



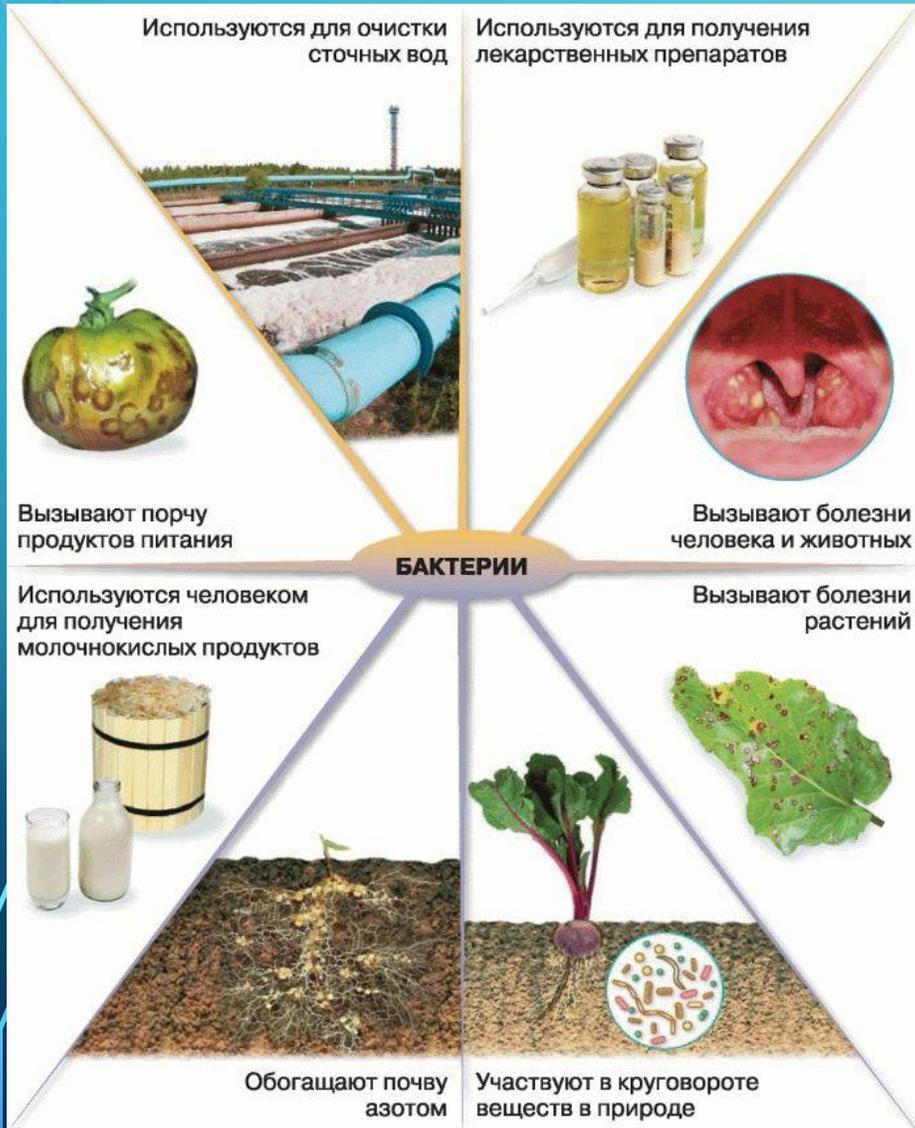
ТЕМА 6. ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА
МИКРООРГАНИЗМЫ. ДЕЗИНФЕКЦИЯ. СТЕРИЛИЗАЦИЯ.
АСЕПТИКА. АНТИСЕПТИКА. РОЛЬ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ
СРЕДЫ В ПЕРЕДАЧЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА
И ЖИВОТНЫХ. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. САНИТАРНО-
ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ. МЕТОДЫ ИХ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ.

ТЕМА 6. СОДЕРЖАНИЕ:

- 1. Санитарная микробиология и санитарно-показательные микроорганизмы, их значение .
- 2. Методы определения коли-индекса, коли-титра, общего микробного числа воды.
- 3. Метод определения количества микроорганизмов в воздухе.
- 4. Метод определения индекса БГКП, индекса энтерококков в почве.
- 5. Влияние физических факторов на микроорганизмы: высушивание; замораживание; лиофильное высушивание (сублимация); воздействие температуры (температурный диапазон и температурным оптимум); ионизирующие излучения (УФО, электромагнитное излучение, α -, β -, γ - и рентгеновское излучения); ультразвук.
- 6. Действие химических факторов на микроорганизмы: окислители; спирты; альдегиды; кислоты; щелочи; поверхностно-активные вещества.
- 7. Стерилизация и дезинфекция.
- 8. Цикл обработки изделий медицинского назначения.
- 9. Способы дезинфекции и стерилизации.
- 10. Контроль качества дезинфекции.
- 11. Метод исследования смывов по контролю качества дезинфекции.
- 12. Контроль стерилизации и контроль стерильности

ЭКОЛОГИЯ МИКРОБОВ МИКРОЭКОЛОГИЯ



Распространение микробов.

- Микроорганизмы распространены повсеместно. Они заселяют почву и воду, участвуя в круговороте веществ в природе, уничтожая остатки погибших животных и растений, повышая плодородие почвы и поддерживая устойчивое равновесие в биосфере. Многие из них формируют нормальную микрофлору человека, животных и растений, выполняя полезные функции для своих хозяев.

Таблица 22. Значение бактерий для человека

Область применения	Отрицательная роль	Положительная роль
МЕДИЦИНА ВЕТЕРИНАРИЯ	<p>Паразитические (патогенные) бактерии вызывают заболевания</p> <ul style="list-style-type: none"> — у людей: чуму, холеру, туберкулез, дизентерию, менингит, тиф и др.; — у домашних животных: бруцеллез; — у культурных растений: бактериозы 	<p>Служат для приготовления сывороток и вакцин; являются основой получения антибиотиков (стрептомицина, нистатина, эритромицина, олеандомицина и др.)</p>
ОТРАСЛИ ПРО- МЫШЛЕННО- СТИ, СЕЛЬСКО- ГО ХОЗЯЙСТВА	<p>Бактерии гниения и брожения приводят к порче продуктов питания.</p> <p>Жизнедеятельность бактерий вызывает биологическое разрушение или биологическую коррозию многих промышленных материалов, металлов, дерева, бумаги и прочих материалов</p>	<p>Бактерии молочнокислого брожения используются для изготовления молочнокислых продуктов и квашения капусты и огурцов, в сельском хозяйстве — для силосования кормов.</p> <p>Бактерии уксуснокислого брожения используются для получения винного уксуса, который применяется для маринования овощей и плодов; в кожевенной, текстильной промышленности; в микробиологической промышленности</p>

1. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, ИХ ЗНАЧЕНИЕ

Санитарная микробиология

- раздел медицинской микробиологии, изучающий микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде, способные оказывать неблагоприятное воздействие на состояние здоровья человека.

Она разрабатывает:

- микробиологические показатели гигиенического нормирования,
- методы контроля за эффективностью обеззараживания объектов окружающей среды,
- выявляет в объектах окружающей среды патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы.

- Обнаружение патогенных микроорганизмов позволяет дать оценку эпидемиологической ситуации и принять соответствующие меры по борьбе и профилактике инфекционных заболеваний.

САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (СПМ)

- это представители нормальной микрофлоры, которые выделяются естественным путем в окружающую среду и там сохраняются,
- поэтому служат показателями санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов.



Санитарно-показательные микроорганизмы (СПМО)

постоянные обитатели поверхностей и полостей человеческого организма, которые постоянно и в больших количествах содержатся в его выделениях

они сохраняют жизнеспособность во внешней среде в течение сроков, близких к срокам выживания патогенных микробов, выделяемых теми же путями, но интенсивно не размножаются во внешней среде.

их обнаружение в объектах внешней среды свидетельствует о загрязнении этих объектов выделениями человека.

ТРЕБОВАНИЯ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

- должны обитать только в организме людей или животных и постоянно обнаруживаться в их выделениях;
- не должны размножаться или обитать в почве и воде;
- сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных микробов;
- их свойства должны быть типичными и легко выявляемыми для их дифференциации;
- методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными;
- должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;
- в окружающей среде не должно быть близко сходных обитателей — микроорганизмов.

2. МИКРОФЛОРА ВОДЫ

► Основные обитатели воды:

- псевдомонады,
- аэромонас,
- микрококки,
- грибы.

► Особенно много микроорганизмов:

- в стоячей воде,
- в илистых отложениях на дне.

В грунтовых водах – единичные микроорганизмы.

- В воде формируются определенные биоценозы с преобладанием микроорганизмов, адаптировавшихся к условиям местонахождения.
- Микрофлора воды активно участвует в процессе самоочищения от органических отходов. Утилизация органических отходов связана с деятельностью постоянно обитающих в воде микроорганизмов, т.е. составляющих аутохтонную микрофлору.
- В пресных водоемах находятся различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.), кокковидные (микрококки), извитые и нитевидные (актиномицеты). На дне водоемов, в иле увеличивается количество анаэробов.
- При загрязнении воды органическими веществами появляется большое количество непостоянных (аллохтонных) представителей микрофлоры воды, которые исчезают в процессе самоочищения воды.
- Вода — фактор передачи возбудителей многих инфекционных заболеваний (дизентерии, холеры, брюшного тифа, энтеровирусов).

Микрофлора воды

Естественная

- ☆ Сапрофиты (псевдомонады, микрококки, серо- и железобактерии, мицелиальные и дрожжеподобные грибы).
- ☆ микроскопические водоросли,
- ☆ фаги и др.

Патогенная

- Vibrio cholerae** (возбудитель холеры),
- бактерии рода Shigella** (возбудители дизентерии),
- Salmonella typhi** (возбудитель брюшного тифа),
- энтеровирусы и др.

Состав микрофлоры воды зависит:

- от состава и концентрации минеральных и органических веществ
- температуры
- рН
- скорости движения воды
- массивности поступления ливневых, фекально-бытовых и промышленных сточных вод.

Вода - неблагоприятная среда для существования условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, но отдельные их представители способны существовать в ней определенное время:

- Годы - споры возбудителя сибирской язвы
- Несколько месяцев - энтеровирусы, сальмонеллы, лептоспиры
- Несколько недель - возбудители холеры, дизентерии, бруцеллы.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИ-ИНДЕКСА, КОЛИ-ТИТРА, ОБЩЕГО МИКРОБНОГО ЧИСЛА ВОДЫ

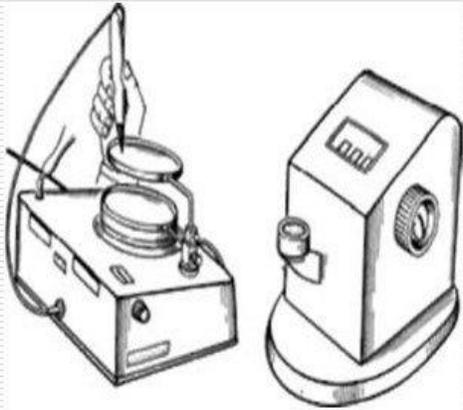
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПМ

В ходе оценки состояния объекта определяют количественные показатели: индекс - количество особей санитарно-показательных микробов в единице объема (1 литр, 1 г или 1 кубометр) материала или титр - наименьший объем (в мл) или весовое количество (в г) материала, в котором еще обнаруживаются санитарно-показательные микробы или определяют отсутствие санитарно-показательных микробов в конкретном объеме.

- Общее микробное число (ОМЧ) – общее число микроорганизмов в 1 мл воды, 1 г продукта.
- Индекс СПМ – количество особей санитарно-показательных микробов в единице объема (1 л, 1 г, 1 м³).
- Титр СПМ – наименьший объем (в мл) или весовое количество (в г) материала, в котором еще обнаруживаются санитарно-показательные микробы.

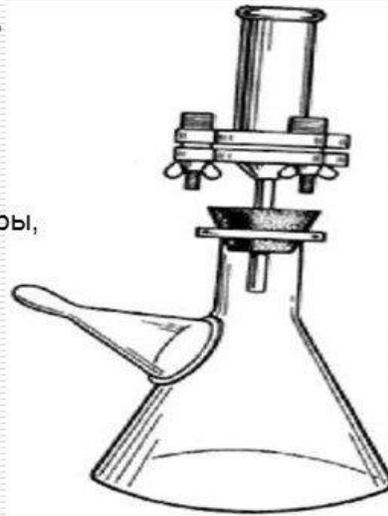
Санитарно-бактериологическое исследование воды

- ❑ Определение общего микробного числа воды можно проводить:
- ❑ методом серийных десятикратных разведений с посевом на мясопептонный агар (МПА);
- ❑ методом прямого микроскопического подсчета микроорганизмов в исследуемой воде.



Прибор для счета колоний в чашках

мембранные фильтры,
фильтр Зейтца



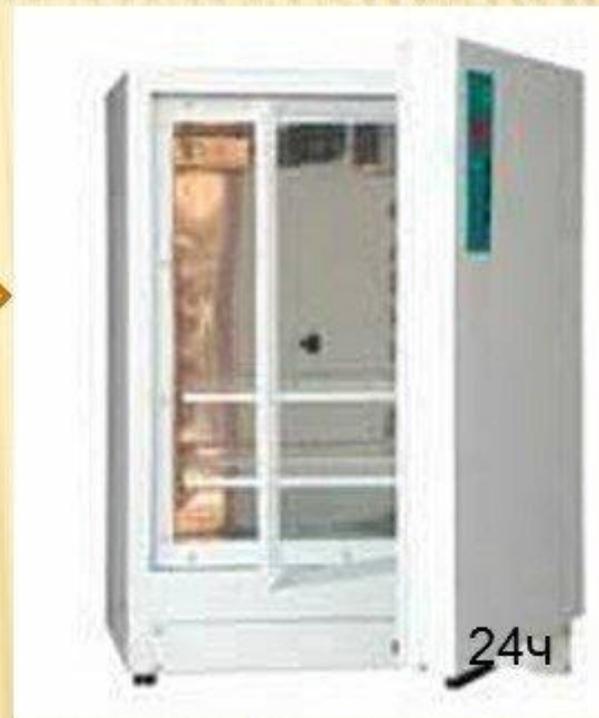
- Определение общего микробного числа (ОМЧ)
- Для определения ОМЧ вносят два объема воды по 1 мл в стерильные чашки Петри, в которые выливают по 6-8 мл расплавленного и остуженного до 45°C МПА.
- Содержимое чашки смешивают, оставляют до застывания агара и помещают в термостат на 24 ч.
- Подсчитывают количество колоний на чашках, вычисляют среднее арифметическое. Результат выражают числом КОЕ (колониобразующих единиц) в 1 мл воды.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО МИКРОБНОГО ЧИСЛА

1 мл воды



8-12 мл
пит. агара

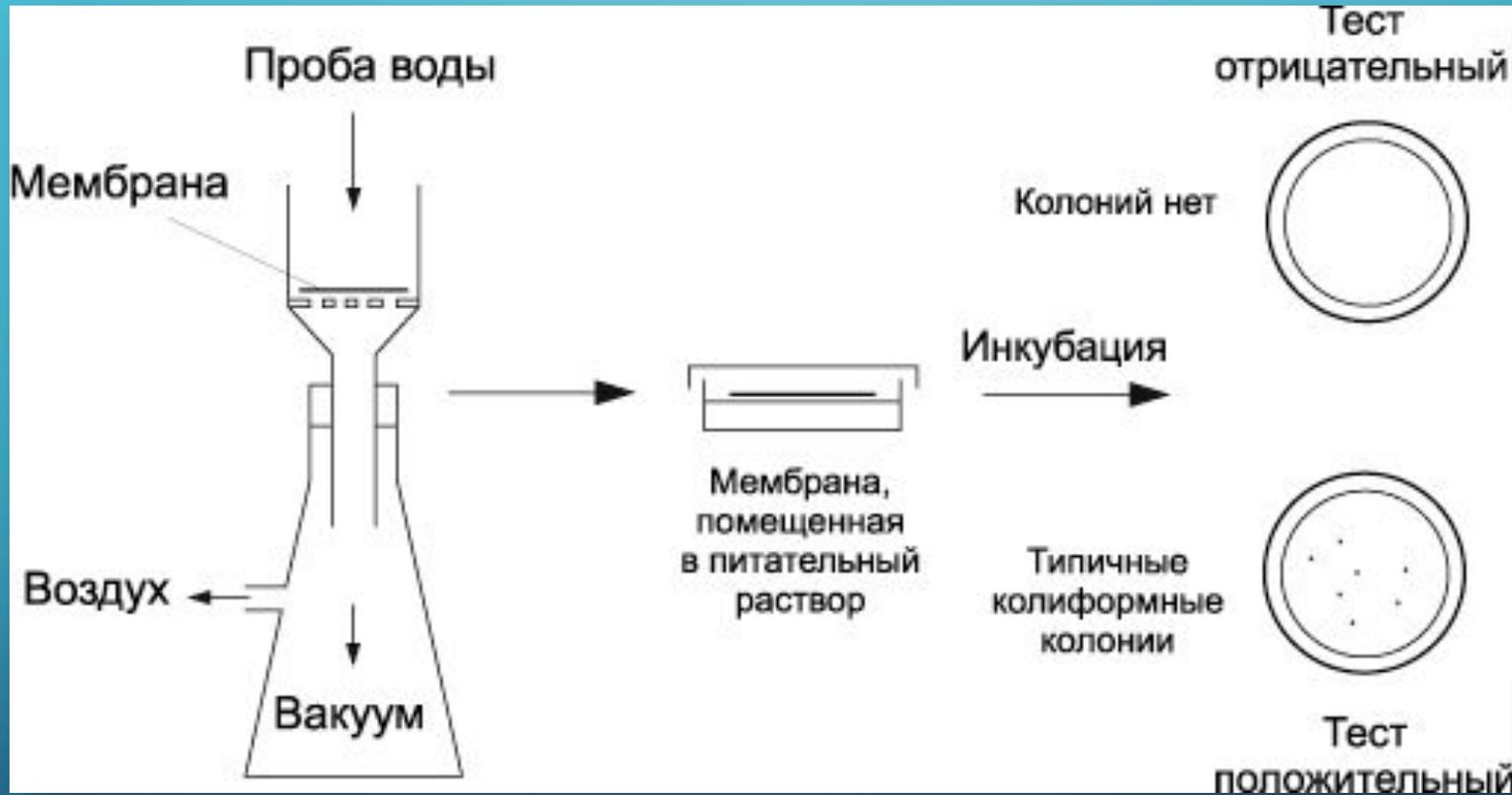


Учет
результатов

Подсчитывают все выросшие на чашке колонии, наблюдаемые при увеличении в 2 раза. Учитывают только те чашки, на которых выросло не более 300 изолированных колоний.

Количество колоний на обеих чашках суммируют и делят на два. Результат выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл исследуемой пробы воды.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БГКП (КОЛИЧЕСТВА ОБЩИХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ (ОКБ) МЕТОДОМ МЕМБРАННЫХ ФИЛЬТРОВ.



Профильтрованный объем - $100 \text{ мл} + 100 \text{ мл} + 100 \text{ мл} = 300 \text{ мл}$
Количество колоний на фильтре - $10 + 5 + 0 = 15$ $\frac{15}{300 \text{ мл}}$
 $X - 100 \text{ мл}$

$X = 15 \cdot 100 / 300 = 5 \text{ КОЕ/мл}$ – индекс БГКП

Таблица 4.1. СПМО в воде централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствуют
ОКБ	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствуют
ОМЧ	КОЕ в 1 см ³	Не более 50
Колифаги	БОЕ в 100 см ³	Отсутствуют
Споры сульфитредуцирующих клостридий	Число спор в 20 см ³	Отсутствуют
Цисты лямблий	Число цист в 50 см ³	Отсутствуют

Примечание. Оценивая количество ОКБ и ТКБ в 100 см³ воды, следует анализировать не менее 3 объемов воды (по 100 см³ каждый). При оценке ОКБ и ОМЧ превышение норматива не допускается в 95% проб, отбираемых в течение года.

РАСЧЕТ КОЛИ-ИНДЕКСА И КОЛИ-ТИТРА ВОДЫ

$$\text{Титр} = \frac{1000}{\text{индекс}}; \quad \text{индекс} = \frac{1000}{\text{титр}};$$

Произвести расчет коли-титра воды, если коли-индекс= 3: $\frac{1000}{3} = 333$

Произвести расчет коли-индекса воды, если коли-титр=333: $\frac{1000}{333} = 3$

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩИХ И ТЕРМОТОЛЕТАРНЫХ КОЛИФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ ТИТРАЦИОННЫМ МЕТОДОМ

Титрационный метод может быть использован:

- при отсутствии материалов и оборудования, необходимых для выполнения анализа методом мембранной фильтрации;
- при анализе воды с большим содержанием взвешенных веществ;
- в случае преобладания в воде посторонней микрофлоры, препятствующей получению на фильтрах изолированных колоний общих колиформных бактерий.



3. МИКРОФЛОРА ВОЗДУХА

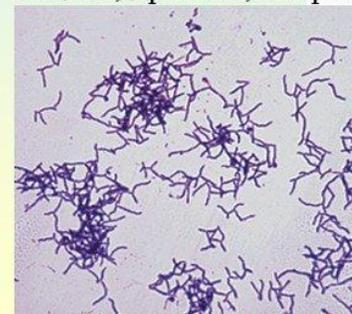
- В воздух попадают микроорганизмы из почвы, воды, а также с поверхности тела, из дыхательных путей и с каплями слюны человека и животных.
- Много микроорганизмов содержится в воздухе закрытых помещений, микробная обсемененность которых зависит от условий уборки помещения, уровня освещенности, количества людей в помещении, частоты проветривания и др.
- Больше количество микроорганизмов присутствует в воздухе крупных городов, меньше — в воздухе сельской местности. Особенно мало микроорганизмов в воздухе над лесами, горами и морями.

1. Микрофлора воздуха

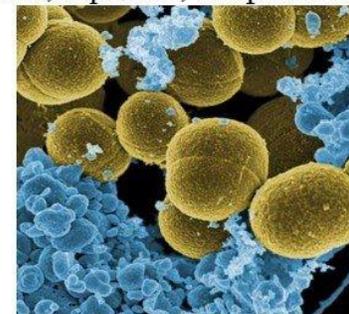
Микроорганизмы в воздухе находятся постоянно, несмотря на то, что атмосфера является неблагоприятной средой для их размножения, что обусловлено отсутствием питательных веществ и недостатком влаги. Жизнедеятельность микроорганизмов в воздухе обеспечивают взвешенные частицы воды, слизи, пыли и т.д.

Состав микрофлоры атмосферного воздуха зависит от интенсивности солнечной радиации, ветра, климатических и метеорологических условий, покрова почвы, плотности населения, времени года.

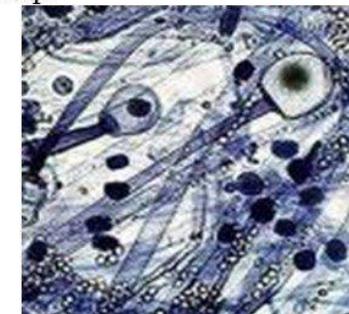
В атмосферном воздухе находятся споры грибов, актиномицетов, бацилл, дрожжи, микрококки, сарцины, стафилококки др.



Actinomyces



Staphylococcus



Mucor

Микроорганизмы воздуха



- Количество микроорганизмов в 1 м⁴ воздуха разных мест может достигать следующих размеров:
 - в скотном дворе до 2 млн;
 - в жилых помещениях – 20 тыс;
 - на улицах городов - 5 тыс;
 - в парках - 200;
 - в морском воздухе - 1-2 .

➤ Состав микрофлоры:

- микрококки
- сарцины
- споры грибов
- дрожжи
- актиномицеты
- спороносные бациллы
- клостридии
- возбудители гриппа, коклюша ангины, кори, скарлатины.



Бактериологическая чистота воздуха

Оценка воздуха	Содержание микроорганизмов в 1 м ³ воздуха (общее микробное число)	
	Летний период	Зимний период
Чистый	Менее 1500	Менее 4500
Умеренно загрязненный	1500-2500	4500-7000
Загрязненный	Более 2500	Более 7000

MyShared

- вызывают различные инфекционные заболевания.
- воздушно-капельный способ передачи инфекций.
- Пылевые частицы с микробами могут держаться в воздухе от нескольких минут до 2 - 4 ч.
- Например, в пыли вирус гриппа и дифтерийные палочки сохраняют жизнеспособность в течение 120 -150 дней.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОЗДУХЕ

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха

Седиментационный метод. Основан на оседании бактериальных частиц и капель под влиянием силы тяжести на поверхности агара открытых чашек Петри

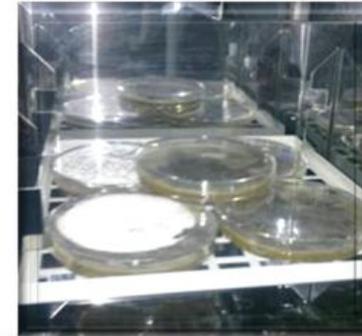
Для определения микробного числа подсчитывают колонии выросшие на чашках Петри (площадь поверхности агара в чашке равна 75 см^2) и расчет ведут по правилу В.Л. Омелянского: на поверхность площадью 100 см^2 за 5 мин оседает такое количество микробов, которое содержится в 10 л воздуха.

$$X = \frac{A \times 100 \times 100}{75 \text{ см}^2}$$

X - количество микробов в 1 м^3 ; A - количество колоний на агаре в чашке Петри.

Аспирационный метод. Основан на принудительном оседании микроорганизмов на поверхность плотной питательной среды или в улавливающую жидкость. Для этой цели используются аппарат Кротова, бактериоуловитель Речменского, прибор ПОВ-1 и др.

Седиментационный метод
(метод Коха)

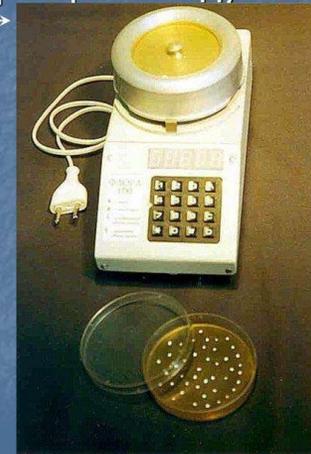


Аспирационный метод



Импакторы для отбора проб воздуха

- Импактор «Флора-100»
- Каскадный импактор системы Андерсена
- Аппарат Кротова
- Импактор ПУ-1Б



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО МИКРОБНОГО ЧИСЛА ВОЗДУХА

- Определение количества *S.aureus*



Количество пропущенного воздуха __100 л__

Выросло колоний ____50__

ОМЧ равно ____50 – 100 л

X – 1000 л (1 м³)

$X = 50 * 1000 / 100 = 500$ КОЕ/м³



Количество пропущенного воздуха __250 л__

Выросло подозрительных колоний (описать колонии) ____5__

Идентифицировано как *S.aureus* _3_

Количество *S.aureus*: 3 – 250 л

X – 1000 л

$X = 3 * 1000 / 250 = 12$

4. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДЕКСА БГКП, ИНДЕКСА ЭНТЕРОКОККОВ В ПОЧВЕ

Микрофлора почвы

- Количество только бактерий в 1 г почвы достигает 10 млрд.
- Микроорганизмы участвуют в почвообразовании и самоочищении почвы, кругообороте в природе азота, углерода и других элементов.
- В ней, кроме бактерий, обитают грибы, простейшие и лишайники, представляющие собой симбиоз грибов с цианобактериями.
- На поверхности почвы микроорганизмов относительно мало из-за губительного действия УФ-лучей, высушивания и других факторов. Пахотный слой почвы толщиной 10—15 см содержит наибольшее количество микроорганизмов. По мере углубления количество микроорганизмов уменьшается вплоть до их исчезновения на глубине 3—4 м.
- Состав микрофлоры почвы зависит от ее типа и состояния, состава растительности, температуры, влажности и т.д.
- Большинство микроорганизмов почвы способны развиваться при нейтральном рН, высокой относительной влажности, температуре 25-45 °С.

Микроорганизмы почв

- В составе микрофлоры почвы выделяют следующие группы микроорганизмов:
- **бактерии аммонификаторы** – вызывают гниение трупов животных, остатков растений, разложение мочевины с образованием аммиака и других продуктов (*B. subtilis*, *B. mesentericus*, *Serratia marcescens*; бактерии рода *Proteus*; грибы рода *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*; *C. sporogenes*, *C. putrificum*; *Urobacillus pasteurii*, *Sarcina urea*);
- **нитрифицирующие бактерии** – окисляет аммиак до азотистой кислоты с образованием нитритов (*Nitrosomonas*), превращают азотистую кислоту в азотную и нитраты (*Nitrobacter*);
- **азотфиксирующие бактерии** – усваивают из воздуха свободный кислород и из молекулярного азота синтезируют белки и другие органические соединения азота, используемые растениями;
- **бактерии, участвующие в круговороте серы, железа, фосфора и других элементов** – серобактерии, железобактерии и т.д.;
- **бактерии, расщепляющие клетчатку, вызывающие брожение** (молочнокислые, спиртовые, маслянокислые, уксусные, пропионовые и др.).

Санитарно-микробиологический анализ почв

При исследовании почвы может проводиться полный или краткий анализ.

Полный санитарно-бактериологический анализ почвы проводится:

- для подробной и глубокой характеристики санитарного состояния почвы;
- для определения пригодности почвы при размещении жилья, мест отдыха, детских учреждений и водопроводных сооружений;
- для эпидемиологических исследований.

Дополнительно: определение актиномицетов, грибов, сальмонелл, шигелл, возбудителей столбняка, ботулизма, бруцеллеза, сибирской язвы.

Краткий анализ рекомендуется при осуществлении текущего санитарного надзора и включает определение общего количества сапрофитных бактерий, клостридий (перфрингген-титр), термофильных бактерий.



Санитарно-микробиологический контроль почв

Таблица 2. Схема санитарно-микробиологического исследования почвы

Виды анализов	Содержание анализов
Краткий анализ	БГКП ОМЧ Термофильные бациллы Нитрификаторы
Полный анализ	Краткий анализ Общая численность сапротрофов Общее число и процент спор Количество актиномицетов и грибов Целлюлозоразрушающие микроорганизмы Аммонификаторы Токсичность почв к микрофлоре
Определение влияния на микрофлору химических веществ	Постановка опытов по определению влияния химических веществ на отдельные микроорганизмы Постановка экспериментальных и натуральных опытов и наблюдений Определение способности микроорганизмов к метаболизму химических веществ
Индикация и выделение патогенов	Определение сальмонелл в почве Индикация и выделение патогенов р. Clostridium Определение Bacillus anthracis Санитарно-вирусологическое исследование

Основные методы санитарно-микробиологического исследования почвы

- Титрационный метод,
- Метод мембранной фильтрации,
- Прямой поверхностный посев на плотные питательные среды

Титрационный метод

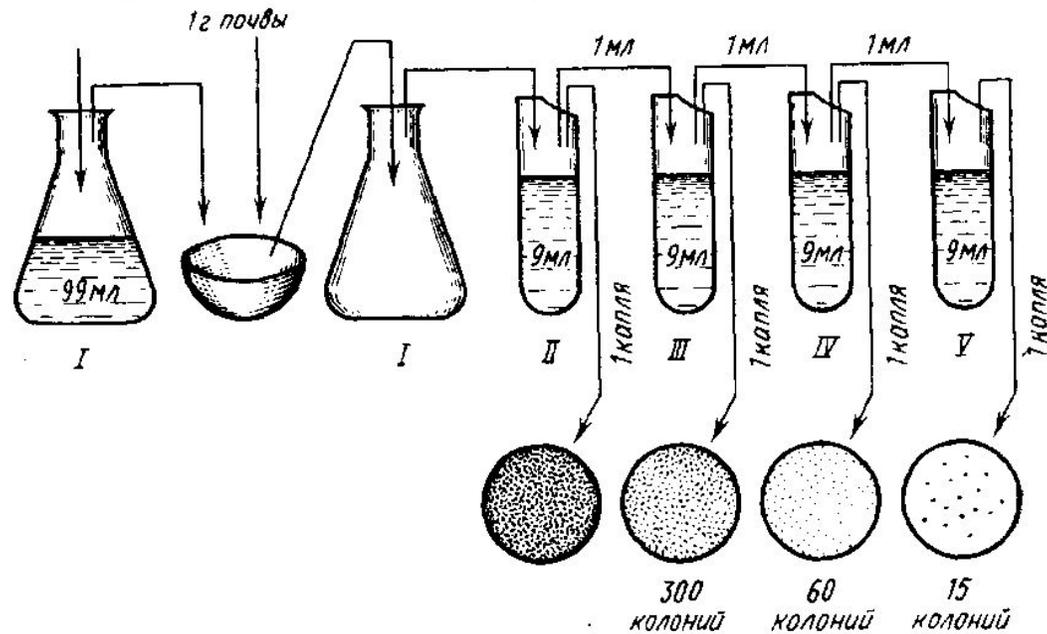


Рис. 8. Схема приготовления разведения почвы:
 I — колбы для приготовления исходной суспензии; II—V — пробирки для последовательных 10-кратных разведений

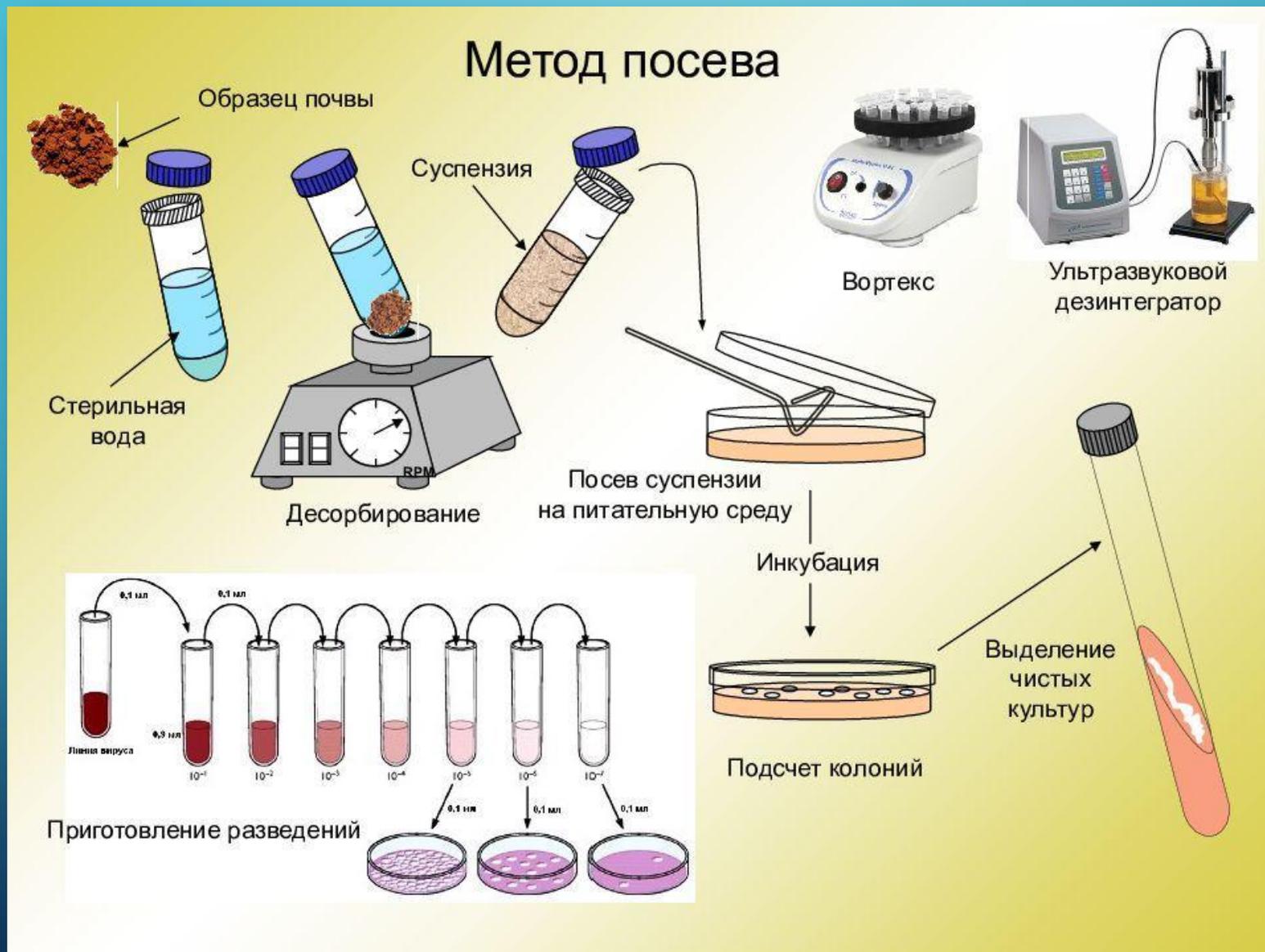
В лаборатории из 5 точечных проб почвы, взятых с одного участка, готовят усредненную пробу, тщательно перемешивая и растирая в стерильной фарфоровой чашке резиновым пестиком в течение 5 мин. Посторонние примеси (корни растений, камни, щепки) удаляют путем просеивания почвы через сито, которое предварительно протирают ватным тампоном, смоченным 96% этиловым спиртом. Из усредненной пробы отбирают навески (от 1 до 50–55 г в зависимости от перечня определяемых показателей) и готовят суспензию 1:10 на стерильной водопроводной воде (10 г почвы на 90 см³ воды). Для десорбции микроорганизмов с поверхности почвенных частиц приготовленную почвенную суспензию встряхивают в течение 3 мин на мешалке механического диспергатора. После отстаивания суспензии в течение 30 с готовят последовательные 10-кратные разведения почвы до концентрации 10⁻⁴–10⁻⁵ г/см³.

Оценку результатов санитарно-микробиологического исследования почв проводят путем сопоставления данных, полученных на опытных и контрольных участках почв одинакового состава, расположенных в непосредственной территориальной близости. Схемы оценки санитарного состояния почвы на основании отдельных санитарно-микробиологических критериев представлены в МУ № 1446-76 (табл. 4.2).

Таблица 4.2. Схема оценки санитарного состояния почвы по микробиологическим показателям (по МУ № 1446-76)

Категории почв	Титр, г			Индекс термофильных микроорганизмов (число клеток/г)
	БГКП	нитрифицирующих бактерий	кловидий	
Чистая	1,0 и выше	0,1 и выше	0,01 и выше	102–103
Загрязненная	0,9 и выше	0,09–0,001	0,009–0,0001	103–105
Сильно загрязненная	0,009 и ниже	0,0009 и ниже	0,00009 и ниже	105–4–106

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЧВЫ



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПОЧВЫ

Категория загрязнения почв	Индекс БГКП	Индекс энтерококков	Патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы
Чистая	1 - 10	1 - 10	0
Умеренно опасная	10 - 100	10 - 100	0
Опасная	100 - 1000	100 - 1000	0
Чрезвычайно опасная	1000 и выше	1000 и выше	0

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОКА

• Определение общего количества бактерий

Разведение	Количество колоний
1:100	70
1:1000	30

Количество бактерий в 1 мл молока - $70+30=100$
 $100/2 = 50$ (среднее число колоний в 2 разведениях)
 50×10^{-3} КОЕ/мл

Соответствие с ГОСТом

Группы	ОМЧ	Коли-титр
А	$50 \cdot 10^3$	3
Б	$100 \cdot 10^3$	0,3
фляги	$200 \cdot 10^3$	0,3

Патогенные бактерии не допускаются.
Срок хранения пастеризованного молока 36 ч при t от 2 до 6°C.

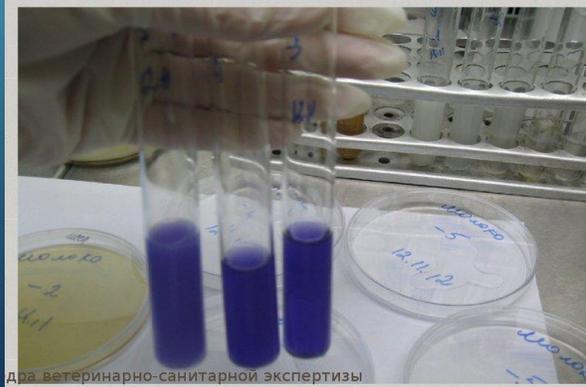
• Определение коли-титра молока

Этапы исследования	Засеянные объемы молока					
	1,0	1,0	1,0	0,1	0,1	0,1
Рост на среде Кесслер (помутнение, газ)	Г	Г	Г	Г	-	-
Высев на среду Эндо ("+" - есть рост, "-" - нет роста)	+	+	+	+	-	-

Коли-титр молока - $0,3$

Коли-индекс молока - $1000/0,3 = 3333,3$

Выявление БГКП с посевами на среду Эндо, Кесслера.



5. ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

К числу физических факторов, оказывающих воздействие на микроорганизмы, относятся: -

- температура;
- влажность среды;
- концентрация растворенных веществ в среде;
- свет;
- электромагнитные волны;
- ультразвук.



Физические, химические и биологические факторы окружающей среды оказывают различное воздействие на микроорганизмы:

- ✓ бактерицидное – приводящее к гибели клеток;
- ✓ бактериостатическое – подавляющее размножение микроорганизмов;
- ✓ мутагенное – изменяющее наследственные свойства микробов.

ТЕМПЕРАТУРА

- **Температура** – один из основных факторов, определяющих возможность и интенсивность размножения микроорганизмов.
- Микроорганизмы могут расти и проявлять свою жизнедеятельность в определенном температурном диапазоне и в зависимости от отношения к температуре делятся на *психрофилы, мезофилы и термофилы*.
- Температурные пределы роста определяются терморезистентностью ферментов и клеточных структур, содержащих белки.
- Среди мезофилов встречаются формы с высоким температурным максимумом и низким минимумом. Такие микроорганизмы называют *термотолерантными*.
- **Температурный оптимум** соответствует физиологической норме данного вида микробов, при которой размножение происходит быстро и интенсивно. Для большинства патогенных и условно-патогенных микробов температурный оптимум соответствует 37°C .
- **Температурный минимум** соответствует температуре, при которой данный вид микроба не проявляет жизнедеятельность.
- **Температурный максимум** – температура, при которой рост и размножение прекращается, все процессы

Группа микроорганизмов	T(°C) миним.	T(°C) максим.	T(°C) оптим.	Отдельные представители
1. Психрофилы (холодолюбивые)	(+10)- (-2)	Около +30	10-15	Бактерии, обитающие в холодильниках, морские бактерии
2. Мезофилы	5-10	45-50	25-40	Большинство грибов, дрожжей, бактерий
3. Термофилы (теплолюбвые)	около 30	70-80	50-60	Бактерии, обитающие в горячих источниках. Большинство образуют устойчивые споры

В зависимости от температуры, оптимальной для жизнедеятельности, различают 3 группы микроорганизмов:

- 1) *психрофильные*, холодолюбивые, размножающиеся при температуре ниже 20°C (иерсинии, психрофильные варианты клебсиелл, псевдомонады, вызывающие заболевания человека. Размножаясь в пищевых продуктах, они более вирулентны при низких температурах);
- 2) *термофильные*, оптимум развития которых лежит в пределах 55°C (в организме теплокровных не размножаются и медицинского значения не имеют);
- 3) *мезофильные*, активно размножаются при температуре $20-40^{\circ}\text{C}$, оптимум температуры развития для них 37°C (патогенные для человека бактерии).

- **Действие высоких температур на микроорганизмы.**

- Повышение температуры выше максимальной может привести к гибели клеток. Гибель микроорганизмов наступает не мгновенно. При незначительном повышении температуры выше максимальной микроорганизмы могут испытывать «тепловой шок» и после недлительного пребывания в таком состоянии они могут реактивироваться.
- *Механизм губительного действия высоких температур связан с денатурацией клеточных белков.* На температуру денатурации белков влияет содержание в них воды (чем меньше воды в белке, тем выше температура денатурации). Молодые вегетативные клетки, богатые свободной водой, погибают при нагревании быстрее, чем старые, обезвоженные.
- *Термоустойчивость* – способность микроорганизмов выдерживать длительное нагревание при температурах, превышающих температурный максимум их развития. Споры обладают термоустойчивостью в связи с малым содержанием воды и многослойной оболочкой.
- На губительном действии высоких температур основаны различные методы уничтожения микроорганизмов в пищевых продуктах. Это кипячение, варка, бланширование, обжарка, а также стерилизация и пастеризация. *Пастеризация* – процесс нагревания до 100°С при котором происходит уничтожение вегетативных клеток микроорганизмов. *Стерилизация* – полное уничтожение вегетативных клеток и спор микроорганизмов. Процесс стерилизации ведут при температуре выше 100 °С

Влияние низких температур на микроорганизмы.

- К низким температурам микроорганизмы более устойчивы, чем к высоким.
- Несмотря на то, что размножение и биохимическая активность микроорганизмов при температуре ниже минимальной прекращаются, гибели клеток не происходит, т.к. микроорганизмы переходят в состояние *анабиоза* (скрытой жизни) и остаются жизнеспособными длительное время.
- При повышении температуры клетки начинают интенсивно размножаться.
- Причинами *гибели микроорганизмов при действии низких температур* являются:
 - нарушение обмена веществ;
 - повышение осмотического давления среды вследствие вымораживания воды;
 - в клетках могут образоваться кристаллики льда, разрушающие клеточную стенку.
- Низкая температура используется при хранении продуктов в охлажденном состоянии (при температуре от 10 до -2 °C) или в замороженном виде (от -12 до -30 °C).

ЛУЧИСТАЯ ЭНЕРГИЯ

- **Лучистая энергия.** В природе микроорганизмы постоянно подвергаются воздействию солнечной радиации. Свет необходим для жизнедеятельности фототрофов. Хемотробы могут расти и в темноте, а при длительном воздействии солнечной радиации эти микроорганизмы могут погибнуть.
- Воздействие лучистой энергии подчиняется *законам фотохимии*: изменения в клетках могут быть вызваны только поглощенными лучами. Следовательно, для эффективности облучения имеет значение проникающая способность лучей, которая зависит от длины волны и дозы.
- Доза облучения, в свою очередь, определяется интенсивностью и временем воздействия. Кроме того, эффект воздействия лучистой энергии зависит от вида микроорганизма, характера облучаемого субстрата, степени обсемененности его микроорганизмами, а также от температуры.
- Низкие интенсивности видимого света (350–750 нм) и ультрафиолетовых лучей (150–300 нм), а также низкие дозы ионизирующих излучений либо не влияют на жизнедеятельность микроорганизмов, либо приводят к ускорению их роста и стимуляции метаболических процессов, что связано с поглощением квантов света определенными компонентами или веществами клеток и переходом их в электронно-возбужденное состояние.
- Более высокие дозы излучений вызывают торможение отдельных процессов обмена, а действие ультрафиолетовых и рентгеновских лучей может привести к изменению наследственных свойств микроорганизмов - *мутациям*, что широко используется для получения высокопродуктивных штаммов.

Гибель микроорганизмов под действием ультрафиолетовых лучей связана:

- с инаktivацией клеточных ферментов;
- с разрушением нуклеиновых кислот;
- с образованием в облучаемой среде перекиси водорода, озона и т.д.

Следует отметить, что наиболее устойчивыми к действию ультрафиолетовых лучей являются споры бактерий, затем споры грибов и дрожжей, далее окрашенные (пигментированные) клетки бактерий. Наименее устойчивы вегетативные клетки бактерий.

Гибель микроорганизмов под действием ионизирующих излучений вызвана:

- радиоллизом воды в клетках и субстрате. При этом образуются свободные радикалы, атомарный водород, перекиси, которые, вступая во взаимодействие с другими веществами клетки, вызывают большое количество реакций, не свойственных нормально живущей клетке;
- инаktivацией ферментов, разрушением мембранных структур, ядерного аппарата.

Радиоустойчивость различных микроорганизмов колеблется в широких пределах, причем микроорганизмы значительно радиоустойчивей высших организмов (в сотни и тысячи раз). Наиболее устойчивы к действию ионизирующих излучений споры бактерий, затем грибы и дрожжи и далее бактерии.

Губительное действие ультрафиолетовых и рентгеновских γ -лучей используется на практике.

Ультрафиолетовыми лучами дезинфицируют воздух холодильных камер, лечебных и производственных помещений, используют бактерицидные свойства ультрафиолетовых лучей для дезинфекции воды.

Обработка пищевых продуктов низкими дозами гамма-излучения называется *радуризацией*.

ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫЕ КОЛЕБАНИЯ И УЛЬТРАЗВУК

- **Электромагнитные колебания и ультразвук.**
- *Радиоволны* - это электромагнитные волны, характеризующиеся относительно большой длиной (от миллиметров до километров) и частотами от $3 \cdot 10^4$ до $3 \cdot 10^{11}$ герц.
- Прохождение коротких и ультракоротких волн через среду вызывает возникновение в ней переменных токов высокой (ВЧ) и сверхвысокой частоты (СВЧ). В электромагнитном поле электрическая энергия преобразуется в тепловую.
- Гибель микроорганизмов в электромагнитном поле высокой интенсивности наступает в результате теплового эффекта, но полностью механизм действия СВЧ-энергии на микроорганизмы не раскрыт.
- В последние годы сверхвысокочастотная электромагнитная обработка пищевых продуктов все более широко применяется в пищевой промышленности (для варки, сушки, выпечки, разогревания, размораживания, пастеризации и стерилизации пищевых продуктов). По сравнению с традиционным способом тепловой обработки время нагревания СВЧ-энергией до одной и той же температуры сокращается во много раз, в связи с чем полностью сохраняются вкусовые и питательные свойства продукта.

Ультразвук. Ультразвуком называют механические колебания с частотами более 20 000 колебаний в секунду (20 кГц).

Природа губительного действия ультразвука на микроорганизмы связана:

- с *кавитационным эффектом*. При распространении в жидкости УЗ-волн происходит быстро чередующееся разряжение и сжатие частиц жидкости. При разряжении в среде образуются мельчайшие полые пространства – «пузырьки», заполняющиеся парами окружающей среды и газами. При сжатии, в момент захлопывания кавитационных «пузырьков», возникает мощная гидравлическая ударная волна, вызывающая разрушительное действие;
- с *электрохимическим действием УЗ-энергии*. В водной среде происходит ионизация молекул воды и активация растворенного в ней кислорода. При этом образуются вещества, обладающие большой реакционной способностью, которые обуславливают ряд химических процессов, неблагоприятно действующих на живые организмы.

Благодаря специфическим свойствам ультразвук все более широко применяют в различных областях техники и технологии многих отраслей народного хозяйства. Ведутся исследования по применению УЗ-энергии для стерилизации питьевой воды, пищевых продуктов (молока, фруктовых соков, вин), мойки и стерилизации стеклянной тары.

6. ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Химические факторы –

химические вещества могут оказывать различное действие на микроорганизмы

- Служить источником питания
- Не оказывать какого-либо влияния
- Оказывать бактерицидное и бактериостатическое действие



КИСЛОТНОСТЬ СРЕДЫ

Оптimum значений pH

- Для бактерий : 6,8-7,3
- Для грибов: 1,2-11, 5,0-6,0; наиболее благоприятна слабокислая среда с pH 5,0 - 6,0.
- В большинстве случаев микроорганизмы изменяют pH среды, в которой они развиваются

Концентрация растворенных веществ в среде

- Большинство бактерий малочувствительны к концентрации NaCl в пределах 0,5 — 2%, но 3%-е содержание этого вещества в среде неблагоприятно действует на многие микроорганизмы.
- При концентрации поваренной соли около 3 — 4 % размножение многих гнилостных бактерий подавляется, а при концентрации NaCl 7 — 10 % их размножение прекращается.
- Палочковидные гнилостные бактерии менее стойки, чем кокки.

ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Химические вещества

Антисептики:

Бактериостатики и фунгиостатики
Бактерициды и фунгициды

Механизм действия:

- ✓ Повреждают клеточную мембрану
- ✓ Нарушают проницаемость цитоплазматической мембраны
- ✓ Нарушают обменные процессы в клетке

- Изменение состава и концентрации питательных элементов питательной среды может затормозить, прекратить или стимулировать процессы роста и размножения бактериальной популяции.
- Химические факторы способны влиять на жизнедеятельность микроорганизмов. Степень воздействия химического агента на микроорганизм может быть различной.
- **Бактериостатическое действие** – химическое вещество подавляет размножение бактерий, а после его удаления процесс размножения восстанавливается.
- **Бактерицидное действие** – вызывает необратимую гибель микроорганизмов.
- **Стимулирующее действие** – химические вещества используются как источник энергии, вызывая рост микроорганизмов.
- Одно и то же химическое вещество в разных концентрациях оказывает различное действие. Например: 0,5-2% раствор глюкозы – источник питания для микробов, а 20-40% раствор оказывает угнетающее действие.
- **Оптимальный pH среды** – для большинства симбионтов и возбудителей заболеваний человека – нейтральная, слабощелочная или слабокислая среда. При росте pH сдвигается чаще в кислую сторону, рост микроорганизмов при этом приостанавливается. А затем наступает гибель. **Механизм:** денатурация ферментов гидроксильными ионами, нарушение осмотического барьера клеточной мембраны.

Химические вещества, которые обладают **противомикробным действием, используются для дезинфекции, стерилизации и консервации.**

По химическому составу противомикробные антисептические вещества можно разделить на несколько групп:

- Галогены – препараты йода и хлора, они нарушают ферментативные структуры бактериальной клетки, угнетают гидролитическую и дегидрогеназную активность бактерий, инактивируют такие ферменты, как амилазы и протеазы.
- Перекись водорода, перманганат калия – как и галогены, обладают окислительным действием.
- Кислоты и их соли, щелочи, спирты и альдегиды повреждают поверхностные структуры бактериальной клетки, клеточную стенку и мембраны, нарушая их избирательную проницаемость и другие функции.
- Соединения тяжелых металлов обладают антиферментным механизмом действия на бактериальную клетку, например, они связывают SH-группы белковых молекул, при этом изменяется структура дыхательных ферментов, и разобщаются процессы окисления и фосфорилирования в митохондриях.
- Красители – обладают денатурирующим и литическим эффектом.

К антисептическим химическим веществам относятся группы производных 8-оксихинолина (хинозол, нитроксалин, хинолон) и нитрофурана (фурацилин, фуразолидон), которые также нарушают биосинтетические и ферментативные процессы в бактериальной клетке.

К наиболее распространенным дезинфицирующим средствам относятся хлорсодержащие, фенольные, перекисные и аммониевые соединения.

7. СТЕРИЛИЗАЦИЯ И ДЕЗИНФЕКЦИЯ

Дезинфекция (от лат. *infectia* — инфекция и франц. отрицательной приставки *des*) — комплекс мероприятий по уничтожению во внешней среде не всех, а только определенных возбудителей инфекционных заболеваний. Различают механический, физический и химический способы дезинфекции.

- **Способы дезинфекции:**
- **физический** — разрушение болезнетворных микробов под действием высоких температур (применение пара, кипячения, стирки, проглаживания горячим утюгом);
- **химический** — применение дезинфицирующих растворов, обладающих свойствами уничтожать болезнетворные микробы;
- **комбинированный** — основной и самый надежный. Разрушение болезнетворных микробов производится с одновременным воздействием дезинфицирующих растворов и высокой температуры раствора (обычно используют хлорсодержащие препараты).

Методы дезинфекции



Стерилизация (от лат. *sterilis* — бесплодный) — освобождение от всего живого, полное уничтожение в материалах всех микроорганизмов и их спор. Различают физические, химические и механические способы стерилизации.

Методы стерилизации

- ❖ Термическая: паровая и воздушная (сухожаровая)
- ❖ Химическая: газовая или химическими растворами (стерильантами)
- ❖ Плазменная (плазмой перекиси водорода)
- ❖ Радиационная стерилизация — применяется в промышленном варианте
- ❖ Метод мембранных фильтров — применяется для получения небольшого количества стерильных растворов, качество которых может резко ухудшиться при действии других методов стерилизации (бактериофаг, селективные питательные среды, антибиотики)

КОНТРОЛЬ ДЕЗИНФЕКЦИИ И СТЕРИЛИЗАЦИИ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СТЕРИЛИЗАЦИИ

- ▶ Какие виды контроля стерилизации и с какой кратностью проводятся в бактериологической лаборатории?
- ▶ **химический** — при каждой загрузке помещают химические тесты – индикаторы стерилизации. При достижении заданного режима стерилизации тесты меняют свой цвет.
- ▶ **термический** — 2 раза в месяц максимальным термометром во время стерилизации проводят замер температуры в контрольных точках, которая должна достичь заданных параметров.
- ▶ **биологический** — проводится 2 раза в год. В контрольных точках помещают биотесты с термоустойчивой споровой культурой.



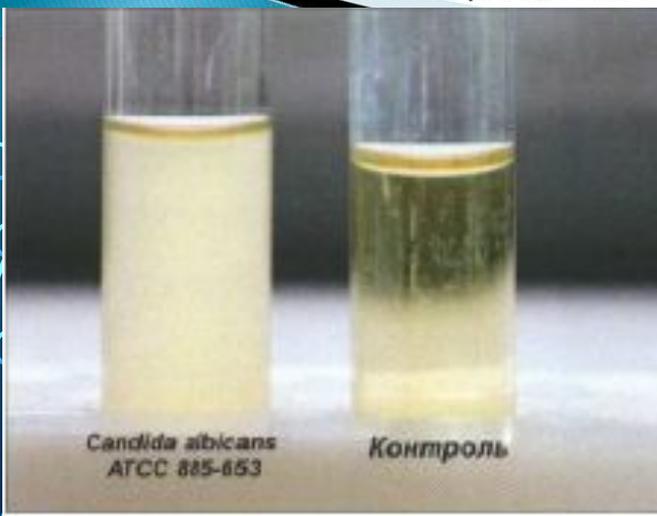
- Контроль режима стерилизации осуществляется с помощью химических термотестов и искусственных биотестов.
- Химические термотесты представляют собой вещества, изменяющие свой цвет или физическое состояние при стерилизации и имеющие разную температуру плавления.
- Бактериологический контроль режима стерилизации заключается в том, что в стерилизационную камеру помещают полоску с нанесенным на нее спорами одного или двух видов бактерий, со спорами известной численности и определенным количеством культуральной среды.



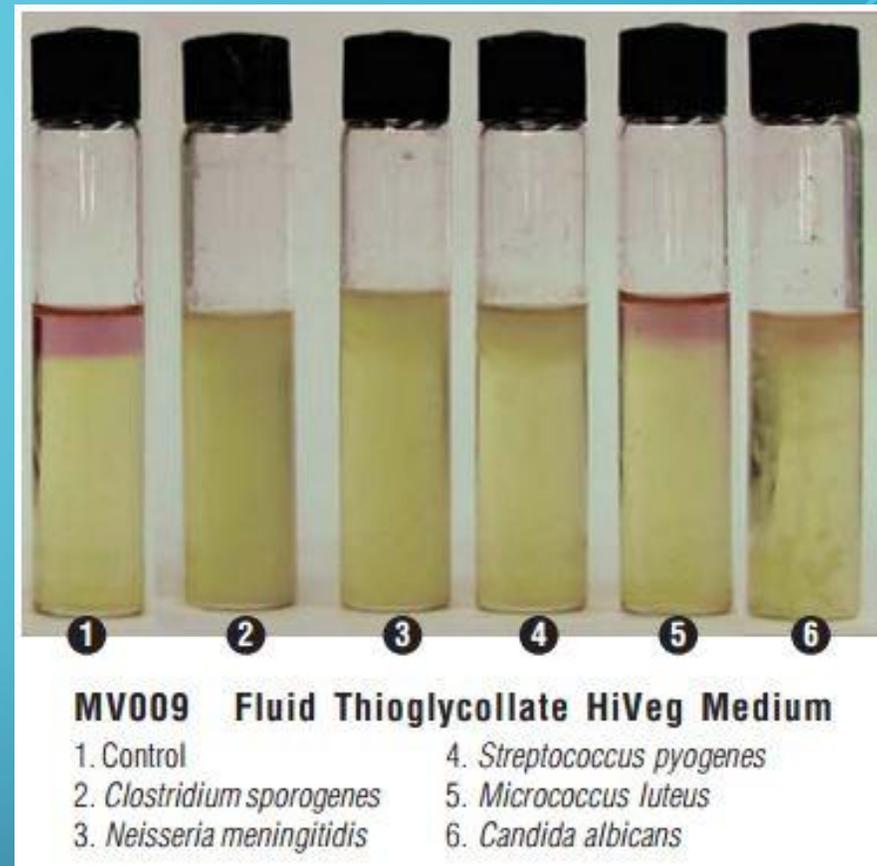
индикаторы ProTest для контроля качества стерилизации

Контроль стерильности

- ▶ **Контроль стерильности питательных сред:** готовую среду помещают на 2 суток в термостат при 37°C. На среде не должно быть признаков роста микроорганизмов.
- ▶ **Бактериологический контроль стерильности:** смывы.
- ▶ С помощью стерильного пинцета участок поверхности тщательно протирают марлевой салфеткой (размер салфетки 5 x 5 см), увлажненной стерильной водой или стерильным 0,9% раствором NaCl, или раствором нейтрализатора (при стерилизации раствором химического средства). Каждую салфетку помещают в отдельную пробирку с питательной средой (тиогликолевая среда и среда Сабуро).
- ▶ Тиогликолевая среда содержит питательный бульон, 0,1% агара, 0,5% глюкозы, 0,1% натрия тиогликолата (обладает выраженными восстановительными св-вами) и индикатор - резазурин. Любое повышение концентрации кислорода сопровождается изменением цвета индикатора редокс-потенциала (резазурина) на красный.
- ▶ Среда Сабуро (бульон для культивирования грибов) состоит из 1% пептона, 4% мальтозы, pH 6,5 - 7.



Среда Сабуро



Тиогликолевая среда

АСЕПТИКА И АНТИСЕПТИКА

Асептика, основоположником которой является Д. Листер (1867), — это комплекс мероприятий, направленных на предупреждение попадания возбудителя инфекции в рану, органы больного при операциях, лечебных и диагностических процедурах. Асептику применяют для борьбы с экзогенной инфекцией, источниками которой являются больные и бактерионосители. Асептика включает стерилизацию и сохранение стерильности инструментов, перевязочного материала, операционного белья, перчаток и всего того, что приходит в соприкосновение с раной, а также дезинфекцию рук хирурга, операционного поля, аппаратуры, операционной и других помещений, применение специальной спецодежды, масок. К мерам асептики относятся также планировка операционных, систем вентиляции и кондиционирования воздуха. Методы асептики применяются также на фармацевтических и микробиологических производствах, в пищевой промышленности.

Антисептика — совокупность мер, направленных на уничтожение микробов в ране, патологическом очаге или организме в целом, на предупреждение или ликвидацию воспалительного процесса. Первые элементы антисептики были предложены И. Земмельвейном в 1847 г.

Антисептику проводят механическими (удаление некротизированных тканей), физическими (дренирование ран, введение тампонов, введение гигроскопических повязок), биологическими (использование протеолитических ферментов для лизиса нежизнеспособных клеток, применение бактериофагов и антибиотиков) и химическими (применение антисептиков) методами.

Асептика — это совокупность мероприятий, направленных на предупреждение попадания микробов в рану.

Антисептика — система мероприятий, направленных на уменьшение количества микробов или их уничтожение в ране.

Виды асептики

- Стерилизация – уничтожение всего живого на предметах медицинского назначения
- Изоляция – разделение в пространстве и времени объектов и людей для недопущения контакта организма человека с микроорганизмами
- Дезинфекция - мероприятия направленные на уничтожение микроорганизмов на объектах внешней среды.

ВИДЫ АНТИСЕПТИКИ

МЕХАНИЧЕСКАЯ АНТИСЕПТИКА

- Туалет раны
- ПХО раны
- Вторичная хирургическая обработка раны
- другие манипуляции

ХИМИЧЕСКАЯ АНТИСЕПТИКА

- Группа галоидов
- Спирты
- Альдегиды
- Красители
- Кислоты
- Окислители и др.

ФИЗИЧЕСКАЯ АНТИСЕПТИКА

- Технические средства
- Гипертонические растворы
- Дренирование
- Сорбенты
- Факторы внешней среды
- Гигроскопический перевязочный материал

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АНТИСЕПТИКА

- Антибиотики
- Протеолитические ферменты
- Препараты для пассивной иммунизации

СМЕШАННЫЙ МЕТОД АНТИСЕПТИКИ

Для достижения максимального эффекта применяют не один какой-то метод антисептики, а сочетание их. Например: ПХО раны, механическая и физическая антисептика.