

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

**Запорізький державний медичний університет**

*Кафедра мікробіології, вірусології та імунології*

# **ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ**

**Навчальний посібник**

**для студентів III курсу медичного факультету,**

**спеціальність «Лабораторна діагностика»**

**Запоріжжя**

**2013**

**УДК:** 579.26(075.8)

**ББК:** 28.4я73

У – Е 70

Санітарна мікробіологія є однією з найбільш важливих областей знань, яка широко використовується у роботі бакалаврів.

Студентам необхідні знання з екології мікроорганізмів, біологічних та фізико-хімічних властивостей санітарно-показових мікроорганізмів.

Важливе значення для досконалого дослідження об'єктів навколишнього середовища мають сучасні методи дослідження.

**АВТОРИ:**

старший викладач кафедри , к.біол.н. Єр'оміна А.К.,  
доцент кафедри нормальної фізіології, к.мед.н. Гончарова Н.Г.,  
ст. викладач кафедри загальної гігієни та екології, к.мед.н. Соколовська І.А.

**РЕЦЕНЗЕНТ:** доцент кафедри медичної біології Попович А.П.

Затверджено ЦМР ЗДМУ: протокол № 2 від 28.11.2013 р.

## ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

**Екологія** (оікоз - дім, місце проживання) - наука про закономірності формування і функціонування біологічних систем і їх взаємини з навколишнім середовищем. Її ще називають наукою про наше довкілля.

**Мікроекологія** - наука про місце заселення мікроорганізмів і їх екологічні зв'язки.

При вивченні мікробної екології користуються такими ж поняттями, як і в загальній екології. Головні з них такі: **популяція** - сукупність особин одного виду, які проживають у певному **біотопі** - ділянці обмеженої території з однорідними умовами існування; **мікробіоценоз** - сукупність популяцій мікроорганізмів, які проживають в одному біотопі; **екосистема** - система, в яку входять біотоп і мікробіоценоз; **біосфера** - жива оболонка землі, загальна сума всіх екосистем.

Вже давно відомо, що мікроорганізми убіквітарні, тобто вони практично всюдиусці. У величезних кількостях вони зустрічаються в ґрунті, воді й повітрі. Середовищем їх проживання є рослини, холонокровні й теплокровні тварини, організм людини. І скрізь бактерії знаходяться у вигляді мікробіоценозів. Сучасні мікробні біоценози сформувались у результаті довготривалої еволюції.

Живий мікросвіт людини і нашого довкілля зазнав великих змін. Продовжується інтенсивна мікробна корозія землі, колонізація різних об'єктів зовнішнього середовища й харчових продуктів зміненими бактеріями, грибами, вірусами. З року в рік зростають носійство патогенних бактерій серед медичного персоналу та різноманітні дисбактеріози відносно здорових і хворих людей.

Все частіше виникають шпитальні інфекції, спричинені патогенними й умовно-патогенними мікроорганізмами. Все це вимагає розробки нових і вдосконалення існуючих методів лабораторного дослідження мікрофлори

води, повітря, ґрунту, інших об'єктів оточуючого середовища, харчових продуктів. Важливого значення набуває визначення дисбактеріозів людини, носійства золотистих стафілококів, менінгококів, збудників дифтерії, холери, черевного тифу, дизентерії. Лікар будь-якого профілю повинен знати, як правильно взяти досліджуваний матеріал, доставити його до профільної лабораторії, провести мікробіологічне дослідження, правильно оцінювати його результати.

Взаємовідносини (співжиття) різних видів бактерій між собою, а також із іншими формами життя називають **симбіозом**. Види симбіозів досить різноманітні.

**1. Нейтралізм** - існуючі в одному біотопі популяції мікробів не стимулюють і не пригнічують один одного.

**2. Мутуалізм** - взаємовигідне співжиття, коли одна популяція синтезує речовини, які є основою живлення іншої (наприклад, бульбочкові бактерії і бобові рослини, аеробні й анаеробні мікроби в організмі людини).

**3. Коменсалізм** - така форма симбіозу, коли мікроби живляться залишками їжі хазяїна, злущеним епітелієм кишечника тощо, але не завдають йому шкоди.

**4. Антагонізм** - пригнічення однієї популяції іншою. Мікроби-антагоністи виділяють антибіотики, бактеріоцини, жирні кислоти, які викликають загибель інших видів або затримують їх розмноження.

**5. Паразитизм** - такий вид симбіозу, при якому одна популяція (паразит) завдає шкоди хазяїнові, маючи для себе вигоду. До мікробів-паразитів відносять збудників бактерійних, грибкових і вірусних захворювань

## Мікрофлора ґрунту

Земля є найбільшим і найважливішим середовищем для проживання мікроорганізмів. Перші бактерії, як і все живе, з'явилися у воді, однак у пізніші геологічні періоди, коли на поверхні земної кори утворився ґрунт, саме він став основним вмістилищем мікробного світу й основною ареною

його життєдіяльності.

Грунт є основним вмістилищем мікробного світу й головною ареною його життєдіяльності. Мікробіоценози цього природного середовища включають сотні й тисячі видів бактерій, грибів, найпростіших, мікоплазм і вірусів. Вони відіграють велику роль у процесах формування й самоочищення ґрунтів, а також у кругообізі речовин у природі. Один грам орної землі містить від 1 до 10 млрд бактерій. На площі в 1 га в ґрунті може знаходитись від 1 до 5 т мікробної маси.

Кількість мікробів в 1 г ґрунту може бути дуже велика: від 200 млн до 10 млрд. Удобрювані орні землі населені мікроорганізмами найбільш густо. Ґрунти лісів, сфагнових боліт, піски пустинь і кам'яністі ґрунти містять мало бактерій.

Самий поверхневий шар землі (кірочка товщиною 2-3 мм) містить мало мікробів, оскільки висихання і сонячні промені згубно впливають на них. Основна маса їх знаходиться на глибині 10-20 см. На глибині 1-2 м непорушеної землі бактерії майже не зустрічаються.

Мікрофлора ґрунту дуже різноманітна і включає кілька сот видів. Тут зустрічаються нітрифікуючі, денітрифікуючі, азотофіксуючі бактерії, численні сірко-, залізобактерії, гриби, найпростіші, віруси. Вони відіграють колосальну роль у кругообігу речовин у природі, підвищують урожайність полів, забезпечують життя на Землі. Мікроорганізми ґрунту беруть активну участь у всіх процесах трансформації речовин і енергії: здійснюють синтез біомаси, біологічну фіксацію азоту, бродіння, гниття, денітрифікацію, кругообіг сірки, заліза, фосфору та інших елементів.

Із виділеннями людей і тварин у ґрунт можуть потрапляти і зберігатися протягом деякого часу збудники правця, газової гангрени, сибірки, черевного тифу, дизентерії, холери, окремі віруси. Для бацил ботулізму й деяких видів грибів земля є природним середовищем їх проживання. Особливого епідеміологічного значення набуває мікрофлора

грунту під час воєн, коли при масових пораненнях значно зростає небезпека забруднення ран землею, яка містить спори анаеробних бактерій, у результаті чого можуть виникати такі тяжкі ранові інфекції, як правець і газова гангрена.

Санітарно-показовими бактеріями ґрунту є кишкова паличка, ентерокок, *Clostridium perfringens* і термофільні мікроорганізми. За наявності перших трьох видів судять про ступінь фекального забруднення ґрунту. Точніша оцінка проводиться при визначенні колі-індексу - кількість бактерій групи кишкової палички в 1 г ґрунту. Визначають також загальне мікробне число (ЗМЧ) - кількість сапрофітних бактерій в 1 г землі.

Ґрунт вважають чистим, якщо його колі-індекс не перевищує 1000, а кількість термофільних бактерій знаходиться в межах 100-1000. За епідемічними показниками ґрунт ще досліджують на наявність патогенних бактерій (сальмонел, шигел, паличок правця, газової гангрени, ботулізму, сибірки) та ентеровірусів.

Представники нормальної мікрофлори людей і тварин, а також патогенні мікроорганізми, що потрапили в ґрунт, як правило, довго в ньому не виживають. У той же час, ґрунт відіграє основну роль в епідеміології правця, ботулізму та газової гангрени (особливо під час воєн), оскільки він є основним резервуаром збудників цих захворювань.

При вирішенні питання про роль ґрунту в передачі інфекційних хвороб важливо знати тривалість зберігання й розмноження в ньому окремих патогенів.

Необхідність досліджувати мікрофлору ґрунту виникає при проведенні планування й забудови населених пунктів, санаторіїв, дитячих площадок, таборів відпочинку, пляжів, полів зрошування тощо.

Залежно від завдань і мети дослідження проводять короткий або повний санітарно-мікробіологічний аналіз, а також виявлення патогенних бактерій і вірусів. Вибір місця відбору проб ґрунту визначають санітарний лікар і бактеріолог.

При короткому аналізі встановлюють загальну кількість мікробів (ЗМЧ), число бактерій групи кишкових паличок (титр БГКП), титри ентерококів, *C.perfringens* і термофільних мікроорганізмів. При повному аналізі, крім названих показників, визначають ще загальне число і процент спор, кількість актиноміцетів, грибів, аеробних целюльозних і амоніфікуючих бактерій. За певних епідеміологічних ситуацій необхідно виявляти й патогенні мікроорганізми (табл. 1).

### Патогенні мікроорганізми, що виявляються в ґрунті

Мікроби, для яких ґрунт є природним середовищем	Мікроби, що потрапляють у ґрунт із виділеннями людей і тварин	
	зберігаються довго	зберігаються порівняно недовго
<i>Clostridium botulinum</i> <i>Actinomyces spp</i> <i>Fungi spp</i>	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Clostridium spp</i>	<i>Salmonella Shigella,</i> <i>Vibrio Brucella,</i> <i>Francicella M</i> <i>ycobacterium</i> <i>Leptospira,</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Enterovirus</i>

Відбір проб ґрунту проводять у 4-5 точках вибраної ділянки на глибині 10-15 см. Лопатою викопують ямки глибиною 20 см. Над однією з бокових стінок ямки за допомогою пропаленого на вогні ножа зрізають верхній шар ґрунту. В стерильну банку беруть по 200-300 г із кожної точки, змішують, відбирають наважку в 30 г і вносять у колбу, що містить 300 см<sup>3</sup> стерильної води. Суміш ретельно збовтують протягом 10 хв., потім відстоюють 2-3 хв. для осідання грубих частинок.

При необхідності брати пробу з глибших шарів ґрунту використовують спеціальний земляний бур Некрасова, який дає змогу відбирати проби на заданій глибині.

Із отриманої суспензії готують серійні десятикратні розведення від 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-6</sup> і більше. По 1 см<sup>3</sup> із останніх двох розведень вносять на дно двох

стерильних чашок Петрі й заливають 15 см<sup>3</sup> розтопленого й охолодженого до 45 °С МПА. Після застигання середовища чашки інкубують 48 год при 28-30 °С. Із суми колоній, що вирости на двох чашках одного розведення, вираховують середнє арифметичне й визначають ЗМЧ. Наприклад: посіяно 1 см<sup>3</sup> суспензії ґрунту з розведення 10<sup>4</sup>; на чашці з агаром вирости в середньому 70 колоній; отже, ЗМЧ = 70×10<sup>4</sup> = 7×10<sup>5</sup> бактерій.

При визначенні титру БГКП по 1 см<sup>3</sup> різних розведень ґрунту засівають у 9 см<sup>3</sup> глюкозо-пептонного або лактозо-пептонного середовища. У разі розкладу вказаних цукрів до кислоти й газу висів роблять на середовище Ендо, темно-червоні колонії, що вирости, мікроскопують, ставлять пробу на оксидазу й вираховують титр БГКП так само, як і для води.

Титр ентерококів визначають шляхом посіву відповідних розведень на середовище Каліни або ДІФ-3; перфрінгенс-титр вираховують посівом розведень суспензії на середовище Вільсона-Блера; кількість грибів – на середовище Сабуро, актиноміцетів – на крохмально-аміачний агар.

Для визначення титру термофільних бактерій різні розведення суспензії ґрунту вносять у чашки Петрі, заливають розтопленим і охолодженим МПА. Посіви інкубують 24 год при 60 °С, підраховують кількість виростилих колоній і роблять перерахунок на 1 г ґрунту.

Оцінку ступеня забруднення ґрунту проводять шляхом визначення загального мікробного числа й кількісного аналізу основних індикаторних мікроорганізмів (табл.2).

### Санітарно-мікробіологічна оцінка ґрунту

Характеристика ґрунту	ЗМЧ	Титр БГКП	Перфрінгенс-титр	Кількість термофільних бактерій в 1 г
Чистий	<5 · 10 <sup>5</sup>	1,0 і більше	0,01 і більше	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>
Помірно забруднений	5 · 10 <sup>6</sup>	0,9-0,01	0,009-0,0001	10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup>
Сильно забруднений	>5 · 10 <sup>6</sup>	0,009 і менше	0,00009 і менше	10 <sup>5</sup> -10 <sup>7</sup>



## Мікрофлора води

Вода морів, океанів, річок і озер, як і ґрунт, є природним середовищем для існування багатьох видів бактерій, грибів, найпростіших а також мікроскопічних водоростей. У ґрунтових водах містяться поодинокі мікроорганізми.

Основний фактор, який визначає кількість мікробів у воді, - наявність у ній необхідних живильних субстратів. Чим більше вода забруднена органічними речовинами, чим більше в неї потрапляє відходів і нечистот, тим більше в ній бактерій. Отже, вода рік, які протікають через населені пункти і вбирають масу стоків і каналізаційних вод, містить величезну кількість мікроорганізмів.

Мікрофлора води поділяється на власну (автохтонну) і випадкову (заносну). До постійних бактерій належать актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони. Із морської води прибережних зон систематично висіваються вібріони, які спричиняють у людей гострі гастроентерити від вживання малосольної морської риби, креветок, мідій.

При забрудненні водоймищ стічними водами виявляють багато кишкових паличок, ентерококів, клостридій, спірил, вібріонів, ентеровірусів і ротавірусів. Анаеробні бактерії у воді зустрічаються рідко. Інколи в неї заносяться і певний час зберігаються хвороботворні мікроорганізми. Так, спори сибіркових бацил зберігаються у воді роками, збудники тифів, ентеровіруси, вірус гепатиту А, лептоспіри - кілька місяців, а збудники дизентерії, холери, бруцельозу - ще менше (дні, тижні). Отже, вода може стати могутнім фактором передачі багатьох інфекційних хвороб.

Санітарно-показовим мікробом для води є кишкова паличка (*E.coli*).

Доброякісна питна вода повинна відповідати певним вимогам державного стандарту. Наказом МОЗ України від 23.12.1996 р. затверджено Державні санітарні правила і норми "Вода питна. Гігієнічні вимоги до

якості води централізованого господарськопитного водопостачання".

Вимоги їх обов'язкові для всіх органів, установ, організацій та закладів, посадових осіб і громадян, причетних до забезпечення водою населення України. Наводимо основні мікробіологічні показники, які регламентують безпеку питної води (табл. 3).

### Мікробіологічні показники безпеки питної води

№	Показники	Одиниці виміру	Нормативи
1.	Число бактерій в 1 см <sup>3</sup> води (ЗМЧ)	КУО/см <sup>3</sup>	не більше 100
2.	Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм <sup>3</sup> води (індекс БГКП)	КУО/дм <sup>3</sup>	не більше 3
3.	Число патогенних бактерій в 1 дм <sup>3</sup> води	КУО/дм <sup>3</sup>	відсутність
4.	Число патогенних бактерій в 1 дм <sup>3</sup> води	КУО/дм <sup>3</sup>	відсутність
5.	Число колифагів в 1 дм <sup>3</sup> води	КУО/дм <sup>3</sup>	відсутність

**Примітки:** КУО - колонієутворюючі одиниці (мікроорганізми);  
БУО - бляшкоутворюючі одиниці.

Мета проведення санітарно-мікробіологічного дослідження води може бути різною:

1. Вибір джерела водопостачання. Контроль знезараження питної води центрального водопостачання.
2. Визначення придатності для вживання криничної й джерельної води.
3. Перевірка якості і ступеня очищення стічних вод.
4. Розслідування водних спалахів інфекційних хвороб.
5. Контроль знезараження води плавальних басейнів.
6. Спостереження за санітарно-епідеміологічним станом відкритих водоймищ.

Санітарно-мікробіологічне дослідження води, перш за все, повинно вирішувати питання про наявність або відсутність у ній патогенних

бактерій, вірусів і грибів. Але їх безпосереднє виявлення має ряд методичних труднощів. У зв'язку з цим широкого розповсюдження набули методи непрямой оцінки її епідеміологічного благополуччя шляхом виявлення так званих санітарно-показових мікроорганізмів і визначення загального мікробного числа (ЗМЧ).

Основним джерелом збудників заразних хвороб є люди й теплокровні тварини, які виділяють їх в оточуюче середовище фекальним або повітряно-краплинним шляхом разом з численними представниками нормальної мікрофлори кишечника й верхніх дихальних шляхів. Тому санітарно-показові мікроорганізми для різних об'єктів довкілля відібрані саме з представників нормальної мікрофлори.

Для води такими санітарно-показовими мікроорганізмами в усіх лабораторіях світу прийняті бактерії групи кишкової палички (БГКП).

До категорії БГКП належать бактерії родини *Enterobacteriaceae*, що об'єднує роди *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. Це грамнегативні, безспоріві, оксидазо-негативні палички, які ферментують глюкозу і лактозу до кислоти й газу при 37 °С. Вони виділяються в зовнішнє середовище з випорожненнями людей і теплокровних тварин і є кількісним показником ступеня фекального забруднення води. Тим більше її фекальне забруднення, тим вища ймовірність контамінації води відповідними патогенними мікроорганізмами.

Серед БГКП окремо виділяють групу коліформних бактерій, а в ній – фекальні кишкові палички (ФКП), які розкладають лактозу при 44,5 °С. До *E. coli* відносять бактерії, що не ростуть на цитратному агарі. Саме вони є показником свіжого фекального забруднення. Для його визначення можна використати *S. faecalis*, який порівняно швидко гине в оточуючому середовищі.

При повноцінному санітарно-мікробіологічному дослідженні води визначають ЗМЧ, БГКП, *E. coli*, ентерококи, стафілококи, патогенні мікроорганізми (холерні вібріони, сальмонели, шигели, лептоспіри,

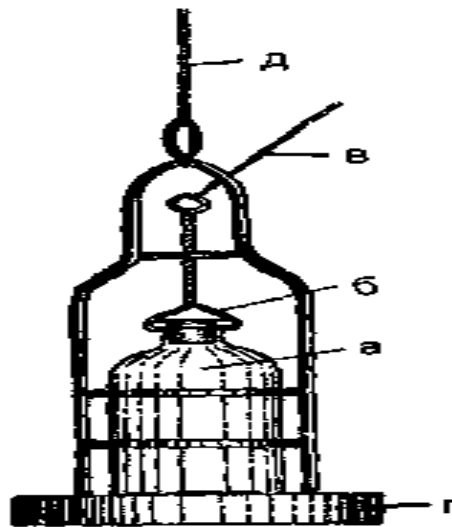
ентеровіруси та ін.).

**Взяття проб води.** Для проведення мікробіологічного аналізу відбирають 500 см<sup>3</sup> води у стерильні флакони, закриті ватно-марлевою пробкою, покритою зверху паперовим ковпачком. Взяття проб з водопровідних кранів проводять після обпалювання їх спиртовим факелом і наступного випускання води протягом 10 хв. Проби хлорованої води беруть у флакони з дехлоратором (на 500 см<sup>3</sup> води 2 см<sup>3</sup> 1,5 % розчину гіпосульфїту натрію, простерилізованого в автоклаві).

Якщо дослідження проводять на виявлення не лише індикаторних, а й патогенних мікроорганізмів, потрібно брати пробу об'ємом 2500 см<sup>3</sup> води.

Коли визначають ще й індекс коліфагів об'єм проби збільшують до 3500 см<sup>3</sup>.

У відкритих водоймах проби беруть за допомогою батометра. Цей прилад має металевий каркас із масивним дном - грузилом, всередині якого вміщують стерильний флакон, закритий гумовим або скляним притертим корком (рис. 1).



**Батометр**

- а – стерильний флакон
- б – пробка
- в – шнур для відкривання флакона
- г – грузило
- д – шнур для опускання приладу

На потрібній глибині корок відкривають, потягнувши за шнур. Після заповнення флакона його відпускають, завдяки чому ємність автоматично закривається. Після виймання флакона з батометра притертий корок замінюють ватно-марлевою пробкою. Як правило, пробу води беруть на глибині 15 см, але не ближче як за 10-15 см від дна водойми. На флакон із відібраною водою наклеюють етикетку, на якій вказують місце взяття проби, її номер, дату і час, температуру води й повітря, прізвище санітарного лікаря чи його помічника, мету дослідження й адресу лабораторії, яка буде проводити аналіз.

Мікробіологічне дослідження води необхідно провести не пізніше 2 год після її відбору. Якщо це неможливо, вказаний строк може бути продовжений до 6 год, але при умові транспортування проби при температурі 1-5 °С, що досягають за допомогою пакетів з теплою водою взимку і льоду – влітку.

Після доставки проб до лабораторії негайно проводять дослідження, яке включає визначення загального мікробного числа в 1 см<sup>3</sup> води, числа бактерій групи кишкових паличок у 1 дм<sup>3</sup> (індекс БГКП), число термостабільних кишкових паличок ( фекальних коліформ – індекс ФК) у 100 см<sup>3</sup>, число патогенних мікроорганізмів у 1 дм<sup>3</sup>, число коліфагів у 1 дм<sup>3</sup> води, що досліджується.

***Визначення загального мікробного числа води.*** Цей показник визначає кількість мезофільних, мезотрофних аеробів і факультативних анаеробів, які виростають на МПА при 37 °С протягом 24 год. Залежно від ступеня ймовірного бактерійного забруднення воду сіють із таким розрахунком, щоб на агарі в чашках виростало від 30 до 300 колоній. Звичайну водопровідну або артезіанську воду сіють у нерозведеному стані в об'ємі 1 см<sup>3</sup>. Проби з відкритих водойм, криниць, джерел і т.п. сіють після попереднього їх розведення від 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-3</sup> і більше (особливо стічних вод). Для цього в ряд пробірок наливають по 9 мл стерильної води, в першу з них вносять 1 см<sup>3</sup> досліджуваної води, ретельно перемішують, із цієї пробірки переносять 1 см<sup>3</sup> у

другу, потім у третю і всі наступні по 1 см<sup>3</sup> попереднього розведення. Для виготовлення кожного розведення необхідно брати нову стерильну піпетку.

Нерозведену або розведену воду в об'ємі 1 см<sup>3</sup> вносять, рівномірно розкапуючи, на дно стерильної чашки Петрі, потім заливають її 10-12 см<sup>3</sup> розтопленого й охолодженого до 45 °С м'ясо-пептонного агару. Обережними круговими рухами змішують воду з агаром. Як правило, сіють не менше двох розведень і для кожного з них використовують дві чашки. Після застигання середовища посіви вирощують у термостаті при 37 °С протягом 24 год. Через добу підраховують число колоній у двох чашках і знаходять середнє арифметичне. При значній кількості колоній підрахунки проводять за допомогою спеціального приладу АПК (апарат для підрахунку колоній). Методика користування ним регламентована спеціальною інструкцією.

Відповідно до існуючих вимог звичайна водопровідна вода може містити не більше 100 мікробів. ЗМЧ відкритих водойм і криничної води не повинно перевищувати 1000.

**Визначення кількості бактерій групи кишкових паличок.** Цей показник (індекс БГКП) визначають за допомогою методу мембранних фільтрів і бродильних проб. Мікробіологічні лабораторії частіше використовують метод мембранних фільтрів. Він значно простіший і дає стабільні результати.

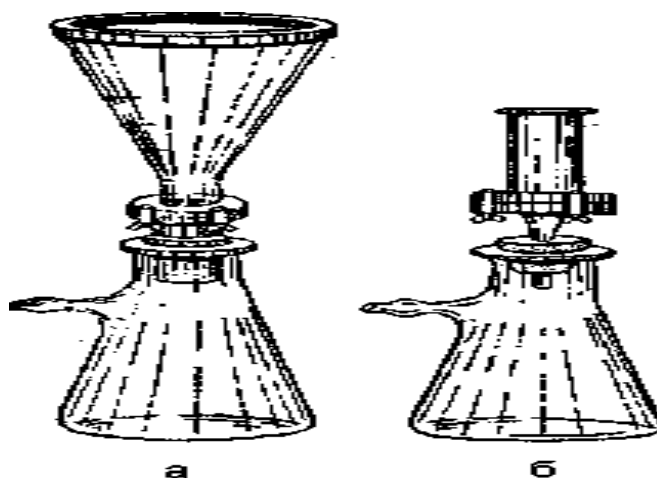
**Метод мембранних фільтрів.** Суть методу полягає в концентруванні бактерій з певного об'єму досліджуваної води на мембранний фільтр, вирощуванні на середовищі Ендо при 37 °С і підрахунку індексу БГКП в 1 дм<sup>3</sup> води.

При аналізі водопровідної води необхідно фільтрувати не менш як 333 см<sup>3</sup>. При дослідженні води невідомої якості слід фільтрувати менші об'єми: наприклад, 3, 30, 100, 200 см<sup>3</sup>.

Промисловість випускає нітроцелюлозні мембранні фільтри під 6 номерами: чим менший номер, тим дрібніший діаметр пор. Для дослідження води використовують фільтри № 2 і № 3. Їх вміщують у підігріту до 80°С дистильовану воду і ставлять на слабкий вогонь до закипання. Кип'ятять

тричі по 15 хв, кожного разу замінюючи воду. Після останнього кип'ятіння воду не зливають, фільтри залишають в ній до вживання.

Для фільтрування води використовують апарат Зейтца або прилад Рубльовської водопровідної станції (рис. 3).



Прилади для фільтрування води

а - Рубльовської водопровідної станції; б – апарат Зейтца

Прилади обтирають ватним тампоном, змоченим у спирті, і фламбірують. Після охолодження їх монтують на колбі Бунзена. На нижню частину апарата (столік) кладуть стерильним пінцетом підготовлений мембранний фільтр, притискають його верхньою частиною приладу (стакан, воронка) і закріплюють пристроєм, передбаченим конструкцією. У воронку (стакан), дотримуючись правил асептики, наливають досліджуваний об'єм води й за допомогою масляного насоса створюють вакуум у колбі Бунзена.

Після закінчення фільтрування знімають воронку (стакан), мембранний фільтр беруть обпаленим на вогні пінцетом і вміщують на середовище Ендо так, щоб між агаром і фільтром не було бульбашок повітря. В одній чашці Петрі можна розмістити 3-4 фільтри. Чашки з фільтрами на середовищі Ендо поміщають у термостат догори дном, інкубують при 37 °С протягом 18-24 год.

Облік результатів проводять через добу. При відсутності будь-яких колоній або при рості лише плівчастих, зубчастих та інших колоній, не властивих для ешерихій, видають негативний результат. Якщо виростають

типові для коліформних бактерій колонії, з них виготовляють мазки. У випадках виявлення грамнегативних паличок залишок колонії пересівають у глюкозо-пептонне середовище й при позитивній бродильній пробі присутність БГКП вважають доказаною. Дослідження закінчують постановкою проби на оксидазу. Для цього знімають фільтр і кладуть його колоніями на фільтрувальний папір, змочений реактивом на виявлення оксидазної активності. При наявності оксидази колонії забарвлюються у синій колір. Коліформні бактерії не утворюють оксидази.

Результат дослідження виражають у вигляді індексу БГКП, тобто кількості бактерій групи кишкових паличок у 1 дм<sup>3</sup> води. Його вираховують так: кількість колоній БГКП, що вирости після посіву певної кількості води, множать на 1000 і ділять на даний об'єм води. Наприклад: при посіві 333 см<sup>3</sup> води не вирости жодної колонії –  $(1 \times 1000) : 333 = 3$ , індекс БГКП менше 3; при посіві трьох об'ємів води по 100 см<sup>3</sup> на одному фільтрі вирости три колонії коліформних бактерій, індекс БГКП =  $(3 \times 1000) : 300 = 10$ .

Питна вода відповідає вимогам стандарту, якщо індекс БГКП не перевищує 3.

**Бродильний метод**. Суть методу полягає в посіві певних об'ємів води й підрощуванні при 37 °С у середовищі нагромадження з наступним висівом на агар Ендо, диференціюванні бактерій, що вирости, та визначенні індексу БГКП за таблицями.

При дослідженні водопровідної води сіють три об'єми по 100 см<sup>3</sup>, три об'єми по 10 см<sup>3</sup> і три об'єми по 1 см<sup>3</sup>. При аналізі на етапах очищення і знезараження засівають 100, 10, 1,0 і 0,1 см<sup>3</sup> води. Вказані об'єми вносять у флакони й пробірки з глюкозо-пептонним або лактозо-пептонним середовищем із поплавками. Посіви 100 і 10 см<sup>3</sup> води проводять у флакони й пробірки відповідно з 10 і 1,0 см<sup>3</sup> концентрованого середовища (на 1000 см<sup>3</sup> дистильованої води 100 г пептону, 50 г глюкози, 50 г хлориду натрію, 100 см<sup>3</sup> індикатора Андреде). Проби по 1,0 і 0,1 см<sup>3</sup> води сіють у пробірки, що містять 10 см<sup>3</sup> середовища нормальної концентрації (на 1000 см<sup>3</sup> дистильованої води 10 г пептону, 5 г глюкози, 5 г хлориду натрію, 10 см<sup>3</sup> індикатора Андреде).



Посіви інкубують 24 год при 37 °С.

Із кожного флакона чи пробірки, де відмічено помутніння, кислоти й газ, або помутніння й кислоти, роблять висів на середовище Ендо. При відсутності росту або при наявності плівчастих, губчастих пліснявих та інших колоній, не характерних для колоній *E.coli*, видають негативний результат.

Якщо ж на середовищі Ендо виростають темно-червоні колонії з металевим блиском або без нього, їх належність до БГКП підтверджують за допомогою мікроскопії, посіву на середовище Олькеницького та проби на оксидазу. Наявність грамнегативних паличок у мазках і негативний оксидазний тест дають право негайно видати відповідь про наявність бактерій групи кишкових паличок.

Результат аналізу оцінюють у вигляді індексу БГКП і колі-титру за таблицями 4 і 5.

При виявленні мікробного забруднення вище допустимих норм потрібно проводити повторний відбір проб і досліджувати їх на наявність термостабільних кишкових паличок (фекальних коліформ – ФК).

Індекс ФК визначають у 100 см<sup>3</sup> води як методом мембранних фільтрів, так і бродильними пробами.

Для цього через мембранний фільтр пропускають 100 см<sup>3</sup> води й після інкубації при 37 °С типові темнокервоні колонії пересівають у лактозо-пептонне середовище з борною кислотою (3,2 г на 1 дм<sup>3</sup>). Засіяні пробірки інкубують 24 год при 43 °С.

Наявність помутніння і газу вказує на присутність у воді бактерій – показників свіжого фекального забруднення.

Ознаки росту (помутніння) без утворення газу до уваги не беруть.

Таким же способом визначають свіже фекальне забруднення й бродильним методом, пересіваючи темнокервоні колонії з агару Ендо в лактозо-пептонне середовище з інгібітором росту сторонньої мікрофлори.

### Визначення індексу БГКП при посіві 333 см<sup>3</sup> води

Кількість позитивних результатів аналізу води з:			Індекс БГКП (колі-індекс)	Колі-титр
Трьох флаконів по 100 см <sup>3</sup>	Трьох пробірок по 10 см <sup>3</sup>	Трьох пробірок по 1 см <sup>3</sup>		
0	0	0	< 3	> 333
0	0	1	3	333
0	1	0	3	333
1	0	0	4	250
1	0	1	7	143
1	1	0	7	143
1	1	1	11	91
1	2	0	11	91
2	0	0	9	111
2	0	1	14	72
2	1	0	15	67
2	1	1	20	50
2	2	0	21	48
2	2	1	28	36
3	0	0	23	43
3	0	1	39	26
3	0	2	64	16
3	1	0	43	23
3	1	1	75	13
3	1	2	120	8
3	2	0	93	11
3	2	1	150	7
3	2	2	210	5
3	3	0	240	4
3	3	1	460	2
3	3	2	1100	0,9
3	3	3	> 1100	> 0,9

### Визначення індексу БГКП на етапах очищення

Об'єм досліджуваної води, см <sup>3</sup>				Індекс БГКП (колі-індекс)	Колі-титр
100	10	1,0	0,1		
-	-	-	-	< 9	> 111
-	-	+	-	9	111
-	+	-	-	10	105
+	-	-	-	23	43
+	-	+	-	94	10
+	+	-	-	230	4
+	+	-	+	960	1
+	+	+	-	2380	0,4
+	+	+	+	> 2380	< 0,4

При значному погіршенні санітарно-бактеріологічних показників води, а також при загрозливій епідеміологічній ситуації проводять дослідження води на виявлення патогенних мікроорганізмів. Методи таких аналізів викладені у відповідних розділах спеціальної мікробіології.

Дослідження на виявлення фагів кишкових паличок проводять у випадках, якщо індекси БГКП і ФК перевищують допустимі нормативи або підозрюють забруднення води патогенними ентеровірусами. Коліфаги відповідають вимогам, що пред'являються до санітарно-показових мікроорганізмів: їх розміри, будова, властивості, джерело надходження, терміни виживання такі ж як і у патогенних ентеровірусів. Окрім того, вони не шкідливі для людини.

При дослідженні на коліфаги найчастіше використовують метод агарових шарів. Напередодні аналізу в стерильні чашки Петрі розливають по 25-30 см<sup>3</sup> 1,5 % МПА, підсушують під листками стерильного паперу протягом 60 хв, потім закривають кришками й залишають на ніч при кімнатній температурі в перевернутому вигляді.

До проб води об'ємом 10 см<sup>3</sup> для звільнення від бактеріальної мікрофлори додають 1-2 см<sup>3</sup> хлороформу, струшують і залишають на 15 хв. Для дослідження беруть воду над хлороформом. Оброблену воду наносять по 1 см<sup>3</sup> на поверхню агару в трьох чашках Петрі.

Заздалегідь розлитий у пробірки 0,8 % МПА в кількості 3 см<sup>3</sup> розплавляють, охолоджують до 46-48°C, додають 0,1-0,2 см<sup>3</sup> суспензії 18 год культури *E.coli* (полілізабельний штам), ретельно перемішують і виливають на агар із пробою води. Суміш залишають на 30 хв для застигання. Потім чашки в перевернутому вигляді інкубують 18-24 год при 37 °С.

Облік результатів проводять, підраховуючи число бляшкоутворюючих одиниць (БУО), і перераховують на 1дм<sup>3</sup> досліджуваної води. Для слабозабруднених вод використовують метод збагачення або осадження сіллю магнію. Індекс колі-фагів також вираховують за спеціальною таблицею.

У 1996 р. МОЗ України видало наказ №383 про затвердження державних санітарних правил і норм “Гігієнічні вимоги до якості води централізованого госпо-дарсько-питного водопостачання”. У ньому визначені основні мікробіологічні нормативи (табл. 6).

### Мікробіологічні показники безпеки питної води

Найменування показників	Одиниці виміру	Нормативи
Число бактерій в 1 см <sup>3</sup> води (ЗМЧ)	КУО / см <sup>3</sup>	не більше 100
Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм <sup>3</sup> води (індекс БГКП)	КУО / дм <sup>3</sup>	не більше 3
Число термостабільних кишкових паличок в 100 см <sup>3</sup> води (індекс ФК)	КУО / 100 см <sup>3</sup>	відсутність
Число патогенних мікроорганізмів у 1 дм <sup>3</sup> води	КУО / дм <sup>3</sup>	відсутність
Число коліфагів у 1 дм <sup>3</sup> води	БУО / дм <sup>3</sup>	відсутність

**Примітки:** КУО – колонієутворюючі одиниці (мікроорганізми);  
БУО – бляшкоутворюючі одиниці (віруси).

### Мікрофлора повітря

Атмосферне повітря є несприятливим середовищем для розмноження мікроорганізмів. У ньому відсутні речовини, достатня вологість і оптимальна температура, а висушування і сонячне проміння згубно впливають на бактерії та віруси.

У повітря мікроби потрапляють головним чином із ґрунту, рослин і тварин, продуктів і відходів деяких виробництв. Видовий і чисельний склад мікрофлори повітря незначний. Він дуже варіабельний, динамічний і в значній мірі залежить від опадів, температури, інтенсивності сонячної радіації і наявності диму, пилу, кіптяви.

Найчастіше в атмосферному повітрі знаходять актиноміцети, сарцини, мікрококи, бацили, гриби. Кількість мікроорганізмів у робочих і житлових приміщеннях тісно пов'язана з санітарно-гігієнічним режимом. При скупченні людей, поганій вентиляції, неправильному прибиранні кількість бактерій у повітрі зростає.

В закритих приміщеннях у повітряний простір мікрофлора потрапляє, в основному, з поверхні шкіри і верхніх дихальних шляхів людини.

Патогенні мікроорганізми потрапляють у повітря від хворих людей або бактеріоносіїв при чханні, кашлі, розмові. Розсіювання бактерій і вірусів найбільш інтенсивно відбувається при чханні.

Навіть короткого перебування збудників у повітрі досить для того, щоб передати їх від хворої до здорової людини. Повітряно-краплинним способом передаються дифтерія, коклюш, скарлатина, менінгіт, ангіна, туберкульоз, грип, кір, аденовірусні інфекції тощо.

Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікробів в  $1 \text{ м}^3$  і наявності санітарно-показових бактерій - **гемолітичних стрептококів і золотистих стафілококів.**

Особливо важливий контроль за мікробним забрудненням повітря у хірургічних, акушерських та дитячих стаціонарах, де виникнення госпітальних інфекцій найбільш небезпечно. На жаль, державний стандарт для оцінки мікробного обмінення повітря лікарняних закладів ще не розроблено.

Для основних приміщень хірургічних відділень і пологових будинків запропоновано тимчасове положення про нормування мікробного забруднення повітряного середовища. Згідно з цим положенням, загальна кількість бактерій в операційній не повинна перевищувати  $500$  в  $1 \text{ м}^3$ , а після операції -  $1000$ .

Гемолітичні стрептококи і золотисті стафілококи не повинні виявлятися в  $250$  л повітря.

Для знезараження повітря лікарняних закладів використовують ультрафіолетове і кварцове опромінювання, аерозолі дезінфікуючих розчинів.

### **Дослідження мікрофлори повітря**

В атмосферному повітрі можуть знаходитись десятки й сотні видів сапрофітних мікроорганізмів. Серед них регулярно виявляють стафілококи, мікрококи, сарцини, спороносні палички, актиноміцети, віруси. Вони потрапляють у повітря з ґрунту, води, рослин, тварин, харчових продуктів і відходів деяких виробництв. Мікрофлору атмосферного повітря досліджують рідко, в основному, за несприятливих епідеміологічних ситуацій.

У повітрі закритих приміщень, особливо лікарняних, поряд із нешкідливими сапрофітами можуть виявляти й патогенні мікроорганізми: збудники дифтерії, скарлатини, менінгіту, коклюшу, туберкульозу, віруси грипу, парагрипу, кору та ін. Санітарно-показовими бактеріями для повітря закритих приміщень є золотисті стафілококи, альфа - і бета - гемолітичні стрептококи.

Для повсякденної санітарно-гігієнічної оцінки повітря лікарняних приміщень визначають такі показники:

1. Загальна кількість мікробів у 1 м<sup>3</sup> повітря.
2. Кількість у 1 м<sup>3</sup> санітарно-показових бактерій.

За цими показниками визначають ступінь бактерійного забруднення повітряного середовища. Виявлення золотистих стафілококів і гемолітичних стрептококів вище допустимих нормативів свідчить про епідеміологічне неблагополуччя досліджуваного об'єкта.

Бактеріологічні лабораторії санітарно-епідеміологічних станцій у плановому порядку проводять мікробіологічні дослідження таких приміщень як операційні, реанімаційні й перев'язувальні відділення хірургічних і дитячих стаціонарів, пологових будинків, станцій переливання крові, аптек, дитячих садків, ясел, шкіл, кінотеатрів тощо.

При проведенні мікробіологічних досліджень повітря використовують седиментаційний, аспіраційний і фільтраційний методи.

**Седиментаційний метод Коха.** Цей метод оснований на принципі осадження мікробів. Дві чашки Петрі з МПА або спеціальним агаром для гемолітичних стрептококів (середовище Гарро) чи жовтково-сольовим агаром (ЖСА) для золотистих стафілококів відкривають і встановлюють на горизонтальній поверхні в місці взяття проби.

Залежно від мікробного забруднення повітря експозиція чашок продовжується від 5-10 хв, при великій кількості бактерій, до 20-40 хв – при малій. Чашки закривають, інкубують 24 год при 37 °С і ще добу при кімнатній температурі.

Для визначення загального мікробного числа повітря в 1м<sup>3</sup> підраховують кількість всіх колоній на МПА в обох чашках і знаходять середнє арифметичне. За даними Омелянського на поверхню в 100 см<sup>2</sup> за 5 хв осідає стільки бактерій, скільки їх міститься в 10 дм<sup>3</sup> повітря. Наприклад, на чашці з агаром після 5 хв експозиції виросло 33 колонії. Площа стандартної чашки Петрі складає біля 66 см<sup>2</sup>. На 100 см<sup>2</sup> агару виросло б  $33 \times 100 : 66 = 50$  колоній, тобто та кількість мікробів, що міститься в 10 дм<sup>3</sup> повітря. Отже, в 1 м<sup>3</sup> їх буде  $50 \times 1000 : 10 = 5000$ .

Ретельна перевірка багатьох показників, вирахованих за формулою Омелянського, виявила, що вони втричі менші від чисел, отриманих більш точними методами дослідження мікрофлори повітря за допомогою спеціальних апаратів.

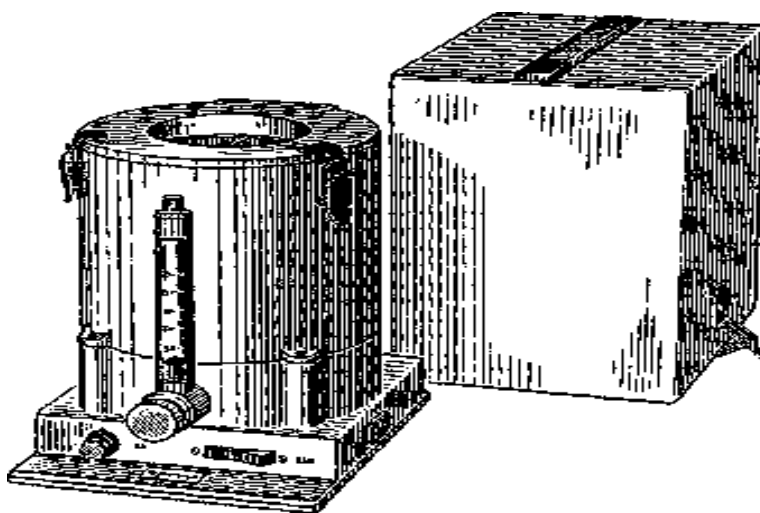
У зв'язку з цим метод Коха використовують для орієнтовного визначення мікробного забруднення, але він дає хороші результати при порівняльному дослідженні мікрофлори різних лікарняних приміщень.

При перегляді чашок Петрі з елективними середовищами звертають увагу на колонії, характерні для бактерій, що ростуть саме на даному живильному середовищі. Наприклад, на агарі Гарро підраховують колонії альфа - і бета-гемолітичних стрептококів, на ЖСА – колонії золотистих стафілококів.

Типові колонії мікроскопують, виділяють чисті культури, ідентифікують їх до виду і лише після цього вираховують кількість тих чи інших видів бактерій. Це роблять тоді, коли визначають седиментаційним методом кількість санітарно-показових мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря.

**Аспіраційний метод Кротова.** Він ґрунтується на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища й прилипанні до нього бактерій.

Дослідження проводять за допомогою апарата Кротова (рис. 4) який може вловлювати високодисперсні фази мікробного аерозолю.



Апарат Кротова

Апарат складається з пристрою для відбору проб повітря, ротаметра, який регулює швидкість і кількість всмоктуваного повітря та електродвигуна. Прилад включають у електромережу, знімають кришку, на спеціальний диск закріплюють відкриту чашку Петрі з живильним середовищем. Рукою надають їй інерційного руху за годинниковою стрілкою, закривають кришку апарата і включають двигун.

Чашка обертається з постійною швидкістю 60 об/хв. Повітря із заданою швидкістю втягується через клиноподібну щілину плексигласової пластини, що закриває чашку Петрі з агаром. При цьому частинки аерозолю з мікроорганізмами рівномірно прилипають до живильного середовища.



При дослідженні загального мікробного числа пропускають, як правило, 100 дм<sup>3</sup> повітря зі швидкістю 25 дм<sup>3</sup>/хв. Якщо визначають кількість індикаторних бактерій (золотисті стафілококи, альфа- і бета-гемолітичні стрептококи) об'єм досліджуваного повітря збільшують до 300-500 дм<sup>3</sup>. Після взяття проби чашку з посівом повітря знімають, закривають її й інкубують 18-24 год при 37 °С і ще 24 год при кімнатній температурі.

Розрахунок загального мікробного числа проводять за формулою:

де **a** – кількість колоній, що вирости в чашці Петрі,  
**V** – об'єм пропущеного через прибор повітря в дм<sup>3</sup>,  
**1000** – заданий об'єм повітря для визначення ЗМЧ.

*Приклад розрахунку:* через прилад пропущено 100 дм<sup>3</sup> повітря; число колоній, що вирости – 370. Отже, кількість мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря буде дорівнювати:

**Фільтраційний метод.** Для його використання запропоновані спеціальні прилади: Дяконова, Речменського, Кіктенко, ПАБ-1, ПОВ-1 та ін. Принцип їх дії зводиться до пропускання певного об'єму повітря через рідину в приладі (або фільтр) з наступним висівом мірної кількості її на живильні середовища.

При застосуванні фільтрів їх накладають на щільне живильне середовище. Підраховують число колоній, що вирости, та проводять відповідні перерахунки на весь об'єм рідини в приладі й визначають

число мікроорганізмів у 1 м<sup>3</sup> повітря.

За допомогою цього методу можна провести дослідження повітря на присутність і тих патогенних мікроорганізмів, які не культивуються на живильних середовищах. Рідину, що поглинула бактерійні аерозолі повітря, можна використати для зараження лабораторних тварин або проведення спеціальних бактеріологічних та вірусологічних досліджень.

Безпосереднє виявлення патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (стафілококи, стрептококи, псевдомонади, інші грамнегативні бактерії), які викликають шпитальні інфекції, проводять при аналізі повітря хірургічних, акушерсько-гінекологічних та інших стаціонарів.

При виникненні внутрішньолікарняних інфекцій, спричинених стафілококами, проводять дослідження на виявлення джерела й шляхів їх розповсюдження. При цьому визначають ідентичність культур, виділених із повітря, інших об'єктів оточуючого середовища, а також від хворих і медичного персоналу за допомогою фаготипування.

Державні стандарти для оцінки санітарно-бактеріологічних показників повітря ще нерозроблені. Запропоновані лише тимчасові положення про допустиме нормування мікробного забруднення окремих лікарняних та інших приміщень.

Так, у повітрі операційних, родильних залів, реанімаційних, перев'язувальних і процедурних загальна кількість бактерій в 1 м<sup>3</sup> до роботи не повинна перебільшувати 500, після роботи – 1000; кількість *S. aureus* не більше 4, а гемолітичних стрептококів взагалі не повинно бути. У повітрі лікарняних палат взимку ЗМЧ не повинно перевищувати 3500, *S. aureus* – до 24, а гемолітичних стрептококів не більше 24.

Влітку ці показники не повинні перевищувати відповідно 5000, 52 і 36.

## Мікрофлора харчових продуктів

Багато харчових продуктів (молоко, молочні вироби, м'ясо і м'ясна продукція, риба, яйця, ягоди, фрукти, овочі, гриби тощо) є сприятливим середовищем для розмноження мікроорганізмів. У процесі технологічного виробництва деяких молочно-кислих продуктів (кисле молоко, кефір, йогурт), хлібних виробів, окремих напоїв з метою надання їм кращих смакових якостей у них штучно вносять певні види мікробів.

Це так звана *специфічна мікрофлора*. Вона є корисною і ніякої небезпеки для людини не являє.

У процесі заготовки, транспортування, переробки й неправильного зберігання харчових продуктів до них можуть проникати, зберігатись і розмножуватись різноманітні (часто патогенні) мікроорганізми. Їх об'єднали під назвою *неспецифічна мікрофлора*. Вона є небезпечною для людини і може викликати харчові токсикоінфекції, токсикози, мікози і захворювання змішаної етіології.

У молоко можуть проникати мікобактерії туберкульозу, сальмонели, шигели, бруцели, стрепто- і стафілококи, деякі віруси.

М'ясо інфікується в результаті захворювання тварин і птиці або під час забою, розробки, доставки до споживача та неправильного зберігання такими мікроорганізмами, як ентеробактерії, протей, стрептококи, бацили і клостридії.

Дуже небезпечним мікробом, який проникає в рибу і рибні вироби, є збудник ботулізму.

Неправильно консервовані помідори, гриби та інші продукти також іноді є причиною виникнення ботулізму.

Овочі та фрукти обсіменяють шигели, сальмонели, холерні вібріони, ентеровіруси.

Санітарно-мікробіологічна оцінка харчових продуктів ґрунтується на визначенні загального мікробного числа та санітарно-показових мікробів

(БГКП), а також збудників відповідних захворювань.

Державними стандартами для багатьох продуктів харчування встановлені відповідні санітарні показники.

Гама-опромінення, зберігання на холоді, висушування, коптіння, консервування, обробка деякими хімікатами захищає харчові продукти від проникнення і розмноження неспецифічної мікрофлори.

Велике значення мають також боротьба з гризунами, комахами-переносниками збудників захворювань, санітарно-освітня робота серед населення, особливо серед працівників підприємств громадського харчування.

### **Мікробіологічні дослідження харчових продуктів**

Харчові продукти – сприятливе середовище не тільки для збереження, але й для розмноження сапрофітних, патогенних і умовно-патогенних бактерій. Серед багатьох продуктів є такі, що містять так звану *специфічну мікрофлору* (молочно-кислі бактерії, молочнокислі стрептококи, болгарська паличка, біфідобактерії, дріжджі, кефірний грибок та ін.). Вона знаходиться в молочнокислих продуктах, різних напоях і надає їм приємних смакових якостей (простокваша, кефір, кумис, йогурт, пиво, квас, безалкогольні напої). У процесі бактеріологічного аналізу ця мікрофлора не досліджується.

Окрім того, в багатьох продуктах можуть міститись аеробні й анаеробні мікроорганізми, або їх спори, що потрапили з навколишнього середовища. Вони складають *неспецифічну мікрофлору*, яка псує продукти, робить їх непридатними для вживання, а часом спричиняє тяжкі захворювання, харчові токсикоінфекції й токсикози. Саме ці мікроорганізми та їх токсини виявляють при проведенні бактеріологічного контролю м'яса й м'ясних продуктів, риби й рибних продуктів, молока й молочних продуктів, різноманітних консервів, напоїв тощо.

Санітарно-бактеріологічні дослідження харчових продуктів проводять з метою визначення ступеня мікробного обсіменіння (ЗМЧ), виявлення

бактерій групи кишкових паличок (індекс і титр БГКП), ентерококів, стафілококів, деяких клостридій та протею.

За епідемічними показаннями досліджують і наявність патогенних мікроорганізмів (сальмонел черевного тифу, паратифів, гострого гастроентериту, шигел, холерних вібріонів, мікобактерій, збудників бруцельозу, ботулізму, ентеровірусів та ін.).

**Молоко й молочні продукти.** Санітарно - бактеріологічний стан молока оцінюють за мікробним числом, індексом БГКП, наявністю стафілококів та ентерококів. Для визначення ЗМЧ пастеризованого молока його розводять від  $10^{-1}$  до  $10^{-3}$  і по  $1\text{ см}^3$  кожного розведення вносять у стерильні чашки Петрі й заливають розплавленим і охолодженим до  $45\text{ }^\circ\text{C}$  агаром. Посіви інкубують при  $37\text{ }^\circ\text{C}$  протягом доби, підраховують кількість колоній, роблять поправку на розведення й визначають ЗМЧ. Воно не повинно перевищувати  $7,5 \times 10^3$ .

Для визначення титру БГКП нерозведене пастеризоване молоко засівають у 6 пробірок із середовищем Кесслера або глюкозо-пептонним середовищем за схемою: в три пробірки вносять по  $1\text{ см}^3$  молока, в інші три – по  $0,1\text{ см}^3$  ( $1\text{ см}^3$  молока, розведеного в 10 разів стерильною водою). Посіви інкубують протягом 24 год при  $43\text{ }^\circ\text{C}$ , після чого з проб, що забродили, роблять висів на агар Ендо. З колоній темно-червоного кольору виготовляють мазки, ставлять пробу на оксидазу, пересівають у глюкозо-пептонне середовище й інкубують при  $43\text{ }^\circ\text{C}$  протягом доби.

При оцінці результатів враховують наявність у мазках грамнегативних паличок, що не продукують оксидази, викликають бродіння глюкози до кислоти й газу. Титр БГКП не повинен перевищувати 3. Аналогічним способом досліджують вершки, молочнокислі продукти, морозиво, креми, дитячі молочні суміші тощо.

Виявлення стафілококів і ентерококів проводять так само, як і в воді. Патогенні бактерії виділяють шляхом посіву молока на відповідні елективні та диференціально-діагностичні середовища з наступним виділенням чистих

культур та їх ідентифікації.

**М'ясо й м'ясні продукти.** Перш за все мікроскопічно визначають інтенсивність поверхневого обсіменіння м'яса в мазках-відбитках. Препарати готують із шматочків м'яса розміром 2×2,5 см, забарвлюють за Грамом і мікроскопують. М'ясо вважають свіжим, якщо в мазках немає, або в полі зору виявляють не більше 10 паличкоподібних бактерій. При сумнівній свіжості знаходять десятки коків і до 30 паличок.

Якщо в полі зору велика кількість бактерій і переважають паличкоподібні форми – м'ясо оцінюють як несвіже.

При дослідженні ковбас, м'ясного фаршу, кулінарних виробів (котлети, битки та ін.) визначають загальне мікробне число, присутність БГКП, сальмонел, протеїв, анаеробних клостридій.

Зрізану поверхню ковбаси припікають розжареним на вогні скальпелем, плівку протирають спиртом, обпалюють і знімають. Стерильним скальпелем вирізають дві наважки по 1-2 г із поверхні та глибини батона. Кожну наважку окремо вміщують у стерильну фарфорову ступку й емульгують із стерильним піском, додаючи стерильний ізотонічний розчин хлориду натрію з таким розрахунком, щоб отримати 10 % суспензію.

Для визначення ЗМЧ на дно стерильних чашок Петрі вносять по 0,1 см<sup>3</sup> суспензії, заливають розплавленим і охолодженим до 45 °С МПА, інкубують протягом 48 год при 37 °С. Підрахунок колоній і визначення кількості бактерій в 1 г продукту проводять загальноприйнятим методом. За існуючими нормативами ЗМЧ не повинно перевищувати 10<sup>3</sup>.

При дослідженні на виявлення БГКП 0,1 см<sup>3</sup> суспензії сіють на середовище Ендо, ретельно розтираючи матеріал шпателем по всій поверхні агару, і вирощують 18-20 год. при 37 °С. Підрахунок колоній, ідентифікацію бактерій та визначення індексу БГКП проводять так само, як вище описано. При відсутності росту колоній на середовищі Ендо відмічають, що при прямому посіві 0,01 г продукту коліформні бактерії не виявлені.

Бактерії роду *Proteus* виділяють за методом Шукевича.

Для виявлення сальмонел, анаеробних клостридій та інших патогенних мікроорганізмів суспензію сіють на відповідні елективні середовища, виділяють чисті культури та ідентифікують їх за допомогою методик, що застосовуються для вивчення цих мікроорганізмів.

**Риба і рибні продукти.** М'ясо риб і рибні продукти контамінуються багатьма видами мікробів, що потрапляють із води, луски, кишок, різних предметів, палуб та устаткування риболовецьких кораблів, а також із рук персоналу, який обробляє та готує рибну продукцію.

З епідеміологічної точки зору найнебезпечнішими бактеріями є палички ботулізму, які зустрічаються в кишечнику риб, особливо осетрових, а також холерні й параземолітичні вібріони та віруси гепатиту А.

Санітарно-бактеріологічні дослідження рибопродуктів проводять, як правило, при виникненні харчових токсикоінфекцій. Вони спрямовані на виявлення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів або їх токсинів.

Методики забору проб, проведення аналізу, виділення чистих культур аеробних і анаеробних бактерій та їх ідентифікація подібні до тих, які застосовуються при дослідженні м'яса й м'ясних продуктів.

**Консервовані продукти.** Мікробіологічному контролю підлягають м'ясні, рибні, овочеві та фруктові консерви. Їх досліджують на наявність БГКП, сальмонел, стафілококів, аеробних і анаеробних спороносних мікробів. Найбільш небезпечними є консерви домашнього виробництва, особливо виготовлені з грибів, які часто є причиною виникнення ботулізму.

Безпосередньо перед проведенням аналізу для перевірки герметичності банки занурюють на 3-5 хв. у нагріту воду (85 °С). Повітря всередині банок нагрівається, розширяється і в разі негерметичності виходить назовні у вигляді бульбашок. При порушенні герметичності консерви мікробіологічному дослідженню не підлягають.

Досліджувану банку миють гарячою водою з милом, витирають насухо,

обтирають спиртом і верхню кришку обпалюють. Спеціальним пробійником пробивають кришку й скляною трубкою набирають матеріал для посіву.

Для виділення аеробних бактерій беруть не менше 1 г вмісту, а для анаеробних – 3-5 г.

Аеробні мікроорганізми виявляють шляхом посіву у 2 пробірки з 1 % цукровим бульйоном, інкубують при 37 °С протягом 5-6 діб. При появі ознак росту виготовляють мазки, пересівають на МПА, середовище Ендо та скошений агар (за Шукевичем). Ідентифікацію чистих культур БГКП, сальмонел, протею проводять так само, як і при дослідженні м'яса та м'ясних продуктів.

Для виявлення анаеробних бактерій досліджуваний матеріал сіють у дві пробірки з середовищем Кітта-Тароцці, одну з яких прогрівають 20 хв. при 80 °С. Після інкубації в термостаті культури мікроскопують і при виявленні в мазках грампозитивних паличок зі спорами виділяють чисті культури за методом Вейнберга або Цейслера. При відсутності росту посіви витримують у термостаті протягом 10 діб.

При дослідженні на наявність ботулінічного токсину проби консервів фільтрують і з фільтратом ставлять реакцію нейтралізації токсину типовими антиботуліновими сироватками А, В, С, D, Е, F, G в біологічній пробі на білих мишах.

Ботулотоксин можна виявити й за допомогою фагоцитарного показника. У пробірку вносять 1 об'єм 3 % розчину лимоннокислого натрію, 2 об'єми крові кролика, 1 об'єм досліджуваного матеріалу, 1 об'єм добової культури стафілокока 209 P, що містить 2 млрд мікробних тіл в 1 см<sup>3</sup> за оптичним стандартом. Інкубують 20 хв при 37 °С, після чого готують мазки, фіксують їх метиловим спиртом і забарвлюють азур-еозином. У мазку підраховують 50 лейкоцитів і число фагоцитованих ними стафілококів, ділять кількість поглинених коків на 50 і вираховують фагоцитарний показник. При наявності ботулінічного токсину фагоцитарний показник зменшується в порівнянні з контролем, а антиботулінова сироватка певного типу нейтралізує пригнічення



фагоцитарного індексу. За типом протиботулінової сироватки визначають тип токсину.

## **Роль мікробів у виникненні й існуванні біосфери та охороні довкілля**

Біосфера сформувалась біля 3 млрд років тому. Тоді єдиними "жителями" Землі були прокаріотичні бактерії, які відіграли велику роль у її створенні. Сьогодні сумарна маса мікроорганізмів планети складає понад 740 млрд т, в той час як всіх рослин - 550, тварин - лише 15 млрд т. При цьому ферментативна активність біомаси бактерій у десятки разів перевищує цей процес у рослин і тварин.

Таке широке розповсюдження мікроорганізмів, їх велика участь у глибокому розкладі різноманітних органічних сполук зумовлює їх колосальну роль у кругообігу речовин і енергії в природі.

Із трупами тварин і рослин у ґрунт і воду постійно надходить велика кількість органічних сполук, переважно білкової і вуглеводневої природи.

Із виділеннями людей і тварин у довкілля потрапляє сечовина, сечова кислота, продукти білкового розкладу. Ці азотовмісні сполуки безперервно розкладаються бактеріями й повністю мінералізуються до амонійних і азотнокислих солей.

Мікроорганізми - чудові санітари Землі. Вони очищають нашу планету від нечистот, розкладають їх до мінеральних солей і природа знову дістає можливість творити дивовижний органічний світ. Деякі мікроби здатні засвоювати з повітря елементарний азот і відкладати його у вигляді складних азотистих сполук, що збагачує ними ґрунт і підвищує врожайність полів.

Усі ці процеси розкладу і синтезу азотистих речовин лежать в основі грандіозного кругообігу азоту в природі.

Існують мікроорганізми, які з діоксиду вуглецю, карбонатів і мінеральних речовин синтезують вуглеводи. Інші види в процесах бродіння знову перетворюють їх у діоксид вуглецю і карбонати. Ці процеси

складають кругообіг вуглецю. Подібна трансформація відбувається з сіркою, залізом, фосфором та іншими елементами.

Надзвичайно важливо в наші дні оберігати екологічну рівновагу в біосфері, захищати від промислових викидів групи мікроорганізмів, які здійснюють кругообіг речовин у природі. Адже шкідливі впливи порушують екологічний баланс, пригнічують життєдіяльність корисних організмів у екосистемах, і вони часто гинуть. Падають запаси корисного гумусу в ґрунтах, що зменшує їх плодючість.

Важливе екологічне значення має захист біосфери від контамінації її патогенними й умовно-патогенними мікроорганізмами.

## **Нормальна мікрофлора людини**

Нормальна мікрофлора тіла здорової людини (*еумікробіоз*) - сукупність мікробіоценозів усіх її біотопів. Вона сформувалась у процесі еволюції. Найбільш чисельні мікробіоценози утворились на шкірі, в ротовій і носовій порожнинах, піхві, товстому кишечнику. Але внутрішнє середовище макроорганізму (кров, лімфа, тканини) не містить мікробів. Порівняно мало їх у бронхах, легенях, жовчних і сечовивідних шляхах, на слизовій ока.

Кількість і видовий склад мікрофлори залежить від віку, статі, клімату, режиму харчування, мікробіоценозів навколишнього середовища, індивідуальних санітарно-гігієнічних навичок тощо.

Особливу роль у змінах нормальних мікробіоценозів відіграють антибіотики, інші хіміотерапевтичні та імунологічні препарати. Вони спричиняють сильний селективний тиск на популяції окремих бактерій, знищуючи чутливі особини і сприяють розвитку стійких варіантів. Боротьба з такими резистентними мікроорганізмами є однією з актуальних проблем сучасної медицини.

Лікарям будь-якого профілю і середнім медпрацівникам потрібно знати якісний і кількісний склад мікрофлори окремих біотопів, щоб раціонально

призначати антимікробні препарати.

Організм людини населяють понад 500 видів бактерій, біля 50 видів вірусів і понад 20 видів найпростіших. Загальна кількість мікроорганізмів досягає  $10^{14}$ , що в 10 разів більше, ніж всіх клітин макроорганізму.

Нормальна мікрофлора людського тіла поділяється на дві групи:

- 1) постійна (рзидентна),** специфічна для даного біотопу (*автохтонна*);
- 2) тимчасова,** занесена з інших біотопів хазяїна (алохтонна) або з інших біотопів довкілля (*заносна*).

Важливою особливістю нормальної мікрофлори є її індивідуальна й анатомічна стабільність. При контакті бактерії можуть передаватись від однієї людини до іншої. Але, як правило, не приживаються.

Вивчення індивідуальної автофлори має важливе значення при підборі екіпажів космічних кораблів, підводних човнів, полярних експедицій, які працюють у тісному контакті один із одним і повинні бути сумісними за характером мікрофлори.

Обмін мікроорганізмами між індивідуумами відбувається також в яслах, дитячих садках, школах, казармах, лікарнях та ін. У ряді випадків такий обмін може бути небезпечним, так як багато видів індивідуальної мікрофлори однієї людини можуть бути умовно-патогенними для іншої.

Анатомічна стабільність полягає в тому, що мікрофлора, наприклад, ротової порожнини не приживається на шкірі тощо. Якийсь час вона, звичайно, може знаходитись у новому біотопі, але постійно не зберігається. Плід стерильний, поки знаходиться в утробі матері. Під час пологів організм дитини контамінується мікрофлорою пологових шляхів -лактобактеріями, стрептококами, кишковими паличками. Пізніше в організм новонародженого мікроби потрапляють з рук, дихальних шляхів матері та обслуговуючого персоналу, а також із навколишнього середовища.

Індивідуальна постійна мікрофлора формується з 10 дня. На слизових оболонках дитини з'являються нитчасті мікроорганізми, які своєю сіткою покривають поверхню. На ній адсорбуються бактерії, які утворюють

особливу біоплівку, що складається з муцину та полісахаридів мікробного походження. Величезна кількість мікроорганізмів у плівці розташовується не поодинокі, а у вигляді **мікроколоній**. Товщина біоплівки у різних біотопів неоднакова. Найбільшу товщину вона має на слизовій оболонці товстого кишечника, найменшу - на шкірі та в носовій порожнині.

Мікробний "пейзаж" окремих біотопів людського тіла дуже різноманітний, що вимагає роздільного викладу.

**Мікрофлора шкіри.** Кількість мікроорганізмів, які населяють шкіру, досить велика (від 100/см<sup>2</sup> до 2,5 млн/см<sup>2</sup>). З поверхні всієї шкіри дорослої людини змивається біля 1,5 млрд бактерій.

Живлення мікробів здійснюється за рахунок виділень сальних і потових залоз, відмерлих клітин епітелію і продуктів їх розпаду.

Мікрофлору шкіри поділяють на власну (постійну) і заносну.

Найбільш характерними постійними мікробами шкіри є **коринебактерії, пропіонібактерії, стафілококи, мікрококи, сардини, актиноміцети, плісеневі й недосконалі гриби, мікобактерії**. У окремих індивідуумів виявляють **стрептококи**, дріжджоподібні гриби **Candida**, спори аеробних бактерій та анаеробних клостридій, 5 - 10 % людей є носіями на шкірі **S.aureus**. Заносні мікроорганізми швидко гинуть під впливом бактерицидних властивостей шкіри або антагонізму автохтонних видів.

Зазначені мікроорганізми розташовуються нерівномірно. Кожна відособлена зона - біотоп має свої особливості як за кількістю, так і видовим складом. Запропоновані навіть спеціальні карти мікрофлори шкіри.

Основні місця проживання бактерій - роговий шар, протоки сальних і потових залоз та волосяні мішечки.

У здорових людей мікрофлора шкіри не викликає будь-яких хвороботворних процесів.

Навпаки, вона оберігає шкіру від проникнення "чужаків-мікробів". І тільки при імунодефіцитах, порушеннях санітарно-гігієнічного режиму, постійних подразненнях шкіри шкідливими речовинами (лаки, фарби, масла тощо)

можуть виникати досить важкі ураження цього органа.

З епідеміологічної точки зору важливими біотопами є шкіра обличчя, пахвинних ямок, промежини, місця операційних розрізів. До останнього часу зовсім не вивчено мікрофлору шкіри молочних залоз породіль.

При дослідженні цього біотопу встановлено надзвичайно густе заселення бактеріями соска й ареоли (у окремих жінок до 5-7 млн/см<sup>2</sup>), які є найбільш "гарячими точками" обміну мікрофлорою матері й дитини. При обсіменінні цих зон патогенними й умовно-патогенними бактеріями можуть виникати небезпечні гнійно-септичні захворювання породіль і новонароджених.

Визначення мікрофлори шкіри має велике практичне значення. Досліджують кількісний і якісний склад мікроорганізмів у хворих перед операціями, в динаміці лікування антибіотиками й гормональними препаратами. Часто обстежують мікрофлору шкіри рук медичного персоналу лікарень, дитячих закладів, працівників підприємств громадського харчування.

### **Дослідження мікрофлори людини**

Організм людини населяють понад 500 видів бактерій, біля 50 видів вірусів і понад 20 видів найпростіших. Загальна кількість мікроорганізмів досягає  $10^{14}$ , що в 10 разів більше, ніж всіх клітин макроорганізму.

Нормальна мікрофлора людського тіла поділяється на дві групи:

- 1) постійна (резидентна), специфічна для даного біотопу (автохтонна);
- 2) тимчасова, занесена з інших біотопів хазяїна (алохтонна), або з оточуючого середовища (заносна).

В різних ділянках тіла вона неоднакова, оскільки кожний біотоп характеризується своєрідними умовами для існування мікроорганізмів.

Найбільше епідеміологічне значення мають представники мікробних угруповань шкіри, верхніх дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту, сечостатевого органів. Методи дослідження мікрофлори різних біотопів значною мірою відрізняються між собою.

Дослідження мікрофлори людини проводять при діагностиці ендогенних інфекцій, дисбактеріозів, бактеріоносійства, у космонавтів, членів екіпажів підводних човнів та полярних експедицій для уникнення бактерійної несумісності.

**Мікрофлора шкіри.** Найбільш характерними мікробами шкіри є **коринебактерії** (*Corynebacterium bovis*, *C.lipophylicum*, *C.minutissimum*, *C.pseudodiphtheriticum*, *C.xerosis*); **пропіонібактерії** (*Propionibacterium acnes*, *P.avidum*, *P.freudenreichii*, *P.granulatum*); **стафілококи** (*Staphylococcus epidermidis*, *S.saprophyticus*, *S.capitis*, *S.cohnii*); **мікрококи** (*Micrococcus kristinae*, *M.luteus*, *M.varians*); сарцини (*Sarcina maxima*, *S.ventriculi*); актиноміцети (*Actinomyces bolis*, *A. israelii*); **гриби** (*Pityrosporum ovale*, *P.orbiculare*). У окремих осіб зустрічаються дріжджоподібні гриби **Candida**, **Staphylococcus aureus**, різні види стрептококів, анаеробні клостридії. З епідеміологічної точки зору важливими біотопами є шкіра обличчя, пахвинних ямок, промежини, молочних залоз породіль, місця операційних розрізів.

Матеріал для дослідження із здорової чи патологічно зміненої шкіри найчастіше беруть стерильним ватним тампоном (див. змиви з рук). Він дає змогу провести лише якісний аналіз мікрофлори, що вегетує на поверхні шкіри.

Для більш точного дослідження мікрофлори шкіри використовують метод змивів – зіскрібок Вільямсона і Клігмана в модифікації С.І. Ситника.

За допомогою цього методу можна визначити абсолютне число мікроорганізмів на досліджуваній ділянці шкіри. Для цього на поверхню шкіри прикладають і щільно притискають стандартний стерильний скляний циліндр із шліфованими краями, площа перерізу якого становить точно 1 см<sup>2</sup>, а висота 5 см. У нього вносять 1 см<sup>3</sup> 0,1 % розчину тритону X-100 в 0,075 М фосфатному буфері рН 7,9. Потім в циліндр опускають стерильний сталевий робочий елемент масою 18 г, який має на торці дрібні насічки, які роблять зіскрібок епітелію і мікрофлори. Робочий елемент обертають руками без

натиску протягом 1 хв. Змивну рідину відсмоктують стерильною пастерівською піпеткою в пробірку. В циліндр, ще притиснутий до шкіри, повторно вносять 1 см<sup>3</sup> розчину тритону і процедуру змиву повторюють. Обидві змивні рідини змішують і з суміші готують десятикратні розведення (10<sup>0</sup>, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>) в 0,05 % розчині тритону для попередження реакрації бактерій. По 0,1 см<sup>3</sup> нерозведеної, а також розведених проб засівають на селективні живильні середовища ( кров'яний агар; ЖСА, фуразолідоно-твіновий агар, середовища Гарро, Ендо, Сабуро, кров'яний агар BVL для анаеробів (до стандартного середовища BVL додають 5 % дефібринованої крові барана). Посіви інкубують при 37 °С протягом 48-96 год. Підраховують кількість колоній, що вирости, користуючись лупою або приладом ПСБ. Результати виражають числом КУО на 1 см<sup>2</sup> шкіри за формулою:

$$\text{КУО} = 20 \times m \times n,$$

де 20 – постійний коефіцієнт при посіві 0,1 см<sup>3</sup> проби,  
m – число колоній, що вирости,  
n – розведення (в 10, 100, 1000 разів).

У відповіді для лікаря вказують загальне мікробне обсіменіння досліджуваної ділянки: високе – понад 10<sup>6</sup>, середнє – 10<sup>3</sup>-10<sup>5</sup>, низьке – менше 10<sup>3</sup> КУО/см<sup>2</sup>; види виділених мікроорганізмів; стан мікробіоценозу (еубіоз, дисбактеріоз).

**Мікрофлора дихальних шляхів.** Серед резидентної мікрофлори дихальних шляхів найчастіше знаходять зеленячі, гемолітичні й негемолітичні стрептококи, коринебактерії, нейсерії, стафілококи, мікрококи, пептострептококи, бактероїди. Значно рідше виявляють актиноміцети, мікоплазми, трепонеми, ентеробактерії й гриби роду *Candida*. Основна маса мікрофлори припадає на долю *Streptococcus viridans* (понад 90 % всіх мікроорганізмів). Біля 10 % людей є носіями *Staphylococcus aureus*, а серед медпрацівників хірургічних і акушерсько-гінекологічних стаціонарів цей вид виділяють у 40-90 % обстежених осіб.

Слизова оболонка трахеї, бронхів, бронхіол і альвеол здорової людини, як

правило, не містить мікроорганізмів.

Матеріал для дослідження повинен брати спеціаліст, оскільки правильний забір має вирішальне значення для виявлення епідеміологічно значущих мікроорганізмів.

Слиз (секрет) із носа беруть натще або через 2 год після вживання їжі й до початку лікування стерильними ватними тампонами, виготовленими краще з негігроскопічної вати.

Для кожного носового ходу використовують окремий тампон.

Матеріал із носоглотки беруть спеціальним задньоглотковим тампоном, який вводять через зів або носовий отвір у носоглотку.

Матеріал із ротоглотки забирають одним тампоном. Спочатку обтирають ним правий мигдалик, потім дужку піднебіння, язичок, ліву дужку й лівий мигдалик. Важливо слідкувати, щоб тампон не торкався слизової щік і язика.

В разі виявлення чітко локалізованого патологічного осередку матеріал із нього необхідно взяти окремим тампоном. Зеленячі стрептококи частіше виявляють у слині, яку беруть з-під язикової ямки.

При ураженні нижніх дихальних шляхів і легень досліджують харкотиння. Останнім часом широко використовують більш точні аспіраційні методи при бронхоскопії та пункції трахеї.

При бронхоскопії вводять у бронхи  $5 \text{ см}^3$  0,85 % розчину хлориду натрію, який потім відсмоктують в кількості 2-3  $\text{см}^3$ . При використанні вказаних методів проводять як якісне, так і кількісне визначення мікрофлори.

Взятий матеріал сіють на кров'яний, сироватковий, жовтково-сольовий та шоколадний агар, середовища Ендо й Сабуро.

Виявлення мікроорганізмів, які не є представниками нормальної мікрофлори, або збільшення кількості будь-якого виду автофлори на фоні хвороби, свідчить про їх етіологічну роль при даному захворюванні.



## **Мікробіологічні дослідження змивів із рук та предметів**

У розповсюдженні бактеріальних і вірусних інфекцій певне значення мають предмети побутової й виробничої обстановки, а також руки обслуговуючого персоналу. Різноманітні види бактерій та вірусів можуть порівняно довго зберігатись на поверхні шкіри рук і багатьох предметів (від 1 до 80 днів).

Визначення мікробного обсіменіння вказаних об'єктів проводять для оцінки санітарно-гігієнічного стану лікувальних, профілактичних, дитячих і торгових закладів, ресторанів, кафе, їдалень, буфетів тощо, а також встановлення шляхів розповсюдження інфекційних захворювань.

Дослідження змивів із рук та предметів (столи, іграшки, м'який інвентар, предмети кухонного вжитку та ін.) роблять за певними епідеміологічними показаннями.

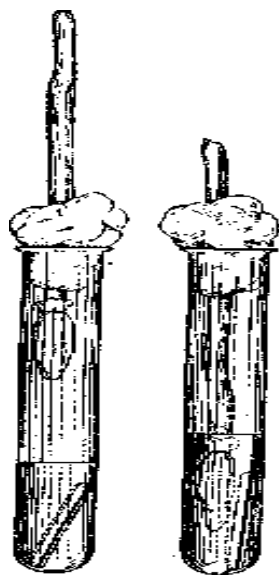
У повсякденній роботі рідко проводять аналізи на безпосереднє виявлення патогенних мікроорганізмів, оскільки вони мають ряд труднощів.

Значно частіше виявляють санітарно-показові бактерії: БГКП, стафілококи, ентерококи.

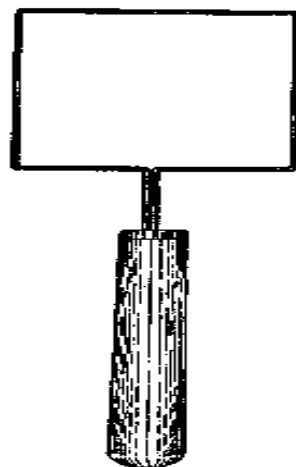
Змив проводять стерильним тампоном, вміщеним у пробірку з МПБ або глюкозо-пептонним середовищем. Сухий тампон проштотують до повного змочування у бульйоні, виймають і роблять змив. Спочатку протирають шкіру лівої, потім правої руки в такій послідовності: тил кисті, долоня, міжпальцеві проміжки, нігтьові ложа.

Після закінчення змиву тампон знову занурюють у середовище. Пробка при цьому стає на своє місце й закриває пробірку (рис.7).

При проведенні змивів із предметів, що мають велику поверхню (столи, стіни, дошки для обробки м'яса та інших продуктів), досліджувану ділянку обмежують спеціальною рамкою-трафаретом, що має площу 25, 50 або 100 см<sup>2</sup> (рис. 8).



**Тампони для змивів**



**Шаблон для змивів**

Цей шаблон виготовляють із дроту, перед вживанням і після змиву його обпалюють на вогні.

Для визначення загального мікробного обсіменіння із пробірки після ретельного віджимання тампону й перемішування  $1 \text{ см}^3$  рідини вносять у стерильну чашку Петрі, заливають 15 мл розтопленого й охолодженого агару.

Посіви інкубують 24 год при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , підраховують число колоній, визначають ЗМЧ. Для порівняльної оцінки отриманих результатів бажано вести розрахунки на  $1 \text{ см}^2$  поверхні.

Визначення БГКП, стафілококів та ентерококів (індикаторні мікроорганізми) проводять шляхом посіву на елективні середовища. Колонії підраховують та ідентифікують так само, як і при аналізі води.

**Мікрофлора ротової порожнини.** Порожнина рота є унікальною екологічною системою для існування багатьох видів мікроорганізмів. Постійна температура, вологість, оптимальне значення рН, залишки вуглеводневих продуктів створюють сприятливі умови для їх розмноження.

Мікрофлора ротової порожнини – дуже складний мікробіоценоз, в якому тісно співіснують аероби й анаероби, грампозитивні й грамнегативні бактерії,

гриби, віруси та найпростіші. Найбільш характерними представниками є ротові стрептококи (*Streptococcus salivarius*, *S.mitis*, *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.viridans*); анаеробні пептострептококи (*Peptostreptococcus anaerobius*, *P.productus*, *P.parvulus*, *P.lanceolatus*, *P.micro s*); стафілококи (*Staphylococcus epidermidis*, *S.sapro -phyticus*, *S.hominis*, *S.hyicus*); мікрококи (*Micrococcus luteus*, *M.varians*); бактероїди (*Bacteroides fragilis*, *B.melaninogenicus*, *B.gingivalis*); спірохети (*Treponema denticola*, *T.macrodentium*, *T. orale*, *T.vincentii*, *Borrelia*); нейсерії (*Neisseria flava*, *N.sicca*); леп-тотрихії (*Leptotrichia buccalis*); вейлонели (*Veilonella parvula*); лактобацили (*Lactoba-cillus casei*, *L.acidophilus*); фузобактерії (*Fusobacterium nucleatum*, *F.periodonticum*, *F.plauti*); превотели (*Prevotella disiens*); кампілобактерії (*Campylobacter sputorum*); гриби родів *Actinomyces*, *Candida*; мікоплазми (*Mycoplasma orale*, *M.salivarium*).

До випадкових, але досить небезпечних представників ротової мікрофлори слід віднести *Streptococcus pyogenes*, *S.viridans*, *S.pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, віруси герпесу, епідемічного паротиту, ВІЛ-інфекції та ін.

У перші години після народження дитини бактерії колонізують слизову оболонку ротової порожнини, навіть починають розмножуватись. У перші дні в слині дитини можна виявити стрептококи, молочнокислі бактерії, актиноміцети. Постійні бактерії з'являються при переході на звичайне харчування.

Характер ротової мікрофлори у дорослих людей залежить від віку, режиму харчування та санітарно-гігієнічних навичок догляду за зубами. Останнім часом описано кілька сотень видів мікроорганізмів, які представляють нормальну автохтонну мікрофлору цього біотопу. До її складу входять численні представники бактерій, грибів, найпростіших і вірусів (рис. 5).



### **Мікрофлора ротової порожнини в тушовому препараті**

Найчастіше ротову порожнину населяють різні види **стрептококів** (особливо *Streptococcus salivarius*, *S.mitis*, *S.sanguis*, *S.mutans*), **пептококів**, **вейлонел**, **бактероїдів**, **лактобактерій**, **лептотриксів**, **фузобакטרій**, **актиноміцетів і спірохет**. Рідше зустрічаються коринебактерії, вібріони, борелії, мікоплазми. У половини людей виявляють гриби роду **Candida**.

При певних умовах мікроорганізми ротової порожнини можуть викликати різні захворювання - карієс зубів, стоматит, гнійні запалення м'яких тканин щелеп - абсцеси та флегмони.

При частому й нераціональному вживанні антибіотиків виникає кандидамікоз (молочниця).

**Бактеріологічні дослідження** вмісту ротової порожнини проводять з метою вивчення етіології патологічних процесів слизової, ясен, зубів, діагностики ряду специфічних захворювань (сифіліс, туберкульоз, ангіна Симановського-Плаута-Венсана, ВІЛ-інфекція), при виготовленні нових матеріалів для протезів та пломбування зубів. Його треба проводити до початку лікування хіміопрепаратами, до вживання їжі й не раніше, ніж через 4-5 год після місцевого лікування.

Матеріалом для дослідження є полоскальний змив, зубний наліт, біоптати

слизової щік і язика, вміст каріозних зубів і гангренозних пульп. Найчастіше його беруть ватним тампоном, яким обтирають слизову щік, ясен, язика, мигдалики.

У разі виявлення ясенних карманів чи виразок мазок треба брати ще одним тампоном або платиновою петлею, а при ушкодженні зубних каналів – стоматологічним зондом, обгорнутим стерильною ватою або окремими ватними чи паперовими гнотиками. Слину забирають з-під язика. У зв'язку із зростаючим поширенням СНІДу взяття матеріалів для бактеріологічного чи вірусологічного дослідження треба проводити з максимальною обережністю, щоб виключити зараження інших пацієнтів.

При бактеріоскопії мазки забарвлюють за методом Грама або Романовського-Гімзи.

Спірохети виявляють у нативних препаратах за допомогою темного поля, фазово-контрастного чи аноптрального мікроскопів.

Бактеріологічне дослідження проводять шляхом посіву матеріалу на елективні та диференціальні середовища для аеробних і анаеробних мікроорганізмів із врахуванням біологічних особливостей вище вказаних родів і видів бактерій, грибів і найпростіших. Виділені культури ідентифікують за їх морфологічними, культуральними, ферментативними та антигенними властивостями.

Висновок про роль того чи іншого збудника у виникненні карієсу, гінгівіту, пульпіту, парадонтозу та інших патологічних процесів роблять не лише на основі визначення виду, а й щільності його популяції. Частіше всього вказані захворювання викликає не один вид, а різноманітні асоціації мікроорганізмів.

***Мікрофлора шлунка й кишок.*** Разом із водою та їжею у шлунок потрапляє багато мікроорганізмів, але більшість із них гине від дії соляної кислоти. У зв'язку з цим мікрофлора вмісту і слизової оболонки даного органа дуже бідна. Кількість бактерій не перевищує  $10^3$  в 1 мл. Це, в

основному, **спорові та лактобактерії, дріжджі, сардини.**

Проникнення в шлунок і далі в кишечник патогенних організмів можливе лише при ослабленні його захисної функції.

Мікрофлора тонкої кишки в різних її ділянках неоднакова. У верхньому відділі, 12-палій кишці виявляють **біфідо- та лактобактерії, ентерококи, гриби.** Загальна кількість їх не перевищує  $10^4$ - $10^5$  в 1 мл. У нижніх відділах мікрофлора дещо змінюється, стає більш численною, з'являються види, характерні для товстого кишечника.

Найбільш багата і важлива для організму мікрофлора товстої кишки (до  $25^{10}$  в 1 г). Серед постійних представників мікробіоценозу домінують анаероби - **біфідобактерії, бактероїди, лактобактерії, вейлонели, клостридії і пептококи** (рис. 6).



### **Біфідобактерії**

Вони складають 95-96 % усієї мікрофлори даного біотопу. Досить численні види і тимчасових мікробних популяцій: **ентеробактерії, стафілококи, дифтероїди, ентерококи, спірили, гриба роду *Candida*, найпростіші, віруси.**

Мікрофлора товстого кишечника дуже важлива для людини. Вона підтримує її здоров'я.

**Мікрофлора шлунково-кишкового тракту.** Стравохід у здорових людей не містить мікроорганізмів, або їх дуже мало (*Candida albicans*, *Actinomyces israelii*). У шлунку прижились дріжджі (*C.albicans*, *C.tropicalis*); сардини (*S.ventriculi*); кампілобактерії (*Campylobacter fetus*, *C.pylori*); рідко

виявляють лактобацили, стафіло- і стрептококи. У тонкому кишечнику знаходять ентерококи (*Enterococcus faecalis*, *E.faecium*, *E.durans*); біфідобактерії (*Bifidobacterium bifidum*, *B.infantis*, *B.longum*); лактобацили; *E.coli*.

Найбільш численна й різноманітна мікрофлора товстого кишечника. Основну її масу складають анаеробні мікроорганізми: *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* На долю цих двох родів припадає 96-99 % всіх мікробів, що населяють товсті кишки. Тут вегетує значна кількість *Escherichia spp.*, *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* Залишкову мікрофлору товстого кишечника складають численні види родів *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Candida*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* та ін.

Всього описано понад 260 видів бактерій. У окремих людей у кишечнику знаходять ентеровіруси, які при порушенні опірності організму можуть викликати різноманітні захворювання. В ряді випадків у випорожненнях можна виявити різні види найпростіших.

Стійкі порушення нормальних мікробіоценозів називають дисбактеріозами. При цьому відбуваються зміни самого складу автофлори та кількісного співвідношення окремих її представників: значне зменшення видів нормальної мікрофлори аж до повного їх зникнення, або появи у великій кількості тих, які в нормі рідко зустрічаються. Це, в основному, стафілококи, грамнегативні палички, дріжджоподібні гриби *Candida* та клостридії.

Необхідність досліджувати дисбактеріоз кишечника виникає при довготривалих проносах, при яких не виділяють патогенних ентеробактерій, після перенесення кишечних інфекцій із довгим періодом реконвалесценції, тривалої антибіотикотерапії, злоякісних пухлинах, перед операціями на органах черевної порожнини, у недоношених новонароджених та при захворюваннях, що важко піддаються лікуванню (ентероколіти, виразкові коліти, холецистити тощо).

Матеріал із шлунка й тонкої кишки беруть за допомогою спеціальних зондів або капсул, які відкриваються у певному відділі кишечного тракту й закриваються після взяття проби. Останнім часом для цієї мети широко використовують гастрофіброскопи та гастродуоденоскопи, які дозволяють брати на аналіз не лише вміст шлунка чи кишечника, а й біоптати їх слизової оболонки для дослідження мукозних бактерій. Матеріал із сигмоподібної та прямої кишок беруть тампоном, трубкою Цімана, колонофіброскопом чи ректороманоскопом.

При діагностиці дисбактеріозу кишечника досліджують кал. Його вносять у заздалегідь зважені флакончики в кількості 0,5-1,0 г без консерванта й доставляють до лабораторії не пізніше 2 год після забору. Визначену наважку випорожнень розводять спеціальним буферним розчином від  $10^{-1}$  до  $10^{-12}$ .

Із розведень  $10^{-3}$ - $10^{-6}$  по 0,1 см<sup>3</sup> сіють на середовища ЖСА (для виявлення стафілококів), кров'яний агар (для ентерококів і виявлення гемолітичних форм), Сабуро (для грибів), Вільсона-Блера (для клостридій).

Із розведень  $10^{-5}$ - $10^{-8}$  по 0,1 см<sup>3</sup> сіють на середовище Ендо (для ентеробак-терій), МРС-2 і МРС-4 (для лактобактерій), а з розведень  $10^{-7}$ - $10^{-10}$  по 1,0 см<sup>3</sup> засівають на середовище Блаурока, яке розливають високим стовпчиком (для біфідобактерій), та спеціальні середовища для бактероїдів.

Для виявлення патогенних ентеробактерій нативний рідкий кал, або з розведень  $10^{-1}$ , бактеріологічною петлею сіють на середовища Ендо, Плоскирева та вісмут-сульфіт агар. По 1-2 см<sup>3</sup> із розведення  $10^{-1}$  сіють на середовища збагачення (Мюллера, селенітовий чи магнієвий бульйон).

Склад і методика виготовлення всіх живильних середовищ приводиться в інструкції для діагностики дисбактеріозів.

Посіви для вирощування факультативно-анаеробних бактерій інкубують при 37 °С протягом 24-48 год, біфідобактерій – 48 год, анаеробів – 4-5 діб в анаеростатах, грибів – 96 год при 28-30 °С.

Після ідентифікації виділених культур проводять розрахунки кількості



мікроорганізмів тієї чи іншої групи на 1 г випорожнень. Діагностику дисбактеріозу проводять за відхиленням показників кількісного вмісту бактерій різних таксономічних груп від нормальних величин, які представлені в таблиці 7.

### Показники нормоценозу товстого кишечника людини

Мікроорганізми	Кількість бактерій в 1 г	
	дорослих	дітей
<i>Bifidobacterium spp.</i>	$10^8 - 10^9$	$10^9 - 10^{10}$
<i>Bacteroides spp.</i>	$10^9 - 10^{10}$	$10^8^{**}$
<i>Lactobacillus spp.</i>	$10^6 - 10^7$	$10^6 - 10^8$
<i>Streptococcus lactis</i>	$10^6 - 10^8$	$10^7 - 10^8$
<i>Clostridium spp.</i>	$10^5$	–
<i>Escherichia</i> :		
ті, що ферментують лактозу	$10^7 - 10^8$	$10^7 - 10^8$
лактозолефектні	$10^5 - 10^{7*}$	$10^6 - 10^7$
ті, що не ферментують лактозу	$10^5 - 10^7$	$10^6 - 10^7$
гемолітичні	$10^6$	$10^6$
<i>Proteus spp.</i>	$10^4$	$10^3^{**}$
<i>Klebsiella spp.</i>	$10^5$	$10^4$
Інші умовно-патогенні ентеробактерії	$10^{5*}$	$10^4$
Другі грамнегативні бактерії	$10^3$	$10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^3$	$10^3$
Інші стафілококи:		
( <i>S.epidermidis</i> , <i>S.saprophyticus</i> та	$10^4$	$10^4 - 10^6$
<i>Enterococcus spp.</i>	$10^5 - 10^6$	$10^5 - 10^6$
<i>Candida spp.</i>	$10^4$	$10^4$
Плісняві гриби	$10^4$	$10^4$
Патогенні ентеробактерії	0	0

Примітка. \* – зустрічаються у окремих здорових осіб;  
\*\* – зустрічаються рідко у дітей після 3 місяців.

**Мікрофлора дихальних шляхів.** Переважна більшість мікроорганізмів вдихуваного повітря затримується в порожнині носа й гине.

Постійна мікрофлора носа представлена **дифтеріями, стафілококами, нейсеріями, стрептококами, пептококами.** У частини людей, особливо медичного персоналу, на слизовій носа постійно знаходять золотисті стафілококи, що треба розглядати як носійство.

На слизовій оболонці трахеї та бронхів дуже мало мікробів, а дрібні бронхи, альвеоли і тканина легенів стерильні. При ослабленні імунного стану, авітамінозах, переохолодженні власна мікрофлора може викликати

гострі респіраторні захворювання, ангіну, бронхіт, ларингіт тощо.

**Мікрофлора кон'юнктиви.** У половини людей бактерії з слизової оболонки очей не висіваються. Це зумовлено бактерицидною дією сліз, вмістом у них лізоциму і секреторного імуноглобуліну А. У решти осіб кон'юнктиву населяють **коринебактерії, стафілококи, стрептококи, нейсерії, гемофільні бактерії.**

При пониженні неспецифічної резистентності організму вони можуть спричинити запальні процеси слизової оболонки очей (кон'юнктивіти, блефарити тощо).

**Мікрофлора сечостатевого органів.** Паренхіма нирок, ниркові мисочки, сечоводи, сечовий міхур, сеча, порожнина матки й маткові труби у здорових людей вільні від мікробів. У зовнішній частині уретри і статевих органів чоловіків і жінок зустрічаються *Mycobacterium smegmatis*, у невеликій кількості **стафілококи, стрептококи, пептококи, пептострептококи, коринебактерії, бактероїди, фузобактерії, гриби родів *Candida, Torulopsis, Geotrichum.***

У лікарській і сестринській практиці важливе значення має дослідження мікрофлори піхви і визначення ступенів чистоти вагінального вмісту.

Залежно від етапів статевого дозрівання мікроорганізми піхви набувають характерних змін. У перші місяці життя в піхві дівчаток переважають **коринебактерії, молочнокислі стрептококи, ентерококи.** У наступні 10-12 років вагінальний секрет містить дуже мало бактерій. Порожнина матки у здорових жінок стерильна.

Вміст вагіни дорослих жінок має значну кількість глюкози і глікогену, мало білків, кислу реакцію. За таких умов більшість мікробів за винятком **лактобактерій,** не виживають.

У піхві здорових жінок переважають молочнокислі бактерії (палички Додерлайна), дифтероїди та грамнегативні *Comma variabile*. Значно рідше виявляють стрепто-, стафіло-, пептококи та клостридії.

У 15-20 % вагітних жінок зустрічається *Streptococcus agalactiae*, дуже небезпечний для новонароджених. Присутність грам-негативних бактерій є наслідком фекальної контамінації.

За цими показниками розрізняють 4 ступені чистоти вагінального секрету.

При I-II ступенях у здорових жінок у мазках із піхви є клітини епітелію, багато **молочнокислих бактерій** (палички Додерлайна) поодинокі лейкоцити. Реакція секрету кисла, в ньому багато глікогену і мало білка.

При III - IV ступенях палички Додерлайна відсутні або їх дуже мало, багато стрепто- і стафілококів, лейкоцитів, реакція секрету слабокисла або слаболужна, в ньому мало глікогену і багато білка. Такий стан буває у жінок із запальними процесами піхви і матки.

При вагітності у таких жінок необхідно провести лікування запальних процесів, досягти зникнення кокових бактерій, які під час пологів можуть викликати небезпечні захворювання (ендометрити, сепсис тощо).

### **Дослідження мікрофлори сечостатевих органів.**

Порцію першої ранкової сечі (3-5 см<sup>3</sup>) беруть у стерильний посуд, починаючи з середини сечовипускання, і не пізніше як через 1 год проводять посів для кількісного визначення мікрофлори або каліброваною платиновою петлею (діаметр 2 мм) на агар в чашці Петрі, або в склянку ємністю 30 см<sup>3</sup>, на стінках якої є живильне середовище площею 12,5 см<sup>2</sup>. Середовище обливають мірною кількістю сечі, потім її виливають (метод Нейчева).

Після інкубації посівів підраховують число колоній і визначають кількість бактерій в 1 см<sup>3</sup> сечі.

Критичний (небезпечний) рівень бактеріурії – 10<sup>5</sup> і більше.

Матеріал для дослідження мікрофлори піхви і визначення ступеня чистоти вагінального вмісту беруть ложечкою Фолькмана, шпателем, або жолобоподібним зондом із заднього склепіння піхви й наносять тонким

шаром на предметне скло. Мазок фіксують 10 хв. у суміші Никифорова, забарвлюють за методом Грама й досліджують під імерсійною системою.

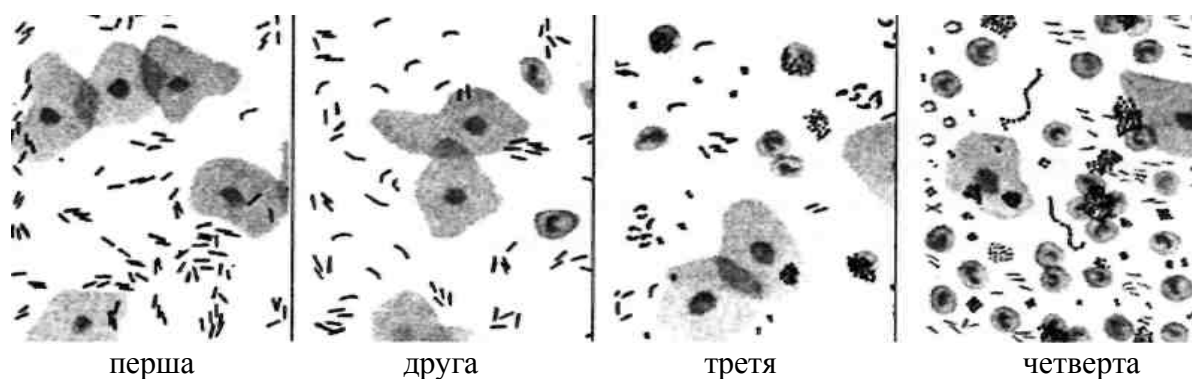
У вагітних жінок визначають чотири ступені чистоти вагінального секрету:

**перший** – поодинокі клітини злушеного епітелію, багато паличок Додерлайна, немає лейкоцитів;

**другий** – клітини епітелію, палички Додерлайна і *Comma variabile*, поодинокі лейкоцити;

**третій** – дуже рідко палички Додерлайна або *Comma variabile*, багато лейкоцитів, наявна кокова флора;

**четвертий** – відсутні палички Додерлайна і *Comma variabile*, дуже багато лейкоцитів, наявна гноєрідна мікрофлора (рис. 7).



#### Чотири ступені чистоти вагінального секрету

*Перший* і *другий* ступінь чистоти зустрічається у здорових жінок і вважається нормою; *третій* і *четвертий* – характеризує патологічний стан статевих органів і потребує санації перед пологами.

**Мікрофлора очей і вух.** У 47 % здорових людей слизова оболонка очей не містить мікроорганізмів. У решти на кон'юнктиві знаходять *Staphylococcus epidermidis*, *S.aureus* (5 %), *Corynebacterium xerosis*, *C.hoffmani*, нейсерії, стрептококи, гемофільні бактерії, мікоплазми, деякі види вірусів. У окремих випадках автофлора очей (як і проникнення бактерій ззовні) може викликати кон'юнктивіти, блефарити тощо.

Шкіра зовнішнього слухового проходу заселена стафілококами (*S.epidermidis*, *S.auricularis*) та дифтероїдами (*C.xerosis*). Рідше тут

зустрічаються псевдомонади й ентеробактерії.

Середнє і внутрішнє вухо стерильні. Періодично до них можуть проникати мікроорганізми з носоглотки, але вони швидко гинуть.

За певних умов при масивному проникненні бактерій в середнє вухо виникає отит.

Матеріал для мікробіологічного дослідження беруть із кон'юнктиви або вушного проходу стерильним тампоном чи маленьким ватним (марлевым) гнотиком; із слізного мішка – піпеткою, а з середнього вуха – пункцією.

Виготовляють мазки й роблять посіви на оптимальні живильні середовища.

Виділення чистих культур та їх ідентифікацію проводять загальноприйнятими методами.

### **Значення нормальної мікрофлори**

Нормальна мікрофлора людини не випадкова. Вона сформувалась у процесі еволюції в мікробіоценози окремих біотопів і відіграє важливу роль у нормальному функціонуванні організму, формуванні природного імунітету.

Майже всі автохтонні мікроорганізми мають сильні антагоністичні властивості проти патогенних бактерій.

Своєчасне формування мікробіоценозу і заселення грудних дітей біфідобактеріями має величезне значення не тільки для здоров'я новонароджених, а й для нормальної життєдіяльності дорослих людей.

Мікробний антагонізм забезпечує **колонізаційну резистентність** - стійкість до заселення даного біотопу патогенними чи умовно-патогенними мікроорганізмами.

Окремі види нормальної мікрофлори синтезують і виділяють багато ферментів, гормонів, вітамінів.

Численні ентеробактерії, насамперед *E. coli*, синтезують практично всі вітаміни групи В, вітаміни К, Е, пантотенову і фолієву кислоти, яких так

потребує організм людини.

Мікрофлора кишечника здатна розкласти складні органічні речовини і тим самим сприяє нормальному травленню.

Порушення нормальних екологічних взаємозв'язків між мікробіоценозами і макроорганізмом, значні зміни у самих біоценозах призводять до розвитку *дисбактеріозів*.

**Дисбактеріоз** - кількісні та якісні порушення екологічного балансу між мікробними популяціями в складі мікрофлори.

Його причини різні - нераціональне тривале вживання антибіотиків, пригнічення імунітету, вплив радіації, хронічні захворювання, перебування людей в екстремальних умовах тощо.

Дисбактеріози майже завжди супроводжуються значним наростанням кількості антибіотикорезистентних бактерій, із якими боротися дуже важко.

Для проведення і лікування дисбактеріозів, крім раціональних методів хіміотерапії, використовують спеціальні бактерійні препарати (біфідобактерин, колібактерин, біфікол, бактисубтил тощо). Карієс зубів вже давно пояснюють дефектом нормальної ротової мікрофлори.

При певних умовах нормальна мікрофлора може призвести до розвитку сечокам'яної хвороби, виразкової хвороби шлунка, ревматизму, дерматитів, алергії і навіть злоякісних пухлин.

Отже, при деяких ситуаціях нормальна мікрофлора може розглядатись як потенційно патогенна.

Мікробіологи давно цікавились, чи можливе життя тварин без мікробів. Відповідь на це запитання дала наука **гнотобіологія** - розділ експериментальної біології, який вивчає гнотобіотів, тобто безмікробних тварин.

Ще в минулому столітті було відомо, що у окремих тварин і птахів арктичних районів дуже мало бактерій або вони повністю відсутні.

У свій час Л. Пастер намагався вивести безмікробних тварин, але тоді це

було технічно неможливо. Тепер це можна зробити.

Сьогодні мікробіологи отримують безмікробних курчат, поросят, мишей, щурів, гвінейських свинок.

**Гнотобіотів** поділяють на кілька груп:

- 1) монобіоти - повністю безмікробні тварини;
- 2) дибіоти - тварини, заражені одним видом бактерій;
- 3) полібіоти, які мають два й більше видів мікроорганізмів.

Гнотобіологія дає змогу вивчати роль окремих видів нормальної мікрофлори в процесі синтезу вітамінів, амінокислот, розвитку інфекції, у формуванні вродженого і набутого імунітету. Великі можливості відкриває вона для практичної медицини при розробці методів безмікробного лікування ран, тобто в умовах гнотобіологічної ізоляції.

Великого значення набуває ця наука при вивченні умов життя людини і тварин у космосі.

### **Вплив зовнішнього середовища на мікроорганізми**

В порівнянні з рослинами і тваринами мікроби мають більшу стійкість до дії фізичних і хімічних факторів: температури, тиску, променистої енергії, поверхнево-активних речовин, фенолів, солей важких металів, різних дезінфікуючих розчинів тощо.

***Дія фізичних факторів.*** До таких факторів належать температура, висушування, рН, випромінювання, механічний струс, тиск, ультразвук.

Стосовно мікроорганізмів розрізняють три кардинальних точки - температурний максимум, оптимум і мінімум.

Залежно від цих параметрів виділяють три групи мікроорганізмів - термофіли, мезофіли і психрофіли.

Для **термофілів** (теплолюбивих) зона оптимального росту лежить у межах 50-60 °С, температурний максимум - 75 °С, а мінімум -45 °С. Медичного значення термофіли не мають, оскільки не здатні розмножуватись в організмі людини.

**Мезофіли** проживають переважно в тілі теплокровних тварин. Оптимальна температура їх росту – 30 - 37 °С, максимальна – 43 - 45 °С, мінімальна – 15 - 20 °С. До мезофілів належить більшість збудників інфекційних хвороб.

**Психрофіли** (холо-долюбиві) мають зону оптимального росту від 10 до 15°С, температурний максимум - 25-30 °С і мінімум - 0-5 °С. Це, здебільшого, вільноіснуючі бактерії.

Високі температури згубно діють на мікроорганізми. Більшість аспорогенних бактерій гине при температурі 60-80 °С протягом години, при 100 °С - миттєво. Спори і цисти значно стійкіші до температурного фактору, вони гинуть при 100 °С протягом 2-6 годин.

Низькі температури бактерії переносять легко. Музейні штами мікроорганізмів у лабораторних умовах зберігаються в ліофілізованому стані роками.

Пошкоджуюча дія високих температур пояснюється швидкою денатурацією білків і ферментів, а низьких - зупиненням метаболізму клітин і розривом їх мембран кристаликами льоду.

**Висушування.** Ріст і розмноження мікроорганізмів відбувається в середовищах, багатих водою. Зменшення вологості призводить до переходу бактерій у фазу спокою, а потім і до відмирання. Висушування впливає згубно на більшість бактерій; хоч і не в однаковій мірі.

Спори бактерій дуже стійкі до висушування і можуть зберігатись у зовнішньому середовищі роками (збудник сибірки, правця, ботулізму тощо). Порівняно стійкі до висушування палички туберкульозу, актиноміцети, гриби, вірус віспи. Дуже чутливі до нього нейсерії, спірохети, віруси грипу, парагрипу і герпесу.

На практиці висушування використовують для консервування м'яса, риби, овочів, фруктів, лікувальних трав тощо.

Для зберігання виробничих і музейних культур мікробів застосовують метод ліофільного висушування (під вакуумом при низьких температурах).



**Тиск, ультразвук, механічний струс.** Дія високого атмосферного тиску навіть до десятків тисяч кПа не спричиняє суттєвого впливу на бактерії. Морські мікроорганізми живуть на глибині до 10 000 м. Ультразвук має згубний вплив на бактерії, що використовують для стерилізації харчових продуктів, виготовлення вакцин та інших бактерійних препаратів. Певні частоти ультразвуку викликають денатурацію ферментів, руйнування органел мікробних клітин. Негативно заряджені іони також згубно діють на мікроорганізми.

Сильну бактерицидну дію викликає і електрогідралічний ефект, що виникає в рідинах при потужних електричних розрядах. Це може бути використано для обробки кормових дріжджів з метою отримання кормового білка, для стерилізації соків, молока, знешкодження стічних вод, дегельмінтизації гною тощо.

Механічний струс також викликає загибель вегетативних форм мікробів.

**Іонізуюча радіація, УФО.** Багато видів випромінювання мають стерилізуючу або бактерицидну дію. Сонячне проміння згубно впливає на мікроорганізми, крім зелених і пурпурових сіркобактерій. Прямі сонячні промені вбивають більшість мікробів за кілька годин. Хвороботворні бактерії чутливіші до дії світла, ніж сапрофіти. .

Більш сильну бактерицидну дію мають ультрафіолетові промені. Їх використовують для стерилізації повітря операційних, пологових палат, боксів тощо.

Ультрафіолетові промені діють на генетичний матеріал клітин. Під їх впливом швидко інактивуються віруси. Джерелом цих променів є бактерицидно-увіолетові лампи (БУВ-15, БУВ-30).

Іонізуюче випромінювання (альфа-, бета-, гамма- і нейтронне) також має згубний вплив на бактерії та віруси. Ним стерилізують харчові продукти, обробляють біологічні препарати (вакцини, сироватки), планшети для імунологічних та серологічних досліджень.

**Дія хімічних речовин.** Хімічні речовини по-різному діють на бактерійні клітини. Вони можуть ушкоджувати клітинну стінку, підвищувати проникливість мембрани, блокувати біохімічні реакції, окислювати ферменти й метаболіти, розчиняти ліпідні сполуки, ушкоджувати генетичний матеріал тощо.

**Вплив біологічних факторів.** Серед біологічних факторів, які негативно впливають на мікроорганізми, важливе значення мають антагоністичні взаємовідносини між ними.

Одні види можуть пригнічувати життєдіяльність інших і навіть викликати їх загибель. Це явище дістало назву **мікробного антагонізму**.

Вважають, що тут має значення вичерпання запасу живильних речовин, зміна рН середовища, пригнічення ферментативних процесів, виділення мікробами - антагоністами сильнодіючих речовин типу антибіотиків, бактеріоцинів, ферментів, згубно діючих на інші види.

Так, наприклад, хвороботворні бактерії, потрапляючи в ґрунт, воду, не витримують довготривалої конкуренції з численними сапрофітами і через деякий час гинуть.

Серед представників нормальної мікрофлори людини є дуже багато видів-антагоністів, які захищають різні біотопи і весь організм в цілому від проникнення і шкідливої дії патогенних мікроорганізмів. Крім того, найпростіші пожирають мікробів як свою здобич.

Одним із сильнодіючих біологічних факторів на мікроорганізми є бактеріофаг, який відіграє велику роль в очищенні різних об'єктів зовнішнього середовища від багатьох видів бактерій.

### **Протимікробні заходи у лікуванні й профілактиці інфекційних хвороб**

Головний напрям у боротьбі з інфекційними хворобами - профілактичний. У зв'язку з цим в діяльності лікувальних закладів велике значення має попередження проникнення збудників захворювань в організм

людини або інші об'єкти. Це проводиться добре розробленими й апробованими методами мікробної деконтамінації.

Основні з них - **стерилізація, дезинфекція, антисептика і асептика.**

У здійсненні цих заходів важливе значення має робота середнього медичного персоналу.

**Стерилізація** (зnezараження, знепліднення) - повне знищення вегетативних і спорових форм усіх мікроорганізмів на певних предметах, матеріалах, живильних середовищах.

Поняття стерилізація ширше від поняття дезинфекція, оскільки при останній знищують тільки патогенних мікробів.

Розрізняють такі види стерилізації: **прожарювання в полум'ї пальника, кип'ятіння, текучою парою, парою під тиском в автоклаві, сухим жаром, пастеризація, тиндалізація, хімічна, холодна (механічна) стерилізація.**

У медичній практиці стерилізують інструменти, перев'язний і шовний матеріал, операційну білизну, лікарські препарати. У мікробіологічних лабораторіях - живильні середовища, пробірки, піпетки, колби, чашки Петрі тощо.

Стерилізація парою під тиском більш ефективна, ніж дія сухого жару. **Пастеризація** - звільнення харчових продуктів і напоїв від вегетативних форм патогенних і умовно-патогенних бактерій прогріванням їх при температурі 70-80 °С.

Об'єкти, які не витримують високих температур стерилізують багаторазово **текучою парою** в автоклаві (100 °С), або **нагріванням на водяній бані** при 60-80 °С. Хімічну стерилізацію здійснюють у закритих контейнерах парами формальдегіду, хлороформу, Р-пропіолактону.

Для стерилізації предметів одноразового користування при їх виробництві на заводах використовують гамма-опромінення.

**Дезинфекція** - сукупність фізичних, хімічних і механічних способів знищення вегетативних і спорових форм патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Її мета - попередити передачу збудників від хворої до здорової людини через різноманітні об'єкти зовнішнього середовища.

Для стерилізації частіше використовують дію високих температур, для дезинфекції - хімічні речовини з широким спектром протимікробної дії (дезинфектанти), часто в комбінації з поверхнево-активними речовинами (детергентами) та діянням високої температури (наприклад, у пароформалінових камерах). У практиці боротьби з інфекційними хворобами масштаби використання методів дезинфекції у багато разів переважають такі ж щодо стерилізації.

Адже технічно стерилізація може бути застосована лише до обмеженої кількості об'єктів, в той час як більшість тих, з якими стикався хворий чи носій (помешкання, меблі, одяг, предмети побутового та виробничого оточення) не можуть бути простерилізовані.

Розрізняють два види дезинфекції - *профілактичну* і в *епідемічному вогнищі*. Остання в свою чергу поділяється на поточну й заключну. Одночасно з дезинфекцією в епідемічних вогнищах проводять також знищення комах - переносників збудників (дезинсекція) і ліквідацію гризунів як можливого резервуару інфекції (дератизація).

**Антисептика** - комплекс лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на знищення або пригнічення росту мікробів у рані, на поверхні шкіри чи слизових оболонок.

Великий український хірург М.І. Пирогов вперше використав антисептичні засоби (хлорну воду, срібло, йод) для протигнильного лікування ран (1865) і висловив геніальну на той час думку, що нагноєння ран викликають "госпітальні міазми" (живі збудники).

Згодом англійський хірург Джозеф Лістер (1867) описав основні принципи попередження інфікування ран, відкривши нову "антисептичну" еру в хірургії. В якості антисептика він використовував розчин карболової

кислоти. Антисептика відіграла позитивну роль, знизивши кількість ускладнень в операційних ранах, але хімічні препарати, знищуючи ранову мікрофлору, шкідливо впливали на живі тканини.

**Асептика** - система профілактичних заходів, спрямованих проти проникнення мікробів у рану, тканини, органи, порожнини хворого (пораненого). Запровадив і ввів її в хірургію німецький вчений Е. Бергман (1897).

Нині в практичній медицині асептичні заходи запроваджують при хірургічних операціях, пологах, ендоскопічних процедурах, ін'єкційних введеннях ліків тощо. Інструменти, перев'язний і шовний матеріал, халати, шапочки, маски, рукавички, дренажні протези, розчини ліків стерилізують. Руки хірургів, акушерів, операційне поле ретельно обробляють антисептиками за допомогою спеціальних методів. Повітря операційних, маніпуляційних кабінетів, пологових залів і все, що в них знаходиться, дезинфікують. Будь-які оперативні втручання виконують в умовах бездоганної чистоти.

Правила асептики мають важливе значення і в мікробіологічній практиці. Медичним сестрам, які забирають матеріал для лабораторних досліджень, слід суворо їх дотримуватись, щоб у досліджуваний матеріал не потрапили сторонні мікроорганізми.

При доставці матеріалу в баклабораторію важливо не допускати його мікробної контамінації.

Усім працівникам лабораторій, в першу чергу лаборантам, необхідно попереджувати забруднення чистих мікробних культур, живильних середовищ, одягу, робочих місць, меблів. Усі посіви і пересіви треба проводити в зоні газового (спиртового) пальника.

Ризик мікробної контамінації різних об'єктів значно зменшується при систематичній дезинфекції стін, підлоги та робочого місця в боксі, обробці рук працюючих антисептиками.

## **Матеріали до практичних занять**

Екологія мікроорганізмів з кожним роком набуває все більшого значення. Відповідно зростає і кількість лабораторних досліджень по виявленню бактерій у різних об'єктах зовнішнього середовища, організмі людей і тварин.

Значний інтерес має вивчення впливу фізичних, хімічних і біологічних факторів на патогенні й умовно-патогенні мікроби.

### ***1. Санітарно-бактеріологічне дослідження води й повітря***

Лабораторне дослідження води включає визначення загального мікробного числа в 1 мл, кількості бактерій групи кишкових паличок віл (індекс БГКП), числа термостабільних кишкових паличок (фекальних коліформ - індекс ФК) в 100 мл води.

При несприятливих епідеміологічних ситуаціях (спалахи холери, тифу, дизентерії, гепатиту тощо) у воді виявляють збудників захворювань або їх токсини. За спеціальними методиками визначають також число коліфагів в 1 л води.

Дуже важливим і відповідальним є взяття проб води. Як правило, це проводить санітарний лікар або його помічник. Воду беруть в об'ємі 0,5 л у стерильний посуд. При взятті проб з водобірних кранів їх попередньо обпалюють у полум'ї ватного тампона, змоченого спиртом, потім 10 хв випускають воду й лише тоді набирають 0,5 л.

У відкритих водоймах проби беруть за допомогою спеціальних приладів - батометрів. Взяті проби доставляють у лабораторію якомога швидше, не пізніше 2 год після забору.

Визначення ЗМЧ проводять шляхом посіву води в розплавленій і остуджений до 45 °С МПА в стерильній чашці Петрі. Чисту воду сіють в об'ємі 1 мл, при підозрі на забрудненість її розводять стерильною водою від 1:10 до 1:1000 і сіють не менше двох розведень по 1 мл. Спочатку в чашку

вносять краплями воду, потім заливають її розтопленим агаром і швидко перемішують, похитуючи чашку. Коли агар застигне, посіви ставлять у термостат при 37 °С.

Через добу підраховують кількість вирослих колоній, що вкаже на ЗМЧ. Питна водопровідна вода повинна мати мікробне число не більше 100, кринична - не більше 1000.

Визначення кількості БГКП проводять за методом мембранних фільтрів або за методом бродильних проб. Сутність першого полягає в концентруванні бактерій з певного об'єму води (300, 500 мл) на мембранному фільтрі, вирощуванні їх на середовищі Ендо, диференціації вирослих колоній і визначенні індексу БГКП. Мембранні фільтри виготовляють з нітроцелюлозних плівок із різними розмірами пор. При дослідженні води використовують фільтри № 3. Перед вживанням їх кип'ятять 10-15 хв у дистильованій воді, вміщують у фільтр Зейтца блискучою поверхнею донизу. Після фільтрування води стерильним пінцетом фільтр накладають на середовище Ендо так, щоб поверхня з осілими бактеріями була догори. На одну чашку вміщують 4 фільтри.

Через 18-20 год вирощування в термостаті при 37 °С на мембрані з'являються типові колонії кишкових паличок червоного кольору.

З них виготовляють мазки і мікроскопують.

При виявленні грамнегативних паличок решту колонії пересівають у пробірку з глюкозо-пептонним бульйоном та інкубують при 43 °С. При утворенні кислоти і газу наявність кишкових паличок у воді доведена. Знаючи кількість профільтрованої води і число червоних колоній на фільтрі, визначають індекс БГКП. Наприклад, після фільтрування 0,5 л води виросла 1 колонія кишкової палички. Отже, індекс БГКП дорівнює 2.

Сутність бродильного методу полягає в посіві певної кількості води на рідке глюкозо-пептогенне середовище, вирощуванні при 37 °С з наступним висівом на агар Ендо і диференціації вирослих колоній.

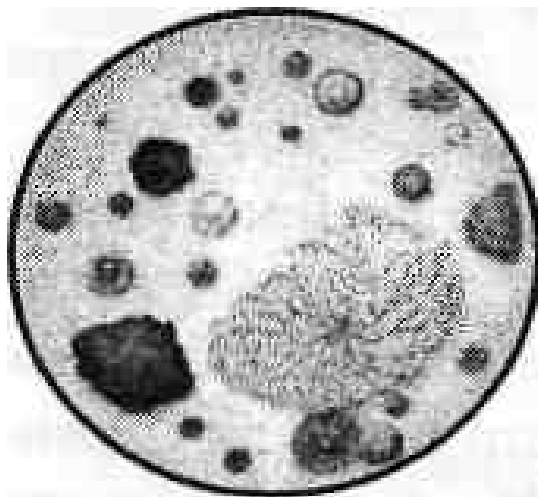
Індекс БГКП досліджуваної води визначають за спеціальними

таблицями. Бродильний метод складніший, ніж метод мембранних фільтрів, вимагає більше живильних середовищ, посуду тощо.

Санітарно-бактеріологічне дослідження повітря проводять у плановому порядку в дитячих закладах, лікарняних палатах, операційних, пологових залах тощо.

При цьому визначають загальну кількість бактерій в  $1 \text{ м}^3$  повітря і наявність санітарно-показових мікроорганізмів (гемолітичних, стрептококів і золотистих стафілококів). Проби повітря відбирають седиментаційним або аспіраційним методами.

Седиментаційний метод Коха використовують для визначення мікрофлори повітря закритих приміщень. Для цього чашки Петрі з МПА або спеціальними середовищами для стафіло- і стрептококів залишають відкритими у місцях взяття проб.



#### **Колонії на МПА після посіву мікрофлори повітря седиментаційним методом**

Строки експозиції залежать від гаданого мікробного забруднення повітря: при великій кількості бактерій чашки відкривають на 5-10 хв, при малій - на 20-40 хв.

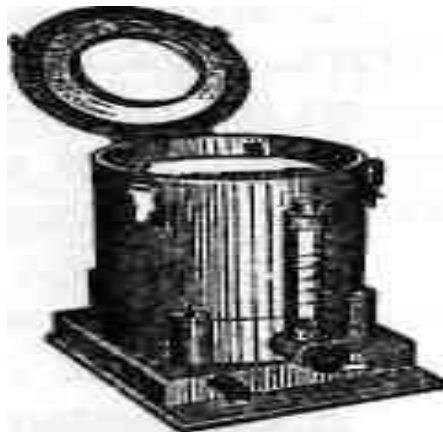
Після експозиції чашки закривають і вміщують у термостат при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  на 18 год, а потім ще добу витримують при кімнатній температурі. Підраховують кількість колоній і визначають число бактерій в  $1 \text{ м}^3$  повітря.



За даними В.Л. Омелянського, на площу в  $100 \text{ см}^2$  за 5 хв осідає стільки бактерій, скільки їх міститься в 10 л повітря.

Наприклад, на чашці з агаром при 5 хв експозиції виросла 21 колонія. Площа стандартної чашки Петрі складає біля  $70 \text{ см}^2$ . Отже, на  $100 \text{ см}^2$  виросло б  $21 \cdot 100 : 70 = 30$  колоній, тобто та кількість бактерій, яка міститься в 10 л повітря. Отже, в  $1 \text{ м}^3$  їх буде  $30 \cdot 1000 : 10 = 3000$ .

Аспіраційний метод ґрунтується на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища і прилипанні до нього бактерій. Дослідження проводять за допомогою апарата Кротова.



**Апарат Кротова**

Повітря в кількості 100 - 250 л пропускають зі швидкістю 25 л/хв через клиноподібну щілину над чашкою з живильним середовищем.

Електромотор приладу обертає чашку з постійною швидкістю, що рівномірно розподіляє втягнуті через щілину бактерії на всій площі тягом доби і ще 24 год при кімнатній температурі, підраховують кількість колоній.

Знаючи об'єм пропущеного через апарат повітря і число колоній, легко вираховують кількість мікробів в  $1 \text{ м}^3$ .

Видову характеристику мікрофлори визначають після макро- і мікроскопічного дослідження колоній, виділення чистих культур і їх

ідентифікації звичайними методами.

Державних стандартів для оцінки бактеріального забруднення повітря ще не розроблено. Прийняті лише тимчасові допустимі норми кількості санітарно-показових бактерій в 1 м<sup>3</sup> повітря лікарняних приміщень.

Мікрофлору ґрунту в медичних бактеріологічних лабораторіях досліджують рідко.

### **Практична робота**

- 1. Посіяти 1 мл водопровідної води для визначення ЗМЧ.*
- 2. Дослідити мікрофлору повітря седиментаційним методом.*
- 3. Підрахувати кількість колоній на демонстраційних чашках і визначити число бактерій в 1 м<sup>3</sup> повітря.*
- 4. Ознайомитись із апаратом Кротова та методикою забору проб повітря за його допомогою.*

### ***2. Дослідження мікрофлори людини***

Мікрофлору різних біотопів досліджують при діагностиці ендогенних інфекцій, бактеріоносійства, дисбактеріозів, у космонавтів, Для членів екіпажу підводних човнів та полярних експедицій для уникнення бактерійної несумісності.

Бактеріоскопію і посіви найчастіше роблять із слизових оболонок рото- і носоглотки, зубного нальоту, секрету піхви, змивів із рук і шкіри, сечі та випорожнень.

Секрет слизових оболонок, взятий стерильним ватним тампоном, сіють ним же на кров'яний або цукровий агар в чашках Петрі штрихами на невеликій ділянці середовища, а потім розсівають по поверхні петлею для отримання ізольованих колоній. Чашки інкубують при 37 °С, виділяють та ідентифікують чисті культури.

Із зубного нальоту, карієсних зубів маленькими тампонами роблять мазки, забарвлюють за Грамом і досліджують мікроскопічно. Проводять також посіви на спеціальні середовища.

Для визначення ступенів чистоти вагінального секрету його беруть стерильними ватними тампонами, виготовляють мазки, забарвлюють і розглядають під мікроскопом.

Посіви змивів із рук і шкіри проводять стерильним ватним тампоном, змоченим 0,85 % розчином хлориду натрію, у глюкозо-пептонне середовище за допомогою стерильного пінцета. Спочатку тампоном протирають шкіру долоні, тильного боку кисті, між пальцями, нігтьове ложе й під нігтями. Тампон опускають у назване середовище для виявлення кишечних бактерій. Звідси петлею роблять висів на МПА для виділення коків, грибів та інших мікроорганізмів.

Далі виділяють чисті культури й визначають види, як і при дослідженні води.

Сечу центрифугують, із осаду виготовляють мазки і роблять посіви на живильні середовища.

При діагностиці дисбактеріозу кишечника досліджують кал. Його забирають у заздалегідь зважені флакончики у кількості 0,5-1,0 г без консерванта і доставляють в лабораторію не пізніше 2 год після забору.

Визначену наважку випорожнень розводять спеціальним буферним розчином від  $10^1$  до  $10^{10}$ . Із розведень, визначених інструкцією для кожної групи бактерій, роблять висіви на спеціальні середовища для виділення і встановлення титру біфідо- і лактобактерій, кишкових паличок, стафілококів, умовно-патогенних ентеробактерій (протей, клебсієли, ентеробактер, цитробактер тощо), грибів роду *Candida*.

Після виділення вказаних видів і груп мікроорганізмів та визначення їх кількості в 1 г фекалій або титру оцінюють відсутність чи наявність дисбактеріозу та його ступінь і видають результат.

## Результат бактеріологічного дослідження фекалій

Дата ----- Аналіз №-----

Прізвище, ім'я, по-батькові-----

Аналіз первинний, повторний (підкреслити)

Установа \_\_\_\_\_

№	Мікрофлора	Норма	У хворого
1.	Патогенні ентеробактерії	0	
2.	Біфідобактерії	$10^8-10^{10}/г$	
3.	Молочнокислі бактерії	$10^8-10^m/г$	
4.	Кишкові палички	$10^6-4-10^8/г$	
5.	Гемолітичні кишкові палички	0	
6.	Стафілококи	до $10^4/г$	
7.	Гемолітичні стафілококи	0	
8.	Умовно-патогенні ентеробактерії	до $10^5/г$	
9.	Гриби роду <i>Candida</i>	до $10^4/г$	

### Практична робота:

1. Визначити ЗМЧ води за результатами посівів із попереднього заняття.
2. Виготовити мазок із зубного нальоту, зафарбувати за Грамом, розглянути під мікроскопом і замалювати.
3. Посіяти змив із шкіри рук на глюкозо-пептонне середовище.
4. Визначити ступінь чистоти вагінального секрету в готових мазках, взятих у жіночій консультації.

### **3. Основні методи стерилізації**

У практичній роботі медичної сестри, акушерки, фельдшера чільне місце займають різні види стерилізації та дезинфекції. Для цього вони повинні вміти відповідно підготувати інструменти, посуд, пробірки, піпетки, перев'язний матеріал тощо та знати режими різних видів стерилізації.

Інструменти перед стерилізацією обробляють в такій послідовності. Спочатку їх прополоскують у проточній воді, потім замочують у миючому розчині 15 хв, миють у тому ж розчині 0,5-1 хв, прополоскують проточною і дистильованою водою, висушують у сухожаровій шафі при 80-85°C до повного зникнення вологи.

Пробірки, флакони, колби закривають ватними пробками. Пробірки загортають у папір по 25-30 шт., а чашки Петрі по 4-5 шт., або вміщують у стерилізаційні коробки (бікси).

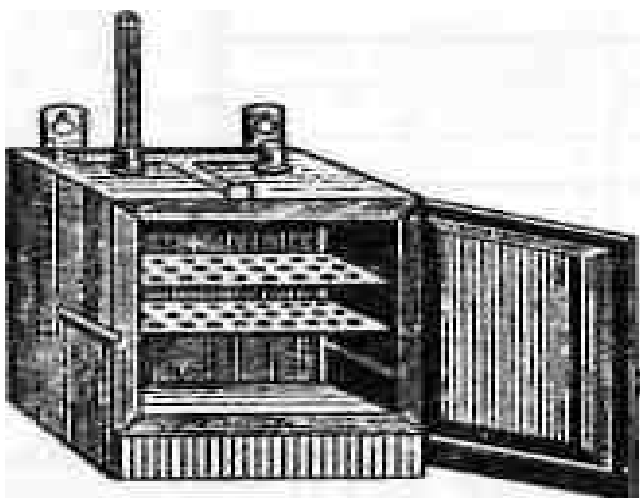
Пастерівські й градуйовані піпетки з широкого кінця затикають ватою, обгортають папером або вміщують у картонні чи металеві пенали по 10-15 шт. Живильні середовища в колбах, флаконах, пробірках також закривають пробками.

У лабораторній практиці використовують такі види стерилізації: а) високою температурою; б) механічна (холодна); в) хімічними речовинами і газами.

Існує багато способів стерилізації з допомогою високої температури.

**1. Прожарювання в полум'ї пальника** - швидкий і абсолютно надійний спосіб. Ним стерилізують бактерійні петлі, пінцети, предметні й покрівні скельця.

**2. Стерилізацію сухим жаром** в сухожаровій шафі проводять при 160 °С протягом 150 хв, або при 180 °С - 60 хв після досягнення заданої температури. Стерилізують переважно скляний посуд (рис. 8).



**Сухожарова шафа**

**3. Кип'ятіння** протягом 40 хв у спеціальних стерилізаторах використовують для обробки хірургічних інструментів, шприців, голок, гумових трубок. Для підвищення температури кипіння й усунення жорсткості води додають 1 % бікарбонату натрію.

Цей метод не забезпечує повної стерилізації оскільки спори деяких видів бацил і клостридій витримують кип'ятіння протягом декількох годин.

**4. Стерилізація паром під тиском** - найбільш надійний метод повного знищення бактерій та їх спор. Вона досягається дією пари, температура якої під тиском вища, ніж при кип'ятінні.

Таку стерилізацію проводять в автоклаві. Це двостінний міцний металевий котел циліндричної форми з кришкою, яка герметично закривається. Воду в котел заливають через спеціальну воронку й нагрівають за допомогою електричного струму.

Сучасні автоклави мають манометри і автоматичні регулятори включення і відключення струму, тримаючи заданий тиск, а отже й задану температуру всередині автоклава (рис. 9).



**Автоклав**

Робота з ним вимагає суворого дотримання правил безпеки, які викладені в інструкції до кожного автоклава.

У автоклаві при 120 °С протягом 20 хв стерилізують прості живильні середовища (МПБ, МПА), ізотонічні розчини, білизну, перев'язний матеріал, а при 134 °С - знешкоджують заразні матеріали, відпрацьовані культури бактерій протягом 40 хв.

Середовища з вуглеводами не витримують такої обробки, так як вони карамелізуються, у зв'язку з чим їх стерилізують текучою парою. Для перевірки надійності роботи автоклавів і ефективності стерилізації застосовують хімічні й біологічні контролю. Є хімічні речовини, які мають певну температуру плавлення: сірка - 119 °С, бензойна кислота - 120-122 °С, бетанафтол - 123°С, манноза і сечовина -132-133°С. Саме при таких температурах найчастіше здійснюють стерилізацію.

Названі хімічні речовини вміщують у скляні трубки, додають невелику кількість анілінового барвника, запаюють і кладуть між об'єктами, що стерилізуються. Рівномірне забарвлення препарату в трубці свідчить про належну температуру в автоклаві, а отже й надійність стерилізації.

При біологічному контролі в автоклав вміщують пробірку з споровою

культурою. Якщо після стерилізації висів із пробірки не дав росту, це свідчить про загибель спор.

Є відповідні контролі і для перевірки сухожарової стерилізації.

**5. Стерилізація текучою парою** (100°C) проводиться в автоклаві з незагвинченою кришкою.

При нагріванні пара проникає між вкладеними об'єктами й стерилізує їх. Таким способом обробляють середовища з вуглеводами. Оскільки одноразова дія пари не вбиває спори, вживають роздрібну стерилізацію - 3 дні підряд по 30 хв.

Ті спори, які не загинули при першому нагріванні, проростають до наступного дня у вегетативні клітини й гинуть при другій і третій обробці.

Для тих речовин, які не витримують 100°C (білкові рідини, вітаміни, деякі ліки), вживають так звану тиндалізацію - стерилізацію на водяній бані при 58-60 °C протягом години 5-6 днів підряд.

**6. Пастеризація** - термічна обробка молока, пива, вина, різних соків при 70°C протягом 30 хв або при 80°C - 5-10 хв. Цей спосіб вперше запропонував Пастер для знищення безспорних форм мікробів, переважно патогенних і умовно-патогенних видів.

Спори при цьому залишаються живими. Пастеризовані продукти зберігаються на холоді.

**7. Згортання (уцільнення)** сироватки і яєчних середовищ із одночасною їх стерилізацією проводять у спеціальних згортувачах Коха з електричним підігрівом.

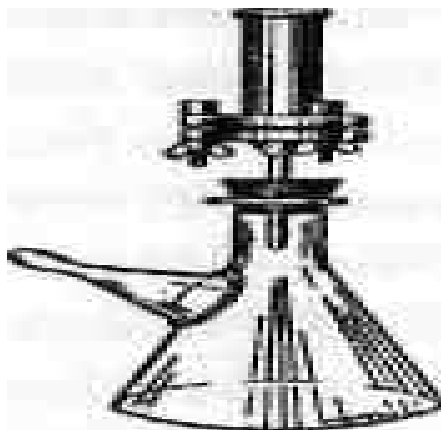
Асептично приготовлені сироватки та яєчні середовища у нахиленому положенні прогрівають однократно при 80-90 °C одну годину.

При підозрінні на мікробну контамінацію їх прогрівають при тій же температурі три дні підряд.

**8. Механічна (холодна) стерилізація** проводиться за допомогою фільтрування через дрібнопористі фільтри. Її використовують для відокремлення бактерій від токсинів, вірусів, бактеріографів.



У лабораторіях найчастіше використовують фільтри Зейтца (рис. 10).



**Фільтр металевого корпусу апарата Зейтца.**

Фільтрування проводять через азбестові пластинки, які вміщують між циліндричною й опорною частиною. Обидві частини Зейтца з'єднують гвинтами. Зібраний фільтр вставляють у гумовий корок колби з боковим відростком. Повністю змонтований фільтр загортають у папір і стерилізують в автоклаві. Рідину для фільтрування наливають у металевий циліндр, з'єднують боковий відросток колби з розріджуваним насосом, щоб створити вакуум у колбі й прискорити фільтрування.

Фільтрат з колби набирають стерильною піпеткою і досліджують.

Хімічним способом стерилізують вироби з гумових і полімерних матеріалів. Для цього використовують 6 % розчин перекису водню, в який занурюють вироби на 6 год при 18 °С і на 3 год при 50 °С. Можна застосувати розчин дексона з експозицією 45 хв при 18 °С. Після закінчення стерилізації вироби двічі занурюють у стерильну дистильовану воду, кожного разу змінюючи її, переносять корнцангом у стерильний бікс.

Газовий метод стерилізації парами формальдегіду, хлороформу, р-пропілактону, окисом етилену використовують для знезараження ендоскопічних інструментів, кетгута, апаратів для штучного кровообігу, пластмасових виробів.

Інструменти для ендоскопії й автоматичні піпетки можна також

стерилізувати спиртом.

### **Практична робота**

- 1. Виготовити ватні пробки, підготувати пробірки, флакони, колби, градуйовані, пастерівські піпетки, чашки Петрі для стерилізації в сухожаровій шафі.*
- 2. Ознайомитись із приладами для стерилізації та правилами роботи з ними.*
- 3. Врахувати результати посівів змиву з рук із попереднього заняття.*

### **Питання для самоконтролю**

- 1. Охарактеризувати такі поняття екології мікроорганізмів: популяція, біотоп, мікробіоценоз.*
- 2. Які є види симбіозів?*
- 3. Яка роль мікроорганізмів у кругообігу речовин у природі?*
- 4. Назвати санітарно-показові бактерії ґрунту, води, повітря.*
- 5. Мікрофлора води, її практичне значення. Які мікробіологічні показники безпеки питної води?*
- 6. Які захворювання передаються повітряно-краплинним способом?*
- 7. Назвати основних представників мікрофлори людини в різних біотопах. Яке значення має нормальна мікрофлора для життя людини?*
- 8. Що таке дисбактеріоз? Методи його виявлення, лікування та профілактики.*
- 9. Охарактеризуйте вплив фізичних, хімічних, біологічних факторів на мікрорганізми.*
- 10. Що таке стерилізація, дезінфекція, дезінсекція, дератизація, антисептика і асептика? Які є види стерилізації?*

### **Ситуаційні задачі**

- 1. Через стерильний мембранний фільтр пропущено 1500 мл водопровідної води. На ньому виросло 5 колоній E. coli. Зробіть висновок про якість води.*
- 2. У повітрі операційної на початку робочого дня загальна кількість*

мікробів в  $1 \text{ м}^3$  повітря становила 750, гемолітичні стрептококи та золотисті стафілококи виявлялись в 100 л повітря. Оцінити санітарний стан повітря операційної.

3. У хворого при бактеріологічному дослідженні випорожнень виявлено: біфідобактерії –  $10^6/\text{г}$ , молочнокислі бактерії –  $10^4/\text{г}$ , кишкові палички –  $10^4/\text{г}$ , гемолітичні кишкові палички –  $10^2/\text{г}$ , стафілококи –  $10^6/\text{г}$ , умовно-патогенні ентеробактерії –  $10^5/\text{г}$ , гриби роду *Candida* –  $10^5/\text{г}$ . Зробіть висновок про стан мікробіоценозу кишечника.

4. Запропонуйте метод стерилізації середовищ, які містять речовини, що не витримують високих температур.

### **Відповіді**

1. Вода якісна, так як колі-титр дорівнює 300.
2. Стан повітря в операційній незадовільний.
3. У хворого спостерігається дисбактеріоз.