

Санитарная микробиология

– наука, которая изучает
микрофлору окружающей среды
и ее **вредное** влияние на
организм человека.

Основные задачи санитарной микробиологии

- Гигиеническая и эпидемиологическая оценка объектов внешней среды по микробиологическим показателям
- Разработка нормативов, определяющих соответствие микрофлоры исследуемых объектов гигиеническим требованиям

- Разработка и экспертиза методов микробиологических и вирусологических исследований разнообразных объектов внешней среды с целью оценки их санитарно-гигиенического состояния
- Разработка рекомендаций по оздоровлению объектов внешней среды путем воздействия на их микрофлору и оценка эффективности проводимых мероприятий

- Изучение закономерностей жизнедеятельности микрофлоры окружающей среды как в самой экосистеме, так и во взаимодействии с человеком

- При этом **главная задача** санитарной микробиологии – раннее обнаружение патогенных микробов во внешней среде
- **Объектами** санитарно-микробиологического исследования служат вода, воздух, почва, объекты окружающей среды, а также пищевые продукты, оборудование пищеблоков и др.

Структура санитарной службы республики Беларусь

- Главный государственный санитарный врач Республики Беларусь
- отдел гигиены, эпидемиологии и профилактики Министерства здравоохранения Республики Беларусь
- Республиканский, областные, районные центры гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья

Требования к санитарно-показательным микробам

- СПМО – санитарно-показательные микроорганизмы – такие микробы, которые постоянно обитают в естественных полостях тела человека (животных) и постоянно выделяются во внешнюю среду.
- СПМО не должны размножаться во внешней среде.

- Длительность выживания и устойчивость СПМО во внешней среде должна быть не меньше или даже выше, чем у патогенных микроорганизмов.
- Отсутствие «двойников», с которыми СПМО можно перепутать.
- Относительно низкая изменчивость во внешней среде.
- Наличие простых в исполнении и вместе с тем надежных методов индикации.

Общая характеристика санитарно-показательных микроорганизмов

- К I группе – индикаторам фекального загрязнения относятся представители микрофлоры кишечника человека и ЖИВОТНЫХ:
 1. БГКП – бактерии группы кишечных палочек (роды *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*)

2. Энтерококк
3. Протей
4. Сульфитредуцирующие клостридии
5. Термофилы, кишечные бактериофаги, сальмонеллы
6. Бактероиды, бифидо- и лактобактерии
7. Синегнойная палочка
8. Грибы рода *Candida*
9. Ацинетобактер

- II группа – индикаторы воздушно-капельного загрязнения – комменсалы верхних дыхательных путей
 1. Стрептококки (гемолитический и зеленящий)
 2. Патогенные стафилококки

- III группа – индикаторы процессов самоочищения – обитатели внешней среды
 1. Аммонификаторы и нитрификаторы
 2. Аэромонасы
 3. Споровые микроорганизмы
 4. Грибы и актиномицеты

- Микробиологическое исследование воздуха предусматривает определение общего содержания микроорганизмов, а также стафилококков в 1 м^3 воздуха.
- В отдельных случаях проводят исследование воздуха на грамотрицательные бактерии, плесневые и дрожжеподобные грибы.
- Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с использованием аппарата Кротова. Вполне допустимо использование седиментационного метода Коха.

- Исследованию подлежат:
операционные блоки, перевязочные и процедурные кабинеты, асептические палаты (боксы), палаты отделения анестезиологии и реанимации, палаты и коридоры лечебных учреждений, помещения аптек, стерилизационных и акушерско-гинекологических отделений и станций переливания крови.

Общее микробное число воздуха

Помещения	Общее кол-во микробов в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний S.aureus в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний грибов в 1м ³ воздуха	
	Класс ЧИСТОТЫ	до работы	во время работы	до работы	во время работы	до работы
1 класс Операционные для трансплантации и высокотехнологич. Хирургических операций	Не более 10	Не более 50	нет	нет	нет	нет

Помещения	Общее кол-во микробов в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний S.aureus в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний грибов в 1м ³ воздуха			
	Класс	ЧИСТОТЫ	до работы	во время работы	до работы	во время работы	до работы	во время работы
2 класс Др. операционные, асептич. палаты для пациентов с ИД, с ожогами; стерильные зоны в оперблоке и стерилизационном отделении	Не более 200	Не более 500	нет	нет	нет	нет	нет	нет

Помещения	Общее кол-во микробов в 1 м ³ воздуха		Кол-во колоний S.aureus в 1 м ³ воздуха		Кол-во колоний грибов в 1 м ³ воздуха	
	до работы	во время работы	до работы	во время работы	до работы	во время работы
3 класс Предоперационные, наркозные, родильные залы, перевязочные, процедурные, прививочные каб., хирургические каб., залы реанимации, палаты для новорожденных	Не более 500	Не более 750	нет	нет	нет	нет

Помещения	Общее кол-во микробов в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний S.aureus в 1м ³ воздуха		Кол-во колоний грибов в 1м ³ воздуха	
	до работы	во время работы	до работы	во время работы	до работы	во время работы
4 класс Палаты в хирургии, палаты родильниц с новорожденными, коридоры, примыкающие к операционным и смотровым, смотровые, помещение для чистого белья	Не более 750	Не более 1000	нет	Не более 2	нет	нет

- Исследование воздуха методом Коха используют в исключительно редких случаях для ориентировочной оценки степени микробного загрязнения воздуха.
- Для определения микробного числа в воздухе операционных до начала работы открывают чашки с питательным агаром и устанавливают их на высоте операционного стола.

- Одну чашку помещают в центр и четыре в углах помещения («метод конверта») на 10 мин (для выявления золотистого стафилококка чашки с ЖСА устанавливают на 40 мин).
- Посевы инкубируют в термостате при температуре 37°C и сутки при комнатной температуре, затем подсчитывают количество выросших колоний.

- При этом исходят из классической формулы В.Л. Омелянского – на 100 см^2 поверхности питательной среды за 5 мин экспозиции оседает такое количество бактерий, которое содержится в 10 л воздуха.
- При этом на чашках с питательным агаром не должно вырастать более 5 колоний микроорганизмов, а на ЖСА золотистый стафилококк обнаруживаться не должен.

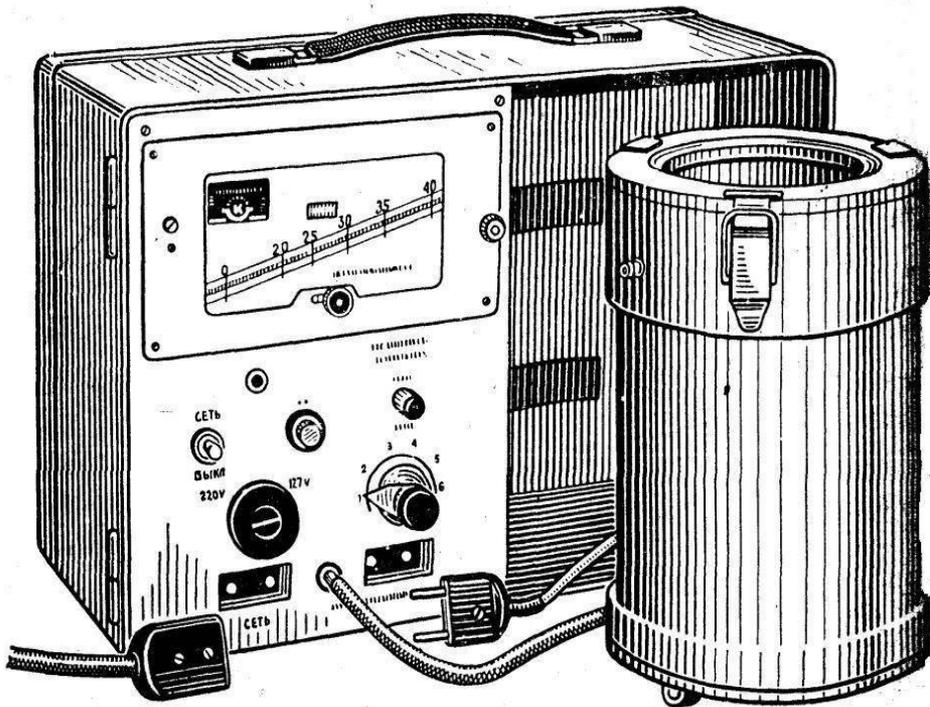


Рис. 44. Аппарат Кротова для бактериологического исследования воздуха.

microbiology.ucoz.org

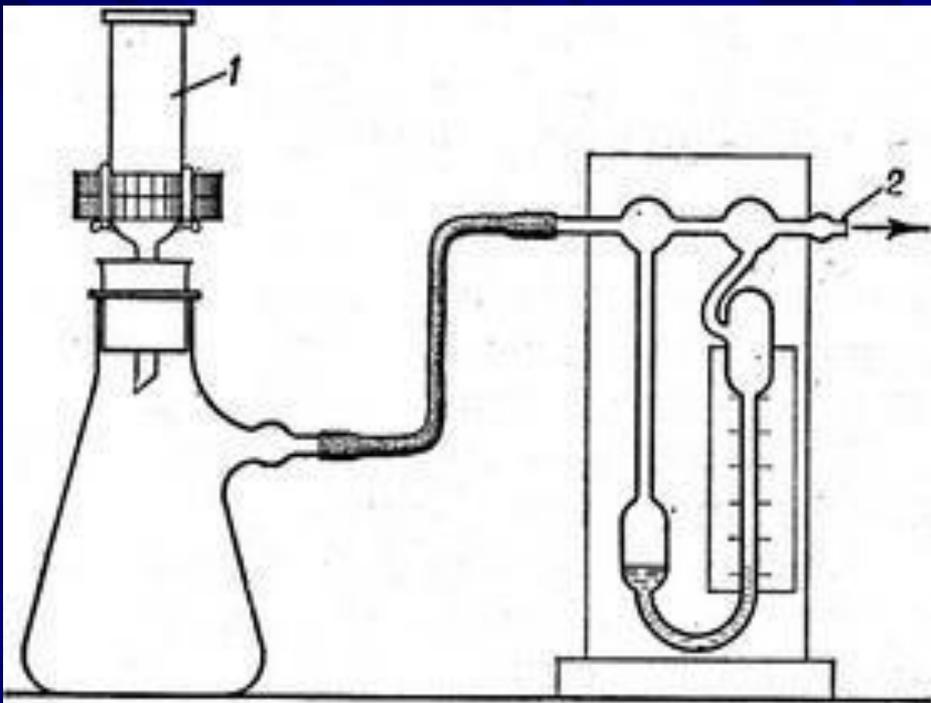


Рис. 2. Прибор Милявской: 1 — воронка Зейтца; 2 — трубка к аспиратору.



Санитарно- бактериологическое исследование воды

- Вода может быть фактором распространения таких инфекционных заболеваний как холера, брюшной тиф, паратифы, дизентерия, гепатит А, полиомиелит, лептоспироз, сибирская язва, туляремия, туберкулез, Q-лихорадка, грибковые заболевания.

- В основном вода загрязняется через сточные воды.
- Непосредственное определение в воде патогенных микробов очень трудоемко, поэтому сначала определяют наличие СПМ, а затем определяют патогенных возбудителей.

Классификация воды по назначению

- Питьевая вода
- Вода хозяйственного назначения
- Сточные воды

Исследованию подлежит вода:
централизованного водоснабжения,
колодцев, скважин, открытых водоемов,
бассейнов, сточные воды

- Санитарно-показательными микробами для воды считают бактерии группы кишечной палочки – *колиформные бактерии*. Под этим общим названием объединяют бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*.

- Это грамотрицательные, не образующие спор и не обладающие оксидазной активностью палочки, ферментирующие глюкозу и лактозу и маннит до кислоты и газа при 37°C в течение 24 часов. Данные бактерии выделяются во внешнюю среду с испражнениями человека и теплокровных организмов.

- Среди колиформных микроорганизмов выделяют группу *термотолерантных бактерий*, которые ферментируют лактозу при 44° С в течение 24 ч. Эти бактерии являются показателями свежего фекального загрязнения.

Санитарные показатели воды

- *Общее микробное число* – количество мезофильных хемоорганотрофных бактерий в 1 мл воды, способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37°C в течение 24 часов. Согласно санитарных правил и норм оно не должно превышать для питьевой воды 50 колониобразующих единиц (КОЕ) бактерий в 1 см³ воды.

- *Термотолерантные колиформные бактерии* – оценивается число термотолерантных колиформных бактерий в 100 см³ воды, по нормативам в 300 мл исследованной воды они должны отсутствовать.
- *Общие колиформные бактерии* – оценивается число общих колиформных бактерий в 100 см³ воды, по нормативам в 300 мл исследованной воды они также должны отсутствовать.

- Это основные показатели, которые определяют при микробиологическом контроле качества питьевой воды. По эпидемиологическим показаниям и при производственном контроле качества питьевой воды оценивают также количество *колифагов*, которые являются косвенными показателями присутствия в воде энтеровирусов, *спор сульфитредуцирующих клостридий* (*C. perfringens*), *цист лямблий* (все они в норме в исследуемой питьевой воде не должны быть обнаружены).

- Пробы воды для бактериологического исследования отбирают в стерильную посуду, после наполнения емкость закрывают стерильной пробкой, обеспечивающей герметичность. Пробу воды отбирают непосредственно из крана без резиновых шлангов, водораспределительных сеток и других насадок.

- Объем воды зависит от того, какие микроорганизмы должны быть определены:
 - при анализе воды на индикаторные микроорганизмы – не менее 500 см³;
 - при анализе воды на индикаторные и патогенные микроорганизмы (сальмонеллы, шигеллы) – 300 см³.

- Отобранную пробу маркируют, прикрепляют этикетки к емкости, составляется акт об отборе проб воды с указанием расположением и наименованием места отбора проб, даты отбора, метода отбора, времени отбора, климатических условий окружающей среды при отборе проб, температуре воды, должности и фамилии исполнителя.

- В лабораторию пробы питьевой воды доставляют в контейнерах-холодильниках при температуре 4°C . Время начала исследований от момента отбора проб не должно превышать 6 часов, если пробы нельзя охладить, то их анализ проводят в течение 2 часов после забора пробы.

Определение общего числа микроорганизмов, образующих колонии на питательном агаре

- Из каждой пробы производят посев не менее двух объемов по 1 мл, которые вносят в стерильные чашки Петри и прибавляют в каждую чашку по 8-12 мл расплавленного и остуженного до 45⁰С питательного агара.

- Содержимое чашек быстро и равномерно смешивают, избегая образования пузырьков воздуха и попадания агара на края и крышку чашки. Чашки с застывшим агаром инкубируют; учитывают только те из них, на которых выросли не более 300 изолированных колоний. Результат выражают числом КОЕ в 1 мл исследуемой пробы воды.
- Термотолерантные и общие колиформные бактерии оценивают методом мембранной фильтрации или титрационным методом.

Метод мембранной фильтрации

- Берут объем воды равный 300 мл и фильтруют по 100 мл через разные стерильные нитроцеллюлозные фильтры (используются микрофильтрационные установки с диаметром фильтрующей поверхности 35 или 47 мм и вакуумным насосом для создания разрежения 0,5-1 атм), которые затем накладывают на поверхность дифференциальной диагностической среды Эндо.

- Подсчитывают количество красных лактозоположительных колоний на среде Эндо, готовят из колоний мазки, окрашивают по Граму в поисках грамотрицательных палочек, определяют оксидазный тест, который должен быть у энтеробактерий отрицательным.

**САНИТАРНО-ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ВОДЫ**

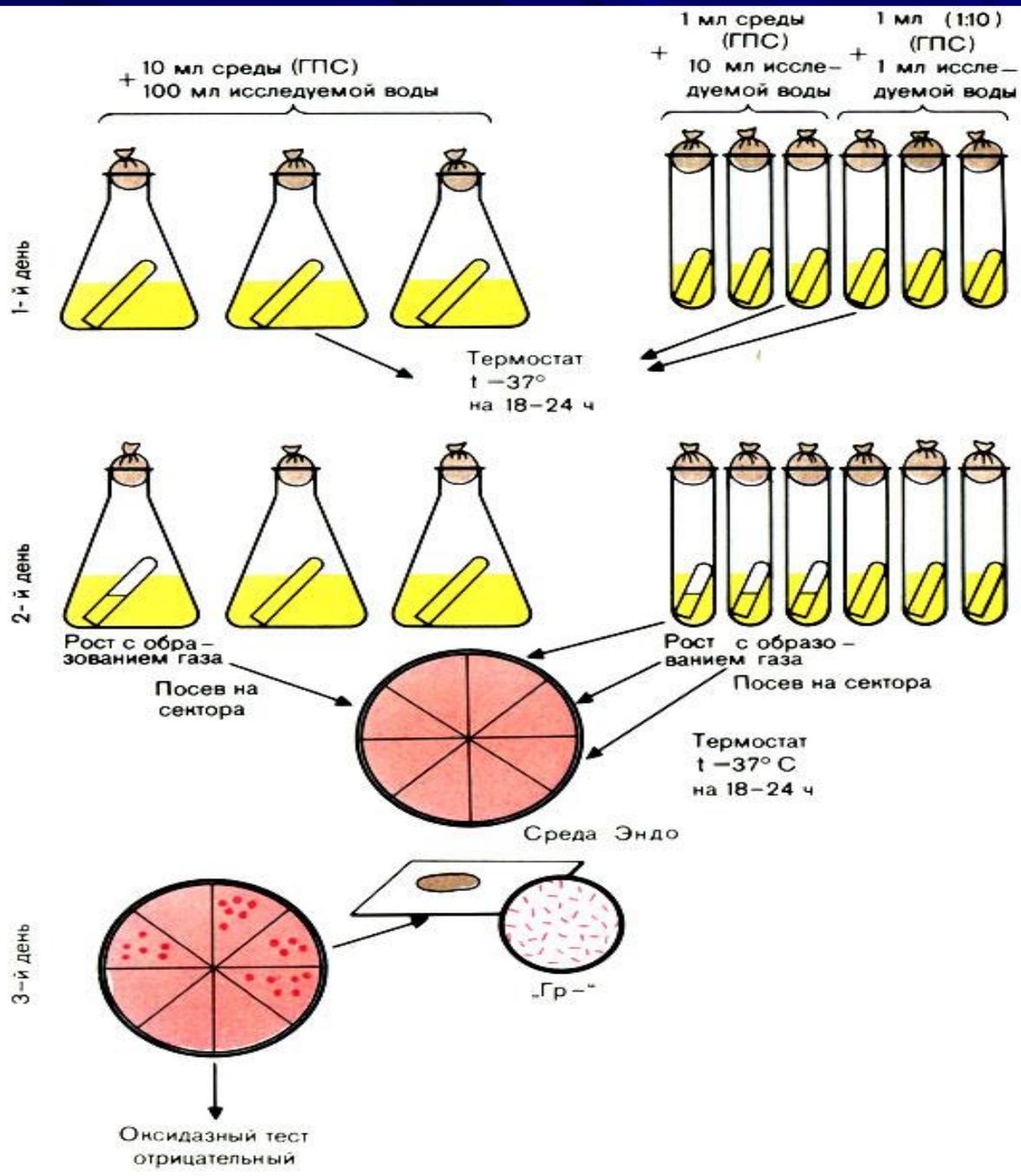


- Затем пересевают колонии с грамотрицательными палочками и отрицательным оксидазным тестом на полужидкую среду с лактозой (маннитом, глюкозой) и инкубируют в термостате при 37°C в течение 24 часов для определения количества общих колиформных бактерий. Для определения термотолерантных колиформных бактерий посев производят в среду, подогретую до 44°C, и инкубируют в термостате при 44°C в течение 24 часов.

- Колонии учитывают как общие колиформные бактерии при отрицательном оксидазном тесте, ферментации лактозы или маннита (глюкозы) при 37°C с образованием кислоты и газа.
- Колонии учитывают как термотолерантные колиформные бактерии при отрицательном оксидазном тесте и ферментации лактозы или маннита (глюкозы) при 44°C с образованием кислоты и газа.

Титрационный метод

- Его обычно используют для качественной оценки питьевой воды при невозможности применения метода мембранной фильтрации или при наличии в воде большого количества взвешенных веществ.

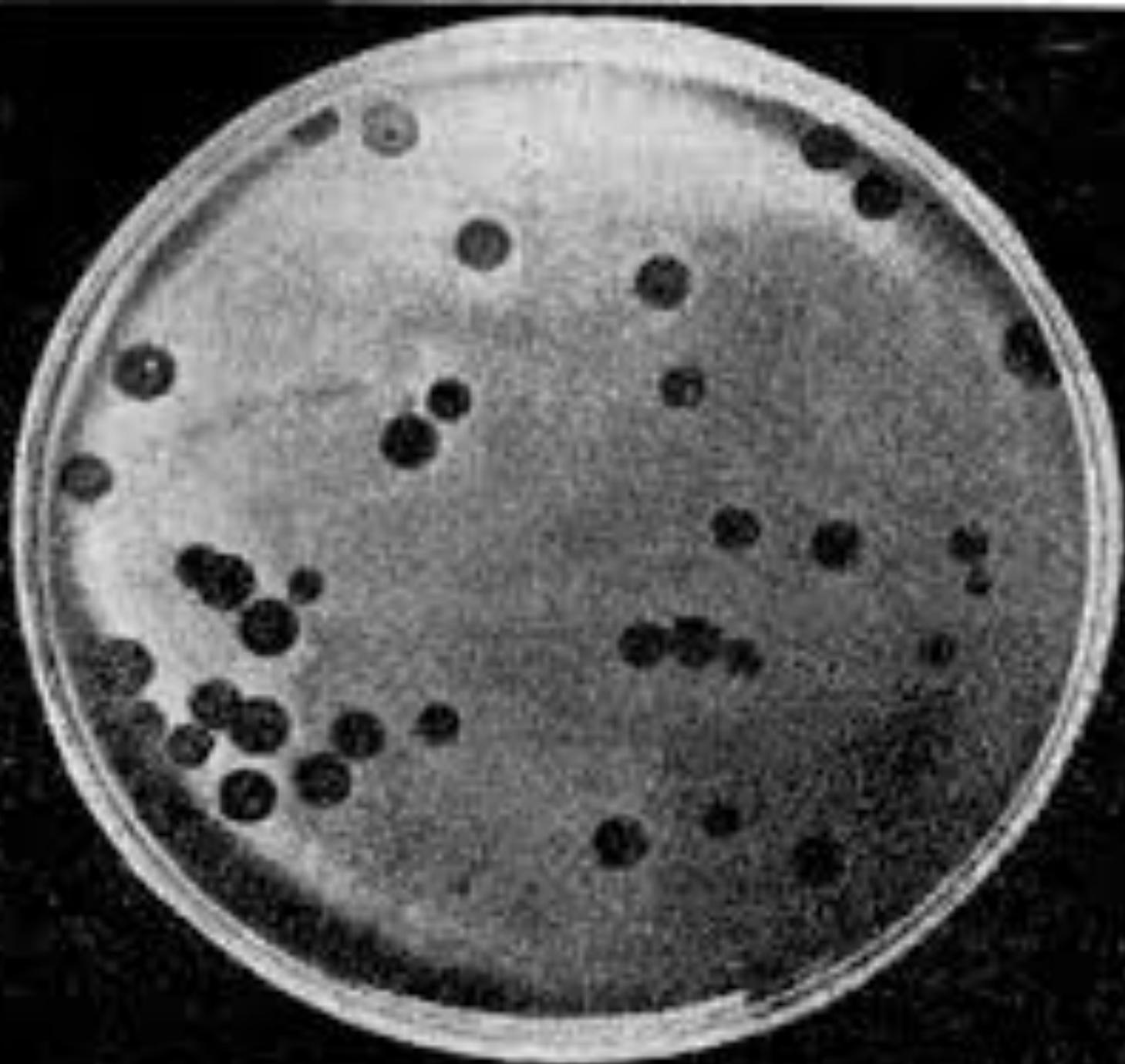


Питьевая вода не соответствует ГОСТУ

- **Определение спор сульфитредуцирующих клостридий** методом мембранной фильтрации. Сульфитредуцирующие клостридии (в основном это *Clostridium perfringens*) – палочки, грамположительные, строгие анаэробы, имеющие спору и редуцирующие сульфит натрия при температуре 44⁰С в течение 24 часов на железо-сульфитном агаре.

- **Определение колифагов**

производят титрационным и прямым методами. Колифаги способны лизировать *E. coli* (используется эталонная тест-культура *E. coli* K12 StrR) при температуре 37⁰С и образовывать через 18-20 часов на питательном агаре зоны лизиса.



- **Санитарно–
бактериологическое
исследование почвы**
включает *определение
микробного числа и
содержания санитарно-
показательных
микроорганизмов* **ПОЧВЫ.**

Исследование смывов с рук и предметов окружающей среды

- Санитарный надзор за состоянием объектов общественного питания и пищеблоков в лечебных и детских учреждениях осуществляется взятием смывов с рук обслуживающего персонала, с посуды, поверхности столов, досок и т. д. При взятии смыва с рук пользуются стерильными ватными тампонами, которые перед употреблением смачивают в среде Кесслера, содержащейся в пробирке, в которой находится тампон.

- Смывы делают с обеих рук, тщательно протирая ладони, межпальцевые промежутки и подногтевые пространства сначала левой руки, а затем правой. Смывы с поверхности предметов делают с помощью трафаретов из проволоки, имеющих площадь 25 см^2 . Посевы выдерживают в термостате при температуре 43° в течение суток. При наличии брожения в среде Кесслера делают высев на среду Эндо. Колонии, подозрительные на кишечную палочку, подвергают дальнейшей идентификации.

Среда Кесслер

Жидкая среда

Густая (агаровая) среда



Признаки роста БГКП на среде Кесслер

⊖ Молодая среда без признаков роста

⊕ Среда с признаками роста

Спасибо за внимание