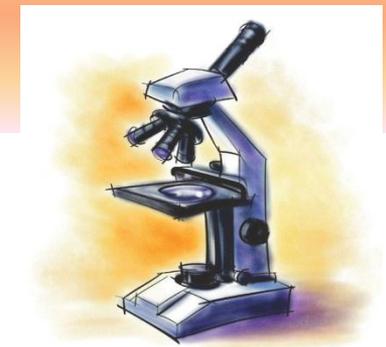




Основы микробиологии и иммунологии

Группы 112 А,Б,В, 115 А,Б.



**Контроль численности
микроорганизмов**
Принципы деконтаминации

План занятия

1. Факторы внешней среды, контролирующие численность микроорганизмов
2. Понятие асептики, антисептики (повторение)
3. Принципы выбора способа деконтаминации. Подход к обработке медицинских инструментов и предметов ухода за больными по Сполдингу.

Действие физических,
химических и биологических
факторов
на микроорганизмы

1. Температура

Жизнедеятельность каждого микроорганизма ограничена определенными температурными границами. Эту температурную зависимость обычно выражают тремя основными точками: **минимум** — температура, ниже которой размножение микробных клеток прекращается; **оптимум** — наилучшая температура для роста и развития микроорганизмов; **максимум** — температура, выше которой жизнедеятельность клеток ослабляется или прекращается.

Психрофилы – температурный оптимум ниже + 20 градусов (+10-15)

Мезофилы - температурный оптимум +30- 37 градусов

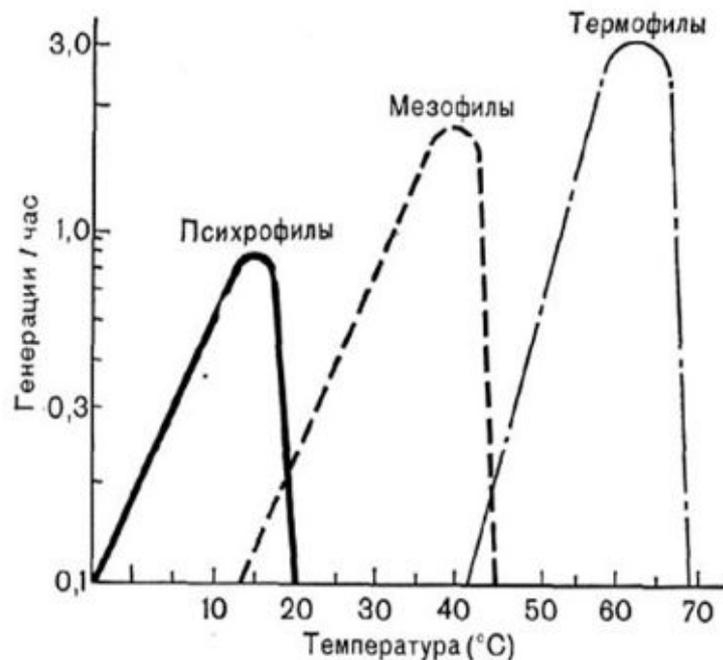
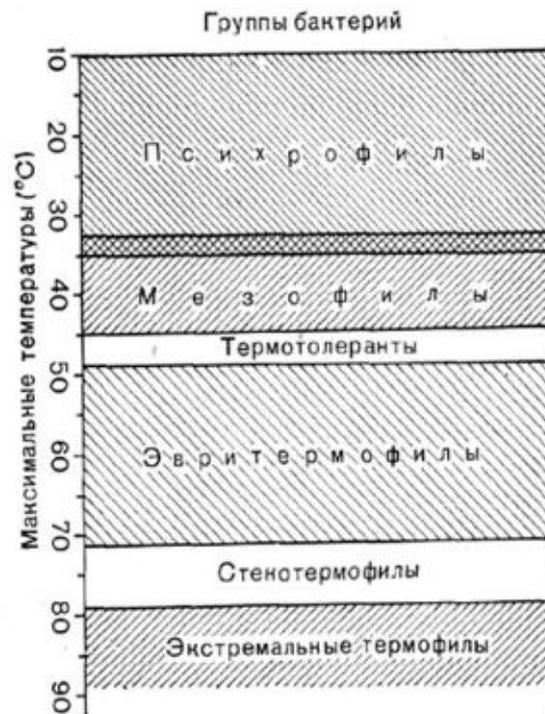
Термофилы - температурный оптимум около + 50-70 градусов.

Экстремальные термофилы - оптимальная температуре свыше 90 градусов.

- Высокая температура вызывает коагуляцию структурных белков и ферментов микроорганизмов. Большинство вегетативных форм гибнет при температуре 60°C в течение 30 мин, а при 80–100°C – через 1 мин.
- Споры бактерий устойчивы к температуре 100°C, гибнут при 130°C и более при длительной экспозиции.
- Для сохранения жизнеспособности относительно благоприятны низкие температуры. Бактерии выживают при температуре ниже –100°C; споры бактерий и вирусы годами сохраняются в жидком азоте (до –250°C).

Психрофилы (от греч. psychros — холодный, phileo — люблю), или холодолюбивые микроорганизмы, растут при относительно низких температурах: минимальная температура — 0 °С, оптимальная — 10—20 °С, максимальная — 30 °С. Эта группа включает микроорганизмы, обитающие в северных морях и океанах, почве, сточных водах. Сюда же относятся светящиеся и железобактерии, а также микробы, вызывающие порчу продуктов на холоду (ниже 0 °С).

Мезофилы (от греч. mesos — средний) — наиболее обширная группа, включающая большинство сапрофитов и все патогенные микроорганизмы. Оптимальная температура для них 28—37 °С, минимальная — 10 °С, максимальная — 45 °С.



Термофилы (от греч. *temnos* — тепло, жар), или теплолюбивые микроорганизмы, развиваются при температуре выше 55°C , температурный минимум для них 30°C , оптимум— 50 — 60°C , а максимум— 70 — 75°C . Они встречаются в горячих минеральных источниках, поверхностном слое почвы, самонагревающихся субстратах (навозе, сене, зерне), кишечнике человека и животных.

Среди термофилов много споровых форм. Высокие и низкие температуры оказывают различное влияние на микроорганизмы. Одни более чувствительны к высоким температурам.

Причем, чем выше температура за пределами максимума, тем быстрее наступает гибель микробных клеток, что обусловлено денатурацией (свертыванием) белков клетки.

Вегетативные формы бактерий **мезофилов** погибают при температуре 60°C в течение 30—60 мин, а при 80 — 100°C — через 1—2 мин. Споры бактерий гораздо устойчивее к высоким температурам. *Например*, споры бацилл сибирской язвы выдерживают кипячение в течение 10—20 мин, а споры клостридий ботулизма — 6 ч. Все микроорганизмы, включая споры, погибают при температуре 165 — 170°C в течение часа (в сухожаровом шкафу) или при действии пара под давлением 1 атм. (в автоклаве) в течение 30 мин.

Действие высоких температур на микроорганизмы положено в основу **стерилизации**—полного освобождения разнообразных объектов от микроорганизмов и их спор.

К действию низких температур многие микроорганизмы чрезвычайно устойчивы. Сальмонеллы тифа и холерный вибрион длительно выживают во льду. Некоторые микроорганизмы остаются жизнеспособными при температуре жидкого воздуха (-190°C), а споры бактерий выдерживают температуру до -250°C .

Только отдельные виды патогенных бактерий чувствительны к низким температурам (например, бордетеллы коклюша и паракоклюша, нейссерии менингококка и др.).

Эти свойства микроорганизмов учитывают в лабораторной диагностике и при транспортировке исследуемого материала—его доставляют в лабораторию защищенным от охлаждения.

Действие низких температур приостанавливает гнилостные и бродильные процессы, что широко применяется для сохранения пищевых продуктов в холодильных установках, погребах, ледниках. При температуре ниже 0°C микробы впадают в состояние анабиоза—наступает замедление процессов обмена веществ и прекращается размножение. Однако при наличии соответствующих температурных условий и питательной среды жизненные функции микробных клеток восстанавливаются.

Методы:

- **Пастеризация** – это нагревание продукта чаще при температуре 63-80 °С в течение 20-40 мин. Иногда пастеризацию проводят кратковременно в течение нескольких секунд при температуре 90-100 °С. При пастеризации погибают не все микроорганизмы. Некоторые термоустойчивые бактерии и споры грибов остаются жизнеспособными. Поэтому пастеризованные продукты следует немедленно охлаждать до температуры не выше 10 °С и хранить на холоде (на льду и в холодильнике), чтобы задержать прорастание спор и развитие сохранившихся клеток. Пастеризуют молоко и молочные продукты, пиво, соки, рыбную икру, пресервы и некоторые другие продукты.
- **Стерилизация** - это температура 112-120 °С в течение 20-60 мин. в специальных приборах - автоклавах (перегретым паром под давлением) или при 160-180°С в течение 1-2 часа в сушильных шкафах (сухим жаром).

Сухожаровой шкаф или воздушный стерилизатор – наиболее простой и эффективный метод стерилизации медицинских принадлежностей, позволяющий сохранить их целостность и физические свойства.

Принцип работы устройства основан на циркуляции горячего воздуха внутри камеры из нержавеющей стали или другого термостойкого материала. Стерилизующим агентом в данном случае является сухое тепло, обладающее превосходными проникающими свойствами практически для любых материалов.

Сухожаровые шкафы используются в стоматологии, различных областях медицины, в лабораториях, промышленности и т.д.

Для стерилизации требуется задать время и температуру, или (в некоторых моделях) выбрать нужную программу. Все остальное выполняется в автоматическом режиме.

Благодаря специальной системе вентиляции воздух в камере прогревается быстро и равномерно, что способствует сохранности стерилизуемых предметов.

Управляющая система на основе микроконтроллеров поддерживает стабильную температуру на протяжении всего процесса стерилизации, не допуская колебаний температуры или перегрева.

В отличие от пара, используемого для стерилизации автоклавами, горячий сухой воздух в сухожаре исключает коррозию металлических инструментов и эрозию стеклянных поверхностей. Однако применяются более высокие температуры (до 180 ° C), используемые в сухожарах. Этот факт сокращает номенклатуру стерилизуемых изделий. Исключаются: резина, текстиль, полимеры и другие принадлежности, не выдерживающие высоких температур. Ограничивается и перечень упаковочных материалов.

Исключается бумага, пергамент, непропитанная бязь и некоторые другие. Перед стерилизацией следует обязательно убедиться, что предметы являются термостойкими.



2. Влажность/высушивание

Для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов необходима вода. Высушивание приводит к обезвоживанию цитоплазмы, нарушению целостности цитоплазматической мембраны, вследствие чего нарушается питание микробных клеток и наступает их гибель.

По отношению к влажности м/о делятся на **ксерофильные** (любящие засуху) и **ксерофитные** (могут переносить засуху).

Появились данные о механизмах адаптации почвенных микроорганизмов таких жарких пустынь, как Сахара, Каракумы, Нубийской, у разнообразных по морфологии и физиологии микроорганизмов-ксерофитов.

Эти микроорганизмы могут расти и размножаться в условиях, когда содержание воды в окружающей среде составляет всего 45% относительной влажности. Микроорганизмы могут участвовать в метаболических процессах, находясь в чрезвычайно сухих условиях.

В основе жизнедеятельности ксерофитов лежат особенности их внутриклеточных механизмов: высокое осмотическое давление, способность накапливать при благоприятных условиях, а при неблагоприятных удерживать необходимые запасы воды в клетке, способность перехода в состояние анабиоза (покоя).

- Для хранения культур микроорганизмов, вакцин и других биологических препаратов широко применяют метод лиофильной сушки. Сущность метода состоит в том, что предварительно микроорганизмы или препараты подвергают замораживанию, а затем их высушивают в условиях вакуума. При этом микробные клетки переходят в состояние анабиоза* и сохраняют свои биологические свойства в течение нескольких месяцев или лет.

**Вспомните значение слова «анабиоз» из школьного курса биологии*

Сохранение жизнеспособности микробов при высушивании

Микроорганизмы	Сроки выживания
1. Спирохеты	Несколько минут
2. Гонококки	Несколько минут
3. Менингококки	Несколько минут
4. Бордетеллы	Несколько минут
5. Патогенные стафилококки	До 100 дней
6. Сальмонеллы	До 70 дней
7. Коринебактерии	До 30 дней
8. Споровые формы бактерий	До 50 и более лет
9. Туберкулезная палочка в высохшей мокроте	До 10 лет

АКТИВНОСТЬ ВОДЫ

Термин «активность воды» (англ. «water activity» — a_w) впервые был введен австралийским микробиологом Вильямом Джеймсом Скоттом, который в 1952 г. доказал, что существует **зависимость между состоянием воды в продукте и ростом микроорганизмов в нем.**

Активность воды в пищевых продуктах

Фрукты – 90-95% влажности, 0,97 a_w

Сыр - 40% влажности, 0,94 a_w

Хлеб - 45% влажности, 0,95 a_w

Мука - 17% влажности, 0,8 a_w

Мёд - 13% влажности, 0,75 a_w

Печенье - 8% влажности, 0,6 a_w

Шоколад - 6% влажности, 0,4 a_w

Сахар – 0,15% влажности, 0,1 a_w

Характеристика чувствительности микроорганизмов к значениям активности воды	Значения активности воды
Чувствительные	0,99–0,95
Слабочувствительные	0,95–0,93
Устойчивые	0,93–0,90
Очень устойчивые	менее 0,90

Предельные значения a_w для роста микроорганизмов, встречающихся в пищевых продуктах

Минимальное значение a_w	Бактерии	Дрожжи	Плесени
0,98	<i>Pseudomonas</i>		
0,96	<i>Klebsiella</i> ; <i>Shigella</i>		
0,93	<i>Clostridium</i> ; <i>Lactobacillus</i>		
0,92	<i>Salmonella</i>		
0,90	<i>Vibrio</i> ; <i>Pediococcus</i>	<i>Phodotorula</i> ; <i>Saccharomyces</i> *	
0,88		<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> ; <i>Debariomyces</i>	<i>Clodosporium</i>
0,86	<i>Staphylococcus</i>		
0,80		<i>Saccharomyces</i> *	<i>Penicillium</i> ; <i>Aspergillus</i> *
0,75	<i>Halophilic bacteria</i>		
0,65			
0,62		<i>Saccharomyces</i> *	
0,60			<i>Aspergillus</i> *

- Активность воды (water activity — A_w) показывает отношение давления водяных паров раствора (субстрата) P и чистого растворителя (воды) P_0 при одной и той же температуре: $A_w = P/P_0$.
- Значение A_w , умноженное на 100, соответствует относительной влажности воздуха, выраженной в процентах, когда система «продукт – воздух» находится в равновесии.
- Микроорганизмы могут развиваться только в субстратах, имеющих **свободную** воду и в количестве не менее определенного уровня.
- По величине минимальной потребности во влаге для роста различают следующие группы:
 1. **гидрофиты** (влаголюбивые) - большинство бактерий,
 2. **мезофиты** (средневлаголюбивые) - мицелиальные грибы и дрожжи,
 3. **ксерофиты** (сухлюбивые) – некоторые грибы.

- В высушенном состоянии многие микробы сохраняют жизнеспособность в течение длительного времени. Устойчивы к высушиванию многие дрожжи и особенно споры бактерий и мицелиальных грибов (сохраняют способность к прорастанию десятки лет). Патогенные микробы (стафилококки, микрококки, брюшно-тифозные бактерии) могут сохраняться в сухом субстрате неделями и месяцами.
- Большое значение имеют относительная влажность и температура: продукты обладают гигроскопичностью (могут отдавать влагу или поглощать ее). Между влажностью воздуха и влажностью продукта устанавливается определенное подвижное равновесие. При одной и той же относительной влажности воздуха различные продукты могут иметь разную равновесную влажность. Большинство бактерий способно развиваться в субстратах при равновесной относительной влажности воздуха в пределах не ниже 95-90%. Для дрожжей минимум в субстрате соответствует 90-85% относительной влажности воздуха, для большинства мицелиальных грибов - 80%, а для некоторых ксерофитных видов пределом является относительная влажность воздуха - 75-65%. (При этом минимальная влажность субстрата, при которой возможно развитие бактерий, составляет примерно 20 - 30 %, а для грибов - 13 - 15 %).

Под **относительной влажностью** воздуха понимается выраженное в процентах отношение фактического количества влаги в воздухе к тому количеству, которое полностью насыщает воздух при данной температуре. Развитие плесневых грибов на сушеных продуктах становится возможным, если относительная влажность воздуха превышает 75-80%.

Таким образом, возможность развития микроорганизмов в продуктах в связи с их влажностью можно учитывать как по величине водной активности продукта, так и по относительной влажности воздуха. Значение a_w , умноженное на 100, соответствует относительной влажности воздуха, выраженной в процентах, когда система продукт - воздух находится в равновесии.

Микроорганизмы могут развиваться только в субстратах, имеющих свободную воду и в количестве не менее определенного уровня. С понижением влажности субстрата интенсивность размножения микробов замедляется, а при удалении из субстратов ниже необходимого уровня вообще прекращается. Потребность во влаге у различных микроорганизмов колеблется в широких пределах.

Согласно ХАССП, активность воды может быть объединена с другими важными факторами как температура, pH, окислительно-восстановительный потенциал и другими, для поддержания безопасности продукта. Но часто именно активность воды является наиболее важным фактором. Уровень активности воды, обеспечивающий рост практически всех патогенов равен $0.90a_w$.

Активность воды $0.70a_w$ является лимитом роста для плесени, приводящей к порче продукта.



Активность воды и рост микроорганизмов в пищевых продуктах

[Fennema, 1985]

Область aw	Микроорганизмы, которые ингибируются при более низком значении aw, чем эта область	Пищевые продукты, характерные для этой области aw
1,00-0,95	<i>Pseudomonas</i> ; <i>Escherichia</i> ; <i>Proteus</i> ; <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> ; <i>Bacillus</i> ; <i>Clostridium perfringens</i> ; некоторые дрожжи	Фрукты, овощи, мясо, рыба, молоко, домашняя колбаса и хлеб, продукты с содержанием сахара (~40%) и хлорида натрия (~7%)
0,95-0,91	<i>Salmonella</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>Serratia Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , некоторые грибы, дрожжи (<i>Rhodotorula</i> , <i>Pichia</i>)	Некоторые сыры, консервированная ветчина, некоторые фруктовые концентраты соков, продукты с содержанием сахара (~55%), хлорида натрия (~12%)
0,91-0,87	Многие дрожжи (<i>Candida</i> ; <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i>) <i>Micrococcus</i>	Ферментированная колбаса типа салями, сухие сыры, маргарин, рыхлые бисквиты, продукты с содержанием сахара (65%), хлорида натрия (15%).
0,87—0,80	Многие грибы (микотоксигенные пенициллы <i>Penicillia</i>); <i>Staphylococcus Aureus</i> ; большинство <i>Saccharomyces</i> ; <i>Debaryomyces</i>	Большинство концентратов фруктовых соков, сладкое сгущенное молоко, шоколад, сироп, мука, рис, взбитые изделия с содержанием влаги 15 – 17%, фруктовые пирожные, ветчина
0,80-0,75	Большинство галофильных бактерий, микотоксигенные аспергиллы	Джем, мармелад, замороженные фрукты
0,75-0,65	Ксерофильные виды плесеней (грибов) (<i>Asp. chevalieri</i> ; <i>Asp. canidus</i> ; <i>Wallemia sebi</i>) <i>Saccharomyces bisporus</i>	Патока, сухие фрукты, орехи
0,65-0,60	Осмофильные дрожжи (<i>Saccharomyces rouxii</i>); некоторые плесени (<i>Asp. echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i>)	Сухофрукты, содержащие 15–20% влаги, карамель, мед
0,5	Нет микроорганизмов	Тесто с влажностью 12%, специи с влажностью 10%
0,4	Нет микроорганизмов	Яичный порошок с влажностью ~5%
0,3	Нет микроорганизмов	Печенье, крекеры, сухари с влажностью ~3–5%
0,2	Нет микроорганизмов	Сухое молоко с влажностью ~2 – 3%, сухие овощи с влажностью ~5%, зерновые хлопья с влажностью ~5%, крекеры

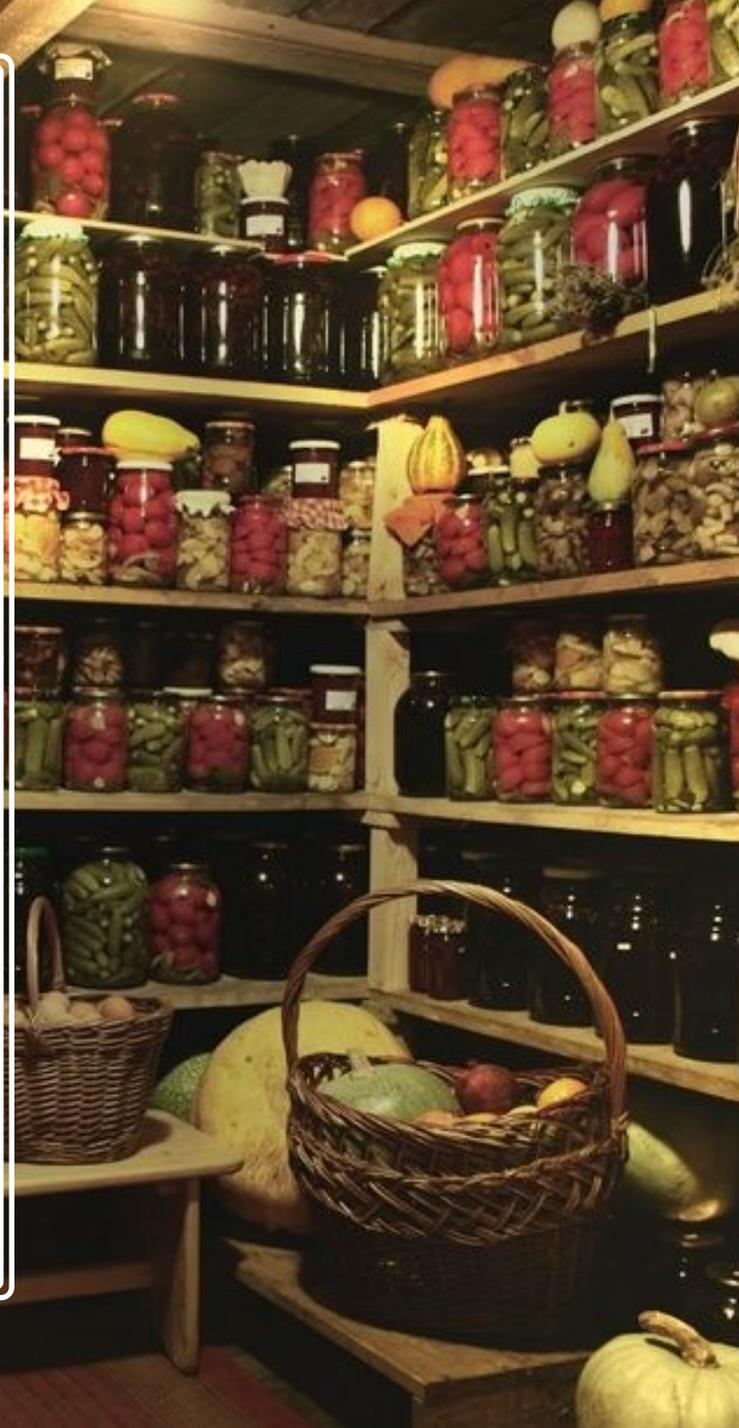
Высокие концентрации солей и сахаров используют для консервации пищевых продуктов:

Определение концентрации веществ растворенных во внешней среде: поступление воды в клетку возможно в том случае, если осмотическое давление внешнего раствора будет меньше, чем внутреннее давление клетки. **Осмотическое давление клетки** — 3-6 атм, почвы — 0,5-5 атм, а осмотическое давление засоленных и засахаренных сред — 100 атм.

Поэтому м/о, которые могут развиваться в этих условиях имеют осмотическое давление — 142 атм.

Существуют:

- **осмофильные** (предпочитают среды с высоким содержанием веществ);
- **осмотолерантные** (могут находиться на средах с высокой концентрацией веществ);
- **галофилы** -микроорганизмы, нормально развивающиеся при высоких концентрациях **поваренной соли** (20% и выше). Хлорид натрия необходим для стабилизации ЦПМ, поскольку у галобактерий нет нормальной КС, которая выполняла бы функцию скелета. Среди галобактерий есть экстремальные галофилы.



3. Показатель кислотности среды (рН)

Ацидофильные (0-5,5), нейтрофильные (5,5-8,0),
алкалофильные (8,5-11,5) микроорганизмы.

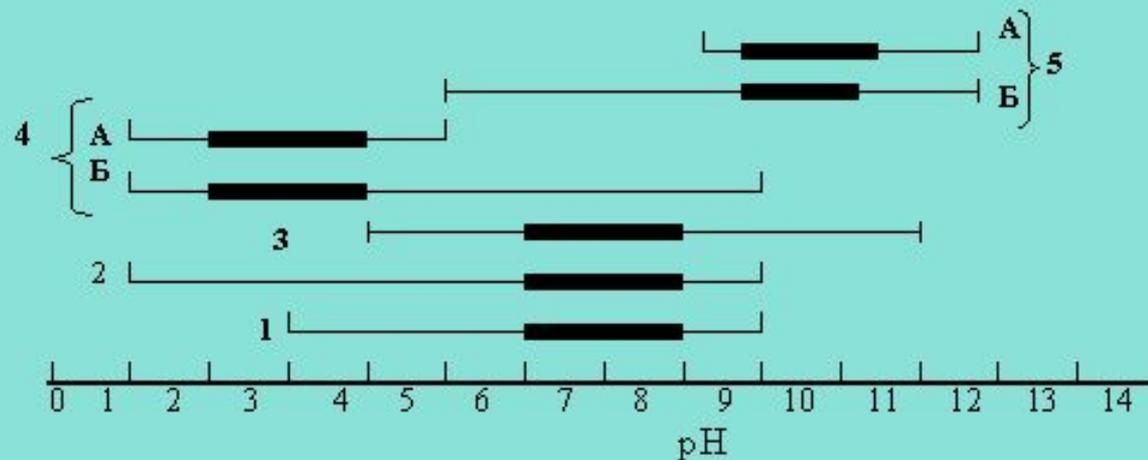


Рис.4. Границы и оптимальные зоны роста прокариот в зависимости от рН и основанная на этом классификация: нейтрофилы (1); группы кислотоустойчивых (2) и щелочеустойчивых (3) прокариот; ацидофилы (4) и алкалофилы (5). Облигатные (А) и факультативные (Б) формы. Жирной линией выделен оптимальный рН роста

4. Излучения (солнечный свет,
ультрафиолет, ионизирующее
излучение)

Действие излучений и ультразвука на микроорганизмы

Ионизирующее излучение повреждает геном клетки, вызывая различные дефекты от точечных мутаций до ее гибели

Ультрафиолетовое излучение повреждает ДНК клетки и вызывает мутации или их гибель

Ультразвуковое воздействие вызывает деполимеризацию органелл клетки, а также денатурацию молекул веществ, входящих в ее состав за счет высокой температуры и давления

Солнечный свет губительно действует на микроорганизмы. Наибольший бактерицидный эффект оказывает коротковолновые УФ-лучи. Они инактивируют ферменты клетки и разрушают ДНК. Энергию излучения используют для дезинфекции, а также для стерилизации термолабильных материалов.

В чашку Петри с тонким слоем агара производят обильный посев какойлибо культуры бактерий. На наружную поверхность засеянной чашки наклеивают вырезанные из черной бумаги буквы, образующие, например, слово «typhus». Чашку, обращенную дном вверх, подвергают облучению прямыми солнечными лучами в течение 1 ч. Затем бумажки снимают, и чашку ставят на сутки в термостат при 37 °С. Рост бактерий наблюдается лишь в тех местах агара, которые были защищены от действия УФ-лучей наклеенными буквами. Остальная часть агара остается прозрачной, т. е. рост микроорганизмов отсутствует.

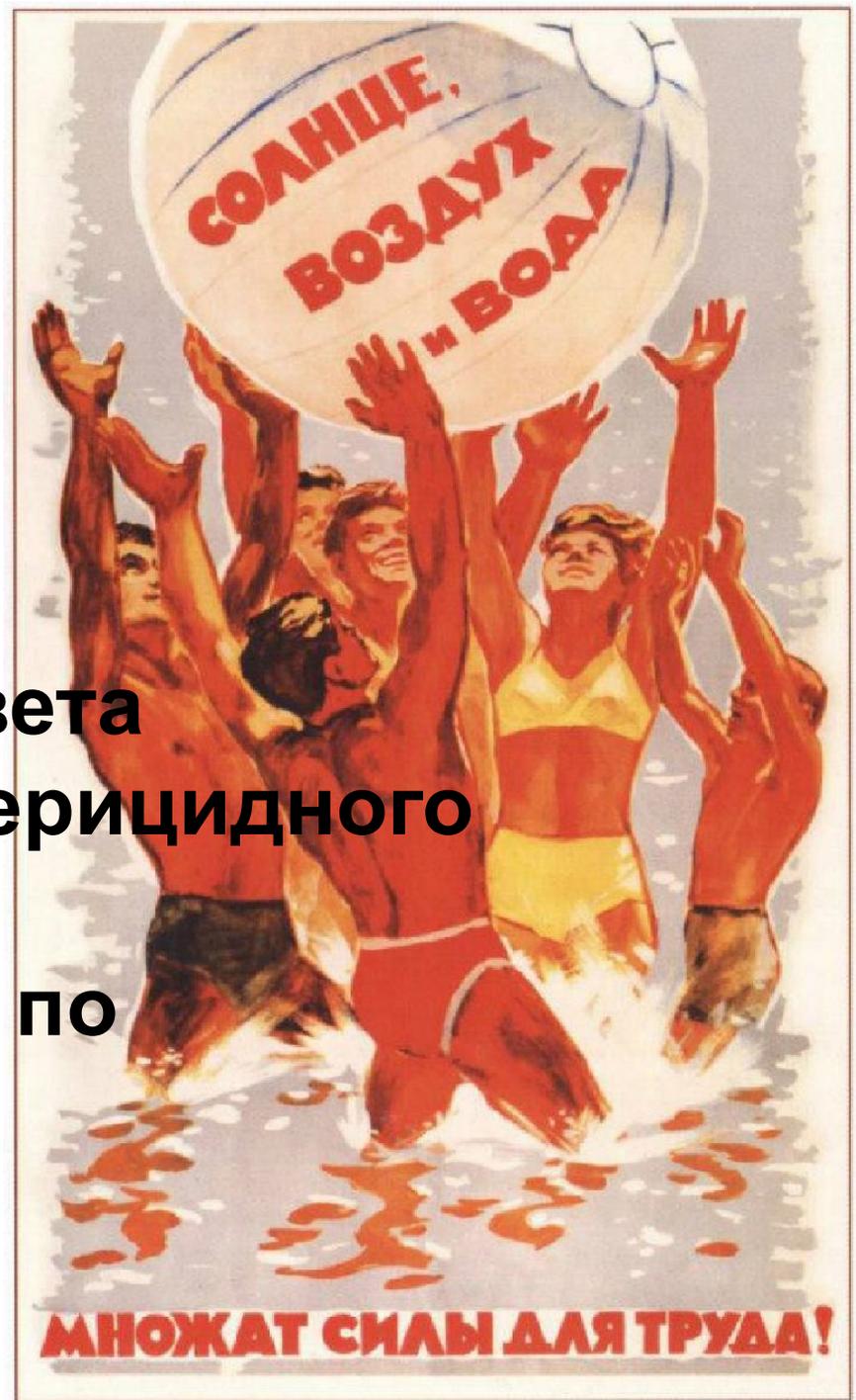
Велико значение **солнечного света** как естественного фактора оздоровления внешней среды. Он освобождает от патогенных бактерий воздух, воду естественных водоемов, верхние слои почвы.

Бактерицидное (уничтожающее бактерий) действие УФ-лучей используется для стерилизации воздуха закрытых помещений (операционных, перевязочных, боксов и т. д.), а также воды и молока. Источником этих лучей являются лампы ультрафиолетового излучения, бактерицидные лампы.

Другие виды лучистой энергии — рентгеновские лучи, α-, β-, γ-лучи оказывают губительное действие на микроорганизмы только в больших дозах, порядка 440—280 Дж/кг. Гибель микробов обусловлена разрушением



**О пользе солнечного света
с точки зрения его бактерицидного
действия
мы говорили на лекции по
микробиологии**



Ультрафиолет

- Стерилизацию УФ-лучами производят при помощи специальных установок - бактерицидных ламп. УФ-лучи обладают высокой антимикробной активностью и могут вызвать гибель не только вегетативных клеток, но и спор. УФ-облучение применяют для стерилизации воздуха в больницах, операционных, детских учреждениях и т. д. В микробиологической лаборатории УФ-лучами обрабатывают бокс перед работой.
- Режим дезинфекции зависит от мощности облучателя, объема помещения, критериев эффективности его обеззараживания, связанных с его функциональным назначением и определяется в соответствии с “Методическими указаниями по применению бактерицидных ламп для обеззараживания воздуха и поверхностей” №11-16/03-06, утвержденными Минздравмедпромом РФ 28.02,95г.

5. Ультразвук

- **Ультразвуком называют механические колебания с частотами более 20000 колебаний в секунду (20 кГц).** Колебания такой частоты находятся за пределами слышимости человека. Ультразвуковые волны могут распространяться в твердых, жидких и газовых средах. Обладают большой механической энергией и вызывают ряд физических, химических и биологических явлений. Механизм бактерицидного действия ультразвука объясняется двумя теориями: кавитационно - механической и кавитационно - электрохимической. По первой теории считают, что ультразвуковые волны, распространяясь в упругой среде, вызывают в ней попеременные сжатия и разряжения. В клетке создаются огромные давления, достигающие десятков и сотней мПа, что вызывает механическое разрушение цитоплазматических структур и гибель клетки (кавитация).
- Кавитационная электрохимическая теория объясняет ионизацию паров жидкостей и присутствующих в ней газов при образовании кавитационного пузырька. При разрыве пузырька происходит электрический разряд, сопровождающийся резким повышением температуры и образованием в кавитационной полости электрического поля высокого напряжения. При этом пары жидкости и высокомолекулярные соединения в кавитационной полости расщепляются на водород и гидроксильную группу с образованием активного кислорода, перекиси водорода, азотистой и азотной кислот, в результате чего происходят инактивация ферментов и коагуляция белков. Все это обуславливает гибель микробной клетки.

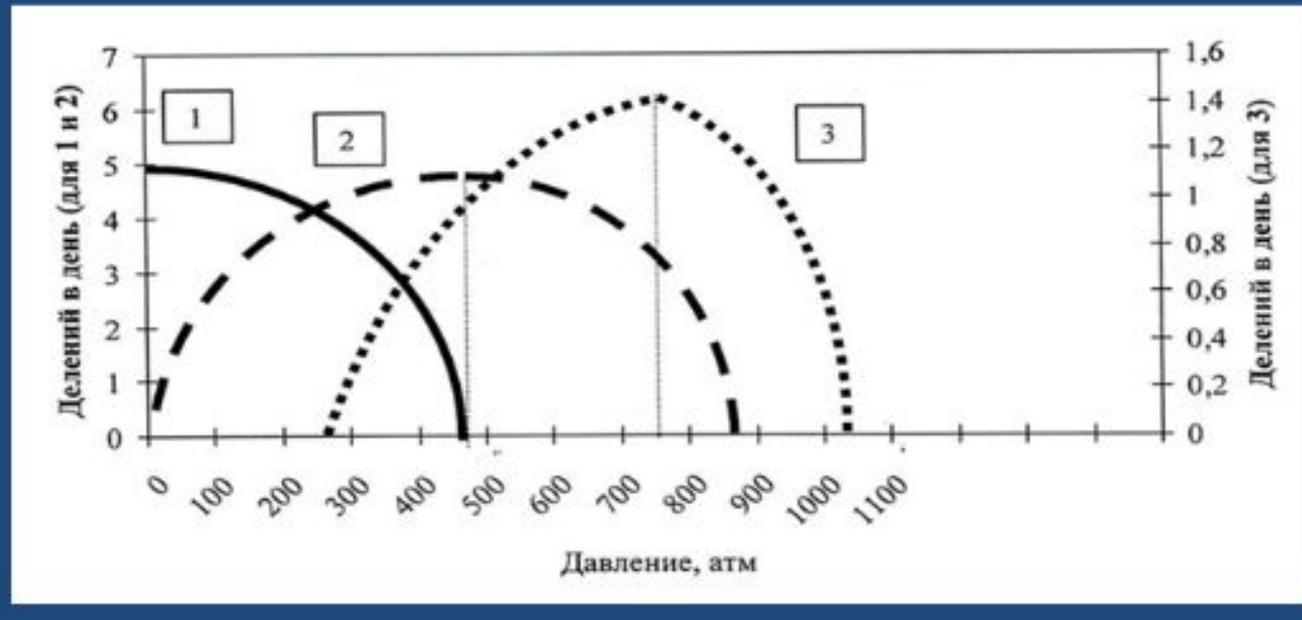
Ультразвук вызывает поражение клетки. Под действием ультразвука внутри клетки возникает очень высокое давление. Это приводит к разрыву клеточной стенки и гибели клетки. Ультразвук используют для стерилизации и хранения стерильных материалов.



- Эффективность действия УЗ при одной и той же интенсивности и частоте колебаний зависит от продолжительности воздействия, химического состава облучаемой среды, ее вязкости, температуры, pH и исходной степени обсемененности микроорганизмами. Чем больше микроорганизмов, тем продолжительнее должно быть воздействие для достижения стерилизующего эффекта.
- Устойчивость микроорганизмов к действию ультразвука зависит от их биологических свойств. Вегетативные клетки более чувствительны, чем споры, кокковые формы погибают медленнее, чем палочковидные. Более крупные клетки микроорганизмов отмирают быстрее, чем мелкие.
- Используют ультразвук также для дезинтеграции клеток для получения некоторых клеточных компонентов.

6. Гидростатическое давление

Группы микроорганизмов, выделяемые по отношению к гидростатическому давлению (1-пьезотолерантные, 2-умеренные пьезофилы, 3-экстремальные пьезофилы).



Гидростатическое давление - давление, обусловленное столбом жидкости.

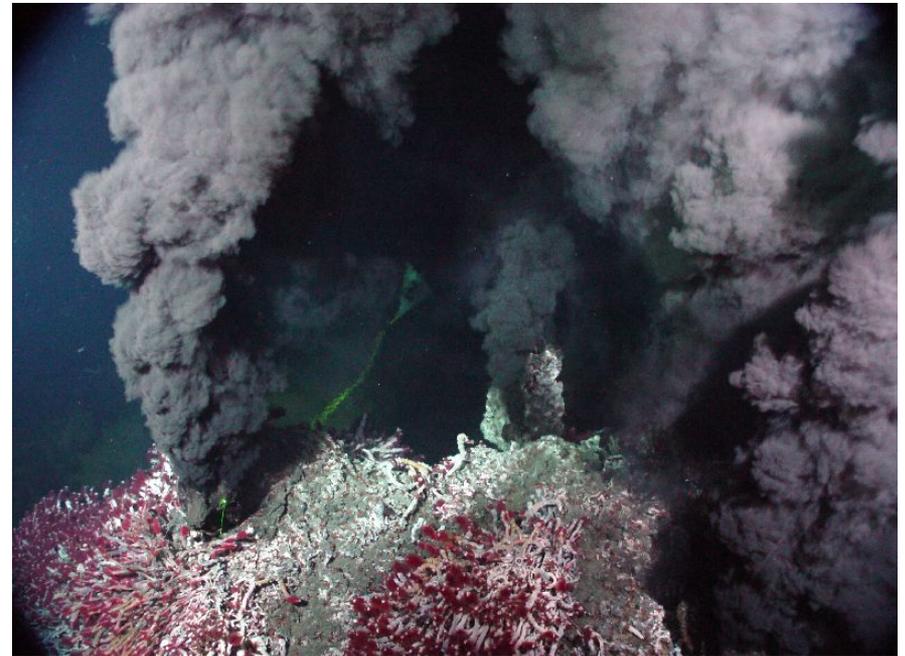
Большинство мо растут при нормальном атмосферном давлении и погибают при 200-600 атм.

Высокие значения гидростатического давления приводят к разрушению клеточных структур, происходит денатурация белков, прекращается деление и клетки приобретают нитевидную форму.

Однако существуют бактерии, которые живут нв океане а глубине более 1000 м, в Марианской впадине, например, давление достигает 1016 атмосфер. Из осадков на дне океанов выделяют бактерии двух групп: баротолерантные и барофильные. Баротолерантные бактерии размножаются как при обычном, так и при давлении в несколько сот атмосфер. Барофильные (менее многочисленная группа) при давлении в сотни атмосфер дают больший урожай биомассы, чем при атмосферном давлении. Барофильные бактерии (например, бактерии вида *Vacillus submarinus*) – это обитатели

Кроме искусственных систем типа автоклавов, в природе повышенное давление наблюдается в нефтяных скважинах, на дне океанов, и в т. наз. «черных курильщиках» – разломах на дне океанов, из которых выходят горячие вулканические газы и вода.

- Барочувствительные (или пьезочувствительные) – мо, которые при повышении давления перестают расти.
- Баротолерантные (пьезотолерантные) – выдерживающие до 400 атм, но способные расти и при обычном давлении.
- Барофильные (пьезофильные) – мо, нуждающиеся для роста в повышенном давлении.



ВЫСОКОЕ ДАВЛЕНИЕ.

К атмосферному давлению бактерии, а особенно споры, очень устойчивы. Сочетанное действие повышенных температур и повышенного давления используется в паровых стерилизаторах для стерилизации паром под давлением.



Принцип работы автоклава

- **Автоклав** - это металлический цилиндр с двойной стенкой, снаружи покрытый металлическим кожухом. Он герметически закрывается массивной крышкой с помощью нескольких винтов. На нем установлен манометр с предохранительным клапаном и пароотводный кран.
- Перед стерилизацией в автоклав наливают через воронку с водомерным стеклом дистиллированную воду до указанной на кожухе черты. В стерилизующую камеру загружают материал для стерилизации, закрывают плотно крышкой, завинчивают и включают источник нагрева. При этом пароотводный кран оставляют открытым. Образующийся при кипячении пар проходит между стенками автоклава и через отверстия внутренней стенки попадает в камеру. При нагревании из автоклава через пароотводный кран вначале выходит воздух, а затем пар. Выход непрерывной струей сухого пара свидетельствует о полном вытеснении воздуха из автоклава: кран закрывают, и с этого момента в автоклаве начинает постепенно повышаться давление, стрелка на манометре поднимается. Началом стерилизации считается тот момент, когда стрелка манометра достигает нужного давления.

- Материал в автоклаве чаще всего стерилизуют при 0,1 МПа в течение 20-30 мин (*пересчет единиц: 1 атм = 0,1 МПа и 1 МПа = 10 атм.*) По окончании стерилизации отключают источник нагрева (стрелка манометра постепенно доходит до нуля). После этого открывают пароотводный кран, выпускают остаток пара. Затем осторожно отвинчивают крышку и открывают ее. После полного остывания вынимают простерилизованный материал.

Режимы автоклавирования:

1. 0,5 атм – 110° С
 2. 1,0 атм – 120° С
 3. 1,5 атм – 127° С
 4. 2,0 атм – 132° С
- Время воздействия – 15-30 минут.
 - В автоклаве можно стерилизовать посуду, инструменты, питательные среды (кроме желатина и сред с углеводами), перевязочный материал и т. п. При работе необходимо соблюдать правила техники безопасности. К работе допускают лиц, имеющих удостоверение на право пользования автоклавом.

7. Аэрация

См. лекцию по микроэкологии.
Вспомним понятия АЭРОБЫ и
АНАЭРОБЫ.

8. Влияние биологических факторов на

МИКРООРГАНИЗМЫ:

Симбиоз — тесное взаимодействие 2-х или более организмов друг с другом, которое более или менее выгодно партнерам или не приносит вреда.

Симбиоз делится на:

комменсализм - тип отношений, когда выгоду получает только один партнер. Пример — ассоциация мо, которые развиваются в одном пространстве. Анаэробы и аэробы. Аэробы, поглощая кислород создают условия развития анаэробов.

мутуализм - взаимовыгодное партнерство. Например, взаимодействие азотфиксаторов р. *Rhizobium* и бобовых растений.

метабиоз — тип взаимоотношения при котором продукты метаболизма используются другими мо. Пример: *Nitrosomonas* и *Nitrobacter* (окисляет нитриты до нитратов).

синергизм - содружественное действие двух или нескольких видов, когда при совместном развитии усиливаются отдельные физиологические функции. Например, повышается синтез определенных веществ (образование ароматических веществ лактококками при совместном выращивании с молочнокислыми стрептококками).

Хищничество и паразитизм. Хищники и паразиты удовлетворяют свои пищевые потребности за счет жертвы. Хищники умерщвляют свою жертву (грибы, которые имеют ловчие петли и питаются за счет нематод). Паразиты — питаются за счет живого организма (патогенные мо).

Антагонизм — подавление роста и развитие одних мо другими. Антагонизм может быть обусловлен прямым воздействием микроорганизмов друг на друга или действием продуктов их обмена. Например, простейшие пожирают бактерий, а фаги лизируют их. Бывает **пассивный и активный антагонизм**.

Пассивный — конкуренция за пищу и жизненное пространство, которое возникает между организмами, которые имеют одинаковые пищевые потребности и место обитания. В этой борьбе преимущество получают те организмы, которые обладают большей скоростью роста, что позволяет вытеснить своих конкурентов. Активный — связан с выделением 1 группы мо во внешнюю среду определенных веществ, которые обладают антимикробной активностью (спирты, кислоты). Пример: молочнокислые бактерии не позволяют образовываться гнилостным бактериям за счет выделения молочной кислоты и снижения рН до 3

3 Выделение во внешнюю среду антибиотиков и питических ферментов актиномицетами

Влияние биологических факторов на микроорганизмы

1. **Бактериоцины** – белковые антибиотикоподобные вещества (колицины, стафилоцины, вибриоцины)
2. **Бактериофаги** – вирусы бактерий
3. **Антибиотики** – химиотерапевтические вещества природного, полусинтетического или синтетического происхождения, обладающие антимикробным действием

Антибиотики

Антибиотики - вещества биологического (микробного, растительного и животного) происхождения, подавляющие развитие и биохимическую активность чувствительных к ним микробов. По происхождению антибиотики подразделяют на группы: антибиотические вещества, продуцируемые актиномицетами, плесневыми грибами, бактериями, организмом животного или человека; антибиотики растительного, синтетического и полусинтетического происхождения Известно более 5000 антибиотиков, обладающих различным спектром действия.

классификация антибактериальных средств

по механизму действия:

1. Антиметаболиты или ингибиторы, действующие на метаболизм фолиевой кислоты
сульфаниламиды

2. Ингибиторы синтеза ДНК (нарушение энергетических процессов и повреждение ДНК)

нитрофураны

производные хиноксалина

нитроимидазолы

оксихинолины

3. Ингибиторы синтеза клеточной стенки м/о (β -лактамы)

пенициллины

карбапенемы

цефалоспорины

монобактамы

гликопептиды

циклосерин

4. Препараты, нарушающие проницаемость клеточной мембраны или активного транспорта

полимиксины

полиены

азолы

5. Ингибиторы синтеза белка на рибосомах

макролиды

аминогликозиды

тетрациклины

линкозамиды

хлорамфеникол

6. Ингибиторы ДНК-гидразы

хинолоны

фторхинолоны

Ингибиторы синтеза клеточной стенки

Пенициллины
Монобактамы
Цефалоспорины
Карбапенемы
Гликопептиды
Бацитрацин
Циклосерин

Ингибиторы синтеза белка

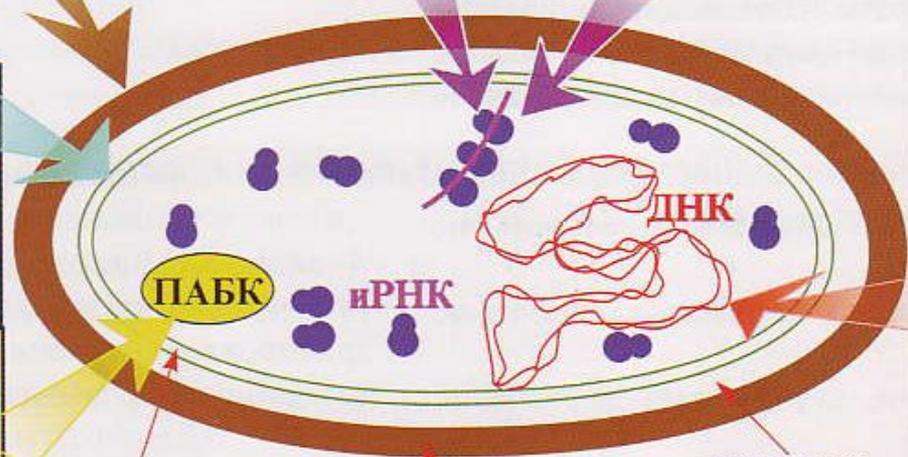
ингибиторы 30S-субъединиц рибосом
Тетрациклины
Аминогликозиды

ингибиторы 50S-субъединиц рибосом
Макролиды
Хлорамфеникол
Линкомицин

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны
Полимиксины

Антиметаболиты (метаболизм фолиевой кислоты)
Сульфонамиды
Триметоприм

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот
Рифампицин
(ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы; нарушение транскрипции)
Хинолоны
(ингибитор ДНК-гиразы; нарушение репликации ДНК)



цитоплазматическая мембрана

клеточная стенка

периплазма (бета-лактамаза, аминогликозидмодифицирующие ферменты)

Антибиотики актиномицетного происхождения - стрептомицин, тетрациклины, неомицин, нистатин обладают широким антибактериальным спектром действия. Они активны в отношении грамположительных бактерий, возбудителей туберкулеза, брюшного тифа, туляремии, бруцеллеза, сальмонеллез и др.

Наиболее активными продуцентами антибиотиков являются мицелиальные грибы. Плесень рода *Penicillium* продуцирует широко используемый пенициллин. Он обладает бактерицидным действием главным образом на грамположительные стафилококки и стрептококки. Плесени рода *Aspergillus* выделяют антибиотики- фумингацин и аспергиллин. *Mucor* продуцирует клавицин.

К антибиотикам, продуцируемым бактериями, относят грамицидин – С (*Bacillus brevis* var. G), пиоцианин (*Ps. aeruginosa*), субтилин (*Bacillus subtilis*), полимиксин (*Bacillus polymyxa*). Молочнокислые бактерии (ацидофильные палочки) выделяют антибиотики (низин, лизин, лакталин, никозин) и др. Эффективность бактериальных антибиотиков ниже, чем антибиотиков грибного и актиномицетного происхождения, однако они способны подавлять развитие возбудителя туберкулеза, маслянокислых бактерий, кишечных палочек, стафилококков и других видов молочнокислых бактерий.

- **К антибиотическим веществам животного происхождения** относят лизоцим, эритроин и экмолин. Лизоцим содержится в яичном белке, слезах, слюне, молозиве, молоке. Он убивает и растворяет (лизирует) многие виды бактерий. Эритроин получен из красных кровяных шариков (эритроцитов) крови животных, проявляет бактериостатическую активность. Экмолин получают из тканей рыб. Он активен в отношении стафилококков и стрептококков.
- **Антимикробные вещества высших растений** называют фитонцидами. Наиболее сильной бактерицидностью обладают фитонциды лука, чеснока, хрена, горчицы, алое, крапивы, можжевельника, почек березы, листьев черемухи и др. Антимикробное действие фитонцидов обусловлено продуктами жизнедеятельности растительных организмов: эфирных масел, глюкозидов, органических кислот, дубильных веществ, смолы др.

- **Полусинтетические антибиотики** получают химическим путем. Они имеют широкий спектр действия, активны в отношении не только грамположительных, но и грамотрицательных микроорганизмов (исключение составляет синегнойная палочка). Синтезированы полусинтетические пенициллины (оксациллин, ампициллин, карбенициллин), цефалоспорины (цефалоредин), тетрациклины (метацилиногидрохлорид) и др.
- Химическая природа антибиотиков различна. Они отличаются химической структурой и биологическими свойствами. Антибиотические вещества из бактерий являются полипептидами, а выделенные из актиномицетов и грибов относятся к сложным циклическим соединениям.

Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам

1. Природная устойчивость: нет мишени действия антибиотика или она недоступна.
2. Приобретенная устойчивость: генетически обусловлена. За счет генов в нуклеоиде или плазмид.

Механизмы устойчивости:

- Изменение мишени
- Активное выведение антибиотика из клетки или нарушение проницаемости мембраны
- Инактивация антибиотика или его изменение с помощью ферментов

Меры, направленные на предупреждение развития антибиотикорезистентности: **РЕФЕРАТИВНОЕ СООБЩЕНИЕ!** (1 человек от группы)

9. Химические факторы

- Влияние химических веществ на микроорганизмы различно в зависимости от природы химического соединения, его концентрации, продолжительности воздействия на микробные клетки. В зависимости от концентрации химическое вещество может быть источником питания или оказывать угнетающее действие на жизнедеятельность микроорганизмов. Например, 0,5-2% раствор глюкозы стимулирует рост микробов, а 20-40% растворы глюкозы задерживают размножение микробных клеток.
- Многие химические соединения, оказывающие губительное действие на микроорганизмы, используются в медицинской практике в качестве дезинфицирующих веществ и антисептиков.

Группа	Препараты	Повреждающее действие
Галогены	Препараты йода, хлора	Повреждают белки
Альдегиды	Формалин , глутаральдегид и др.	Повреждают белки
Кислоты,щел.	Салициловая, борная кислоты, нашатырный спирт	Изменяют рН среды
Металлы	Ртуть, серебро, медь и их соединения	Действуют на органические соединения
Фенолы	Гексахлоран, резорцин, тимол	Денатурируют белки, повреждают клеточную стенку
Детергенты	Цигирель, дегмицид	Изменяет проницаемость ЦПМ
Газы	Двуокись серы, окись этилена, пропилена	Повреждает вегетативные формы и оболочки спор
Красители	Бриллиантовый зеленый, метиленовый синий, риванол, фуксин	Бактериостатическое и бактерицидное действие
Окислители	Перекись водорода, перманганат калия	Окисляют метаболиты, ферменты, денатурируют белки
Спирты	Этанол, изопропанол	Осаждают белки, вымывают липиды

По активному действующему веществу:

1. ГАЛОГЕНЫ (Хлорсодержащие: хлорная известь, хлорамин. Йодсодержащие: йодиол, йодонат, раствор йода спиртовой)
2. ФЕНОЛЫ (феноксиэтанол, окси-фенилфенол , фенол чистый (карболовая кислота), дёготь берёзовый, ихтиол).
3. СПИРТЫ (этанол, пропанол-1, пропанол-2, бензиловый, бутиловый спирты).
4. ПЕРЕКИСНЫЕ (кислородосодержащие вещества) – окислители - H_2O_2 , калия перманганат.
5. КИСЛОТЫ (молочная, лимонная, уксусная кислоты)
6. ПАВ
7. Красители (бриллиантовый зеленый)
8. Альдегиды (формальдегиды)
9. Препараты растений (цветки календулы, листья шалфея, Ромазулен - из ромашки, Хлорофиллит - из эвкалипта).

По механизму действия химические вещества, обладающие противомикробной активностью, можно подразделить на несколько групп:

1. **Поверхностно-активные вещества** (жирные кислоты, мыла и прочие детергенты) вызывают снижение поверхностного натяжения, что приводит к нарушению функционирования клеточной стенки и цитоплазматической мембраны микроорганизмов.
2. **Фенол, крезол и их производные** вызывают коагуляцию микробных белков. Они используются для дезинфекции заразного материала в микробиологической практике и инфекционных больницах.
3. **Окислители**, взаимодействуя с микробными белками, нарушают деятельность ферментов, вызывают денатурацию белков. Активными окислителями являются хлор, озон, которые используют для обеззараживания питьевой воды. Хлорпроизводные вещества (хлорная известь, хлорамин) широко употребляют в целях дезинфекции. Окисляющими свойствами обладают перекись водорода, перманганат калия, йод и др.
4. **Формальдегид** применяют в виде 40% раствора (формалин) для дезинфекции. Он убивает вегетативные и споровые формы микроорганизмов. Формалин блокирует аминокислотные группы белков микробной клетки и вызывает их денатурацию.
5. **Соли тяжелых металлов** (ртуть, свинец, цинк, золото и др.) коагулируют белки микробной клетки, вызывая этим их гибель. Ряд металлов (серебро, золото, ртуть и др.) оказывают бактерицидное действие на микроорганизмы в ничтожно малых концентрациях. Это свойство получило название олигодинамического действия (от лат. oligos - малый, dynamys - сила). Доказано, что вода, находящаяся в сосудах из серебра, не загнивает, благодаря бактерицидному действию ионов серебра. Для профилактики бленнореи* новорожденных долгое время применяли 1% раствор нитрата серебра. Коллоидные растворы органических соединений серебра (протаргол, колларгол) используют также в виде местных антисептических средств.

* (Бленнорея - воспаление конъюнктивы глаза, вызванное гонококками.)

Сильным антимикробным действием обладают препараты ртути. Издавна для дезинфекции применяли бихлорид ртути, или сулему (в разведении 1:1000). Однако она оказывает токсическое действие на ткани макроорганизма и использование ее ограничено.

6. **Красители** (бриллиантовый зеленый, риванол и др.) обладают свойством задерживать рост бактерий. Растворы ряда красителей применяют в качестве антисептических средств, а также

Когда эти знания могут пригодиться?



МИКРОБНАЯ ДЕКОНТАМИНАЦИЯ

полное или частичное удаление микроорганизмов с объектов внешней среды и биотопов человека с помощью факторов прямого повреждающего действия.

Может быть выделено

два принципиально различных типа деконтаминации:

Микробная деконтаминация
объектов внешней среды

Дезинфекция
Стерилизация

Микробная деконтаминация
живых организмов

Антисептика
Химиотерапия

Асептика

Губительное действие ряда физических и химических факторов на микроорганизмы составляет основу асептического и антисептического методов, широко используемых в медицинской и санитарной практике.

Асептика - система профилактических мероприятий, препятствующих микробному загрязнению объекта (раны, операционного поля, культур микроорганизмов и т. д.), основанная на физических методах.

Антисептика - комплекс мер, направленных на уничтожение микроорганизмов в ране, целом организме или на объектах внешней среды, с применением различных обеззараживающих химических веществ.

МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ, РАЗРЕШЕННЫЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛПУ.

Тип метода	Метод	Стерилизующий агент
Физический (термический)	Паровой	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением
	Воздушный	Сухой горячий воздух
	Инфракрасный	Инфракрасное излучение
	Гласперленовый	Среда нагретых стеклянных шариков
Химический	Газовый	Окись этилена
	Плазменный	Пары перекиси водорода в сочетании с их низкотемпературной плазмой
	Жидкостный	Растворы химических средств (альдегид-, кислород- и хлорсодержащие)

Стерилизация (повторение)

1. Стерилизация паром под давлением в автоклавах
2. Дробная стерилизация текучим паром (и тиндализация)
3. Сухожаровая стерилизация (горячим воздухом)
4. Стерилизация ионизирующим излучением
5. Прокаливание
6. Химическая стерилизация
7. Фильтрация

Лучевая, химическая и механическая (фильтрованием) стерилизация – относятся к холодной стерилизации

Дезинфекция (повторение)

- Механическая
- Физическая (кипячение, пастеризация, уф-излучение)
- Химическая – применение дезинфектантов: ПАВ, 3-5% хлорная известь, фенолсодержащие вещества.

- Применительно к ЛПУ в зависимости от типа приборов или характера обрабатываемых поверхностей необходимо использовать различные технологии обеззараживания и различные дезинфицирующие средства. В связи с этим перед практиками встают трудные задачи выбора оптимальных средств дезинфекции с учетом спектра их действия, безвредности, вида объекта и стоимости.
- Е.Х.Сполдинг (E.H.Spauldin) разработал рациональный подход к обработке медицинских инструментов и предметов ухода за больными, он предложил разделить все инструменты и предметы ухода за больными на три категории: критические, полукритические и некритические инструменты и предметы - в зависимости от риска развития инфекции при их

Критические предметы

- Критические предметы - инструменты, контаминация которых связана с высоким риском развития инфекции (используются на стерильных тканях, полостях и сосудистой системе).
- К категории критических предметов относятся: хирургические инструменты, имплантаты, иглы, сердечные катетеры, сосудистые катетеры, мочевые катетеры, внутриматочные устройства.
- Методы деkontаминации критических предметов. Большинство критических предметов должны закупаться как стерильные одноразовые или подвергаться стерилизации, предпочтительнее, методом автоклавирования. При невозможности автоклавирования критические инструменты могут быть обработаны методом газовой стерилизации с использованием оксида этилена; также могут быть использованы новые низкотемпературные методы стерилизации.

Полукритические предметы

- Полукритические предметы - предметы, контактирующие со слизистыми оболочками или неинтактной кожей.
- К полукритическим предметам относятся: эндоскопы, ректальные термометры, дыхательное оборудование, оборудование для анестезии, инструменты, использующиеся во влагалище, а также любые предметы, контаминированные вирулентными микроорганизмами.
- Методы деkontаминации полукритических предметов. Большинство полукритических предметов требуют обработки методом влажной пастеризации или дезинфекции высокого уровня с использованием химических дезинфектантов (глутаральдегид, хлорактивные вещества, стабилизированная перекись водорода, надкислоты).

Некритические предметы

- Некритические предметы - предметы, контактирующие только с интактной кожей и не входящие в контакт со слизистыми оболочками, а также предметы, не находящиеся в непосредственном контакте с пациентом.
- К некритическим предметам относятся: приборы для измерения артериального давления, подмышечные термометры, костыли, постельное белье, прикроватные столики, другие предметы мебели, полы.
- Методы деконтаминации некритических предметов. Очистка или дезинфекция низкого уровня.

Корреляция классификации больничных инструментов по И.Х.Сполдингу с уровнем дезинфекции (по данным EPA)

Классификация больничных инструментов и предметов	Примеры больничных инструментов и предметов	Классификация процессов по Сполдингу:	Классификация средств по EPA (Американское агентство по охране окружающей среды).
Критичные - проникают в стерильные ткани или сосудистое русло	Имплантанты, скальпели, иглы, другие хирургические инструменты	Стерилизация - спороцидные химические вещества, длительный контакт	Химический стерилиант-дезинфектант
Полукритичные - Соприкасаются со слизистыми оболочками (за исключением стоматологических инструментов)	Эндоскопы Термометры, ванны для гидротерапии	Дезинфекция высокого уровня - спороцидные химические вещества, кратковременный контакт Дезинфекция промежуточного уровня	Химический стерилиант-дезинфектант Дез. средства с указанием в инструкции по применению о наличии туберкулоцидной активности
Некритичные	Стетоскопы, настольные приборы, подкладные судна	Дезинфекция низкого уровня	Дез. средства без указания в инструкции о наличии туберкулоцидной активности

Стерилизация изделий медицинского назначения включает три этапа: а) дезинфекцию; б) предстерилизационную очистку; в) собственно стерилизацию.

Дезинфекция изделий медицинского назначения проводится с целью предупреждения профессиональных заражений медицинских работников.

Показаниями для дезинфекции изделий медицинского назначения является использование их:

- при гнойных операциях или манипуляциях у инфекционных больных;
- у пациентов, являющихся носителями патогенных микроорганизмов и HBsAg;
- у больных и носителей ВИЧ-инфекции;
- у пациентов, перенесших гепатит неустановленной этиологии;
- у лиц, относящихся к группам риска заболевания гепатитом и ВИЧ-инфекцией;
- для введения живых вакцин;
- по эпидемическим показаниям.

- Идеальный дезинфектант:

1. Микробиологическая эффективность;
2. безопасность для применения как для персонала так и для пациентов;
3. совместимость с обрабатываемыми материалами (за "золотой стандарт" здесь принимается воздействие, которое оказывает на материалы глутаровый альдегид);
4. экономичность;
5. степень устойчивости к органической нагрузке (например, крови);
6. скорость действия (требуемая экспозиция);
7. наличие запаха;
8. отсутствие воспламеняемости и взрывоопасности;
9. простота в приготовлении, применении, удалении.

Глоссарий:

- Перечислить все основные факторы внешней среды, влияющие на численность микроорганизмов. Дать краткие пояснения.