

**МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ТАШКЕНТСКИЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

**ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ:
МИКРОФЛОРА ВОДЫ, ВОЗДУХА, ПОЧВЫ.**

Учебно-методическое пособие
(для студентов медицинских вузов 2-3 курса)

Ташкент – 2015

**МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ТАШКЕНТСКИЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Главного управления
науки и учебных заведений
-----проф.Ш.Э.Атаханов
2015 й “---” -----
№ ----- баённома

«СОГЛАСОВАНО»

Директор центра развития
Медицинского образования
-----Х.А.Абдуллаева
2015 й “---” -----
№ ----- баённома

**ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ: МИКРОФЛОРА
ВОДЫ, ВОЗДУХА, ПОЧВЫ.**

Учебно-методическое пособие
(для студентов медицинских вузов 2-3 курса)

Ташкент 2015

Составители:

Исламов А.Й.

доцент кафедры Детских инфекционных болезней, микробиология, вирусология и иммунология, к.м.н.

Мирзаева М.А.

профессор кафедры Детских инфекционных болезней, микробиология, вирусология и иммунология, д.м.н.

Тургунова Х.З.

доцент кафедры Детских инфекционных болезней, микробиология, вирусология и иммунология, к.б.н.

Рецензенты:

Кадирова Д.Э.

старший преподаватель кафедры “Экология и микробиология” Ташкентского фармацевтического института, к.м.н.

Усманов Т.У.

доцент кафедры Детских инфекционных болезней, микробиология, вирусология и иммунология, ТашПМИ, к.м.н.

Эгамбердиев А. Р.

старший преподаватель кафедры “Ўзбек, рус, лотин тиллари ” ТашПМИ.

Учебно-методическое пособие рассмотрено на МУК ТашПМИ
«__» _____ 2015 года, протокол № __

Проректор по учебному
частью, д.м.н., профессор

Искандаров А.И.

Данное Учебно-методическое пособие по микробиологии разработано для студентов 2-3 курса медицинских вузов рассмотрено на Ученом Совете ТашПМИ и рекомендованна для публикации («__» _____ 2015 года, протокол № __)

Секретарь Ученого Совета, профессор _____ Юлдашев М.А.

Abstract

In this manual expanded knowledge about the microorganism ecology, water, air, soil microflora, the role of this microflora as sources of causative agents in the spreading of infectious diseases, types of evaluation of sanitation indicators of microflora. Given the information about monitoring of the sanitation-bacteriologic status and creation methods of the improvement of these sources.

In this manual given the necessary knowledge and basic skills of which medical student must have knowledge about.

Аннотация

В данном издании представлены основные принципы по теме экология микроорганизмов, микрофлора воды, воздуха и почвы, роль этих микрофлор в распространении инфекционных заболеваний. Научиться технике взятия проб и уметь оценивать санитарное состояние микрофлоры воды, воздуха, почвы. Имея знания по этой теме, у студентов появятся общие представления по профилактическим мероприятиям при инфекционных заболеваниях - при этом источником заражения являются вода, воздух, почва. В учебном пособии приведены необходимые знания и основные навыки, которые должен освоить студент медицинского вуза.

Аннотация

Ушбу кўлланмада микроорганизмлар экологияси ҳақида билимни бойитиб, сув, ҳаво, тупроқ микрофлораси ҳақида тушунча берилиб, унинг юқумли касаллик қўғатувчиларини табиатда айланиб юришини таъминловчи манба сифатида ёритиб, ушбу микрофлораларни санитар ҳолатига баҳо бериш усуллари ҳақида талабалар учун асосий маълумотлар берилган. Сувни, ҳавони санитар-бактериологик ҳолатини назорат қилиш ва ушбу манбаларни соғломлаштириш чора-тадбирларини ишлаб чиқиш тўғрисида маълумот берилади. Ўқув кўлланмада тиббиёт институти талабалари ўзлаштириши керак бўлган билим ва кўникмалар келтирилган.

Введение

Микроорганизмы распространены повсюду. Они заселяют почву, воду, воздух, растения, организмы животных и людей-экологические среды обитания микробов.

Выделяют свободноживущие и паразитические микроорганизмы. Всюду, где есть хоть какие-то источники энергии, углерода, азота, кислорода и водорода (кирпичиков всего живого), обязательно встречаются микроорганизмы, различающиеся по своим физиологическим потребностям и занимающих свои экологические ниши. Титаническая роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе имеет исключительное значение для поддержания динамического равновесия биосферы.

Микроорганизмы в экологических нишах сосуществуют в виде сложных ассоциаций-биоценозов с различными типами взаимоотношений, в конечном счете обеспечивающих сосуществование многочисленных видов прокариот и различных царств жизни.

Все типы взаимоотношений микроорганизмов объединяются понятием симбиоз. Он может быть антогонистическим и синэргическим.

Под круговоротом веществ в природе понимают циклы превращения химических элементов, из которых построены живые существа, происходящие вследствие разнообразия и гибкости метаболизма микроорганизмов.

Наибольшее значение для всего живого имеет обмен (кругооборот) углерода, кислорода, водорода, азота, серы, фосфора и железа. Этапы кругооборота различных химических элементов осуществляется микроорганизмами разных групп. Непрерывное существование каждой группы зависит от химических превращений элементов, осуществляемых другими группами микроорганизмов. Жизнь на Земле непрерывна, поскольку все основные элементы жизни подвергаются циклическим превращениям, в значительной степени определяемых микроорганизмами.

Почва является основным местом обитания микробов. Состав микрофлоры складывается из многих тысяч видов бактерий, грибов, простейших и вирусов. В процессе самоочищения почвы и кругооборота веществ принимают участие также нитрифицирующие, азотфиксирующие, денитрифицирующие и другие группы микроорганизмов.

Вода- древнейшее место обитания микроорганизмов. Пресноводные водоемы и реки отличаются богатой микрофлорой. Многие виды галофильных микробов обитает в морской воде, в том числе на глубинах в несколько тысяч метров. Численность микроорганизмов в воде в определенной степени связано с содержанием органических веществ. Вода имеет существенное значение в эпидемиологии кишечных инфекций. Их возбудители могут попадать с испражнениями во внешнюю среду (почву), со сточными водами- в водоемы и в некоторых случаях- в водопроводную сеть.

Воздух как среда обитания менее благоприятен, чем почва и вода- мало питательных веществ, солнечные лучи, высушивание. Главным источником загрязнения воздуха микроорганизмами является почва, меньше- вода. Микробиологическая чистота воздуха имеет большое значение в больничных условиях (особо- операционные и другие хирургические отделения).

Цель занятия:

Теоретический часть

ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Санитарная микробиология- раздел медицинской микробиологии, изучающий микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде и способные оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека. Она разрабатывает микробиологические показатели гигиенического нормирования, методы контроля эффективности обеззараживания объектов окружающей среды, а также выявляет в объектах окружающей среды патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные, микроорганизмы. Для оценки санитарно-гигиенического состояния различных объектов окружающей среды, воды, пищевых продуктов и напитков проводятся санитарно-бактериологические исследования, целевое назначение которых состоит в определении эпидемической безопасности указанных объектов. Выявление в них патогенных микроорганизмов служит показателем эпидемической опасности. О микробной обсемененности судят по **микробному числу** - общему количеству микроорганизмов, содержащихся в единице объёма или массы исследуемого объекта (1 см³ воды, 1г. почвы, 1м³ воздуха). Содержание санитарно-показательных бактерий оценивается по двум показателям - *титру* и *индексу*. **Титром** называется тот минимальный объём или масса, в которой обнаруживаются данные бактерии; **индексом** - количество санитарно-показательных бактерий, содержащихся в 1 литре жидкости, 1г. плотных веществ, 1м³ воздуха. К **санитарно-показательным бактериям** относятся представители облигатной микрофлоры организма человека и теплокровных животных, для которых средой обитания являются кишечник и воздушно-дыхательные пути. Возбудители кишечных инфекций имеют общий путь выделения (с фекалиями) с такими санитарно-показательными бактериями, как *бактерии группы кишечной палочки* - **БГКП**

(в эту группу, кроме кишечной палочки, входят сходные по свойствам бактерии рода (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*), энтерококки, клостридии перфрингенс; возбудители воздушно-капельных инфекций имеют общий путь выделения с бактериями, постоянно обитающими на слизистой оболочке верхних дыхательных путей, выделяющимися в окружающую среду при кашле, чиханье, разговоре. В связи с этим в качестве санитарно-показательных бактерий для воздуха закрытых помещений предложены гемолитические стрептококки и золотистые стафилококки.

Санитарная микробиология изучает микрофлору окружающей среды с целью исследования всех ее объектов (почвы, воды, воздуха, пищевых продуктов и др.) как возможных источников и факторов передачи инфекционных заболеваний. Она тесно связана с медицинской микробиологией, гигиеной, эпидемиологией, экологией. В ее задачи входят: гигиеническая оценка всех объектов внешней среды; разработка методов выявления и идентификации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов; нормирование допустимого количества представителей различных родов и видов, контроль исполнения установленных нормативов. В функции санитарных врачей входит постоянное наблюдение за санитарным режимом лечебных учреждений, аптек и производственных предприятий различного профиля, разработка методов и средств оздоровления объектов окружающей среды и оценка их эффективности.

Санитарное состояние объектов внешней среды определяют по двум основным показателям:

- **общее микробное число** – общее количество микроорганизмов в единице объема или массы исследуемой среды;
- **санитарно-показательные микроорганизмы** – косвенный показатель возможного присутствия патогенных микроорганизмов, которые попадают во внешнюю среду из организмов человека, животных и птиц.

Для разных объектов внешней среды выбраны определенные виды микроорганизмов.

МИКРОФЛОРА ВОДЫ

Вода открытых водоемов является естественной средой обитания многих микроорганизмов. В воду они попадают из почвы, с выделениями человека и животных, отбросами, сточными водами. Обычная микрофлора почвы - сапрофиты. В воде обитают псевдомонады, микрококки, вибрионы. Помимо этого, в воду могут попасть, сохраниться и даже размножиться возбудители инфекционных болезней. Так, например, кишечная палочка и возбудители брюшного тифа переживают в воде длительное время, а возбудители холеры размножаются. Интенсивность обсеменения воды микроорганизмами и состав микрофлоры зависят от степени загрязнения водоема, особенно органическими соединениями. Вблизи от населенных мест, в которых водоемы загрязняют сточными, хозяйственными и промышленными водами, количество микроорганизмов в воде особенно велико, а микрофлора более разнообразна. В воде постоянно происходят процессы самоочищения - микроорганизмы погибают от действия солнечных лучей и химических веществ, осаждения, воздействия антибиотических веществ, вырабатываемых другими микроорганизмами, водорослями, грибами. Вода морей и океанов также богата микроорганизмами, но там их значительно меньше, чем в пресноводных открытых водоемах. Особенно много микроорганизмов в слое придонного ила, на котором они образуют тонкую пленку. Наиболее чистыми являются почвенные воды, попадающие на поверхность через артезианские скважины и родники. Вода играет большую роль в передаче инфекционных болезней. Возбудители кишечных инфекций, полиомиелита, туляремии, лептоспироза нередко вызывают "водные" эпидемии, а для холеры вода служит основным путем передачи инфекции. Определение чистоты воды и предупреждение ее загрязнения - одно из обязательных мероприятий в борьбе с инфекционными болезнями.



Рис 1. Микрофлора воды

Вода также как и почва представляет собой естественную среду обитания микроорганизмов. Это обусловлено тем, что в ней находятся органические и минеральные вещества – остатки растений, останки позвоночных и беспозвоночных животных. Численность микроорганизмов зависит от ряда факторов: климато-географических, температурных, аэрации, освещенности, скорости течения, глубины, солености, показателей рН водоема и др. Содержание микробов в 1 мл воды открытых водоисточников варьирует от десятков и сотен до десятков миллионов. Наибольший процент водных микроорганизмов составляют сапрофитные представители родов *Micrococcus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Proteus*, а также дрожжи и плесневые грибы. Среди них присутствуют пигментообразующие и флюоресцирующие бактерии. Вместе с тем, в воде нередко находятся и патогенные микроорганизмы, которые попадают туда с различными стоками. В таких стоках может содержаться почвенная микрофлора, испражнения людей, животных и птиц. Нередко патогенные микробы попадают в водоемы при купании, стирке белья, водопое скота. Во время дождей, особенно

обильных, в водоемы могут стекать потоки с участков земли, занятых под посевы сельскохозяйственных культур.

Для патогенных микроорганизмов вода – неблагоприятный биотоп для роста и размножения. Однако некоторые из них в течение длительного времени сохраняют жизнеспособность, не теряя патогенности, и могут стать причиной инфекционных заболеваний. Было установлено, что холерный вибрион может даже размножаться в теплой прибрежной воде, богатой органическими веществами и имеющей щелочной рН. Известно, что водным путем передаются брюшной тиф, бактериальная и амебная дизентерия, холера, лептоспироз, полиомиелит, гепатиты А и Е и ряд других болезней.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ ВОДЫ

При санитарно-бактериологическом исследовании воды определяют:

- *общее микробное число (общее количество микроорганизмов в 1 мл),*
- *наличие патогенных микроорганизмов,*
- *количество БГКП как показатель степени фекального загрязнения,*

Дополнительно определяют титр *Clostridium perfringens*, индекс бактериофага и цисты лямблий.

Наличие патогенных микроорганизмов определяют по эпидемиологическим показателям.

Исследованию подлежат: питьевая вода (водопроводная, колодезная, из артезианских скважин), вода открытых водоемов (реки, озера), плавательных бассейнов, а также сточные воды. Допустимое содержание отдельных видов микроорганизмов в различных водисточниках регламентируется ГОСТ ом (государственным стандартом).

Отбор проб воды

Для взятия проб воды используют как многоразовую, так и одноразовую стерильную посуду. Многоразовая изготавливается из материалов, выдерживающих обработку сухим жаром и автоклавированием. Емкости для

забора воды закрывают плотными пробками и защитным колпачком из фольги или плотной бумаги.

Из открытых водоемов пробы берут обычно с глубины 10-15 см от поверхности, а из мелководных водоисточников - на уровне 10-15 см от дна. Для взятия проб используют также специальный аппарат – батометр (рис 2,3). Он состоит из металлического каркаса, в который вставляется бутылка для воды, закрывающаяся плотной пробкой с приспособлением для ее открывания. Этот аппарат укреплен на тросе, позволяющем опускать его на нужную глубину. Батометры часто используются при взятии глубинных проб воды из больших водоемов.

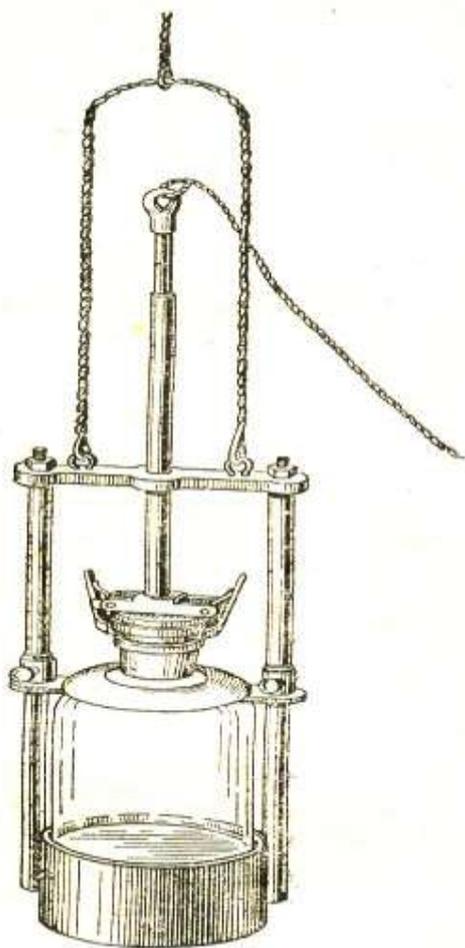


Рис. 2. Батометр

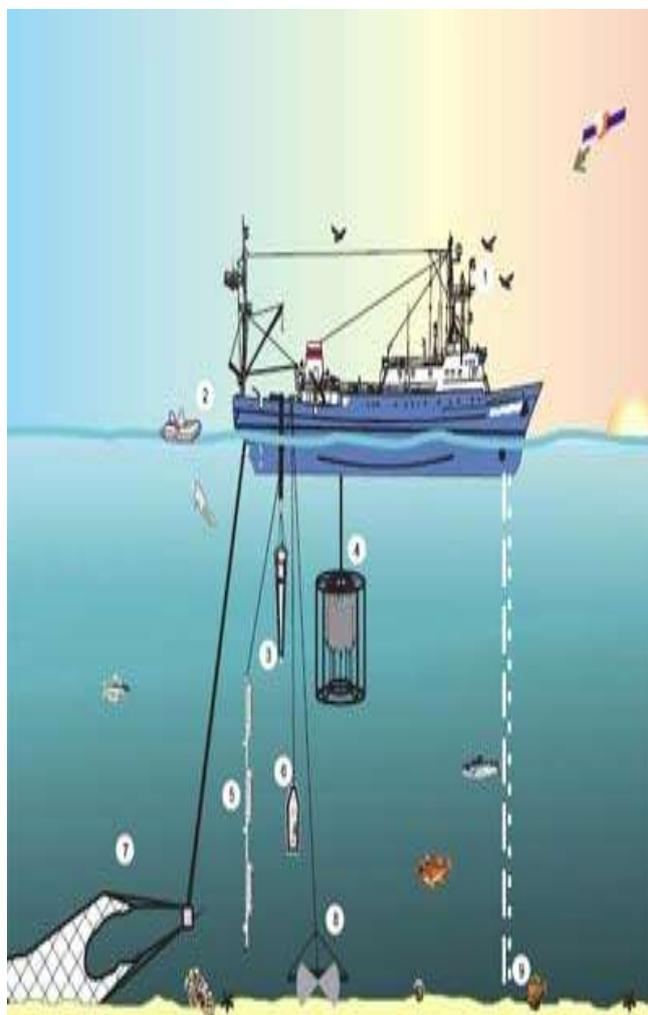


Рис.3. Взятие проб воды с помощью батометра

Перед взятием проб из водопровода кран протирают тампоном, смоченным спиртом, и обжигают, после чего 10-15 мин сливают

застоявшуюся в трубах воду и только затем отбирают образец для исследования.

Анализ проводят сразу после взятия проб. При необходимости транспортировки воду сохраняют при температуре 1-5° С и анализируют не позднее чем через 2-6 ч с момента ее забора.

1. Определение общего количества микроорганизмов в воде

Общее микробное число воды определяют путем культивирования содержащихся в пробах бактерий в плотных питательных средах. В зависимости от предполагаемой загрязненности водоема перед посевом готовят десятикратные разведения исходной пробы в стерильной водопроводной воде. В таблице № 1 приведены рекомендуемые для посева разведения воды в зависимости от степени ее загрязненности (объем каждого разведения для дальнейшего посева в МПА составляет 1 мл).

Для получения разведений берут ряд пробирок, содержащих по 9 мл стерильной водопроводной воды. Исследуемую воду в объеме 1 мл вносят в первую пробирку, получают разведение 1:10, затем из этой пробирки переносят 1 мл в следующую и т.д. (рис.1). Для приготовления каждого разведения используют новую стерильную пипетку. Из полученных разведений вносят по 1 мл воды в 2 чашки Петри для подсчета средних показателей. и заливают 15-20 мл расплавленного и охлажденного до 45°С МПА. Содержимое чашек тщательно перемешивают круговыми движениями, перемещая их по поверхности стола. После застывания агара, чашки помещают в термостат на 24 ч при температуре 37°С. Колонии бактерий растут, как на поверхности питательной среды (аэробы), так и в ее глубине (анаэробы). Подсчитывают их суммарное количество и вычисляют общее микробное число. Если воду предварительно разводили, то полученную сумму умножают на степень разведения и в итоге получают количество микроорганизмов в 1 мл исходной воды.

Общее микробное число в 1 мл питьевой воды не должно превышать 50.

Таблица 1. Рекомендуемые для посева разведения воды в зависимости от степени ее загрязненности при определении общего микробного числа (объем каждого разведения для посева составляет 1 мл)

Тип исследуемой воды	Рекомендуемые для посева разведения воды
Водопроводная вода и вода артезианских колодцев	1мл исходной воды без разведения
Чистая вода (вода колодцев, родников и др., вода плавательных бассейнов)	1 и 1:10
Открытые водоемы, не загрязненные сточными водами	1; 1:10 и 1:100
Чистые водоемы в местах массового купания	1:10 и 1:100
Открытые водоемы, загрязненные сточными водами	1:10; 1:100 и 1:1000
Сильно загрязненные хозяйственно-бытовые воды и сточные жидкости	1:10000; 1:10 0000 и 1:100 000

2. Определение бактерий группы кишечной палочки (БКГБ)

Санитарно-показательными микроорганизмами в воде, также как и в почве, являются бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Они также называются колиформными (от лат. *Escherihia coli* - кишечная палочка.) Эта группа объединяет факультативно анаэробных представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Все они имеют палочковидную форму, не образуют спор, грамотрицательные, оксидазоотрицательные, разлагают лактозу до кислоты и газа. Следует обратить внимание на температуру, при которой наиболее активно проявляются сахаролитические свойства колиформных бактерий. Большинство из них сбраживает лактозу через 24-48 ч при температуре 37°C. Такие бактерии относят к общим колиформным бактериям (ОКБ).

Отличительной особенностью термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) является то, что они разлагают лактозу до кислоты и газа при более высокой температуре - 44°C в течение более короткого времени – за 24 ч. Обнаружение термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) указывает на свежее фекальное загрязнение воды. Бактерии группы кишечной палочки выявляются различными методами. Наиболее распространенным является метод мембранных фильтров.

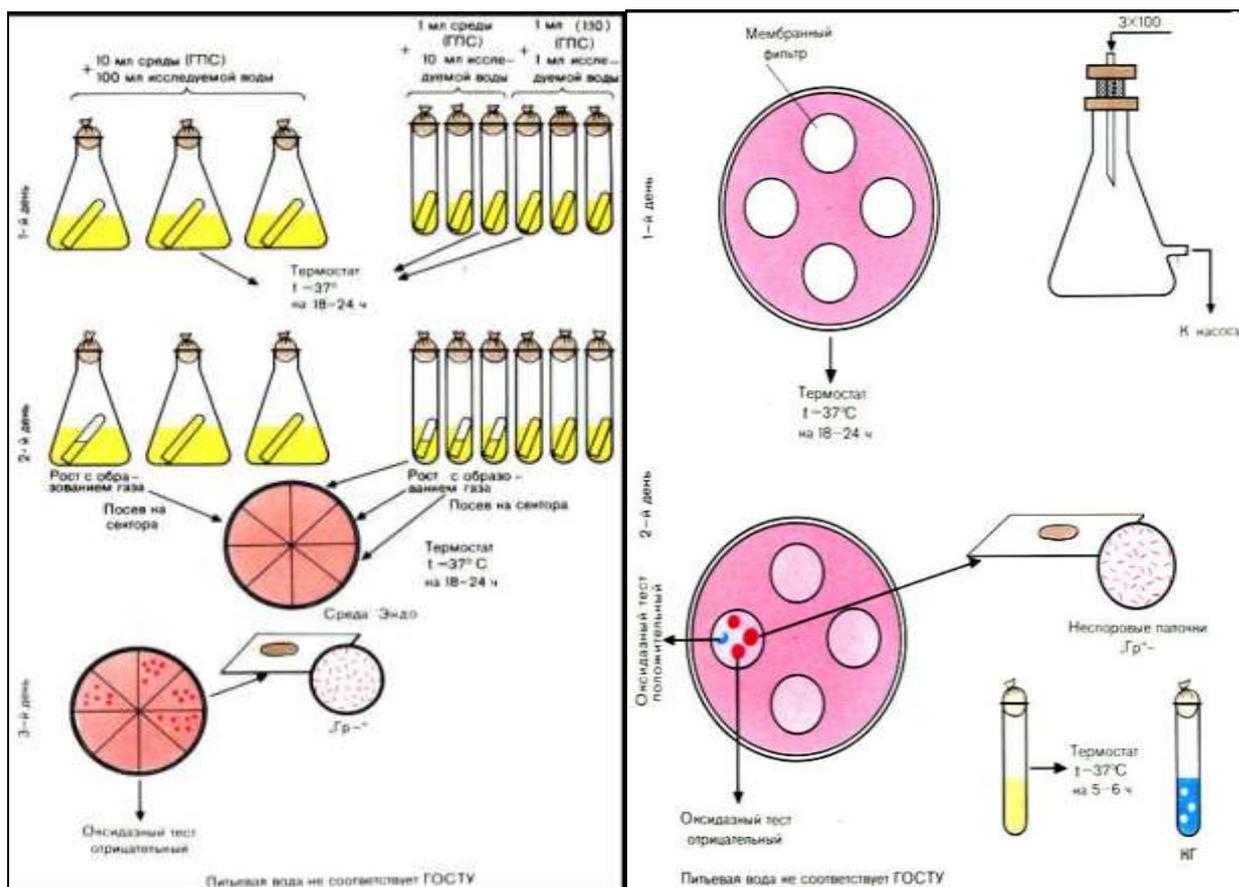


Рис 3. Определение коли-индекса воды титрационным методом.

1. Определение БГКП методом мембранных фильтров

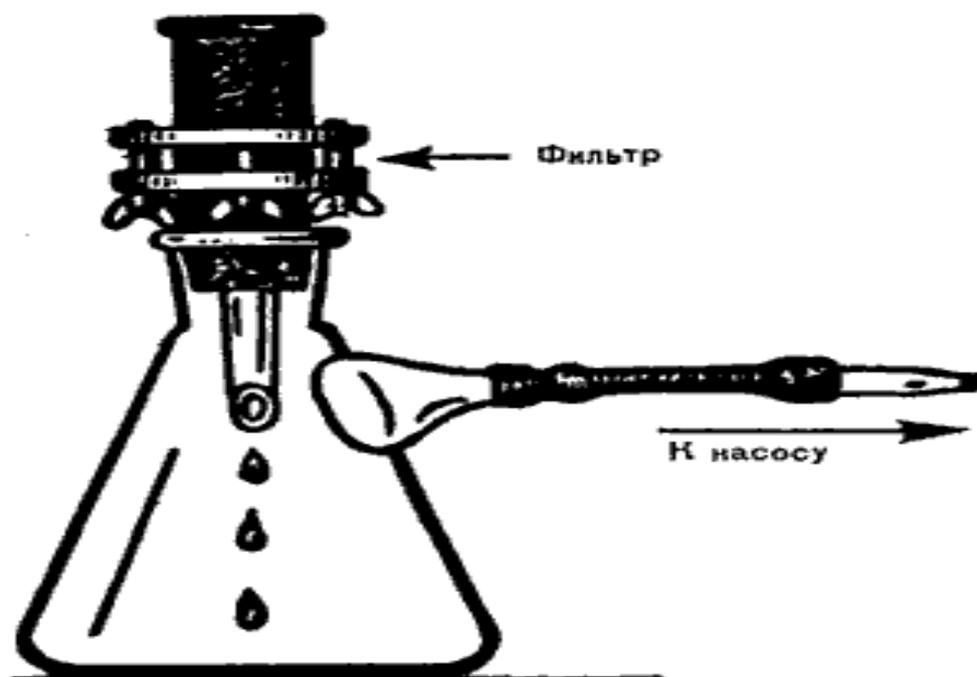
Для определения БГКП этим методом используют фильтровальный аппарат Зейтца, (рис. 4), который перед началом исследований протирают тампоном, смоченным в спирте, стерилизуют прокаливанием и устанавливают на колбе Бунзена.

Затем в прибор помещают нитрацеллюлозный или ацетатцеллюлозный мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм. Такие фильтры предварительно стерилизуют методом кипячения. Выбранный для

исследования объем воды пропускают через фильтр, присоединяя аппарат к вакуумному насосу. Если анализируют несколько проб воды, то для каждой из них используют отдельный мембранный фильтр. Перед фильтрованием новой пробы аппарат стерилизуют. После пропускания через них воды фильтры помещают на поверхность среды Эндо в чашки Петри, располагая их на питательной среде фильтрующей стороной вверх. Чашки затем инкубируют в термостате 24 ч при 37°C . В состав среды Эндо входят лактоза, индикатор и МПА и поэтому БГКП образуют на ней колонии красного цвета с металлическим отливом. Подсчитывают количество таких колоний, готовят из них мазки и окрашивают по Граму, а также проверяют оксидазную активность. Оксидазоотрицательные бактерии, разлагающие лактозу до кислоты и газа, обнаруженные на фильтре, позволяют дать положительный ответ о наличии в воде БГКП. При анализе питьевой воды вычисляют количество БГКП, содержащихся в 100 мл.

Для дифференциации ОКБ (общих колиформных бактерий) и ТКБ (термотолерантных колиформных бактерий) каждую выросшую на фильтре колонию БГКП засевают в две пробирки с лактозной средой. Одну из пробирок предварительно прогревают до 44°C с тем, чтобы инактивировать ОКБ. Затем эту пробирку инкубируют при этой же температуре в течение 24 ч (для подтверждения наличия ТКБ). Вторую пробирку с посевом ставят в термостат при температуре 37°C на 48 ч, чтобы убедиться в наличии ОКБ.

Загрязненную воду открытых водоемов предварительно разводят, как указано в табл. № 1 и для фильтрации используют объем не менее 10 мл. Дальнейшие исследования проводят, как описано выше.



Колба Бунзена

Рис. 4. Фильтр Зейтца и колба Бунзена для фильтрации воды

2 Определение БГКП бродильным (титрационным) методом

Этот метод известен также под названием: «двухфазный бродильный метод». Для установления содержания колиформных бактерий в воде, исследуемые пробы засевают в глюкозо-пептонную среду (ГПС) для подраживания микроорганизмов. Объемы воды при этом определяются в зависимости от водоисточника и предполагаемой степени его загрязненности.

1 этап исследования. (1 фаза) Исходный объем воды делят на несколько порций, которые засевают в различные объемы питательной среды. Например, посев воды с исходным объемом 300 мл производят следующим образом: два объема по 100 мл засевают в два флакона с 10 мл питательной среды, а 10 объемов по 10 мл той же пробы воды засевают в 10 пробирок, содержащих по 1 мл питательной среды. Посевы инкубируют в термостате при 43°C в течение 7 -12 ч. Указанная температура подавляет рост сапрофитных микроорганизмов, но не влияет на колиформные бактерии.

На 2 этапе (2 фаза) из флаконов и пробирок, при наличии в них признаков роста (помутнение, газообразование) делают высевы петлей на

чашки Петри со средой Эндо, разделенной на 3-4 сектора, и помещают их в термостат при 37°C на 18-20ч для того, чтобы получить рост изолированных колоний. Емкости с посевами воды в среде ГПС, на которых через 7-12 ч не было признаков роста, оставляют в термостате еще на 24 - 48 ч. Отсутствие роста в них через 48 ч свидетельствует об отсутствии в воде БГКП. При просмотре посевов на среде Эндо обращают внимание на колонии красного, розового, бледно-розового цвета с металлическим блеском. Делают из них мазки, окрашивают по Граму и проверяют оксидазную активность, позволяющую дифференцировать ОКБ от других грамотрицательных бактерий. Наличие грамотрицательных, оксидазоотрицательных палочек свидетельствует о наличии в воде БГКП. Для определения термотолерантных колиформных бактерий по 2-3 лактозоположительные колонии из каждого сектора со среды Эндо засевают в пробирки с любой средой, содержащей лактозу, предварительно нагретой до 44°C и помещают в термостат на 24 ч при той же температуре. Образование в пробирках кислоты и газа свидетельствует о том, что в исследуемой пробе присутствуют термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ). Это позволяет сделать вывод о свежем фекальном загрязнении воды.

Таблица 2. Нормативы безопасности питьевой воды в эпидемическом отношении по микробиологическим и паразитологическим показателям (по методическим указаниям «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды»)

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Общее микробное число ²	Число образующих колонии бактерий в 1 мл	Не более 50 колоний
Общее количество колиформных бактерий ²	Число бактерий в 100 мл	Отсутствие бактерий
Термотолерантные колиформные бактерии	Число бактерий в 100 мл ¹	Отсутствие бактерий

Колифаги ³	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 мл	Отсутствие колифагов
Споры сульфитредуцирующих клостридий ⁴	Число спор в 20 мл	Отсутствие клостридий
Цисты лямблий ³	Число цист в 50 мл	Отсутствие цист

Примечание:

¹ Трехкратно исследуют по 100 мл отобранной пробы воды.

² Превышение норматива не допускается в 95 % проб, отбираемых в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети в течение 12 мес., при количестве исследуемых проб не менее 100 за год.

³ Определяют только в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть.

⁴ Определение проводят при оценке эффективности технологии обработки воды.

МИКРОФЛОРА ВОЗДУХА.

Воздух не содержит питательных субстратов, нужных для развития микроорганизмов. Кроме того, солнечная радиация, смена температуры и другие факторы оказывают неблагоприятное воздействие на микроорганизмы. Несмотря на это, в воздухе постоянно находится значительное количество микроорганизмов, которые попадают в воздух с пылью с поверхности почвы. Наиболее часто в воздухе встречаются споры грибов и бактерий, пигментные сапрофитные бактерии, плесневые и дрожжевые грибы, различные кокки. Количество микроорганизмов в воздухе колеблется в широких пределах. Наиболее загрязнен воздух крупных промышленных городов. В сельской местности воздух значительно чище, а меньше всего микроорганизмов содержится в воздухе над лесом, горами, морями. В верхних слоях атмосферы микроорганизмов меньше, чем в нижних; зимой меньше, чем летом; в помещениях больше, чем под открытым небом. Особенно много бактерий в плохо проветриваемых помещениях при отсутствии влажной уборки. Патогенные микроорганизмы попадают в воздух вместе с капельками слюны и мокроты, при кашле, чиханье, разговоре больных людей, а также с пылью с загрязненных предметов и инфицированной почвы. Микроорганизмы находятся в воздухе в виде аэрозоля (капельках жидкости или в мельчайших твердых частицах, взвешенных в воздухе). Вдыхая воздух, загрязненный патогенными микроорганизмами, человек может заболеть. Такой путь передачи инфекции называется воздушно-капельным (воздушно-пылевым). Малоустойчивые патогенные микроорганизмы передаются обычно лишь на расстоянии, близком от больного (возбудителя кори, гриппа, коклюша); с частицами пыли переносятся кокки, споры и более устойчивые микроорганизмы. К последним относятся возбудители сибирской язвы, туберкулеза и др. Эпидемии заболеваний, распространяющихся через воздух, обычно возникают зимой при скоплении людей в закрытых помещениях, недостаточно проветриваемых и при отсутствии ежедневной влажной уборки.

Для предотвращения этих заболеваний применяют марлевые маски, которыми пользуется медицинский персонал, больные, сотрудники детских учреждений.

Воздух является неблагоприятной средой обитания для микроорганизмов, так как в нем отсутствуют питательные вещества, необходимые для поддержания их жизни и размножения. Одним из важных условий для выживания в воздухе является способность микроорганизмов противостоять высушиванию, действию ультрафиолетовых и радиоактивных лучей, колебаниям температуры и др. неблагоприятным факторам. Микрофлора атмосферного воздуха формируется в основном за счет почвенных микроорганизмов, в меньшей степени они попадают в воздух с поверхности воды или растений. Поэтому наибольшее количество микроорганизмов содержится вблизи земной поверхности.

В атмосферном воздухе обнаруживаются сапрофитные микроорганизмы, представленные кокками (микрочокки, сарцины и др.) споровыми бактериями (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. mesentericus* и др.), актиномицетами и грибами (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* и др.). Они находятся в воздухе во взвешенном (аэрозольном) состоянии. Механизмами самоочищения воздуха являются действие солнечных лучей, оседание бактериальных аэрозолей под действием гравитации, постоянное перемешивание и повышенная влажность (дождь, снег). Максимальное количество микроорганизмов в воздухе обнаруживают летом (июнь-август), минимальное – зимой (декабрь-январь).

Атмосферный воздух значительно отличается по количеству микроорганизмов и их видовому составу от воздуха закрытых помещений. Бактериальная обсемененность воздуха закрытых помещений всегда выше, чем атмосферного воздуха. В составе воздуха закрытых помещений помимо сапрофитной микрофлоры находятся те микроорганизмы, которые выделяет человек через дыхательные пути (при разговоре, кашле, чихании), с поверхности кожи, с пылью загрязненного постельного белья и др.

источников (домашние животные, декоративные птицы). Здоровый человек при чихании выделяет в воздух

10 000-20 000 микробных тел, а больной или бактерионоситель – значительно больше. Микроорганизмы из ротоглотки человека находятся в воздухе в составе капелек слизи, которые могут часами удерживаться во взвешенном состоянии, образуя стойкие аэрозоли. Присутствие в воздухе патогенных микроорганизмов свидетельствует о санитарном неблагополучии объектов обследования, т.к. воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем могут передаваться многие болезни (грипп, корь, дифтерия, коклюш, туберкулез и т.п.).

Для оценки санитарного состояния воздуха закрытых помещений определяют *общее микробное число и количество санитарно-показательных микроорганизмов, к которым относятся гемолитические стафилококки, α - и β - гемолитические стрептококки.* При необходимости, например, в хирургических стационарах, родильных домах дополнительно определяют наличие и количество синегнойной палочки и др. грамотрицательных условно-патогенных бактерий – возбудителей внутрибольничных инфекций.



Рис 5. Микрофлора воздуха

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

Бактериальную обсемененность и количество санитарно-показательных микроорганизмов определяют по их количественному содержанию в 1 м³ (1000 литров) воздуха.

В настоящее время существует много методов и устройств для отбора проб воздуха и их исследования.

Наиболее простыми и доступными для проведения санитарно-бактериологического исследования воздуха являются седиментационный и аспирационный методы.

Седиментационный метод Коха (Koch, 1881 г) основан на спонтанном оседании микроорганизмов под действием силы тяжести на поверхности питательной среды открытой чашки Петри.

Для определения общего микробного числа две чашки Петри со стерильным МПА оставляют открытыми в течение 10-30 мин. Затем их закрывают, надписывают и инкубируют в термостате при 37°C в течение 24 час. Затем посевы выдерживают 24 час при комнатной температуре для выявления плесневых грибов. Таким образом, через 48 ч подсчитывают суммарное количество колоний, выросших на чашках. Исходят из того, что за 5 мин на поверхность 100см² плотной среды оседают бактерии из 10 литров воздуха (Омелянский В.Л.).

Для выявления санитарно-показательных микроорганизмов используют специальные питательные среды: для стафилококков – желточно-солевой агар (экспозиция 15 мин), для гемолитических стафилококков и стрептококков – кровяной агар (экспозиция 10-15 мин), для грибов – среду Сабуро (посевы выдерживают 3-5- суток при 20-22 °С).

Аспирационный метод основан на ударном действии воздушной струи о поверхность питательной среды, на которую оседают микроорганизмы. Его проводят с использованием аппарата Кротова или его современных

модификаций (ПУ-1Б и др.), которые состоят из узла для отбора проб воздуха, микроманометра и электромотора (рис. 5,6). В аппарате Кротова узел для отбора проб вмонтирован в металлический корпус и имеет центробежный вентилятор, площадку с зажимами для установки чашки Петри, крышку из плексиглаза, в которой вырезана клиновидная щель для всасывания воздуха. На площадку устанавливают открытую чашку Петри с питательной средой, закрывают крышкой аппарата и включают мотор. Вращением центробежного вентилятора воздух засасывается через клиновидную щель и с силой ударяется о поверхность питательной среды, на которой оседают микроорганизмы, равномерно распределяясь по ней. Скорость вращения чашки Петри регулируется, что позволяет пропускать разный объем воздуха в минуту, который фиксируется микроманометром. По истечении заданного времени экспозиции выключают мотор, чашку Петри с посевом воздуха снимают, закрывают и ставят в термостат.



Рис.6.Аппарат Кротова для взятия проб воздуха



Рис.7.Устройство автоматического отбора проб воздуха – ПУ-1Б

Считают, что для определения общего микробного числа необходимо использовать МПА, скорость пропускания воздуха через аппарат 25л/мин с экспозицией 4 мин, что гарантирует оседание микроорганизмов из объема не менее 100 л воздуха. Для обнаружения золотистого стафилококка используют желточно-солевой агар, гемолитических стафилококков и стрептококков - 3-5% кровяной агар, а время экспозиции увеличивают до 10-15 мин, что обеспечивает посев бактерий из 250-300 л воздуха.

Посев воздуха проводят в две чашки Петри с МПА или желточно-солевым агаром и выращивают 48 час (24 час в термостате при 37°C, затем выдерживают 24 час при комнатной температуре). Чашки Петри с кровяным агаром инкубируют в термостате при 37°C 24 час. Подсчитывают количество выросших колоний и полученные данные пересчитывают на 1 м³ исследуемого воздуха.

Например, на одной чашке Петри при подсчете обнаружено 246 колоний, на второй – 254, т.е. в среднем $246+254= 250$ колоний. Аппарат вращал чашку Петри 2 мин со скоростью 25 л/мин. Всего было пропущено 50 л воздуха. Таким образом в 50 л воздуха содержится 250 микробов, в общее микробное число в пересчете на 1 м³ воздуха составляет $(250 \cdot 1000) : 50 = 5000$ бактерий.

Изучение качественного состава микрофлоры проводят по обычным методикам: из колоний делают мазки, окрашивают по Граму, выделяют чистую культуру, которую идентифицируют.

При исследовании атмосферного воздуха дополнительно определяют спорообразующие анаэробы. С этой целью делают посев воздуха в объеме 200-300 л на чашки Петри с железно-сульфитной средой, инкубируют в термостате при 37°C 24 час.

Для выявления плесневых грибов посев воздуха делают на среду Сабуро и культивируют 3-5 суток при 20-22 °C.

Допустимые уровни бактериальной загрязненности воздушной среды различных помещений лечебных учреждений и аптек представлены в табл. №1 и №2.

Таблица № 3. Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздуха помещений лечебных учреждений в зависимости от класса чистоты и их функционального назначения

Класс чистоты	Общее количество микроорганизмов в 1 м ³ воздуха (КОЕ)	Количество колоний <i>S. aureus</i> в 1 м ³ воздуха (КОЕ)	Количество плесневых и дрожжеподобных грибов 1 дм ³ воздуха (КОЕ)
Класс А (особо чистые)	Не более 200	Не должно быть	Не должно быть
Класс Б (чистые)	Не более 500	Не должно быть	Не должно быть
Класс В (условно-чистые)	Не более 750	Не должно быть	Не должно быть
Класс Г (грязные)	Не нормируется	Не нормируется	Не нормируется

Примечания: -класс А – операционные, родильные залы, асептические боксы, палаты для недоношенных детей;

- класс Б – процедурные, перевязочные, предоперационные, палаты и залы реанимации, детские палаты;

- класс В – палаты больных, смотровые, ординаторские, материальные, кладовые чистого белья;

-класс Г – коридоры, лестничные марши, санитарные комнаты, туалеты, комнаты для грязного белья и временного хранения отходов.

Таблица № 4. Допустимые уровни микробной обсемененности воздуха помещений аптек

Помещение	Условия работы	Общее количество колоний микроорганизмов в 1 м ³ воздуха	Количество золотистого стафилококка в 1 м ³ воздуха	Количество плесневых и дрожжеподобных грибов в 1 м ³ воздуха
Асептический блок, стерилизационная (чистая половина)	До работы	Не более 500	Не должно быть в 250 л	Не должно быть в 250 л
Ассистентская, фасовочная, дефектарная, материальная	До работы	Не более 1000	То же	То же
	После работы	Не более 750	То же	То же
	Во время работы	Не более 1000	То же	То же
Моечная	То же	Не более 1000	То же	То же
Зал обслуживания		Не более 1500	До 100	До 20

МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

Почва служит благоприятной средой для развития и накопления многих видов бактерий, грибов, вирусов, простейших и представляет собой трехфазную систему, включающую почвенный воздух, почвенную влагу, минеральные и органические вещества. Вода и вещества, растворенные в ней, образуют почвенный раствор, в котором развивается большая часть всех микроорганизмов. Представители почвенной микрофлоры обитают в водных и коллоидных пленках, обволакивающих почвенные частицы.

Растительные и животные остатки, попавшие в почву, служат источником мертвых органических веществ, необходимых для питания почвенных микроорганизмов. В ризосфере (прикорневой зоне) и ризоплане (на поверхности корней), где также обитают микробы, между ними и растениями формируются особые взаимоотношения. Ряд веществ, продуцируемых растениями, а также живая масса корней представляют собой хороший питательный субстрат.

Из минеральных веществ в почве присутствуют нитраты и нитриты, карбонаты, бикарбонаты, сульфаты, хлориды, соединения железа, алюминия, марганца и др. Почвенные микроорганизмы осуществляют важнейшую функцию – минерализацию сложных органических соединений, превращая их в формы, доступные для растений, и при этом очищая внешнюю среду от отходов, поступающих в результате жизнедеятельности животных и людей. Одновременно с разложением органических остатков микроорганизмы-автотрофы синтезируют органические соединения собственных клеток и таким образом создают в почве запасы витаминов, аминокислот и др., которые попадают в оборотный капитал природы после их гибели. В почве формируются сообщества (ценозы) с разнообразным видовым и количественным составом микроорганизмов. В богатых органикой почвах количество бактерий может достигать нескольких миллиардов в 1г. Значительно меньше в почве актиномицетов, Их в 1г не более 10 млн. Грибы представлены в различных почвах в количестве от нескольких сотен тысяч до

нескольких миллионов в 1г. Содержание простейших в том же объеме обычно не превышает нескольких тысяч. Наличие большого количества микроорганизмов в почве служит косвенным показателем ее плодородия. Наиболее заселенными являются черноземные, каштановые и сероземные почвы. Состав микрофлоры определяется климатическими, почвенно-географическими условиями и зависит от комплекса факторов – содержания источников питания, влажности, рН, аэрации, структуры почвы, способов обработки, взаимоотношений между микроорганизмами и др.

. Основную массу почвенных микроорганизмов составляют сапрофитные и лишь незначительное количество приходится на долю патогенных видов.

Санитарное состояние почвы оценивают на основании нескольких показателей:

1 – содержания общего количества микроорганизмов (общее микробное число),

2 - наличия санитарно-показательных микроорганизмов.

Для решения ряда агротехнических вопросов проводят определение общего количества микроорганизмов, участвующих в различных процессах превращения азота и углеродсодержащих веществ (аммонифицирующих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих и др.). Например, перед внесением пестицидов обязательно определяют видовой и количественный состав почвенной микрофлоры.

Для почвы санитарно-показательными организмами служат бактерии группы кишечной палочки (БГКП или колиформные), фекальные энтерококки, *Clostridium perfringens*, термофильные бактерии, *Proteus spp.*

Патогенные микроорганизмы выявляют в объектах внешней среды чаще всего для того, чтобы оценить эпидемиологическую ситуацию и принять необходимые меры для ликвидации источников инфекции. Следует отметить, что неспорообразующие микроорганизмы относительно быстро погибают во внешней среде, не находя там подходящих условий для жизнедеятельности. Однако даже кратковременное их пребывание может стать причиной ряда

инфекций. Так, возбудители брюшного тифа, лептоспироза и др., попадающие в почву с выделениями человека и животных, сохраняются в течение нескольких недель и даже месяцев. Шигеллы – возбудители бактериальной дизентерии не теряют патогенности, выживая в почве до 3-4 мес. Наибольшей устойчивостью во внешней среде обладают микроорганизмы, образующие споры, которые сохраняют жизнеспособность на протяжении десятилетий и даже столетий. Например, в зонах активного земледелия почву исследуют на содержание в ней спор возбудителей столбняка, чтобы провести своевременно профилактику лиц, работающих в земледелии.



Рис 8. Микрофлора почвы

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ

При изучении микрофлоры почвы необходимо принять во внимание то, что конечные количественные показатели в большей степени зависят от метода исследования. Так, при изучении микрофлоры методом прямого подсчета по Виноградскому результаты превышают фактическое содержание микроорганизмов. Это связано с тем, что при микроскопии окрашенных препаратов, приготовленных из разведений исследуемых почвенных проб, невозможно разграничить живые и убитые клетки микроорганизмов. Более реальную картину количества микроорганизмов демонстрирует метод количественного учета бактерий, выросших на мясопептонном агаре (МПА).

Отбор проб. Почвенные пробы в количестве от 100 до 200 г берут с одинаковой глубины (от 10 до 30 см) в 4-5 точках участка площадью 25 квадратных метров. Забор проб производят в стеклянные банки или в синтетические пакеты с помощью ножа, лопаты или совка. Из глубоких слоев почву берут буром. Если бура нет, то делают вертикальный надрез почвы до необходимой глубины и ножом или лопаткой берут несколько образцов с отвесной стороны разреза из нужного горизонта. Все приспособления и тара для почвенных образцов должны быть стерильными. Отобранные образцы почвы доставляют в лабораторию и проводят исследования. Анализ делают в тот же день. Допускается хранение почвы не дольше 24 ч в холодильнике при температуре 1 - 5° С.

Определение общего количества микроорганизмов в почве.

1. Метод учета на мясопептонном агаре.

Образцы почвы, доставленные в лабораторию, освобождают от крупных примесей – стекол, камней, корней и др. Крупные комочки почвы измельчают, затем образцы пропускают через сито с диаметром отверстий не более 3 мм., объединяют и из этой смеси берут навеску 10г.

Приготовленную навеску вносят в колбу с 90 мл стерильной дистиллированной воды и тщательно перемешивают взбалтыванием в течение 5-10 мин. Такая обработка необходима для того, чтобы извлечь микроорганизмы из комочков земли и с поверхности почвенных частиц. Полученную равномерную взвесь отстаивают 2 мин и затем готовят из нее ряд 10-кратных разведений, последовательно перенося стерильной пипеткой по 1 мл в пробирки с 9 мл стерильной дистиллированной воды. Схема последовательных разведений почвы представлена на рис. 1. При приготовлении разведений взвесь переносят в каждую последующую пробирку новой стерильной пипеткой. Таким образом, готовят разведения до 1:1000000 и более в зависимости от того, из каких почв были взяты пробы для исследования, и их предполагаемой заселенности микроорганизмами. Для посева используют не менее двух различных разведений (обычно используют два последних, максимальных). Из каждого выбранного разведения по 1 мл вносят в 2 стерильные чашки Петри (для получения средних показателей) и заливают 15-20 мл расплавленного и охлажденного до 45°C МПА. Осторожно передвигая чашки по поверхности стола, перемешивают агар с внесенными в него разведениями почвы. После застывания питательной среды чашки инкубируют в термостате при температуре 30-35°C в течение 24 - 48 ч. Количество микроорганизмов, содержащихся в 1г исследуемой почвы, определяют следующим образом. Подсчитывают количество колоний, выросших на каждой из двух чашек, суммируют полученные результаты и делят на 2, вычисляя среднеарифметический показатель, и умножают его на степень разведения. Для подсчета берут чашки, на которых выросло от 50 до 150 колоний. **Пример.** В чашках, засеянных почвенной суспензией, взятой из разведения 1: 10000, выросли в среднем 75 колоний. 75 умножаем на степень разведения - 10000 и получаем результат - 750000 бактерий. То есть такое количество микроорганизмов содержится в 1 г исследуемого образца почвы.

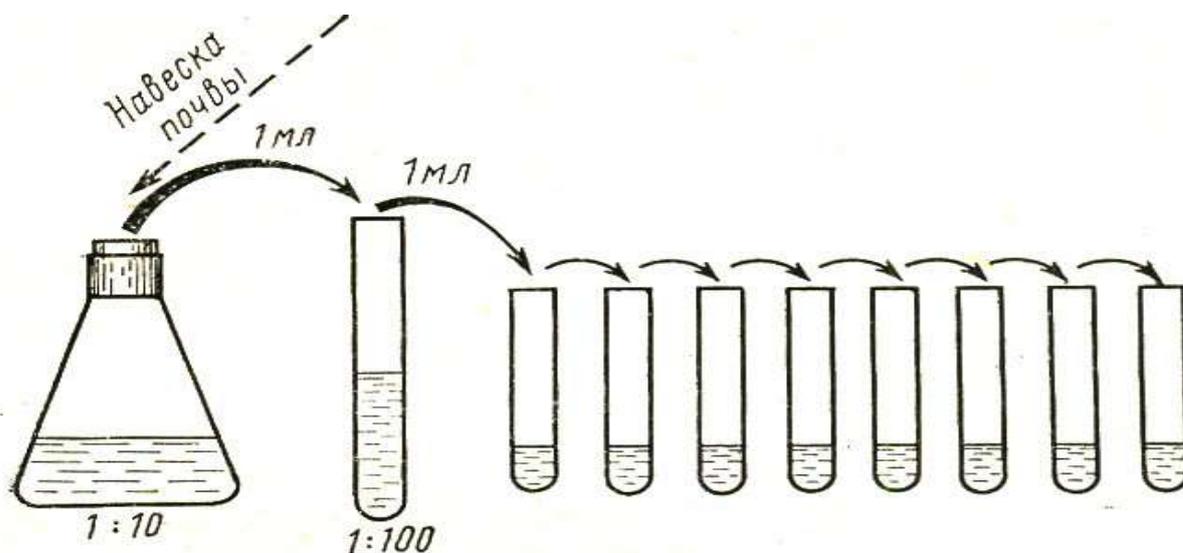


Рис. 9. Схема последовательных разведений почвы.

2. Метод прямого подсчета по Виноградскому

Исходное разведение почвы готовят так же, как и при использовании первого метода определения общего количества микроорганизмов. Для дальнейшей работы берут стерильной пипеткой суспензию из разведения 1:100 и наносят 0,01 мл на обезжиренное предметное стекло на площади в 4 см. Чтобы правильно распределить каплю по стеклу, под него подкладывают квадратик бумаги размером 2x2 см. Препарат высушивают, фиксируют на пламени горелки, окрашивают по Граму и микроскопируют, используя иммерсионный объектив. При просмотре препарата подсчитывают количество бактерий, находящихся в 100 полях зрения микроскопа или 100 квадратиков окулярной сетки. Вычисляют среднее количество бактерий в одном поле зрения и затем определяют содержание микроорганизмов в 1 г почвы.

Пример. Квадратик сетки имеет площадь 0,004 мм (край сетки = 0,02 мм), значит на 1 см он будет повторяться 25000 раз, а на всей площади препарата 100000 раз. В препарате было обнаружено, в среднем, 2 бактерии в одном квадратике. Тогда на препарате площадью 4 квадратных сантиметра будет 200000 бактерий (2x 100000).

Определение общего количества бактерий группы кишечной палочки - БГКП

1.Метод мембранных фильтров

Этот метод применяют для определения БГКП. Почвенную суспензию, приготовленную так же, как в предыдущем исследовании, (см. определение общего количества микроорганизмов в почве), разводят от 1:10 до 1:1000 при исследовании чистых почв и от 1:1000 до 1:1000000 – при изучении загрязненных почв. Затем 5 или 10 мл полученных разведений фильтруют через мембранные фильтры с диаметром пор не более 0,45 мкм в аппарате Зейтца. Фильтры помещают на среду Эндо, в состав которой входят мясопептонный агар, лактоза и индикатор и инкубируют в термостате при температуре 37° С в течение 24 ч. При наличии бактерий группы кишечной палочки на фильтрах появляется рост колоний темно-красного цвета с металлическим блеском. Из колоний готовят мазки, окрашивают их по Граму, и микроскопируют. БГКП имеют палочковидную форму и при окраске приобретают красный цвет (т.е. являются грамотрицательными). Затем с культурой грамотрицательных лактозоположительных бактерий ставят оксидазный тест, который позволяет дифференцировать представителей семейства *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonadaceae*. Для определения оксидазной активности часть исследуемой колонии переносят стерильной петлей на фильтровальную бумагу, пропитанную диметил -*n*-фенилендиамином и *α*-нафтолом. У микроорганизмов, продуцирующих оксидазу, цвет колонии становится сине-фиолетовым. Бактерии группы кишечной палочки являются оксидазоотрицательными и не изменяют своего цвета. Дополнительно проверяют способность исследуемой культуры ферментировать глюкозу и разлагать белки. Колонии, выросшие на фильтрах на среде Эндо, учитывают как БГКП, если они образованы грамотрицательными, оксидазонегативными палочками, ферментирующими глюкозу до кислоты и газа и не разлагающими белки.

Для определения общего количества БГКП в исследуемой почве, подсчитывают количество колоний, выросших на фильтре, через который был пропущен определенный объем разведения почвенной болтушки. Затем

вычисляют, сколько бактерий группы кишечной палочки содержится в одном миллилитре этого разведения. Общее количество БГКП подсчитывают, умножая показатель содержания этих микроорганизмов в 1 мл на соответствующее разведение. *Пример:* Было профильтровано 10 мл из разведения 1:10000. На фильтре выросло 20 колоний. Составляем пропорцию: В 10 мл - 20 бактерий, а в одном - x. Получаем результат : $X = (20 \times 1) : 10 = 2$ бактерий. Поскольку проба для фильтрования была отобрана из разведения 1:10000, умножаем 2 на 10000. Окончательный итог – в 1 г. почвы содержатся 20000 БГКП.

Интерактивные методы обучения

УЧЕБНЫЙ ПРОЕКТ: «Экология микроорганизмов: микрофлора воды, воздуха, почвы»

ВВЕДЕНИЯ: Микроорганизмы распространены повсюду. Они заселяют почву, воду, воздух, растения, организмы животных и людей-экологические среды обитания микробов.

Выделяют свободноживущие и паразитические микроорганизмы. Всюду, где есть хоть какие-то источники энергии, углерода, азота, кислорода и водорода (кирпичиков всего живого), обязательно встречаются микроорганизмы, различающиеся по своим физиологическим потребностям и занимающих свои экологические ниши. Титаническая роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе имеет исключительное значение для поддержания динамического равновесия биосферы.

РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ ВХОДЯЩЕГО В ПРОЕКТ: Иметь представления о данной теме.

ЦЕЛЬ ПРОЕКТА: В совершенствовании освоит экология микроорганизмов: микрофлоры воды, воздуха, почвы.

ОКОНЧАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ ПРОЕКТА: Презентация, защита.

ИСПОЛЬЗУЮЩИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДАННОГО ПРОЕКТА: преподаватели, студенты.

СОДЕРЖАНИЕ И ЗАДАЧИ ПРОЕКТА:

1. Сбор материала;
2. Методы исследования;
3. Санитарное бактериологическое исследования микрофлоры воды, воздуха, почвы;
4. Выводы.

АННОТАЦИЯ ПЕДАГОГА

Учебный предмет: «Микробиология, вирусология и иммунология»

УЧЕБНАЯ ТЕМА: «Экология микроорганизмов: микрофлора воды, воздуха, почвы»

УЧАСТНИКИ: студенты 2-го курса

ЦЕЛЬ ОБУЧЕНИЯ: научиться методом санитарно-бактериологическое
оцеки микрофлоры воды, воздуха, почвы

ЗАПЛАНИРОВАНИЯ УЧЕБНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ: после обучения
проекта, студенты имеют представление о экология микроорганизмов,
микрофлоры воды, воздуха, почвы и их рол в жизни человека.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЕКТА ПО ТИПОЛОГИЧЕСКИМ
ПРИЗНАКАМ :

- ✓ Информационность и соискательства
- ✓ Монопроект
- ✓ Групповой: выполняет 12-14 человек
- ✓ Срок выполнения – как в 25-занятии

СОДЕРЖАНИЕ И ЗАДАЧИ ПРОЕКТА

Для выполнения задачи проекта студенты группы разделяют на 5 маленьких
групп, в каждую группу раздают задачи, они после выполнения задачи в
установленном сроке их защищают

1. Сбор материала: пробы воды, воздуха, почвы;
2. Санитарно-бактериологическое методы исследования микрофлоры
воды, воздуха, почвы;
3. Выводы. Подготовить презентации;
4. Защита презентации.

СОСТАВЛЕНИЕ СХЕМЫ «РЫБИЙ СКЕЛЕТ» ПРИ ЭКОЛОГИЯ ВИКРООРГАНИЗМОВ: МИКРОФЛОРЫ ВОДЫ, ВОЗДУХА, ПОЧВЫ



Тесты

1. Санитарно-показательными микроорганизмами воздуха являются:
 - а. Стафилококки, гемолитические стрептококки
 - б. кишечная палочка
 - в. патогенные клостридии, столбняк
 - г. Герпесвирусы, аденовирусы

2. Забор проб воды для исследования производят с помощью:
 - а. Батометра
 - б. Аппарата Кротова
 - в. Фильтра Зейтца
 - г. Колбы Бунзена

3. Взаимовыгодным способом существования микроорганизмов является:
 - а) комменсализм;
 - б) мутуализм;
 - в) нейтрализм;
 - г) паразитизм;

4. Общее микробное число почвы это количество микроорганизмов в :
 - а. 1 г почвы
 - б. 1 литре почвенной «болтушки»
 - в. 1 кг почвы
 - г. 1 гектаре почвы

5. Санитарно-показательными микроорганизмами воды являются:
 - а. кишечная палочка
 - б. лептоспиры
 - в. стафилококки
 - г. вирусы гепатита А

6. О свежем фекальном загрязнении воды свидетельствует обнаружение в ней:
 - а. термотолерантных кишечных палочек (ТКП)
 - б. общих колиформных бактерий (ОКБ)
 - в. сальмонелл
 - г. шигелл

7. Для определения количества БГКП используют метод:
 - а. мембранных фильтров
 - б. серийных разведений
 - в. бумажных дисков
 - г. седиментационный

8. Для выявления колиформных бактерий используют питательные среды:
- а. Эндо
 - б. МПА
 - в. Китта-Тароцци
 - г. кровяной агар
9. Общее количества микроорганизмов в воздухе определяется методом:
- а. аспирационным
 - б. серийных разведений
 - в. мембранных фильтров
 - г. бродильных проб
10. Пробы воды после их взятия исследуют через:
- а. 24 часа.
 - б. не позднее 2-6 часов после забора
 - в. 48 часов
 - г. 72 часа
11. Назовите аппарат, с помощью которого проводят забор проб воздуха для исследования:
- а. аппарат Кротова
 - б. анаэростат
 - в. автоклав
 - г. батометр
12. Допустимое количество термотолерантных колиформных бактерий в 100 мл питьевой воды:
- а. полное отсутствие
 - б. 100
 - в. 500
 - г. 10
13. Общее микробное число для питьевой воды (в 1 мл) составляет:
- а. 50
 - б. 200
 - в. 100
 - г. 25
14. Состав микрофлоры почвы зависит от следующих факторов:
- а) типа почвы;
 - б) состава растительности;
 - в) температуры окружающей

среды;

г) относительной влажности;

15. Цели и задачи санитарной бактериологии заключаются:

а) в ранней и быстрой индикации бактериального загрязнения объектов окружающей среды;

б) в проведении мероприятий по снижению и предупреждению инфекционной заболеваемости;

в) в использовании чувствительных, унифицированных методов исследования для получения достоверных и показательных результатов исследования;

г) в изучении микрофлоры окружающей среды, участвующей в процессах самоочищения.

16. Принципы оценки гигиенического состояния объектов внешней среды по бактериологическим показателям заключаются:

а) в определении микробного числа;

б) в определении индекса санитарно-показательных микроорганизмов;

в) в выборе тестов в зависимости от поставленных задач;

г) в индикации патогенности микрофлоры.

17. Для оценки бактериального загрязнения почвы санитарно-показательными микроорганизмами служат:

а) БГКП;

б) гемолитические стрептококки;

в) термофильные бактерии;

г) стафилококки;

18. Для оценки бактериального загрязнения воздуха санитарно-показательными микроорганизмами служат:

а) гемолитические стрептококки;

б) БГКП;

в) клостридии;

г) термофильные бактерии;

19. Санитарно-показательными микроорганизмами при исследовании воздуха в закрытых помещениях являются:

а) зеленящие и гемолитические стрептококки;

б) клостридии;

в) синегнойная палочка;

г) энтерококки.

20. О фекальном загрязнении свидетельствует наличие:

а) бактерий рода *Proteus*;

б) *Streptococcus*;

- в) термофильных бактерий;
- г) *Staphylococcus aureus*.

21. При санитарно-вирусологическом исследовании в почве и сточной воде определяют наличие:

- а) респираторных вирусов;
- б) нейротропных вирусов;
- в) кишечных вирусов;
- г) вирусов иммунодефицита человека.

22. Коли-титром воды является:

- а) минимальное количество воды (мл), в котором обнаруживается *E.coli*;
- б) минимальное количество воды (мл), в котором обнаруживаются БГКП;
- в) минимальное количество воды (мл), в котором обнаруживаются *Enterococcus faecalis*;
- г) минимальное количество воды (мл), в котором обнаруживаются бактерии рода *Proteus*.

23. Коли-титр и коли-индекс определяют:

- а) методом титрования;
- б) методом флотации;
- в) седиментационным методом;
- г) аспирационным методом.

24. При основном санитарно-бактериологическом исследовании воды плавательных бассейнов учету подлежат:

- а) БГКП;
- б) энтерококки;
- в) золотистый стафилококк;
- г) синегнойная палочка;

25. К бактериологическим показателям, подлежащим учету при оценке качества питьевой воды, относятся:

- а) коли-индекс;
- б) общая обсемененность;
- в) наличие фекального загрязнения;
- г) золотистый стафилококк;

26. Укажите коли-индекс, свидетельствующий об эпидемической опасности при повторном исследовании питьевой воды:

- а) коли-индекс более 3;

- б) коли-индекс более 10;
- в) коли-индекс более 20;
- г) коли-индекс более 100.

27. При исследовании воды поверхностных водоисточников показателями фекального загрязнения являются следующие микроорганизмы:

- а) *E.coli*;
- б) *Streptococcus faecalis*;
- в) *Citrobacter freundii*;
- г) *Staphylococcus aureus*.

28. Наиболее стабильными индикаторными микроорганизмами, характеризующими антропогенное загрязнение морской воды, являются:

- а) энтерококки;
- б) вибрины;
- в) псевдомонады;
- г) аэромонады.

29. При исследовании воздуха на содержание *S.aureus*:

- а) для посева используют ЖСА;
- б) идентифицируют микроорганизм по наличию подвижности;
- в) идентифицируют микроорганизм по способности ферментировать маннит в аэробных и анаэробных условиях;
- г) для посева используют среду Китта-Тароцци.

30. Отбор проб с поверхностей осуществляют методом:

- а) смыва;
- б) седиментации;
- в) фильтрация.
- г) аспирацион

Аналитическая часть

Ситуационные задачи:

1. Дайте оценку, определив количество микробов в питьевой воде?

Ответ: В 1 мл воде количество микробов до 100 чистое, от 100 до 150 средней загрязненные, более 500 сильно загрязненные вода.

2. Как берется проба из питьевой воды?

Ответ: Перед взятием проб из водопровода кран протирают тампоном, смоченным спиртом, и обжигают, после чего 10-15 мин сливают застоявшуюся в трубах воду и только затем отбирают образец для исследования.

Анализ проводят сразу после взятия проб. При необходимости транспортировки воду сохраняют при температуре 1-5° С и анализируют не позднее чем через 2-6 ч с момента ее забора.

2. Как берется пробы из открытых водоемов?

Ответ: Из открытых водоемов пробы берут обычно с глубины 10-15 см от поверхности, а из мелководных водоисточников - на уровне 10-15 см от дна. Для взятия проб используют также специальный аппарат – батометр. Он состоит из металлического каркаса, в который вставляется бутылка для воды, закрываемая плотной пробкой с приспособлением для ее открывания. Этот аппарат укреплен на тросе, позволяющем опускать его на нужную глубину. Батометры часто используются при взятии глубинных проб воды из больших водоемов.

4. Определите количество микробов с помощью Седиментационный метод?

Ответ: Метод Коха основан на спонтанном оседании микроорганизмов под действием силы тяжести на поверхности питательной среды открытой чашки Петри. Для определения общего микробного числа две чашки Петри со стерильным МПА оставляют открытыми в течение 10-30 мин. Затем их закрывают, надписывают и инкубируют в термостате при 37°C в течение 24 час. Затем посеvy выдерживают 24 час при комнатной температуре для выявления плесневых грибов. Таким образом, через 48 ч подсчитывают суммарное количество колоний, выросших на чашках. Исходят из того, что за 5 мин на поверхность 100см² плотной среды оседают бактерии из 10 литров воздуха. Для выявления санитарно-показательных микроорганизмов используют специальные питательные среды: для стафилококков – желточно-солевой агар (экспозиция 15 мин), для гемолитических стафилококков и стрептококков – кровяной агар (экспозиция 10-15 мин), для грибов – среду Сабуро (посевы выдерживают 3-5- суток при 20-22 °С).

5. Техника отбор проб из почвы?

Ответ. Почвенные пробы в количестве от 100 до 200 г берут с одинаковой глубины (от 10 до 30см) в 4-5 точках участка площадью 25 квадратных метров. Забор проб производят в стеклянные банки или в синтетические пакеты с помощью ножа, лопаты или совка. Из глубоких слоев почву берут буром. Если бура нет, то делают вертикальный надрез почвы до необходимой глубины и ножом или лопаткой берут несколько образцов с отвесной стороны разреза из нужного горизонта. Все приспособления и тара для почвенных образцов должны быть стерильными. Отобранные образцы почвы доставляют в лабораторию и проводят исследования. Анализы делают в тот же день. Допускается хранение почвы не дольше 24 ч в холодильнике при температуре 1 - 5° С.

6. Какие инфекция передаются водным путем?

Ответ: Брюшной тиф, бактериальная и амебная дизентерия, холера, лептоспироз, полиомиелит, гепатиты А и Е и ряд других болезней

7. Что определяют для оценки санитарного состояния воздуха закрытых помещениях?

Ответ: Общее микробное число и количество санитарно-показательных микроорганизмов, к которым относятся гемолитические стафилококки, α - и β - гемолитические стрептококки. При необходимости, например, в хирургических стационарах, родильных домах дополнительно определяют наличие и количество синегнойной палочки и др. грамотрицательных условно-патогенных бактерий – возбудителей внутрибольничных инфекций.

Методы проверки знаний.

-устно;

-письменно;

-ситуационные задачи;

-демонстрация усвоенных практический знаний.

Контрольные вопросы

1. Назовите цели и задачи санитарной микробиологии

1. Какие микроорганизмы называются санитарно-показательными?

2. Дайте характеристику БГКП (бактерий группы кишечной палочки)

3. Наличие каких бактерий в воде свидетельствует о свежем фекальном загрязнении?

4. Какие показатели определяют при санитарно-микробиологическом исследовании воды?

5. Что такое «микробное число» и как его определяют?

6. Какой метод используют для выявления БГКП в воде?

7. Для каких целей используют методы Коха и Кротова?

8. Назовите санитарно-показательные микроорганизмы, по наличию которых в воздухе можно определить его загрязненность
9. В чем заключается аспирационный метод и с какой целью его используют?
10. На каких средах культивируют БГКП?
11. В каких помещениях проводятся обязательные исследования воздуха с целью выявления санитарно-показательных микроорганизмов

Использованная литература

1. Мухаммедов И.М., Закиров Н.А. и соавт. «Микробиология, иммунология ва вирусология». – Ташкент, 2003. - 89 с.
2. Поздеев О.К. Медицинская микробиология. Под ред. В.И. Покровского. - М., 2004.
3. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под редакцией М.О. Биргераю - Москва, 1982. - 320 с.
4. Тимаков В.Д., Девашев С., Борисов Л.Б. Микробиология. - Москва, 1989. - 513 с.
5. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований // Вестник РАМН. – 2005. - №3. – С. 48-55.
6. Руководство по лабораторным занятиям по микробиологии. Под редакцией Борисова Л.Б. М. 1984.
7. Тимаков В.Д., Левашов С., Борисов Л.Б. Микробиология М. 1983
8. Коротяев А.И. и др. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. 2002.г. Электрон дарслик.
9. Микробиология. Гусев М. В. М. 2001 327 мБ.
10. Лабинская А.С. Микробиология с микробиологическими исследованиями 2010 г. М.
11. Швиденко И.Г., Лунева И.О., Аронс Р.М., Томников А.Ю. Микрофлора человека и окружающей среды. Методы изучения. Саратовский государственный медицинский университет. - 16 стр. , 1994 г.