

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ

КЛИНИЧЕСКАЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум



Минск 2008

УДК 616–036.22+576.8 (076.5)

ББК 52.64 я 73

К 49

Утверждено Научно-методическим советом университета в качестве практикума 28.11.2007 г., протокол № 3

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова; канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич; канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов; канд. мед. наук Е. И. Гудкова

Р е ц е н з е н т ы: зав. каф. клинической микробиологии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета, д-р мед. наук, проф. И. И. Генералов; зав. каф. биологии Белорусского государственного медицинского университета, канд. мед. наук, доц. В. Э. Бутвиловский

Клиническая, эпидемиологическая и санитарная микробиология : практикум / Т. А. Канашкова
К 49 [и др.]. – Минск : БГМУ, 2008. –
64 с.

Отражены вопросы клинической, эпидемиологической и санитарной микробиологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ.
Предназначено для студентов медико-профилактического факультета.

© Оформление. Белорусский государственный
медицинский университет, 2008

Введение

Уважаемые студенты!

Практикум «Клиническая, эпидемиологическая и санитарная микробиология» для лабораторных занятий студентов 3 курса медико-профилактического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ поможет в освоении этих важных для врача-гигиениста, эпидемиолога разделов микробиологии.

Каждое занятие в практикуме состоит из трех частей: первая часть включает перечень изучаемых вопросов, вторая – предназначена для выполнения лабораторной работы во время занятий и подписывается преподавателем, третья – содержит дополнительную теоретическую информацию и задания для самостоятельной работы при подготовке к занятию. Для каждого занятия указаны ссылки на источники основной и дополнительной литературы для самоподготовки (см. Литература).

Авторы выражают благодарность доцентам Н. Ф. Казак, И. А. Крылову, В. А. Молочко, ст. преподавателям Е. Ю. Кирильчик, В. В. Слизень, Ж. Г. Шабан за ценные замечания и предложения по содержанию отдельных разделов практикума.

С благодарностью примем все замечания и пожелания по содержанию практикума, которые будут учтены при подготовке последующих его изданий.

Коллектив авторов

Список сокращений:

БГКП	- Бактерии группы кишечной палочки
БОЕ	- Бляшкообразующая единица
ВБИ	- Внутрибольничная инфекция
ГЛФ	- Готовая лекарственная форма
ГСИ	- Гнойно-септическая инфекция
ЖКТ	- Желудочно-кишечный тракт
ЖСА	- Желточно-солевой агар
КМАФАиМ (МАФАиМ)	- Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов
КОЕ	- Колониеобразующая единица
КОС	- Коагулазоотрицательный стафилококк
ЛБТА	- Лактозобромтимоловый агар
МИК (МПК)	- Минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
МПА	- Мясопептонный агар
МПБ	- Мясопептонный бульон
ОКБ	- Общие колиформные бактерии
ОМЧ	- Общее микробное число
ПВБ	- Промывные воды бронхов
ПВЖ	- Промывные воды желудка
ТКБ	- Термотолерантные колиформные бактерии
УПМ	- Условно-патогенный микроорганизм

Занятие № 1: Клиническая микробиология. Методы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи, подкожной клетчатки, бактериемии, сепсиса.

Клиническая микробиология: определение, цели, задачи. Условно-патогенные микробы (УПМ). Особенности эпидемиологии, патогенеза, диагностики заболеваний, вызываемых УПМ. Критерии этиологической значимости УПМ (см. учебно-методическое пособие).

Клинические формы и этиология гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подкожной клетчатки. Методы микробиологической диагностики. Бактериологический метод. Материалы для исследования, правила и методы забора. Критерии оценки этиологической значимости выделенных микроорганизмов. Определение чувствительности к антибиотикам. Оценка антибиотикограмм.

Бактериемия. Сепсис. Септикопиемия. Этиология, определение понятий. Методы микробиологической диагностики сепсиса. Бактериологический метод. Правила и методы забора крови для исследования, особенности выделения возбудителя и оценки результатов.

- Источники:**
1. Материал лекции.
 2. [2], [4] – (учебники).
 3. [3] – (практикумы).
 4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Самостоятельная работа: исследование гноя, взятого из ожоговой раны (1 этап).</p> <p>2. Исследования крови лихорадящего больного: посев в среду обогащения (1 этап).</p> <p style="text-align: center;"><i>Демонстрация.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Различные виды исследуемого материала. 	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 60%;"> <p style="text-align: center;">Исследование гноя (1 этап)</p> <p>(1 этап)</p> <p style="text-align: center;">Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <p style="text-align: center;">ЖСА Левина МПА с фурагином</p> </div> <div style="width: 35%;"> <p style="text-align: center;">Исследование крови</p> <p style="text-align: center;">Сахарный бульон (среда обогащения) 37°C</p> </div> </div> <p style="text-align: right;"><i>Посевы инкубируются в термостате при 37°C – 24-48 час</i></p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;"> <p>Подпись преподавателя</p> </div>

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

ИНСТРУКЦИЯ	Критерии этиологической роли УПМ
<p>по технике безопасности для студентов, работающих на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии</p>	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Студенты, находящиеся в лаборатории, должны быть в халатах и шапочках. 2. Не допускаются излишние разговоры и хождения. 3. Каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом. 4. В бактериологической лаборатории запрещается прием пищи и курение. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.

5. При работе с микробными культурами и другим бактериологическим материалом ни в коем случае не прикасаться к нему руками; необходимо пользоваться инструментами (пинцетами, иглами, крючками, петлями). Весь инвентарь, находившийся в контакте с данным материалом, подлежит стерилизации или уничтожению.
6. При отсасывании жидкого материала рекомендуется пользоваться резиновыми грушами. Пипетки должны быть закрыты ватными тампонами.
7. Переливание инфицированных жидкостей из сосуда в сосуд производят над лотком, наполненным дезинфицирующим раствором.
8. Всю работу, связанную с посевами, пересевами производят возле спиртовок (горелок), обжигая при этом края пробирок, петли, шпатели и пр.
9. Пробирки, колбы, флаконы и пр., в которые в процессе работы помещается материал, немедленно подписываются с указанием характера материала, названия и номера культуры и даты.
10. Если заразный материал попал на окружающие предметы, необходимо немедленно произвести тщательную дезинфекцию, залить это место дезинфицирующим раствором, а затем, если это возможно, прожечь тампоном с горящим спиртом.
11. Предметы, посуду, материал, инфицированные во время работы, собирают в баки или ведра, закрывают и в тот же день стерилизуют.
12. Культуры, если это необходимо, хранят в агаровых столбиках под маслом в закрытых пробирках с этикетками.
13. После работы все материалы и культуры должны быть убраны, рабочее место приведено в полный порядок.
14. Ежедневная тщательная уборка помещения производится влажным способом с применением дезинфицирующих средств.

Этиология (основные возбудители) ГСИ кожи, подкожной клетчатки

1.
2.
3.
4.
5.

Занятие № 2: Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний бронхолёгочной системы и мочевыделительной системы

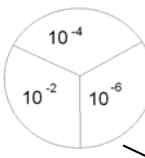
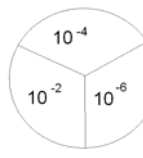
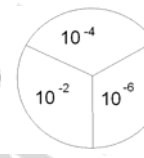

Клинические формы и этиология неспецифических инфекций бронхов и лёгких логической диагностики. Материал для исследования, правила и методы забора, пере Бактериологический метод. Критерии оценки этиологической роли выделенных микро

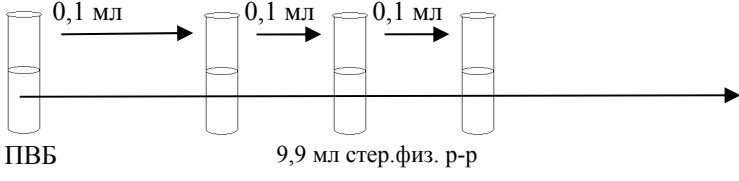
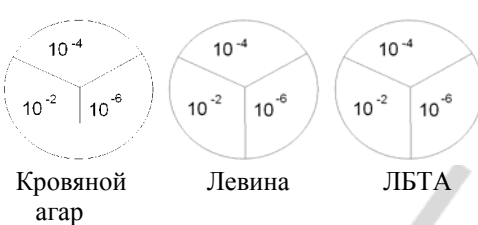
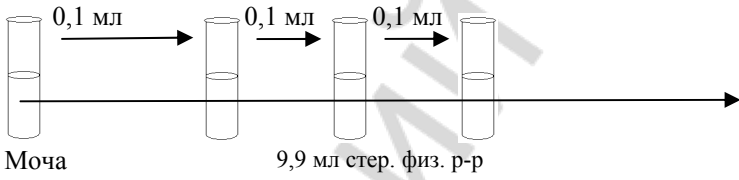
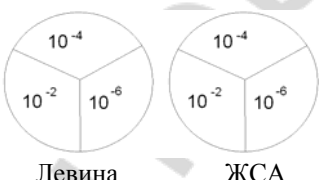

Клинические формы и этиология инфекций мочевыделительной системы. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы забора, пересылки и обработки. Бактериологическое исследование мочи, особенноти. Критерии оценки этиологической роли выделенных микробов. Определение чувствительности к антибиотикам.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литер

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Самостоятельная работа (2 и 3 этапы) – исследование гноя, взятого из ожоговой раны.</p>	<p style="text-align: center;">Исследование гноя (II и III этапы)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Левина</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА с фурагином</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Характеристика колоний:</p> <hr/> <hr/> <hr/> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала: $N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x$, где: n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл, 10^x – степень разведения материала.</p> <p>N = _____ КОЕ/мл</p> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Заключение: _____</p> </div> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Тест на оксид _____</p> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 20px; margin-left: 100px; background-color: gray;"></div> </div> <div style="margin-top: 20px;">  <p>МПА (среда накопления)</p> </div> </div>

<p>2. Исследование промывных вод бронхов больного пневмонией (1 этап):</p> <p>а) приготовление мазка с окраской по Граму, микроскопия;</p> <p>б) количественный посев на различные питательные среды.</p>	<p style="text-align: center;">Исследование ПВБ (I этап)</p>  <p style="text-align: center;">Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p>  <p style="text-align: center;">Кровяной агар Левина ЛБТА</p> <p style="text-align: right;">Препарат _____ Окраска _____</p>
<p>3. Исследование мочи больного пиелонефритом (1 этап):</p> <p>а) приготовление мазка из осадка мочи с окраской по Граму, микроскопия;</p> <p>б) количественный посев на различные питательные среды.</p>	<p style="text-align: center;">Исследование мочи (I этап)</p>  <p style="text-align: center;">Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p>  <p style="text-align: center;">Левина ЖСА</p> <p style="text-align: right;">Препарат _____ Окраска _____</p>
<p>4. Продолжение исследования крови (II этап).</p> <p>Демонстрация.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Метод обработки мокроты. • Материал для исследования при уроинфекциях. • 3. Рост синегнойной палочки на МПА с фурагином (количественный посев). 	<p style="text-align: center;">Исследование крови (II этап)</p>  <p style="text-align: center;">Сахарный бульон</p> <p style="text-align: center;">Кровяной агар ЖСА</p> <p style="text-align: center;">37⁰C – 24-48 ч.</p> <p style="text-align: right;">Препарат _____ Окраска _____</p>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.

Этиология (основные возбудители) респираторных ГСИ

1.
2.
3.
4.
5.

Этиология (основные возбудители) ГСИ мочевыделительной системы

1.
2.
3.
4.
5.

К занятию № 3. Этиология (основные возбудители) ВБИ

1.
2.
3.
4.
5.

К занятию № 3.

Внутрибольничная инфекция (синонимы: госпитальная инфекция, нозокомиальная инфекция) - любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, приобретенное, пациентом вследствие его пребывания или оказания различных видов стационарной и амбулаторно-поликлинической медицинской помощи в организациях здравоохранения, при оказании скорой медицинской помощи и медицинской помощи медицинским персоналом на дому, а также инфекционное заболевание сотрудника организации здравоохранения в результате его профессиональной деятельности, вне зависимости от времени проявления симптомов заболевания.

От ВБИ следует отличать внебольничные (заносные) случаи инфекционных заболеваний, зарегистрированные в процессе оказания медицинской помощи в стационарных, амбулаторно-поликлинических условиях или на дому. Основными их признаками являются: отсутствие причинно-следственной связи с выполнением лечебно-диагностических манипуляций и процедур; приобретение инфекционного заболевания в пределах минимального инкубационного периода до обращения за медицинской помощью.

Особенности диагностики ВБИ

- Микробиологическое исследование трех объектов:
 1. Материал от больного,
 2. Источник инфекции
 3. Факторы передачи,
- Типирование (установление внутривидовой принадлежности и родства штаммов).


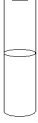
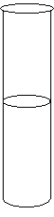
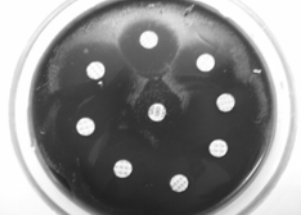
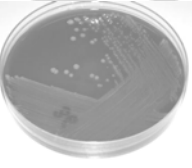
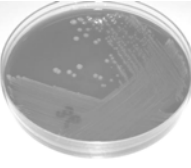

Занятие № 3: Клиническая микробиология (продолжение). Внутрибольничные инфекции.

Внутрибольничные инфекции, понятие, распространение. Этиология. Особенности госпитальных штаммов возбудителей. Принципы микробиологической диагностики внутрибольничных инфекций. Профилактика. Микробиологический мониторинг возбудителей ВБИ.

Источники:

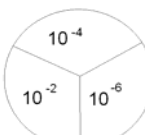
Материал лекции.
[2], [4] – (учебники).
[3] – (практикумы).
[5], [6], [7], [8] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Продолжение исследования гноя (3 этап). Исследование чувствительности выделенной культуры бактерий к антибиотикам.</p>	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; justify-content: space-around; width: 100%;"> <div style="text-align: center;">  <p>МПА (среда накопления)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Тест на плазмокоагулазу</p> </div> </div> <div style="margin: 10px 0;"> <p>Заключение: _____</p> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; width: 100%;"> <div style="text-align: center;">  <p>Суспензия бактерий в физ. р-ре</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Посев «газоном» на Мюллер-Хинтон агар</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Инкубация 37°C-24 ч.</p> </div> </div> <div style="margin-top: 10px;"> <p>Нанесение дисков с антибиотиками на засеянную «газоном» среду</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px; display: flex; justify-content: flex-end;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> </div>
<p>2. Продолжение исследования крови (III и IV этапы).</p>	<p style="text-align: center;">Исследование крови (III и IV этапы)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Кровяной агар</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> </div> <p>Характеристика колоний:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Заключение: _____</p> <div style="margin-top: 20px; display: flex; justify-content: flex-end;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> </div> <div style="margin-top: 10px; display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  <p>Тест на плазмокоагулазу</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Цитратная кро плазма: 37°C 2, 4, 24 час (коагуляци</p> </div> </div>

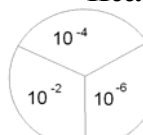
3. Продолжение исследования промывных вод бронхов (II этап).

Исследование ПВБ (II этап)



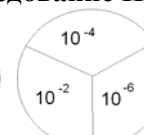
10⁻⁴
10⁻² 10⁻⁶

Кровяной агар



10⁻⁴
10⁻² 10⁻⁶

Левина



10⁻⁴
10⁻² 10⁻⁶

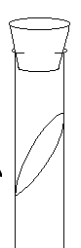
ЛБТА

Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:
 $N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x$, где:
 n – кол-во колоний на секторе,
 20 – коэф. перерасчета на 1 мл,
 10^x – степень разведения материала.
 N = _____ КОЕ/мл

Препарат _____

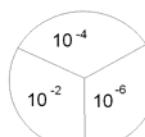
Окраска _____



среда Ресселя

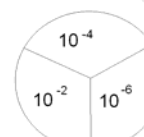
4. Продолжение исследования мочи (II этап).

Исследование мочи (II этап)



10⁻⁴
10⁻² 10⁻⁶

ЖСА



10⁻⁴
10⁻² 10⁻⁶

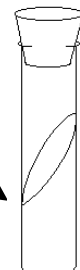
Левина

Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:
 $(\text{КОЕ/мл}) = n \times 20 \times 10^x$, где:
 n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл,
 10^x – степень разведения материала.
 _____ КОЕ/мл

Препарат _____

Окраска _____



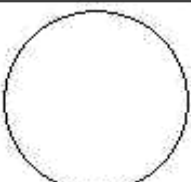
Среда Клиглера

Демонстрация.

- Рост клебсиеллы пневмонии на ЛБТА с пенициллином (количественный посев).
- Капсула у клебсиеллы пневмонии, окраска по Бурри-Гинсу.

Препарат _____

Окраска _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3

<p style="text-align: center;">КЛАССИФИКАЦИЯ ВБИ</p> <p>По этиологическому признаку ВБИ подразделяются на: бактериальные; вирусные; грибковые; протозойные; метазойные.</p> <p>По способу инфицирования больных ВБИ: экзогенные; эндогенные; аутоинфекции.</p> <p>В зависимости от профиля оказываемой медицинской помощи ВБИ: инфекции больных хирургического профиля; инфекции родильниц; инфекции новорожденных; инфекции прочих больных.</p> <p>В зависимости от входных ворот и локализации инфекции ВБИ: хирургические раневые инфекции; инфекции ожоговой раны; инфекции кожи и мягких тканей; первичные инфекции кровотока; сепсис; инфекции сердечно-сосудистой системы; инфекции костей и суставов; инфекции глаз; инфекции уха; инфекции носа, горла, полости рта и верхних дыхательных путей; инфекции нижних дыхательных путей; пневмония; инфекции центральной нервной системы; инфекции</p>	<p>В зависимости от вида возбудителя ВБИ: вызываемые облигатно-патогенными возбудителями; вызываемые условно-патогенными возбудителями.</p> <p>В зависимости от распространения патологического очага ВБИ: локализованные инфекции; генерализованные инфекции; системные инфекции.</p> <p>По характеру и длительности течения ВБИ: острые; подострые; хронические.</p> <p>По степени тяжести ВБИ: микроноительство; легкие формы; среднетяжелые формы; тяжелые формы.</p> <p>В зависимости от механизмов, путей и факторов передачи ВБИ: аэрозольные (воздушно-капельные и воздушно-пылевые); контактные (прямые и опосредованные); парентеральные (постинъекционные, постоперационные, посттрансплатационные, постэндоскопические, послеродовые, посттранфузионные, постдиализные, постгемосорбционные и другие); фекально-оральные (пищевые и водные).</p>
---	---

мочевыводящих путей; инфекции репродуктивной системы; инфекции пищеварительной системы.	
--	--

Репозиторий БГМУ

Занятие № 4: Эпидемиологическая микробиология. Методы диагностики пищевых отравлений.

Эпидемиологическая микробиология, определение, задачи. Микробиологическое слежение как составная часть эпиднадзора за инфекционными заболеваниями.

Пищевые отравления микробной этиологии, классификация. Возбудители. Принципы этиологической диагностики (см. методичку).

Правила и методы эпидемиологического расследования пищевых отравлений.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																																																																																													
<p>1. Продолжение исследования гноя. Исследование чувствительности выделенной культуры бактерий к антибиотикам (учет результатов).</p>	<p>Антибиотикограмма:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Антибиотик</th> <th style="width: 30%;">Диаметр зоны, мм</th> <th style="width: 40%;">Интерпретация результата</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <div style="text-align: center;">  <p style="text-align: center;">Диаметр зоны задержки роста, мм</p> </div>	Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата																<p>Критерии интерпретации результатов определения бактерий, пограничные значения диаметров зон ингибирования:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Антибиотик</th> <th colspan="2">Диаметр зон ингибирования</th> </tr> <tr> <th>устойчивый</th> <th>умеренно-устойчивый</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;"><i>Staphylococcus spp.:</i></td> </tr> <tr> <td>Бензилпенициллин</td> <td>≤28</td> <td>–</td> </tr> <tr> <td>Оксациллин</td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>• <i>S. aureus</i></td> <td>≤10</td> <td>11–12</td> </tr> <tr> <td>• КОС</td> <td>≤17</td> <td>–</td> </tr> <tr> <td>Канамицин</td> <td>≤13</td> <td>14–17</td> </tr> <tr> <td>Гентамицин</td> <td>≤12</td> <td>13–14</td> </tr> <tr> <td>Ципрофлоксацин</td> <td>≤15</td> <td>16–20</td> </tr> <tr> <td>Тетрациклин</td> <td>≤14</td> <td>15–18</td> </tr> <tr> <td>Эритромицин</td> <td>≤13</td> <td>14–22</td> </tr> <tr> <td>Линкомицин</td> <td><17</td> <td>17–20</td> </tr> <tr> <td>Хлорамфеникол</td> <td>≤12</td> <td>13–17</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;"><i>Enterobacteriaceae:</i></td> </tr> <tr> <td>Ампициллин</td> <td>≤13</td> <td>14–16</td> </tr> <tr> <td>Цефазолин</td> <td>≤14</td> <td>15–17</td> </tr> <tr> <td>Цефотаксим</td> <td>≤14</td> <td>15–22</td> </tr> <tr> <td>Канамицин</td> <td>≤13</td> <td>14–17</td> </tr> <tr> <td>Гентамицин</td> <td>≤12</td> <td>13–14</td> </tr> <tr> <td>Ципрофлоксацин</td> <td>≤15</td> <td>16–20</td> </tr> <tr> <td>Ломефлоксацин</td> <td>≤18</td> <td>19–21</td> </tr> <tr> <td>Тетрациклин</td> <td>≤14</td> <td>15–18</td> </tr> <tr> <td>Доксициклин</td> <td>≤12</td> <td>13–15</td> </tr> <tr> <td>Хлорамфеникол</td> <td>≤12</td> <td>13–17</td> </tr> </tbody> </table>	Антибиотик	Диаметр зон ингибирования		устойчивый	умеренно-устойчивый	<i>Staphylococcus spp.:</i>			Бензилпенициллин	≤28	–	Оксациллин			• <i>S. aureus</i>	≤10	11–12	• КОС	≤17	–	Канамицин	≤13	14–17	Гентамицин	≤12	13–14	Ципрофлоксацин	≤15	16–20	Тетрациклин	≤14	15–18	Эритромицин	≤13	14–22	Линкомицин	<17	17–20	Хлорамфеникол	≤12	13–17	<i>Enterobacteriaceae:</i>			Ампициллин	≤13	14–16	Цефазолин	≤14	15–17	Цефотаксим	≤14	15–22	Канамицин	≤13	14–17	Гентамицин	≤12	13–14	Ципрофлоксацин	≤15	16–20	Ломефлоксацин	≤18	19–21	Тетрациклин	≤14	15–18	Доксициклин	≤12	13–15	Хлорамфеникол	≤12	13–17
Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата																																																																																												
Антибиотик	Диаметр зон ингибирования																																																																																													
	устойчивый	умеренно-устойчивый																																																																																												
<i>Staphylococcus spp.:</i>																																																																																														
Бензилпенициллин	≤28	–																																																																																												
Оксациллин																																																																																														
• <i>S. aureus</i>	≤10	11–12																																																																																												
• КОС	≤17	–																																																																																												
Канамицин	≤13	14–17																																																																																												
Гентамицин	≤12	13–14																																																																																												
Ципрофлоксацин	≤15	16–20																																																																																												
Тетрациклин	≤14	15–18																																																																																												
Эритромицин	≤13	14–22																																																																																												
Линкомицин	<17	17–20																																																																																												
Хлорамфеникол	≤12	13–17																																																																																												
<i>Enterobacteriaceae:</i>																																																																																														
Ампициллин	≤13	14–16																																																																																												
Цефазолин	≤14	15–17																																																																																												
Цефотаксим	≤14	15–22																																																																																												
Канамицин	≤13	14–17																																																																																												
Гентамицин	≤12	13–14																																																																																												
Ципрофлоксацин	≤15	16–20																																																																																												
Ломефлоксацин	≤18	19–21																																																																																												
Тетрациклин	≤14	15–18																																																																																												
Доксициклин	≤12	13–15																																																																																												
Хлорамфеникол	≤12	13–17																																																																																												
<p>2. 1-й этап диаг-</p>	<p><i>Диагностика пищевого отравления (1 этап)</i></p>																																																																																													

Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы

Пищевые отравления – острые системные заболевания, возникающие в результате приема в пищу продуктов, массовно обсемененных микроорганизмами или содержащих микробные экзотоксины. Пищевые отравления бактериальной природы подразделяются на пищевые токсикоинфекции и пищевые интоксикации (токсикозы), а также отравления смешанной этиологии.

<p>Пищевые токсикоинфекции (ПТИ): ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массовно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i> – <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i>, <i>P. mirabilis</i>), <i>Morganella morganii</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Hafnia</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>; сем. <i>Vibrionaceae</i> – <i>V. parahaemolyticus</i>; сем. <i>Bacillaceae</i> – <i>B. cereus</i>, <i>C. perfringens</i> серовара А; сем. <i>Streptococcaceae</i> – <i>E. faecalis</i>; сем. <i>Pseudomonadaceae</i> – <i>P. aeruginosa</i> и др.</p>	<p>Пищевые микробные токсикозы (интоксикации): острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массовного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>C. perfringens</i> и токсинами микроскопических грибов.</p>
<p>Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в кишечной стенке.</p>	<p>Патогенез. Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.</p>

Материалы для исследования: рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, моча, кровь, секционный материал (в случае летального исхода), остатки подозреваемой пищи (употребленной заболевшим), исходных продуктов и полуфабрикатов, которые использовались при её приготовлении, суточные пробы пищи, смывы и соскобы с кухонного инвентаря.

Лабораторная диагностика: выделение облигатно-патогенных или условно-патогенных энтеробактерий и вибрионов, стафилококков и их токсинов, стрептококков, бацилл, а также (по показаниям) – возбудителей и токсинов ботулизма. Для оценки этиологической роли УПМ главным критерием является количественный. Этиологически значимое кол-во УПМ 10^5 - 10^6 и более КОЕ в 1 г. Диагноз более достоверный при одновременном обнаружении тех же микробов или токсинов в пищевых продуктах, явившихся причиной заболевания. Этиологическую роль микроба подтверждает его повторное выделение из материала больного, идентичность штаммов возбудителя (по фаго- и сероварам) у большого числа больных при групповом пищевом отравлении, а также нарастание титра антител в динамике болезни.

Занятие № 5: Эпидемиологическая микробиология и иммунология. Выявление источника инфекции. Методы оценки коллективного иммунитета.

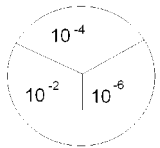
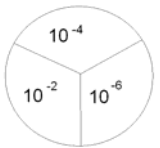
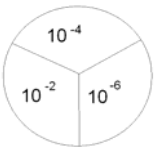
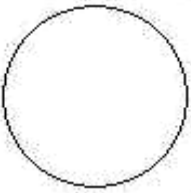

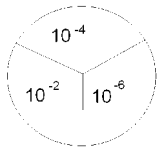
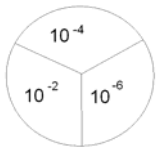

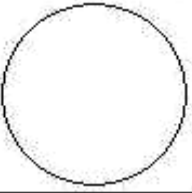

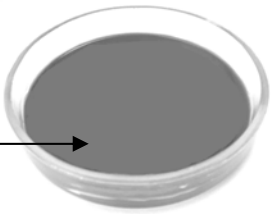
Понятие об источнике инфекции и механизме передачи возбудителя, методы выявления. Микробиологическое типирование возбудителей. Микробоносительство, виды, методы диагностики, материал для исследования.

Эпидемиологическая иммунология, определение. Понятие о восприимчивом коллективе и коллективном иммунитете. Иммунная прослойка. Иммунологическая структура населения. Методы определения и оценки коллективного иммунитета (в отношении дифтерии, кори, столбняка, коклюша, полиомиелита, туберкулеза, гриппа).

Источники:

1. Материал лекции.
2. [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. 2-й этап диагностики пищевого отравления.</p>	<p>Исследование пищевого продукта</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Левина</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА с полимиксином</p> </div> </div> <p>Характеристика колоний:</p> <hr/> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала: $N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x$, где: n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл, 10^x – степень разведения материала. $N =$ _____ КОЕ/мл</p> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  </div> <div style="margin-left: 20px; text-align: center;">  <p>Среда Клиглера</p> </div> </div>	<p>Исследование промывных вод</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Левина</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>_____</p> </div> </div> <p>Характеристика колоний:</p> <hr/> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала: $N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x$, где: n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл, 10^x – степень разведения материала. $N =$ _____ КОЕ/мл</p> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 100px; height: 100px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  </div> </div>
<p>2. Исследование отделяемого носоглотки на наличие <i>Staphylococcus aureus</i> (диагностика бактерионосительства):</p> <p>а) забор материала тампоном;</p> <p>б) посев на чашки с ЖСА.</p>	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 100px; margin-right: 20px;">  </div> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА 24-48 ч. - 37°C</p> </div> </div>	

3. Учёт РПГА для оценки поствакцинального противодифтерийного иммунитета.

1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	КС	КА
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Заключение: _____

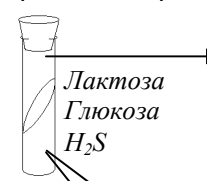
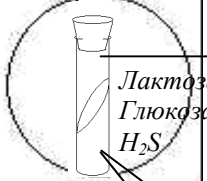

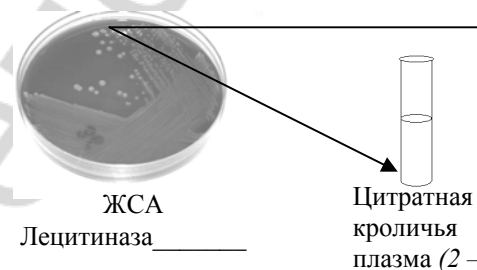
Подпись преподавателя _____

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ

Занятие № 6: Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия. Методы контроля эффективности стерилизации, дезинфекции, антисептики.

<p>Понятие о противомикробном режиме.</p> <p>Противомикробные мероприятия: определение, классификация (прямого, косвенного и сочетанного действия на микроорганизмы).</p> <p>Стерилизация: определение понятия, цели, объекты, технологические этапы. Стерилизующие агенты, аппаратура, способы проведения и методы контроля эффективности стерилизации. Контроль стерильности изделий медицинского назначения.</p> <p>Дезинфекция: определение понятия, цели, типы (текущая, заключительная), уровни, дезинфицируемые объекты. Дезинфицирующие средства: механические, физические, химические. Дезинфектанты: предъявляемые требования, основные виды, механизмы противомикробного действия. Условия проведения и методы контроля эффективности дезинфекции.</p> <p>Антисептика: определение понятия, отличие от химиотерапии. Антисептические средства: химические, биологические, физические, механические. Антисептики: предъявляемые требования, основные классы, механизмы противомикробного действия. Типы антисептики (профилактическая, терапевтическая), этапы проведения, контроль эффективности.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [2], [4] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. 3-й этап диагностики пищевого отравления.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Исследование пищевого продукта</i></p> <p>Среда Клиглера</p>  <p style="text-align: center;">Лактоза Глюкоза H₂S</p> <p>Препарат _____ Окраска _____</p> <p>МПБ с триптофаном (индол) МПА п/ж (подвижность)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Исследование промывных вод желудка</i></p> <p>Среда Клиглера</p>  <p style="text-align: center;">Лактоза Глюкоза H₂S</p> <p>Препарат _____ Окраска _____</p> <p>Среда Клиглера</p> <p>РА с О сыворотками</p>  <p style="text-align: center;">Лактоза Глюкоза H₂S</p> <p>МПА п/ж (подвижность)</p>
<p>2. 2-й этап диагностики носительства <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	 <p style="text-align: center;">ЖСА Лецитиназа _____</p> <p style="text-align: center;">Цитратная кроличья плазма (2 – 4 - 24 ч. - 37°C)</p> <p>Закключение: _____</p> <p style="text-align: right;">Препарат _____ Окраска _____</p>	

<p>3. Опыт по контролю качества стерилизации изделий из стекла.</p> <p><i>Подготовить к стерилизации и простерилизовать стеклянные пипетки.</i></p>	<p>Стерилизация изделий из стекла и контроль ее качества</p> <p>Методика стерилизации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Провести предстерилизационную очистку и дезинфекцию пипеток: а) погрузить пипетки на 15 минут в 3% раствор перекиси водорода с 0,5% препарата типа «Лотос»; б) промыть пипетки струёй тёплой воды в течение 1 минуты; в) просушить; 2. Завернуть пипетки в плотную (крафт) бумагу; 3. Простерилизовать пипетки в суховоздушном стерилизаторе при режиме: температура 180°C, экспозиция 60 минут; 4. После охлаждения на свободном конце упаковки указать дату и способ стерилизации.
<p>4. Опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария.</p> <p><i>Простерилизовать инъекционные иглы в паровом стерилизаторе (автоклаве).</i></p>	<p>Стерилизация медицинского инструментария и контроль ее качества</p> <p>Методика стерилизации:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Провести предстерилизационную очистку и дезинфекцию игл: а) промыть иглы в проточной воде 5 минут; б) замочить иглы в горячем 3% растворе перекиси водорода с 0,5% препарата типа «Лотос» на 15 минут; в) прополоскать иглы струёй тёплой воды в течение одной минуты; 2. Поместить иглы в контейнер (бактериологические пробирки); 3. Простерилизовать иглы в автоклаве: давление 2,0 атмосферы, экспозиция 20 минут. 4. После стерилизации и охлаждения отметить на контейнере дату и способ стерилизации.
<p>5. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах каплевых инфекций.</p> <p><i>Провести дезинфекцию поверхностей 0,5% раствором хлорамина;</i></p> <p><i>Проконтролировать качество дезинфекции.</i></p>	<p>Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах каплевых инфекций</p> <p>Методика:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ограничить площадь лабораторного стола или иной поверхности трафаретом 10x10 см; 2. Контаминировать её тампоном, смоченным взвесью стафилококка (дважды по 1 мин); дать высухнуть; 3. Тщательно в течение 10 минут протереть тампоном, смоченным раствором хлорамина (не ниже 20°C), ограниченную трафаретом и контаминированную стафилококком поверхность. <p>Методика контроля качества дезинфекции:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Проводится не позднее 30-45 минут после дезинфекции; 2. Смыть стерильным ватным тампоном, смоченным в растворе тиосульфата натрия, продезинфицированную площадь (не выходя за границы трафарета); 3. Тампон опустить в пробирку с соевым бульоном; 4. Через 24 часа инкубации в термостате при 37°C из бульона сделать высеv на ЖСА.
<p>6. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций</p> <p><i>Провести дезинфекцию посуды 0,5% раствором хлорамина.</i></p>	<p>Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций</p> <p>I этап:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Тампонами, увлажненными взвесью тест-микроба, контаминировать внутреннюю поверхность чашки Петри. 2. Контаминированные <i>E. coli</i> и высушенные чашки Петри опускают в раствор хлорамина (температура не ниже 20°C); 3. После 15-минутной экспозиции чашки вынимают из дезраствора. 4. Методика контроля дезинфекции (не позднее 30-45 минут после дезинфекции): 5. Всю внутреннюю поверхность чашки протереть тампоном, смоченным раствором тиосульфата натрия; 6. Тампон опустить в среду Кесслера, которую поставить в термостат при 37°C на одни сутки.
<p>7. Опыт по определению качества гигиенической антисептики кожи рук.</p>	<p>Методика испытания противомикробной активности антисептика профилактического назначения.</p> <p>Гигиеническая антисептика.</p> <p>I этап:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Вымыть руки теплой водой с туалетным мылом (2 минуты). Высушить руки на воздухе. 2. Контаминировать кожу 2-х дистальных фаланг указательного, среднего и безымянного пальцев одной руки взвесью <i>E. coli</i> плотностью 10⁹ КОЕ/мл путем погружения на 10 сек. в чашку Петри с культурой. Высушить контаминированные пальцы на воздухе. 3. Провести смывы с контаминированных пальцев руки в чашке с 10 мл 1% пептонной воды путем втирания в дно чашки (контроль). 4. Выполнить обработку кожи рук антисептиком путем тщательного втирания 3 мл препарата в кожу в течение 30 секунд. 5. Провести смывы с контаминированных фаланг пальцев руки в чашке с 10 мл 1% пептонной воды путем втирания в дно чашки (опыт). 6. Выполнить посеvы смывов. 0,5 мл смывной жидкости из чашки Петри перенести в пробирку с 4,5 мл 1% пептонной воды и далее приготовить разведения от 10⁻¹ до 10⁻⁴. 7. Все разведения смывов посеять по 0,05 мл на соответствующие сектора чашек Петри с МПА.

<p>8. Опыт по определению эффективности хирургической антисептики кожи рук.</p>	<p>Методика испытания противомикробной активности антисептика профилактического назначения. Хирургическая антисептика. I этап:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Вымыть руки теплой водой с туалетным мылом (2 минуты).2. Высушить руки на воздухе.3. Провести смывы с кожи 2-х дистальных фаланг указательного, среднего и безымянного пальцев одной руки в чашке с 10 мл 1% пептонной воды путем втирания в дно чашки (контроль).4. Выполнить обработку кожи рук антисептиком путем тщательного втирания препарата в кожу дважды по 5 мл в течение 5 минут.5. Провести смывы с кожи дистальных фаланг пальцев другой руки в чашке с 10 мл 1% пептонной воды путем втирания в дно чашки (опыт).6. Выполнить посевы смывов. <p>0,5 мл смывной жидкости из чашки Петри перенести в пробирку с 4,5 мл 1% пептонной воды и далее приготовить разведения от 10^{-1} до 10^{-3}. Все разведения смывов посеять по 0,05 мл на соответствующие сектора чашек Петри с МПА.</p>
---	---

Подпись преподавателя _____

Занятие № 7: Эпидемиологическая микробиология. Методы контроля микробной контаминации готовых лекарственных форм антибиотиков, антисептиков, дезинфектантов.

<p>Механизмы устойчивости микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам. Контроль за распространением устойчивых к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам вариантов микроорганизмов (см. метод. рекомендации). Задачи и методы контроля.</p> <p>Микробная контаминация лекарственных препаратов, готовых лекарственных форм (ГЛФ) антибиотиков, антисептиков, дезинфектантов. Пути попадания микроорганизмов в ГЛФ и причины выживания. Роль контаминированных микробами ГЛФ в развитии инфекционных осложнений и ятрогенной инфекции. Формы и методы микробиологического контроля стерильности и микробной контаминации ГЛФ, в том числе противомикробных препаратов.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [2], [4] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. 4-й этап диагностики пищевого отравления.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Исследование пищевого продукта</i></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>МПБ с трипто- фаном (индол)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА п/ж (подвиж- ность)</p> </div> </div>	<p style="text-align: center;"><i>Исследование промывных вод желудка</i></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>МПБ с трипто- фаном (индол)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА п/ж (подвиж- ность)</p> </div> </div>
	<p>Заключение: _____</p> <p>_____</p>	

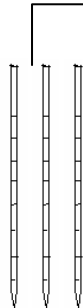
2. Опыт по контролю эффективности стерилизации изделий из стекла (продолжение).

Методика контроля качества стерилизации:

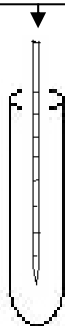
1. В асептических условиях над пламенем спиртовки втянуть стерильные среды Сабуро, Хоттингера среду до половины пипетки и выдуть её обратно в пробирку (на каждую среду отдельная пипетка);
2. Среда Хоттингера и тиогликолевую поместить в термостат при температуре 32°C, бульон Сабуро остудить при температуре 20-22°C;
3. Наблюдать за помутнением среды в течение 8 дней;

Пипетки

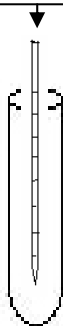
втянуть и выдуть пипетками среды



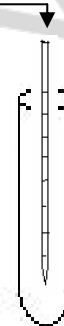
Стерилизованные пипетки



Бульон Хоттингера



Тиогликолевая среда



Бульон Сабуро

инкубация 32°C – 8 сут.

инкубация в темноте комн. t°C – 8 сут.

В случае помутнения одной из сред делают препарат-мазок и при обнаружении в нем бактерий дают заключение. При отсутствии помутнения в течение 8 дней наблюдение прекращают и дают заключение.

Препарат _____	

Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

Заключение: _____

3. Опыт по контролю эффективности стерилизации медицинского инструментария (продолжение).

Стерилизация медицинского инструментария и контроль ее качества

Методика контроля качества стерилизации:

1. В асептических условиях над пламенем спиртовки погрузить по одной простерилизованной иглы Хоттингера, тиогликолевую и бульон Сабуро;
2. Среды Хоттингера и тиогликолевую поместить в термостат при температуре 32°C, бульон Сабуро при температуре 20-22°C;
3. Наблюдать за помутнением сред в течение 8 дней.



Препарат _____	○

Окраска _____	

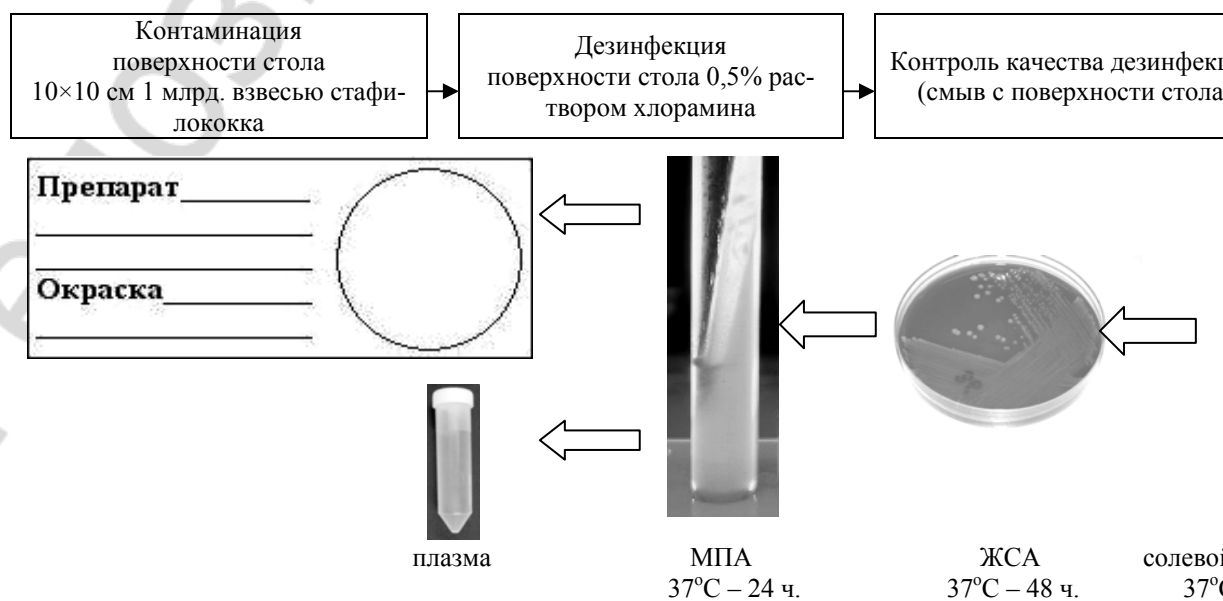
Препарат _____	○

Окраска _____	

В случае помутнения одной из сред делают препарат-мазок и при обнаружении в нем бактерий дают заключение. При отсутствии помутнения в течение 8 дней наблюдение прекращают и дают заключение.

Заключение: _____

4. Опыт по контролю эффективности дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций (продолжение).



Препарат _____	○

Окраска _____	

плазма

МПА
37°C - 24 ч.

ЖСА
37°C - 48 ч.

солевой
раствор
37°C

1. После 48-часовой инкубации в при 37°C подозрительные колонии высеять из ЖСА на ск...
поместить МПА в термостат на 24 часа при 37°C;
2. Сделать мазки с окраской по Граму из культуры на МПА и поставить пробу на плазмоко...
3. Ответ об обнаружении золотистого стафилококка дают на основании характера роста
средах, характерной морфологии и положительного теста на плазмокоагулазу;
4. Заключение: дезинфекция считается качественной, если в посевах смывов не выделен
филококк.

Препарат _____	

Окраска _____	

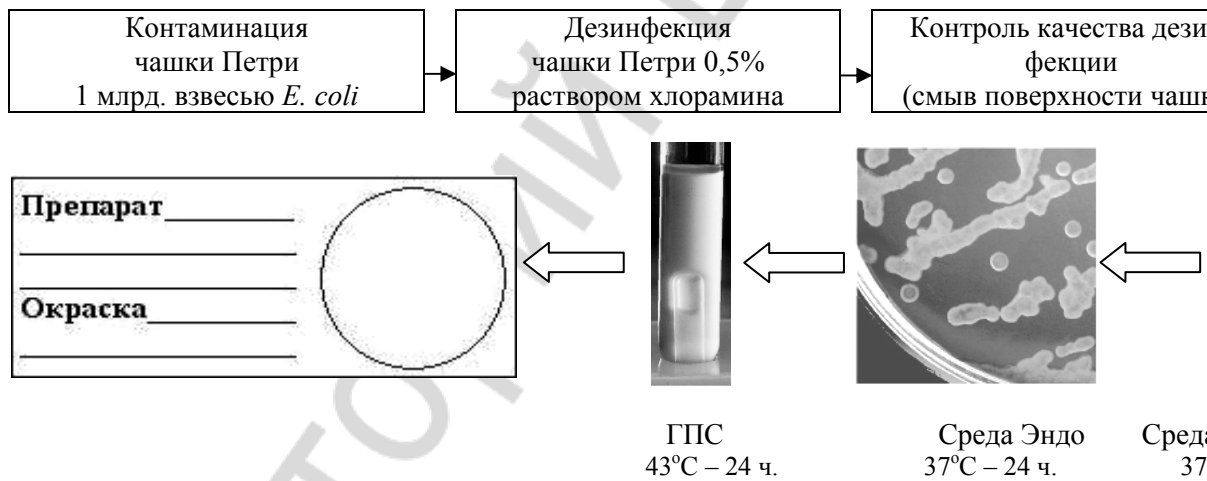
Препарат _____	

Окраска _____	

Заключение: _____

5. Опыт по контролю эффективности дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций

Сделать высев со среды Кесслера на среду Эндо петлей и выдержать среду в термостате при 37°C – 48 часов.



1. Подозрительные колонии (красного и розового цвета гладкой формы), содержащие грам...
палочки, пересеять на ГПС;
2. После суточной инкубации при 43°C учесть образование кислоты и газа;
3. Ответ об обнаружении кишечной палочки дают на основании характера роста на средах К...
грамотрицательной окраски бактерий, ферментации глюкозы с образованием кислоты и газа;
4. Заключение: дезинфекция считается качественной, если из смывов продезинфицированн...
выделена кишечная палочка.

Препарат _____	

Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

Заключение: _____

6. Опыт по определению эффективности гигиенической антисептики кожи рук (учёт).

Примеры расчета показателей:

Число колоний на секторе «10⁻⁴» в контроле 5 шт., КОЕ/мл – $N_k = 5 \times 20 \times 10^4 = 1 \times 10^6$; десятичный логарифм – $\ln_k = 6,0$.

Число колоний на секторе «10⁻¹» в опыте 4 шт., КОЕ/мл – $N_o = 4 \times 20 \times 10^1 = 0,8 \times 10^3$; десятичный логарифм – $\ln_o = 3,9$

RF (фактор редукции) = $\ln_k - \ln_o = 6,0 - 3,9 = 2,1 \ln$

Значения десятичных логарифмов чисел определяются по таблицам или с помощью калькулятора.

Методика испытания противомикробной активности антисептика профилактического Гигиеническая антисептика.

II этап:

1. Подсчитать количество колоний на секторах чашек.
2. Определить концентрацию жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл) в контрольных и опытных посевах и рифмы числа выживших микробов.

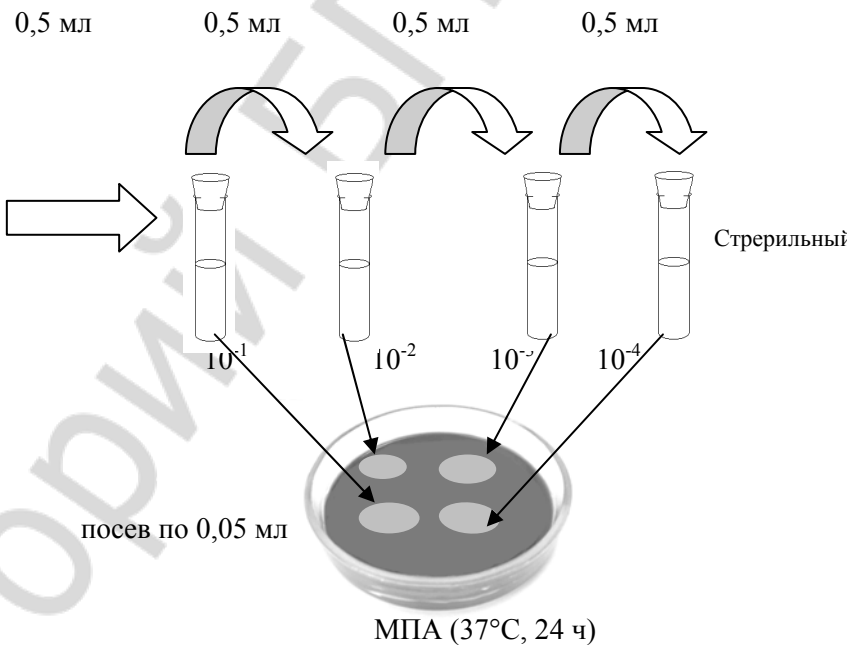
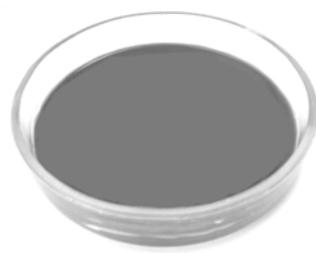
Формула для определения концентрации жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл): $N = n \times 20 \times 10^x$

где: n – число колоний на питательной среде; 20 – коэффициент перерасчета посевного объема; 10^x – факт

3. Рассчитать фактор редукции (разница между десятичными логарифмами КОЕ/мл в контроле и опыте).

Для гигиенической антисептики активность препаратов (величина фактора редукции) по отношению к *coli* должна составлять > 4,0 ln.

Чашка Петри со смывной жидкостью



Заключение: _____

7. Опыт по определению эффективности хирургической антисептики кожи рук (учёт).

Методика испытания противомикробной активности антисептика профилактического Хирургическая гигиеническая антисептика.

II этап:

1. Подсчитать количество колоний на секторах чашек.
2. Определить концентрацию жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл) в контрольных и опытных высевах и рифмы числа выживших микробов.

Формула для определения концентрации жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл):

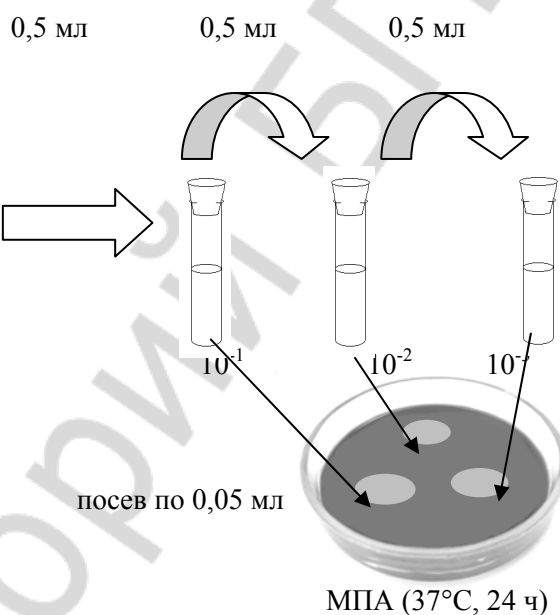
$$N = n \times 20 \times 10^x,$$

где: n – число колоний на питательной среде; 20 – коэффициент перерасчета посевного объема; 10^x – факт

3. Рассчитать фактор редукции (разница между десятичными логарифмами КОЕ/мл в контроле и опыте).

По отношению к собственной микрофлоре рук фактор редукции должен быть $> 2,0 \ln$.

Чашка Петри со смывной жидкостью



Стерильный физ. р-р по

Заключение:

8. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина.

Определение общего микробного числа в готовых лекарственных формах дезинфицирующего средства

Цель: Освоить методику контроля микробной контаминации ГЛФ противомикробными средствами.

Задание: Определить общее микробное число в образце 0,5% раствора хлорамина.

Материалы: Образец 0,5% водного раствора хлорамина в объёме 10 мл. Стерильные пробирки по 20 мл – 2. 0,5% раствор тиосульфата натрия в пробирках по 9 мл – 2.

Методика испытания:

1. Образец развести 0,5% раствором тиосульфата натрия в 10 раз (основное разведение).
2. Основное разведение разбавить 0,5% раствором тиосульфата натрия в 10 раз (дополнительное разведение).
3. По 1 мл основного и дополнительного разведений внести в пустые стерильные чашки (контроль и опыт).
4. Чашки залить 20 мл расплавленного и охлаждённого до $45 \pm 5^\circ\text{C}$ МПА, смешать, оставить до затвердения.
5. Поместить в термостат при $30-35^\circ\text{C}$ на 40 часов.

Подсчитать количество КОЕ на обеих чашках и сделать пересчёт на 1 мл испытуемого препарата.

Оценка результатов:

Микроорганизмы не должны обнаруживаться в 100 мл раствора дезинфектанта, предназначенного для хранения стерильного инструментария. В остальных типах дезинфицирующих растворов (в 10 мл) не должны обнаруживаться патогенные микроорганизмы, *S. aureus*, энтеробактерии и *P. aeruginosa*. Допускается наличие сапрофитных бактерий не более 10 в 100 мл исследуемого раствора.

Исследуемый образец ГЛФ (основное)

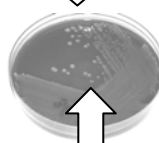


0,5% раствор хлорамина 10 мл

Разведение образца 1:10 (дополнительное)



фосфатный буфер 90 мл

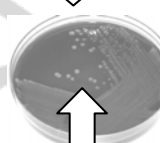


20 мл МПА

Разведение образца 1:100



фосфатный буфер 90 мл



20 мл МПА

Заключение: _____

9. Опыт по определению стерильности антисептического раствора.

Контроль стерильности готовых лекарственных форм антибиотиков и антибиотиков

Цель: Освоить методику контроля стерильности готовых лекарственных форм и препаратов.

Задание: Провести испытание на стерильность образца 0,02% водного раствора

Материалы: Образец 0,02% раствора фурацилина; две бутылочки с 40 мл стерильной среды, pH 7,2; две бутылочки с жидкой стерильной средой Сабуро, pH 5,6; по 1,0 мл бульонных культур штаммов *S. aureus* (ATCC 653 P) и *C. albicans* (ATCC 885-653) плотностью 10 КОЕ/мл; пипетки с 1 мл; пипетка стерильная 1 мл - одна; реактивы для окраски по методу Грама; предметные стёкла, микроскоп.

Методика испытания:

1. 5 мл образца испытуемого препарата внести в колбу со средой Сабуро;
 2. 5 мл образца препарата внести в колбу с тиогликолевой средой;
 3. В колбу с тиогликолевой средой внести 5 мл образца препарата и 0,1 мл взвеси тест-культуры *S. aureus* (контроль качества нейтрализации);
 4. В колбу со средой Сабуро внести 5 мл образца препарата и 0,1 мл взвеси тест-культуры *C. albicans* (контроль качества нейтрализации);
 5. Тиогликолевые среды поместить в термостат при 30-35°C, среды Сабуро инкубировать при 37°C.
- Наблюдение ведут 14 дней.

В контрольных посевах должно быть помутнение. В случае помутнения опытных посевов, не дожидаясь окончания срока наблюдения, а при отсутствии помутнения на 14 день инкубации из опытных и контрольных посевов следует приготовить мазки и окрасить их по Граму.

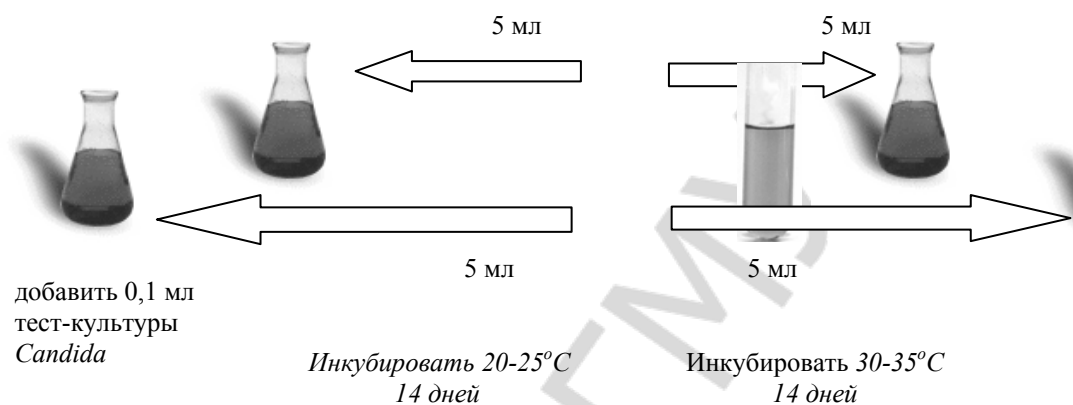
Оценка результатов:

1. Препарат считается стерильным, если в опытных посевах нет роста микроорганизмов, а в контрольных - есть рост.
2. Препарат считается нестерильным, а, следовательно, непригодным к использованию, если в опытных и контрольных посевах обнаружен рост микроорганизмов.
3. Если в контрольных посевах нет роста, исследование повторяют, используя метод мембранной фильтрации.

Среда Сабуро

Исследуемый образец ГЛС

Тиогликолевая



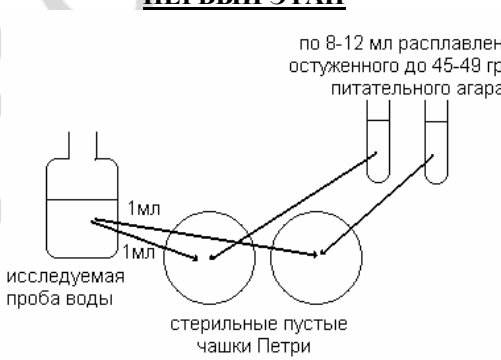
Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

Занятие № 9.: Санитарная микробиология. Санитарномикробиологическое исследование воды.

<p>Санитарная микробиология, определение, задачи, методы. Санитарно-показательные микроорганизмы.</p> <p>Санитарная микробиология воды. Микрофлора воды. Пути и источники микробного загрязнения водоёмов, роль воды в передаче инфекционных болезней. Биоценозы открытых водоёмов. Учение о сапробности. Условия и механизмы самоочищения. Принципы биологической очистки сточных вод и роль микроорганизмов в этих процессах.</p> <p>Методы санитарно-микробиологического исследования воды. Определение общего микробного числа. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий. Исследование воды на наличие патогенных микроорганизмов – возбудителей кишечных инфекций.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [4] – (учебн 3. [3] – (практикумы). 4. [6] – (доп. литерату 5. Санитарные нормы Республики Белару
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты												
1. Опыт по контролю эффективности стерилизации (продолжение, см. занятие № 7).													
2. Опыт по контролю эффективности стерилизации медицинского инструментария (заключение, см. занятие № 7).													
3. Опыт по контролю эффективности дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций (заклучение, см. занятие № 7).													
4. Опыт по контролю эффективности дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций (заклучение, см. занятие № 7).													
5. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина (продолжение, см. занятие № 7).													
6. Опыт по определению стерильности антисептического раствора (продолжение, см. занятие № 7).													
<p>7. Санитарно-микробиологическое исследование воды - 1-й этап (самостоятельная работа).</p>	<p>САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ</p> <p>Объем пробы воды на санитарно-показательные микроорганизмы – не менее 500 мл, патогенные бактерии (сальмонеллы, шигеллы) – 300 мл.</p> <p>Определение общего числа микроорганизмов (ОМЧ), образующих колонии на питательном агаре.</p> <p>Метод определяет общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37°C в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза. При отсутствии роста учет проводят через 48 часов.</p>												
<p>Демонстрация.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Батометр для отбора проб воды • Среды обогащения для исследования воды. • Исследование воды на наличие патогенных микроорганизмов (тифо-паратифозных и дизентерийных). 	<p style="text-align: center;"><u>ПЕРВЫЙ ЭТАП</u></p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="text-align: center; margin-right: 20px;">  <p>исследуемая проба воды</p> <p>1мл</p> <p>1мл</p> <p>стерильные пустые чашки Петри</p> </div> <div style="text-align: center; margin-left: 20px;"> <p>по 8-12 мл расплавлен остуженного до 45-49 гр питательного агара</p> </div> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center;">Протокол опыта</th> </tr> <tr> <th style="width: 15%;">Проба</th> <th style="width: 45%;">Количество колоний на чашке</th> <th style="width: 40%;">Результат (КОЕ/мл / число колоний)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>№1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>№2</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Заклучение</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	Протокол опыта			Проба	Количество колоний на чашке	Результат (КОЕ/мл / число колоний)	№1			№2		
Протокол опыта													
Проба	Количество колоний на чашке	Результат (КОЕ/мл / число колоний)											
№1													
№2													

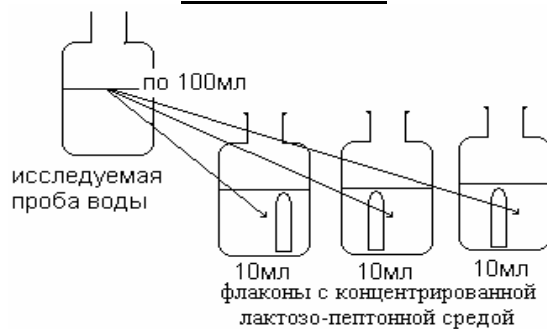
Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом

Метод основан на накоплении бактерий после посева установленного объема воды в жидкую питательную среду, с последующим пересевом на дифференциальную плотную питательную среду с лактозой и идентификацией колоний по культуральным и биохимическим тестам.

При исследовании питьевой воды качественным методом (текущий санэпиднадзор, производственный контроль) засевают 3 объема по 100 мл.

При количественном методе исследования питьевой воды (выполняется в случае обнаружения при первом качественном исследовании в пробе термотолерантных колиформных бактерий и (или) общих колиформных бактерий, и (или) колифагов) производят посев 3 объемов по 100мл, 3 объемов по 10мл, 3 объемов по 1мл.

ПЕРВЫЙ ЭТАП

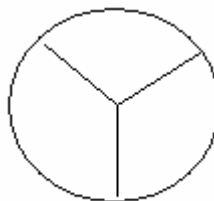


ВТОРОЙ ЭТАП

(после выращивания при 37° в течение 48 час)

Учет результатов роста на лактозо-пептонной среде

Флаконы с посевом 100 мл воды	Отсутствие роста	Помутнение среды	Помутнение среды и газообразование
1			
2			
3			



Посевы без признаков роста дальнейшему исследованию не подлежат. Из посевов с помутнением и образованием газа или только помутнением сделать высев бактериологической петлей на сектора среды Эндо для получения изолированных колоний.

Заключение _____

ТРЕТИЙ ЭТАП

(после выращивания посевов на среде Эндо при 37°С 18-20 час)

Учет результатов роста на среде Эндо

Исследуемая проба воды	Возможные варианты роста на среде Эндо	
	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ
	колонии темнокрасные или красные, с металлическим блеском или без, выпуклые с красным центром и отпечатком на питательной среде	нет роста, или колонии нетипичны, или оксидазоположительны, или Грамположительны
1-й объем 100мл		
2-й объем 100мл		
3-й объем 100мл		

Наличие ОКБ требуется подтвердить, если в среде накопления отмечено только помутнение или принадлежность к лактозоположительным колониям вызывает сомнение. В этом случае: необходимо:

1. Приготовить мазок с окрашиванием по Граму,
2. Проверить наличие отпечатка на среде Эндо после снятия петлей подозрительной колонии,
3. Поставить пробу на оксидазу,
4. Провести посев на среду с лактозой для проверки газообразования.

Результаты тестов:

Исследуемая проба воды	Отпечаток на среде Эндо	Морфология и окрашивание по Граму	Проба на оксидазу	Ферментация лактозы (учитывается на четвертом этапе)
1-й объем 100мл				
2-й объем 100мл				
3-й объем 100мл				

Заключение _____

Для определения ТКБ с секторов среды Эндо, где выросли типичные лактозоположительные колонии, сделать посев 2-3 колоний с каждого сектора в пробирки с лактозной средой и выращивать при 44 градусах 24 часа.

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

(через 24 часа выращивания в термостате при 37°C)

Провести учет выполненных тестов и дать окончательное заключение.

ОКБ – грамтрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу (глюкозу) до кислоты, альдегида и газа при температуре (37±1)°C в течение 24—48 часов.

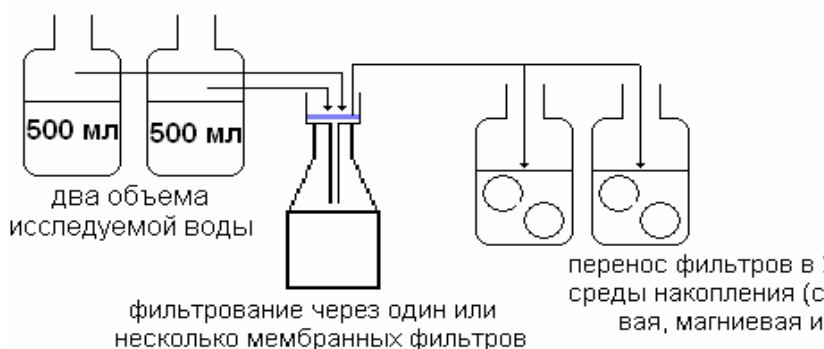
ТКБ – входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу (глюкозу) до кислоты, альдегида и газа при температуре (44±0,5)°C в течение 24 часов.

Во всех остальных случаях дается отрицательный ответ.

Заключение

Определение в питьевой воде бактерий рода *Salmonella* методом мембранной фильтрации

первый этап



второй этап

(после инкубации сред накопления при 37 градусах 18-24 часа)



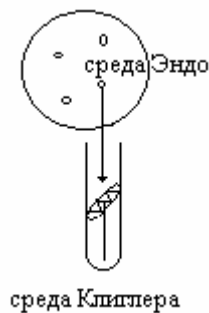
при обнаружении роста сред накопления при бактериологической и ферментально-диагностической в чашках Петри. При отсутствии роста ответ

ТРЕТИЙ ЭТАП

(после инкубации чашек при 37°C 18-20 часов)

Результаты роста на чашках с дифференциально-диагностическими средами

	Характер роста при положительном результате (росте сальмонелл)		
	Висмут-сульфит агар	Среда Эндо	Среда Клигlera
Исследуемая проба воды	Колонии круглые, черные, с металлическим блеском или с сероватым металлическим ободком вокруг них, зеленые, с темным центром и без него, с потемнением среды под колонией.	Колонии круглые, бесцветные или слегка розоватые, прозрачные.	Колонии слаборозовые или фиолетовые.



При обнаружении колоний, подозрительных на сальмонеллы сделать мазок из колонии, окрасить по Граму и посеять колонию в пробирку со средой Клигlera для определения биохимических свойств, подтверждающих принадлежность к роду *Salmonella*.

Заключение

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

(после инкубации среды накопления чистой культуры при 37°C 18-24 часа)

Учет результатов роста на среде Клигlera

	Лактоза	Глюкоза	Сероводород
Результат			

Пожелтение скошенной части среды указывает на ферментацию лактозы; пожелтение столбика среды с разрывом агара или пузырьками газа указывает на ферментацию глюкозы с образованием газа, пожелтение столбика среды без разрывов или пузырьков газа указывает на ферментацию глюкозы без образования газа; почернение среды в столбике указывает на образование сероводорода. Типичными для бактерий рода *Salmonella* являются культуры, ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа, не ферментирующие лактозу и сахарозу, образующие сероводород.

Заключение _____

Дальнейшему изучению подвергают также лактозоположительные бактерии или бактерии, не образующие сероводород, но обязательно ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа. У культур изучают возможность расщепления мочевины, образования ацетона и индола, ферментации сахарозы и маннита и подвижность. Таким образом, к сальмонеллам относятся бактерии, не разлагающие лактозу, сахарозу и мочевину, ферментирующие глюкозу, маннит и мальтозу с образованием газа, продуцирующие сероводород и не образующие индол, подвижные. Для окончательного заключения у выделенных культур должны быть изучены серологические свойства.

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9.

Цель санитарно-микробиологического исследования:

1. Обнаружение санитарно-показательных или патогенных микроорганизмов в определенном объеме или массы исследуемого материала
2. Определение количества обнаруженных микроорганизмов в единице объема или массы исследуемого материала.

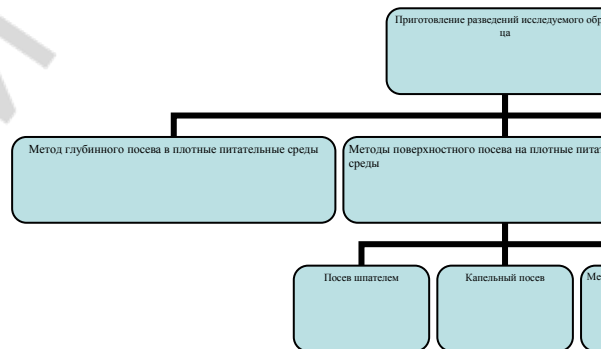
Этапы санитарно-микробиологического исследования:

1. Забор образца для исследования
2. Подготовка образца (гомогенизация, десорбция)
3. Приготовление разведений исследуемого образца
4. Выращивание микроорганизмов на питательных средах после посева приготовленных разведений
5. Идентификация выделенных микроорганизмов и их количественный учет
6. Заключение

Наиболее часто используемые методы санитарно-микробиологического исследования:

1. Микроскопический
2. Культуральный (основной)

Варианты культурального метода количественного подсчета



Все санитарно-микробиологические исследования выполняются в соответствии с действующими нормативно-методическими документами — СанПиН, Государственный отраслевой стандарт — МУ, Методические указания по методам количественного подсчета (и др.).

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

Под централизованным водоснабжением понимается использование жителями населенных мест воды для удовлетворения питьевых и хозяйственных нужд из общих труб от одного источника воды (подземного или поверхностного)

Под нецентрализованным водоснабжением понимается использование жителями населенных мест подземных источников водоснабжения для удовлетворения хозяйственных нужд при помощи водозаборных устройств без разводящей сети – шахтные и трубчатые колодцы, коптежи родников.

Кроме питьевой воды санитарно-микробиологическому исследованию подвергается вода: объектов питьевого, хозяйственно-бытового водоснабжения; источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения; бассейнов; сточные воды и др.

Питьевая вода централизованного водоснабжения. Нормативы питьевой воды централизованного водоснабжения по микробиологическим показателям

Наименование показателя	Единица измерения
Термотолерантные колиформные бактерии 1)	Число бактерий в 100 см ³
Общие колиформные бактерии 1), 2)	Число бактерий в 100 см ³
Общее микробное число 2)	Число образующих колонии бактерий в 1 см ³
Колифаги 3)	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 см ³
Споры сульфитредуцирующих клостридий 4)	Число спор в 20 см ³
Цисты лямблий 3)	Число цист в 50 дм ³

Примечания:

1. При определении проводится трехкратное исследование по 100 см³ 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 100 за год.
3. Определение проводится в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть
4. Определение проводится при оценке эффективности технологии обработки воды

При исследовании микробиологических показателей качества питьевой воды централизованного водоснабжения в каждой пробе проводится определение термотолерантных колиформных бактерий, общих колиформных бактерий, общего микробного числа. Порядок исследования других нормируемых микробиологических показателей определяется при составлении рабочей программы производствен-

При обнаружении в повторно взятых пробах общего микробного числа более 2 в 100см и (или) термотолерантных колиформных бактерий проводится исследование проб воды для определения наличия (или) энтеровирусов.

Исследования питьевой воды на наличие патогенных микроорганизмов проводятся в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.4.1064-01.

ного контроля качества воды.

При обнаружении в пробе термотолерантных колиформных бактерий и (или) общих колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится их определение в повторно взятых в экстренном порядке (в течение суток) пробах.

энтеровирусов проводится также по эпидемиологическому ториального органа госсаннадзора. Исследования воды на наличие патогенных микроорганизмов в лабораториях, имеющих разрешение на выполнение этих работ.

Питьевая вода нецентрализованного водоснабжения Нормативы питьевой воды нецентрализованного водоснабжения по микробиологическим показателям

Наименование показателя	Единица измерения
Число бактерий группы кишечной палочки (коли-индекс)	Количество БГКП в 1000 мл воды

В зависимости от местных природных и санитарных условий, а также эпидемической обстановки в населенном месте, перечень контрольных показателей расширяется по постановлению органов государственного санитарного надзора РБ.

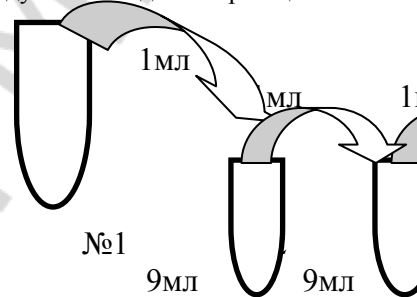
САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА (Заполните таблицу)

Характеристика некоторых санитарно-показательных микроорганизмов питьевой воды

Показатель	Морфология	Окрашивание по Граму	Оксидаза	Спора	Ферментация лактозы (глюкозы) до	Время ферментации лактозы (глюкозы)	Температура ферментации лактозы (глюкозы)
Общие колиформные бактерии (ОКБ)							
Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)							

Схема приготовления разведений для исследования:

Исследуемый жидкий образец



В какой пробирке разведение исходного образца равно 10⁻²?
ОТВЕТ: пробирка №2

Занятие № 10: Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов. Методы исследования мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов.

Пищевые продукты как источники поступления в организм токсических, аллергенных веществ и возбудителей инфекционных и паразитарных болезней. Меры профилактики.

Специфическая и неспецифическая микрофлора пищевых продуктов. Условия существования микробов в пищевых продуктах. Пути и источники микробного загрязнения. Условия сохранения и размножения микробов в пищевых продуктах.

Микрофлора мяса, мясных продуктов. Бактериологические нормативы. Мясопродукты как фактор передачи инфекционных заболеваний. Методика санитарно-бактериологического исследования мясных, рыбных и колбасных изделий. Отбор проб, посев для выявления общего количества микробов, кишечной палочки, сальмонелл, протей и анаэробов.

Микрофлора рыбы и рыбных продуктов, пути попадания, условия существования. Рыба и рыбные продукты как фактор передачи заболеваний. Санитарно-микробиологическое исследование рыбы и рыбных продуктов.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1], [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [6] – (доп. литература).
5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.

Лабораторная работа

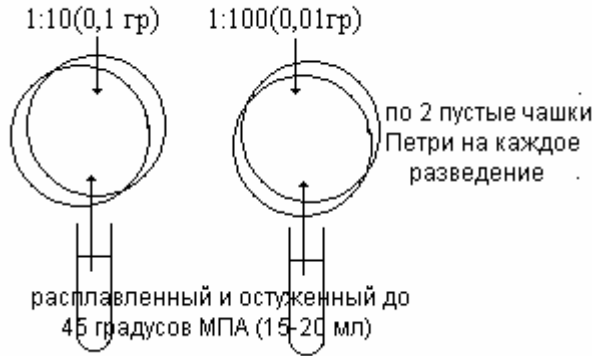
Задание	Методы, результаты
1. Санитарно-микробиологическое исследование воды – 2-й этап (самостоятельная работа, см. занятие №9).	
<p>2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов – 1-й этап:</p> <p>а) подготовка навески котлет и колбасы для посева;</p> <p>б) посев для определения общего количества микробов;</p> <p>в) посевы на обнаружение кишечной палочки, сальмонелл, протей, анаэробов.</p>	<p style="text-align: center;">САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРЕНОЙ КОЛБАСЫ</p> <p>Колбасные изделия отбирают в количестве 1-3 экземпляров в зависимости от размеров. Поверхность изделий в оболочке протирают и фламбируют спиртом. Из 3 штук или одного крупного батона берут пробу без оболочки в количестве не менее 300 г. Для этого батон разрезают на две половины и, отступая от края примерно 5 см, из боковых и центральных частей батона вырезают куски.</p> <p>Навеску отбирают в количестве 10 г из усредненной подготовленной пробы и добавляют в 100 мл стерильной жидкости для приготовления разведения 1:10. Гомогенизируют и оставляют при комнатной температуре до получения однородной жидкости.</p> <div style="text-align: center;"> <p>Схема приготовления разведений</p>  </div>

Определение количества мезофильных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) в вареной колбасе

Основано на подсчете колоний, видимых при увеличении в 2 раза, выросших на питательных средах при выращивании посевов при температуре 30°C в течение 72 ч.

ПЕРВЫЙ ЭТАП

добавление по 1 мл разведений колбасы



ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАФАНМ

(после инкубации посевов разведений молока на чашках Петри при 30°C в течение 72 ч). Подсчитываются колонии только в посевах тех разведений, где выросли колонии.

Протокол опыта

Разведение	Масса засеянной колбасы в граммах	Количество колоний на чашке Петри
1:10	0,1	1-я чашка
		2-я чашка
1:100	0,01	1-я чашка
		2-я чашка

Количество микроорганизмов в 1 мл рассчитывается по формуле: $K \cdot A$, где K – КОЕ (количество микробов в 1 мл); A – количество колоний на чашке Петри, в котором хотим определить количество микроорганизмов.

Заключение

Для определения общего количества микробов в 1 г продукта количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта. За окончательный результат количества бактерий в 1 г продукта принимают среднее арифметическое результатов подсчета колоний в нескольких чашках Петри одной массой продукта.

Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП)

ПЕРВЫЙ ЭТАП

добавление 10 мл разведения колбасы 1:10 (1,0 гр. продукта)



10 мл среды Кесслера

БГКП – это аэробные и факультативно-анаэробные грамотрицательные, не образующие спор палочки, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37°C в течение 24 ч (бродильная проба), не обладающие оксидазной активностью.

Для определения БГКП засеивается то количество продукта, в котором нормируется отсутствие БГКП. Поскольку в вареной колбасе масса продукта (в г) в которой не допускается присутствие БГКП равно 1,0 г., проводится посев 1 г продукта (10 мл надосадочной жидкости) в 8-10 см³ среды Кесслера.

ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после выращивания в термостате посева на среду Кесслера при 37°C в течение 24 ч).

Учет роста на среде Кесслера

Исследуемая проба	результат	
	отсутствие роста	присутствие
Разведение 1:10 (масса пробы 1,0г)		

Заключение при отрицательном результате _____

При обнаружении газообразования провести высев бактериологический.

ТРЕТИЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после выращивания в термостате посева на среду Эндо при 37°C 18-20 часов)

Учет роста на среде Эндо

Результат	
Отсутствие роста	красные с металлическим блеском и без него, или розовые колонии

Заключение при отрицательном результате _____

При положительном результате из подозреваемых колоний приготовить мазки, провести оксидазный тест.

Результаты: микроскопии _____ оксидазный тест _____

Обнаружение грамотрицательных палочек при отрицательной пробе на оксидазу указывает на следованной пробы колбасы.

Для подтверждения наличия кишечной палочки 2-3 подозрительные колонии засеивают в полужидкую среду с глюкозой (лактозой) и проводят по тестам: образование индола, положительная реакция с метиловым красным, отрицательная реакция Фогес-Проскауэра, утилизировать цитрат.

Определение сульфитредуцирующих клостридий

Основано на их способности вызывать почернение диагностической питательной среды в результате образования сернистого железа.

ПЕРВЫЙ ЭТАП

добавление 1 мл
разведения колбасы 1:100
(0,01 гр. продукта)



ВТОРОЙ ЭТАП

(выращивание 20-24 часа при температуре 37°C)

Изучить рост на среде Вильсон-Блера. При наличии типичных колоний приготовить мазок с окрашиванием по Граму

Результат изучения культуральных и морфологических свойств _____

При росте сульфитредуцирующих клостридий в результате восстановления сернистокислого натрия происходит взаимодействие его с хлористым железом, почернение среды из-за образования сернистого железа, или их колонии имеют черный цвет. Сульфитредуцирующие клостридии - грамположительные палочки, располагающиеся в одиночку, попарно, в виде цепочек, скоплений параллельных клеток (забором). При спорообразовании споры овальные или сферические, центральные, субтерминальные или терминальные. Сульфитредуцирующие клостридий каталазы не образуют, являются строгими анаэробами. Отрицательная проба на каталазу свидетельствует о присутствии в среде облигатных анаэробных микроорганизмов.

Заключение

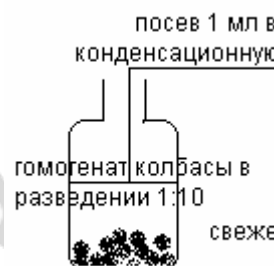
Демонстрация.

1. Рост патогенных представителей кишечной группы на мембранных фильтрах.
2. Среда, применяемые для исследования мясных продуктов.

Подпись преподавателя _____

Определение ба

Присутствие бактерий р
гнилостные процессы в



Выращивание пр

При наличии х
рода *Proteus*: ползучий
лубым оттенком; на
агаре культура подвижна
жидкости вверх по пов
мазок с окрашиванием
ность в раздавленной и
рода *Proteus* – трамот
правило, в зависимости
должен отсутствовать в
Заключение _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

Пищевой продукт определяется как продукт животного, растительного, минерального или биосинтетического происхождения, предназначенный для употребления в пищу человеком как в натуральном, так и в переработанном виде. К пищевым продуктам относят также напитки, жевательную резинку и другие вещества, применяемые при приготовлении, подготовке и переработке пищевых продуктов.

Доброкачественность готовой пищевой продукции в значительной степени зависит от качества сырья и вспомогательных материалов, систематического микробиологического контроля пищевой продукции и санитарного состояния производства.

Гигиенические нормативы по микробиологическим показателям включают контроль за 4 группами микроорганизмов:

1. Санитарно-показательные – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМА-ФАнМ, МАФАнМ) и бактерий группы кишечных палочек – БГКП (колиформы).
2. Условно-патогенные микроорганизмы – *E.coli*, *S.aureus*, бактерии рода *Proteus*, сульфитредуцирующие клостридии, паразитические вибрионы
3. Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы
4. Микроорганизмы порчи – в основном дрожжи и плесневые грибы

Для большинства групп микроорганизмов (БГКП, большинство условно-патогенных микроорганизмов, патогенные микроорганизмы в т.ч. сальмонеллы) нормируется масса продукта, в котором не допускается их наличие. В других случаях (МАФАнМ) норматив отражает количество колониеобразующих единиц в 1г(мл) продукта (КОЕ/г,мл).

Схема санитарно-микробиологического исследования пищевых продуктов



Занятие № 11: Санитарно-микробиологическое исследование молока, напитков.

<p>Микрофлора молока. Бактериологические нормативы. Пути контаминации молока патогенными микроорганизмами. Молоко как фактор передачи инфекционных болезней.</p> <p>Методы исследования молока. Проба на редуктазу. Значение. Определение общей микробной обсеменённости молока. Определение бродильного титра молока.</p> <p>Санитарно-микробиологическое исследование напитков (минеральная вода, безалкогольные напитки, пиво). Бактериологические нормативы. Методы исследования.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [4] – учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [6] – (доп. литература). 5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.
---	--

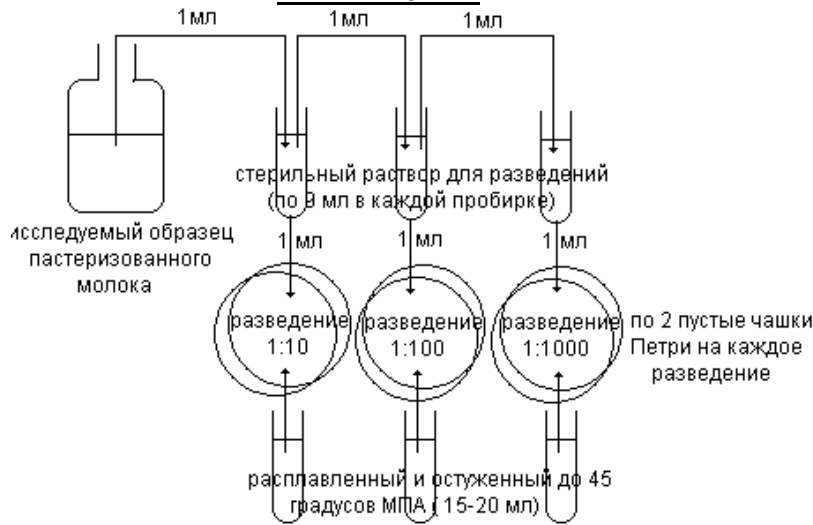
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты															
1. Санитарно-микробиологическое исследование воды - 3-й этап (самостоятельная работа, см. занятие №9).																
2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов - 2-й этап (см. занятие №10). а) подсчёт колоний для определения общего микробного числа; б) исследование посевов на среде Кесслера, высев на Эндо; в) изучение посевов на сальмонеллы, протей, анаэробы.																
3. Санитарно-микробиологическое исследование молока - 1-й этап	<p>Подготовка пробы к анализу: перед исследованием пробу молока тщательно перемешать.</p> <p style="text-align: center;">МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕДУКТАЗЫ СЫРОГО МОЛОКА С МЕТИЛЕНОВЫМ П</p> <p>Метод основан на восстановлении метиленового голубого окислительно-восстановительными факторами молока микроорганизмами. По продолжительности обесцвечивания метиленового голубого оценивают чистоту сырого молока.</p> <p>В пробирку налить 1 см³ раствора метиленового голубого и 20см³ исследуемого молока, замешать путем медленного трехкратного переворачивания пробирки.</p> <p>Пробирку поместить в водяную баню, находящуюся в термостате с температурой (37±1)°С.</p> <p>Наблюдение за изменением окраски молока провести через 40 мин., 2,5 ч, через 3,5 ч с начала проведения анализа считать момент обесцвечивания окраски молока. При этом остающийся небольшой кольцеобразный (шириной не более 1 см) или небольшая окрашенная часть внизу пробирки (шириной не более 1 см) в расчете окрашивания молока в пробирке при встряхивании не учитывается.</p> <p style="text-align: center;">Учет результатов провести по таблице:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 33%;">Класс молока</th> <th style="width: 33%;">Продолжительность обесцвечивания, ч</th> <th style="width: 33%;">Ориентировочное количество бактерий</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Высший</td> <td>Более 3,5</td> <td>До 300 тыс.</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>3,5</td> <td>От 300 тыс. до 500 тыс.</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>2,5</td> <td>От 500 тыс. до 4 млн.</td> </tr> <tr> <td>III</td> <td>40 мин</td> <td>От 4 млн. до 20 млн.</td> </tr> </tbody> </table> <p>Заключение</p>	Класс молока	Продолжительность обесцвечивания, ч	Ориентировочное количество бактерий	Высший	Более 3,5	До 300 тыс.	I	3,5	От 300 тыс. до 500 тыс.	II	2,5	От 500 тыс. до 4 млн.	III	40 мин	От 4 млн. до 20 млн.
Класс молока	Продолжительность обесцвечивания, ч	Ориентировочное количество бактерий														
Высший	Более 3,5	До 300 тыс.														
I	3,5	От 300 тыс. до 500 тыс.														
II	2,5	От 500 тыс. до 4 млн.														
III	40 мин	От 4 млн. до 20 млн.														

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МЕЗОФИЛЬНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ (МАФАНМ) В МОЛОКЕ

Определение МАФАНМ основано на подсчете колоний, видимых при увеличении в 2 раза, выросших на питательных средах при термостатировании посевов при температуре 30°C в течение 72 ч.

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ МА

(после инкубации посевов разведений молока при температуре 30°C в течение 72 ч.

Считаются колонии только в посевах от 15 до 300 колоний

Протокол опыта

Разведение молока	Объем засеянного молока	Количество колоний на чашке Петри
1:10	0,1	1-я чашка
		2-я чашка
1:100	0,01	1-я чашка
		2-я чашка
1:1000	0,001	1-я чашка
		2-я чашка:

Рассчитать количество микроорганизмов молока по формуле:

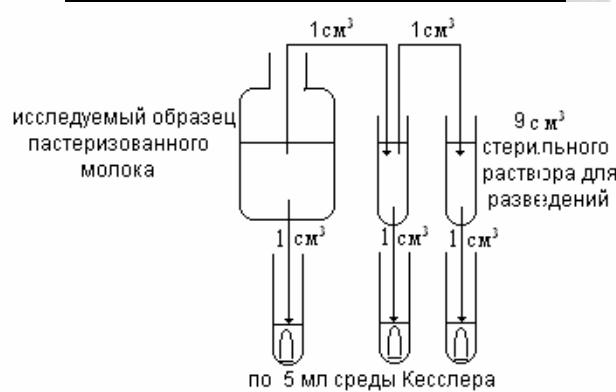
$X=N \times 10^m$, где X-количество бактерий, N-количество Петри, m- число десятикратных разведений. Запринять среднее арифметическое, полученное по

Заключение _____

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК (БГКП) В МОЛОКЕ (бродильный метод)

Метод основан на способности БГКП (бесспорные, грамотрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, в основном являющиеся представителями родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*) сбразивать в питательной среде лактозу с образованием кислоты и газа при 37°C в течение 24 часов.

ПЕРВЫЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП



ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после выращивания в термостате при 37°C в течение 24 часов)

Учет роста на среде Кесслера

Пробы	Результат	
	отсутствие роста	образование кислоты и газа
1 пробирка (1 см³)		
2 пробирка (0,1 см³)		
3 пробирка (0,01 см³)		

Заключение _____

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов дается заключение об отсутствии в нем БГКП. Если образование в наименьшем из засеянных объемов наружены в нем.

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

Отбор молока для микробиологического анализа

1. Молоко заготавливаемое. Объединенную пробу объемом 500 см³ составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки молока и сортировки его по кислотности. Для проведения редуцтазной пробы, из объединенной пробы молока выделяют пробу объемом 50-60 см³.
 2. Молоко пастеризованное в транспортной таре. От продукции, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания отбирают 50-60 см³ молока.
 3. Молоко в потребительской таре. Отбирают одну единицу потребительской тары с продукцией.
- Микробиологический анализ проводится не более чем через 4 часа с момента отбора проб. Пробы должны храниться и транспортироваться в условиях, обеспечивающих температуру не выше 6°C, не допуская подмораживания.

Микробиологические показатели качества и безопасности молока (СанПиН 11 63 РБ 98)

Продукция	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г, см ³), в которой не допускаются		примечание
		БГКП (колиформные)	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	
Молоко сырое				
-первый сорт	3x10 ⁵	-	25	Соматические клетки не более 500 тыс. в 1 см ³
-второй сорт	5x10 ⁵	-	25	Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см ³
-третий сорт	4x10 ⁶	-	25	Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см ³
Молоко пастеризованное				
-группа А	5x10 ⁴	1,0	25	S.aureus в 1 см ³ не допускается
-группа Б (в потребительской таре)	1x10 ⁵	0,1	25	S.aureus в 0,1 см ³ не допускается
Молоко топленое	2,5x10 ³	1,0	25	

Микробиологические показатели качества и безопасности напитков (СанПиН 11 63 РБ 98)

Продукция	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются		Д
		БГКП (колиформные)	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	
Питьевая вода, минеральные воды (в потребительской таре)	100	333	100	
Соки и напитки фруктово-ягодные пастеризованные	50	1x10 ³	-	
Напитки безалкогольные	-	333	25	
Пиво в бутылках	500	10,0	25	

Перед анализом пастеризованных газированных фруктовых соков и напитков необходимое количество продукта отбирают в стерильную колбу с ватной пробкой, помещают в водяную баню с температурой 30—35°C и, встряхивая колбу, освобождают продукт от двуокси углерода и нейтрализуют до рН 7,0±0,3.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ ДОМАШНЯЯ РАБОТА Заполнить таблицу по фазам микрофлоры сырого молока

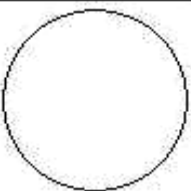
Стадия (фаза) развития микрофлоры	Название фазы	Продолжительность	Основн
1			
2			
3			
4			
5			

Занятие № 12: Санитарно-микробиологическое исследование молочных продуктов, сыров и творожных изделий.

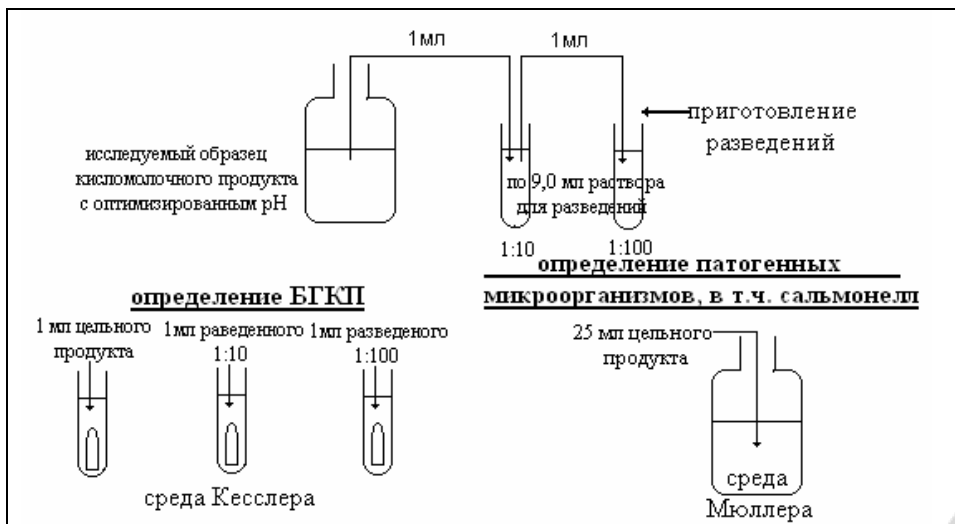
<p>Производственная и неспецифическая микрофлора кисломолочных продуктов, сыров и творожных изделий. Бактериологические нормативы. Пути контаминации патогенными микроорганизмами. Молочные продукты как фактор передачи инфекционных болезней. Методы санитарно-бактериологического исследования.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [4] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [6] – (доп. литература). 5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Санитарно-микробиологическое исследование воды - заключение (самостоятельная работа, см. занятие № 9).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов - 3-й этап (см. занятие № 10).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование молока - 2-й этап (см. занятие № 11).	

<p>4. Санитарно-микробиологическое исследование кефира - 1-й этап.</p>	<p style="text-align: center;">САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ</p> <p>Подготовка проб к анализу. Пробы кисломолочных напитков и продуктов перемешивают и нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 см³ пробы в стерильную пробирку или колбочку и добавляют 1 см³ стерильного раствора двууглекислого натрия с титрованием 100г/дм³, содержимое перемешивают.</p> <p style="text-align: center;">МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЕФИРА</p> <p>Метод основан на просмотре препаратов, окрашенных метиленовым голубым. По характеристике микрофлоры кисломолочных продуктов.</p> <p>На предметное стекло нанести каплю исследуемого продукта и распределить. Препарат высушить при комнатной температуре, зафиксировать на пламени спиртовки метиленовым голубым 5 минут. Результат зарисовать.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px; display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;">  </div> </div>
--	--

<p style="text-align: center;">ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК И ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КЕФИРЕ</p> <p style="text-align: center;"><u>ПЕРВЫЙ ЭТАП</u></p>	<p style="text-align: center;"><u>ВТОРОЙ ЭТАП</u></p> <p style="text-align: center;">(после выращивания в термостате при 37°С)</p> <p style="text-align: center;"><u>Определение БГКП</u></p> <p style="text-align: center;">Учет роста на среде Кесслера</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;">Пробы</th> <th style="width: 20%;">отсутствует рост</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 пробирка (1 см³, г)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2 пробирка (0,1 см³, г¹)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3 пробирка (0,01 см³, г)</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Заключение _____</p> <p>При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов делается заключение об отсутствии в нем БГКП. При наличии газа в наименьшем из засеянных объемов считают, что БГКП в нем.</p>	Пробы	отсутствует рост	1 пробирка (1 см ³ , г)		2 пробирка (0,1 см ³ , г ¹)		3 пробирка (0,01 см ³ , г)	
Пробы	отсутствует рост								
1 пробирка (1 см ³ , г)									
2 пробирка (0,1 см ³ , г ¹)									
3 пробирка (0,01 см ³ , г)									

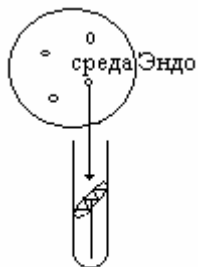


Определение патогенных микроорганизмов
 Со среды Мюллера бактериологической петлей средой Эндо для получения изолированных колониальных культур.

ТРЕТИЙ ЭТАП
 (после выращивания в термостате при 37°C 24 часа)
Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл Учет роста на чашке со средой Эндо

	Характер колоний на среде Эндо	
	Положительный результат	Отрицательный результат
	Колонии круглые, бесцветные или слегка розоватые, прозрачные.	Мазок из колонии по Граму
Исследуемая проба продукта		Отсутствие роста

Заключение _____



При обнаружении колоний, подозрительных на сальмонеллы, из подозрительных колоний приготовить мазок с окрашиванием по Граму и сделать посев в пробирку со средой Клиглера для определения биохимических свойств, подтверждающих принадлежность к роду *Salmonella*.

среда Клиглера

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП
 (после выращивания в термостате при 37°C 24 часа)
Определение патогенных микроорганизмов Учет результатов роста

Результат	Учет результатов роста	
	Лактоза	Глюкоза

Пожелтение скошенной части среды указывает на ферментацию глюкозы; пожелтение столбика среды без разрывов или пузырьков указывает на ферментацию глюкозы без образования газа; почернение среды в столбике указывает на образование сероводорода.

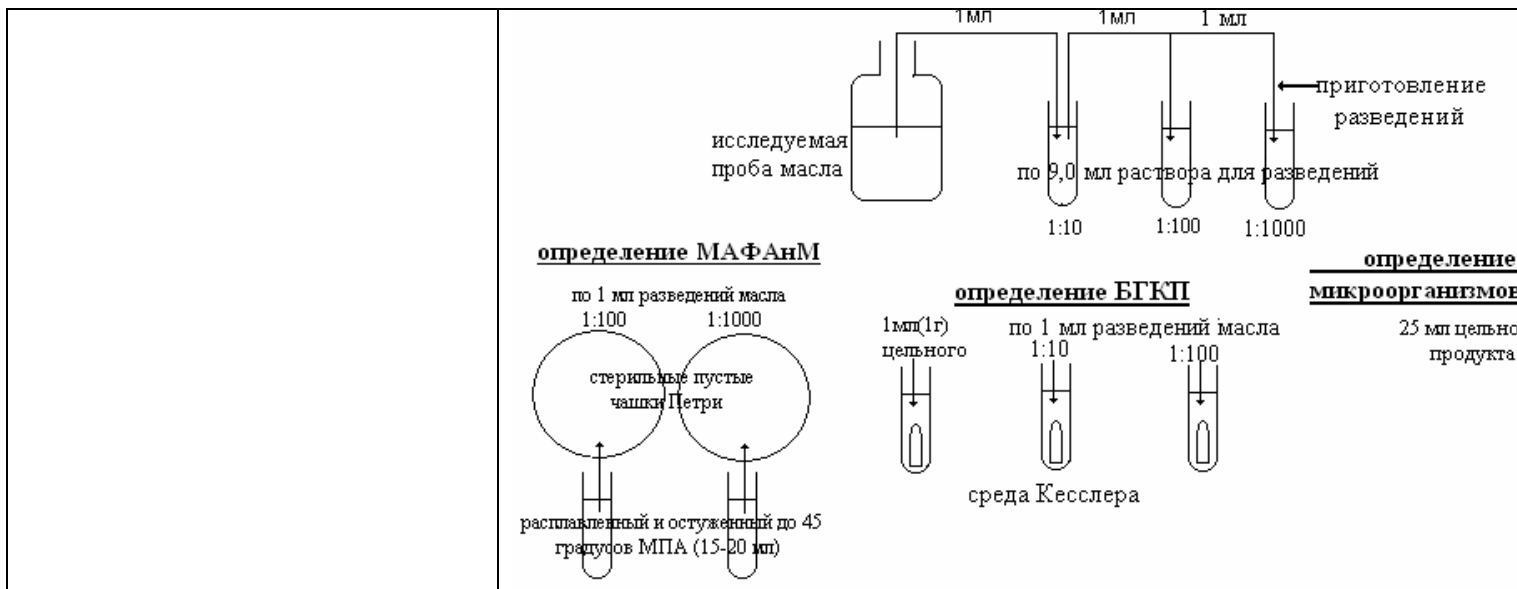
Типичными для бактерий рода *Salmonella* являются ферментирующие глюкозу с образованием кислоты и газа; ферментирующие лактозу и сахарозу, образующие газ.

Заключение _____

5. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла - 1-й этап.

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЛИВОЧНОГО МАСЛА
 Пробы масла сливочного отбирают из трех упаковок по два противоположных края каждый около 20 г (на расстоянии 3-5 см от края). Масло перед исследованием расплавляют в стерильном сосуде на водяной бане при температуре 40-45°C, перемешивая до получения однородной массы. Жидкость для разведения также подогревается на водяной бане до температуры 40-45°C.

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП Определение МАФАНМ

(после инкубации посевов разведений масла на чашках Петри при температуре 30°C в течение 72 ч.) Считаются колонии только в посевах тех разведений, где выросло от 15 до 300 колоний

Протокол опыта

Разведение масла	Объем засеянного масла	Количество колоний на чашке Петри	Среднее количество колоний
1:100	0,01		
1:1000	0,001		

Количество микроорганизмов в 1 мл рассчитывается по формуле: $K=AB/C$
 Где К – КОЕ (количество микробов в 1 мл); А- количество колоний на чашке; В – объем молока в котором хотим определить количество микроорганизмов (1 мл); С – объем посева

Заключение _____

ВТОРОЙ ЭТАП Определение БГКП Учет ро

Пробы	отсутств та
1 пробирка (1 г)	
2 пробирка (0,1 г)	
3 пробирка (0,01 г)	

Заключение _____

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов считают, что БГКП обнаружены в нем

ВТОРОЙ ЭТАП Определение патогенных микроор

Со среды Мюллера бактериологической петлей сделать до для получения изолированных колоний.

ТРЕТИЙ ЭТАП

(после выращивания в термостате при 37°C 24 часа)

Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл Учет роста на чашке со средой Эндо

	Характер колоний на среде Эндо	
	Положительный результат	Отрицательный результат
	Колонии круглые, бесцветные или слегка розоватые, прозрачные.	Мазок из колонии по Граму Отсутствие роста
Исследуемая проба масла		

Заключение _____

При обнаружении колоний, подозрительных на сальмонеллы, из подозрительных колоний приготовить мазок с окрашиванием по Граму и сделать посев в пробирку со средой Клигелера для определения биохимических свойств, подтверждающих принадлежность к роду *Salmonella*.

ЧЕТВЕРТЫЙ Э

(после выращивания в термостате

Определение патогенных микроорганизмов

Учет результатов роста на с

Результат	Лактоза	Глюкоза

ение скошенной части среды указ

ожелтение столбика среды с разрывом

ет на ферментацию глюкозы с образов

ды без разрывов или пузырьков газа у

образования газа;

ание среды в столбике указывает на об

.....ыми для бактерий рода *Salmonella* явля

рующие глюкозу с образованием или без обра

щие лактозу и сахарозу, образующие сероводо

Заключение _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.

Микрофлора пищевых продуктов подразделяется на специфическую и неспецифическую. К специфической относятся микроорганизмы, используемые для приготовления некоторых продуктов, формирующие продукт или специально добавляемые в него для придания определенных вкусовых и питательных качеств. Без специфической микрофлоры фактически не может существовать и сам продукт – например кефир или простокваша без молочнокислых бактерий.

В производстве кисломолочных продуктов (простокваша, масла, творога и т. п.) чаще всего используется молочнокислый стрептококк и сливочный стрептококк. Молочнокислый стрептококк - это грамположительные кокки, располагающиеся попарно, он сбраживает лактозу, глюкозу, галактозу с образованием кислоты и газа. Клетки сливочного стрептококка располагаются в виде цепочек, они придают продукту сметанообразную консистенцию. Иногда в кисломолочные продукты добавляют ароматобразующие стрептококки: *Str.citrovorus*, *Str.diacetilactis* др. Большинство молочнокислых стрептококков растет на МПА, образуя при поверхностном посеве очень мелкие круглые выпуклые колонии, а при глубинном посеве — колонии в виде чечевичных зерен.

Помимо стрептококков, в приготовлении кисломолочных продуктов принимают участие и молочнокислые палочки. Некоторые кисломолочные продукты (простокваша, ацидофильное молоко и др.) готовят на чистой культуре молочнокислых палочек (крупные бесспорные грамположительные). Они, как правило, не растут на МПА.

Кефир получают с помощью так называемого кефирного грибка. Основа грибка состоит из плотного войлокообразного сплетения нитей (палочка стромы),

среди которых находятся скопления микроорганизмов, формирующих кефир: молочнокислых стрептококков, молочнокислых палочек и дрожжеподобных грибов.

В микропрепарате, приготовленном из суточного кефира, можно обнаружить главным образом молочнокислые стрептококки, в небольшом количестве молочнокислые палочки и дрожжевые клетки. В двухсуточном кефире появляется большое количество дрожжевых клеток.

Определение ОМЧ кисломолочных продуктов не производится.

Микробиологические показатели качества и безопасности некоторых молочных продуктов

продукция	МАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г, см ³), в которой не допускаются		примечание
		БГКП (колиформные)	Патогенные микроорга- низмы, в т.ч. сальмонеллы	
Кисломолочные напитки	-	0,1	25	S.aureus не допускается в 1 см ³
Сметана	-	0,001	25	S.aureus не допускается в 1 см ³
Творог	-	0,001	25	S.aureus не допускается в 0,1 г
Сыры сычужные твердые	-	0,01	25	
Сыры мягкие	-	0,001	25	
Мороженое	1x10 ⁵	0,1	25	S.aureus не допускается в 1,0 г
Масло вологодское	1x10 ⁴	0,1	25	
Масло сладко-сливочное	1x10 ⁵	0,01	25	
Масло кисло-сливочное	-	0,01	25	

Занятие № 13: Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов, кулинарных изделий.

<p>Способы консервирования пищевых продуктов. Микробиологические процессы при консервировании пищевых продуктов. Методы исследования баночных консервов. Отбор проб. Посевы для выявления аэробных и анаэробных микроорганизмов.</p> <p>Микрофлора кулинарных изделий. Пути и источники загрязнения. Санитарно-микробиологическое исследование кулинарных изделий (салатов, винегретов и проч.).</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1], [2], [4] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [6] – (доп. литература). 5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
1. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов - 4-й этап (см. занятие №10).					
2. Санитарно-микробиологическое исследование молока - 3-й этап (см. занятие №11).					
3. Санитарно-микробиологическое исследование кефира - 2-й этап (см. занятие №12).					
4. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла - 2-й этап (см. занятие №12).					
<p>5. Исследование баночных консервов -1-й этап:</p> <ol style="list-style-type: none"> а) вскрытие; б) контроль стерильности стеклянной трубочки посевом на МПБ; в) посев на среду Китта-Тароцци для выявления анаэробов; г) проба для выявления термофильных микробов. 	<p style="text-align: center;">Санитарно-микробиологическое исследование баночных ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p>Консервы группы А – имеют рН4,2 и выше, а также овощные, мясные и рыбные консервированные продукты с нелимитированной кислотностью, пр компоты, соки и пюре из абрикосов, персиков и груш с рН 3,8 и выше; сгущен вы.</p> <p>Отбор проб консервов и подготовка их к лабораторным исследованиям по микробиологическим показателям проводится после: осмотра и стерильности; термостатирования консервов; определения внешнего вида консервов п</p> <p>Последовательность работы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Осмотреть внешний вид баночных консервов, отобранных для анализа. О на или крышки банки. 2. Провести проверку на герметичность. Для этого в эксикатор налить свежепр 45°С воду, опустить на дно эксикатора банки и наблюдать за пузырьками возд которой из одного и того же места выходит струйка воздуха или периодически банки бактериологическому исследованию не подлежат. 3. Провести термостатирование консервов. Банки выдерживают при 30-37°С жизнедеятельности мезофильных аэробных, факультативно анаэробных микр не менее 3 суток (оптимальные условия жизнедеятельности термофильных анаэробных микроорганизмов) 4. Вскрыть банку и провести посевы на питательные среды для выявления и ид смотренных нормативными документами. 				
<p>Поверхность металлической банки, противоположную маркированной, обработать этиловым спиртом - протереть спиртовым тампоном. Тампон оставить на поверхности и перед вскрытием консервов зажечь. Крышку (конец) проколоть пробойником 1—4 раза в непосредственной близости от горящего тампона. Размер отверстия (диаметр или длина) должен составлять 1 —3 см. Отобранные навески продукта немедленно высеять в питательные среды.</p> <p>Посев проводить с помощью стерильной стеклянной трубки, предварительно проведя проверку ее стерильности (окунуть трубку в пробирку с МПБ). Масса или объем навески продукта должны составлять для высева 2г или 2см³ при выявлении аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов.</p> <p>А) провести посев в две пробирки с МПБ для выявления мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.</p> <p>Б) провести посев в среду Китта-Тароцци для выявления анаэробных бактерий</p> <p>Заключение по исследованию внешнего вида и пробы на герметичность</p>	<p style="text-align: center;">ВТОРОЙ ЭТАП</p> <p style="text-align: center;">(после выращиваются при 37°С в</p> <p style="text-align: center;">Учесть результаты посевов на МПБ</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px; text-align: center;">Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)</td> <td style="width: 50%; padding: 5px; text-align: center;">Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму</td> </tr> <tr> <td style="height: 40px;"></td> <td style="height: 40px;"></td> </tr> </table> <p>Заключение _____</p> <p style="text-align: center;">При наличии роста продолжить выделение чистых ку</p>	Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)	Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму		
Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)	Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму				

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

<p>Полные консервы – это пищевые продукты, укупоренные в герметичную тару, подвергнутые тепловой обработке, обеспечивающей микробиологическую стабильность и безопасность продукта при хранении в обычных (вне холодильника) условиях.</p> <p>Полуконсервы – это пищевые продукты, укупоренные в герметичную тару, обработанные при температурном режиме, который обеспечивает гибель нетермо-</p>	<p>В зависимости от целей и объема исследования консервов могут проводиться:</p> <ol style="list-style-type: none"> а. Исследование консервов на промышленность. б. Выявление возбудителей микробной. в. Определение в консервах патогенных
--	--

стойкой вегетативной микрофлоры, уменьшение количества спорообразующих микроорганизмов и гарантирует микробиологическую стабильность и безопасность продукта в течение ограниченного срока годности при температуре 6°C и ниже. Все консервы в зависимости от величины активной кислотности продукта и содержания сухих веществ делят на 5 групп: А, Б, В, Г, Д, Е. Консервированные продукты групп А, Б, В, Г и Е относят к полным консервам, а группа Д — к полуконсервам. В зависимости от группы к консервам требования по его промышленной стерильности или микробиологической стабильности.	Промышленная стерильность — отсутствие микроорганизмов, способных развиваться для конкретного вида консервов, токсинотоксигенных, опасных для здоровья человека. Микробиологическая стабильность — отсутствие в консервах биологических показателей качества консервов, установленных нормативными документами на конкретный вид консервов.
---	--

Микробиологические нормативы качества и безопасности консервов

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается		
		БГКП (колиформы)	Сульфитредуцирующие клостридии	Сальмонеллы
Консервы пастеризованные (из говядины и свинины, птицы)	2x10 ²	1,0	0,1	
Пресервы рыбные	От 5x10 ³ до 5x10 ⁴	0,01	0,01	
Консервы стерилизованные (из говядины и свинины, птицы)	Должны удовлетворять требованиям промышленной стерилизации для стерилизуемых консервов			
Рыба консервированная в стеклянной, алюминиевой и жестяной таре	Должна удовлетворять требованиям промышленной стерилизации для стерилизуемых консервов			
Молоко сгущенное стерилизованное в банках	Должно удовлетворять требованиям промышленной стерильности			

Требования промышленной стерильности для консервов групп А и Б

Микроорганизмы	Предъявляемые требования
Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>B. subtilis</i>	Отвечают требованиям промышленной стерильности. В случае обнаружения микроорганизмов оно должно быть не более 11 клеток в 1 г продукта
Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>B. cereus</i> и (или) <i>B. polymyxa</i>	Не отвечают требованиям промышленной стерильности
Мезофильные клостридии	Отвечают требованиям промышленной стерильности, если клостридии не относятся к <i>C. botulinum</i> и (или) <i>C. perfringens</i> . В случае обнаружения их количество должно быть не более 1 клетки в 1 г продукта
Неспорообразующие микроорганизмы и(или) плесневые грибы, и(или) дрожжи.	Не отвечают требованиям промышленной стерильности
Спорообразующие термофильные анаэробные, аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, но температура хранения не должна быть выше 20°C.	Отвечают требованиям промышленной стерильности

КУЛИНАРНЫЕ ИЗДЕЛИЯ

<p>Как правило, кулинарные изделия полностью готовы к употреблению в пищу, но некоторые требуют дополнительной термической обработки. Учитывая определенную специфичность в технологии приготовления, характере и уровне микробной обсемененности, по способу кулинарной обработки для удобства осуществления микробиологического контроля кулинарные изделия условно делятся на девять групп.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Подвергнутые термической обработке (жареные, отварные, печеные, рулеты, шашлыки; из фарша – котлеты, рыба фаршированная, вареные колбасы, сосиски; с добавлением муки – пирожки, пироги) 2. Желированные продукты (студень, заливные) 3. Пастообразная и измельченная 4. Многокомпонентные (салаты, солянки, пловы, закуски) 5. Варено-мороженые: быстрозамороженные обеденные, закусочные блюда 6. Сырые замороженные полуфабрикаты (пельмени) 7. Рыба разделанная слабосоленая, соленая с добавлением масел, заливок, маринада 8. Икорная продукция 9. Продукция, упакованная под вакуумом, готовая к употреблению 	<p>Кулинарная пищевая продукция, подвергнутая термической обработке, консервированные и пастообразные изделия, не подвергнутые термической обработке, упакованные под вакуумом исследуется 3 раза в месяц, сыры и продукты животного происхождения – по эпидемиологическим показаниям. Микробиологический контроль готовой продукции осуществляется по следующим показателям:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. МАФАнМ 2. БГКП 3. <i>S. aureus</i> 4. Сальмонеллы 5. Для некоторой продукции – бактерии рода <i>Proteus</i> 6. Для продукции, упакованной под вакуумом – сульфитредуцирующие клостридии <p>Некоторые микробиологические показатели не контролируются. Например, в салатах и смесях из сырых овощей, готовых к употреблению, <i>Yersinia</i> не допускаются в 25 гр продукта; контроль не проводится.</p>
--	--

Микробиологические нормативы качества и безопасности некоторых кулинарных изделий

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается		
		БГКП (коли-формы)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Холодные блюда				
-салаты из сырых овощей	1x10 ⁴	0,1	1,0	1,0
-салаты из вареных овощей	1x10 ⁴	1,0	-	1,0
-салаты с мясом, рыбой	1x10 ⁴	0,1	0,1	0,1

Занятие № 14: Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды, воздуха и почвы.

Окружающая среда. Элементы и факторы окружающей среды. Роль микробного фактора в жизнедеятельности человека.

Патогенные микробы в окружающей среде. Источники и пути попадания, условия и сроки выживания. Роль факторов окружающей среды в распространении инфекционных и паразитарных заболеваний.

Микрофлора предметов обихода, оборудования, инвентаря детских учреждений, больниц, пищевых предприятий. Пути контаминации.

Санитарно-микробиологическое исследование предметов окружающей среды, смывов с рук, инвентаря и оборудования пищеблоков, торговой сети, больниц. Показания к исследованию. Отбор проб. Методика исследования смывов. Санитарно-показательные микроорганизмы.

Микрофлора воздуха. Роль воздуха в передаче инфекционных заболеваний. Методы обеззараживания воздуха. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха. Седиментационные и аспирационные методы. Аппаратура. Определение общей микробной обсеменённости и наличия санитарно-показательных микроорганизмов. Оценка воздуха по санитарно-бактериологическим показателям.

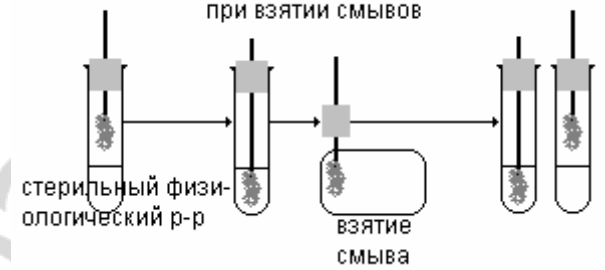
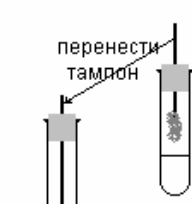
Микрофлора почвы. Факторы, влияющие на количественный и качественный состав микробов в почве. Почва как фактор передачи инфекции. Санитарно-гигиеническое значение микробиологических процессов самоочищения почвы.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1], [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [6] – (доп. литература).
5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Санитарно-микробиологическое исследование молока – 4-й этап (см. занятие №11).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование кефира – 3-й этап (см. занятие №12).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла – 3-й этап (см. занятие №12).	
4. Исследование баночных консервов – 2-й этап (см. занятие №13).	

Задание	Санитарно-микробиологическое исследование поверхностей ПЕРВ	
5. Исследование смывов - 1-й этап: а) посев в среду Кесслера (на бактерии группы кишечной палочки); б) посев в солевой бульон и на чашки с ЖСА (на стафилококк).	<p>Взятие смывов с помощью увлажненных стерильных ватных тампонов.</p> <p>последовательность работы с тампоном при взятии смывов</p>  <p>стерильный физиологический р-р</p> <p>взятие смыва</p>	<p>Исследование на БГКП</p>  <p>перенести тампон</p> <p>5 мл среды Кесслера</p>

ВТОРОЙ ЭТАП (через 24 часа после выращивания при 37°C)

Исследования на БГКП	Исследования									
<p>Учет роста на среде Кесслера</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center;">Результат</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 33%;">отсутствие роста</td> <td style="width: 33%;">помутнение</td> <td style="width: 33%;">помутнение и газообразование</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table> <p><i>Заключение</i> _____</p> <p>В случае наличия газообразования и помутнения или только помутнения, провести высев на чашку со средой Эндо бактериологической петлей для получения изолированных колоний.</p>	Результат			отсутствие роста	помутнение	помутнение и газообразование				<p>1. При обнаружении новых колоний на <i>S. aureus</i> (лимонно-желтые, 2 до 4 мм в диаметре, слегка круг колоний):</p> <p>а) Приготовить мазок описать результат микроскопически</p> <p>б) Отсеять подозрительные колонии</p> <p>2. При наличии роста провести высев бактериологической петлей</p>
Результат										
отсутствие роста	помутнение	помутнение и газообразование								

получения изолированных колоний на *S. aureus* колоний на

ТРЕТИЙ ЭТАП (после выращивания в термостате при 37°C 24 часа)

Определение БГКП
Учет роста на среде Эндо

Результат	
Отсутствие роста	красные с металлическим блеском и без него, или розовые колонии

Заключение _____

При наличии на среде Эндо колоний, характерных для БГКП, из изолированных колоний приготовить мазок, окрасить по Граму и промикроскопировать. Поставить тест на оксидазу. Обнаружение грамотрицательных без спор палочек и отрицательная проба на оксидазу указывает на наличие БГКП.

При положительном результате для подтверждения наличия кишечной палочки 2-3 колонии разного типа засеять в полужидкую среду с глюкозой (лактозой).

Исследование на стафилококк

Поставить пробу на плазмокоагулазу с выделенной чистой культурой. Учет результатов плазмокоагуляции проводят предварительно через 2 ч. Реакция считается положительной, если сгусток образовался в течение 24 ч.

Заключение _____

Для подтверждения неясных результатов при наличии санитарно-эпидемического неблагополучия, проводят постановку реакций на термостабильную ДНКазу, лецитовителлазу, разложение маннита в анаэробных условиях, определение активности кислой

(после в

Уч
жидкой г
слоты и г
Ид
там: обра
ция с мет
ция с Фо
сти утили
Заключен

6. Исследование воздуха аспирационным и седиментационным методами - 1-й этап.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА СЕДИМЕНТАЦИОННЫМ МЕТОДОМ

ПЕРВЫЙ ЭТАП

Открытые чашки Петри со средами разместить на горизонтальные поверхности и выдержать:

1. 2 чашки с МПБ – 20 минут (определение общего числа микроорганизмов)
2. 2 чашки с ЖСА – 15 минут (для выявления стафилококков)

После посева чашки Петри закрыть крышками и поместить в термостат

ВТОРОЙ ЭТАП

(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)

Подсчитать количество колоний на чашках с МПА. Рассчитать общее число микроорганизмов на 1м³ воздуха (среднее для двух чашек), с помощью перерасчета по Омелянскому - на 100 см² поверхности агара за 5 минут оседают бактерии из 10 дм³ воздуха.

Заключение _____

При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на *S. aureus* (непрозрачные, золотистые, кремовые, эмалевые, лимонно-желтые, имеют форму правильных дисков от 2 до 4 мм в диаметре, слегка выпуклые с радужным венчиком вокруг колоний):

1. Приготовить мазок, окрасить по Граму, промикроскопировать

Описать результат микроскопии _____

2. Отсеять подозрительные колонии на скошенный МПА

ТРЕТИЙ ЭТАП

(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)

Поставить пробу на плазмокоагулазу с выделенной чистой культурой. Учет результатов плазмокоагуляции проводят предварительно через 2 ч. Реакция считается положительной, если сгусток образовался в течение 24 ч.

Заключение _____

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА АСПИРАЦИОННЫМ МЕТОДОМ

Отбор проб воздуха производится на уровне дыхания лежащего человека на высоте 100 см от поверхности стола.

ПЕРВЫЙ ЭТАП

Для забора воздуха и пробоотборник аэрозоля бак. посевов. Объем исследуемого воздуха 25 л/мин

1. Произвести забор воздуха на чашку Петри с МПА для определения общего числа микроорганизмов
2. Произвести забор воздуха на чашку Петри с ЖСА для выявления стафилококков
3. Произвести забор воздуха на чашку Петри с АМБ для выявления гемолитических микроорганизмов

(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)

Подсчитать количество колоний на чашках с МПА. Рассчитать общее число микроорганизмов на 1м³ воздуха (среднее для двух чашек).

Заключение _____

При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на *S. aureus* (непрозрачные, золотистые, кремовые, эмалевые, лимонно-желтые, имеют форму правильных дисков от 2 до 4 мм в диаметре, слегка выпуклые с радужным венчиком вокруг колоний):

Записать результаты микроскопии _____

Заключение _____

7. Исследование почвы – 1-й этап.

Выявление и идентификация БГКП в почве титрационным методом

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП

(после инкубации сред Кесслера в термостате 24 часа при 37°C) Протокол исследования

Пробы	Отсутствие роста	Результат
50 среды Кесслера (посев 1г почвы)		
9 мл среды Кесслера (посев 0,001г почвы)		
9 мл среды Кесслера (посев 0,0001г почвы)		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ _____



Отсутствие роста БГКП. При наличии помутнения или образования колоний на среде Эндо (получения колоний)

Для исследования микрофлоры воздуха используют различные методы.

Седиментационный метод (метод Коха) применяется обычно для качественной характеристики микробного загрязнения. Метод основан на естественном осаждении микроорганизмов под действием силы тяжести. Метод чрезвычайно прост, но слабо чувствителен и мало достоверен.

В большей степени является качественным, чем количественным и позволяет, в основном, определить лишь спектр присутствующих микроорганизмов.

Аспирационный метод - более точный метод. Забор проб воздуха проводится пробоотборными устройствами различной конструкции, которые обеспечивают отбор биологического аэрозоля с величиной частиц диаметром до 1,4 мкм.

Импакторы - приборы, в которых происходит принудительное осаждение микроорганизмов из прокачиваемого через прибор воздуха на поверхность плотной питательной среды (прибор Кротова, ПАБ-1, ПАБ-2 и др.).

Импинджеры - группа приборов, в которых воздух проходит через жидкость (питательную среду, стерильную воду, физиологический раствор), в результате чего микроорганизмы задерживаются в ней и могут быть обнаружены.

Фильтрационный метод. Используются мембранные фильтры из нитроцеллюлозы или ацетата целлюлозы. При отборе пробы, проходя через фильтр, воздух вызывает его электризацию, поэтому улавливание микроорганизмов происходит только в самом поверхностном слое фильтра толщиной около 0,3 мкм. Это не только обеспечивает высокую эффективность улавливания, но и позволяет элюировать (десорбировать) задержанные частицы, бактерии и вирусы для дальнейшего исследования

Санитарно-показательные микроорганизмы, характерное микробное загрязнение воздуха

Общее количество микроорганизмов воздуха (общее микробное число - ОМЧ).

***Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк)**

Грамотрицательные бактерии – грамотрицательные бактерии, вызывающие видимые невооруженным глазом колонии на питательной среде в течение 24 часов при 37°C. При исследовании воздуха лечебно-профилактических учреждений дополнительно рекомендуется определять принадлежность выявленных микроорганизмов к родам *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*.

Гемолитическая микрофлора – количество микроорганизмов, вызывающих гемолиз 5% кровяном агаре в течение 24 часов при 37°C колонии, окруженные зоной полного или бета-гемолиза. Основную массу гемолитической микрофлоры составляют гемолитические стрептококки.

Грибы (дрожжеподобные и плесневые) – количество дрожжеподобных и плесневых грибов, вырастающих на питательном агаре или на агаре Сабуро за 24 часа при 22—28°C.

По эпидемиологическим или специальным показаниям в исследовании воздуха определяют наличие и количество патогенных микроорганизмов (*Salmonella spp.*), а также вирусную (чаще энтеровирусную) контаминацию.

Бактериологические показатели, рекомендуемые для гигиенической оценки воздуха лечебно-профилактических учреждений

Наименование объекта	Условия	Допустимые показатели	
		микробное число в 1 м ³	содержание патогенных стафилококков
Операционные	До операции После операции	До 500 До 1000	Не должно быть Не должно быть
Послеоперационные палаты, отделение реанимации		До 750	Не должно быть
Родильный дом, родильные залы	При поступлении рожениц и приеме родов	До 1500	Не должно быть
Послеродовые палаты		До 2000	До 16 суммарно
Палаты новорожденных		До 1500	До 12 суммарно
Перевязочные, предоперационные палаты	До начала работы Летом Зимой	До 750 До 3500 До 5000	Не должно быть До 24 До 52

Основная задача санитарно-микробиологического исследования почвы – дать оценку санитарно-гигиенического состояния почвы и интенсивности ее загрязнения (степень и давность его).

Санитарно-микробиологическое исследование почвы проводится:

1. В зонах повышенного риска.
2. В зонах санитарной охраны водоемов.
3. В санитарно-защитных зонах.

Отбор проб для бактериологического анализа

Частота забора проб, их количество и объем, размер пробной площадки, способ забора, глубина взятия почвы зависят от функциональных особенностей территории. В первую очередь обследуют почвы зон повышенного риска воздействия на здоровье населения (детские дошкольные, школьные и лечебные учреждения, рекреационные зоны, огороды и т.д.), зоны санитарной охраны водоемов, санитарно-защитные зоны.

Принципы отбора проб почвы для гигиенической оценки почвы населенных мест

Характер анализа	Частота отбора проб	Размещение пробных площадок	Необходимое количество пробных площадок	Размер пробных площадок	Количество объединенных проб с одной площадки	Глубина отбора проб, см	Масса объединенной пробы
бактериологический	не менее 1 раза в год	в местах возможного нахождения людей, животных, загрязнения органическими отходами	на площади 100 м ² , одна площадка	25 м ²	10 из 3-х точечных по 200-250г каждая	последовательно 0-5, 5-20	600-750 г

Подготовка и обработка почвы для анализа. Для приготовления среднего образца объемом 0,5 кг почву всех образцов одного участка высыпают на стерильный плотный лист бумаги, перемешивают и распределяют в форме квадрата, диагоналями почву делят на 4 треугольника, почву из двух противоположных треугольников отбрасывают, а оставшуюся вновь перемешивают и далее повторяется приведенная выше процедура до тех пор, пока не останется 0,5 кг почвы. Перед посевом почву просеивают через сито диаметром 3 мм.

Образец почвы тщательно перемешивают и навески, величины которых выбирают исходя степени загрязнения почвы и планируемых операций. Почвенных микроорганизмов достаточно навески в 1 г. Почвенное разведение навески почвы (1:10) делают в водопроводной воде, 10 г почвы — в 100 мл воды. При приготовлении разведений применяют соответствующую обработку почвы с целью извлечения микроорганизмов из почвенных агрегатов, что достигается тщательной обработкой почвы с целью извлечения микроорганизмов с поверхности частиц при помощи:

- 10-минутного вертикального встряхивания почвы в первом разведении в пробирках с резиновым шариком;
- 3-минутной обработки почвенной суспензии в мешалке механического диспергатора.

Почву разводят до 0,0001—0,00001 г/мл (10⁻⁴—10⁻⁵ г/мл). Разведения используются для посева на питательные среды, а также для учета численности микроорганизмов методом прямой микроскопии.

Схема оценки эпидемиологической опасности почв населенных мест

Категория загрязненности	объекты	Показатели загрязнения (критерии)		
		кишечная палочка	энтеробактерии	патогенные микроорганизмы
чистая	Зона повышенного риска: территории детских дошкольных и школьных учреждений	1-9	1-9	отсутствует
загрязненная	учреждений зон рекреации (парки, скверы и др), огородов, выгульных площадок	10 и выше	10 и выше	и выше
чистая	Зоны санитарной охраны водозаборов	1-9	1-9	отсутствует
загрязненная		10 и выше	10 и выше	10 и выше
чистая	Санитарно-защитные зоны	1-99	1-99	отсутствует
загрязненная		100 и выше	100 и выше	отсутствует

Примечание: «-» - отсутствие в почве, «+» - наличие в почве

В соответствии с целями и задачами исследований почва подвергается краткому или полному санитарно-микробиологическому анализу.

Краткий санитарно-микробиологический анализ почвы предусматривает определение:

Показатели	Характеристика
Общее микробное число (ОМЧ)	Микроорганизмы, растущие на мясопептонном агаре, при культивировании посева в условиях при температуре 37°C в течение 24 часов.
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Грамотрицательные, не образующие спор короткие палочки, сбразивающие лактообразованием кислоты и газа при 37±0,5°C в течение 24-48 часов, не обладающие подвижностью.
Энтерококки	Грамположительные кокки, расположенные парами короткими или длинными цепями. Лазоотрицательные, спор и капсул не образуют. Для всей группы энтерококков характерна устойчивость к 40% желчи, 6,5% хлористого натрия, рН – 9,6-9,2, не ферментируют сахарозу, разлагают H ₂ O ₂ , рост в молоке с 0,1% метиленового синего.
<i>C. perfringens</i>	Грамположительные палочки с закругленными концами расположенные в одиночном виде цепочек или штакетообразных скоплений. Сбразивают лакмусовое молоко, глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, галактозу с образованием кислоты и газа, не образуют маннит и дульцит.
Термофильные бактерии	Полиморфная группа преимущественно спорообразующих бактерий, способных расти при температуре 50-70°C.
Нитрифицирующие бактерии	Морфологически разнообразны: палочковидные, сферические, эллипсоидные, спиральные. Грамотрицательные, аэробы. Численность этих микроорганизмов указывает на степень санитарного загрязнения, скорости и окончание распада органики в почве.

Краткий анализ почвы осуществляется при проведении текущего санитарного надзора за состоянием почвы. Показатели указывают на наличие и степень фекального загрязнения и состояние процессов самоочищения почвы.

Полный анализ почвы проводится при осуществлении предупредительного санитарного надзора, первичном выборе территории для размещения отдельных объектов и др. Он включает определение всех показателей краткого анализа: общую численность сапрофитов, процентное содержание спорных микроорганизмов, аэробных бактерий, разрушающих органику, бактерий амонификаторов, количество грибов и актиномицетов, индикацию и выделение патогенных микроорганизмов: сибиреязвенной палочки, энтеровирусов, патогенных клостридий.

Самостоятельная работа:

Патогенные микроорганизмы, обнаруживаемые в почве

Группы микроорганизмов	Вписать виды патогенных микроорганизмов
Микроорганизмы, для которых почва служит природным биотопом	
Микроорганизмы, попавшие в почву с выделениями человека, животных и сохраняющиеся долгое время (годами и десятилетиями)	
Микроорганизмы, попавшие в почву с выделениями человека, животных и сохраняющиеся в ней до нескольких месяцев	

Занятие № 15 : Методы санитарно-вирусологических исследований.

Санитарная вирусология, задачи, методы, значение в деятельности врача медико-профилактического профиля.

Патогенные вирусы в окружающей среде, способы попадания, условия существования.

Санитарно-показательные вирусы. Методы их обнаружения во внешней среде, воде и пищевых продуктах. Методы обнаружения энтеровирусов и колифагов.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1], [2], [4] – (учебники).
3. [3] – (практикумы).
4. [6] – (доп. литература).
5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
1. Санитарно-микробиологическое исследование кефира – 4-й этап (см. занятие №12).									
2. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла – 4-й этап (см. занятие №12).									
3. Исследование смывов – 2-й этап: а) высев со среды Кесслера на Эндо; б) изучение роста на чашках с ЖСА; в) высев из солевого бульона на чашки с ЖСА (см. занятие №14).									
4. Исследование воздуха – 2-й этап, заключение.									
5. Исследование почвы – 2-й этап, заключение.									
6. 1-й этап титрования колифага в сточной воде.	<p align="center">ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИФАГОВ В СТОЧНОЙ ВОДЕ ПРЯМЫМ МЕТОДОМ</p> <p align="center">ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p align="center">ВТОРОЙ ЭТАП (после инкубации в термостате при 37°C 18-24 часа)</p> <p align="center">Протокол опыта</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Пробы воды</th> <th>Количество бактерий (колоний фага на чашке Петри)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Цельная (1мл)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Разведенная 1:10 (0,1 мл)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Разведенная 1:100 (0,01 мл)</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Заключение (количество БОЕ/мл)</p> <p>Подпись _____ преподавателя _____</p>	Пробы воды	Количество бактерий (колоний фага на чашке Петри)	Цельная (1мл)		Разведенная 1:10 (0,1 мл)		Разведенная 1:100 (0,01 мл)	
	Пробы воды	Количество бактерий (колоний фага на чашке Петри)							
Цельная (1мл)									
Разведенная 1:10 (0,1 мл)									
Разведенная 1:100 (0,01 мл)									

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.

САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Санитарно-вирусологические исследования проводятся с использованием вирусологических, серологических и молекулярно-биологических методов. В качестве примера ниже приводится схема исследования почвы.

1. Десорбция вирусных частиц с поверхности частиц почвы в жидкую фазу.

Навеску почвы в 10 г помещают в стерильный флакон емкостью 100,0 мл, и добавляют 20,0 буферного раствора. Полученную взвесь тщательно взбалтывают для разрушения почвенных конгломератов, затем центрифугируют. Надосадочную жидкость переносят в стерильный флакон и используют для концентрирования вирусов.

2. Концентрирование вирусных частиц с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ).

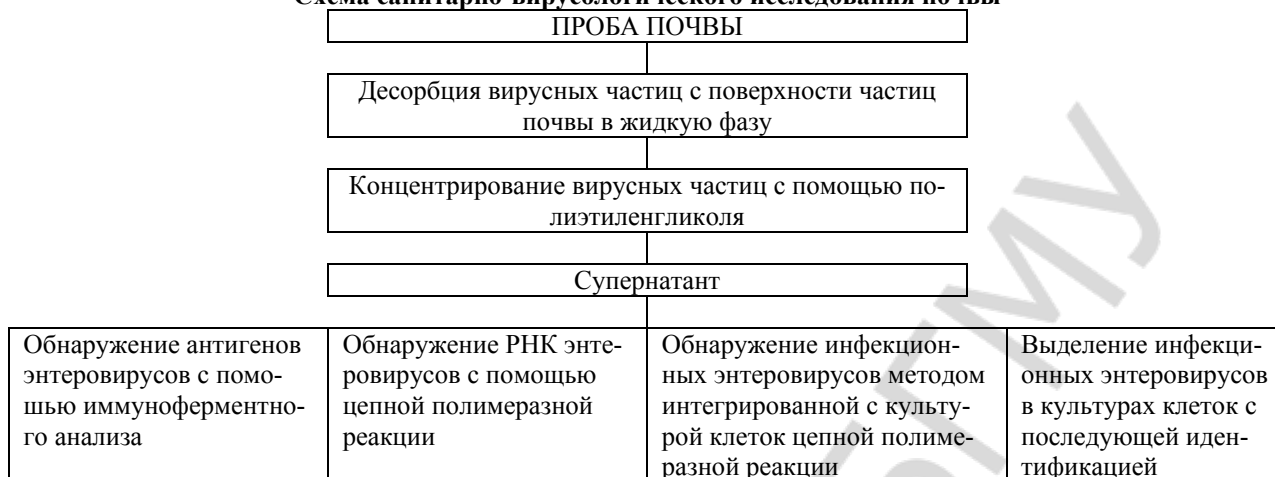
В стерильный флакон с надосадочной жидкостью добавляют ПЭГ-6000 и хлористый натрий до конечных концентраций 10% и 0,5 М, соответственно. Смесь тщательно перемешивают до полного растворения ПЭГ и хлористого натрия, затем выдерживают в течение 10-12 часов при температуре +4°C. Образовавшуюся суспензию центрифугируют. Супернатант удаляют, а осадок ресуспендируют в 2,0 мл стерильной дистиллированной воды и для осветления и удаления бактериальной флоры подвергают обработке хлороформом. Полученную смесь встряхивают, а затем центрифугируют. После центрифугирования верхнюю фазу отбирают с помощью пипетки в стерильный флакон. Далее верхнюю фазу (супернатант) используют для индикации энтеровирусов и их компонентов.

3. Индикация энтеровирусов и их компонентов.

Выделение энтеровирусов в культурах клеток.

Порядок и техника выделения энтеровирусов, определение инфекционного титра выделенных цитопатических агентов и энтеровирусов, а также их идентификация осуществляются стандартными методами

Схема санитарно-вирусологического исследования почвы



Фаги кишечных палочек – косвенный показатель энтеровирусного загрязнения, который определяется в воде, почве в том случае, если невозможно или затруднено проведение исследований на содержание кишечных вирусов. При содержании фагов кишечных палочек более 1000 БОЕ/дм³ вода представляет эпидемическую опасность в отношении кишечных вирусных инфекций. В почве количество колифагов на уровне 10 БОЭ/г и более указывает на возможное загрязнение почвы энтеровирусами.

Определение колифагов

Колифаги способны лизировать *E.coli* и формировать при температуре 37±1°С через 18±2 ч зоны лизиса (бляшки) на питательном агаре.

Колифаги определяются титрационным методом (качественным или количественным) и прямым методом. Титрационный метод основан на предварительном накоплении колифагов в среде обогащения на культуре *E.coli* с последующим выявлением зон лизиса газона *E.coli* на питательном агаре. Прямой метод заключается в исследовании нормируемой пробы (вода, почва) путем его прямого посева и последующего учета зон лизиса (бляшек) на газоне *E.coli* в чашках Петри с питательным агаром.

Занятие № 16 : Итоговое занятие: «Санитарная микробиология».

Вопросы к итоговому занятию:

1. Санитарная микробиология. Определение, задачи, методы. Значение в деятельности врача медико-профилактического профиля. Микробиологические аспекты охраны внешней Среды.
2. Микробное загрязнение окружающей среды. Источники загрязнения, объекты загрязнения. Неблагоприятное воздействие микроорганизмов внешней среды на человека.
3. Патогенные микробы во внешней среде. Пути попадания, условия и сроки выживания. Роль объектов внешней среды в распространении инфекционных болезней.
4. Санитарно-показательные микроорганизмы. Требования, предъявляемые к ним. Понятие о санитарно-бактериологическом анализе. Его составные части.
5. Микрофлора воды. Пути и источники микробного загрязнения водоемов. Факторы, влияющие на количество микробов в воде. Понятие о сапробности водоемов. Принципы биологической очистки сточных вод и роль микробов в этом процессе.
6. Санитарно-показательные микроорганизмы воды. Методы санитарно-микробиологического исследования питьевой воды, напитков и воды плавательных бассейнов. Требования ГОСТа.
7. Роль воды в передаче инфекционных болезней. Исследование питьевой воды на присутствие патогенных микробов.
8. Микрофлора почвы. Факторы, влияющие на количественный и качественный состав микробов в почве. Почва как фактор передачи инфекции. Санитарно-гигиеническое значение микробиологических процессов самоочищения почвы.
9. Микрофлора атмосферного воздуха, воздуха жилых и общественных помещений. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха. Роль воздуха в передаче инфекционных заболеваний. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха. Методы, аппаратура.
10. Микрофлора объектов и воздуха больничной среды. Их роль как фактора передачи инфекционных заболеваний. Методы обеззараживания воздуха. Санитарно-бактериологическое исследование.
11. Санитарно-микробиологическое исследование предметов окружающей среды. Санитарно-показательные микроорганизмы микробной контаминации в очагах капельных, кишечных инфекций и туберкулеза.
12. Условия существования микробов в пищевых продуктах. Пути и источники микробного загрязнения. Специфическая и неспецифическая микрофлора пищевых продуктов.
13. Микрофлора мяса и мясных продуктов. Бактериологические нормы. Мясопродукты как фактор передачи инфекционных заболеваний. Санитарно-микробиологическое исследование колбасы, мяса и мясных продуктов.
14. Микрофлора кулинарных изделий. Санитарно-микробиологическое исследование кулинарных изделий (салатов и винегретов и пр.).
15. Микробиологические процессы при консервировании пищевых продуктов. Способы консервирования. Санитарно-микробиологическое исследование консервов.
16. Микрофлора молока и кисломолочных продуктов. Пути контаминации молока и молочных продуктов патогенными микроорганизмами. Методы санитарно-микробиологического исследования молока и молочных продуктов.
17. Микрофлора рыбы и рыбных продуктов. Патогенные микроорганизмы в рыбе. Методы санитарно-микробиологического исследования.
18. Санитарная вирусология. Задачи. Патогенные вирусы в окружающей среде, способы попадания, условия существования.
19. Методы санитарно-вирусологических исследований объектов окружающей среды. Санитарно-показательные вирусы.
20. Санитарная вирусология воды. Методы определения энтеровирусов и колифагов.

Перечень практических навыков:

1. Произвести отбор пробы воды из водопроводного крана для санитарно-бактериологического исследования.
2. Оценить качество водопроводной воды по общему микробному числу.
3. Оценить качество водопроводной воды по коли-индексу.
4. Оценить качество водопроводной воды по коли-титру.
5. Оценить качество молока по общему микробному числу.
6. Оценить качество молока по коли-титру.
7. Оценить качество колбасы по коли-титру.
8. Оценить качество колбасы по общему микробному числу.
9. Сделать смыв дверной ручки и посеять в среду Кесслера.
10. Произвести забор воздуха аппаратом Кротова на общую микробную обсеменённость.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Исследование смывов - 3-й этап: а) учёт роста на Эндо, отбор и изучение подозрительных колоний; б) учёт роста на чашках с ЖСА (см. занятие №14).	
2. 2-й этап титрования коли-фага в сточной воде - учёт результатов (см. занятие №15).	

Подпись преподавателя _____

Литература

Основная

1. *Кочемасова, З. Н.* Санитарная микробиология и вирусология : учеб. пособие / З. Н. Качемасова, С. А. Ефремова, А. М. Рыбакова. М. : Медицина, 1987. 352 с.
2. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учеб. / Л. Б. Борисов. 4-е изд., доп. и перераб. М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2005. 736 с.
3. *Борисов, Л. Б.* Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, иммунологии и вирусологии / Л. Б. Борисов, Б. Н. Козьмин-Соколов, И. С. Фрейдлин. М., 1993. 240 с.
4. *Павлович, С. А.* Микробиология с вирусологией и иммунологией : учеб. пособ. / С. А. Павлович. Минск : Выш. шк., 2005. 799 с.

Дополнительная

5. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. Минск : БГМУ, 2006. 40 с.
6. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. Минск : «Асар», 1999. 400 с.
7. *Красильников, А. П.* Справочник по антисептике / А. П. Красильников. Минск : Выш. шк., 1995. 367 с.
8. *Основы клинической микробиологии и иммунологии* : учеб.-метод. пособ. в 2 ч. Ч. 1 / под ред. А. П. Красильникова. Минск : МГМИ, 1989. 61 с.

Оглавление

Список сокращений.....	
Занятие № 1. Клиническая микробиология. Методы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи, подкожной клетчатки, бактериемии, сепсиса (В. А. Горбунов, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 2. Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний бронхолёгочной системы и уросистемы (В. А. Горбунов, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 3. Клиническая микробиология (продолжение). Внутрибольничные инфекции (В. А. Горбунов, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 4. Эпидемиологическая микробиология. Методы диагностики пищевых отравлений (В. А. Горбунов, Т. А. Канашикова, Л. И. Каскевич, Е. И. Гудкова).....	
Занятие № 5. Эпидемиологическая микробиология и иммунология. Выявление источника инфекции. Методы оценки коллективного иммунитета (В. А. Горбунов, Т. А. Канашикова, Л. И. Каскевич, Е. И. Гудкова).....	
Занятие № 6. Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия. Методы контроля эффективности стерилизации, дезинфекции, антисептики (В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 7. Эпидемиологическая микробиология. Методы контроля микробной контаминации готовых лекарственных форм антибиотиков, антисептиков, дезинфектантов (В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 8. Итоговое занятие: «Клиническая и эпидемиологическая микробиология» (Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 9. Санитарная микробиология. Санитарно-микробиологическое исследование воды (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 10. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов. Методы исследования мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 11. Санитарно-микробиологическое исследование молока, напитков (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 12. Санитарно-микробиологическое исследование молочных продуктов, сыров и творожных изделий (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 13. Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов, кулинарных изделий (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 14. Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды, воздуха и почвы (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 15. Методы санитарно-вирусологических исследований (Л. И. Каскевич, Т. А. Канашикова).....	
Занятие № 16. Итоговое занятие: «Санитарная микробиология» (Т. А. Канашикова).....	
Литература.....	

Учебное издание

Канашкова Татьяна Александровна,
Каскевич Леонид Иванович,
Горбунов Владимир Анатольевич,
Гудкова Елена Ивановна

КЛИНИЧЕСКАЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
В авторской редакции
Компьютерная верстка В. А. Горбунова

Подписано в печать 29.11.07. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка». Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 7,44. Уч.-изд. л. 3,53. Тираж 135 экз. Заказ 9.

Издатель и полиграфическое исполнение – Белорусский государственный медицинский университет.
ЛИ № 02330/0133420 от 14.10.2004; ЛП № 02330/0131503 от 27.08.2004.
220030, г. Минск, Ленинградская, 6.