

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

КЛИНИЧЕСКАЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум

2-е издание, переработанное



Минск БГМУ 2009

УДК 616–036.22+576.8 (076.5)

ББК 52.64 я 73

К 49

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 17.12.2008 г., протокол № 4

Авторы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–18); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (зан. 4, 5, 11–17); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (зан. 1–8); канд. мед. наук Е. И. Гудкова (зан. 4–8)

Рецензенты: 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 [и др.]. 2-е изд., перераб. – Минск : БГМУ, К 49 2009. – 60 с.

Отражены вопросы клинической, эпидемиологической и санитарной микробиологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Во втором издании (1-е вышло в 2008 г.) увеличено число лабораторных занятий с 16 до 18 (занятия № 6 и 14 разделены на 2), в графических схемах лабораторной работы студентов этапы исследования одного материала представлены непрерывно, не разбиваются на разные занятия.

Предназначено для студентов медико-профилактического факультета.

УДК 616–036.22+576.8 (076.5)

ББК 52.64 я 73

Учебное издание

Канашкова Татьяна Александровна

Каскевич Леонид Иванович

Горбунов Владимир Анатольевич

Гудкова Елена Ивановна

КЛИНИЧЕСКАЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум

2-е издание, переработанное

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова

В авторской редакции

Компьютерная верстка В. А. Горбунова

Подписано в печать 22.12.08. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка». Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 6,97. Уч.-изд. л. 3,48. Тираж 150 экз. Заказ 7.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0133420 от 14.10.2004.

ЛП № 02330/0131503 от 27.08.2004.

Ул. Ленинградская, 6. 220030, Минск.

© Оформление. Белорусский государственный
медицинский университет, 2009

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, Е. Ю. Кирильчик, В. В. Слипень, 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

**Тема: Клиническая микробиология.
Методы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи,
подкожной клетчатки, бактериемии, сепсиса.**

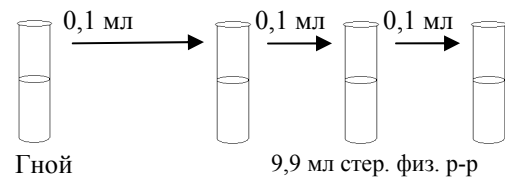
<p>Клиническая микробиология: определение, цели, задачи. Условно-патогенные микробы (УПМ). Особенности эпидемиологии, патогенеза, диагностики заболеваний, вызываемых УПМ. Критерии этиологической значимости УПМ (см. учебно-методическое пособие).</p> <p>Клинические формы и этиология гнойно-воспалительных 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.</p> <p>Бактериемия. Сепсис. Септикопиемия. Определение понятий, этиология. Методы микробиологической диагностики сепсиса. Бактериологический метод. Правила и методы забора крови для исследования, особенности выделения возбудителя и оценки результатов.</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

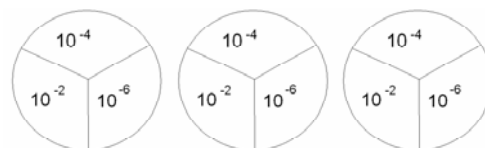
Задание	Методы, результаты
---------	--------------------

1. Самостоятельная работа: исследование гноя, взятого из ожоговой раны (1 этап). (2 варианта).

Исследование гноя (I этап)



Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)



ЖСА

Левина

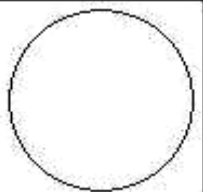
МПА

с фурагином

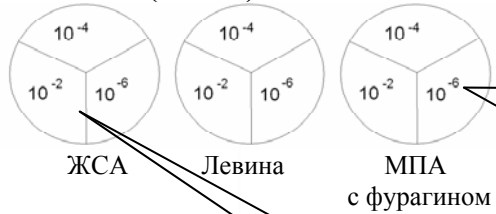
Посевы инкубируются в термостате при 37°C – 24-48 час

Препарат _____

Окраска _____



Исследование гноя (II этап)



Препарат _____

Окраска _____

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

МПА
(среда накопления)



Тест на оксидазу



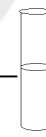
Закключение: _____

Тест на плазмокоагулазу



Цитратная кроличья плазма: 37°C – 2, 4, 24 часа (коагуляция)

Парафенилендиамин+α-нафтол



Исследования гноя (III этап).

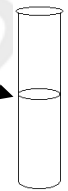
Исследование чувствительности выделенной культуры бактерий к антибиотикам.



МПА
(среда накопления)

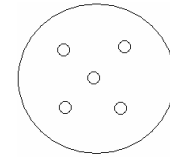
Препарат _____

Окраска _____



Суспензия бактерий в физ. р-ре

Посев «газоном» на Мюллер-Хинтон агар



Нанесение дисков с антибиотиками на засеянную «газоном» среду

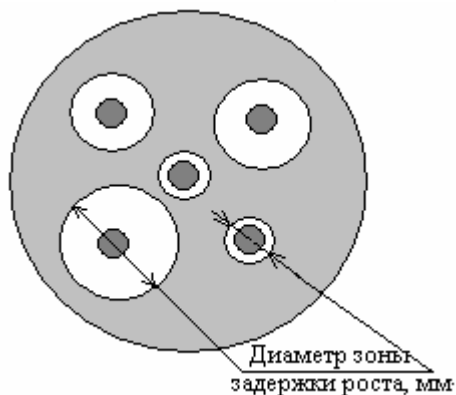
Инкубация 35°C-24 ч.

Учет результатов

Закключение: _____

**Учет результатов исследования чувствительности к антибиотикам.
Антибиотикограмма:**

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата



Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий, пограничные значения диаметров зон ингибиции роста (мм)

Антибиотик	Диаметр зон ингибиции роста (мм)		
	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
Staphylococcus spp.:			
Бензилпенициллин	≤28	–	≥29
Оксациллин			
• <i>S. aureus</i>	≤10	11–12	≥13
• КОС	≤17	-	≥18
Канамицин	≤13	14–17	≥18
Гентамицин	≤12	13–14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16–20	≥21
Тетрациклин	≤14	15–18	≥19
Эритромицин	≤13	14–22	≥23
Линкомицин	<17	17–20	≥21
Хлорамфеникол	≤12	13–17	≥18
Enterobacteriaceae:			
Ампициллин	≤13	14-16	≥17
Цефазолин	≤14	15-17	≥18
Цефотаксим	≤14	15-22	≥23
Канамицин	≤13	14-17	≥18
Гентамицин	≤12	13-14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21
Ломефлоксацин	≤18	19-21	≥22
Тетрациклин	≤14	15-18	≥19
Доксициклин	≤12	13-15	≥16
Хлорамфеникол	≤12	13-17	≥18

2. Исследования крови лихорадящего больного: посев в среду обогащения (1 этап).

Исследование крови (I этап)

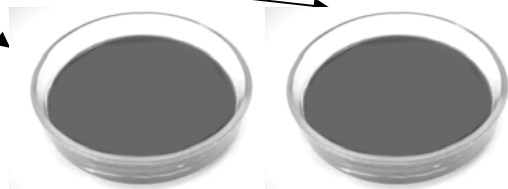


Посев инкубируется в термостате при 37°C – 24-48 час (до 14 суток)

Исследование крови (II этап)



Сахарный бульон

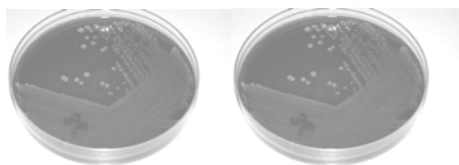


Кровяной агар
ЖСА
37°C – 24-48 ч.

Препарат _____	

Окраска _____	

Исследование крови (III и IV этапы)



Кровяной агар
ЖСА
Характеристика колоний:

Препарат _____	

Окраска _____	

Тест на плазмокоагулазу



Цитратная кроличья
плазма: 37°C –
2, 4, 24 часа
(коагуляция)

Заключение: _____

Демонстрация.

- Различные виды исследуемого материала.

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

ИНСТРУКЦИЯ

по технике безопасности для студентов, работающих на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

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.
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.

Критерии этиологической роли УПМ

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.

Этиология (основные возбудители) ГСИ кожи, подкожной клетчатки

1.
2.
3.
4.
5.

Тема: Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний бронхолёгочной системы и мочевыделительной системы.

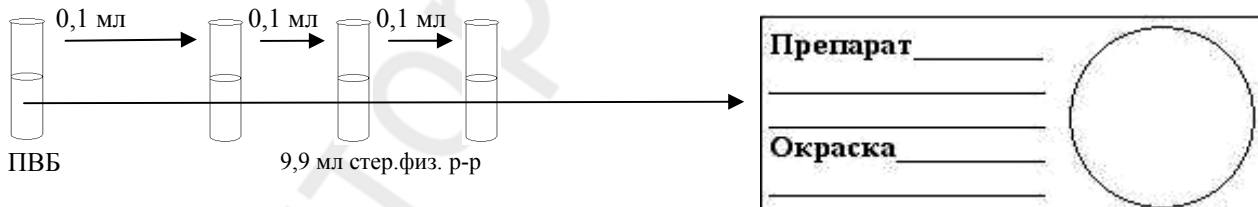

Клинические формы и этиология неспецифических инфекций бронхов и лёгких. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы забора, пересылки и обработки. Бактериологический метод. Критерии оценки этиологической роли выделенных микробов.

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

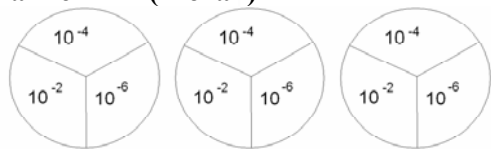
Источники:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Самостоятельная работа (II этап) – исследование гноя, взятого из ожоговой раны (см. занятие № 1).	
2. Продолжение исследования крови (II этап) (см. занятие № 1).	
<p>3. Исследование промывных вод бронхов больного пневмонией (I этап):</p> <p>а) приготовление мазка с окраской по Граму, микроскопия;</p> <p>б) количественный посев на различные питательные среды.</p>	<p align="center">Исследование ПВБ (I этап)</p>  <p align="center">Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p>  <p align="center">Кровяной агар Левина ЛБТА</p>

Исследование ПВБ (II этап)



Кровяной агар

Левина

ЛБТА

Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

$$N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x, \text{ где:}$$

n – кол-во колоний на секторе,

20 – коэф. перерасчета на 1 мл,

10^x – степень разведения материала.

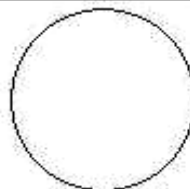
$$N = \text{_____ КОЕ/мл}$$



среда Ресселя

Препарат _____

Окраска _____



Исследование ПВБ (III этап)



среда Ресселя

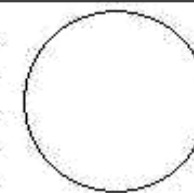
Ферментация:

Лактозы _____

Глюкозы _____

Препарат _____

Окраска _____



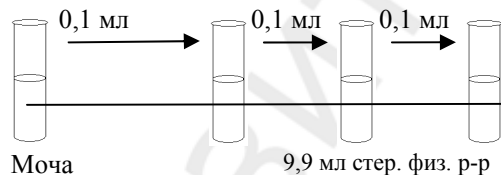
Заключение: _____

4. Исследование мочи больного пиелонефритом (I этап):

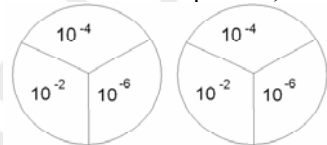
а) приготовление мазка из осадка мочи с окраской по Граму, микроскопия;

б) количественный посев на различные питательные среды.

Исследование мочи (I этап)



Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)

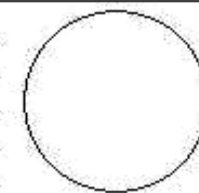


Левина

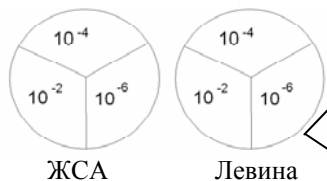
ЖСА

Препарат _____

Окраска _____



Исследование мочи (II этап)



Препарат _____

Окраска _____

Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

$$N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x, \text{ где:}$$

n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл,
 10^x – степень разведения материала.

$$N = \text{_____} \text{ КОЕ/мл}$$



Среда Клиглера

Исследование мочи (III этап)



Среда Клиглера

Ферментация:
 Лактозы _____
 Глюкозы _____
 Продукция сероводорода _____

Препарат _____

Окраска _____

Заключение _____

Демонстрация.

- Метод обработки мокроты.
- Материал для исследования при уроинфекциях.
- Рост синегнойной палочки на МПА с фурагином (количественный посев).

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.

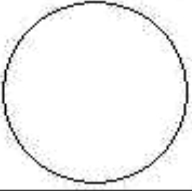
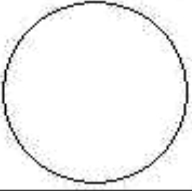
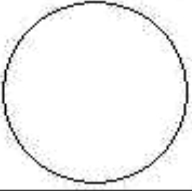
Особенности диагностики ВБИ

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

Тема: Клиническая микробиология (продолжение). Внутрибольничные инфекции.

<p>Внутрибольничные инфекции, понятие, распространение. Этиология. Особенности госпитальных штаммов возбудителей. Принципы микробиологической диагностики внутрибольничных инфекций. Профилактика. Микробиологический мониторинг возбудителей ВБИ.</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					
1. Продолжение исследования гноя (III этап). Исследование чувствительности бактерий к антибиотикам (см. занятие № 1).						
2. Продолжение исследования крови (III и IV этапы) (см. занятие № 1).						
3. Продолжение исследования промывных вод бронхов (II этап) (см. занятие № 2).						
4. Продолжение исследования мочи (II этап) (см. занятие № 2).						
<p>Демонстрация.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Рост клебсиеллы пневмонии на ЛБТА с пенициллином (количественный посев). • Капсула у клебсиеллы пневмонии, окраска по Бурри-Гинсу. 	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="1355 654 1646 694">Препарат _____</td> <td data-bbox="1646 654 1870 847" rowspan="4" style="text-align: center;">  </td> </tr> <tr> <td data-bbox="1355 694 1646 734">_____</td> </tr> <tr> <td data-bbox="1355 734 1646 774">Окраска _____</td> </tr> <tr> <td data-bbox="1355 774 1646 847">_____</td> </tr> </table>	Препарат _____		_____	Окраска _____	_____
Препарат _____						

Окраска _____						

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3

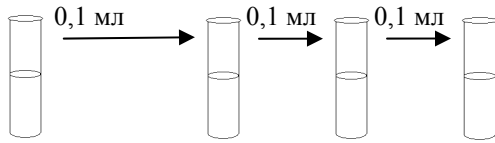
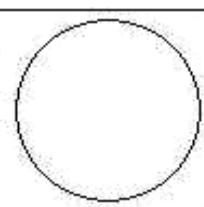
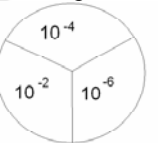
<p style="text-align: center;">КЛАССИФИКАЦИЯ ВБИ</p> <p>По этиологическому признаку ВБИ подразделяются на: бактериальные; вирусные; грибковые; протозойные; метазойные.</p> <p>По способу инфицирования больных ВБИ: экзогенные; эндогенные; аутоинфекции.</p> <p>В зависимости от профиля оказываемой медицинской 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 мочевыводящих путей; инфекции репродуктивной системы; инфекции пищеварительной системы.</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: микробоносительство; легкие формы; средне-тяжелые формы; тяжелые формы.</p> <p>В зависимости от механизмов, путей и факторов передачи ВБИ: аэрозольные (воздушно-капельные и воздушно-пылевые); контактные (прямые и опосредованные); парэнтеральные (постинъекционные, постоперационные, посттрансплантационные, постэндоскопические, послеродовые, посттранфузионные, постдиализные, постгемосорбционные и другие); фекально-оральные (пищевые и водные).</p>
---	--

Тема: Эпидемиологическая микробиология. Методы диагностики пищевых отравлений.

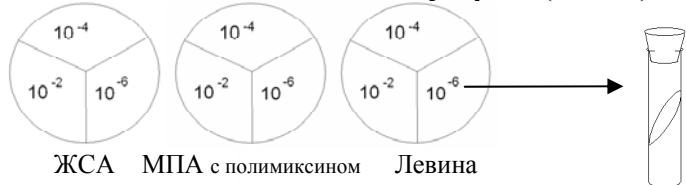
Эпидемиологическая микробиология, определение, задачи. Микробиологическое слежение как составная часть эпиднадзора за инфекционными заболеваниями.
 Пищевые отравления микробной этиологии, классификация. Возбудители. Принципы этиологической диагностики.
 Правила и методы эпидемиологического расследования 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	
1. Продолжение исследования гноя. Исследование чувствительности бактерий к антибиотикам (учет результатов) (см. занятие № 1).		
2. Продолжение исследования промывных вод бронхов (III этап) (см. занятие № 2).		
3. Продолжение исследования мочи (III этап) (см. занятие № 2).		
<p>4. I этап диагностики пищевого отравления:</p> <p>а) приготовление разведений материала от больного (промывных вод желудка) и гомогената пищевого продукта;</p> <p>б) посев разведений на дифференциально-диагностические среды.</p>	<p>Диагностика пищевого отравления (I этап)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Гомогенат колбасы</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>ПВЖ</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;">Посев разведений на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <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</p> </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 5px;">с полимиксином (для <i>B. cereus</i>)</p>	

Исследование пищевого продукта (II этап)



Характеристика колоний:

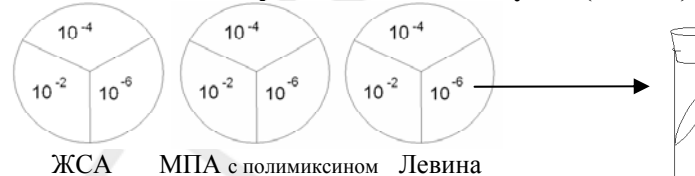
Среда Клиглера

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 _____

Исследование промывных вод желудка (II этап)



Характеристика колоний:

Среда Клиглера

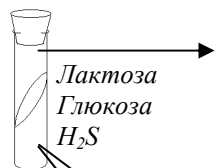
Расчет количества бактерий в 1 мл материала:
 $N =$ _____ КОЕ/мл

Препарат _____

Окраска _____

Исследование пищевого продукта (III этап)

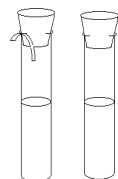
Среда Клиглера



Препарат _____

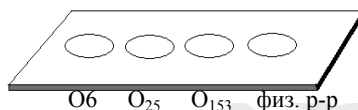
Окраска _____

МПБ с
трипто-
фаном
(индол)



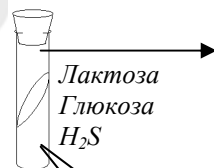
МПА
п/ж
(подвиж-
ность)

РА с О сыворотками



Исследование промывных вод желудка (III этап)

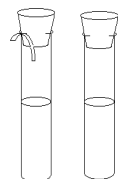
Среда Клиглера



Препарат _____

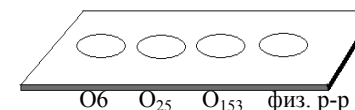
Окраска _____

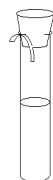
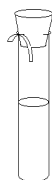
МПБ с
трипто-
фаном
(индол)



МПА
п/ж
(подвиж-
ность)

РА с О сыворотками



Исследование пищевого продуктаМПБ с
трипто-
фаном
(индол)МПА
п/ж
(подвиж-
ность)**Учет результатов****Исследование промывных вод желудка**МПБ с
трипто-
фаном
(индол)МПА
п/ж
(подвиж-
ность)

Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4.**Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы**

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

Пищевые токсикоинфекции (ПТИ): ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства *Enterobacteriaceae* – *E. coli*, *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*), *Morganella morganii*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella pneumoniae*; сем. *Vibrionaceae* – *V. parahaemolyticus*; сем. *Bacillaceae* – *B. cereus*, *C. perfringens* серовара А; сем. *Streptococcaceae* – *E. faecalis*; сем. *Pseudomonadaceae* – *P. aeruginosa* и др.

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.

Пищевые микробные токсикозы (интоксикации): острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами *C. perfringens* и токсинами микроскопических грибов.

Патогенез. Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.

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.

**Тема: 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, туберкулёза, гриппа).

Источники:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
---------	--------------------

1. II этап диагностики пищевого отравления (см. занятие № 4).

2. Исследование отделяемого носоглотки на наличие *Staphylococcus aureus* (диагностика бактерионосительства):

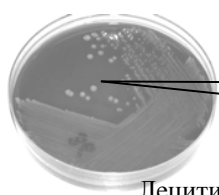
- а) забор материала тампоном;
- б) посев на чашки с ЖСА.

I этап исследования отделяемого носоглотки на наличие *Staphylococcus aureus*



ЖСА
24-48 ч. - 37°C

II и III этапы исследования отделяемого носоглотки на наличие *Staphylococcus aureus*



ЖСА

Лецитиназа _____



Цитратная кроличья плазма (2 – 4 - 24 ч. - 37°C)

Препарат _____	

Окраска _____	

Заключение: _____

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 _____

**Тема: Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия.
Методы контроля качества стерилизации, дезинфекции.**

<p>Понятие о противомикробном режиме. Противомикробные мероприятия: определение, классификация (прямого, косвенного и сочетанного действия на микроорганизмы). Стерилизация: определение понятия, цели, объекты, технологические этапы. Стерилизующие агенты, аппаратура, способы проведения и методы контроля качества стерилизации. Контроль стерильности изделий медицинского назначения. 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 качества дезинфекции.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [2], [4] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).</p>
--	--

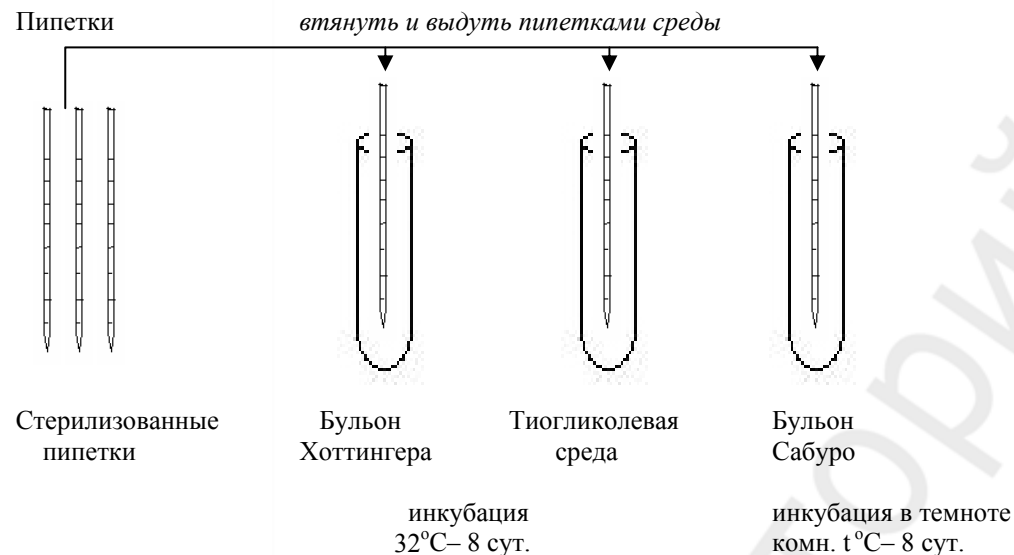
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. III этап диагностики пищевого отравления (см. занятие № 4).	
2. II и III этапы диагностики носительства <i>Staphylococcus aureus</i> (см. занятие № 5).	
<p>3. Опыт по контролю качества стерилизации изделий из стекла. <i>Подготовить к стерилизации и простерилизовать стеклянные пипетки.</i></p>	<p>Стерилизация изделий из стекла и контроль ее качества</p> <p align="center">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.

Методика контроля качества стерилизации:

I этап

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



II этап

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

Препарат _____	

Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

Заключение: _____

4. Опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария.

Простерилизовать инъекционные иглы в паровом стерилизаторе (автоклаве).

Стерилизация медицинского инструментария и контроль ее качества

Методика стерилизации:

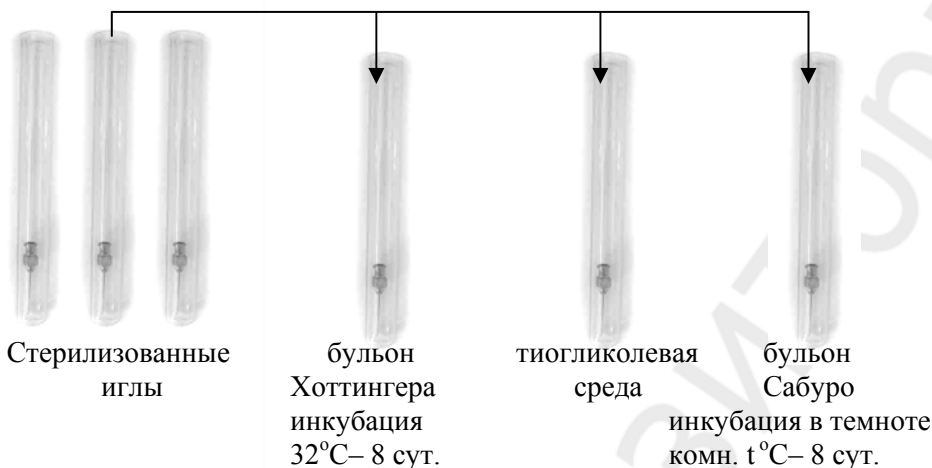
1. Провести предстерилизационную очистку и дезинфекцию игл: а) промыть иглы в проточной воде 5 минут; б) замочить иглы в горячем 3% растворе перекиси водорода с 0,5% препарата типа «Лотос» на 15 минут; в) прополоскать иглы струёй тёплой воды в течение одной минуты;
2. Поместить иглы в контейнер (бактериологические 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.

Стерилизация медицинского инструментария и контроль ее качества

Методика контроля качества стерилизации:

I этап

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



II этап

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:

5. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций.

Провести дезинфекцию поверхностей 0,5% раствором хлорамина;

Проконтролировать качество дезинфекции.

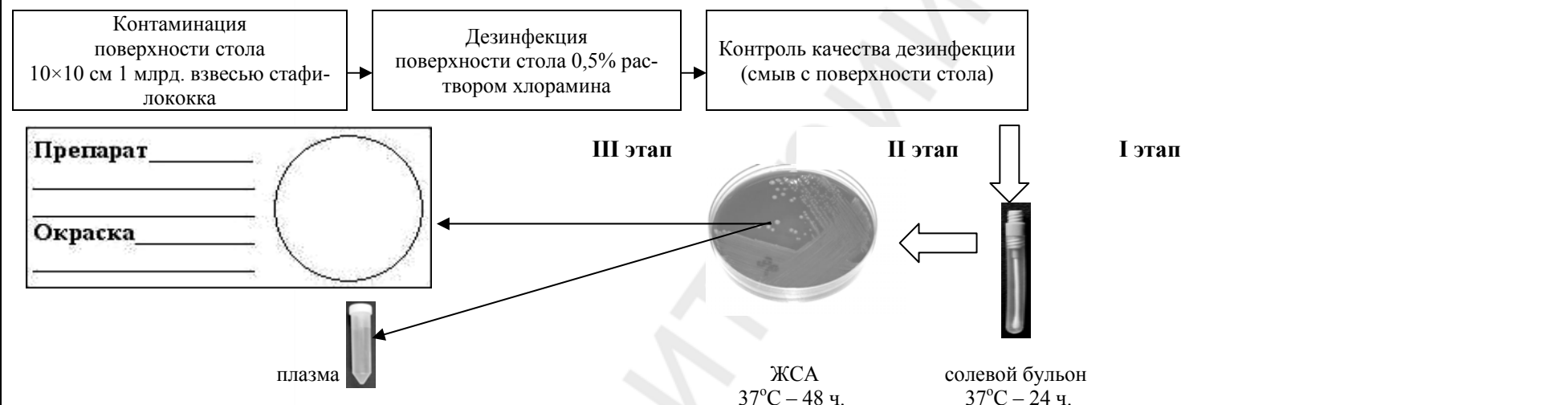
Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций

Методика:

1. Ограничить площадь лабораторного стола или иной поверхности трафаретом 10x10 см;
2. Контаминировать её тампоном, смоченным взвесью стафилококка (дважды по 1 мин); дать высохнуть;
3. Тщательно в течение 10 минут протереть тампоном, смоченным раствором хлорамина (не ниже 20°C), ограниченную трафаретом и контаминированную стафилококком поверхность.

Методика контроля качества дезинфекции:

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 высев на ЖСА.



1. После 48-часовой инкубации в при 37°C изучить наличие и характер роста на ЖСА, провести отбор подозрительных колоний.
2. Сделать мазки с окраской по Граму из культуры на ЖСА и поставить пробу на плазмокоагулазу;
3. Ответ об обнаружении золотистого стафилококка дают на основании характера роста на питательных средах, характерной морфологии и положительного теста на плазмокоагулазу;
4. Заключение: дезинфекция считается качественной, если в посевах смывов не выделен золотистый стафилококк.

Заключение: _____

6. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций

Провести дезинфекцию посуды 0,5% раствором хлорамина.

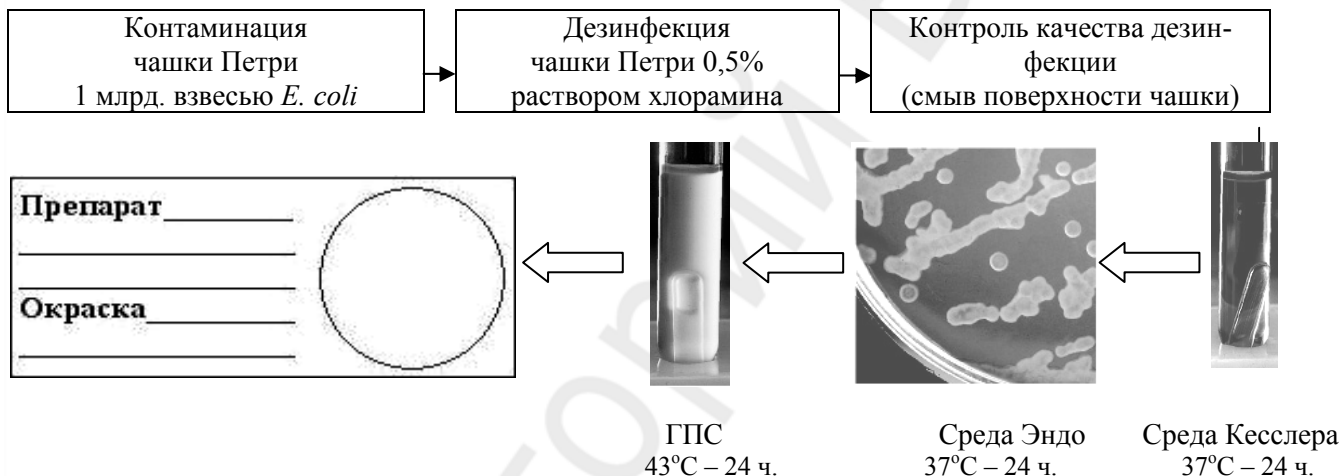
Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций

I этап:

1. Тампонами, увлажненными взвесью тест-микроба, контаминировать внутреннюю поверхность чашки Петри.
2. Контаминированные *E. coli* 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.

II этап

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



III этап

1. Подозрительные колонии (красного и розового цвета гладкой формы), содержащие грамтрицательные 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 Кесслера и Эндо, грамтрицательной окраски бактерий, ферментации глюкозы с образованием кислоты и газа;
- Заключение: дезинфекция считается качественной, если из смывов продезинфицированного объекта не выделена кишечная палочка.

<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>		<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>	
---	--	---	--

Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

**Тема: Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия.
Методы контроля качества антисептики.**

<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 качества.</p>	<p>Источники: 5. Материал лекции. 6. [2], [4] – (учебники). 7. [3] – (практикумы). 8. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Диагностика пищевого отравления (заключение) (см. занятие № 4).	
2. Опыт по контролю качества стерилизации изделий из стекла (II этап) (см. занятие № 6).	
3. Опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария (II этап) (см. занятие № 6).	
4. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций (II этап) (см. занятие № 6).	
5. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций (II этап) (см. занятие № 6).	
7. Опыт по определению качества гигиенической антисептики кожи рук.	<p>Методика испытания противомикробной активности антисептика профилактического назначения. 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 10^9 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 посеvy 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.

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 посевого объема; 10^x – фактор разведения.

Примеры расчета показателей:

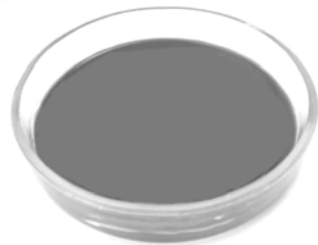
Число колоний на секторе « 10^{-4} » в контроле 5 шт., КОЕ/мл – $N_k = 5 \times 20 \times 10^4 = 1 \times 10^6$; десятичный логарифм – $\ln_k = 6,0$.

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 – $\ln_o = 3,9$

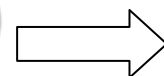
RF (фактор редукции) = $\ln_k - \ln_o = 6,0 - 3,9 = 2,1 \ln$

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

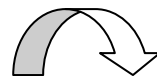
Чашка Петри со смывной жидкостью



0,5 мл



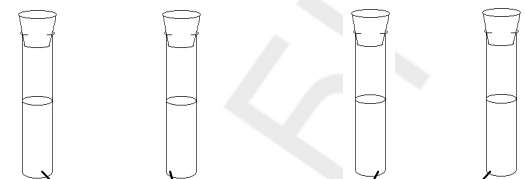
0,5 мл



0,5 мл

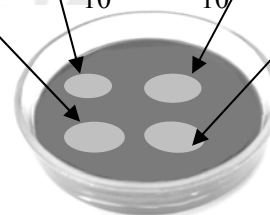


0,5 мл



Стерильный физ. р-р по 4,5 мл

посев по 0,05 мл



МПА (37°C, 24 ч)

II этап:

1. Подсчитать количество колоний на секторах чашек.
 2. Определить концентрацию жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл) в контрольных и опытных высевах и десятичные логарифмы числа выживших микробов.
 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 тест-культуре *E. coli* должна составлять $> 4,0 \ln$.

Заключение: _____

8. Опыт по определению качества хирургической антисептики кожи рук.

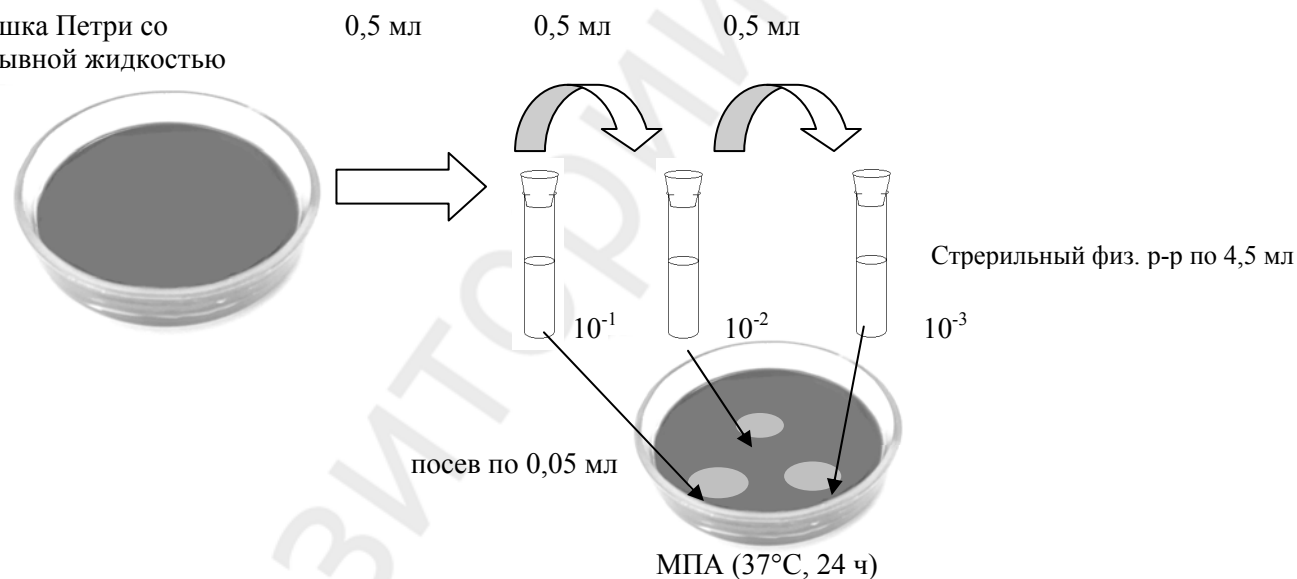
Хирургическая антисептика.

I этап:

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 посеvy 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^{-3} . Все разведения смывов посеять по 0,05 мл на соответствующие сектора чашек Петри с МПА.

Чашка Петри со смывной жидкостью



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 – фактор разведения.

II этап:

1. Подсчитать количество колоний на секторах чашек.
 2. Определить концентрацию жизнеспособных бактерий (КОЕ/мл) в контрольных и опытных посевах и десятичные логарифмы числа выживших микробов.
 3. Рассчитать фактор редукции (разница между десятичными логарифмами КОЕ/мл в контроле и опыте).
- По отношению к собственной микрофлоре рук фактор редукции должен быть $> 2,0 \ln$.

Заключение:

Подпись преподавателя _____

Тема: 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. Задачи и методы контроля. 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: 2. Материал лекции. 3. [2], [4] – (учебники). 4. [3] – (практикумы). 5. [5], [6], [7], [8] – (доп. литература).</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина.</p>	<p align="center">Определение общего микробного числа готовых лекарственных форм дезинфектантов</p> <p>Цель: Освоить методику контроля микробной контаминации ГЛФ противомикробных препаратов. Задание: Определить общее микробное число в образце 0,5% раствора хлорамина. Материалы: Образец 0,5% водного раствора хлорамина в объёме 10 мл. Стерильные чашки Петри - две. 2% МПА в пробирках по 20 мл – 2. 0,5% раствор тиосульфата натрия в пробирках по 9 мл – 2. Пипетки 1 мл – 2. Методика испытания:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 Петри (раздельно). 4. Чашки залить 20 мл расплавленного и охлаждённого до 45±5°C МПА, смешать, оставить на ровной поверхности до затвердения. 5. Поместить в термостат при 30-35°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



0,5% раствор хлорамина
10 мл

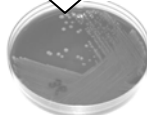
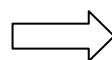
20 мл МПА

Разведение образца 1:10 (основное)



0,5% р-р тиосульфата Na
90 мл

↓ 1 мл

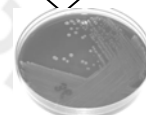


Разведение образца 1:100 (дополнительное)



0,5% р-р тиосульфата Na
90 мл

↓ 1 мл



20 мл МПА

Заключение: _____

2. Опыт по определению стерильности антисептического раствора.

Контроль стерильности готовых лекарственных форм антибиотиков и антисептиков

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

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

Материалы: Образец 0,02% раствора фурацилина; две бутылочки с 40 мл стерильной тиогликолевой среды, pH 7,2; две бутылочки с жидкой стерильной средой Сабуро, pH 5,6; по 1,0 мл бульонных культур тест-штаммов *S. aureus* (ATCC 653 P) и *C. albicans* (ATCC 885-653) плотностью 10 КОЕ/мл; пипетки стерильные 5 мл - 4; пипетка стерильная 1 мл - одна; реактивы для окраски по методу Грама; предметные стёкла, микроскоп.

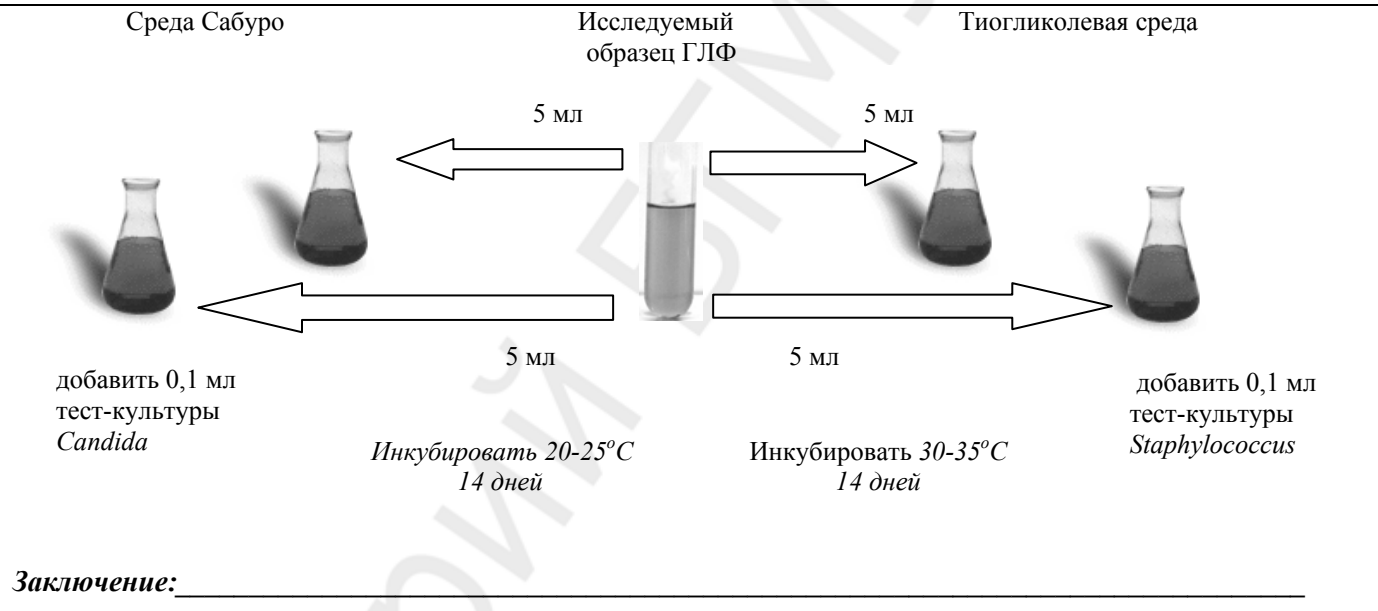
Методика испытания:

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 инкубируют при 20-25°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.



3. Опыт по контролю качества стерилизации изделий из стекла (заключение, см. занятие № 6).
4. Опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария (заклучение, см. занятие № 6).
5. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах каплевых инфекций (заклучение, см. занятие № 6).
6. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций (заклучение, см. занятие № 6).
7. Опыт по определению качества гигиенической антисептики кожи рук (II этап) (см. занятие № 7).
8. Опыт по определению качества хирургической антисептики кожи рук (II этап) (см. занятие № 7).

Подпись преподавателя _____

Занятие № 9.

Дата _____ г.

Тема: Итоговое занятие: «Клиническая и эпидемиологическая микробиология».

Вопросы к итоговому занятию:

1. Клиническая микробиология. Определение, цели, задачи. Общие правила забора, хранения и пересылки материала.
2. Условно-патогенные микроорганизмы. Особенности этиологии, патогенеза и диагностики заболеваний, вызываемых условно-патогенными микробами. Критерии этиологической значимости.
3. Этиология и принципы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подкожной клетчатки.

4. Этиология и принципы микробиологической диагностики бактериемии, сепсиса, септикопиемии.
5. Этиология и принципы микробиологической диагностики оппортунистических заболеваний бронхолегочной системы.
6. Этиология и принципы микробиологической диагностики уроинфекций.
7. Внутрибольничные инфекции. Распространение, этиология. Больничные эковары возбудителей, микробиологический мониторинг.
8. Пищевые отравления. Классификация. Этиология бактериальных интоксикаций и токсикоинфекций. Методы диагностики и принципы эпидемиологического расследования.
9. Эпидемиологическая микробиология. Понятие об источнике инфекции. Зоонозы, антропонозы, сапронозы. Понятие о механизмах передачи инфекции.
10. Микробиологические методы выявления источников и путей передачи инфекции. Микробоносительство, механизмы, значение, способы выявления.
11. Коллективный иммунитет к инфекционным заболеваниям. Методы его определения, контроля и оценки (дифтерия, корь, столбняк, коклюш, полиомиелит, туберкулез, туляремия, бруцеллез).
12. Понятие о противомикробном режиме. Микробная контаминация готовых лекарственных форм антибиотиков, дезинфицирующих и антисептических растворов. Методы контроля.
13. Стерилизация, определение понятия, методы. Контроль качества стерилизации.
14. Дезинфекция, определение понятия, методы. Контроль качества дезинфекции.
15. Антисептика, типы. Антисептические средства. Контроль качества антисептики.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Опыт по определению качества гигиенической антисептики кожи рук (заключение) (см. занятие №7).	
2. Опыт по определению качества хирургической антисептики кожи рук (заключение) (см. занятие № 7).	

Тема: Санитарная микробиология. Санитарно-микробиологическое исследование воды.

<p>Санитарная микробиология, определение, задачи, методы. Санитарно-показательные микроорганизмы. 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] – (учебники). 3. [3] – (практикумы). 4. [6] – (доп. литература). 5. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
---------	--------------------

1. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина (заключение, см. занятие № 8).

2. Опыт по определению стерильности антисептического раствора (заключение, см. занятие № 8).

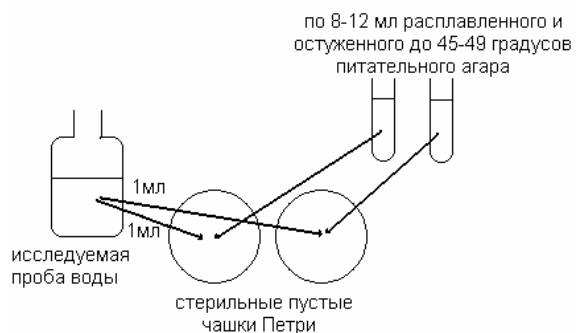
3. Санитарно-микробиологическое исследование воды - I этап (самостоятельная работа).

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

Объем пробы воды на санитарно-показательные микроорганизмы – не менее 500 мл, патогенные бактерии (сальмонеллы, шигеллы) – 300 мл.

1. Определение общего числа микроорганизмов (ОМЧ), образующих колонии на питательном агаре.

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.



Протокол опыта

Проба	Количество колоний на чашке	Результат (КОЕ/мл) – среднее число колоний двух проб
№1		
№2		

Заключение _____

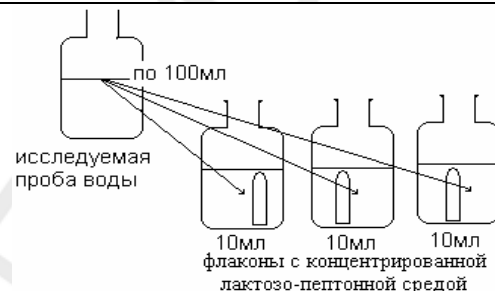
2. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом

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.

I этап

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.



II этап (после инкубации посевов 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

III этап (после инкубации 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.

IV этап (через 24 часа инкубации в термостате при 37°C)

Провести учет выполненных тестов и дать окончательное заключение.

ОКБ – грамотрицательные, 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.

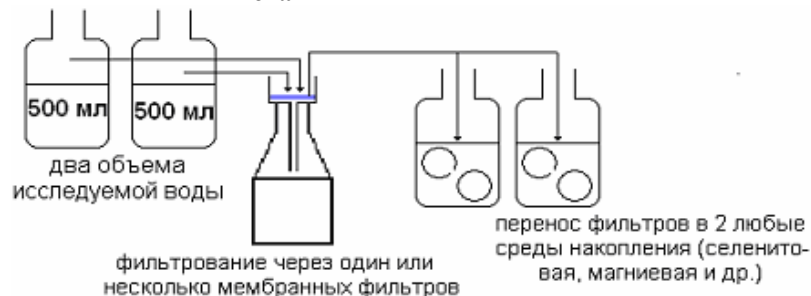
ТКБ – входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу (глюкозу) до кислоты, альдегида и газа при температуре (44±0,5)°C в течение 24 часов.

Во всех остальных случаях дается отрицательный ответ.

Заклучение _____

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

I этап



II этап

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

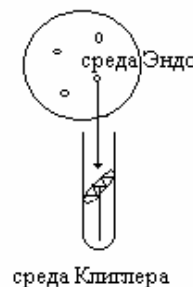


при обнаружении роста (помутнения) на средах накопления производят высев бактериологической петлей на две дифференциально-диагностические среды в чашках Петри. При отсутствии роста - отрицательный ответ

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

Результаты роста на чашках с дифференциально-диагностическими средами

Исследуемая проба воды	Характер роста при положительном результате (росте сальмонелл)		
	Висмут-сульфит агар	Среда Эндо	Среда Левина
	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 прозрачные, слабо-розовые или розовато-фиолетовые.
Исследуемая проба воды			



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

Заклучение _____

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

Учет результатов роста на среде Клиглера

	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.

Демонстрация.

- Батометр для отбора проб воды
- Среды обогащения для исследования воды.
- Исследование воды на наличие патогенных микроорганизмов (тифо-паратифозных и дизентерийных).

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

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.

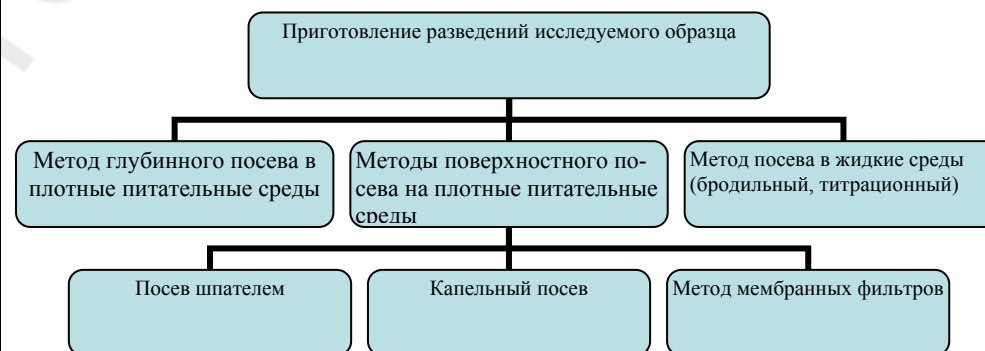
Этапы санитарно-микробиологического исследования:

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 определения бактерий



Все санитарно-микробиологические исследования проводят в соответствии с действующими нормативно-методическими документами (Санитарные правила и нормы — СанПиН, Государственный отраслевой стандарт — ГОСТ, Методические указания — МУ, Методические указания по методам контроля — МУК, инструкции и др.).

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

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

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

Кроме питьевой воды санитарно-микробиологическому исследованию подвергается вода: объектов питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования; 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	Норматив
Термотолерантные колиформные бактерии 1)	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствие
Общие колиформные бактерии 1), 2)	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствие
Общее микробное число 2)	Число образующих колонии бактерий в 1 см ³	Не более 50
Колифаги 3)	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 см ³	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий 4)	Число спор в 20 см ³	Отсутствие
Цисты лямблий 3)	Число цист в 50 дм ³	Отсутствие

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 количестве исследуемых проб не менее 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 производственного 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.

При обнаружении в повторно взятых пробах общих колиформных бактерий в количестве более 2 в 100см и (или) термотолерантных колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится исследование проб воды для определения патогенных бактерий кишечной группы и (или) энтеровирусов.

Исследования питьевой воды на наличие патогенных бактерий кишечной группы и энтеровирусов проводится также по эпидемиологическим показаниям по решению территориального органа государственного надзора.

Исследования воды на наличие патогенных микроорганизмов могут проводиться только в лабораториях, имеющих разрешение на выполнение этих работ.

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

Наименование показателя	Единица измерения	Норматив
Число бактерий группы кишечной палочки (коли-индекс)	Количество БГКП в 1000 мл воды	Не более 10

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

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)							

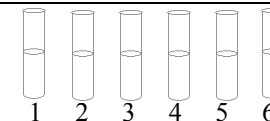
Схема приготовления разведений для санитарно-микробиологического исследования:

В первой пробирке - исследуемый жидкий образец, в остальных пробирках – растворитель по 9 мл.

При приготовлении серии разведений, из предыдущей пробирки в следующую переносится 1 мл жидкости.

В какой пробирке разведение исходного образца составит 1:1000 ?

ОТВЕТ: пробирка №



**Тема: Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов.
Методы исследования мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов.**

<p>Пищевые продукты как источники поступления в организм токсических, аллергенных веществ и возбудителей инфекционных и паразитарных болезней. Меры профилактики.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>Микрофлора рыбы и рыбных продуктов, пути попадания, условия существования. Рыба и рыбные продукты как фактор передачи заболеваний. Санитарно-микробиологическое исследование рыбы и рыбных продуктов.</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 – II этап (самостоятельная работа, см. занятие № 10).	

2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов – 1-й этап:

а) подготовка навески котлет и колбасы для посева;

б) посев для определения общего количества микробов;

в) посевы на обнаружение бактерий группы кишечной палочки (БГКП), сальмонелл, протей, анаэробов.

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРеноЙ КОЛБАСЫ

Колбасные изделия отбирают в количестве 1-3 экземпляров в зависимости от размеров в стерильную бумагу. Перед исследованием поверхность изделий в оболочке протирают и фламбируют спиртом. Из 3 штук мелких колбасных изделий или одного крупного батона берут пробу без оболочки в количестве не менее 300 г. Для этого вскрывают оболочку, продольно разрезают батон на две половины и, отступая от края примерно 5 см, из боковых и центральных частей половины батона вырезают куски.

Навеску отбирают в количестве 10 г из усредненной подготовленной пробы и добавляют к ней постепенно 90 см³ жидкости для приготовления разведения 1:10. Гомогенизируют и оставляют при комнатной температуре на 3-5 мин. Исследуют надосадочную жидкость.

Схема приготовления разведений



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

Основано на подсчете колоний, видимых при увеличении в 2 раза, выросших на питательных средах при инкубации 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 на чашках Петри при температуре 30°C 72 ч.)
Подсчитываются колонии только в посевах тех разведений, где выросло от 15 до 300 колоний

Протокол опыта

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

Заключение

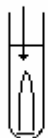
Для определения общего количества микробов в 1 г продукта подсчитанное количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта.

За окончательный результат количества бактерий в 1 г анализируемого продукта принимают среднее арифметическое результатов подсчета колоний в двух чашках с разной массой продукта.

Определение бактерий группы кишечной палочки (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 мл среды Кесслера.

ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

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

Учет роста на среде Кесслера

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

Заклучение при отрицательном результате _____

При обнаружении газообразования провести высеv бактериологической петлей на среду Эндо.

ТРЕТИЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после инкубации 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, окрасить по Граму и провести тест на оксидазу.

Результаты: микроскопии _____
оксидазный тест _____

Обнаружение грамтрицательных палочек при отрицательной пробе на оксидазу указывает на наличие БГКП в 1г исследованной пробы колбасы.

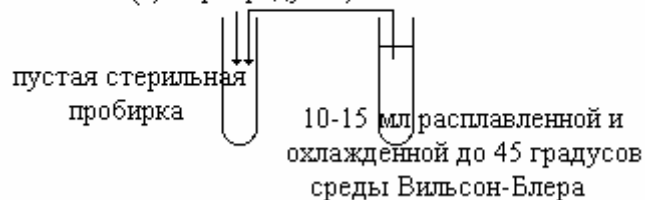
Для подтверждения наличия кишечной палочки 2-3 подозрительные колонии засевают в полужидкую среду с глюкозой (лактозой). Идентификацию *E. coli* проводят по тестам: образование индола, положительная реакция с метиловым красным, отрицательная реакция Фогес-Проскауэра, отсутствие способности утилизировать 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
(0,01гр. продукта)



ВТОРОЙ ЭТАП

(инкубация 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 _____

Определение бактерий рода Proteus

Присутствие бактерий рода *Proteus* указывает на гнилостные процессы в исследуемом продукте



Инкубация при 37°C 24 часа.

При наличии характерного роста бактерий рода *Proteus*: ползучий вуалеобразный налет с голубым оттенком; на скошенном мясопептонном агаре культура поднимается из конденсационной жидкости вверх по поверхности среды приготовить мазок с окрашиванием по Граму и изучить подвижность в раздавленной или висячей капле. Бактерии рода *Proteus* – грамтрицательные палочки. Как правило, в зависимости от вида продукта, протей должен отсутствовать в 0,1-1г.

Заключение _____

Демонстрация.

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

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.

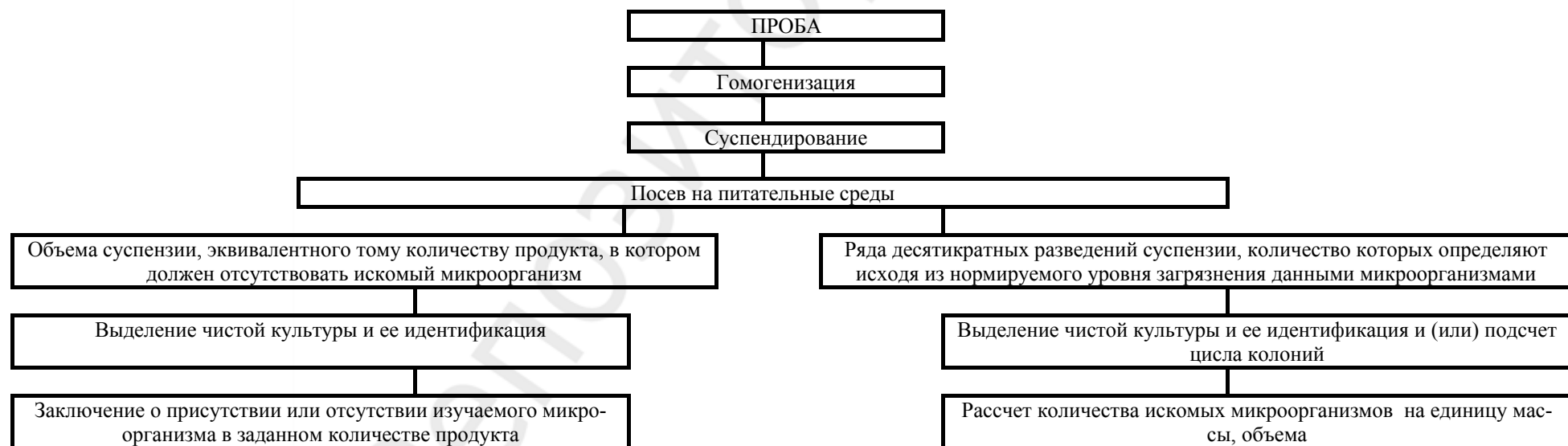
Доброкачественность готовой пищевой продукции в значительной степени зависит от качества сырья и вспомогательных материалов, систематического микробиологического контроля пищевой продукции и санитарного состояния производства.

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

1. Санитарно-показательные – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ, МАФАнМ) и бактерий группы кишечных палочек – БГКП (колиформы).
2. Условно-патогенные микроорганизмы – E.coli, S.aureus, бактерии рода Proteus, сульфитредуцирующие клостридии, параземолитические 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 (МАФАиМ) норматив отражает количество колониеобразующих единиц в 1г(мл) продукта (КОЕ/г,мл).

Схема санитарно-микробиологического исследования пищевых продуктов



Тема: Санитарно-микробиологическое исследование молока, напитков.

Микрофлора молока. Бактериологические нормативы. Пути контаминации молока патогенными микроорганизмами. Молоко как фактор передачи инфекционных болезней.

Методы исследования молока. Проба на редуктазу. Значение. Определение общей микробной обсеменённости молока. Определение бродильного титра молока.

Санитарно-микробиологическое исследование напитков (минеральная вода, безалкогольные напитки, пиво). Бактериологические нормативы. Методы исследования.

Источники:

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

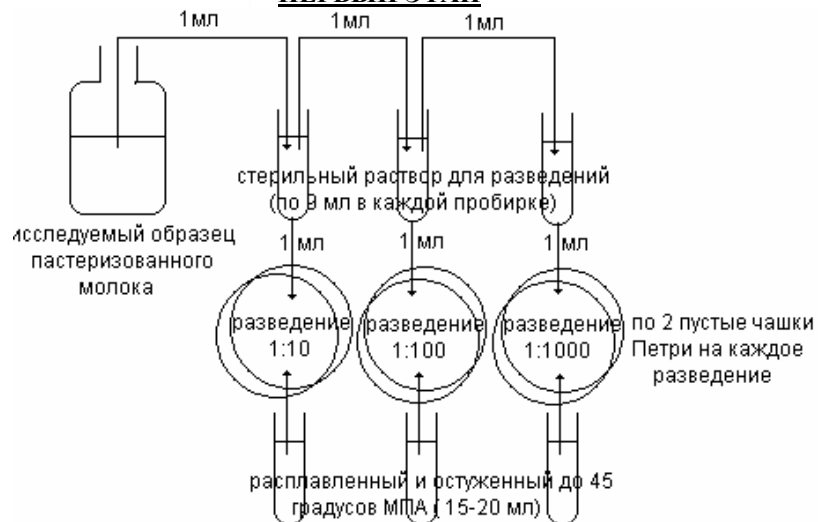
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты															
1. Санитарно-микробиологическое исследование воды – III этап (самостоятельная работа, см. занятие №10).																
2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов – II этап (см. занятие №11). 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 – I этап	<p>Подготовка пробы к анализу: перед исследованием пробу молока тщательно перемешать.</p> <p>МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕДУКТАЗЫ СЫРОГО МОЛОКА С МЕТИЛЕНОВЫМ ГОЛУБЫМ</p> <p>Метод основан на восстановлении метиленового голубого окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности обесцвечивания метиленового голубого оценивают бактериальную обсеменённость сырого молока.</p> <p>В пробирку налить 1 мл раствора метиленового голубого и 20 мл исследуемого молока, закрыть резиновой пробкой и смешать 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. Окончанием анализа считать момент обесцвечивания окраски молока. При этом остающийся небольшой кольцеобразный окрашенный слой вверху (шириной не более 1 см) или небольшая окрашенная часть внизу пробирки (шириной не более 1 см) в расчет не принимается. Появление окрашивания молока в пробирке при встряхивании не учитывается.</p> <p>Учет результатов провести по таблице:</p> <table border="1" data-bbox="546 1145 2080 1342"> <thead> <tr> <th>Класс молока</th> <th>Продолжительность обесцвечивания, ч</th> <th>Ориентировочное количество бактерий в 1 см³ молока, КОЕ</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 в 1 см ³ молока, КОЕ	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 в 1 см ³ молока, КОЕ														
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 АЭРОБНЫХ 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 МАФАнМ В МОЛОКЕ

(после инкубации посевов разведений молока 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 молока	Объем засеянного молока	Количество колоний на чашке Петри	Среднее количество колоний
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:	

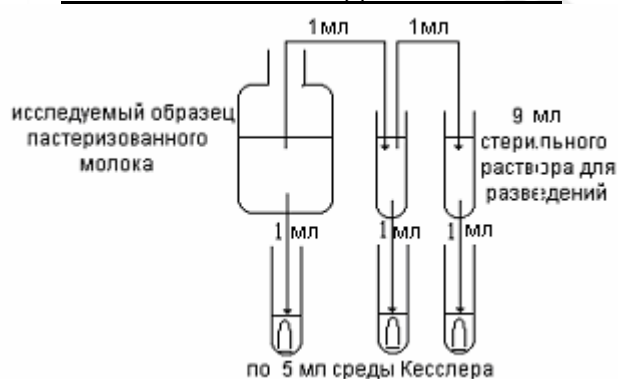
Рассчитать количество микроорганизмов в 1 мл(см³) цельного молока по формуле:
 $X=N \times 10^m$, где X-количество бактерий, N-количество колоний на чашке Петри, m-число десятикратных разведений. За окончательный результат принять среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

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*) сбраживать 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 инкубации в термостате при 37°C 18-24 часа)

Учет роста на среде Кесслера

Пробы	Результат:	
	отсутствие роста	помутнение и газообразование
1 пробирка (1 мл)		
2 пробирка (0,1 мл)		
3 пробирка (0,01 мл)		

Заклучение _____

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов дается заключение об отсутствии в нем БГКП. При наличии газообразования в наименьшем из засеянных объемов считают, что БГКП обнаружены в нем.

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.

Отбор молока для микробиологического анализа

1. Молоко заготавливаемое. Объединенную пробу объемом 500 см^3 составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки молока и рассортировки его по кислотности. Для проведения редуцтазной пробы, из объединенной пробы молока выделяют пробу объемом $50-60 \text{ см}^3$.
 2. Молоко пастеризованное в транспортной таре. От продукции, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания отбирают $50-60 \text{ см}^3$ 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	3×10^5	-	25	Соматические клетки не более 500 тыс. в 1 см^3 Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см^3 Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см^3
-второй сорт	5×10^5	-	25	
-третий сорт	4×10^6	-	25	
Молоко пастеризованное				
-группа А	5×10^4	1,0	25	S.aureus в 1 см^3 не допускается S.aureus в $0,1 \text{ см}^3$ не допускается
-группа Б (в потребительской таре)	1×10^5	0,1	25	
Молоко топленое	$2,5 \times 10^3$	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		Дрожжи, КОЕ/г не более	Плесени, КОЕ/г не более
		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	1×10^3	-	1,	5,0
Напитки безалкогольные	-	333	25		15
Пиво в бутылках	500	10,0	25		40

Перед анализом пастеризованных газированных фруктовых соков и напитков необходимое количество продукта отбирают в стерильную колбу с ватной пробкой, помещают в водяную баню с температурой $30-35^\circ\text{C}$ и, встряхивая колбу, освобождают продукт от двуокси углерода и нейтрализуют до $\text{pH } 7,0 \pm 0,3$.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ ДОМАШНЯЯ РАБОТА Заполнить таблицу по фазам микрофлоры сырого молока

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

Тема: Санитарно-микробиологическое исследование кисломолочных 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 № 10).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов - III этап (см. занятие № 11).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование молока - II этап (см. занятие № 12).	

4. Санитарно-микробиологическое исследование кефира - 1-й этап.

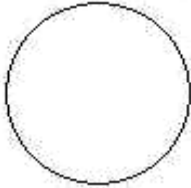
**САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

Подготовка проб к анализу. Пробы кисломолочных напитков и продуктов перед исследованием перемешивают и нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 мл продукта в стерильную пробирку или колбочку и добавляют 1 мл стерильного раствора двууглекислого натрия с массовой концентрацией 100 г/л, для оптимизации pH содержимое перемешивают.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЕФИРА

Метод основан на просмотре препаратов, окрашенных метиленовым синим для ориентировочной характеристики микрофлоры кисломолочных продуктов.

На предметное стекло нанести каплю исследуемого продукта и распределить на площади около 1 см². Препарат высушить при комнатной температуре, зафиксировать на пламени и окрасить метиленовым синим 5 минут. Результат зарисовать.

Препарат _____	

Окраска _____	

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК И
ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КЕФИРЕ
ПЕРВЫЙ ЭТАП**

ВТОРОЙ ЭТАП

(после инкубации в термостате при 37°C 18-24 часа)

Определение БГКП

Учет роста на среде Кесслера

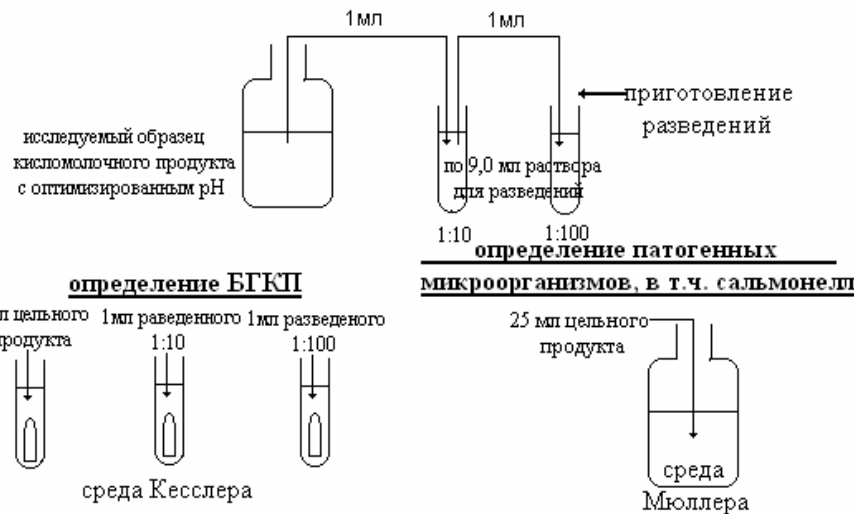
Пробы	Результат	
	отсутствие роста	помутнение и газообразование
1 пробирка (1 мл, г)		
2 пробирка (0,1 мл, г)		
3 пробирка (0,01 мл, г)		

Заключение _____

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов дается заключение об отсутствии в нем БГКП. При наличии газообразования в наименьшем из засеянных объемов считают, что БГКП обнаружены в нем.

Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл

Со среды Мюллера бактериологической петлей сделать высев на чашку со средой Эндо для получения изолированных колоний.



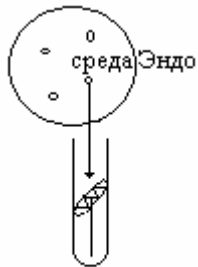
ТРЕТИЙ ЭТАП

(после инкубирования 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		Отрицательный результат
	Положительный результат		
	Колонии круглые, бесцветные или слегка розоватые, прозрачные.	Мазок из колонии по Граму	Отсутствие роста
Исследуемая проба продукта			

Заключение _____



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

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

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

Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл

Учет результатов роста на среде Клиглера.

	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.

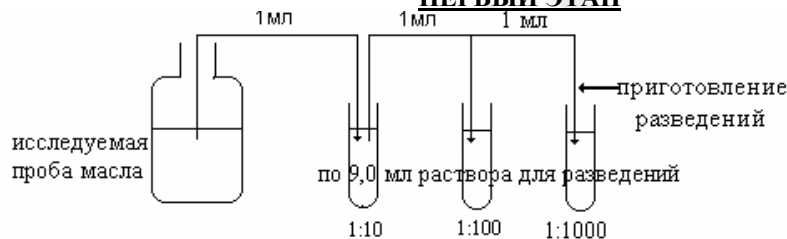
Заключение _____

5. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла – I этап.

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МАСЛА

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

ПЕРВЫЙ ЭТАП



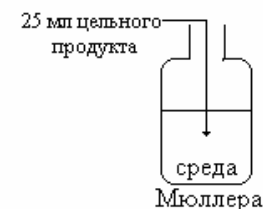
определение МАФАНМ



определение БГКП



определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл



ВТОРОЙ ЭТАП определения 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 K – КОЕ (количество микробов в 1 мл); A- количество колоний на чашке; B – объем молока в котором хотим определить количество микроорганизмов (1 мл); C – объем посева

Заключение _____

ВТОРОЙ ЭТАП определения БГКП – Учет роста на среде Кесслера

Пробы	результат	
	отсутствие роста	помутнение и газообразование
1 пробирка (1 г)		
2 пробирка (0,1 г)		
3 пробирка (0,01 г)		

Заключение _____

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеянных объемов дается заключение об отсутствии в нем БГКП. При наличии газообразования в наименьшем из засеянных объемов считают, что БГКП обнаружены в нем.

ВТОРОЙ ЭТАП Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл

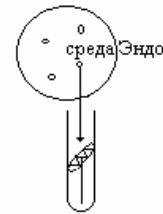
Со среды Мюллера бактериологической петлей сделать высев на чашку со средой Эндо для получения изолированных колоний.

ТРЕТИЙ ЭТАП

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

Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл. Учет роста на среде Эндо

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



среда Клиглера

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*.

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

(после инкубации в термостате при 37°C 18-24 час)

Определение патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл

Учет результатов роста на среде Клиглера.

	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 _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

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 ароматизаторы 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 беспоровые 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 грибков.

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 микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	
Кисломолочные напитки	-	0,1	25	<i>S.aureus</i> не допускается в 1 см ³
Сметана	-	0,001	25	<i>S.aureus</i> не допускается в 1 см ³
Творог	-	0,001	25	<i>S.aureus</i> не допускается в 0,1 г
Сыры сычужные твердые	-	0,01	25	
Сыры мягкие	-	0,001	25	
Мороженое	1x10 ⁵	0,1	25	<i>S.aureus</i> 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	

Тема: 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 – IV этап (см. занятие №11).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование молока - III этап (см. занятие №12).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование кефира - II этап (см. занятие №13).	
4. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла - II этап (см. занятие №13).	
<p>5. Исследование баночных консервов –1-й этап:</p> <p>а) вскрытие;</p> <p>б) контроль стерильности стеклянной трубочки методом посева на МПБ;</p> <p>в) посев на среду Китта-Тароцци для выявления анаэробов;</p> <p>г) проба для выявления термофильных микробов.</p>	<p>Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов группы А</p> <p><u>ПЕРВЫЙ ЭТАП</u></p> <p>Консервы группы А – имеют рН 4,2 и выше, а также овощные, мясные, мясорастительные, рыборастительные и рыбные консервированные продукты с нелIMITированной кислотностью, приготовленные без добавления кислоты; компоты, соки и пюре из абрикосов, персиков и груш с рН 3,8 и выше; сгущенные стерилизованные молочные консервы.</p> <p>Отбор проб консервов и подготовка их к лабораторным исследованиям на соответствие требованиям безопасности по микробиологическим показателям проводится после: осмотра и санитарной обработки; проверки герметичности; термостатирования консервов; определения внешнего вида консервов после термостатирования.</p> <p>Последовательность работы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Осмотреть внешний вид баночных консервов, отобранных для анализа. О наличии бомбажа судят по вздутию дна или крышки банки. 2. Провести проверку на герметичность. Для этого в эксикатор налить свежеприготовленную и охлажденную до 40-45°C воду, опустить на дно эксикатора банки и наблюдать за пузырьками воздуха. Негерметичной считается банка, у которой из одного и того же места выходит струйка воздуха или периодически несколько пузырьков. Негерметичные банки бактериологическому исследованию не подлежат. 3. Провести термостатирование консервов. Банки выдерживают при 30-37⁰С от 5 до 7 суток (оптимальные условия жизнедеятельности МАФАНМ) и при 55-62⁰С не менее 3 суток (оптимальные условия жизнедеятельности термофильных аэробных, факультативно анаэробных и анаэробных микроорганизмов) 4. Вскрыть банку и провести посевы на питательные среды для выявления и идентификации микроорганизмов, предусмотренных 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>ВТОРОЙ ЭТАП (после инкубации при 37°С в течение 24 часов) Учесть результаты посевов на МПБ и среду Китта-Тароцци</p>							
	<table border="1"> <tr> <td>Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)</td> <td>Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму)</td> <td>Посев на среду Китта-Тароцци (при наличии роста приготовить мазок с окрашиванием по Граму)</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>	Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)	Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму)	Посев на среду Китта-Тароцци (при наличии роста приготовить мазок с окрашиванием по Граму)				<p>Заключение _____</p> <p>При наличии роста продолжить выделение чистых культур и идентификацию.</p>
Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)	Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму)	Посев на среду Китта-Тароцци (при наличии роста приготовить мазок с окрашиванием по Граму)						

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.

<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 нетермостойкой вегетативной микрофлоры, уменьшение количества спорообразующих микроорганизмов и гарантирует микробиологическую стабильность и безопасность продукта в течение ограниченного срока годности при температуре 6°С и ниже.</p> <p>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.</p> <p>В зависимости от группы к консервам требования по его промышленной стерильности или микробиологической стабильности.</p>	<p>В зависимости от целей и объектов контроля, микробиологические исследования консервов могут проводиться на:</p> <p>а. Исследование консервов на промышленную стерильность;</p> <p>б. Выявление возбудителей микробной порчи консервов;</p> <p>в. Определение в консервах патогенных микроорганизмов и их токсинов.</p> <p>Промышленная стерильность – отсутствие в консервируемом продукте микроорганизмов, способных развиваться при температуре хранения, установленной для конкретного вида консервов, а также микроорганизмов и их токсинов, опасных для здоровья человека.</p> <p>Микробиологическая стабильность – соответствие микробиологических показателей качества консервов требованиям, установленным нормативными документами на конкретный вид продукции.</p>
--	---

Микробиологические нормативы качества и безопасности консервов

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается			
		БГКП (колиформы)	Сульфитредуцирующие клостридии	<i>S. aureus</i>	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы
Консервы пастеризованные (из говядины и свинины, птицы)	2x10 ²	1,0	0,1	1,0	25
Пресервы рыбные	От 5x10 ⁵ до 5x10 ⁴	0,01	0,01	1,0	25
Консервы стерилизованные (из говядины и свинины, птицы)	Должны удовлетворять требованиям промышленной стерилизации для консервов группы А				
Рыба консервированная в стеклянной, алюминиевой и жестяной таре	Должна удовлетворять требованиям промышленной стерилизации для консервов группы А				
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 определения количества этих микроорганизмов оно должно быть не более 11 клеток в 1г(см3) продукта
Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>V.cereus</i> и (или) <i>V.polymuxa</i>	Не отвечают требованиям промышленной стерильности
Мезофильные клостридии	Отвечают требованиям промышленной стерильности, если выявленные мезофильные клостридии не относятся к <i>C.botulinum</i> и (или) <i>C.perfringens</i> . В случае определения мезофильных клостридий их количество должно быть не более 1 клетки в 1 г (см3) 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°С.	Отвечают требованиям промышленной стерильности

КУЛИНАРНЫЕ ИЗДЕЛИЯ

<p>Как правило, кулинарные изделия полностью готовы к употреблению в пищу, но некоторые требуют дополнительной термической обработки.</p> <p>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-мороженные: быстрозамороженные обеденные, закусовые 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 термообработке исследуется 2 раза в месяц, желированные и пастообразные изделия, не подвергнутые термообработке, продукция, упакованная под вакуумом исследуется 3 раза в месяц, сырые замороженные полуфабрикаты – только по эпидпоказаниям.</p> <p>Микробиологический контроль готовой продукции включает определение:</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 контролируются по эпидпоказаниям. Например, в салатах и смесях из сырых овощей, готовых к употреблению, бактерии рода <i>Yersinia</i> не допускаются в 25 гр продукта; контроль проводится при эпиднеблагополучии</p>
---	--

Микробиологические нормативы качества и безопасности некоторых кулинарных изделий

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается				Патогенные, в т.ч. сальмонеллы
		БГКП (коли-формы)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Proteus</i>	
Холодные блюда						
-салаты из сырых овощей	1x10 ⁴	0,1	1,0	1,0	-	25
-салаты из вареных овощей	1x10 ⁴	1,0	-	1,0	0,1	25
-салаты с мясом, рыбой	1x10 ⁴	0,1	0,1	0,1	0,1	25

Тема: Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды и воздуха.

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.

- 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 – IV этап (см. занятие №12).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование кефира – III этап (см. занятие №13).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла – III этап (см. занятие №13).	
4. Исследование баночных консервов – II этап (см. занятие №14).	
<p>5. Исследование смывов - I этап:</p> <p>а) посев в среду Кесслера (на бактерии группы кишечной палочки);</p> <p>б) посев в солевой бульон и на чашки с ЖСА (на стафилококк).</p>	<p align="center">Санитарно-микробиологическое исследование поверхностей ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p align="center">Взятие смывов с помощью увлажненных стерильных ватных тампонов.</p> <p align="center">последовательность работы с тампоном при взятии смывов</p>  <p align="center">Исследование на БГКП</p>  <p align="center">Исследование на стафилококк</p> 

ВТОРОЙ ЭТАП (через 24 часа инкубации при 37°C)

Исследования на БГКП

Учет роста на среде Кесслера

Результат		
отсутствие роста	помутнение	помутнение и газообразование

Заключение _____

В случае наличия газообразования и помутнения или только помутнения, провести высев на чашку со средой Эндо бактериологической петлей для получения изолированных колоний.

Исследование на стафилококк

1. При обнаружении на чашке 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):

а) Приготовить мазок, окрасить по Граму, промикроскопировать

Описать результат микроскопии _____

б) Отсеять подозрительные колонии на скошенный МПА

2. При наличии роста на среде обогащения (солевой бульон) провести высев бактериологической петлей в чашку с ЖСА для получения изолированных колоний. (При наличии подозрительных на *S. aureus* колоний на ЖСА высев не проводить).

ТРЕТИЙ ЭТАП (после инкубации 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-эпидемиологического неблагополучия, проводят постановку реакций на термостабильную ДНКазу, лецитовителлазу, разложение маннита в анаэробных условиях, определение активности кислоты

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП (после инкубации в термостате при 37°C 4-5 и 18 часов)

Определение БГКП

Учесть результат роста на среде с полужидкой глюкозой (лактозой). Образование кислоты и газа подтверждает наличие БГКП.

Идентификацию *E. coli* проводят по тестам: образование индола, положительная реакция с метиловым красным, отрицательная реакция с Фогес-Проскауэра, отсутствие способности утилизировать цитраты.

Заключение _____

<p>6. Исследование воздуха аспирационным и седиментационным методами –I этап.</p>	<p align="center">ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА СЕДИМЕНТАЦИОННЫМ МЕТОДОМ ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p>Открытые чашки Петри со средами разместить на горизонтальные поверхности и выдержать:</p> <ol style="list-style-type: none"> 2 чашки с МПБ – 20 минут (определение общего числа микроорганизмов) 2 чашки с ЖСА – 15 минут (для выявления стафилококков) <p>После посева чашки Петри закрыть крышками и поместить в термостат</p> <p align="center">ВТОРОЙ ЭТАП</p> <p>(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)</p> <p>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.</p> <p>Заключение _____</p> <p>При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на <i>S.aureus</i> (непрозрачные, золотистые, кремовые, эмалевые, лимонно-желтые, имеют форму правильных дисков от 2 до 4 мм в диаметре, слегка выпуклые с радужным венчиком вокруг колоний):</p> <ol style="list-style-type: none"> Приготовить мазок, окрасить по Граму, промикроскопировать Описать результат микроскопии _____ Отсеять подозрительные колонии на скошенный МПА <p align="center">ТРЕТИЙ ЭТАП</p> <p>(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)</p> <p>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.</p> <p>Заключение _____</p> <p>_____</p>	<p align="center">ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА АСПИРАЦИОННЫМ МЕТОДОМ</p> <p>Отбор проб воздуха в больничных стационарах производят на уровне дыхания лежащего больного или на высоте рабочего стола.</p> <p align="center">ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p>Для забора воздуха использовать аппарат Кротова или пробоотборник аэрозоля бактериологический (ПАБ-1, ПАБ-2). Объем исследуемого воздуха от 50 до 1000 л., скорости пробоотбора 25 л/мин</p> <ol style="list-style-type: none"> Произвести забор 100 л. воздуха на МПА (определение общего числа микроорганизмов) Произвести забор 250 л. воздуха на ЖСА (для выявления стафилококков) Произвести забор воздуха на кровяной агар (для выявления гемолитической флоры) <p align="center">ВТОРОЙ ЭТАП</p> <p>(после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37°C)</p> <p>Подсчитать количество колоний на чашке с МПА. Рассчитать общее число микроорганизмов на 1м³ воздуха.</p> <p>Заключение _____</p> <p>При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на <i>S. aureus</i> провести исследование аналогично изложенному выше (седиментационный метод)</p> <p>Записать результаты (микроскопия, проба на плазмокоагулазу) _____</p> <p>Заключение _____</p>
<p align="center">Демонстрация.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Аппаратура для отбора проб воздуха. 	<p align="right">Подпись преподавателя _____</p>	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.

ОТБОР И ИССЛЕДОВАНИЕ СМЫВОВ

Взятие смывов производится с помощью увлажненных стерильных ватных тампонов на металлических стержнях или салфеток (5x5 см), которые заготавливаются заранее.

В день взятия смывов в каждую пробирку с тампоном наливается по 10 см³ стерильной 0,1%-ной пептонной воды или стерильного физиологического раствора, при этом тампон остается над жидкостью, не касаясь ее. Перед взятием смыва тампон погружают в жидкость. Смывы с крупного оборудования и инвентаря, поверхностей, стен берут со 100 см² с помощью шаблона (графарета), сделанного из проволоки. Смоченным ватным тампоном или марлевой салфеткой обтирают поверхность, ограниченную шаблоном, во взаимно перпендикулярных направлениях. При взятии смывов с мелких объектов обтирают всю поверхность предмета. При обследовании объектов, где невозможно применить шаблон, исследуют последнюю порцию промывных вод (около 100 см³), взятой после мойки объекта.

При взятии смывов с рук увлажненным стерильной жидкостью тампоном протирают ладонные поверхности обеих рук сначала вдоль, потом поперек, затем межпальцевые пространства, ногти и подногтевые пространства. После взятия смыва тампон вновь погружают в пробирку со стерильной жидкостью, встряхивают и дают отстояться 2-3 мин. Марлевая салфетка также может быть погружена в пробирку со стерильной жидкостью для проведения десорбции микроорганизмов.

Для определения БГКП тампоны или марлевые салфетки опускают в пробирки с 5 см³ среды Кесслера. При исследовании на стафилококки проводят посев тампоном на ЖСА и параллельно засевают 0,5 мл смывной жидкости в 6,5% солевой бульон. При исследовании на наличие энтеробактерий и псевдомонад тампон инкубируют в 0,1 % пептонной воде с последующим высевом на среду Эндо.

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 малодостоверен.

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, характеризующие микробное загрязнение воздуха
Общее количество микроорганизмов воздуха (общее микробное число – ОМЧ).

Staphylococcus aureus (золотистый стафилококк)

Грамотрицательные бактерии – грамотрицательные бактерии, способные образовывать видимые невооруженным глазом колонии на питательном агаре 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, образующих на 5% кровяном агаре в течение 24 часов при 37°C колонии, окруженные зонами альфа- или бета-гемолиза. Основную массу гемолитической микрофлоры воздуха составляют гемолитические стрептококки.

Грибы (дрожжеподобные и плесневые) – количество дрожжей и плесневых грибов, вырастающих на питательном агаре или на агаре Сабура за 96 часов инкубации при 22 —28°C.

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

Бактериологические показатели, рекомендуемые для санитарно-микробиологической оценки воздуха лечебно-профилактических учреждений

Наименование объекта	Условия	Допустимые показатели		
		микробное число в 1 м ³	содержание	
			патогенных стафилококков	патогенных стрептококков
Операционные	До операции После операции	До 500 До 1000	Не должно быть Не должно быть	Не должно быть Не должно быть
Послеоперационные платы, отделения реанимации		До 750	Не должно быть	Не должно быть
Родильный дом, родильные залы	При поступлении рожениц и приеме родов	До 1500	Не должно быть	Не должно быть
Послеродовые палаты		До 2000	До 16 суммарно	
Палаты новорожденных		До 1500	До 12 суммарно	
Перевозочные, предоперационные палаты	До начала работы Летом Зимой	До 750 До 3500 До 5000	Не должно быть До 24 До 52	Не должно быть До 16 До 36

Тема: Санитарно-микробиологическое исследование почвы.

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:

6. Материал лекции.
7. [1], [2], [4] – (учебники).
8. [3] – (практикумы).
9. [6] – (доп. литература).
10. Санитарные нормы и правила Республики Беларусь.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
----------------	---------------------------

1. Санитарно-микробиологическое исследование кефира – IV этап (см. занятие №13).

2. Санитарно-микробиологическое исследование сливочного масла – IV этап (см. занятие №13).

3. Исследование смывов – II этап (см. занятие №15).

4. Исследование воздуха – II этап (см. занятие №15).

4. Исследование почвы – I этап.

Выявление и идентификация БГКП в почве титрационным методом
ПЕРВЫЙ ЭТАП



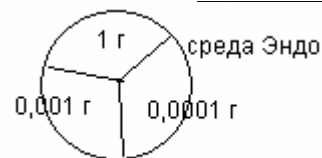
ВТОРОЙ ЭТАП

(после инкубации сред Кесслера при 37°C 24 часа)

Протокол опыта

Пробы	Отсутствие роста	Рост (помутнение и газообразование)	Рост (только помутнение)
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 во всех пробах указывает на отсутствие БГКП

При наличии в среде Кесслера газообразования и помутнения или только помутнения производится высев на среду Эндо (бактериологической петлей штрихом для получения колоний).

ТРЕТИЙ ЭТАП (после инкубации в термостате при 37°C 24 часа)**Учет роста на среде Эндо**

Пробы	результат	
	Отсутствие роста	красные с металлическим блеском и без него или розовые колонии
Посев 1 г почвы		
Посев 0,001 г почвы		
Посев 0,0001 г почвы		

Заключение _____

При отсутствии роста на среде Эндо выдается окончательный отрицательный ответ на отсутствие БГКП

При положительном результате из изолированных колоний приготовить микропрепараты с окрашиванием по Граму, поставить тест на оксидазу и провести посев на среду с полужидкой лактозой (глюкозой). Засевается 2-3 колонии.

Результаты: микроскопии _____ пробы на оксидазу _____

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

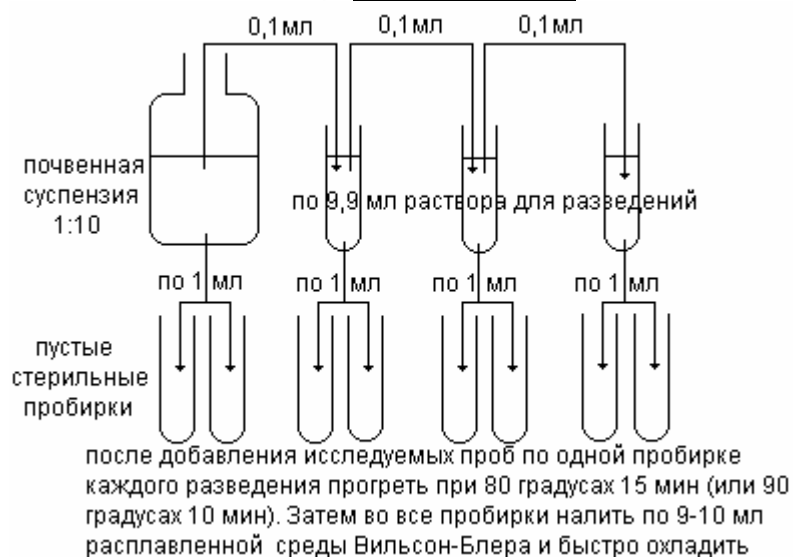
(после инкубации в термостате при 37°C 4-5 и 18 часов)

Учесть результат роста на среде с полужидкой лактозой (глюкозой)

Заключение _____

При наличии кислоты и газа дается положительный ответ о наличии БГКП.

Для идентификации *E.coli* проводят определение индола, реакцию Фогес-Проскауэра, тест на утилизацию цитратов, пробу с метиловым красным, ферментацию лактозы и глюкозы до кислоты и газа при 43-44°C.

Выявление и идентификация *C. perfringens***ПЕРВЫЙ ЭТАП****ВТОРОЙ ЭТАП**

(после инкубации сред Вильсон-Блера при 37°C 24 часа)

Протокол опыта

Показатели	Положительный результат	Результат исследованной пробы почвы
Колонии в среде Вильсон-Блера	Колонии черного цвета различной интенсивности	
Морфология	Палочки с закругленными концами, расположенные в одиночку, попарно, цепочкой или в виде штакетообразных скоплений	
Окрашивание по Граму	Грамположительные	

Заключение _____

Титр *C.perfringens* 0,01 и выше указывает, что почва чистая, 0,009-0,0001 – загрязненная, 0,00009 и ниже – сильно загрязненная

Демонстрация.

Аппаратура для отбора проб воздуха.

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

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 из него отбирают навески, величины которых выбирают исходя из предполагаемой степени загрязнения почвы и планируемых определений. Для учета почвенных микроорганизмов достаточно навески от 1 до 10 г. Первое разведение навески почвы (1:10) делают в стерильной посуде (например, 1 г почвенной суспензии разводят в 10 мл стерильной водопроводной воды, 10 г почвы — в 100 мл воды и т.д.). После приготовления разведений применяют соответствующую предварительную обработку почвы с целью извлечения клеток микроорганизмов из почвенных агрегатов, что достигается разрушением последних и десорбцией микроорганизмов с поверхности почвенных частиц при помощи:

- 10-минутного вертикального встряхивания почвенной суспензии первого разведения в пробирках с резиновыми пробками;
- 3-минутной обработки почвенной суспензии первого разведения на мешалке механического диспергатора.

Почву разводят до 0,0001—0,00001 г/мл (10^{-4} — 10^{-5}). Приготовленные разведения используются для посева на различные питательные среды, а также для учета численности микроорганизмов методом прямой микроскопии.

Схема оценки эпидемиологической опасности почв населенных пунктов

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

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 посевов в аэробных условиях при температуре 37°C в течение 24 часов.
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Грамотрицательные, не образующие спор короткие палочки, сбраживающие лактозу и глюкозу с образованием кислоты и газа при 37±0,5°C в течение 24-48 часов, не обладающие оксидазной активностью.
Энтерококки	Грамположительные кокки, расположенные парами короткими или длинными цепочками, каталазоотрицательные, спор и капсул не образуют. Для всей группы энтерококков характерны: устойчивость к 40% желчи, 6,5% хлористого натрия, pH – 9,6-9,2, не ферментируют раффинозу и не разлагают H ₂ O ₂ , рост в молоке с 0,1% метиленового синего.
<i>C. perfringens</i>	Грамположительные палочки с закругленными концами расположенные в одиночку, попарно, в виде цепочек или штакетобразных скоплений. Сбраживают лакмусовое молоко, ферментируют глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, галактозу с образованием кислоты и газа, не ферментируют маннит и дульцит.
Термофильные бактерии	Полиморфная группа преимущественно спорообразующих бактерий, способных размножаться при температуре 50-70°C.
Нитрифицирующие бактерии	Морфологически разнообразны: палочковидные, сферические, эллипсоидные, спиралевидные. Грамотрицательные, аэробы. Численность этих микроорганизмов указывает на степень органического загрязнения, скорости и окончание распада органики в почве.

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

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

Тема: Методы санитарно-вирусологических исследований.

<p>Санитарная вирусология, задачи, методы, значение в деятельности врача медико-профилактического профиля.</p> <p>Патогенные вирусы в окружающей среде, способы попадания, условия существования.</p> <p>Санитарно-показательные вирусы. Методы их обнаружения во внешней среде, воде и пищевых продуктах.</p> <p>Методы обнаружения энтеровирусов и колифагов.</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. Исследование смывов – III этап (см. занятие №15).									
2. Исследование воздуха – III этап (см. занятие №15).									
3. Исследование почвы – II этап (см. занятие №16).									
4. I этап титрования коли-фага в сточной воде.	ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИФАГОВ В СТОЧНОЙ ВОДЕ ПРЯМЫМ МЕТОДОМ								
	<p style="text-align: center;">ПЕРВЫЙ ЭТАП</p> <p style="text-align: center;">по 3 мл расплавленного и остуженного до 45 градусов 1,5% питательного агара, содержащего 0,2 мл суточной культуры E.coli (выливается в чашки Петри вторым слоем)</p>	<p style="text-align: center;">ВТОРОЙ ЭТАП</p> <p style="text-align: center;">(после инкубации в термостате при 37°C 18-24 часа)</p> <p style="text-align: center;">Протокол опыта</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="width: 60%;">Пробы воды</th> <th style="width: 40%;">Количество блюшек (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 блюшек (колоний фага на чашке Петри)	Цельная (1мл)		Разведенная 1:10 (0,1 мл)		Разведенная 1:100 (0,01 мл)
Пробы воды	Количество блюшек (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 № 17.

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).

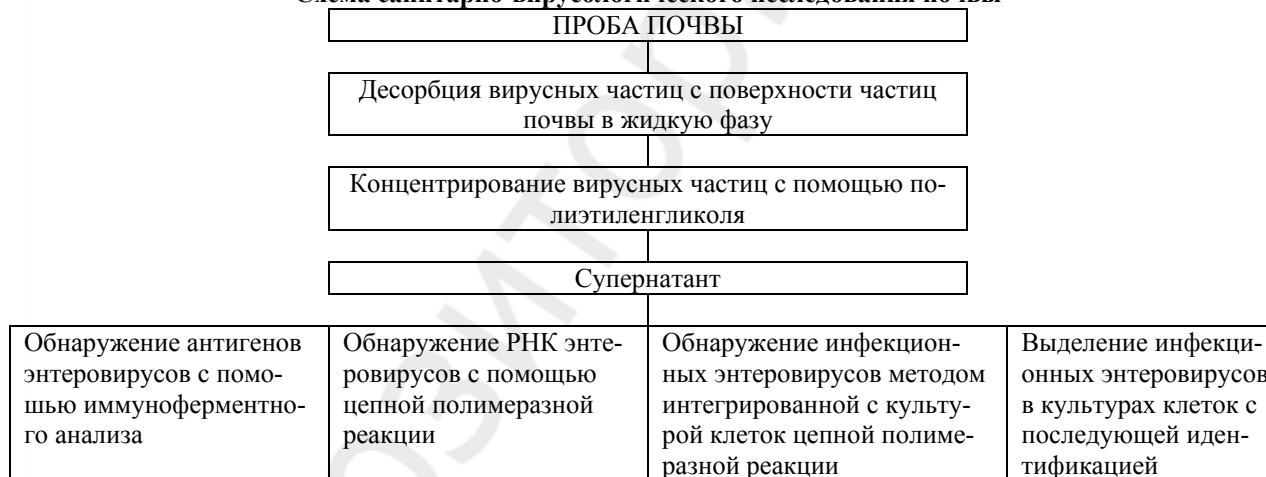
В стерильный флакон с надосадочной жидкостью добавляют ПЭГ-6000 и хлористый натрий до конечных концентраций 10% и 0,5 М, соответственно. Смесь тщательно перемешивают до полного растворения ПЭГ и хлористого натрия, затем выдерживают в течение 10-12 часов при температуре +4⁰С. Образовавшуюся суспензию 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±1⁰С 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.

Тема: Итоговое занятие: «Санитарная микробиология».

<p>Вопросы к итоговому занятию:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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. 	<ol style="list-style-type: none"> 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 нормативы. 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. <p>Перечень практических навыков:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 - IV этап (см. занятие № 15).	
2. Исследование почвы (см. занятие № 16).	
3. II этап титрования коли-фага в сточной воде - учёт результатов (см. занятие № 17).	

Подпись преподавателя _____

Литература

Основная

1. *Кочемасова, З. Н.* Санитарная микробиология и вирусология / З. Н. Качемасова, С. А. Ефремова, А. М. Рыбакова – М.: Медицина, 1987. – 352 с.
2. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. М.: МИА. 2001; 2005. - 736 с.
3. *Борисов, Л. Б.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Л. Б. Борисов. М. - 1994.
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. 2 изд., доп. и перераб. Минск. «Асар». 1999. - 400 с.
7. *Красильников, А. П.* Справочник по антисептике. / А. П. Красильников. Мн.: Вышэйшая школа, 1995. – 367 с.
8. *Основы клинической микробиологии и иммунологии.* ч. I: учеб.-метод. пособ. / под ред. А.П. Красильникова. Минск: МГМИ: 1989. 61 с.

Оглавление

Введение. Список сокращений.....	3
Занятие № 1. Клиническая микробиология. Методы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи, подкожной клетчатки, бактериемии, сепсиса.....	4
Занятие № 2. Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний бронхолёгочной системы и мочевыделительной системы.....	9
Занятие № 3. Клиническая микробиология (продолжение). Внутрибольничные инфекции.....	12
Занятие № 4. Эпидемиологическая микробиология. Методы диагностики пищевых отравлений.....	13
Занятие № 5. Эпидемиологическая микробиология и иммунология. Выявление источника инфекции. Методы оценки коллективного иммунитета.....	16
Занятие № 6. Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия. Методы контроля качества стерилизации, дезинфекции.....	17
Занятие № 7. Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия. Методы контроля качества антисептики.....	22
Занятие № 8. Эпидемиологическая микробиология. Методы контроля микробной контаминации готовых лекарственных форм антибиотиков, антисептиков, дезинфектантов.....	25
Занятие № 9. Итоговое занятие: «Клиническая и эпидемиологическая микробиология».....	27
Занятие № 10. Санитарная микробиология. Санитарно-микробиологическое исследование воды.....	28
Занятие № 11. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов. Методы исследования мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов.....	33
Занятие № 12. Санитарно-микробиологическое исследование молока, напитков.....	38
Занятие № 13. Санитарно-микробиологическое исследование молочных продуктов, сыров и творожных изделий.....	41
Занятие № 14. Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов, кулинарных изделий.....	45
Занятие № 15. Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды и воздуха.....	48
Занятие № 16. Санитарно-микробиологическое исследование почвы.....	52
Занятие № 17. Методы санитарно-вирусологических исследований.....	56
Занятие № 18. Итоговое занятие: «Санитарная микробиология».....	58
Литература.....	59