

# САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

# **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

- 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, выявляет в них патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные микробы.
- Обнаружение патогенных микробов в окружающей среде, продуктах питания и воде позволяет принять меры по борьбе и профилактике инфекционных заболеваний.

# ***ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ***

---

- Условно-патогенные микробы, попав в продукты питания, быстро размножаются с накоплением токсинов и вызывают пищевые отравления (пищевые токсикоинфекции). Основными источниками распространения возбудителей большинства инфекционных болезней, поражающих человечество, являются люди и теплокровные животные. Наиболее массивное выделение ими микроорганизмов в окружающую среду происходит воздушно-капельным и фекальным путями.
- Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды обязано решить вопрос о наличии или отсутствии в них опасных для человека микроорганизмов.

# ***ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ***

---

- Правила взятия проб для исследования, методы анализа, а также допустимые уровни микробиологического загрязнения объектов строго регламентируются нормативными актами - стандартами, санитарными правилами и нормами, методическими указаниями, другими официальными документами.
- Видовая идентификация выделенных из проб культур проводится достаточно редко. Обычно в санитарной микробиологии оперируют условными группами микробов, принадлежность к которым устанавливают по минимальному числу морфологических, культуральных и ферментативных признаков.

## ***ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО- ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ***

---

Для оценки санитарного состояния объектов окружающей среды определяют санитарно-показательные микроорганизмы, которые служат показателями загрязненности и потенциальной опасности исследуемых объектов.

# **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

**К санитарно-показательным микроорганизмам предъявляются следующие требования:**

- должны обитать только в организме людей или животных и постоянно выделяться в окружающую среду в больших количествах;
- не должны иметь других мест обитания;
- не должны размножаться вне организма человека или обитать в почве и воде;
- не должны изменять свои свойства;
- сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных;
- должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;
- методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными.

# **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

К основным санитарно-показательным микроорганизмам **ВОДЫ И ПОЧВЫ** относятся:

- бактерии группы кишечных палочек (БГКП)
- энтерококки (основная разновидность *E. faecalis*),
- протей,
- сальмонеллы,
- клостридии (*C. perfringens*),
- термофильные бактерии
- бактериофаги энтеробактерий (колифаги).

## **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

- В состав БГКП включены представители различных родов семейства Enterobacteriaceae: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*.
- К группе термофильных бактерий относятся неродственные бактерии, представители различных семейств, способных размножаться при температуре 60°C и выше (*Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus*).
- Бактерии, принадлежащие к роду *Proteus* (*P.vulgaris* и др.) широко распространены в природе и являются гнилостными. Они в большом количестве встречаются на разлагающихся останках животных и растений.

**ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И  
ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-  
ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

- Показателем биологического загрязнения **воздуха** помещений являются стрептококки и стафилококки.

## **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

- В практике санитарно-микробиологических исследований о микробной обсемененности судят по **микробному числу** – общему количеству микробов, содержащихся в единице объема или массы исследуемого объекта (1 мл воды, 1 г почвы, 1 м<sup>3</sup> воздуха).

## **ПРЕДМЕТ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ**

---

- Содержание санитарно-показательных бактерий оценивают по двум показателям – титру и индексу.
- За **титр** принимают тот минимальный объем или массу исследуемого материала, в которых обнаруживают 1 санитарно-показательный микроорганизм;
- **индекс** показывает количество санитарно-показательных бактерий, содержащихся в 1 л жидкости, 1 г плотных веществ, 1 м<sup>3</sup> воздуха.

# **МИКРОФЛОРА ВОДЫ**

---

**Санитарно-микробиологическое исследование воды** проводят с целью текущего надзора. т.е, в плановом порядке, а так же по специальным эпидемиологическим показаниям. Основными объектами такого исследования являются:

- \* Питьевая вода централизованного водоснабжения (водопроводная вода),
- \* Питьевая вода нецентрализованного водоснабжения,
- \* Вода поверхностных и подземных водоисточников,
- \* Сточные воды,
- \* Вода прибрежных зон морей,
- \* Вода плавательных бассейнов

# МИКРОФЛОРА ВОДЫ

---

- В водах пресных водоемов обнаруживаются различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады), кокковидные (микрококки), извитые.
- Микрофлора воды океанов и морей также представлена различными микроорганизмами в т.ч. светящимися и галофильными (солелюбивыми). Они поражают моллюсков, рыб, при употреблении которых в пищу развивается пищевая токсикоинфекция.
- Вода артезианских скважин практически не содержит микроорганизмов, т.к. последние задерживаются верхними слоями почвы.

# МИКРОФЛОРА ВОДЫ

---

Вместе с загрязненными ливневыми, талыми и сточными водами **в озера и реки** попадают:

- ▣ представители нормальной микрофлоры человека и животных (кишечная палочка, цитробактер, энтеробактер, энтерококки, клостридии)
- ▣ возбудители кишечных инфекций (брюшного тифа, паратифа, дизентерии, холеры, лептоспироза, энтеровирусных инфекций).

# МИКРОФЛОРА ВОДЫ

---

О свежем фекальном загрязнении свидетельствует:

- выявление термотолерантных колиформных бактерий, фекальных **кишечных палочек**, ферментирующих лактозу до кислоты и газа при температуре 44°C в течение 24 часов и не растущих на цитратной среде, а также выявление **энтерококка**.

# МИКРОФЛОРА ВОДЫ

---

Наличие бактерий родов **Citrobacter** и **Enterobacter** указывает на относительно давнее фекальное загрязнение

Присутствие **клостридий** свидетельствует о фекальном загрязнении о сроке которого трудно сказать однозначно (споры могут длительно сохраняться в окружающей среде).

Резкое увеличение содержания термофильных бактерий может свидетельствовать о загрязнении почвы разлагающимися отбросами, поскольку они размножаются в саморазогревающемся навозе и компостах.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ. ОТБОР ПРОБ.

- Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов. Для этой цели используют емкости объемом 500 мл. Горлышко этой посуды должно быть заткнуто силиконовой, резиновой пробкой, обернуто бумажным колпачком и обвязано суровой ниткой. К колпачку привязывают стерильную корковую пробку, завернутую в бумагу. Сосуд, в который предстоит собрать пробу хлорированной воды, должен содержать 2 мл 1,5% стерильного водного раствора гипосульфита (дехлоратора).
- На сосуд наклеивают этикетку с указанием номера пробы или же надписывают номер карандашом по стеклу. Для перевозки в лабораторию посуду с пробами устанавливают в ящики типа контейнера, где температура должна поддерживаться в пределах 1-5°. Во время перевозки пробы следует предохранять от резких толчков, опрокидывания и замачивания пробок. В лабораторию они должны быть доставлены через такой промежуток времени, который позволил бы посеять воду не позднее чем через 2 часа с момента ее отбора.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

## ▣ Определение микробного числа воды

Водопроводную воду засевают в объеме 1 мл,

Воду открытых водоемов – в объемах 1; 0,1 и 0,01 мл.

Все пробы вносят в стерильные чашки Петри, после чего их заливают 10-12 мл расплавленного и остуженного до 45-50°C питательного агара, который тщательно перемешивают с водой. Посевы инкубируют при 37°C в течение 1-2 суток. Воду из открытых водоемов засевают параллельно на две серии чашек, одну из которых инкубируют при 37°C в течение 1 сут, а другую – 2 сут при 20°C.

Затем подсчитывают количество выросших на поверхности и в глубине среды колоний и вычисляют микробное число воды - количество микроорганизмов в 1 мл.

**Нормативы питьевой воды (ГОСТ 2874-82) – МИКРОБНОЕ  
ЧИСЛО НЕ БОЛЕЕ 100 в 1 МЛ**

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

---

- **Определение коли-титра и коли-индекса воды**
- **Коли-титр воды** - это ее наименьшее количество, в котором обнаруживается одна бактерия группы кишечных палочек (БГКП)
- **Коли-индекс** - количество БГКП в 1 л исследуемой воды

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

Показателями фекального загрязнения воды являются **БГКП** (бактерии группы кишечной палочки), обладающие следующими свойствами: грамотрицательные, неспороносные, короткие палочки, дающие на среде Эндо рост темно-красных с металлическим блеском или без него, розовых с темным центром или же бесцветных прозрачных колоний и сбраживающие глюкозу при 43 - 45° в течение 24 часов с образованием кислоты и газа.

БГКП выявляют с целью определения коли-индекса и коли-титра воды с помощью:

- 1) **метода титрования** (бродильный метод);
- 2) **метода мембранных фильтров**

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

- ▣ **Метод титрования.** Производят посев различных объемов воды в глюкозо-пептонную среду Эйкмана (1% пептонная вода, 0,5% раствор глюкозы, 0,5% раствор хлорида натрия, индикатор Андрее и поплавков), причем для посевов больших количеств воды (100 и 10 мл) используют концентрированную среду, содержащую 10-ти кратные количества указанных веществ.
- ▣ Для исследования водопроводной воды делают посеvy трех объемов по 100 мл, трех объемов по 10 мл и трех объемов по 1 мл. Посевы инкубируют в течение 24 часов при 37°C. В случае положительного результата определяют помутнение среды, изменение цвета (с желтого на розовый), появление газа в поплавке. Из положительных проб делают посев на среду Эндо. Из выросших колоний делают мазки, окрашивают по методу Грама и ставят оксидазный тест, позволяющий дифференцировать бактерии родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* (БГКП) от оксидазоположительных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*. При постановке оксидазного теста оксидазоотрицательные микроорганизмы не изменяют цвет тестовых полосок, а оксидазоположительные меняют цвет тест-полоски на синий. Коли-титр и коли-индекс определяется с помощью статистической таблицы

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

---

- ▣ **Метод мембранных фильтров.** Мембранный фильтр № 3 помещают в воронку Зейтца, смонтированную в колбу Бунзена, которая присоединяется к вакуумному насосу. Мембранные фильтры предварительно стерилизуют кипячением в дистиллированной воде. Чистую воду открытого водоема фильтруют в объеме 100, 10, 1,0 и 0,1 мл, более загрязненную перед фильтрованием разводят стерильной водой

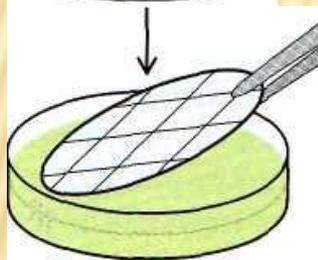
# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

- После окончания фильтрации фильтр стерильным пинцетом накладывают нижней стороной на поверхность среды Эндо в чашке Петри, избегая при этом образования пузырьков между средой и фильтром. После суточной инкубации при температуре 37°C подсчитывают количество колоний, выросших на мембранном фильтре типичных для БГКП. Из 2-3 колоний ярко-малинового цвета с характерным металлическим блеском готовят мазки, окрашивают по методу Грама и определяют оксидазную активность. БГКП представлены грамотрицательными одиночными палочками, не обладающими оксидазной активностью.

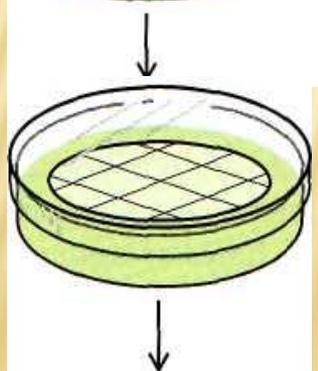
# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ



Стерилизация мембранного фильтра и фильтрация исследуемого образца воды через стерильный бактериальный фильтр

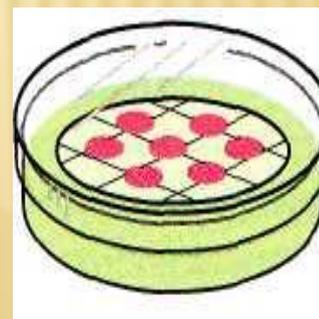


Наложение бактериального фильтра на поверхность среды Эндо



Инкубация 37°C в течение 24 ч

Подсчет ярко-малиновых колоний с характерным металлическим блеском, содержащих одиночные грам-, оксидаза- палочки



# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

- Подсчет коли-индекса и ко-титра методом мембранных фильтров:

Количество БГКП в 1 л воды (или количество выросших малиновых колоний на фильтре) определяют как коли-индекс. Коли-титр вычисляют делением 1000 на число, выражающее, коли-индекс ( $\text{коли-титр} = 1000 / \text{коли-индекс}$ ). Например, если коли-индекс равен 10, то коли-титр равен  $1000 : 10 = 100$  мл.

- Нормативы питьевой воды (ГОСТ 2874-82)**  
**МИКРОБНОЕ ЧИСЛО НЕ БОЛЕЕ 100 в 1 МЛ,**  
**Коли-индекс (число БГКП в 1 л воды - НЕ БОЛЕЕ 3**  
**Коли-титр) – не менее 333 МЛ.**

# МИКРОФЛОРА ВОЗДУХА

---

- Микрофлора воздуха представлена в основном кокками (стафилококки, стрептококки, сарцины), сапрофитными бактериями, грибами. В воздухе закрытых помещений накапливается микрофлора, выделяемая от человека (дыхательные пути). Патогенная микрофлора попадает в воздух при кашле, чихании (при акте чихания в воздух попадает  $10^4$ – $10^6$  микробных клеток). В виде аэрозолей в воздухе могут быть возбудители ОРЗ, гриппа, дифтерии, коклюша, туберкулеза, кори, легочной чумы и др. Бактерии в виде высушенных частиц размером от 1 до 100 мкм могут быть в пыли.

# **МИКРОФЛОРА ВОЗДУХА**

---

- Санитарно-показательными микроорганизмами воздуха больничных помещений являются  $\beta$ - и  $\alpha$ -гемолитические стафилококки и стрептококки. Они могут быть причиной гнойно-воспалительных заболеваний при попадании в открытую рану, поэтому в операционных, перевязочных, родовых залах, реанимационных палатах гноеродной микрофлоры не должно быть.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

- Санитарно-бактериологическое исследование воздуха проводится при помощи методов:
  - 1) **седиментационного** (естественная седиментация, метод Коха)
  - 2) **аспирационного** (принудительная седиментация, метод Кротова)

Включает **определение общего количества микробов в 1 м<sup>3</sup> и выявление патогенных гемолитических стафилококков и стрептококков.**

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

- ▣ **Метод седиментации (метод Коха).** Основан на оседании бактериальных частиц под влиянием силы тяжести на поверхности агара открытой чашки Петри.

Для проведения метода Коха две чашки Петри с питательным агаром оставляют открытыми в течение 60 минут, после чего посеы инкубируют в термостате при 37°C. Результаты оценивают по суммарному числу колоний, выросших на обеих чашках: при наличии менее 250 колоний воздух считается чистым, 250-500 колоний свидетельствует о загрязнении средней степени, при количестве колонии более 500 – загрязненным. Для обнаружения определенных видов микроорганизмов могут быть использованы специальные питательные среды: кровяной агар (гемолитические стафилококки и стрептококки), ЖСА (золотистый стафилококк). Однако метод оседания не дает полного количественного представления о микрофлоре воздуха, так как на открытых чашках плохо улавливаются тонкодисперсные фракции бактериальных капель и пылевых частиц. Поэтому метод оседания может быть использован в тех случаях, когда отсутствуют другие, более совершенные приборы и методы

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

- **Аспирационный метод** основан на ударном действии воздушной струи о поверхность питательной среды. Это более точный количественный метод определения микробного числа воздуха. Для исследования воздуха этим методом применяют аспирационный прибор Кротова. Аппарат Кротова устроен таким образом, что воздух с заданной скоростью засасывается через узкую щель плекигласовой пластины, закрывающей чашку Петри с питательным агаром. Воздух в количестве 50—100 л пропускают со скоростью 25 л в минуту над открытой чашкой с мясо-пептонным агаром или со специальной средой. Вращение столика с чашкой Петри обеспечивает равномерное распределение микроорганизмов по всей поверхности питательной среды. К концу заданного времени чашку с посевом воздуха снимают, закрывают ее и помещают в термостат.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА

- После инкубации посева в термостате проводят расчет микробного числа по формуле:

$ОМЧ = A \times 1000/V$ , где  $A$  – количество выросших колоний на чашке,  $V$  – объем пропущенного через прибор воздуха, л, 1000 – стандартный объем воздуха в литрах.

Допустим, на чашке при подсчете обнаружено 250 колоний, воздух пропускали 2 минуты со скоростью 25 л в минуту. Всего было пропущено 50 л воздуха.  $ОМЧ = 250 \times 1000/50 = 5000$  (дм<sup>3</sup>)

# МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

---

- Почва заселена разнообразными микробами, которые участвуют в процессах почвообразования и самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и т.д. Численность бактерий в почве 10 миллиардов клеток в 1 г. На поверхности почвы микроорганизмов относительно мало, т.к. на них губительно действуют УФ - лучи и высушивание. Наибольшее число микроорганизмов содержится в верхнем слое почвы толщиной до 10 см. По мере углубления в почву количество микроорганизмов уменьшается, и на глубине 3-4 м они практически отсутствуют.

# МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

---

- В почве живут **азотфиксирующие бактерии**, способные усваивать молекулярный азот (**азотобактерии, микобактерии и азотфиксирующие**). Разновидности цианобактерий или сине-зеленых водорослей применяют для повышения плодородности рисовых полей.
- **Непатогенные спорообразующие бациллы** (*B. megaterium*, *B. subtilis*) наряду с псевдомонадами, протеем и некоторыми другими являются аммонифицирующими, составляют группу гнилостных бактерий, которые осуществляют минерализацию органических веществ.
- **Патогенные спорообразующие палочки** (возбудители сибирской язвы, ботулизма, столбняка, газовой гангрены) способны длительно сохраняться и даже размножаться в почве
- В почве находятся также многочисленные **грибы и простейшие**

# МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

---

- Кишечные бактерии (кишечная палочка, возбудители брюшного тифа, сальмонеллез, дизентерии) могут попадать в почву с фекалиями, однако здесь отсутствуют условия для их размножения и они постепенно отмирают. В чистых почвах **кишечная палочка и протей** встречаются редко, обнаружение этих бактерий является **показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных** и свидетельствует об ее санитарно-эпидемиологическом неблагополучии в плане передачи возбудителей кишечных инфекций.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ. ОТБОР ПОЧВЫ.

- Почву берут на глубине 10-15 см стерильным ножом (из разных мест исследуемой территории не менее 10 проб) по принципу почтового конверта и помещают в стерильную банку. Из проб готовят навеску (30 г), которую вносят в колбу с водой (270 мл) и тщательно встряхивают. Из полученной суспензии готовят разведения  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Из двух последних разведений берут по 0,1 мл и смешивают с 4,0 мл 0,7% расплавленного и остуженного до  $45^{\circ}\text{C}$  питательного агара, после чего выливают вторым слоем в чашки Петри с 2% питательным агаром. Посевы инкубируют при  $37^{\circ}\text{C}$ , затем подсчитывают количество выросших колоний и определяют микробное число.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ

- ❑ **Определение общего числа бактерий.** Из каждой пробы почвы должно быть использовано для посева не менее двух различных разведений в зависимости от степени предполагаемого загрязнения исследуемой почвы. Перед посевом каждое разведение в пробирках тщательно перемешивают стерильной пипеткой, после чего из него отбирают 1 мл суспензии и переносят на дно стерильной чашки Петри под слегка приподнятую крышку.
- ❑ Из каждого разведения должен быть сделан одновременно посев минимум в 2 чашки. После посева в каждую чашку вливают 15 мл предварительно расплавленного и остуженного до 45° питательного агара. Расплавленный агар в чашках Петри хорошо перемешивают с имеющейся в них взвесью почвы, осторожно наклоняя чашку во все стороны для равномерного распределения питательной среды по дну чашки Петри, последнюю ставят на горизонтальную поверхность до застывания агара. На крышке чашки отмечают номер пробы и разведение.
- ❑ После застывания агара, чашки с посевом в перевернутом виде (крышкой вниз) помещают на 48 часов в термостат, настроенный на 28-30°C. Если выращивание производят при более низкой температуре, например 22°C, срок инкубации должен быть увеличен до 72 часов. После инкубации посевов подсчитывают количество выросших колоний. Для подсчета бактерий необходимо брать такие разведения, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Если на чашках выросло больше 150 колоний и нет других разведений, допускается подсчет колоний на 1/4 чашки с пересчетом на всю ее площадь. Из суммы колоний, выросших на 2 чашках, выводят среднеарифметическое число и затем пересчитывают число колоний на 1 г почвы.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ

- **Определение коли-титра, перфрингенс-титра.**  
Различные разведения почвенной суспензии засевают по 1 мл в пробирки со средой Кесслера (1% пептон, 5% желчь, 0,25% лактоза, генциан виолет для подавления грамположительной флоры) и инкубируют при 43°C в течение 48 часов. В дальнейшем анализ проводят по схеме, применяемой при определении коли-титра воды. Для определения перфрингенс-титра различные разведения почвенной суспензии засевают в пробирки со стерильным обезжиренным молоком или железосульфитный агар (среда Вильсона—Блера). Посевы инкубируют при 43°C в течение 24-48 ч, после чего учитывают результаты по свертыванию молока или по образованию черных колоний *S. perfringens* в агаровом столбике среды Вильсона-Блера. Из колоний делают мазки, окрашивают по Граму и вычисляют перфрингенс-титр.

# САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧВЫ

---

## ▣ Определение титра термофильных бактерий почвы

Для определения титра термофильных бактерий разведения почвенной суспензии по 1 мл вносят в чашки Петри, заливают расплавленным и охлажденным питательным агаром. Посевы инкубируют в течение суток при 60°C, а затем подсчитывают количество выросших колоний и пересчитывают на 1 г почвы.

# Основные микробиологические показатели состояния почвы

Характеристика почвы	Коли-титр	Перфрингенс-титр	Количество термофильных бактерий в 1 г почвы
Чистая	1,0 и выше	0,01 и выше	$10^2$ - $10^3$
Загрязненная	0,9-0,01	0,009-0,0001	От $10^3$ до $10^5$
Сильно загрязненная	0,009 и ниже	0,00009 и ниже	От $10^5$ до $4 \times 10^6$

## Основные источники:

1. ГОСТ Р 51705-2001. Управление качеством пищевых продуктов на основе принципов ХАССП.
2. ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов».
3. ГОСТ 10444.12-88 «Продукты пищевые. Методы определения дрожжей и плесневых грибов».
4. ГОСТ 10444.2-94 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus*».
5. ГОСТ 30518-97 (ГОСТ Р 50474-93) «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформенных бактерий)».
6. ГОСТ 30519-97 (ГОСТ Р 50480-93) «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий рода *Salmonella*».
7. ГОСТ 10444.8-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*».
8. ГОСТ Р 51921-2002 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*».
9. ГОСТ 30726-2001 «Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli*».
10. ГОСТ 29185-91 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения сульфитредуцирующих клостридий».
11. МУК 4.2.590-96 Методические указания «Бактериологические исследования с использованием экспресс-анализатора «БАК-Трак 4100».
12. МУК 4.2.590-96. МУК 4.2.1078-01. Методические указания. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды.
13. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов.
14. СанПиН 2.1.4.1074-01. «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству питьевой воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества».