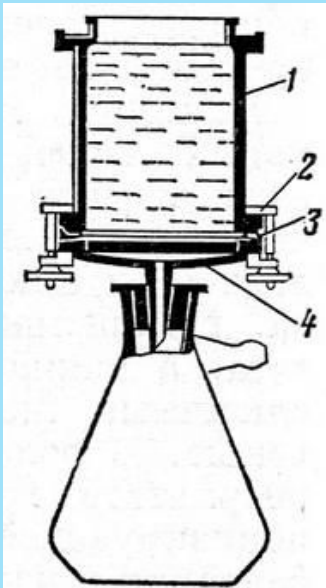


Рис. 3. Фильтровальный аппарат Зейтца открытого типа для фильтрации с разрежением (схема): 1 — верхняя цилиндрическая часть аппарата; 2 — винты для сборки аппарата и закрепления асбестового фильтра; 3 — асбестовый фильтр; 4 — нижняя часть аппарата.

- Метод состоит в отделении микроорганизмов от жидкости с помощью стерильных микропористых фильтров. Механизм фильтрации объясняется главным образом адсорбцией микробов, происходящей в порах фильтрующих материалов, которые в большинстве случаев заряжены отрицательно. В качестве микропористого фильтрующего материала используют каолин, фарфор, бумажно-асбестовую массу, инфузорную землю, коллодий и другие пористые материалы, а также стекло.
- Широкое применение находят микропористые фильтры на химико-фармацевтических заводах и при производстве вакцин и сывороток.

Кипячение

- Однократное нагревание до температуры 100°C .



Тиндализация —

- способ стерилизации, предложенный Дж. Тиндалем.
- Он заключается в дробном нагревании жидкостей (как правило, в течение 1 часа) от трёх до пяти раз с промежутками в 24 ч. За это время споры бактерий, выжившие при $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, прорастают, и вышедшие из них вегетативные клетки бактерий погибают при последующем нагревании.



Пастеризация

Тепловая обработка:

- при температуре 65 °С в течение 30 минут,
- 75 °С 15-40 секунд,
- 85 °С 8-10 секунд.
- При пастеризации молока погибают практически все болезнетворные микроорганизмы, но остаются термостойкие молочнокислые

Ультрапастеризация

- Для молока - сначала подвергают кратковременному воздействию высокой температуры — 135°C в течение 3-4 секунд, а затем медленно охлаждают до $4-5^{\circ}\text{C}$ и разливают в стерильную упаковку. Такое молоко практически не теряет своих полезных качеств, может храниться до 2 месяцев (разумеется, в упаковке).

Контроль стерилизации:

- 1. **Физический контроль**, состоящий в визуальном и инструментальном контроле за всеми параметрами стерилизации. Измерительная аппаратура должна периодически контролироваться в государственном метрологическом учреждении.
- 2. **Химический контроль**, проводимый с помощью индикаторов, изменяющих цвет или плавящихся при достижении определенного уровня температуры, влажности, концентрации стерилизанта. Существуют наружные индикаторы в виде стерилизационной ленты (окрашенной или нет) и внутренние химические индикаторы.
- 3. **Биологический контроль** непосредственно указывает, произошло уничтожение микроорганизмов в процессе стерилизации или нет, то есть стерилен или нестерилен объект. Для паровой стерилизации в качестве биологического индикатора используют споры *B. stearothermophilus*, для стерилизации этиленоксидом – *B. subtilis*.

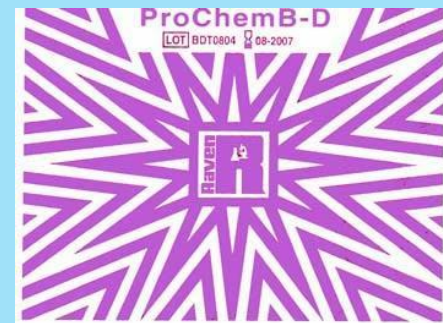
Химический контроль

- Индикаторы 1-го класса являются индикаторами («свидетелями») процесса. Примером такого индикатора является термоиндикаторная лента



Химический контроль

- **2-й класс** индикаторов предназначен для использования в специальных тестовых процедурах, например, при проведении теста Бовье-Дика (Bowie-Dick test). Этот тест не контролирует параметры стерилизации, он оценивает эффективность удаления воздуха из камеры парового стерилизатора.



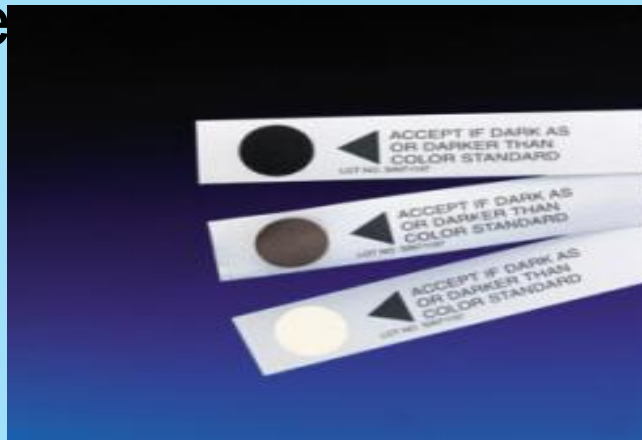
Химический контроль

- Индикаторы 3-го класса являются индикаторами одного параметра. Они оценивают максимальную температуру, но не дают представления о времени ее воздействия.



Химический контроль

- **4-й класс** - это многопараметровые индикаторы. Они содержат красители, изменяющие свой цвет при сочетанном воздействии нескольких параметров стерилизации, чаще всего — температуры и времени. Примером таких индикаторов служат термовременные индикаторы для контроля воздушной стерилизации.



Химический контроль

- **5-й класс** - интегрирующие индикаторы. Эти индикаторы реагируют на все критические параметры метода стерилизации. Характеристика этого класса индикаторов сравнивается с инактивацией высокорезистентных микроорганизмов.

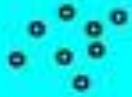


- **6-й класс** - индикаторы-эмуляторы. Эти индикаторы должны реагировать на все контрольные значения критических параметров метода стерилизации.
- (биологический способ)



Морфология бактерий, возбудителей заболеваний человека

ФОРМЫ МИКРООРГАНИЗМОВ



Кокки



Стрептококки



Стафилококки



Диплококки



Тетрады

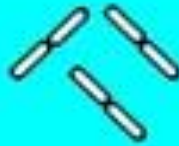
КОККОВИДНЫЕ



Сарцины



Бациллы



Диплобациллы



Стрептобациллы



Коринеформные
(булавовидные)
бактерии

ПАЛОЧКОВИДНЫЕ



Спириллы



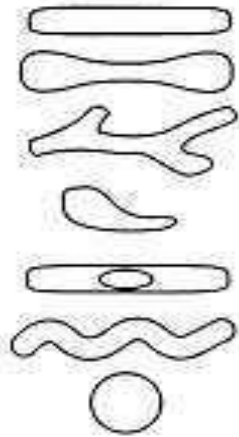
Вибрионы



Спирохеты

ИЗВИТЫЕ

Bacterial Morphologies



Straight rod

Club-shaped rod

Branching rod

Comma forms

Spore forming rod

Spiral forms

Coccus

Example

Escherichia

Corynebacterium

Actinomyces

Vibrio

Bacillus

Spirochaeta

Staphylococcus

Cell Arrangement

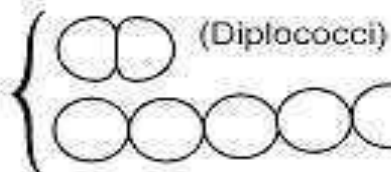
Coccus



Division in plane

Division in two planes

Division in three planes



(Diplococci)

(Chain)



(Tetrad)



(Cluster)

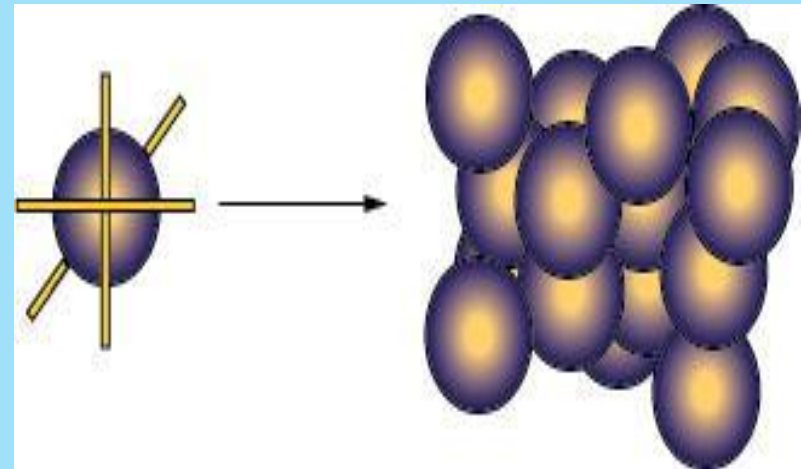
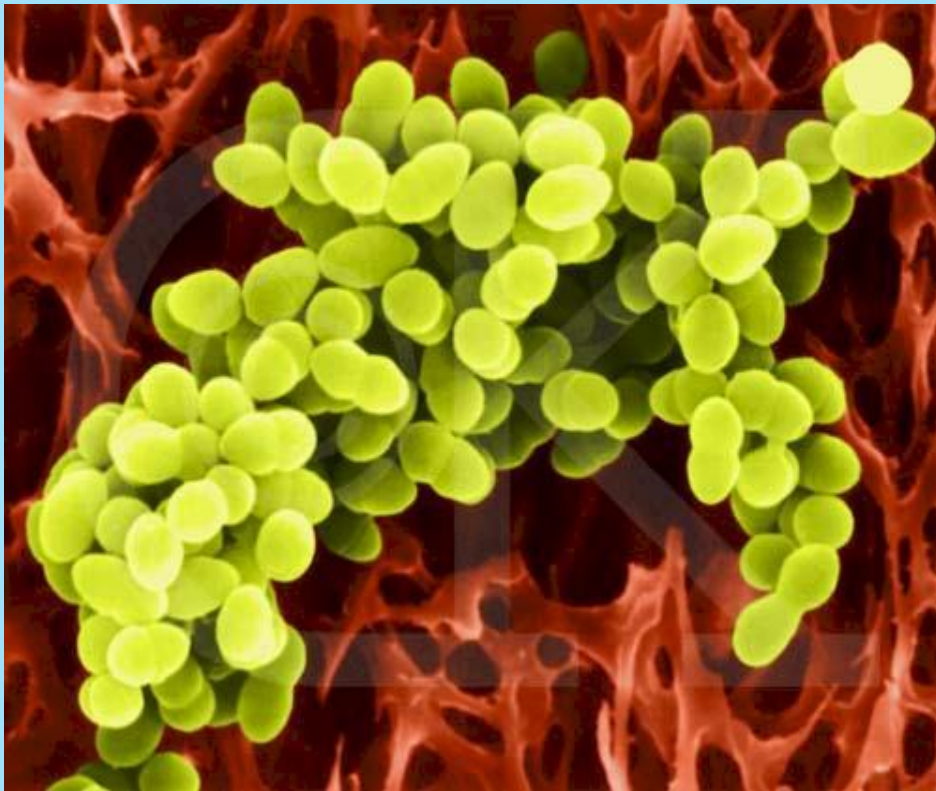
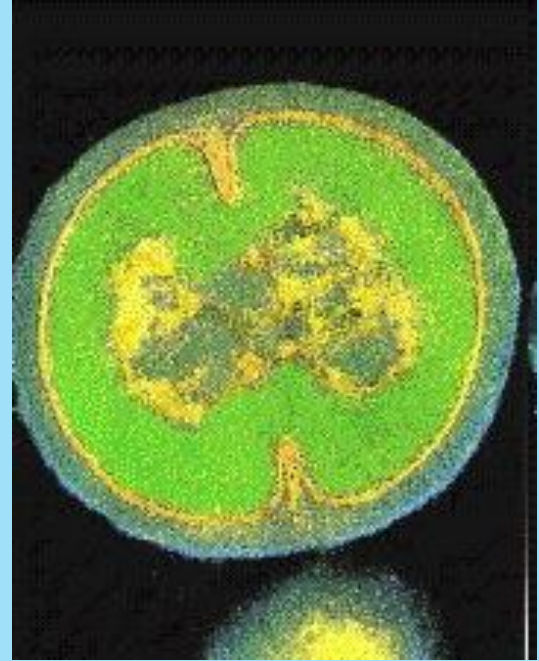
Neisseria

Streptococcus

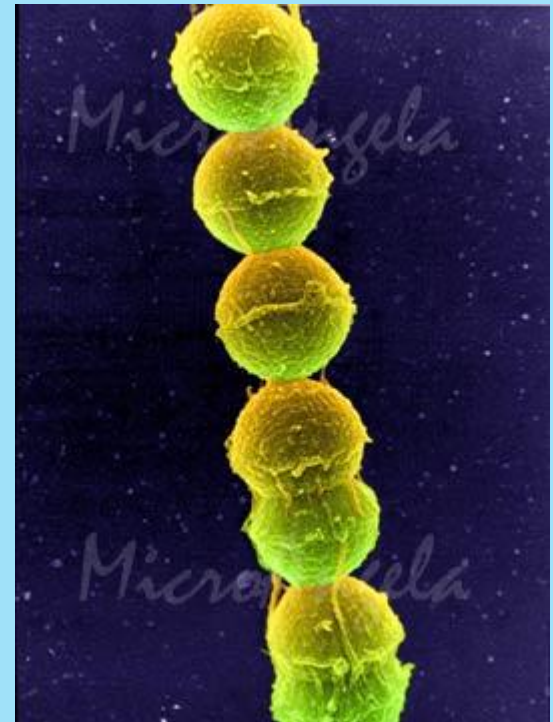
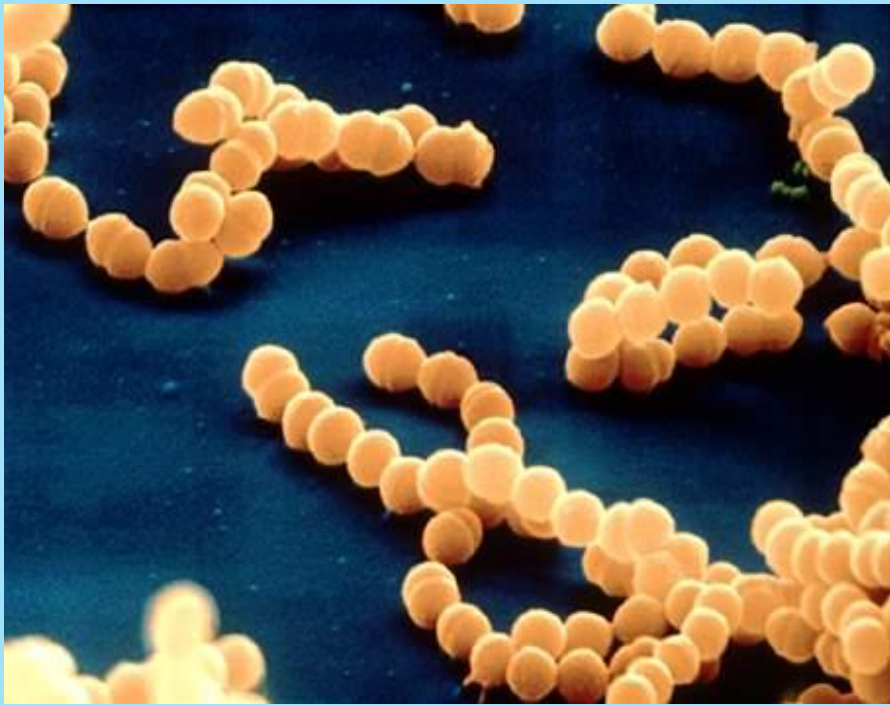
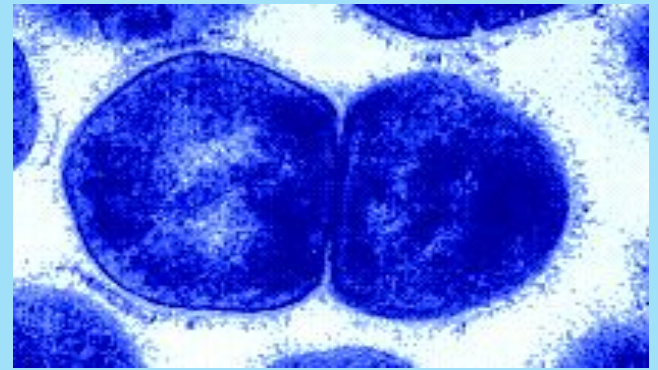
Sarcina

Staphylococcus

Стафилококки



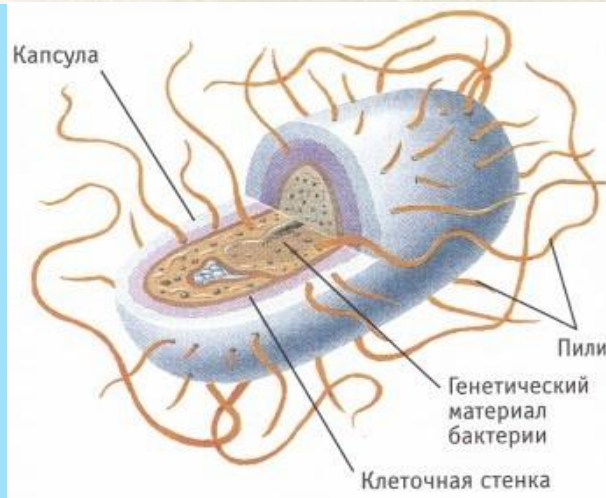
Стрептококки



Сарцины

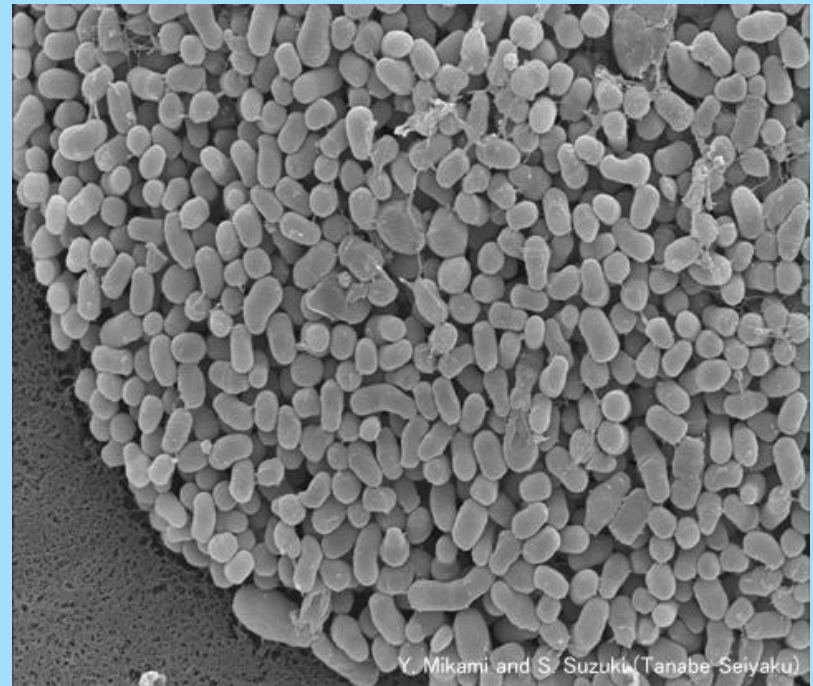


Палочковидные бактерии



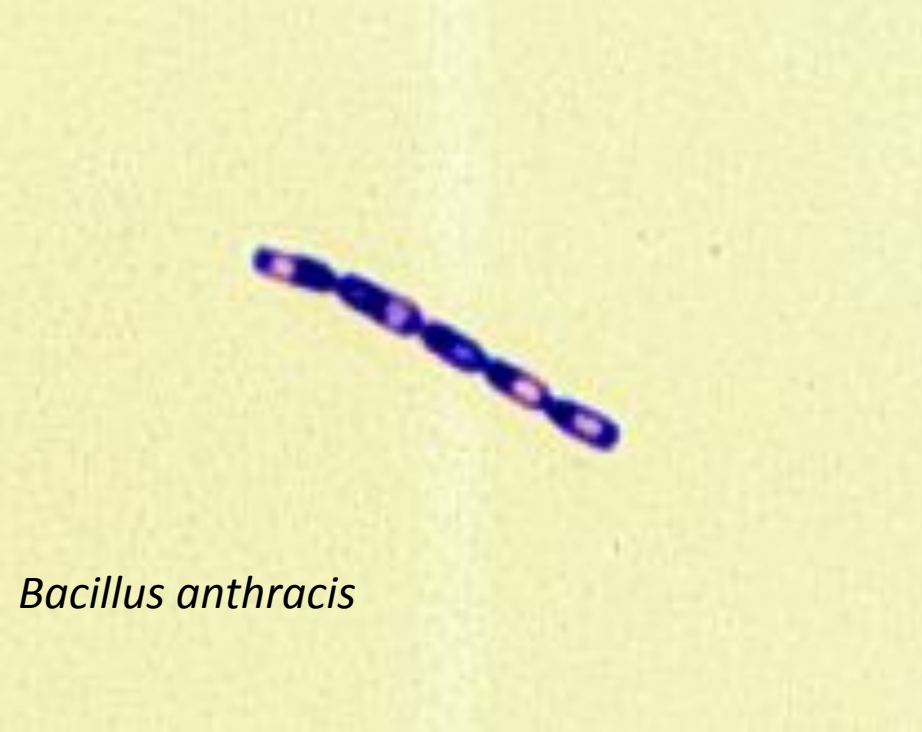
Коринеформные бактерии

Corinebacterium sp.

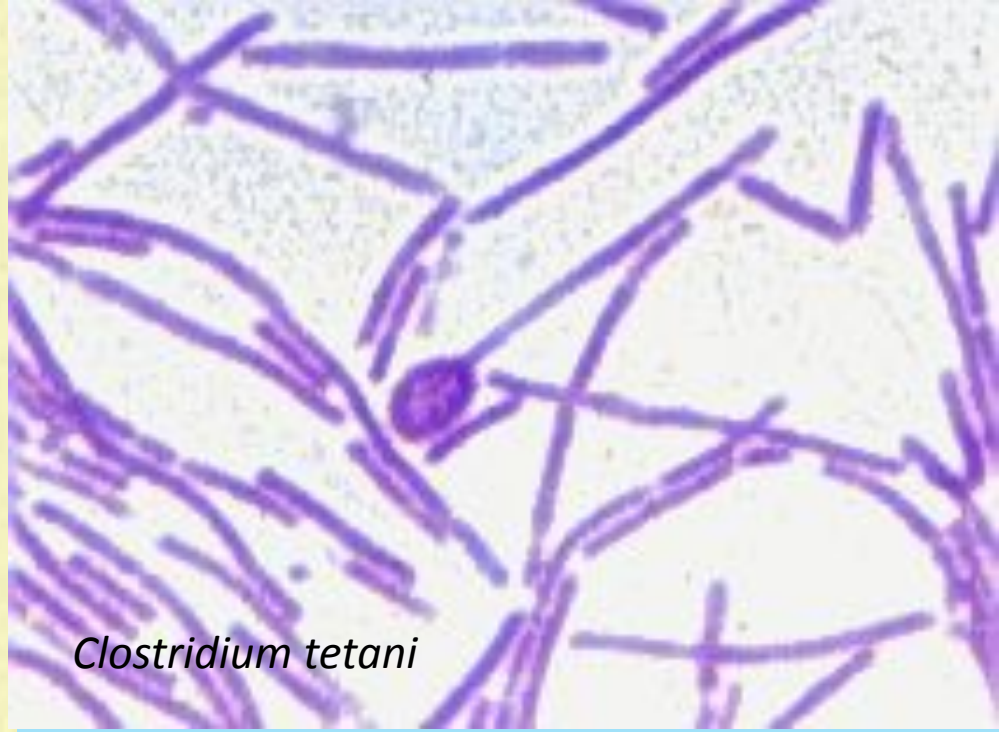


Clostridium tetani

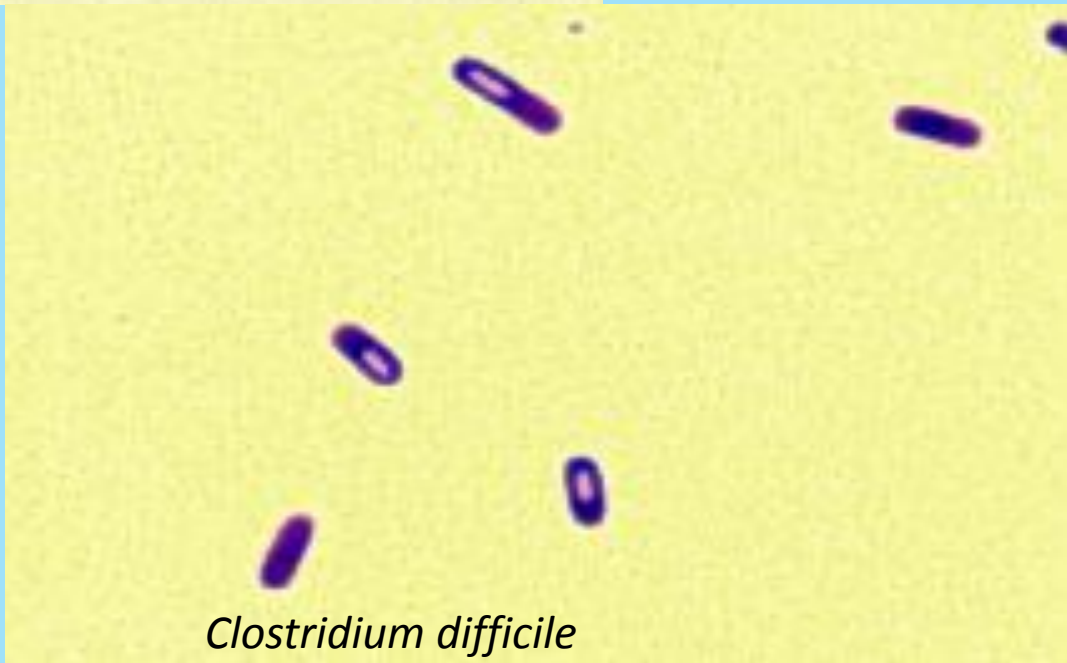




Bacillus anthracis

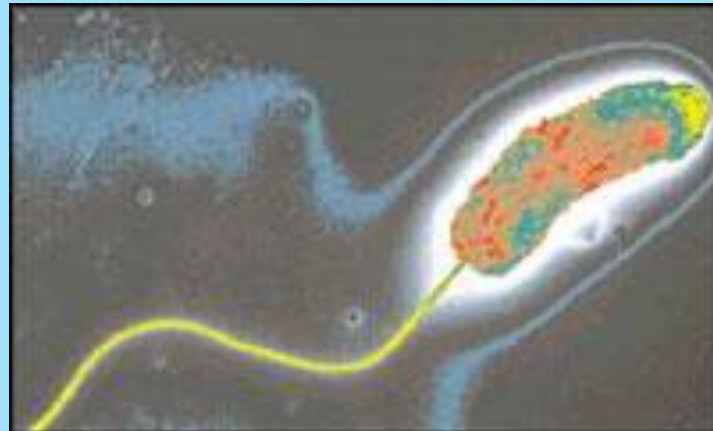


Clostridium tetani

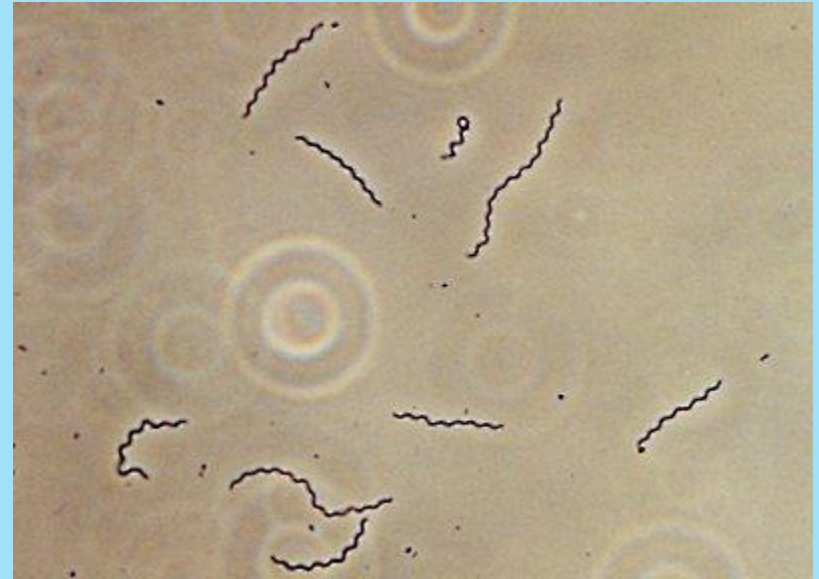
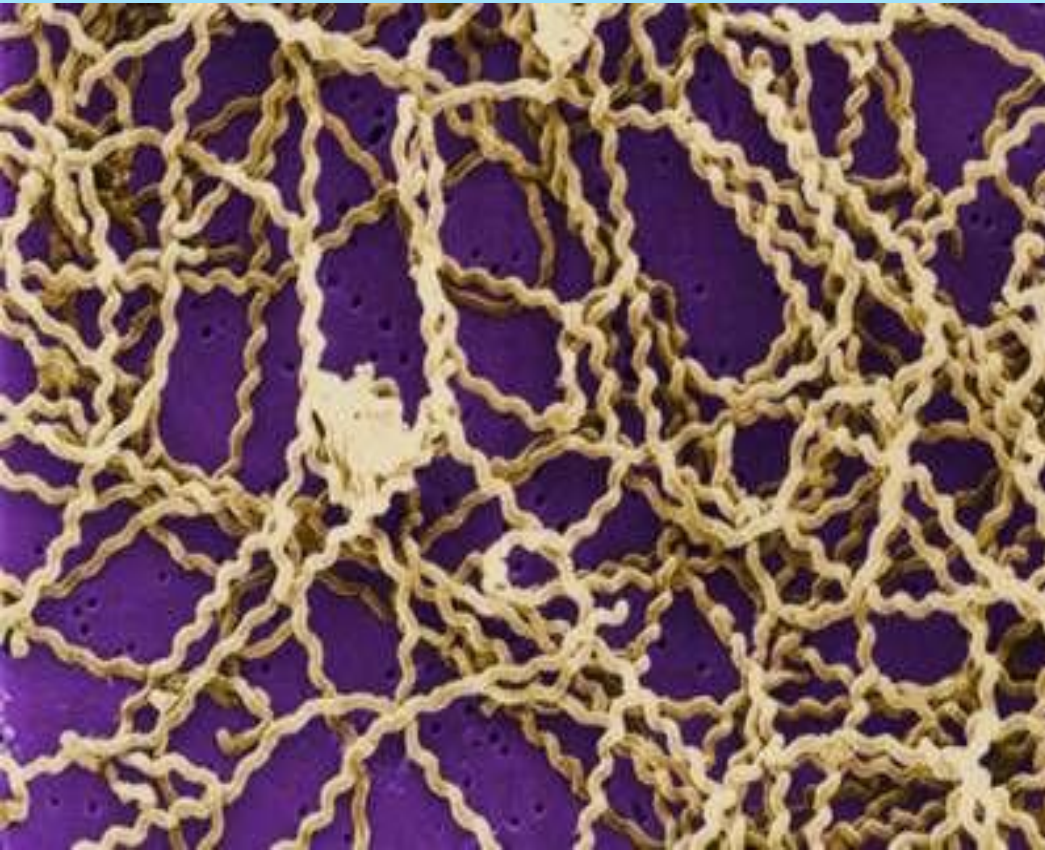


Clostridium difficile


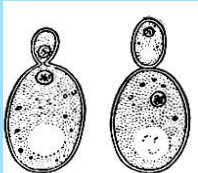
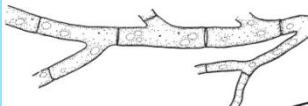

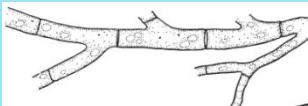
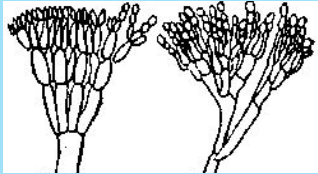

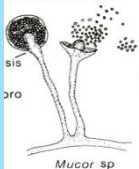

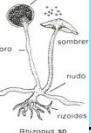
Извитые бактерии Вибрионы



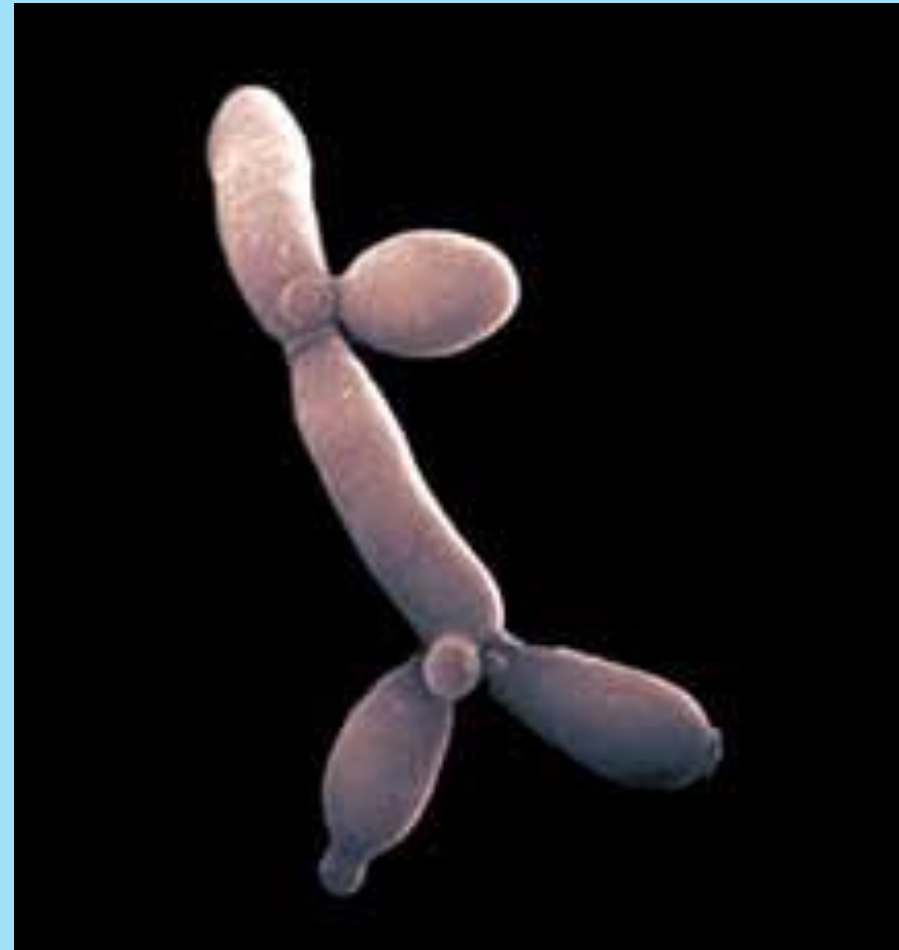
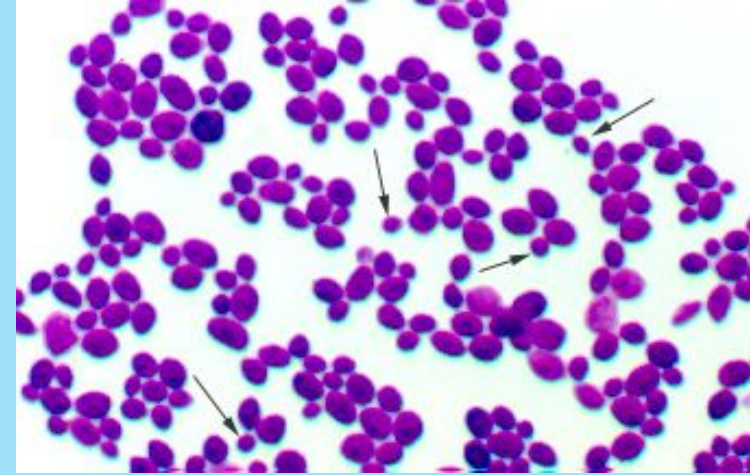
Извитые бактерии. Спириллы и спирохеты



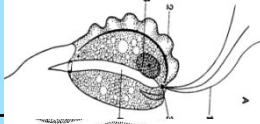
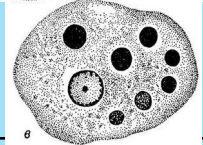
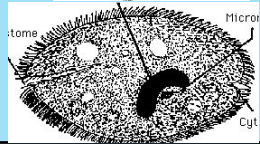
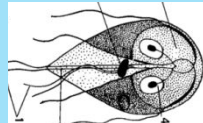
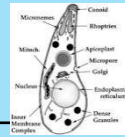


Основные морфологические формы условно-патогенных грибов, возбудителей заболеваний человека

Название возбудителя	Форма клетки	Способ размножения
<i>Candida spp</i>	Дрожжевая клетка 	Почкование 
<i>Aspergillus spp.</i>	Септированный мицелий 	
<i>Penicillium spp.</i>	Септированный мицелий 	
<i>Mucor spp.</i>	Несептированный мицелий 	
<i>Rhizopus spp.</i>	Несептированный мицелий 	

Candida albicans
почкующиеся клетки



Основные морфологические формы простейших, возбудителей заболеваний человека

Название возбудителя	Вегетативная форма
	клетки
<i>Trichomonas vaginalis</i>	
<i>Entamoeba histolytica</i>	
<i>Balantidium coli</i>	
<i>Giardia lamblia</i>	
<i>Toxoplasma gondii</i>	
<i>Trypanosoma sp.</i>	
<i>Leishmania sp.</i>	
<i>Plasmodium sp.</i>	