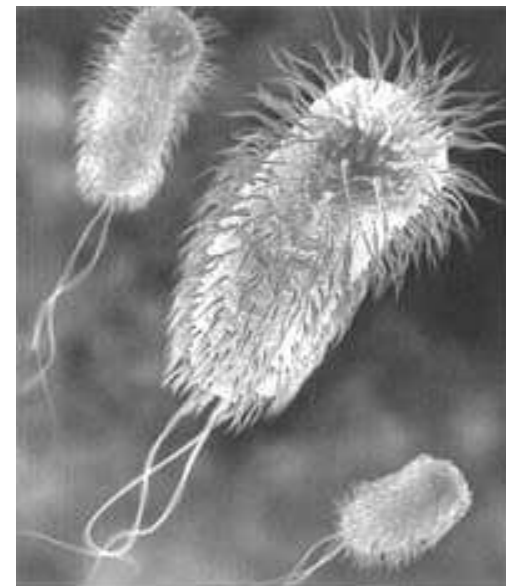


ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Студента ____ группы медико-профилактического факультета



Минск БГМУ 2025

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

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум



Минск БГМУ 2025

УДК 579.63(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73
Э71

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве
практикума 18.12.2024 г., протокол № 4

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–9); канд. мед. наук, доц. И. А. Гаврилова (зан. 1–9); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (зан. 4–9); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (зан. 1, 2, 7); канд. мед. наук, доц. Е. И. Гудкова (зан. 1, 2, 7)

Р е ц е н з е н т ы: канд. мед. наук, доц., зав. каф. эпидемиологии Белорусского государственного медицинского университета И. Н. Вальчук; каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Гомельского государственного медицинского университета

Эпидемиологическая и санитарная микробиология : практикум /
Э71 Т. А. Канашкова, И. А. Гаврилова, Л. И. Каскевич [и др.]. – Минск :
БГМУ, 2025. – 55 с.

ISBN 978-985-21-1726-5.

Отражены вопросы эпидемиологической и санитарной микробиологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ при изучении дисциплины «Эпидемиологическая и санитарная микробиология».

Предназначено для студентов 3-го курса, обучающихся по специальности 1-79 01 03 «Медико-профилактическое дело».

УДК 579.63(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73

ISBN 978-985-21-1726-5

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2025

ВВЕДЕНИЕ

Уважаемые студенты!

Практикум «Эпидемиологическая и санитарная микробиология» для лабораторных занятий студентов 3 курса медико-профилактического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ поможет в освоении важной для врача-гигиениста, эпидемиолога дисциплины.

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).

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

ПРАВИЛА

работы в микробиологической лаборатории для студентов, проходящих обучение на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

1. Студенты допускаются к выполнению лабораторных работ только после проведения инструктажа преподавателем на рабочем месте по технике безопасности при работе с микробными культурами, биологическим материалом, лабораторными животными, электроприборами и спиртовками и обязательной личной росписи студента о прохождении инструктажа. Инструктаж проводится в начале каждого семестра.

2. В каждой группе назначается дежурный, помогающий преподавателю в организации и проведении лабораторных работ, поддерживающий дисциплину и порядок в практикуме в отсутствие преподавателя.

3. Студенты должны быть предупреждены об имеющейся биологической опасности при работе с микроорганизмами. Разрешается работа только с культурами микробов-сапрофитов или относящихся к I группе биологического риска по классификации ВОЗ.

4. Все студенты, находящиеся в лаборатории, должны быть в халатах и шапочках.

5. Каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом и содержать его в надлежащем порядке.

6. Студенты должны знать порядок и правила работы в лаборатории и строго соблюдать их. Любая манипуляция по теме занятия выполняется только после пояснения и практического показа преподавателем.

7. Во время работы двери практикума должны быть закрыты. Не допускаются излишне громкие разговоры, хождение, прием пищи, применение косметических средств.

8. При работе с культурами и биоматериалом ни в коем случае нельзя прикасаться к ним руками. Необходимо пользоваться специальными инструментами (бактериологические петли и др.). Запрещается работа с пипеткой при помощи рта.

9. Манипуляции при выполнении микроскопического и культурального методов проводятся с использованием стерилизации открытым пламенем (спиртовка).

10. Пробирки, чашки Петри и пр. после проведения посевов обязательно подписываются.

11. Инструменты, лабораторная посуда, микробные культуры и биологический материал после окончания работы подлежит обязательной стерилизации в лаборатории (петли, пинцеты) или вне ее. В последнем случае их помещают в специальные контейнеры и удаляют из лаборатории.

12. Студент немедленно сообщает преподавателю обо всех нестандартных аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности.

13. Работа с кровью, заразным материалом и зараженными животными ведется в резиновых перчатках;

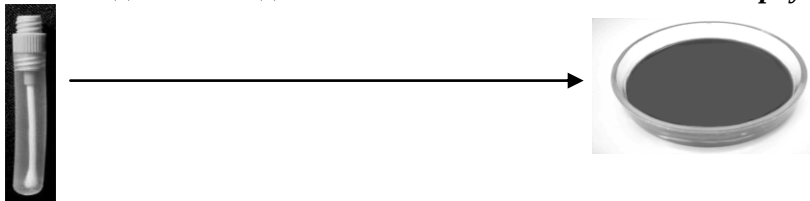
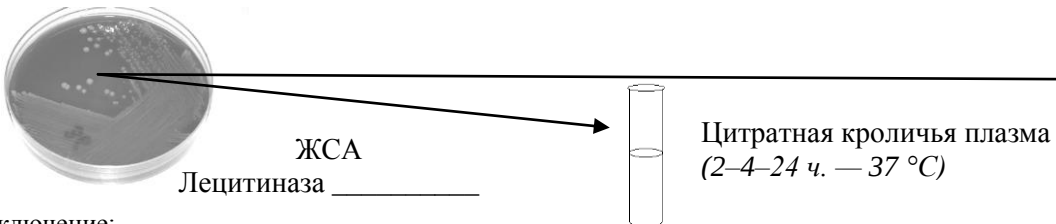
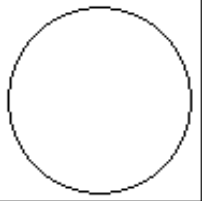
14. После окончания работы студент самостоятельно приводит в полный порядок свое рабочее место. Мытье рук перед уходом из лаборатории является обязательным.

15. Обязательным является соблюдение правил техники безопасности при работе со спиртовками и электрическими приборами.

ТЕМА: Эпидемиологическая микробиология. Выявление источника инфекции. Методы оценки коллективного иммунитета. Методы диагностики пищевых отравлений

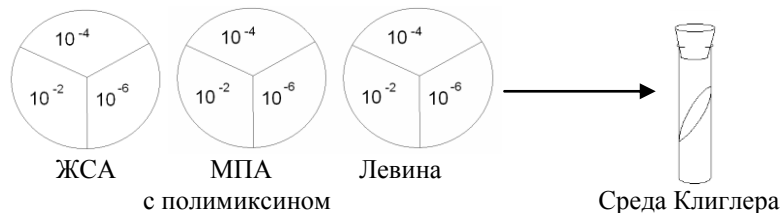
Понятие об источнике инфекции и механизме передачи возбудителя, методы выявления. Микробиологическое типирование возбудителей. Микробоносительство, виды, методы диагностики, материал для исследования. Эпидемиологическая иммунология, определение. Понятие о восприимчивом коллективе и коллективном иммунитете. Иммунная прослойка. Иммунологическая структура населения. Методы определения и оценки коллективного иммунитета (в отношении дифтерии, кори, столбняка, коклюша, полиомиелита, туберкулёза, гриппа. 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. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [3], [6] — доп. литература. 5. [7], [8], [12], [16] — НПА РБ.
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Исследование отделяемого носоглотки на наличие <i>Staphylococcus aureus</i> (диагностика бактерионосительства): а) забор материала тампоном; б) посев на чашки с ЖСА.	I этап исследования отделяемого носоглотки на наличие <i>Staphylococcus aureus</i> 
II и III этапы исследования отделяемого носоглотки на наличие <i>Staphylococcus aureus</i>  Закключение: _____	Препарат _____ Окраска _____ 

2. Учёт РПГА для оценки поствакцинального противодифтерийного иммунитета.	$\frac{1}{10}$ $\frac{1}{20}$ $\frac{1}{40}$ $\frac{1}{80}$ $\frac{1}{160}$ $\frac{1}{320}$ КС КА Закключение: _____	
3. I этап диагностики пищевого отравления: а) приготовление разведений материала от больного (промывных вод желудка) и гомогената пищевого продукта; б) посев разведений на дифференциально-диагностические среды.	Диагностика пищевого отравления (I этап) Гомогенат колбасы Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Посев разведений на сектора по 0,05 мл (1 капля) ЖСА Левина МПА с полимиксином (для <i>B. cereus</i>) ПВЖ Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Посев разведений на сектора по 0,05 мл (1 капля) ЖСА Левина МПА с полимиксином (для <i>B. cereus</i>)	

Исследование пищевого продукта (II этап)

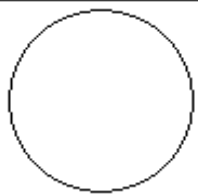


Характеристика колоний:

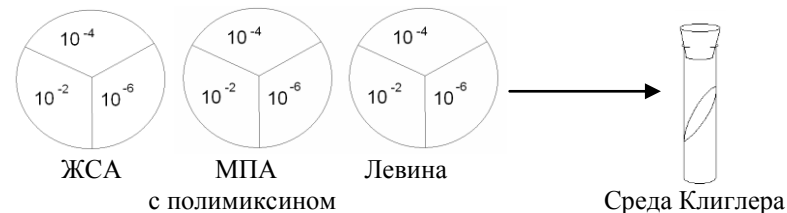
Расчет количества бактерий в 1 мл материала: $(N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x$, где n — кол-во колоний на секторе, 20 — коэф. перерасчета на 1 мл, 10^x — степень разведения материала). $N =$ _____ КОЕ/мл

Препарат _____

Окраска _____



Исследование промывных вод желудка (II этап)



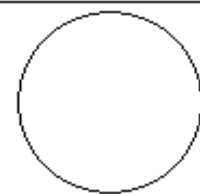
Характеристика колоний:

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

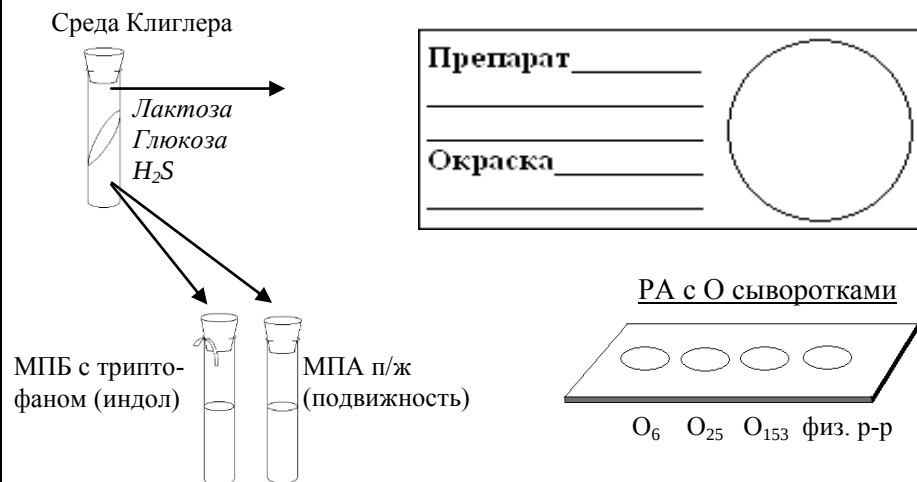
$N =$ _____ КОЕ/мл

Препарат _____

Окраска _____

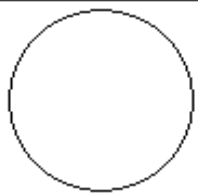


Исследование пищевого продукта (III этап)

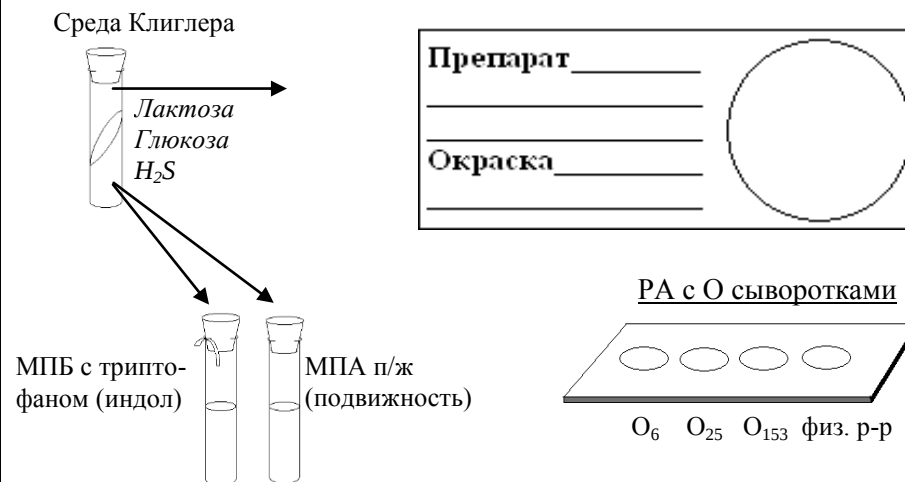


Препарат _____

Окраска _____

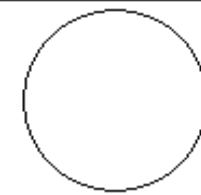


Исследование промывных вод желудка (III этап)



Препарат _____

Окраска _____



Исследование пищевого продукта



МПБ с триптофаном
(индол)



МПА
п/ж
(подвижность)

Учет результатов

Исследование промывных вод желудка



МПБ с триптофаном
(индол)



МПА
п/ж
(подвижность)

Закключение: _____

Подпись преподавателя _____

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 лимфатический 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 количество 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. Противомикробные мероприятия. Методы контроля качества стерилизации, дезинфекции, антисептики

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. 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.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [3], [6] — доп. литература. 5. [7], [8], [12], [16] — НПА РБ.
---	--

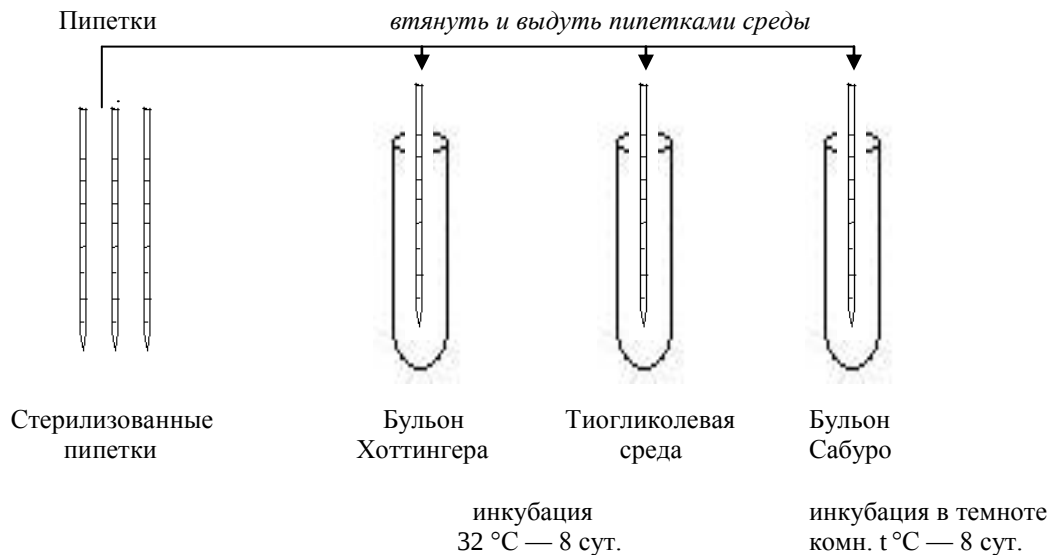
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. II этап диагностики пищевого отравления (см. занятие № 1).	
2. II и III этапы диагностики носительства <i>Staphylococcus aureus</i> (см. занятие № 1).	
3. Опыт по контролю качества стерилизации изделий из стекла. <i>Подготовить к стерилизации и простерилизовать стеклянные пипетки.</i>	Стерилизация изделий из стекла и контроль ее качества. Методика стерилизации: 1. Провести предстерилизационную очистку и дезинфекцию пипеток: а) погрузить пипетки на 15 минут в 3%-ный 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 °С, 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. Среда Хоттингера и тиогликолевую поместить в термостат при температуре 32 °С, бульон Сабуро оставить при температуре 20–22 °С.
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 наблюдение прекращают и дают заключение.

Заключение: _____

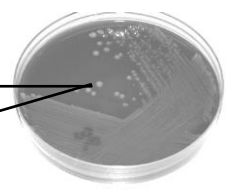
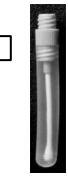
Препарат _____	

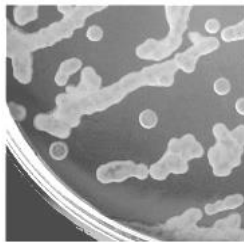
Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

4. Опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария. <i>Простерилизовать инъекционные иглы в паровом стерилизаторе (автоклаве).</i>	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%-ном 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 °С, бульон Сабуро оставить при температуре 20–22 °С. 3. Наблюдать за помутнением сред в течение 8 дней.  Стерилизованные иглы  бульон Хоттингера инкубация 32 °С — 8 сут.  тиогликолевая среда инкубация в темноте комн. t °С — 8 сут.  бульон Сабуро	
II этап <i>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.</i>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Заключение: _____

5. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций. <i>Провести дезинфекцию поверхностей 0,5 % раствором хлорамина;</i> <i>Проконтролировать качество дезинфекции.</i>	Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах капельных инфекций Методика: - Ограничить площадь лабораторного стола или иной поверхности трафаретом 10 × 10 см. - Контаминировать её тампоном, смоченным взвесью стафилококка (дважды по 1 мин); дать высохнуть. - Тщательно в течение 10 минут протереть тампоном, смоченным раствором хлорамина (не ниже 20 °С), ограниченную трафаретом и контаминированную стафилококком поверхность. Методика контроля качества дезинфекции: - Проводится не позднее 30–45 минут после дезинфекции. - Смыть стерильным ватным тампоном, смоченным в растворе тиосульфата натрия, продезинфицированную площадь (не выходя за границы трафарета). - Тампон опустить в пробирку с соевым бульоном. - Через 24 часа инкубации в термостате при 37 °С из бульона сделать высеv на ЖСА.
Контаминация поверхности стола 10×10 см 1 млрд взвесью стафилококка → Дезинфекция поверхности стола 0,5 % раствором хлорамина → Контроль качества дезинфекции (сmyв с поверхности стола) Препарат _____ Окраска _____ III этап  ЖСА 37 °С — 48 ч II этап  соевой бульон 37 °С — 24 ч I этап   плазма	
- После 48-часовой инкубации в при 37 °С изучить наличие и характер роста на ЖСА, провести отбор подозрительных колоний. - Сделать мазки с окраской по Граму из культуры на ЖСА и поставить пробу на плазмокоагулазу. - Ответ об обнаружении золотистого стафилококка дают на основании характера роста на питательных средах, характерной морфологии и положительного теста на плазмокоагулазу. Заключение: дезинфекция считается качественной, если в посевах смывов не выделен золотистый стафилококк. Заключение: _____	

6. Опыт по контролю качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций <i>Провести дезинфекцию посуды 0,5%-ным раствором хлорамина.</i>	Контроль качества дезинфекции поверхностей в очагах кишечных инфекций I этап: 1. Тампонами, увлажненными взвесью тест-микроба, контаминировать внутреннюю поверхность чашки Петри. 2. Контаминированные <i>E. coli</i> и высушенные чашки Петри опускают в раствор хлорамина (температура не ниже 20 °С). 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 °С на одни сутки.		
II этап <i>Сделать высев со среды Кесслера на среду Эндо петлём и выдержать среду в термостате при 37 °С 48 часов.</i>	Контаминация чашки Петри 1 млрд. взвесью <i>E. coli</i> → Дезинфекция чашки Петри 0,5%-ным раствором хлорамина → Контроль качества дезинфекции (смыв поверхности чашки) Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ ←  ←  ←  ГПС 43 °С — 24 ч Среда Эндо 37 °С — 24 ч Среда Кесслера 37 °С — 24 ч		
III этап 1. Подозрительные колонии (красного и розового цвета гладкой формы), содержащие грамтрицательные палочки, пересеять на ГПС. 2. После суточной инкубации при 43 °С 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. Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ ← Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Закключение: _____ Закключение: дезинфекция считается качественной, если из смывов продезинфицированного объекта не выделена кишечная палочка.			

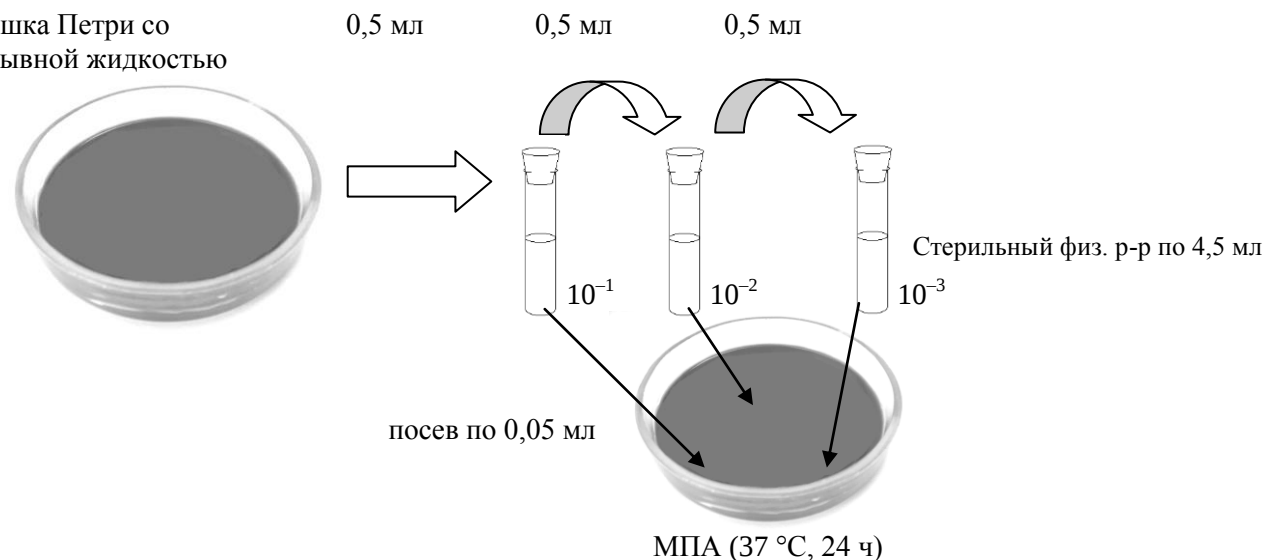
7. Опыт по определению качества хирургической антисептики кожи рук.

Хирургическая антисептика

I этап

1. Вымыть руки теплой водой с туалетным мылом (2 минуты).
 2. Высушить руки на воздухе.
 3. Провести смывы с кожи двух дистальных фаланг указательного, среднего и безымянного пальцев одной руки в чашке с 10 мл 1 % пептонной воды путем втирания в дно чашки (контроль).
 4. Выполнить обработку кожи рук антисептиком путем тщательного втирания препарата в кожу дважды по 5 мл в течение 5 минут.
 5. Провести смывы с кожи дистальных фаланг пальцев другой руки в чашке с 10 мл 1 % пептонной воды путем втирания в дно чашки (опыт).
 6. Выполнить посевы смывов.
- 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 высевах 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 $> 2,0 \ln$.

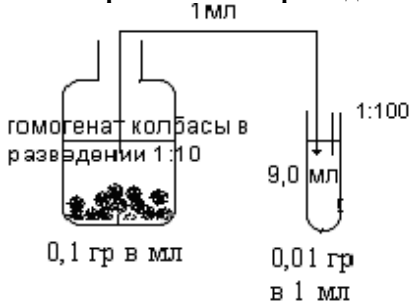
Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

ТЕМА: Санитарная микробиология пищевых продуктов. Санитарно-микробиологическое исследование мяса, мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов

Санитарная микробиология, определение, задачи, методы. Санитарно-показательные микроорганизмы. Пищевые продукты как источники поступления в организм токсических, аллергенных веществ и возбудителей инфекционных и паразитарных болезней. Меры профилактики. Специфическая и неспецифическая микрофлора пищевых продуктов. Условия существования микробов в пищевых продуктах. Пути и источники микробного загрязнения. Условия сохранения и размножения микробов в пищевых продуктах. Микрофлора мяса, мясных продуктов. Бактериологические нормативы. Мясопродукты как фактор передачи инфекционных заболеваний. Методика санитарно-бактериологического исследования мясных, рыбных и колбасных изделий. Отбор проб, посев для выявления общего количества микробов, кишечной палочки, сальмонелл, протей и анаэробов. Микрофлора рыбы и рыбных продуктов, пути попадания, условия существования. Рыба и рыбные продукты как фактор передачи заболеваний. Санитарно-микробиологическое исследование рыбы и рыбных продуктов.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [5], [6] — доп. литература. 5. [9], [10], [14], [15] — НПА РБ.
--	---

Лабораторная работа

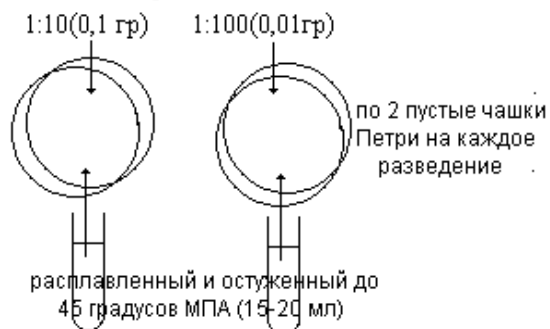
Задание	Методы, результаты
1. III этап диагностики пищевого отравления (см. занятие № 1).	
2. Опыты по контролю качества стерилизации, дезинфекции, антисептики — II этап (см. занятие № 2).	
3. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов — 1-й этап: а) подготовка навески котлет и колбасы 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 °С 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 °С 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

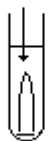
Для определения общего количества микробов в 1 г продукта подсчитанное количество колоний умножают на степень разведения анализируемого продукта.

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 °С 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 °С 18–20 часов)

Учет роста на среде Кесслера

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

Заключение при отрицательном результате _____

При обнаружении газообразования провести высев бактериологической петлей на среду Эндо.

ТРЕТИЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после инкубации в термостате посева на среду Эндо при 37 °С 18–20 часов)

Заключение при отрицательном результате _____

Учет роста на среде Эндо

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

При положительном результате из подозреваемых колоний приготовить мазки, окрасить по Граму и провести тест на оксидазу. Результаты: микроскопии _____

оксидазный тест _____

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

Заключение при положительном результате _____

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
(0,01 гр. продукта)



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 _____

ВТОРОЙ ЭТАП

(инкубация 20–24 часа при температуре 37 °С)

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

Определение бактерий рода *Proteus*

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



Инкубация при 37 °С 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* — грамотрицательные палочки. Как правило, в зависимости от вида продукта, протей должен отсутствовать в 0,1–1 г.

Заключение _____

Демонстрация

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3

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.

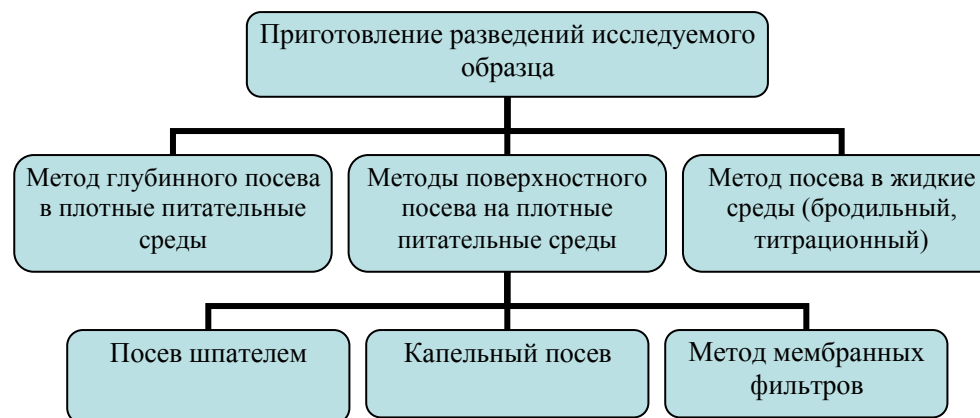
Этапы санитарно-микробиологического исследования:

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.).

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.

Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов является одним из наиболее сложных и трудоемких разделов санитарной микробиологии. Это связано с большим разнообразием микрофлоры в продуктах, а также использованием ряда микроорганизмов специально для производства продуктов питания. Речь идет о специфической микрофлоре — микробах, используемых для приготовления продукта: всех кисломолочных, хлеба, пива, вина и др. Для приготовления кисломолочных продуктов питания используются *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, некоторые грибы.

Представители неспецифической микрофлоры попадают в продукты случайно, загрязняя их. Это могут быть как сапрофиты, так и условно-патогенные и патогенные микроорганизмы — бактерии, вирусы, грибы, простейшие. Многие инфекционные заболевания передаются через пищевые продукты (брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, дизентерия, эшерихиозы, холера, ботулизм, бруцеллез, энтеровирусные инфекции). Попадают в пищевые продукты и микроорганизмы, вызывающие порчу продукта. Степень загрязнения зависит от: заготовки, транспортировки, хранения, технологии обработки, соблюдения санитарного режима.

Исследование пищевых продуктов имеет ряд особенностей, зависящих от консистенции и степени питательности продукта (витамины, факторы роста) и, следовательно, возможностей для размножения микроорганизмов; характера его обработки и применения тех или иных методов консервации; длительности допустимого хранения и др. Несоблюдение санитарных правил получения, транспортировки, хранения или приготовления пищи может привести к контаминации продуктов и готовых блюд микробами и их токсинами, что приводит к возникновению пищевых отравлений.

В жидких продуктах условия для размножения, распространения во всей массе продукта, длительности сохранения жизнеспособности значительно более благоприятны, чем в продуктах плотной консистенции и особенно в продуктах высушенных и порошкообразных. В последних часто наблюдается гнездное расположение патогенов или санитарно-показательных микроорганизмов (мясные продукты, масло, мороженое, яичный порошок).

Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов проводится:

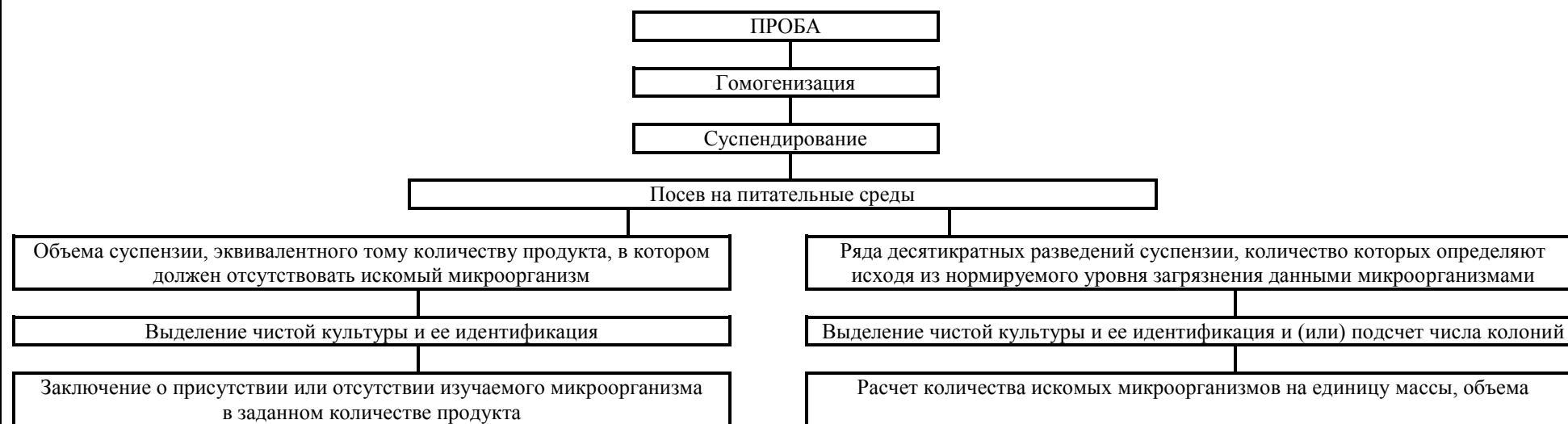
- 1) при плановом контроле продукта, сырья;
- 2) по эпидпоказаниям (например, при расшифровке заболеваний, пищевых токсикоинфекций);
- 3) по спецпоказаниям (порча сырья или приготовленных продуктов).

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 1 г (мл) продукта (КОЕ/г,мл).

Схема санитарно-микробиологического исследования пищевых продуктов



Микробиологические нормативы качества и безопасности мяса, рыбы, некоторых мясных и рыбных продуктов

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается			
		БГКП (колиформы)	Сульфитредуцирующие кlostридии	<i>S. aureus</i>	Патогенные, в т. ч. сальмонеллы
Мясо свежее	от 10 до 1×10^3	от 0,1 до 1,0	–	–	25
Мясо замороженное	от 1×10^4 до 5×10^5	от 0,0001 до 0,01	–	–	25
Колбасы сырокопченые	–	1,0	0,01	1,0	25
Колбасы и колбасные изделия, варенные высшего и первого сорта	1×10^3	1,0	0,01	1,0	25
Рыба свежая	5×10^4	0,01	–	0,01	25
Рыба мороженая	5×10^4	0,001	–	0,01	25
Филе рыбное	5×10^4	0,001	–	0,01	25
Рыбная продукция:					
– горячего копчения	1×10^3	10	–	1,0	25
– холодного копчения	5×10^3	1,0	–	1,0	25

Примечание: Во всех видах доброкачественной рыбной продукции *Vibrio parahaemolyticus* не допускается более 10 КОЕ/г.

ТЕМА: Санитарно-микробиологическое исследование молока, молочных продуктов, 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. 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. Санитарно-микробиологическое исследование напитков (минеральная вода, безалкогольные напитки, пиво). Бактериологические нормативы. Методы исследования.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [5], [6] — доп. литература. 5. [9], [10], [14], [15] — НПА РБ.
--	---

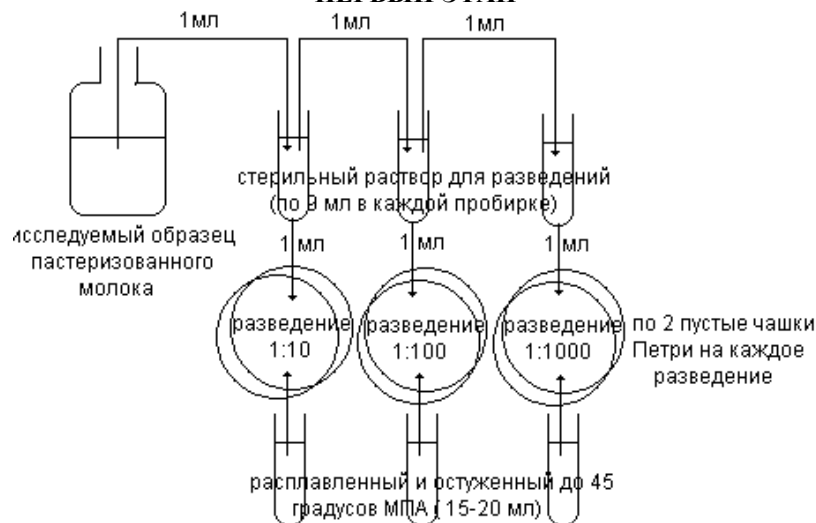
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
1. Опыты по контролю качества стерилизации, дезинфекции, антисептики — III этап (см. занятие № 2).			
2. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов — II этап (см. занятие № 3).			
3. Санитарно-микробиологическое исследование молока — I этап.	Подготовка пробы к анализу: перед исследованием пробу молока тщательно перемешать.		
	МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕДУКТАЗЫ СЫРОГО МОЛОКА С МЕТИЛЕНОВЫМ ГОЛУБЫМ		
	Метод основан на восстановлении метиленового голубого окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности обесцвечивания метиленового голубого оценивают бактериальную обсемененность сырого молока.		
	В пробирку налить 1 мл раствора метиленового голубого и 20 мл исследуемого молока, закрыть резиновой пробкой и смешать путем медленного трехкратного переворачивания пробирки.		
	Пробирку поместить в водяную баню, находящуюся в термостате с температурой (37±1) °С.		
	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 сверху (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.		
Учет результатов провести по таблице.			
	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.
Заключение _____			

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 °С в течение 72 ч.

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАФАнМ В МОЛОКЕ

(после инкубации посевов разведений молока на чашках Петри при температуре 30 °С 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:

$$X = N \times 10^m,$$

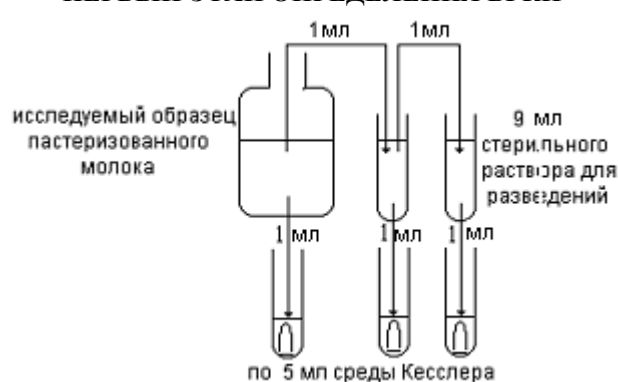
где X — количество бактерий, N — количество колоний на чашке Петри, m — число десятикратных разведений. За окончательный результат принять среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Заключение _____

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

Метод основан на способности БГКП (бесспорые, 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 °С в течение 24 часов.

ПЕРВЫЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП



ВТОРОЙ ЭТАП ОПРЕДЕЛЕНИЯ БГКП

(после инкубации в термостате при 37 °С 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)		

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.

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

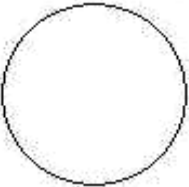
САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

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.

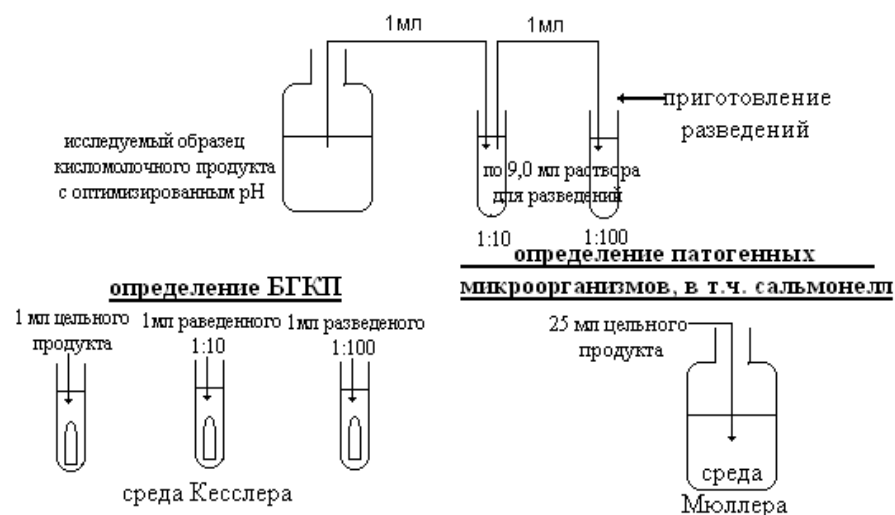
На предметное стекло нанести каплю исследуемого продукта и распределить на площади около 1 см². Препарат высушить при комнатной температуре, зафиксировать на пламени и окрасить метиленовым синим 5 минут. Результат зарисовать.

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 высеv на чашку со средой Эндо для получения изолированных колоний.

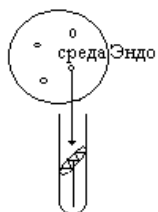
ТРЕТИЙ ЭТАП

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

Определение патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл

Учет роста на чашке со средой Эндо

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



среда Клигера

Заключение _____

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

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

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

Определение патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл

Учет результатов роста на среде Клигера

	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.

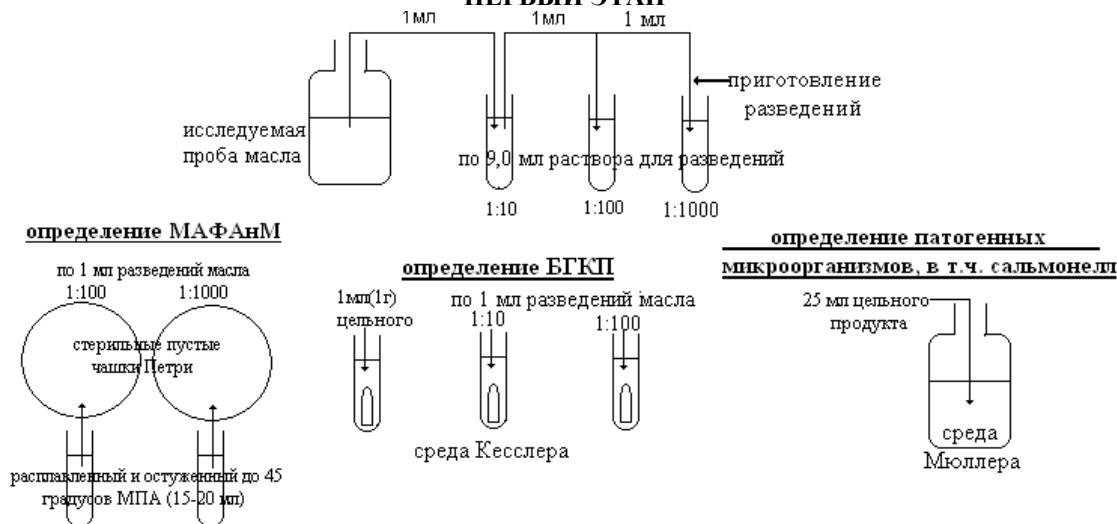
Заключение _____

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

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЛИВЛЧНОГО МАСЛА

Пробы масла сливочного отбирают из трех упаковок по два противоположных по диагонали куса 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 °С, перемешивая до получения однородной консистенции. Жидкость для разведения также подогревается на водяной бане до температуры 40–45 °С.

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП определения МАФАНМ

(после инкубации посевов разведений масла на чашках Петри при температуре 30 °С в течение 72 ч)

Считаются колонии только в посевах тех разведений, где выросло от 15 до 300 колоний.

Протокол опыта

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

Количество микроорганизмов в 1 мл рассчитывается по формуле:

$$K = AB / C,$$

где К — КОЕ (количество микробов в 1 мл); А — количество колоний на чашке; В — объем молока в котором хотим определить количество микроорганизмов (1 мл); С — объем посева.

Заключение _____

ВТОРОЙ ЭТАП 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)		

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.

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

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

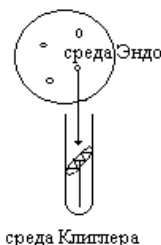
ТРЕТИЙ ЭТАП

(после инкубации в термостате при 37 °С 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	Отсутствие роста
Исследуемая проба масла			



Заклучение _____

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

ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП

(после инкубации в термостате при 37 °С 18–24 ч)

Определение патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл

Учет результатов роста на среде Клигlera.

	Лактоза	Глюкоза	Сероводород
Результат			

Пожелтение скошенной части среды указывает на ферментацию лактозы; пожелтение столбика среды с разрывом агара или пузырьками газа указывает на ферментацию глюкозы с образованием газа, пожелтение столбика среды без разрывов или пузырьков газа указывает на ферментацию глюкозы без образования газа;

Почернение среды в столбике указывает на образование сероводорода.

Типичными для бактерий рода *Salmonella* являются культуры, ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа, не ферментирующие лактозу и сахарозу, образующие сероводород.

Заклучение _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4

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 редуктазной пробы, из объединенной пробы молока выделяют пробу объемом $50\text{--}60 \text{ см}^3$.
2. Молоко пастеризованное в транспортной таре. От продукции, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания отбирают $50\text{--}60 \text{ см}^3$ 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
– второй сорт	5×10^5	–	25	Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см^3
– третий сорт	4×10^6	–	25	Соматические клетки не более 1000 тыс. в 1 см^3
Молоко пастеризованное				
– группа А	5×10^4	1,0	25	<i>S. aureus</i> в 1 см^3 не допускается
– группа Б (в потребительской таре)	1×10^5	0,1	25	<i>S. aureus</i> в $0,1 \text{ см}^3$ не допускается
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 $30\text{--}35^\circ\text{C}$ 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			

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 (простокваши, 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. diacetylactis* 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 грибов.

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

Определение ОМЧ кисломолочных продуктов не производится.

Микробиологические показатели качества и безопасности некоторых молочных продуктов

Продукция	МАФАНМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г, см ³), в которой не допускаются		Примечание
		БГКП (колиформные)	Патогенные 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	1×10^5	0,1	25	<i>S. aureus</i> не допускается в 1,0 г
Масло вологодское	1×10^4	0,1	25	
Масло сладко-сливочное	1×10^5	0,01	25	
Масло кисло-сливочное	—	0,01	25	

ТЕМА: Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов, кулинарных изделий, детского питания

Способы консервирования пищевых продуктов. Микробиологические процессы при консервировании пищевых продуктов. Методы исследования баночных консервов. Отбор проб. Посевы для выявления аэробных и анаэробных микроорганизмов. Микрофлора кулинарных изделий. Пути и источники загрязнения. Санитарно-микробиологическое исследование кулинарных изделий (салатов, винегретов и проч.).	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [5], [6] — доп. литература. 5. [9], [10], [14], [15] — НПА РБ.
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Санитарно-микробиологическое исследование мясных продуктов — III этап (см. занятие № 3).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование молока, кефира, сливочного масла — II этап (см. занятие № 4).	
3. Исследование баночных консервов — 1-й этап: а) вскрытие; б) контроль стерильности стеклянной трубочки методом посева на МПБ; в) посев на среду Китта–Тароцци для выявления анаэробов; г) проба для выявления термофильных микробов.	Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов группы А ПЕРВЫЙ ЭТАП Консервы группы А имеют pH 4,2 и выше, а также овощные, мясные, мясорастительные, рыботорастительные и рыбные консервированные продукты с нелимитированной кислотностью, приготовленные без добавления кислоты; компоты, соки и пюре из абрикосов, персиков и груш с pH 3,8 и выше; сгущенные стерилизованные молочные консервы. 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. Последовательность работы: 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 °С 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 30–37 °С от 5 до 7 суток (оптимальные условия жизнедеятельности МАФАНМ) и при 55–62 °С 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.

Поверхность металлической банки, противоположную маркированной, обработать этиловым спиртом — протереть спиртовым тампоном. Тампон оставить на поверхности и перед вскрытием консервов зажать. 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. 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 посева 2 г или 2 см³ при выявлении аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов. А) провести посев в две пробирки с МПБ для выявления мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Б) провести посев в среду Китта–Тароцци для выявления анаэробных бактерий. Заключение по исследованию внешнего вида и пробы на герметичность _____	ВТОРОЙ ЭТАП (после инкубации при 37 °С в течение 24 часов) Учесть результаты посевов на МПБ и среду Китта–Тароцци <table border="1"> <tr> <th>Проба на стерильность стеклянной трубки, использованной для посева)</th> <th>Посев на МПБ (при положительном результате приготовить мазок с окрашиванием по Граму)</th> <th>Посев на среду Китта–Тароцци (при наличии роста приготовить мазок с окрашиванием по Граму)</th> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table> Заключение _____ При наличии роста продолжить выделение чистых культур и идентификацию.			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)			
	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)						
Подпись преподавателя _____									

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5

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. 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. Все консервы в зависимости от величины активной кислотности продукта и содержания сухих веществ делят на 5 групп: А, Б, В, Г, Д, Е. Консервированные продукты групп А, Б, В, Г и Е относят к полным консервам, а группа Д — к полуконсервам. В зависимости от группы к консервам предъявляются требования промышленной стерильности или микробиологической стабильности.	В зависимости от целей и объектов контроля, микробиологические исследования консервов могут проводиться: а) на промышленную стерильность; б) выявление возбудителей микробной порчи консервов; в) определение в консервах патогенных микроорганизмов и их токсинов. 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. Микробиологическая стабильность — соответствие микробиологических показателей качества консервов требованиям, установленным нормативными документами на конкретный вид продукции.
--	---

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)	2×10^2	1,0	0,1	1,0	25
Пресервы рыбные	От 5×10^5 до 5×10^4	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 1 г (см ³) продукта
Спорообразующие мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы группы <i>B. cereus</i> и (или) <i>B. polymyxa</i>	Не отвечают требованиям промышленной стерильности
Мезофильные клостридии	Отвечают требованиям промышленной стерильности, если 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 (см ³) 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

Как правило, кулинарные изделия полностью готовы к употреблению в пищу, но некоторые требуют дополнительной термической обработки.

Учитывая определенную специфичность в технологии приготовления, характере и уровне микробной обсемененности, по способу кулинарной обработки для удобства осуществления микробиологического контроля кулинарные изделия условно делятся на девять групп.

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. Пастообразные и измельченные.
4. Многокомпонентные (салаты, солянки, пловы, закуски).
5. Варено-мороженные: быстрозамороженные обеденные, закусочные блюда.
6. Сырые замороженные полуфабрикаты (пельмени).
7. Рыба разделанная слабосоленая, соленая с добавлением масел, заливок, маринада.
8. Икорная продукция.
9. Продукция, упакованная под вакуумом, готовая к употреблению.

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.

Микробиологический контроль готовой продукции включает определение:

1. МАФАнМ.
2. БГКП.
3. *S. aureus*.
4. Сальмонеллы.
5. Для некоторой продукции — бактерии рода *Proteus*.
6. Для продукции, упакованной под вакуумом, — сульфитредуцирующие клостридии.

Некоторые микробиологические показатели контролируются по эпидпоказаниям. Например, в салатах и смесях из сырых овощей, готовых к употреблению, бактерии рода *Yersinia* не допускаются в 25 г продукта; контроль проводится при эпиднеблагополучии.

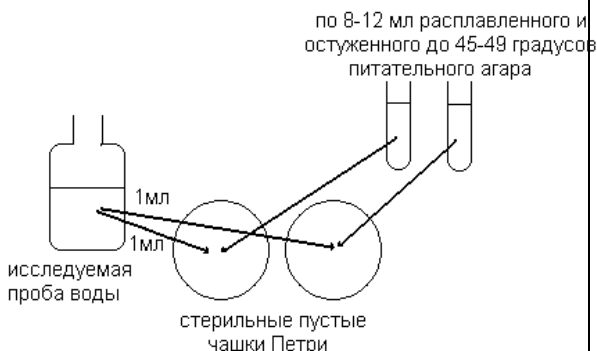
Микробиологические нормативы качества и безопасности некоторых кулинарных изделий

Группа продуктов	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускается				
		БГКП (коли-формы)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Proteus</i>	Патогенные, в т. ч. сальмонеллы
Холодные блюда						
– салаты из сырых овощей	1×10^4	0,1	1,0	1,0	–	25
– салаты из вареных овощей	1×10^4	1,0	–	1,0	0,1	25
– салаты с мясом, рыбой	1×10^4	0,1	0,1	0,1	0,1	25

ТЕМА: Санитарно-микробиологическое исследование воды, почвы, воздуха

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. Методы санитарно-микробиологического исследования воды. Определение общего микробного числа. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий. Исследование воды на наличие патогенных микроорганизмов — возбудителей кишечных инфекций. Микрофлора почвы. Факторы, влияющие на количественный и качественный состав микробов в почве. Почва как фактор передачи инфекции. Санитарно-гигиеническое значение микробиологических процессов самоочищения почвы. 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] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [5], [6] — доп. литература. 5. [10], [11], [13] — НПА РБ.
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты									
1. Санитарно-микробиологическое исследование кефира, сливочного масла — III этап (см. занятие № 4).										
2. Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов — II этап (см. занятие № 5).										
3. Санитарно-микробиологическое исследование воды — I этап (самостоятельная работа).										
4. Санитарно-микробиологическое исследование почвы — I этап (самостоятельная работа).										
5. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха — I этап (самостоятельная работа).										
Санитарно-микробиологическое 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 °С в течение 24 часов, видимые с увеличением в 2 раза. При отсутствии роста учет проводят через 48 часов. Протокол опыта <table><tr><th>Проба</th><th>Количество колоний на чашке</th><th>Результат (КОЕ/мл) — среднее число колоний двух проб</th></tr><tr><td>№ 1</td><td></td><td></td></tr><tr><td>№ 2</td><td></td><td></td></tr></table> Закключение _____	Проба	Количество колоний на чашке	Результат (КОЕ/мл) — среднее число колоний двух проб	№ 1			№ 2		
Проба	Количество колоний на чашке	Результат (КОЕ/мл) — среднее число колоний двух проб								
№ 1										
№ 2										

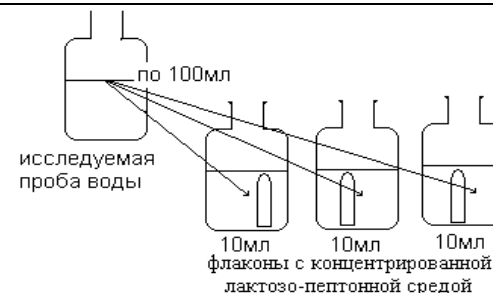
2. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом.

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 санэпид-надзор, 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 100 мл, 3 объемов по 10 мл, 3 объемов по 1 мл.

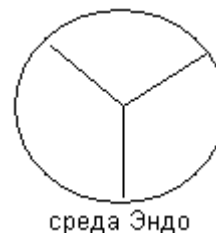


II этап

(после инкубации посевов при 37 °С в течение 48 ч)

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 ч)

Учет результатов роста на среде Эндо

Исследуемая проба воды	Возможные варианты роста на среде Эндо	
	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ
	колонии темно-красные 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 100 мл		
2-й объем 100 мл		
3-й объем 100 мл		

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 100 мл				
2-й объем 100 мл				
3-й объем 100 мл				

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 °С)

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) °С в течение 24–48 часов.

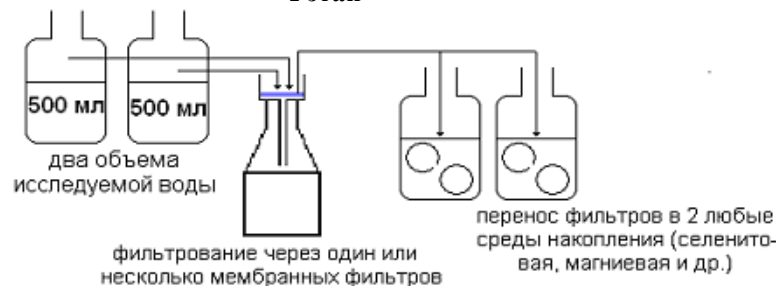
ТКБ — входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу (глюкозу) до кислоты, альдегида и газа при температуре (44 ± 0,5) °С в течение 24 часов.

Во всех остальных случаях дается отрицательный ответ.

Заключение _____

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

I этап

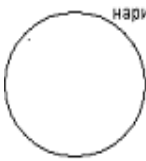


два объема
исследуемой воды

фильтрация через один или
несколько мембранных фильтров

перенос фильтров в 2 любые
среды накопления (селенито-
вая, магниевая и др.)

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



висмут-сульфит
агар



Плоскирева,
или Эндо,
или Левина

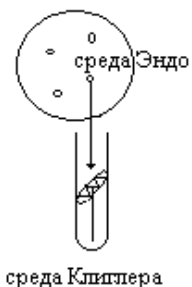
нарисовать схему посева

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 °С 18–20 часов)

Результаты роста на чашках с дифференциально-диагностическими средами

	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			



среда Эндо

среда Клиглера

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

Заключение _____

IV этап

(после инкубации среды накопления чистой культуры при 37 °С 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.

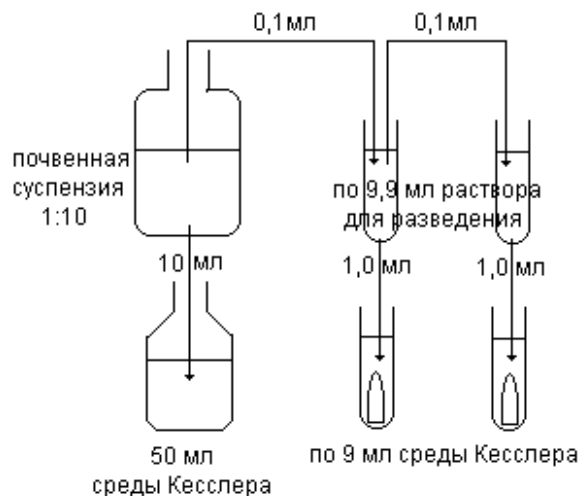
Демонстрация:

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

3. Исследование почвы — I этап.

Выявление и идентификация БГКП в почве титрационным методом

ПЕРВЫЙ ЭТАП



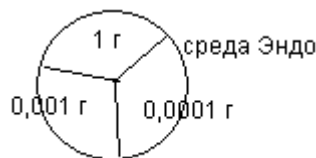
ВТОРОЙ ЭТАП

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

Протокол опыта

Пробы	Отсутствие роста	Рост (помутнение и газообразование)	Рост (только помутнение)
50 среды Кесслера (посев 1 г почвы)			
9 мл среды Кесслера (посев 0,001 г почвы)			
9 мл среды Кесслера (посев 0,0001 г 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 °С 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 °С 4–5 и 18 часов)

Учесть результат роста на среде с полужидкой лактозой (глюкозой)

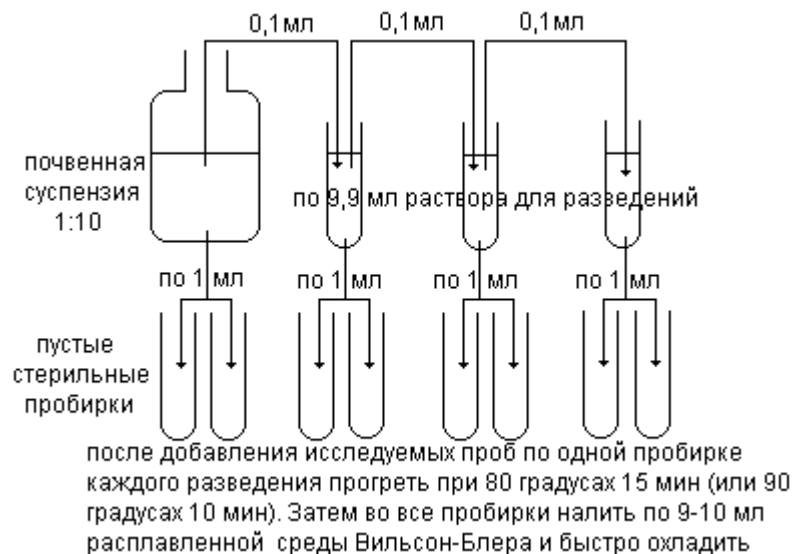
Заключение _____

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 °С.

Выявление и идентификация *C. perfringens*

ПЕРВЫЙ ЭТАП



ВТОРОЙ ЭТАП

(после инкубации сред Вильсон–Блера при 37 °С 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 штакетобразных скоплений	
Окрашивание по Граму	Грамположительные	

Заклучение _____

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

4. Исследование воздуха аспирационным и седиментационным методами — I этап.	ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА СЕДИМЕНТАЦИОННЫМ МЕТОДОМ ПЕРВЫЙ ЭТАП Открытые чашки Петри со средами разместить на горизонтальные поверхности и выдержать: 1. 2 чашки с МПБ — 20 минут (определение общего числа микроорганизмов). 2. 2 чашки с ЖСА — 15 минут (для выявления стафилококков). После посева чашки Петри закрыть крышками и поместить в термостат. ВТОРОЙ ЭТАП (после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37 °С) Подсчитать количество колоний на чашках с МПА. Рассчитать общее число микроорганизмов на 1 м³ воздуха (среднее для двух чашек) с помощью перерасчета по Омелянскому — на 100 см² поверхности агара за 5 минут оседают бактерии из 10 дм³ воздуха. Заключение _____ При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на <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): 1. Приготовить мазок, окрасить по Граму, промикроскопировать. Описать результат микроскопии _____ Отсеять подозрительные колонии на скошенный МПА. ТРЕТИЙ ЭТАП (после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37 °С) 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. Заклучение _____ _____	ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДУХА АСПИРАЦИОННЫМ МЕТОДОМ Отбор проб воздуха в больничных стационарах производят на уровне дыхания лежащего больного или на высоте рабочего стола. ПЕРВЫЙ ЭТАП 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. 1. Произвести забор 100 л воздуха на МПА (определение общего числа микроорганизмов). 2. Произвести забор 250 л воздуха на ЖСА (для выявления стафилококков). 3. Произвести забор воздуха на кровяной агар (для выявления гемолитической флоры). ВТОРОЙ ЭТАП (после инкубации посевов в термостате 24 часа при 37 °С) Подсчитать количество колоний на чашке с МПА. Рассчитать общее число микроорганизмов на 1 м³ воздуха. Заклучение _____ При обнаружении на чашках Петри с ЖСА подозрительных колоний на <i>S. aureus</i> провести исследование аналогично изложенному выше (седиментационный метод). Записать результаты (микроскопия, проба на плазмокоагулазу) _____ Заклучение _____
Демонстрация. • Аппаратура для отбора проб воздуха.	Подпись преподавателя _____	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6

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

Примечание. При определении проводится трехкратное исследование по 100 см³ отобранной пробы воды. 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. Определение проводится в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть. 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 100 см 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 госсаннадзора.

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 Республики Белаоусь.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Заполните таблицу.

Характеристика некоторых санитарно-показательных микроорганизмов питьевой воды

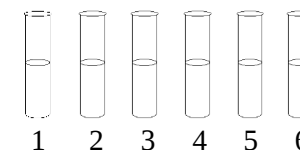
Показатель	Морфология	Окрашивание по Граму	Оксидаза	Спора	Ферментация лактозы (глюкозы) до	Время ферментации лактозы (глюкозы)	Температура ферментации лактозы (глюкозы)
Общие колиформные бактерии (ОКБ)							
Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)							

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 № _____

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 точечных по 200–250 г каждая	Послойно 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. Приготовленные разведения используются для посева на различные питательные среды, а также для учета численности микроорганизмов методом прямой микроскопии.

Схема оценки эпидемической 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 °С 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 °С 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 штакетообразных 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 °С
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 споровых 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	

Санитарная микробиология воздуха

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 °С. 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 °С 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 Сабуро за 96 часов инкубации при 22–28 °С.

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 палаты, отделение 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	
Перевязочные, 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 объектов окружающей среды, лекарственных средств, парфюмерно-косметической продукции

Окружающая среда. Элементы и факторы окружающей среды. Роль микробного фактора в жизнедеятельности человека. Патогенные микроорганизмы 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. 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. Микробиологический контроль средств гигиены полости рта и парфюмерно-косметической продукции, отдельных видов продукции для детей.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [3], [5], [6] — доп. литература. 5. [10], [12], [14] — НПА РБ.
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Санитарно-микробиологическое исследование кефира, сливочного масла — IV этап (см. занятие № 4).	
2. Санитарно-микробиологическое исследование воды, почвы, воздуха — II этап (самостоятельная работа, см. занятие № 6).	
3. Исследование смывов — I этап: а) посев в среду Кесслера (на бактерии группы кишечной палочки); б) посев в солевой бульон и на чашки с ЖСА (на стафилококк).	Санитарно-микробиологическое исследование поверхностей ПЕРВЫЙ ЭТАП Взятие смывов с помощью увлажненных стерильных ватных тампонов. последовательность работы с тампоном при взятии смывов стерильный физиологический р-р взятие смыва Исследование на БГКП перенести тампон 5 мл среды Кесслера Исследование на стафилококк посев тампоном ЖСА 0,5 мл смывной жидкости 6,5% солевой бульон

ВТОРОЙ ЭТАП (через 24 часа инкубации при 37 °С)											
Исследование на БГКП Учет роста на среде Кесслера <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th colspan="3" style="text-align: center; padding: 5px;">Результат</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 33%; text-align: center; padding: 5px;">отсутствие роста</td> <td style="width: 33%; text-align: center; padding: 5px;">помутнение</td> <td style="width: 33%; text-align: center; padding: 5px;">помутнение и газообразование</td> </tr> <tr> <td style="height: 30px;"></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> Заключение _____ В случае наличия газообразования и помутнения или только помутнения, провести высев на чашку со средой Эндо бактериологической петлей для получения изолированных колоний.		Результат			отсутствие роста	помутнение	помутнение и газообразование				Исследование на стафилококк 1. При обнаружении на чашке 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): 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 <i>S. aureus</i> колоний на ЖСА высев не проводить).
Результат											
отсутствие роста	помутнение	помутнение и газообразование									
ТРЕТИЙ ЭТАП (после инкубации в термостате при 37 °С 24 часа) Определение БГКП учет роста на среде Эндо <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center; padding: 5px;">Результат</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center; padding: 5px;">Отсутствие роста</td> <td style="width: 50%; text-align: center; padding: 5px;">красные с металлическим блеском и без него, или розовые колонии</td> </tr> <tr> <td style="height: 30px;"></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> Заключение _____ При наличии на среде Эндо колоний, характерных для БГКП, из изолированных колоний приготовить мазок, окрасить по Граму и промикроскопировать. Поставить тест на оксидазу. Обнаружение грамотрицательных без спор палочек и отрицательная проба на оксидазу указывает на наличие БГКП. При положительном результате для подтверждения наличия кишечной палочки 2–3 колонии разного типа засеять в полужидкую среду с глюкозой (лактозой). Исследование на стафилококк Поставить пробу на плазмокоагулазу с выделенной чистой культурой. Учет результатов плазмокоагуляции проводят предварительно через 2 ч. Реакция считается положительной, если сгусток образовался в течение 24 ч. Заключение _____ Для подтверждения неясных результатов при наличии санитарно-эпидемического неблагополучия, проводят постановку реакций на термостабильную ДНКазу, лецитовителлазу, разложение маннита в анаэробных условиях, определение активности кислой			Результат		Отсутствие роста	красные с металлическим блеском и без него, или розовые колонии					
Результат											
Отсутствие роста	красные с металлическим блеском и без него, или розовые колонии										

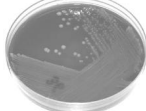
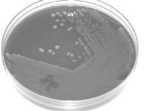
ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП (после инкубации в термостате при 37 °С 4–5 и 18 часов)

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 _____

Задание	Методы, результаты
4. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина. 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, <i>S. aureus</i>, энтеробактерии и <i>P. aeruginosa</i>. Допускается наличие сапрофитных бактерий не более 10 в 100 мл исследуемого раствора.	Определение общего микробного числа готовых лекарственных форм дезинфектантов 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: - Образец развести 0,5 % раствором тиосульфата натрия в 10 раз (основное разведение). - Основное разведение разбавить 0,5 % раствором тиосульфата натрия в 10 раз (дополнительное разведение). - По 1 мл основного и дополнительного разведений внести в пустые стерильные чашки Петри (раздельно). - Чашки залить 20 мл расплавленного и охлаждённого до 45 ± 5 °С МПА, смешать, оставить на ровной поверхности до затвердения. - Поместить в термостат при 30–35 °С на 40 часов. Исследуемый образец ГЛФ  0,5 % раствор хлорамина 10 мл 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 →  ← 20 мл МПА  Заключение: _____

5. 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 <i>S. aureus</i> (ATCC 653 P) и <i>C. albicans</i> (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: 5 мл образца испытуемого препарата внести в колбу со средой Сабуро. 5 мл образца препарата внести в колбу с тиогликолевой средой. - В колбу с тиогликолевой средой внести 5 мл образца препарата и 0,1 мл взвеси тест-культуры <i>S. aureus</i> (контроль качества нейтрализации). - В колбу со средой Сабуро внести 5 мл образца препарата и 0,1 мл взвеси тест-культуры <i>C. albicans</i> (контроль качества нейтрализации). - Тиогликолевые среды поместить в термостат при 30–35 °С, среды Сабуро инкубируют при 20–25 °С. Наблюдение ведут 14 дней.
В контрольных посевах должно быть помутнение. В случае помутнения опытных посевов, не дожидаясь окончания срока наблюдения, а при отсутствии помутнения на 14 день инкубации из опытных и контрольных посевов следует приготовить мазки и окрасить их по Граму. Оценка результатов: 1. Препарат считается стерильным, если в опытных посевах нет роста микроорганизмов, а в контрольных — есть рост. 2. Препарат считается нестерильным, а, следовательно, непригодным к использованию, если в опытных и контрольных посевах обнаружен рост микроорганизмов. 3. Если в контрольных посевах нет роста, исследование повторяют, используя метод мембранной фильтрации.	Среда Сабуро Исследуемый образец ГЛФ Тиогликолевая среда Заключение: _____

Дополнительные материалы к занятию № 7

ОТБОР И ИССЛЕДОВАНИЕ СМЫВОВ С ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Взятие смывов производится с помощью увлажненных стерильных ватных тампонов на металлических стержнях или салфеток (5 × 5 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 (трафарета), 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.

Микробиологические показатели безопасности парфюмерно-косметической продукции

(Гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности для здоровья человека парфюмерно-косметической продукции»: Постановление Совета Министров Республики Беларусь 25.01.2021 № 37)

Вид парфюмерно-косметической продукции	Показатели				
	общее количество МАФАНМ	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1. Косметика детская, косметика для ухода за кожей вокруг глаз, для губ, косметика интимная, средства гигиены полости рта	не более 10 ² КОЕ* в 1 г (мл)	не допускается в 0,5 г (мл)	не допускается в 0,5 г (мл)	не допускается в 0,5 г (мл)	не допускается в 0,5 г (мл)
2. Косметика, не указанная в пунктах 1 и 3 настоящей таблицы	не более 10 ³ КОЕ* в 1 г (мл)	не допускается в 0,1 г (мл)	не допускается в 0,1 г (мл)	не допускается в 0,1 г (мл)	не допускается в 0,1 г (мл)
3. Стерильная парфюмерно-косметическая продукция	соответствие требованиям стерильности				

Примечание. Не определяются микробиологические показатели для парфюмерно-косметической продукции с микробиологически низким риском, в том числе для:

- парфюмерно-косметической продукции, содержащей этиловый спирт и (или) органические растворители в концентрации более 20 процентов по объему, используемой без разведения;
- лаков для ногтей, кроме лаков для ногтей на водной основе;
- дезодорантов, дезодорантов-антиперспирантов, антиперспирантов;
- окислительных красок для волос, средств для осветления и мелирования;
- средств для химической завивки и средств для выпрямления волос на основе тиоловых соединений;
- средств для депиляции;
- туалетного мыла твердого на жировой основе;
- сухих карандашей;
- солей для ванн;
- 100-процентных эфирных масел;
- средств для отбеливания зубов, содержащих перекись водорода или другие компоненты, выделяющих перекись водорода, включая перекись карбамида и перекись цинка, с концентрацией перекиси водорода (в качестве ингредиента или выделяемой) 0,1–6,0 процента;
- средств для бритья (кремы, гели и др.), имеющих водородный показатель (pH) более 10,0.

* КОЕ — колониеобразующие единицы.

ТЕМА: Итоговое занятие «Санитарная микробиология»

ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ

1. Санитарная микробиология. Определение, задачи. Объекты санитарно-микробиологического исследования. Связь санитарной микробиологии с инфекционной микробиологией, гигиеной, эпидемиологией.

2. Цели и этапы санитарно-микробиологического исследования. Плановый санитарно-микробиологический контроль и обследование по эпидемиологическим показаниям. Нормативно-методические документы.

3. Принципы и методы санитарной микробиологии. Этапы и варианты бактериологического метода количественного определения микроорганизмов в объектах внешней среды.

4. Методы культивирования микроорганизмов (глубинный метод посева в плотные среды, поверхностный метод посева на плотные среды, метод мембранных фильтров, метод посева в жидкие среды).

5. Прямой и косвенный методы определения санитарно-эпидемиологического состояния объектов внешней среды. Достоинства и недостатки.

6. Косвенный метод санитарно-микробиологического анализа. Общее микробное число (ОМЧ). Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ). Наиболее вероятное число (НВЧ). Характеристика показателей. Методы определения. Интерпретация результатов.

7. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, ПЦР), принципы проведения, использование в санитарной микробиологии.

8. Микробное загрязнение окружающей среды. Источники загрязнения, объекты загрязнения. Неблагоприятное воздействие микроорганизмов внешней среды на человека. Микробиологические аспекты охраны окружающей среды.

9. Патогенные микробы во внешней среде. Пути попадания, условия и сроки выживания. Роль объектов внешней среды в распространении инфекционных болезней.

10. Санитарно-показательные микроорганизмы. Определение. Требования, предъявляемые к санитарно-показательным микроорганизмам.

11. Санитарно-показательные микроорганизмы — индикаторы фекального загрязнения.

12. Санитарно-показательные микроорганизмы — индикаторы аэрозольного загрязнения.

13. Санитарная микробиология воды. Микрофлора различных водных объектов. Аутохтонная и аллохтонная микрофлора воды. Категории воды по сапробности. Принципы биологической очистки сточных вод и роль микроорганизмов в этом процессе.

14. Вода как фактор передачи возбудителей инфекционных болезней. Основные виды патогенных микроорганизмов, передаваемых с водой. Факторы и сроки выживания патогенных микроорганизмов в воде.

15. Санитарно-микробиологические показатели, определяемые при исследовании воды различных водных источников. Характеристика показателей и их нормативы.

16. Методы отбора проб воды для санитарно-микробиологического анализа (питьевая вода централизованного водоснабжения, открытые водоемы и др.).

17. Методы санитарно-микробиологического исследования воды централизованного водоснабжения.

18. Санитарная микробиология почвы. Аутохтонная и аллохтонная микрофлора почвы. Факторы, влияющие на количественный и качественный состав микрофлоры почвы. Санитарно-гигиеническое значение микробиологических процессов самоочищения почвы.

19. Почва как фактор передачи возбудителей инфекционных заболеваний. Основные виды патогенных микроорганизмов, попадающие в почву или постоянно находящиеся в ней. Сапронозы. Факторы и сроки выживания патогенных микроорганизмов в почве.

20. Санитарно-микробиологическое исследование почвы. Подготовка и обработка почвы для анализа. Показатели краткого и полного санитарно-микробиологического анализа почвы.

21. Санитарная микробиология воздуха. Микрофлора воздушной среды (атмосферный воздух, воздух закрытых помещений).

22. Воздух как фактор передачи возбудителей инфекционных заболеваний. Основные виды патогенных микроорганизмов, передаваемых с воздухом. Факторы и сроки выживания патогенных микроорганизмов в воздухе. Методы обеззараживания воздуха.

23. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха. Методы забора проб (седиментационный, аспирационный, фильтрационный). Определяемые показатели

24. Методы забора материала для санитарно-микробиологического анализа при исследовании поверхностей, оборудования, предметов обихода. Основные исследуемые микробиологические показатели. Исследование смывов на БГКП и *S. aureus*.

25. Микрофлора пищевых продуктов. Пути и источники микробной контаминации пищевых продуктов. Особенности существования микробов в пищевых продуктах. Специфическая и неспецифическая микрофлора пищевых продуктов.

26. Система сертификации пищевых продуктов. Группы микроорганизмов, по которым осуществляется нормирование микробиологических показателей качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов.

27. Пищевые продукты как факторы передачи инфекций и инвазий. Патогенные микроорганизмы в пищевых продуктах, пути попадания, факторы и сроки выживания.

28. Методы отбора проб пищевых продуктов разного вида и консистенции для санитарно-микробиологического анализа. Транспортировка и хранение отобранных проб. Особенности санитарно-микробиологического исследования пищевых продуктов.

29. Санитарная микробиология мяса. Экзогенный и эндогенный пути обсеменения мяса животных микроорганизмами. Мясо и мясные продукты как фактор передачи инфекционных заболеваний.

30. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов. Микробиологические показатели, контролируемые при плановом санитарно-микробиологическом исследовании мяса и мясных продуктов.

31. Санитарная микробиология готовых кулинарных изделий. Роль в возникновении микробных пищевых отравлений. Микробиологические показатели, контролируемые при плановом санитарно-микробиологическом исследовании и исследовании по эпидемиологическим показаниям.

32. Санитарная микробиология молока. Эндогенная и экзогенная контаминация молока микроорганизмами. Смена микробных фаз при хранении молока. Молоко как фактор передачи инфекционных заболеваний.

33. Санитарно-микробиологическое исследование молока и молочных продуктов. Правила отбора проб, условия транспортировки и хранения. Основные микробиологические показатели, контролируемые при плановом санитарно-микробиологическом исследовании.

34. Санитарная микробиология кисломолочных продуктов. Микрофлора кисломолочных продуктов. Микроорганизмы, используемые для приготовления кисломолочных продуктов. Гомоферментативное и гетероферментативное брожение. Пробиотики.

35. Санитарно-микробиологическое исследование кисломолочных продуктов. Правила отбора проб, условия транспортировки и хранения. Контролируемые микробиологические показатели.

36. Микрофлора и методы санитарно-микробиологического исследования напитков.

37. Особенности санитарной микробиологии рыбы и рыбных продуктов. Микробная контаминация свежесловленной рыбы, источники микробного загрязнения. Контролируемые микробиологические показатели.

38. Цели и методы консервирования пищевых продуктов. Роль консервированных продуктов в передаче патогенных микроорганизмов и их токсинов. Категории консервов. Группы консервов.

39. Санитарно-микробиологическое исследование консервов. Исследование полных консервов на промышленную стерильность. Микробиологические нормативы качества и безопасности консервов.

40. Пастеризация пищевых продуктов. Цели пастеризации, используемые температурные режимы. Ультрапастеризация. Механизм микробоцидного действия при проведении пастеризации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ НАВЫКИ

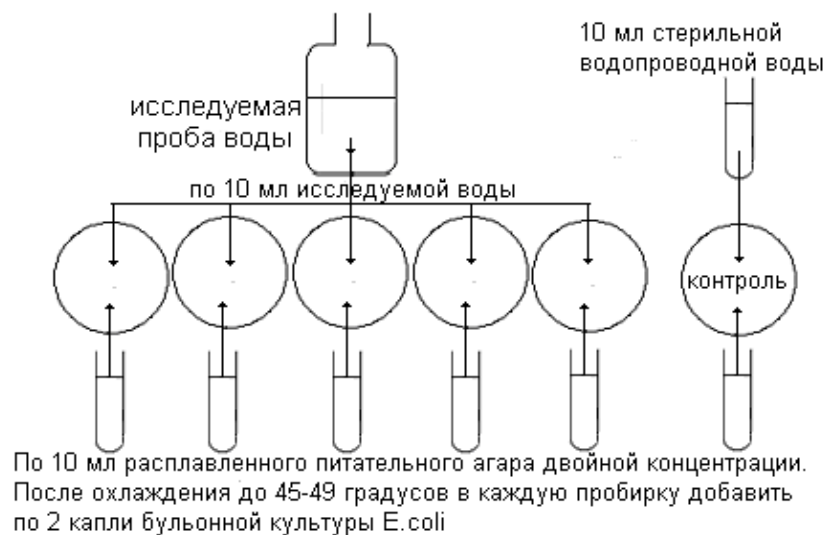
1. Микроскопия «немых» препаратов: – семейство Enterobacteriaceae – стафилококк – стрептококк – клостридии – бифидобактерии – дрожжи – вибрион	2. Учет роста бактерий на питательных средах: – ЖСА (стафилококк) – Эндо (БГКП) – Эндо (сальмонеллы) – Клигlera (кишечная палочка) – Клигlera (сальмонеллы типа <i>S. typhimurium</i>) – лактозо-пептонная среда (БГКП)	3. Приготовить мазок из кисломолочного продукта (окраска по Граму). 4. Учет редуцтазной пробы. 5. Произвести отбор пробы воды из водопроводного крана для санитарно-бактериологического исследования. 6. Сделать смыв дверной ручки и посеять в среду Кесслера. 7. Произвести забор воздуха аппаратом Кротова на общую микробную обсеменённость.
---	--	--

Лабораторная работа

1. Санитарно-микробиологическое исследование воды, почвы, воздуха — III этап (самостоятельная работа, см. занятие № 6).
2. Исследование смывов — II этап (см. занятие № 7).
3. Опыт по определению микробного числа раствора хлорамина (заключение, см. занятие № 7).
4. Опыт по определению стерильности антисептического раствора (заключение, см. занятие № 7).
5. Определение колифагов в воде плавательных бассейнов прямым методом (первый этап).

ПЕРВЫЙ ЭТАП (выполняется на текущем занятии)

В данной учебной лабораторной работе по сравнению со стандартной методикой (Инструкция к применению № 070-0210 от 12.03.2010) объемы всех ингредиентов уменьшены вдвое.



Чашки оставить при комнатной температуре до застывания агара, а затем инкубировать 18 часов при 37 °С.

ВТОРОЙ ЭТАП (выполняется на занятии № 9)

Провести учет результатов культивирования колифагов: подсчитать и суммировать бляшки, выросшие на 5 чашках Петри. Результаты выразить в БОЕ на 100 мл пробы воды. В контрольной чашке бляшки должны отсутствовать.

	контроль	1 чашка	2 чашка	3 чашка	4 чашка	5 чашка	БОЕ в 100 мл (сумма БОЕ в опытных чашках × 2)
БОЕ в 10 мл							

Заключение (Норматив для колифагов в воде плавательного бассейна: не более 2 БОЕ в 100 мл) _____

Подпись преподавателя _____

ТЕМА: Методы санитарно-вирусологических исследований

Санитарная вирусология, задачи, методы, значение в деятельности врача медико-профилактического профиля. Вирусы в объектах внешней среды. Механизмы, факторы и пути передачи. Сроки и условия сохранения вирусов в воде, почве, пищевых продуктах на поверхностях и др. Объекты санитарно-вирусологического исследования. Этапы санитарно-вирусологического исследования. Методы санитарно-вирусологических исследований объектов внешней среды. Санитарно-показательные вирусы. Методы их обнаружения во внешней среде, воде и пищевых продуктах. Методы обнаружения энтеровирусов и колифагов. Санитарная вирусология. Определение, задачи, методы. Объекты санитарно-вирусологического исследования. Этапы санитарно-вирусологического исследования. Методы санитарно-вирусологических исследований объектов внешней среды. Бактериальные фаги. Характеристика. Санитарно-микробиологическое значение. Определение колифагов в объектах внешней среды.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [1], [2] — учебники. 3. ЭУМК. 4. [4], [5], [6] — доп. литература. 5. [10] — НПА РБ.
--	---

Лабораторная работа

1. Исследование смывов — III этап (см. занятие № 7).
2. Определение колифагов в воде плавательных бассейнов прямым методом — II этап (см. занятие № 8).

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9

САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Санитарно-вирусологические исследования проводятся с использованием вирусологических, серологических и молекулярно-биологических методов. В качестве примера ниже приводится схема исследования почвы. 1. Десорбция вирусных частиц с поверхности частиц почвы в жидкую фазу. Навеску почвы в 10 г помещают в стерильный флакон емкостью 100,0 мл и добавляют 20,0 буферного раствора. Полученную взвесь тщательно взбалтывают для разрушения почвенных конгломератов, затем центрифугируют. Надосадочную жидкость переносят в стерильный флакон и используют для концентрирования вирусов. 2. Концентрирование вирусных частиц с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ). В стерильный флакон с надосадочной жидкостью добавляют ПЭГ-6000 и хлористый натрий до конечных концентраций 10 % и 0,5 М соответственно. Смесь тщательно перемешивают до полного растворения ПЭГ и хлористого натрия, затем выдерживают в течение 10–12 часов при температуре +4 °С. 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

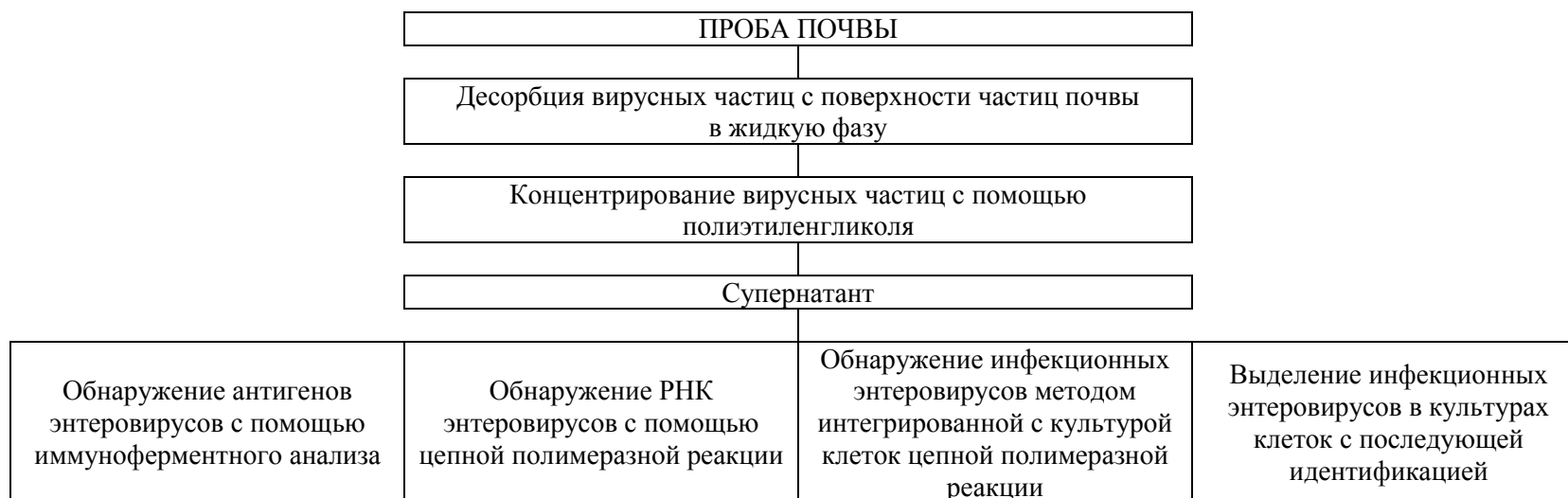
Фаги кишечных палочек — косвенный показатель энтеровирусного загрязнения, который определяется в воде, почве в том случае, если невозможно или затруднено проведение исследований на содержание кишечных вирусов. При содержании фагов кишечных палочек более 1000 БОЕ/дм³ вода представляет эпидемическую опасность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

Определение колифагов

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

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

Схема санитарно-вирусологического исследования почвы



ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология* : учеб. В 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – Т. 1. – 446 с.
2. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология* : учеб. В 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – Т. 2. – 466 с.

Дополнительная

3. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. – Минск : БГМУ, 2006. – 40 с.
 4. *Основы медицинской вирусологии* : учеб.-метод. пособие / Н. Ф. Казак [и др.]. – Минск : БГМУ, 2019. – 164 с.
 5. *Руководство по медицинской микробиологии. Книга I. Общая и санитарная микробиология* / Колл. авторов ; под ред. А. С. Лабинской, Е. С. Волиной. – М. : БИНОМ, 2020. – 1080 с.
 6. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Атлас-руководство* : учеб. пособие / под ред. А. С. Быкова, В. В. Зверева. – М. : ММИА, 2018. – 416 с.
- Электронный учебно-методический комплекс по учебной дисциплине «Эпидемиологическая и санитарная микробиология»:**
<https://etest.bsmu.by/course/view.php?id=1461>

Нормативные правовые акты

7. *О здравоохранении* : Закон Республики Беларусь от 18 июня 1993 г. № 2435-XII : с изм. и доп.
8. *О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения* : Закон Республики Беларусь от 7 янв. 2012 г. № 340-З : принят Палатой представителей 14 дек. 2011 г. : одобрен Советом Республики 20 дек. 2011 г. : с изм. и доп.
9. *Об утверждении Санитарных норм и правил «Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам», Гигиенического норматива «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов» и признании утратившими силу некоторых постановлений Министерства здравоохранения Республики Беларусь* : постановление Министерства здравоохран. Респ. Беларусь от 21 июня 2013 г. № 52 : с изм. и доп.
10. *Об утверждении гигиенических нормативов* : постановление Совета Министров Республики Беларусь 25 января 2021 г. № 37.
11. *ГН 2.1.6.12-6-2006, ВУ. Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов в атмосферном воздухе населенных мест* : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 03.04.06 № 41 : введ. 01.01.07.
12. *СанПиН 21-112-99, ВУ. Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфекционных средств* : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 06.01.99 № 2 : введ. 06.01.99 : действует с изм., утв. пост. Министерства здравоохран. Респ. Беларусь от 04.02.2009 № 12.
13. *Санитарные правила и нормы 2.1.4. «Питьевая вода и водоснабжение населенных мест. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Санитарные правила и нормы СанПиН 10-124 РБ 99»* : утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Республики Беларусь от 19 октября 1999 г. № 46, с изм. по состоянию на 9 октября 2006 г.
14. *Методы определения и оценки микробиологических показателей безопасности и безвредности для человека товаров народного потребления, бумаги и картона, контактирующих с пищевыми продуктами* : инструкция Министерства здравоохран. Респ. Беларусь от 18 июля 2012 г. № 006-0712.
15. *Микробиологический контроль производства пищевой продукции из рыбы и нерыбных объектов промысла* : инструкция 4.2.10-15-10-2006 / Министерство здравоохран. Респ. Беларусь, Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья. – 2006. – 72 с.
16. *Микробиологические методы выделения и идентификации возбудителей при бактериальных пищевых отравлениях* : инструкция 4.2.10-15-21-2006 : утв. Министерством здравоохран. Респ. Беларусь 9 окт. 2006 г. – 120 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Список сокращений	3
Правила работы в микробиологической лаборатории для студентов, проходящих обучение на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.....	4
Занятие № 1. Эпидемиологическая микробиология. Выявление источника инфекции. Методы оценки коллективного иммунитета. Методы диагностики пищевых отравлений	5
Занятие № 2. Эпидемиологическая микробиология. Противомикробные мероприятия. Методы контроля качества стерилизации, дезинфекции, антисептики.....	9
Занятие № 3. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов. Санитарно-микробиологическое исследование мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов	15
Занятие № 4. Санитарно-микробиологическое исследование молока, молочных продуктов, напитков	21
Занятие № 5. Санитарно-микробиологическое исследование баночных консервов, кулинарных изделий, детского питания	28
Занятие № 6. Санитарно-микробиологическое исследование воды, почвы, воздуха	32
Занятие № 7. Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды, лекарственных средств, парфюмерно-косметической продукции	43
Занятие № 8. Итоговое занятие «Санитарная микробиология»	48
Занятие № 9. Методы санитарно-вирусологических исследований	51
Литература	53

Учебное издание

Канашкова Татьяна Александровна
Гаврилова Ирина Александровна
Каскевич Леонид Иванович и др.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Практикум

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор Т. А. Канашковой
Компьютерная вёрстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 13.01.25. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка».

Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 6,51. Уч.-изд. л. 3,6. Тираж 178 экз. Заказ 29.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

ISBN 978-985-21-1726-5

