

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра –
Главный Государственный
санитарный врач

Республики Беларусь

А.А.Тарасенко

29.05.2021 г.

Регистрационный № 002-0521

**МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА
STAPHYLOCOCCUS AUREUS В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ
ПОМЕЩЕНИЙ ОРГАНИЗАЦИЙ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**
(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ РАЗРАБОТЧИК: Республиканское унитарное
предприятие «Научно-практический центр гигиены»

АВТОРЫ: д.б.н., доцент Дудчик Н.В., Жабровская А.И.,
к.б.н. Емельянова О.А., Грищенкова Т.В.

Минск, 2021

ГЛАВА 1 **НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

1. В настоящей инструкции по применению (далее – Инструкция) изложены методы отбора проб воздуха, выявления и идентификации бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения разных классов чистоты.

Данные методы могут быть направлены на предупреждение распространения *Staphylococcus aureus* в организациях здравоохранения и для контроля соблюдения гигиенического норматива, устанавливающего допустимые значения санитарно-микробиологических показателей воздушной среды.

2. Настоящая инструкция предназначена для специалистов органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор, и иных организаций здравоохранения, научных организаций и учреждений образования.

3. Настоящая Инструкция вступает в силу с даты ее утверждения.

ГЛАВА 2 **ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

4. Настоящая Инструкция устанавливает методы санитарно-микробиологического контроля воздушной среды в организациях здравоохранения по показателю «Количество колоний *Staphylococcus aureus* в 1 м³ воздуха (КОЕ/1 м³)» с целью оценки санитарно-гигиенического состояния помещений организаций здравоохранения разных классов чистоты.

5. Отбор проб воздуха для определения *Staphylococcus aureus* в 1 м³ (КОЕ/1 м³) в помещениях разных классов чистоты организаций здравоохранения проводится аспирационным способом до начала и во время работы.

6. Для получения дополнительной информации о возможности микробиологического загрязнения поверхностей, медицинского оборудования, операционного поля, изделий медицинского назначения бактериями вида *Staphylococcus aureus*, присутствующими в воздухе, может быть использован седиментационный способ. Данный способ фактически является качественным, так как полученные с его помощью результаты не могут быть использованы при расчете количества *Staphylococcus aureus* в единице объема воздуха помещения.

7. Отбор проб воздуха для определения *Staphylococcus aureus* в 1 м³ (КОЕ/1 м³) должен проводиться персоналом в спецодежде и средствах индивидуальной защиты, предотвращающих возможную контаминацию пробы.

8. Для целей настоящей Инструкции используют следующие термины и определения:

контрольная точка – место в контролируемой зоне, где производится отбор пробы для дальнейших микробиологических исследований;

колониеобразующая единица (КОЕ) – число живых микроорганизмов, определяемое по сформированным единичным колониям на плотных питательных средах, содержащееся в определенных объемах исследуемых проб;

пробоотборник воздуха (аспиратор) – прибор, используемый для отбора проб заданных объемов воздуха за определенный промежуток времени, в целях количественного определения содержания микроорганизмов.

ГЛАВА 3 РАЗРАБОТКА ПРОГРАММЫ ИСПЫТАНИЙ

9. Организации здравоохранения самостоятельно определяют

периодичность организации проведения лабораторных исследований по определению *Staphylococcus aureus* в воздухе помещений разных классов чистоты и отмечают это в программе испытаний. Исследуемые помещения и кратность испытаний определяются актами законодательства с учетом специфики деятельности объекта.

Составление программы испытаний также может осуществляться организацией, проводящей отбор проб воздуха, с отражением контролируемых помещений, указанием количества контрольных точек в них и отбираемого объема воздуха в каждой точке.

10. При определении контрольных точек учитывают потенциальные источники микробиологического загрязнения воздушной среды помещений *Staphylococcus aureus*: пациенты, персонал, внешние источники. Установление контрольных точек проб воздуха основывается на имеющихся накопленных данных по выявлению *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений разных классов чистоты.

11. Контролируемые помещения и контролируемые точки в них определяет специалист организации, проводящий отбор проб воздуха.

12. Периодичность отбора проб воздуха определяется актами законодательства и с учетом специфики деятельности объекта. Количество контрольных точек зависит от площади контролируемого помещения.

В помещениях до 15 м² рекомендуется отбирать 1 пробу воздуха, в помещениях от 15 м² – не менее 2 проб воздуха.

13. Количество отбираемого воздуха в одной контрольной точке (одна проба воздуха) должно составлять по 500 л на две чашки Петри аспирационным способом.

14. Подсчет количества *Staphylococcus aureus* в пробах воздуха, отобранных аспирационным способом, производится суммированием всех выросших и идентифицированных колоний на чашках Петри.

ГЛАВА 4 ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ, ЛАБОРАТОРНАЯ ПОСУДА

15. Оборудование

	Нормативная документация (СТБ, ГОСТ, ТУ и др.)
Анализатор потенциометрический (pH-метр)	ГОСТ 19881-74
Баня водяная с терморегулятором, способная поддерживать температуру $(45 \pm 5) ^\circ\text{C}$	ТУ BY 100644799.004-2006
Весы лабораторные $(2-4000) \pm 0,3$ г	ГОСТ 24104-2001
Дистиллятор, обеспечивающий качество воды	ТУ BY 190150278.003-2014
Ламинарный шкаф (класс II)	ГОСТ Р ЕН 12469-2010
Микроскоп световой биологический с увеличением 900–1000×	ГОСТ 28489-90
Термостат электрический с диапазоном рабочих температур от $(+ 28) ^\circ\text{C}$ до $(+ 55) ^\circ\text{C}$ с погрешностью $\pm 1 ^\circ\text{C}$	ТУ РБ 14789681.004-2000
Холодильник бытовой, обеспечивающий поддержание температуры от $(4 \pm 2) ^\circ\text{C}$	СТБ 1499-2004
Стерилизатор паровой с рабочим давлением пара не более 0,22 МПа ($2,2 \text{ кгс}/\text{см}^2$)	ГОСТ 31598-2012 (EN 285:1996)
Электроплитка бытовая	СТБ 1324-2002
Облучатель бактерицидный, настенный	ТУ BY 800017554.004-2013
Пробоотборник воздуха или любые другие пробоотборники, разрешенные к применению	
Термогигрометр	

Допускается применение другого вспомогательного оборудования, а также средств измерения и испытательного оборудования с аналогичными по назначению техническими и метрологическими характеристиками.

16. Материалы

	Нормативная документация (СТБ, ГОСТ, ТУ и др.)
Дозаторы автоматические с переменным объёмом дозирования от 20 до 200 мм ³ с шагом 0,2 мм ³ , с точностью ± 0,6%; от 100 до 1000 мм ³ с шагом 1 мм ³ , с точностью ± 3 %	ГОСТ 8.523-2014
Наконечники пластиковые объемом от 20–200 мм ³ , 100–1000 мм ³	ГОСТ 28311-89
Перчатки защитные латексные	ГОСТ 20010-93
Флаконы и банки стеклянные с навинчивающейся крышкой или с притертой пробкой для отбора и хранения проб вместимостью 10, 50, 100 мл и 500 мл	ГОСТ 10782-85
Чашки Петри пластиковые микробиологические, стерильные	ТУ 9464-001-30621840-2014
Петли бактериологические	
Спиртовки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336-82
Стекла предметные	ГОСТ 9284-75
Стекла покровные	ГОСТ 6672-75
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026-76
Воронка стеклянная лабораторная	ГОСТ 25336-82
Вата медицинская гигроскопичная	ГОСТ 5556-81
Бумага индикаторная универсальная	
Пипетки микробиологические, стерильные	
Марля медицинская	ГОСТ 9412-93
Колбы плоскодонные конические или круглые разной вместимости	ГОСТ 25336-82
Ножницы медицинские	ГОСТ 21239-2005
Пробирки бактериологические типов П 1 и П 2	ГОСТ 25336-82
Ступка фарфоровая	ГОСТ 9147-80

17. Питательные среды и реактивы

	Нормативная документация (СТБ, ГОСТ, ТУ и др.)
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
Агар микробиологический в порошке или волокнах	ГОСТ 17206-96
Питательная среда № 10 (для идентификации <i>S. aureus</i>), сухая	
Калия теллурит	
Маннит	
Мальтоза	

Масло вазелиновое медицинское	ГОСТ 3164-78
Масло иммерсионное	ГОСТ 13739-78
Растворы и реактивы для окраски мазков по Граму	
Плазма кролика, сухая цитратная, для реакции плазмокоагуляции	
Спирт этиловый ректифицированный	СТБ 1334-2003
Спирт этиловый ректифицированный технический	ГОСТ 18300-87
Феноловый красный, индикатор	
Натрия гидроокись, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм ³	
Натрия хлорид	ГОСТ 4233-77
Кислота соляная, раствор с массовой концентрацией 0,1 моль/дм ³	ГОСТ 3118-77
Бульон мясопептонный	
Лития хлорид	
Дрожжевой экстракт	
Мясной экстракт	
Желток куриного яйца	
Мясо-пептонный агар	
Глицин	
Пируват натрия	
Пептон ферментативный сухой	ГОСТ 13805-76
Генциан фиолетовый	
Йод кристаллический	ГОСТ 4159-79
Йодистый калий	ГОСТ 4232-74
Фенол	
Фосфорнокислый двузамещенный натрий	ГОСТ 2493-75
Фосфорнокислый однозамещенный калий	

Допускается применение других коммерческих питательных сред и диагностических препаратов аналогичного назначения для проведения исследований в соответствии с данным документом. При их применении следует руководствоваться рекомендациями изготовителя. Питательные среды и диагностические препараты импортного производства должны иметь международный сертификат качества. Питательные среды и диагностические препараты отечественного производства должны

вырабатываться по нормативной документации, утвержденной в установленном порядке.

ГЛАВА 5

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И РЕАКТИВОВ

18. Для приготовления растворов реактивов и питательных сред используют дистиллированную воду, если нет специальных указаний, и реактивы квалификации «х.ч.» или «ч.д.а.».

19. При взвешивании компонентов сред и испытуемых образцов допускается погрешность 0,1 %.

20. Необходимое значение водородного показателя pH (далее – pH) растворов и питательных сред устанавливают с помощью раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 0,1 моль/дм³ или раствора кислоты соляной объемной долей 0,1 моль/дм³. pH растворов и питательных сред определяют с помощью pH-метра. Ориентировочное определение pH растворов и питательных сред допускается проводить с помощью индикаторной бумаги.

21. Приготовление реактивов

21.1. Раствор фенолового красного массовой концентрации 1 %: 0,1 г фенолового красного растирают в ступке, добавляя небольшими порциями 2,8 мл 0,1 М раствора натрия гидроокиси и 20 мл 96 % спирта. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Хранят во флаконе из темного стекла в холодильнике при температуре (4 ± 2) °C в течение 7–10 суток.

21.2. Изотонический 0,85 % раствор хлористого натрия (физиологический раствор): 0,85 г натрия хлорид растворяют в 100 мл дистиллированной воды и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре не более 14 сут.

21.3 Буферный раствор: 1,0 г пептона ферментативного сухого (или Бактофок-МК), 4,3 г натрия хлорид, 7,2 г фосфорнокислого двузамещенного натрия и 3,6 г фосфорнокислого однозамещенного калия растворяют при нагревании в 1000 л дистиллированной воды, фильтруют через бумажный фильтр, устанавливают pH ($7,0 \pm 0,1$) и разливают в стеклянные флаконы по 400 мл, стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение 15 мин; хранят при температуре (4 ± 2) °C не более 14 сут.

22. Реактивы для окраски препаратов по Граму

22.1 Карболовый раствор генциана фиолетового готовят следующим образом: 1 г генциана фиолетового, 10 мл ректифицированного этилового спирта, 5 г фенола растирают в ступке, добавляют 100 мл дистиллированной воды.

22.2 Раствор Люголя готовят следующим образом: 1 г йода, 2 г йодистого калия растворяют в 300 мл дистиллированной воды. Хранить во флаконах из темного стекла.

22.3 Фуксин Циля готовят следующим образом: 1 г основного фуксина, 10 мл спирта этилового ректифицированного, 54 г фенола растирают в ступке, добавляя 100 мл дистиллированной воды.

23. Среды для выявления и идентификации бактерий вида *Staphylococcus aureus*

Эмульсия яично-желточная: куриное яйцо протирают ватой, смоченной этиловым спиртом, помещают в стерильную чашку Петри, стерильным инструментом пробивают с противоположных сторон яйца два отверстия. Через одно отверстие полностью удаляют белок, затем, увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу с 50 мл физиологического раствора, содержимое встряхивают до однородной массы; хранят при температуре (4 ± 2) °C не более 72 ч.

23.1 Среды для выявления *Staphylococcus aureus*

Агар Байрд-Паркер: в 1000 мл мясопептонного бульона вносят 17,9 г лития хлорида, 15 г агара микробиологического в волокнах или порошке, 5,0 г мясного экстракта и 5,0 г экстракта дрожжевого, перемешивают и нагревают до полного растворения компонентов. Полученную основу среды охлаждают до (50–60) °С, устанавливают pH (6,9 ± 0,1), разливают во флаконы по 100 мл и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин. Основу среды можно хранить при температуре (4 ± 2) °С не более 14 суток. Перед применением к 100 мл расплавленной и охлаждённой до (45–50) °С основы среды добавляют 5,0 мл эмульсии яично-желточной и профильтрованные через мембранный фильтр растворы: 6,3 мл раствора глицина в концентрации 200 г/дм³, 5,0 мл раствора пирувата натрия в концентрации 200 г/дм³, а также 1,0 мл раствора теллурита калия в концентрации 10 г/дм³; хранят при температуре (4 ± 2) °С не более 48 ч.

Желточно-солевой агар: 1000 мл мясо-пептонного агара перед использованием расплавляют и растворяют в нем 95,0 г натрия хлорида, охлаждают до температуры (45 ± 1) °С и добавляют 100 мл эмульсии яично-желточной. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри; хранят при температуре (4 ± 2) °С не более 5 сут.

Маннит-солевой агар: в колбу с 1000 мл дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 75,0 г натрия хлорида, 10,0 г маннита. Все компоненты растворяют в дистиллированной воде, затем вносят 2,5 мл 1 %-ного раствора фенолового красного, тщательно перемешивают, устанавливают pH (7,6 ± 0,2), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, прибавляют 13 г агара микробиологического, нагревают до полного его расплавления, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют при температуре

(121 ± 1) °C в течение 15 мин; хранят при температуре (4 ± 2) °C не более 14 сут.

23.2 Среды для идентификации *Staphylococcus aureus*

Среда Гисса с маннитом и мальтозой: в колбу с 1000 мл дистиллированной воды вносят 10,0 г пептона ферментативного сухого или Бактофока-МК, 5,0 г натрия хлорида, 10,0 г маннита или мальтозы. Все компоненты растворяют в дистиллированной воде, затем вносят 2,5 мл 1%-ного раствора фенолового красного, тщательно перемешивают, устанавливают pH ($7,6 \pm 0,2$), кипятят на электроплитке в течение 1 мин, прибавляют 13,0 г заранее замоченного агара микробиологического, нагревают до полного его расплавления, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение 15 мин; хранят при температуре (4 ± 2) °C не более 14 сут.

Допускается использовать среду № 10 сухую (для индентификации стафилококков).

24. Определение грам-принадлежности

На обезжиренное спиртом предметное стекло наносят петлей 1 каплю дистиллированной воды, вносят небольшое количество культуры из анализируемой колонии и распределяют по поверхности стекла. Мазок высушивают при комнатной температуре и фиксируют трехкратным проведением через пламя спиртовки. На препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги и на нее наливают карболовый раствор генциана фиолетового на 0,5–1 мин, снимают бумагу, наливают раствор Люголя на 0,5–1 мин, сливают раствор Люголя и стекло промывают в этиловом спирте в течение 0,5–1 мин, пока не перестанет отходить краситель. Затем стекло тщательно промывают водой и докрашивают в течение 1–2 мин фуксином Циля, разведенным 1:10 дистиллированной водой. После промывки и просушивания препарата мазок микроскопируют.

Грамотрицательные микроорганизмы имеют розовую окраску, грамотрицательные окрашиваются в синий цвет.

ГЛАВА 6 ОТБОР ПРОБ ВОЗДУХА

25. Аспирационный способ отбора проб воздуха

Аспиратор при отборе проб воздуха в помещениях организаций здравоохранения разных классов чистоты должен устанавливаться в контрольных точках на высоте 1–1,5 метра от пола, в местах, которые удалены от окон и дверей, а также в недосягаемости постоянного потока воздуха, создаваемого вентиляцией.

Пробоотборник воздуха предварительно обеззараживают с использованием химических (дезинфицирующих средств) или физических (автоклавирование) способов. Прибор открывают, затем устанавливают подготовленную чашку Петри с питательной средой для выявления *Staphylococcus aureus*, одновременно снимая с нее крышку. Пробоотборник воздуха закрывают. Соприкосновение крышки прибора со средой недопустимо.

Количество отбираемого воздуха в одной контрольной точке (одна пробы воздуха) должно составлять по 500 л на две чашки Петри аспирационным способом.

После отбора пробы воздуха аспиратор открывают, быстро снимают чашку Петри и закрывают крышкой от данной чашки. На чашке Петри и/или в акте отбора отмечают информацию: точку контроля и дату отбора. Отобранные пробы воздуха могут храниться при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение не более 2 ч.

Чашки Петри помещают в термостат и инкубируют 72 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Результаты учитывают в два этапа. Первый этап

проводят через 48 ч с начала инкубации. Если подсчет вызывает затруднение из-за слабовыраженного роста колоний, то термостатирование продлевается еще на 24 ч.

26. Седиментационный способ отбора проб воздуха

Отбор проб воздуха седиментационным способом используется для дополнительной характеристики возможного микробиологического загрязнения воздуха *Staphylococcus aureus*. Полученные с помощью данного способа результаты не могут быть использованы при расчете количества *Staphylococcus aureus* в единице объема воздуха помещения.

В контрольных точках на высоте 1–1,5 метра от пола, в местах, которые удалены от окон и дверей, а также в недосягаемости постоянного потока воздуха, создаваемого вентиляцией, расставляют две чашки Петри с питательной средой для выявления *Staphylococcus aureus* и выдерживают время экспозиции не менее 15 мин, но не более 4 ч.

После отбора седиментационным способом чашки Петри закрывают, на них и/или в акте отбора отмечают информацию: точку контроля, дату отбора и время экспозиции. Чашки Петри помещают в термостат и инкубируют 72 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Результаты учитывают в два этапа. Первый этап проводят через 48 ч с начала инкубации. Если подсчет вызывает затруднение из-за слабовыраженного роста колоний, то термостатирование продлевается еще на 24 ч.

Отобранные пробы воздуха могут храниться в холодильнике при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение не более 2 ч.

ГЛАВА 7

ИДЕНТИФИКАЦИЯ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

27. Бактерии вида *Staphylococcus aureus* представляют собой грамположительные кокки, обладающие лецитиназной активностью,

сбраживающие маннит в аэробных и анаэробных условиях или мальтозу в анаэробных условиях и дающие положительную реакцию плазмокоагуляции.

27.1 На агаризованной среде Байрд-Паркер бактерии вида *Staphylococcus aureus* растут в виде черных блестящих выпуклых колоний диаметром 1–1,5 мм, окруженных прозрачной зоной лецитиназной активности.

27.2 На желточно-солевом агаре бактерии вида *Staphylococcus aureus* образуют круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2–2,5 мм, окрашенные в желтый, золотистый, кремовый, палевый или белый цвет, окруженные прозрачной зоной лецитиназной активности.

27.3 На маннит-солевом агаре образуются колонии, окруженные желтыми зонами, которые свидетельствуют о способности этих микроорганизмов ферментировать маннит.

28. При наличии характерных или подозрительных колоний производят микроскопию, оценивают способность к ферментации маннита и мальтозы, при необходимости исследуют на наличие фермента плазмокоагулазы.

28.1 Для подозрительных по морфологии колоний делают мазки и окрашивают по Граму. Стапилококки по Граму окрашиваются положительно, имеют шарообразную или близкую к ней форму и располагаются обычно в виде скоплений, напоминающих гроздья винограда.

Отсутствие в мазках грамположительных кокков, окрашенных в сине-фиолетовый цвет и расположенных скоплениями в виде гроздьев, свидетельствует об отсутствии *Staphylococcus aureus*. В этом случае дальнейшие исследования не проводят.

28.2 При обнаружении грамположительных кокков делают пересев на мясо-пептонный агар для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных бактерий. Посевы инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Выделенную чистую культуру пересевают на среду Гисса с маннитом или мальтозой, разлитую высоким столбиком (посев производят уколом петлей). Наливают на поверхность среды 1,5 см стерильного вазелинового масла и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. В случае роста стафилококков на среде Гисса с маннитом или мальтозой наблюдается ферментация или окисление углевода, сопровождающиеся изменением цвета среды.

28.3 Выделенную чистую культуру исследуют на наличие фермента плазмокоагулазы. Для проведения реакции сухую кроличью цитратную плазму разводят согласно рекомендации по применению и разливают по 0,5 мл в стерильные пробирки. В пробирки с раствором плазмы вносят по одной петле исследуемой суточной культуры и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (4–6) ч. Обязательна постановка двух контролей: отрицательный контроль – пробирка только с раствором плазмы; положительный контроль – пробирка с раствором плазмы, в которую внесена суточная культура контрольного штамма стафилококка (ATCC и др.), заведомо обладающего ферментом коагулазой. Если в эти сроки не наблюдается свертывание плазмы в опытной пробирке и пробирке с отрицательным контролем, то реакция плазмокоагуляции считается отрицательной, если плазма в опытной пробирке коагулирована аналогично положительному контролю, то реакция считается положительной.

ГЛАВА 8

УЧЕТ И ОЦЕНКА ВЫРАЖЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

29. Оценку содержания *Staphylococcus aureus* в 1 м³ (КОЕ/1 м³)

воздуха помещений организаций здравоохранения разных классов чистоты проводят путем сравнения полученных результатов с гигиеническим нормативом.

30. Если в пробах воздуха обнаружены колонии грамположительных кокков, ферментирующие маннит в аэробных и анаэробных условиях или мальтозу в анаэробных условиях, обладающие лецитиназной активностью и дающие положительную реакцию плазмокоагуляции, считают, что воздушная среда в исследуемом помещении организации здравоохранения контаминирована *Staphylococcus aureus*.

Вычисление содержания *Staphylococcus aureus* в помещениях организаций здравоохранения разных классов чистоты в 1 м³ проводят по формуле:

$$N = a_1 + a_2,$$

где:

N – содержание *Staphylococcus aureus* в 1 м³ воздуха помещения организации здравоохранения;

a₁ – число идентифицированных колоний *Staphylococcus aureus* на первой чашке Петри после отбора 500 л воздуха в одной контрольной точке;

a₂ – число идентифицированных колоний *Staphylococcus aureus* на второй чашке Петри после отбора 500 л воздуха в одной контрольной точке.

Окончательный результат выражают в виде: «N (КОЕ/1 м³)» либо «обнаружено в 1 м³».

31. Если после инкубации не обнаруживают характерных по морфологии колоний или при выявлении подозрительных колоний микроскопией не подтверждают наличие грамположительных кокков, то

результат выражают следующим образом: «N (КОЕ/1 м³)» либо «не обнаружено в 1 м³».

32. При отборе седиментационным способом подсчёт бактерий вида *Staphylococcus aureus* осуществляют путем вычисления среднего арифметического числа выросших и идентифицированных на 2 чашках Петри колоний. Результаты выражают следующим образом: «N (КОЕ/чашку)» либо «обнаружено / не обнаружено».

ОГЛАВЛЕНИЕ

Инструкция по применению

«Методы выявления бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения»

ГЛАВА 1 Назначение и область применения.....	2
ГЛАВА 2 Общие положения	2
ГЛАВА 3 Разработка программы испытаний.....	3
ГЛАВА 4 Оборудование, материалы, реактивы, лабораторная посуда.....	5
ГЛАВА 5 Приготовление питательных сред и реактивов.....	8
ГЛАВА 6 Отбор проб воздуха.....	12
ГЛАВА 7 Идентификация <i>Staphylococcus aureus</i>	13
ГЛАВА 8 Учет и оценка выражения результатов.....	15

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. Настоящая Инструкция разработана специалистами республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь (д-р биол. наук, доцент Н.В. Дудчик, А.И. Жабровская, канд. биол. наук, О.А. Емельянова, Т.В. Грищенкова).
2. Утверждена заместителем Министра здравоохранения – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 2021 г. регистрационный №
3. Введена впервые.