

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И ЗООТЕХНИИ

Т.В. Федоренко, Н.И. Землянская

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебно-методическое пособие
по изучению дисциплины

Часть 1

*для студентов 4 курса очной формы обучения
по направлению подготовки бакалавров
36.03.01 - Ветеринарно-санитарная экспертиза*

Благовещенск
Издательство Дальневосточного ГАУ
2015

УДК 576.8(075.8)

Рецензент – Фёдорова А.О., канд.биол.наук, доцент

Составители:

Федоренко Т.В., Землянская Н.И.

Федоренко Т.В. Санитарная микробиология : учебно-методическое пособие / Т.В. Федоренко, Н.И. Землянская. – В 2 ч., Ч 1. – Благовещенск: Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2016. – 53 с.

В учебно-методическом пособии изложены общие вопросы санитарной микробиологии (принципы и методы санитарно-микробиологических исследований, учение о санитарно-показательных микроорганизмах), а также специальные, касающиеся санитарно-микробиологической оценки качества объектов окружающей среды (воды, воздуха, почвы).

Предназначено для студентов 4 курса очной формы обучения по направлению подготовки бакалавров 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

Рекомендовано к изданию методическим советом факультета ветеринарной медицины и зоотехнии Дальневосточного государственного аграрного университета (Протокол №2 от 23 октября 2015 года).

Издательство Дальневосточного ГАУ
2015

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ.....	5
Глава 1 ВВЕДЕНИЕ В САНИТАРНУЮ МИКРОБИОЛОГИЮ.....	5
1.1 Предмет и задачи санитарной микробиологии	5
1.2 Экология микроорганизмов.....	6
Глава 2 САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ	10
2.1 Учение о санитарно-показательных микроорганизмах	10
2.2 Принципы и методы санитарно-микробиологических исследований.....	12
Глава 3 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДУХА	16
Глава 4 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОДЫ	19
Глава 5 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОЧВЫ.....	24
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ	29
<i>Лабораторная работа №1</i> Требования к микробиологическим лабораториям. Правила работы, поведения и техника безопасности в микробиологической лаборатории.	29
<i>Лабораторная работа №2</i> Санитарно-микробиологическое исследование воздуха закрытых помещений	31
<i>Лабораторная работа №3</i> Санитарно-микробиологическое исследование воды.....	33
<i>Лабораторная работа №4</i> Санитарно-микробиологическое исследование почвы.	36
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	39
ПРИЛОЖЕНИЯ	42
Приложение А Устройства для отбора проб воздуха, воды, почвы.....	42
Приложение Б Перечень нормативно-технической документации (НТД) по санитарно-микробиологическому контролю воды	46
Приложение В Микробиологические нормативы санитарного состояния воздуха, воды, почвы.....	47
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	48
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	49

ВВЕДЕНИЕ

Санитарная микробиология как наука базируется на основных положениях общей микробиологии, на достижениях медицинской, ветеринарной, технической и сельскохозяйственной микробиологии, а также эпидемиологии, эпизоотологии, гигиены, зоогигиены и иммунологии.

Следует отметить, что в санитарной, медицинской и ветеринарной микробиологии объект изучения один и тот же. Различие же состоит в подходе к его изучению, так как жизнедеятельность патогенных микробов в организме хозяина резко отличается от их существования в окружающей среде, где в сложных условиях многообразных биоценозов постоянно изменяются физические и химические воздействия на них.

Особенностью санитарно-микробиологической оценки внешней среды является одновременный учет как количественных показателей микрофлоры, так и показателей, характеризующих ее состояние, тогда как медицинская и ветеринарная микробиология при диагностическом исследовании материала, получаемого от людей и животных, обычно ограничивается обнаружением возбудителя в тканях организма или в выделениях больного.

Цель: Сформировать у студентов общее представление о микрофлоре объектов окружающей среды, источниках загрязнения; обучить различным методам бактериологического исследования; проводить анализ полученных данных.

Задачи: Изучить объект санитарной микробиологии, подходы к его изучению в условиях многообразных биоценозов.

Изучить современные методы исследования объектов внешней среды: воды, почвы, воздуха, регламентированные нормативными документами.

Уметь проводить анализ количественных показателей микрофлоры и показателей, характеризующих ее состояние.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

ГЛАВА 1 ВВЕДЕНИЕ В САНИТАРНУЮ МИКРОБИОЛОГИЮ

1.1 Предмет и задачи санитарной микробиологии

Санитарная микробиология предусматривает успешное решение задач, связанных с повышением качества и биологической ценности продуктов питания, необходима система мероприятий, улучшающая санитарно-гигиеническое состояние производства, а также условия окружающей среды.

Задачи санитарной микробиологии могут быть сформулированы следующим образом:

- разработка и оценка методов обнаружения патогенных микроорганизмов в мясных и молочных продуктах;
- разработка норм предельно допустимого бактериального обсеменения мясных и молочных продуктов;
- санитарно-микробиологический контроль качества сырья, полуфабрикатов, готовой продукции, а также их производства на всех этапах технологического процесса.

Знание основных положений санитарной микробиологии необходимо каждому ветеринарно-санитарному эксперту для правильной ориентации во всех санитарно-гигиенических вопросах, в частности при санитарной оценке почвы, воды, воздуха, пищевых продуктов; обследовании случаев пищевых отравлений, их профилактики; организации и гигиенической оценке очистки и обезвреживания различных объектов; контроле личной гигиены работников пищевых предприятий и др.

Ветеринарно-санитарный эксперт должен уметь правильно организовать санитарно-микробиологические исследования объекта, хорошо представлять возможность своевременного проведения мероприятий, исключающих отрицательное влияние его на организм человека или животных.

В связи с этим ветеринарно-санитарный эксперт должен знать биологические особенности микроорганизмов, обуславливающих порчу пищевых продуктов, методы микробиологических и вирусологических исследований, используемых для оценки объектов внешней среды (почвы, воды, воздуха), с учетом достижений физики, химии, генетики, биологии и других научных дисциплин, а также методы оценки путей и степени инфицирования животными

и человеком окружающей среды патогенными бактериями и вирусами; нормальный взаимообмен микрофлорой между животными, людьми и окружающей средой; производственные и бытовые процессы, обуславливающие нарушение естественного самоочищения и обеззараживания внешней среды.

1.2 Экология микроорганизмов

Одной из задач современной санитарной микробиологии является изучение экологии микроорганизмов и связанной с ней проблемы охраны окружающей среды. Слово «экология» образовано от *греч.* oikos, что означает дом, родина и logos - учение.

Под экологией, т.е. экологической системой, подразумевается совместное функционирование биоценозов («биотического» сообщества, включающего все популяции, занимающие данную изучаемую площадь) и неживой окружающей среды (биотоп). Термин «экосистема» используют в основном английские ученые, у нас был принят термин «биогеоценоз», включающий понятие биоценоза и биотопа. Изучение отдельных биогеоценозов необходимо, например, при выявлении природных очагов болезней.

С экологических позиций следует рассматривать сложный процесс паразитоценоза – взаимоотношения между различными микроорганизмами, обитающими в организме человека и животных, а также между микроорганизмами и макроорганизмами. Становится очевидным, что экологические принципы, которыми руководствуются ученые при изучении животных и растений, в равной степени справедливы для мира микроорганизмов и простейших. С этой точки зрения микробные сообщества следует рассматривать как комплекс видов, находящихся вместе не случайно, а в результате постоянного действия каких-либо детерминирующих факторов.

Микроорганизмы являются частью биоценоза всех экологических процессов, которые наблюдаются в естественных условиях. В процессе эволюционного развития, адаптации к существованию между определенными видами и группами микроорганизмов и других форм жизни установились сложные взаимоотношения. В естественных условиях обитания (в почве, воде, организме животных, в погибших растениях) чистые культуры микробов, как правило, не встречаются, так как они находятся в тесной ассоциации в сложных сообществах – микробиоценозах, состоящих из разнообразных видов бактерий, грибов, актиномицетов, простейших и т. д. Биологи-

ческое явление, заключающееся в совместном существовании разнообразных видов в едином процессе, независимо от того, приносит это пользу или вред друг другу, получило название «**симбиоз**».

Формы и исход симбиотических взаимоотношений, определившихся в результате длительного эволюционного развития, могут подвергаться изменениям в силу смены условий окружающей среды. Иногда трудно определить, пользу или вред приносит тот или иной симбиоз.

В настоящее время установлены следующие типы взаимоотношений между микроорганизмами.

Нейтрализм (от *лат.* *neutralis* - не принадлежащий ни тому, ни другому) - взаимоотношения, при которых микроорганизмы, развиваясь в составе одного ценоза, не оказывают друг на друга непосредственного влияния. Косвенная взаимозависимость организмов при этом неизбежна, поскольку они являются элементами одного сообщества.

Конкуренция (от *лат.* *concurrere* - сталкиваться) - взаимоотношения между организмами одного или разных видов, соревнующихся за одни и те же ресурсы внешней среды при недостатке последних.

Симбиоз (от *греч.* *symbiosis* - совместная жизнь) - различные формы совместного существования различных организмов, составляющих симбиотическую систему. В этих системах один из партнеров или оба в определенной степени возлагают на другого задачу регуляции своих отношений с внешней средой, в результате чего приобретают возможность выигрыша в борьбе за существование.

Выделяют три формы взаимоотношений между партнерами (симбионтами): мутуализм, комменсализм и паразитизм.

Мутуализм (от *лат.* *mutuus* - взаимный) - форма симбиоза, при которой отношения между партнерами характеризуются взаимовыгодностью и ни один из них не может существовать без другого.

Комменсализм (от *лат.* *com* - с, вместе и *mensa* - стол, трапеза), т. е. сотрапезничество, форма симбиоза, при которой один из партнеров (комменсал) возлагает на другого (хозяин) регуляцию своих отношений с внешней средой. Основой для комменсальных отношений могут быть общее пространство, субстрат, пища.

Паразитизм (от *греч.* *parasitos* - нахлебник) - форма антагонистических взаимоотношений двух различных организмов, при которой один из них (паразит) использует другого (хозяина) в каче-

стве среды обитания. Однако даже в самых стабильных системах «паразит-хозяин» отношения между партнерами построены по принципу неустойчивого равновесия, нарушения которого могут привести к распаду системы и гибели одного или обоих партнеров. Паразиты принимают участие в регуляции численности популяции хозяев, а иногда определяют направленность микроэволюционных процессов.

Хищничество - такое отношение двух групп организмов, при котором одна использует другую в пищу. Примером может служить род *Clostridium* (патогенные виды), который сначала своими токсинами приводит к гибели животного, а затем использует труп в качестве источника питания.

Антагонизм (от греч. antagonisma - спор, борьба) - термин, применяемый к таким взаимоотношениям между микроорганизмами, когда один вид задерживает или полностью подавляет рост другого.

Нарушение экологического баланса между микро- и макроорганизмами, а также внутри микробных ассоциаций приводит к селекции патогенных видов и штаммов, а также способствует более интенсивному генетическому обмену у бактерий (особенно плазмид) в естественных условиях, а следовательно, и к эволюционным сдвигам.

Биоценоз микроорганизмов - явление биологическое и характеризуется особенностями развития микробов в период их пребывания в окружающей среде и в организме хозяина. Примерами нарушения экологического баланса в мире микроорганизмов могут служить проблемы сальмонеллезных инфекций, последствия широкого использования антибиотиков и применения пестицидов.

В настоящее время можно считать доказанной потенциальную опасность для человека сальмонелл всех сероваров. Сейчас, когда проблема загрязнения окружающей среды особенно актуальна, борьба с микробным загрязнением воды сальмонеллами должна стать одной из важнейших задач микробиологов, эпидемиологов и гигиенистов.

Пример нарушения веками сложившихся взаимоотношений системы «человек–микроорганизмы»: на протяжении всей истории иммунная система человека не подвергалась столь мощным экологическим стрессам как в наше время - в течение последнего десятилетия ежегодно в мире иммунизируется до 1 млрд. человек, многие используют диагностические препараты, которые приводят к

аллергизации населения. Таким образом и этот экологический баланс между человеком и окружающей его средой серьезно нарушен. Нарушение экологических взаимоотношений связано так же с загрязнением окружающей среды химическими препаратами, используемыми, в частности, в сельском хозяйстве для борьбы с грызунами и насекомыми. Они действуют на экологию почвенных микроорганизмов, обуславливающих круговорот веществ в природе, оказывают значительное влияние на биологические свойства возбудителей зооантропонозных инфекций, изменяя их морфологию и антигенную структуру.

Заботясь об охране окружающей среды, санитарные микробиологи совместно с гигиенистами призваны сделать следующее:

- углубленно исследовать закономерности воздействия различных вредных факторов окружающей среды на человека;

- разработать методы индикации микробного загрязнения и критериев эпидемической безопасности различных объектов окружающей среды в условиях их химического и биологического загрязнения;

- совершенствовать методические основы нормирования разнообразного бактериального загрязнения объектов окружающей среды;

- определить особенности распространения в объектах окружающей среды микробов-продуцентов и биологически активных веществ (продуктов их жизнедеятельности) и их значение в патологии человека;

- исследовать условия процессов самоочищения объектов окружающей среды в отношении бактериального загрязнения с учетом сочетательного воздействия химических, физических и биологических факторов;

- разработать профилактические мероприятия с целью снижения бактериального загрязнения различных объектов окружающей среды;

- усовершенствовать санитарное законодательство, способствующее охране объектов окружающей среды от загрязнения.

Вопросы для самостоятельного изучения

1. История развития санитарной микробиологии.
2. Структура современной санитарной микробиологии.
3. Требования к микробиологическим лабораториям.

ГЛАВА 2 САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

2.1 Учение о санитарно-показательных микроорганизмах

К объектам внешней среды относятся почва, вода, воздух, а также пищевые продукты. Все эти объекты содержат в основном сапрофитную микрофлору. Однако в них могут попадать и патогенные микроорганизмы. Патогенные микроорганизмы находятся в объектах внешней среды непостоянно и содержатся в небольшом количестве. Их выявляют в результате специальных исследований, проводимых с использованием сложного оборудования, элективных питательных сред и пр. Существующие немногочисленные ускоренные методы диагностики патогенных микробов в почве, воде, пищевых продуктах значительно сокращают продолжительность исследования. Но, к сожалению, они еще мало доступны из-за своей сложности. В связи с этим санитарно-гигиеническое состояние объектов внешней среды оценивают по косвенным микробиологическим показателям, позволяющим судить о возможном обсеменении их патогенными микроорганизмами. К таким показателям относят общую микробную обсемененность объекта и загрязненность объекта выделениями человека и животных, определяемую количественным учетом санитарно-показательных микроорганизмов.

Общая микробная обсемененность объекта. Принято считать, что чем выше общая микробная обсемененность объекта внешней среды, тем больше вероятность присутствия в них патогенных бактерий. Логическая обоснованность этого положения не вызывает сомнений, если его рассматривать в статистическом плане, тогда как во многих конкретных случаях оно может не соответствовать действительности. Например, несмотря на то, что молочнокислые продукты обильно обсеменены специфической микрофлорой, они являются не только полезными, но и обладают диетическими свойствами. И напротив, незначительная обсемененность продукта или корма патогенными микробами в результате их использования может привести к тяжелым последствиям.

Попавшие на объект (субстрат) патогенные бактерии вступают с его микрофлорой в определенные взаимоотношения, часто антагонистические. Кроме того, и другие внешние факторы, например, температура, рН среды, оказывают неблагоприятное действие на

болезнетворные бактерии. В результате чего только в редких случаях они размножаются на субстрате или сохраняются в состоянии покоя, а гораздо чаще погибают. Опасность таких объектов для здоровья людей и животных зависит не только от степени обсеменения их болезнетворными микроорганизмами, но и от сроков, прошедших после заражения. При определении общей микробной обсемененности воды, воздуха, пищевых продуктов необходимо учитывать исключительную динамичность этих объектов, неравномерность распределения микробов в них, а также возможность взаимного обмена между микрофлорой указанных объектов. Поэтому при исследовании надо соблюдать следующие правила: анализировать в нескольких повторностях возможно большее количество проб, взятых из разных участков объекта; использовать различные методы количественного учета микроорганизмов. При выполнении вышеприведенных условий полученные величины микробной обсемененности будут характеризовать объект в целом.

В санитарно-бактериологических лабораториях для количественного учета микроорганизмов применяют в основном прямой подсчет микроорганизмов и определение микробного числа. Реже используют титрационный посев (метод предельных разведений).

Патогенные микроорганизмы попадают в почву, воду, воздух, на пищевые продукты из выделений больных людей и животных, а также выделений бактерио- и вирусоносителей.

Непосредственно обнаружить патогенные микробы в объектах внешней среды чрезвычайно трудно ввиду их малой концентрации. Кроме того, их наличие, как правило, не удастся зафиксировать в межэпизоотический и межэпидемический периоды. Выявлению патогенных микроорганизмов препятствуют также сапрофитные микроорганизмы, обитающие во внешней среде в большом количестве. Поэтому делались попытки найти косвенные показатели загрязнения внешней среды патогенными микроорганизмами. Для этих целей оказалось возможным использовать микроорганизмы, постоянно обитающие в организме человека и животных (толстом отделе кишечника и верхнем отделе дыхательных путей). Такие микроорганизмы были названы **санитарно-показательными**.

Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим основным требованиям:

1. должны обитать только в организме людей или животных и постоянно обнаруживаться в их выделениях;

2. не должны размножаться или обитать в почве и воде;
3. сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных микробов;
4. их свойства должны быть типичными и легко выявляемыми для их дифференциации;
5. методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными;
6. должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;
7. в окружающей среде не должно быть близко сходных обитателей – микроорганизмов.

В основном они являются комменсалами и только при изменении условий проявляют условно-патогенные свойства.

Санитарно-показательные микроорганизмы должны примерно так же, как и патогенные, реагировать на воздействие внешних условий (температуру, реакцию среды и др.). Первой бактерией, предложенной в качестве санитарно-показательного микроорганизма, была *Escherichia coli* (кишечная палочка). Она и сейчас сохраняет ведущие позиции как показатель фекального загрязнения. В последующем список микроорганизмов расширялся, в него были включены фекальные стрептококки (энтерококки), споры сульфит-редуцирующих клостридий, протей, термофильные микроорганизмы, колифаги (вирусы бактерий) и ряд других. Таким образом, обнаружение санитарно-показательных микроорганизмов и некоторых патогенных микроорганизмов в пробе исследуемого объекта и определение их количества лежат в основе определения санитарного показателя.

2.2 Принципы и методы санитарно-микробиологических исследований

На результаты анализов могут существенно повлиять различные факторы. На современном этапе задачи санитарной микробиологии значительно осложняет интенсивное загрязнение окружающей среды, влияющее не только на аутохтонную (нормальную), но и аллохтонную (санитарно-показательную и патогенную) микрофлору. Поэтому при проведении санитарно-микробиологических исследований следует помнить о следующих основных принципах.

- Пробы следует отбирать с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта. Исследования необходимо проводить быстро; при невозможности немедленного проведения анализа материал сохраняют в холодильнике не дольше 6-8 ч.

- Для получения объективных результатов следует отбирать несколько проб из разных участков объекта.

- Более адекватные результаты можно получить проведением повторных отборов и анализов проб.

- При проведении анализов следует использовать только стандартные и унифицированные методы исследования.

- В работе необходимо использовать комплекс тестов - прямых (выявляющих патогены) и косвенных (указывающих на загрязнение объектов окружающей среды выделениями человека и животных и его степени).

- Интерпретацию результатов санитарно-микробиологических исследований следует проводить с учётом других гигиенических показателей (органолептических, химических, физических и т.д.).

Современная санитарная микробиология при индикации и идентификации санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов, а также при определении общей микробной обсемененности объектов окружающей среды стремится использовать все методы, которые применяются в диагностических микробиологических лабораториях, а именно:

- ✓ *микроскопический* - при индикации и прямом подсчете микроорганизмов в исследуемом объекте;

- ✓ *бактериологический* - выделение микроорганизмов и их идентификация;

- ✓ *биологический* - заражение чувствительных животных и ускоренные методы исследований (РИФ и др.).

При организации планового санитарно-микробиологического контроля на предприятиях пищевого профиля используют, прежде всего, косвенные методы определения присутствия патогенных микроорганизмов. При этом для оценки санитарного состояния объектов окружающей среды используют количественные и качественные микробиологические показатели.

Обзор методов, которые используются при санитарно-микробиологическом контроле, представлен в виде схемы на рисунке 1.

Количественные показатели. Это прежде всего определение общей микробной обсемененности, которое в настоящее время называется - определение количества МАФАНМ (мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов).

Общая микробная обсемененность объекта характеризуется количеством микроорганизмов в 1 мл воды, жидкости или в 1 г твердого вещества (продукта). МАФАНМ является косвенным методом и позволяет судить о *возможности* загрязнения изучаемого объекта патогенными микроорганизмами.

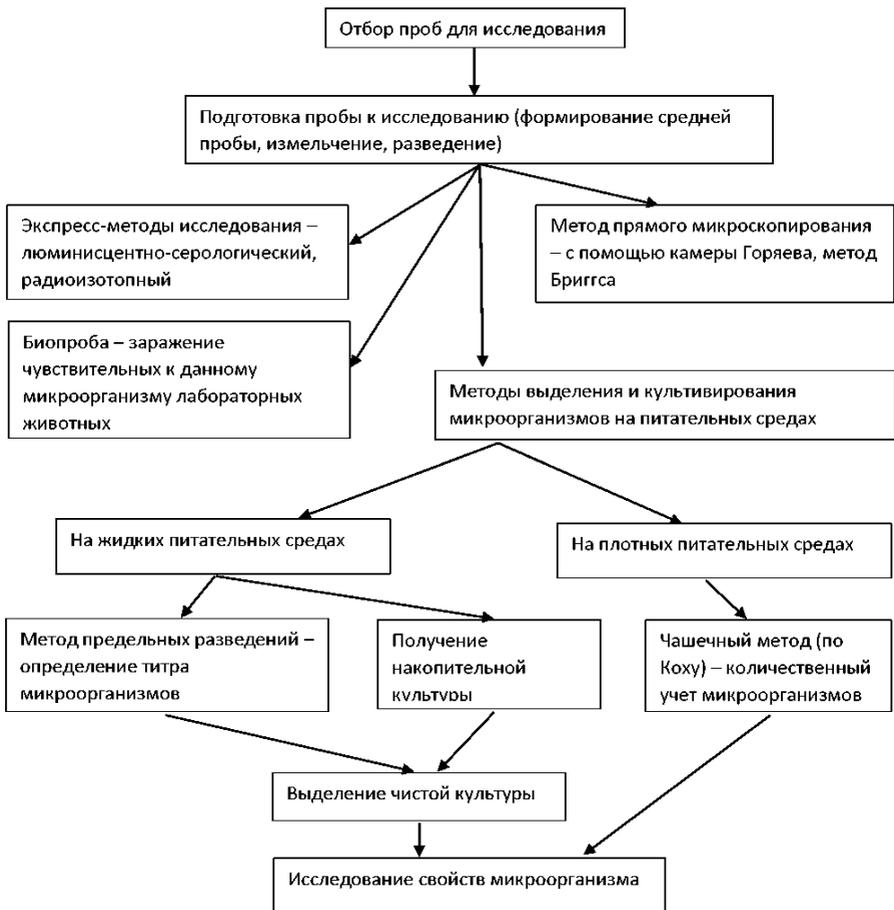


Рис. 1. Методы санитарно-микробиологического анализа

Существуют два метода определения общей микробной обсемененности:

– метод прямого подсчета под микроскопом. Проводится под микроскопом в счетных камерах Горяева или в камерах, специально сконструированных для подсчета бактерий. Предварительно пробу исследуемого объекта подвергают обработке, чтобы получить гомогенную взвесь. Для лучшего учета бактерий в исследуемую суспензию добавляют краситель.

– определение количества микроорганизмов в исследуемом материале (продукте) методом посева в питательные среды. Применяется чаще. Из приготовленных серийных десятикратных разведений исследуемой жидкости или суспензии по 1 мл переносят в стерильные чашки Петри. Каждое разведение проводят отдельной пипеткой, исследуемый материал заливают расплавленным и охлажденным до температуры $+50^{\circ}\text{C}$ мясопептонным агаром (метод горячей заливки).

Следует отметить, что оба метода определения общей микробной обсемененности являются относительными. Для получения сравнимых результатов при определении общего микробного числа (количества МАФАНМ) исследования проводятся по стандартным, конкретным для каждого случая методикам, регламентированным соответствующими ГОСТами.

В обязательном порядке контролируются санитарно-показательные микроорганизмы, обнаружение которых также является косвенным показателем биологической контаминации исследуемого материала патогенными микроорганизмами. Превышение нормативов по допустимому содержанию санитарно-показательной микрофлоры свидетельствует о возможном присутствии тех или иных патогенных микробов.

Для количественной характеристики применяются две группы методик: определения титра и индекса.

Титр – это наименьший объем исследуемого материала (в миллилитрах) или весовое количество (в граммах), в котором обнаружена хоть одна особь санитарно-показательного микроорганизма.

Индекс – количество особей санитарно-показательного микроба, обнаруженного в определенном объеме (количестве) исследуемого объекта.

Качественные показатели указывают на отсутствие (присутствие) микробов конкретных видов в определенной массе продук-

та. Прямое выявление в пищевых продуктах патогенных или условно-патогенных микробов и их ядов проводится в соответствии с существующими нормативными документами. Обычно проверяют наличие микроорганизмов *p.p.Salmonella*, *Staphylococcus*, *Cl.botulinum* их токсинов, *Cl.perfringens*, *Bac.cereus* и др. Согласно требованиям ГОСТов, патогенные микроорганизмы и их токсины должны отсутствовать в определенном объеме (массе) материала, подвергнутого исследованиям (25, 50г и т.д.).

Санитарно-микробиологическое исследование объекта на присутствие патогенных микроорганизмов проводится работниками государственного санэпиднадзора МЗ РФ в плановом порядке, а также внепланово – по эпидемическим показаниям. Для определения патогенных микроорганизмов могут быть использованы методы, приведенные на рисунке 1.

Выявление в каждом конкретном случае виновника порчи исследуемой продукции и объекта окружающей среды ведется по схемам и методам, разработанным для каждой группы микроорганизмов.

Вопросы для самостоятельного изучения

1. Физиологические свойства микроорганизмов (влияние внешних факторов, питательные среды).
2. Патогенные микроорганизмы в окружающей среде.
3. Инфекция: основные понятия и определения.

ГЛАВА 3 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДУХА

Воздух не является благоприятной средой для жизнедеятельности микроорганизмов. Однако, попадая в воздух, многие микроорганизмы способны какое-то время находиться в жизнеспособном состоянии.

Микрофлору воздуха условно разделяют на постоянно обнаруживаемую (резидентную) и обнаруживаемую спорадически (временную).

Постоянная микрофлора атмосферного воздуха формируется почвенными микроорганизмами: *M.roseus*, *M.luteus*, *S.maxima*,

B.subtilis, *B.mucooides*, *B.mesentericus*, виды *Acinomyces*, грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucori* др.

Временная микрофлора атмосферного воздуха также формируется за счет микроорганизмов почвы и видов, поступающих с поверхности водоемов. Находящиеся в атмосферном воздухе микроорганизмы подвергаются солнечному и температурному воздействию, атмосферным осадкам и ветру. Поэтому микрофлора воздуха весьма динамична, непрерывно меняется и обновляется.

Патогенные микроорганизмы попадают в воздух при кашле, чихании, разговоре. Даже здоровый человек при каждом акте чихания выделяет в воздух 10 000 – 20 000 микробных тел, а больной – во много раз больше. Эти мельчайшие капельки могут часами удерживаться в воздухе во взвешенном состоянии, образуя стойкие аэрозоли, что служит источником аэрогенного заражения окружающих.

Бактериальные аэрозоли делят на три фазы:

1. *Крупнокапельная фаза* с диаметром частиц аэрозоля более 0,1 мм; длительность пребывания таких частиц в воздухе несколько секунд, капли оседают быстро.

2. *Капельно-ядерная фаза*, имеющая диаметр частиц 0,1 мм и менее. Частицы находятся в воздухе длительное время и рассеиваются на большие расстояния с потоками воздуха, вместе с которыми распространяются различные микроорганизмы, в том числе и болезнетворные.

3. *Фаза бактериальной пыли* имеет частицы разного диаметра от 1 до 0,01 мм. Эта фаза имеет наибольшее эпизоотологическое и эпидемиологическое значение, так как она глубоко проникает в дыхательные пути. Аэрогенным способом инфекционные заболевания передаются в основном в закрытых помещениях.

Для исследования микрофлоры воздуха используют различные методы.

Седиментационный метод (метод Коха), при котором чашки Петри с элективными средами без крышек помещают на горизонтальные поверхности и выдерживают установленное время: 10-30 мин чашки с мясопептонным агаром для определения общего числа микроорганизмов, 15 мин чашки с желточно-солевым агаром для выявления стафилококков, до 2 ч – для выделения грамотрицательных неферментирующих бактерий. В месте забора используют не менее 2 чашек с одной питательной средой. После

экспозиции чашки закрывают, переворачивают, помещают в термостат и инкубируют при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течении 24 ± 2 ч. После инкубации проводят учет количества колоний выросших микроорганизмов и при необходимости идентификацию микроорганизмов до рода и вида.

После подсчета выросших колоний в чашке Петри определяют количество микроорганизмов в 1 м^3 воздуха по формуле Омелянского (1), согласно которой в чашки с питательной средой площадью 100 см^2 в течение 5 мин оседает столько микробных клеток, сколько их содержится в 10 л воздуха:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{b \cdot 10 \cdot T}, \quad (1)$$

где X - количество микробов в 1 м^3 (1000 л) воздуха; a - количество выросших колоний в чашках; b - площадь чашки (80 см^2); 5 - время экспозиции по правилу Омелянского; T - время, в течение которого чашка была открыта; 10 - 10 л воздуха по правилу Омелянского; 1000 — 1 м^3 воздуха; 100 - 100 см^2 питательной среды.

Аспирационный метод (метод Кротова) является более точным, так как прибор снабжен микроманометром, показывающим количество (объем) литров посеянного воздуха.

Аппарат Кротова – это цилиндрический прибор, внутри которого имеется электромотор с центробежным вентилятором. При вращении вентилятора из исследуемого помещения воздух засасывается через узкую клиновидную щель в крышке прибора, под которой находится вращающаяся платформа с чашкой Петри, струя воздуха ударяется о влажную поверхность питательной среды, микроорганизмы из воздуха оседают. Чашки с посевами помещают в термостат на $24\text{--}48$ ч при температуре $+30^\circ\text{C}$. Подсчет колоний производят так же, как и при седиментационном методе. В дальнейшем число микробов в 1 м^3 воздуха определяют по формуле (2):

где X - число микробов в 1 м^3 воздуха; a - число выросших колоний; 1000 л - 1 м^3 воздуха; b — количество посеянного воздуха.

Требования, предъявляемые к микробиологическим показателям воздуха, представлены в таблице 1 приложения В (исследуют один раз в месяц).

В практике санитарной службы при аспирационном взятии проб также используются пробоотборные устройства (ПУ-1Б), бактериоуловитель Речменского, прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-1), пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1), приборы Киктенко, Андерсена, Дьяконова и другие (Приложение А, рис.1-3).

Вопросы для самостоятельного изучения:

1. Микрофлора воды.
2. Биологическая контаминация и самоочищение вод.

ГЛАВА 4 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОДЫ

Вода является естественной средой обитания для многих видов микроорганизмов. Особую опасность для здоровья человека и животных представляют патогенные бактерии, которые могут в ней содержаться. Поскольку вода используется при производстве любого вида продукции, а также непосредственно в пищу, соответствие ее качества санитарно-микробиологическими показателями чрезвычайно важно.

Численность микроорганизмов в воде определяется главным образом содержанием в ней питательных, преимущественно органических веществ. В 1 мл воды количество микробов может превышать несколько миллионов.

Длительность выживания патогенных микробов в воде зависит от их вида, условий окружающей среды и может составлять от нескольких часов до нескольких лет. Имеется группа болезней, для которых характерен водный путь распространения (паратифы, лептоспирозы).

Следовательно, вода может стать источником распространения инфекционных болезней, возникновения эпидемий и эпизоотий. Для санитарно-бактериологической оценки воды проводят следующие исследования: Определение количества МАФАНМ в 1 мл;

определение коли-титра и коли-индекса; обнаружение в воде патогенных микроорганизмов. Все санитарно-микробиологические исследования воды регламентируются соответствующей нормативно-технической документацией (НТД), (Приложение Б).

Отбор проб. Пробы воды для бактериологического анализа отбирают в стерильные бутылки из стекла. Стерильные емкости открывают непосредственно перед отбором, ополаскивать посуду запрещается. Пробы воды на заданной глубине в озерах или водохранилищах отбирают с помощью батометров, представляющих собой металлический каркас с массивным свинцовым дном-грузилом (Приложение А, рис.4). В металлический каркас вставляют емкость, батометр погружают на глубину и открывают его, подтягивая за веревочку, привязанную к пробке.

Для отбора проб водопроводной воды из крана набирают 500 мл в стерильные колбы с ватной пробкой с соблюдением правил асептики. Кран предварительно стерилизуют горячим спиртовым тампоном, затем в течении 10 мин спускаю воду и только потом берут пробы, которые исследуют сразу или не позднее 2 ч с момента взятия.

Хранение и транспортировка проб воды. Все взятые для исследования пробы воды пронумеровываются, в сопроводительном документе должно быть указано: наименование водоема, водисточника, его местонахождение; описание места отбора проб (расстояние от берега и глубина), быстрота течения, близость источников загрязнения, метеорологические условия, дата взятия пробы, цель исследования. Сопроводительный документ подписывается лицом, бравшим пробу, с указанием его должности.

Транспортировать воду следует в сумках-холодильниках или в ящиках с термоизолирующей прокладкой (температура в которых не более 1-2°C), предохранять от резких толчков, замерзания, действия солнечных лучей.

Исследование воды должно быть проведено не позднее 2 ч с момента отбора пробы, лишь в виде исключения допускается хранение пробы до 6 ч при температуре 4-5°C. При более длительном и неправильном хранении может наступить размножение и гибель микрофлоры.

Для обнаружения и количественного определения индикаторных бактерий в воде используются основные методы: метод мем-

бренных фильтров, титрационный метод, метод прямого обнаружения.

Определение количества МАФАНМ. Из каждой пробы производят посев не менее двух объемов по 1 мл воды, без предварительного разведения, на питательный агар (методом горячей заливки) и инкубируют при температуре $+30^{\circ}\text{C}$ в течении 24-48 ч, при этом образуются колонии, видимые простым глазом или при увеличении в 2 раза. При исследовании загрязненных вод, открытых водоемов воду предварительно разводят стерильной водой (методом последовательных разведений) в зависимости от предполагаемого загрязнения от $1:10^{-1}$ до $1:10^{-4}$, из двух последних разведений вносят по 1 мл в стерильные чашки и заливают расплавленным и охлажденным до температуры $+50^{\circ}\text{C}$ МПА. После инкубирования при температуре $+30^{\circ}\text{C}$ в термостате в течении 24-48 ч подсчитывают количество колоний, умножают степень разведения воды и определяют количество бактерий в 1 мл воды открытых водоемов. Учету подлежат чашки Петри, в которых выросло от 30 до 300 колоний. Колонии считают в каждой чашке отдельно, определяют среднеарифметическое число по двум чашкам. Полученное число умножают на степень разведения исследуемой воды и получают число бактерий в 1 мл воды.

Определение коли-титра и коли-индекса воды.

Коли-титром (КТ) называют наименьший объем воды, в котором обнаружена одна кишечная палочка.

Коли-индекс (КИ) показывает число кишечных палочек в 1000 мл воды.

КТ и КИ определяют методами:

- 1) Метод бродильных проб (титрационный);
- 2) Метод мембранных фильтров;
- 3) Метод прямого посева.

Метод бродильных проб. Воду методом бродильных проб исследуют в три этапа (три дня).

Первый день: засевают водопроводную воду в объеме 333 мл (три объема по 100 мл, три - по 10 мл, три - по 1 мл). Воду в объемах 100 и 10 мл засевают в колбы и пробирки соответственно – с 10 и 1 мл концентрированной глюкозопептонной средой (ГПС), а посев воды в объеме 1 мл – в пробирки с 10 мл среды нормальной концентрацией. Посевы исследуемой воды в средах ГПС культивируют в термостате 24 ч при температуре $+37^{\circ}\text{C}$.

Второй день: ведется учет результатов посева разных объемов воды, при котором: 1) отсутствие помутнения, образования кислоты и газа в колбах и пробирках после посева воды свидетельствует об отсутствии кишечной палочки; 2) помутнение питательной среды, изменения цвета индикатора на красный и появление газа говорят о наличии кишечной палочки. Из каждого забродившего посева петлей делают пересев штрихом на агар Эндо. Посевы культивируют 24 ч при температуре +37°C.

Третий день: ведется учет результатов посева на агаре Эндо, при котором: 1) отсутствие роста на агаре Эндо или наличие колоний, не характерных для БГКП, говорит о том, что кишечной палочки в посевах нет; 2) из колоний, характерных для бактерий БГКП, готовят мазки, окрашивают по Граму, микроскопируют. Идентифицируют культуру по оксидазному тесту, положительную реакцию на этот тест дают БГКП, которые не учитываются. Наличие в мазках грамотрицательных бактерий с отрицательной реакцией на оксидазный тест позволяет дать положительный ответ на присутствие БГКП в исследуемом объеме воды. Полученные результаты сравнивают с нормативами на питьевую воду. (приложение 3).

Метод мембранных фильтров экономичнее и дает возможность узнать ответ на 2-й день.

Первый день: готовят прибор Зейтца (Приложение А, рис.5): предварительно его автоклавируют или протирают спиртовым тампоном, далее в пламени спиртовки обжигают металлические детали. Готовят мембранные фильтры №3 из нитроцеллюлозы, с диаметром пор 0,7 мкм, которые задерживают на своей поверхности БГКП. Фильтры осторожно, не допуская скручивания, кипятят 10-15 мин в дистиллированной воде, затем с соблюдением правил асептики помещают на сетку фильтрационного прибора Зейтца матовой поверхностью вверх. В воронку прибора наливают исследуемую воду, а в приемной колбе Бунзера создают вакуум при помощи водоструйного насоса. После окончания фильтрации воды мембранный фильтр переносят на поверхность агара Эндо в чашках Петри. Чашки помещают в термостат при температуре +37°C. на сутки. Каждая палочка образует типичные колонии – красные с металлическим оттенком, количество которых подсчитывают.

Второй день: учитывают наличие или отсутствие колоний на поверхности фильтров, находящихся на агаре Эндо в чашках Пет-

ри: 1) отсутствие колоний на поверхности фильтра или наличие колоний, не характерных для БГКП, позволяет дать отрицательный ответ на присутствие кишечной палочки в исследуемом объеме воды; 2) при наличии на фильтре красных с металлическим блеском колоний их количество подсчитывают и из них готовят препараты, окрашивают по Грамму, микроскопируют.

При обнаружении грамотрицательных палочек ставят оксидазную пробу. Отрицательная проба на оксидазу свидетельствует о наличии в воде кишечной палочки, которая учитывается. В этом случае вычисляют коли-титр и коли-индекс исследуемой воды.

Санитарными правилами и нормами (СанПиН) для **питьевой воды** установлены следующие нормативы бактериологических показателей:

- количество МАФАНМ в 1 мл – не более 100;
- КТ – не менее 333;
- КИ не должен превышать 3 кишечных палочек в 1000 мл.

Для воды открытых водоемов:

- количество МАФАНМ в 1 мл – не более 1000;
- КТ – не менее 111;
- КИ не должен превышать 9 кишечных палочек в 1000 мл.

Наличие в воде патогенных бактерий устанавливают путем посева на дифференциально-диагностические и элективные питательные среды с последующей их идентификацией методами, принятыми в бактериологии.

Метод прямого посева применяется при определении *E.coli* в сточных водах и сильно загрязненной воде водоемов. На чашки со средой Эндо засевают по 0,1-0,5 мл пробы воды (по 4 дозы от каждой пробы), тщательно втирают шпателем и инкубируют в течение 16-18 ч при температуре +37°C. Учитывают рост характерных колоний, определяют биохимические свойства бактерий и определяют коли-индекс.

Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП).

По нормативной документации к БГКП относятся грамотрицательные, не образующие спор палочки, не обладающие оксидазной активностью, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре +37°C в течении 5-24 часов. По международной классификации такие микроорганизмы относят к общим колиформным бактериям (ОКБ). БГКП можно определять двумя методами: методом мембранных фильтров и титрационным методом.

Определение термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ). ТКБ теми же методами, как и БГКП, кроме последнего этапа идентификации, который проводится по ферментации лактозы на полужидкой питательной среде при +44,5°C. В случае роста на среде Эндо типичных лактозоположительных колоний, грамотрицательных, оксидазоотрицательных, способных ферментировать лактозу, их учитывают как ТКБ.

Определение *E. coli* является дополнительным показателем для расшифровки происхождения биологической контаминации, определения свежести фекального загрязнения, при оценке качества воды в случае превышения норматива. Определяют теми же методами, различие – на этапе исследования свойств микроорганизмов, выросших на среде Эндо. Результат исследования выражают количеством *E.coli* в 1 литре.

Определение энтерококков проводят методом мембранных фильтров (используют специальные среды: Сланца, желчная среда), титрационным (используют жидкую селективную среду для накопления микроорганизмов с последующим высевом на плотную молочно-ингибиторную среду), а при большей загрязненности воды – методом прямого посева (делают посевы со средой Сланца или желчной средой в 2 или 5 повторностях).

Определение споровых сульфитредуцирующих клостридий (*Clostridium perfringens*). Количество микроорганизмов в воде можно определить методом мембранной фильтрации или прямым посевом. В качестве питательной среды используют среду Вильсона-Блера (железосульфитный агар). Результат анализа выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) спор сульфитредуцирующих клостридий в определенном объеме воды.

ГЛАВА 5 САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОЧВЫ

Почва является естественной средой обитания многих видов микроорганизмов. В ней имеются все условия для благоприятного развития: достаточное количество влаги, органических и минеральных веществ. Почвенные микроорганизмы участвуют в мине-

рализации органических отбросов, самоочищении почвы, круговороте веществ в природе.

К первой группе патогенных микроорганизмов, постоянно обитающих в почве, относится небольшое количество микроорганизмов. Среди них особое внимание заслуживают клостридии ботулизма (*Clostridium botulinum*), которые попадают в почву с испражнениями человека и животных. Образую споры, микроорганизмы остаются в почве неопределенно долго.

Вторая группа включает спорообразующие микроорганизмы (бациллы сибирской язвы, клостридии столбняка, газовой гангрены), которые попадают в почву с фекалиями человека и животных, другими выделениями, а также трупами погибших животных. Почва для них является вторичным резервуаром, поскольку при благоприятных условиях клостридии могут размножаться и сохраняться в виде спор длительное время.

В третью группу включены патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека и животных и сохраняющиеся в течении нескольких недель или месяцев. Все эти микроорганизмы – сальмонеллы, шигеллы, вибрионы, бруцеллы, микобактерии, лептоспиры, возбудители сапа и др. не образуют спор и поэтому быстро гибнут в результате воздействия различных физических и биологических факторов.

Многие представители нормальной микрофлоры человека и животных, попадая в почву, вступают в ее биоценоз, участвуют в биохимических процессах, а отдельные виды бактерий остаются постоянными обитателями почвы. Поэтому трудно строго разделить микрофлору почвы на постоянную и временно обитающую в ней.

Качественный состав микрофлоры почвы очень разнообразен: множество видов бактерий (преимущественно спорообразующих), актиномицетов, спирохет, архибактерий, простейших, сине-зеленых водорослей, микоплазм, грибов, вирусов. Состав и соотношения между различными группами микроорганизмов изменяются в зависимости от вида почвы, способов ее обработки, содержания органических веществ, влаги, от климатических условий и многих других причин.

Количество микроорганизмов в почве достигает нескольких миллиардов в 1 г. Больше всего их в унавоженной почве и почве, подвергающейся обработке (пахота, аэрация), - до 4,8-5,2 млрд.,

меньше в лесной почве, в песках – 1,2-0,9 млрд. Живая масса микроорганизмов в почве на 1 га в среднем составляет около 1000 кг.

Целью санитарно-микробиологического исследования почвы является обнаружение и предотвращение распространения возбудителей инфекционных заболеваний. Эти мероприятия складываются из нескольких этапов, а именно:

- Предупредительный надзор (при планировке, строительстве и реконструкции вновь заселяемых участков; при решении вопросов водоснабжения и канализации и др.);
- Текущий санитарный надзор (при оценке санитарного состояния поверхностных слоев почвы; при контроле за почвенными и биотермическими методами обезвреживания сточных вод и отбросов; по эпидемическим показаниям и др.).

Краткий санитарно-микробиологический анализ почвы включает определение следующих показателей:

- БГКП, МАФАНМ, титр анаэробов *Clostridium perfringens*, термофильных бактерий, нитрифицирующих бактерий.

- в отдельных случаях в почве определяют наличие возбудителей сибирской язвы, для исключения старых сибироязвенных захоронений, сальмонелл, шигелл, ботулизма, возбудителей столбняка.

Отбор, хранение и транспортировка проб. Перед взятием образцов следует сделать описание местности, в котором указываются характер рельефа, растительность, климат, наличие канализации и т.д. Санитарный врач составляет схематический план обследуемой территории, определяет местонахождение источника загрязнения. При исследовании территории в 100 м² выделяют два участка по 25 м²: один вблизи источника загрязнения и второй – вдали. Образцы почвы забираются в 5 точках – по типу конверта. Взятые пробы массой по 200-300 г перемешивают в стерильной посуде и затем берут средний образец, который помещают в стерильный сосуд с ватно-марлевой пробкой. Объем образца почвы должен быть не менее 300 г, что необходимо для поддержания определенной влажности в образце при его транспортировке. Образцы берут на глубине до 20 см, при исследовании почвы скотомогильников – ниже глубины захоронения не менее чем на 25 см. Пробы отбирают стерильной железной лопатой или специальным буром (Приложение А, рис.6,7). Отобранные образцы почвы направляют в лабораторию и исследуют сразу же или не позднее 12-18 ч при обязательном хранении в холодильнике.

Определение количества МАФАНМ в 1 г почвы методом серийных разведений. В колбу емкостью 500 мл наливают 270 мл стерильной водопроводной воды и вносят 30 г исследуемой почвы, затем колбу с содержимым встряхивают в течении 10 мин. Из полученного разведения почвы $1:10^{-1}$ готовят последующие 10-кратные разведения: для чистых почв от $1:10^{-2}$ до $1:10^{-4}$, для загрязненных – до $1:10^{-6}$ и больше.

В учебном классе делают разведения в пробирках, для этого первое разведение готовят внесением 1 г исследуемой почвы в пробирку с 9 мл стерильной воды, из полученного первого разведения $1:10$ переносят 1 мл во вторую пробирку с 9 мл воды, получается разведение $1:10^2$ и так далее до 10^6 . Из последних двух разведений почвы берут по 1 мл и переносят в стерильные чашки Петри (не менее двух чашек на каждое разведение), которые заливают 13-15 мл расплавленного и охлажденного до температуры $+50^{\circ}\text{C}$ МПА, тщательно перемешивают. Посевы культивируют в термостате 24-48 ч при температуре $+30^{\circ}\text{C}$. Учету подлежат чашки Петри, в которых выросло от 30 до 300 колоний. Колонии считают в каждой чашке отдельно, определяя среднеарифметическое число по двум чашкам. Полученное число умножают на степень разведения исследуемой почвы и получают число бактерий в 1 г почвы. Результаты выражают в «колонии образующих единиц» - КОЕ/мл, г.

Определение бактерий группы кишечных палочек. Титрационный метод (метод бродильных проб). Из приготовленных разведений почвенной суспензии делают посевы во флаконы и пробирки с жидкой питательной средой Кесслера: 10 мл – в 50 мл среды, по 1 мл в 9 мл среды. Посевы инкубируют в течении 48 ч при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. При отсутствии во флаконе и пробирках роста, характеризующегося газообразованием и помутнением, дается отрицательный ответ на присутствие БГКП. Если в засеянных сосудах обнаруживается рост в виде помутнения среды или газообразования, следует сделать высев в чашки Петри со средой Эндо, инкубировать 24 ч при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Далее исследуют колонии, выросшие на среде Эндо, отбирают изолированные колонии, готовят из них мазки, красят по Грамму, микроскопируют.

Определение МАФАНМ. Посев почвенной суспензии производят на МПА глубинным способом. Разведения выбирают с учетом

загрязнения почвы. Посевы инкубируют при $+28-30^{\circ}\text{C}$ в течении 72 ч и подсчитывают количество выросших колоний.

Определение перфрингенс-титра. Из приготовленных разведений почвенной суспензии переносят по 1 мл в два параллельных ряда стерильных пробирок. Один ряд пробирок с разведениями суспензии прогревают при температуре 80°C в течении 15 мин. Затем в пробирки обоих рядов вносят по 9-10 мл среды Вильсона – Блера. Инкубируют при температуре $+43^{\circ}\text{C}$ в течении 24 ч. В мазках, приготовленных из черных колоний, видны характерные грам-положительные палочки. Вместо среды Вильсона – Блера можно использовать сульфит-полимиксин-неомициновую среду (СПН).

Определение термофильных бактерий. Для обнаружения термофилов делают посев разведений почвенной суспензии на 2-3 параллельные чашки с МПА, разлитые более толстым слоем. Инкубируют при температуре $+60^{\circ}\text{C}$ в течении 24 ч. Количество выросших колоний подсчитывают, перерасчет термофилов на 1 г почвы ведется, как при определении общей численности сапрофитов в почве.

Определение нитрифицирующих бактерий. Титр нитрификаторов определяют посевом разведений почвенной суспензии от 1:100 до 1:10000 во флаконы с жидкой минеральной средой Виноградского. В качестве контроля в термостат помещают два флакона с незасеянной средой. Посевы инкубируют при температуре $+28^{\circ}\text{C}$ в течении 14-15 суток.

Определение в почве сальмонелл и шигелл. Для обнаружения сальмонелл в подготовленную почвенную суспензию вносят ингредиенты магниевой среды «М», инкубируют при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течении 18-20 ч. Затем делают высеv на висмут-сульфитную среду. Идентификация выросших колоний проводится по методике определения сальмонелл. Шигеллы обнаруживают параллельно – посевом на селинитовую среду.

Вопросы для самостоятельного изучения:

1. Микрофлора почвы.
2. Характеристика почвенных микроорганизмов.
3. Биологическое загрязнение почв.

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Лабораторная работа №1

*Требования к микробиологическим лабораториям.
Правила работы, поведения и техника безопасности
в микробиологической лаборатории.*

Цель занятия: ознакомить студентов с особенностями устройства микробиологических лабораторий, правилами техники безопасности при работе с микроорганизмами.

Задания:

1. Ознакомиться с устройством и оборудованием микробиологической лаборатории.

2. Изучить правила техники безопасности при работе с микроорганизмами.

Методические указания. Лабораторные занятия по курсу «Санитарная микробиология», проводятся в учебной лаборатории, предназначенной для подготовки и проведения различных микробиологических исследований. Оборудование и техника проведения работ в учебной лаборатории должны соответствовать требованиям, предъявляемым к производственным и другим лабораториям соответствующего профиля.

В состав учебной лаборатории входят: комната для исследований; автоклавная; моечная, оборудованная для мытья посуды; препаратная, где проводят подготовку лабораторной посуды и хранят питательные среды; материальная комната – для хранения запасов реактивов, посуды, аппаратуры, приборов, хозяйственного инвентаря; комната для проведения посевов, стерильной разливки сред и других работ с соблюдением правил асептики.

За каждым студентом в учебной аудитории закрепляется рабочее место, на котором размещены микроскоп, иммерсионное масло. На столике для окраски размещают штатив с бактериологической петлей и стерильной водой; горелку спиртовую; набор красящих растворов и реактивов для окрашивания препаратов микроорганизмов; предметные и покровные стекла; сливную чашку с мостиком для окраски мазков; промывалку с водопроводной водой и сосуд с дезинфицирующим раствором; вату и фланелевые салфетки; карандаши по стеклу; часы; спички и пр.

Рабочие столы должны всегда быть чистыми, а используемые для работы предметы – аккуратно разложены или расставлены по местам.

При работе в учебных лабораториях необходимо учитывать то, что объектом исследования являются микроорганизмы, которые при неумелом обращении с ними могут вызвать болезни у человека. В связи с этим материалы и культуры микроорганизмов, используемые для учебных занятий, должны рассматриваться как потенциально опасные. Поэтому работающие в лабораториях сотрудники и студенты обязаны знать и соблюдать правила, обеспечивающие предотвращение обсеменения объектов внешней среды микроорганизма и личную безопасность работающего. На занятиях необходимо соблюдать следующие требования:

- работать в лаборатории разрешается только в специальной одежде – халате, шапочке или косынке. Выносить из лаборатории пробирки с культурами, препараты (мазки) и другие предметы категорически запрещается;
- в лаборатории запрещается курить, принимать пищу и воду;
- студенты приступают к работе только с разрешения преподавателя и всю работу проводят в строгом соответствии с изучаемой тематикой;
- использованные пипетки, предметные и покровные стекла, шпатели, ватные тампоны и прочее помещают в сосуды с дезинфицирующей жидкостью. Пинцеты, бактериологические петли, препаровальные иглы и другие мелкие металлические предметы после соприкосновения с культурой стерилизуют путем прокалывания в пламени горелки и только после этого помещают в штатив или банку. Категорически запрещается оставлять указанные предметы нестерилизованными и разбросанными по столу;
- студенты не должны включать электроприборы и аппаратуру без контроля преподавателя или лаборанта. Нельзя касаться металлическими и другими предметами проводов и контактных частей электросети;
- каждый студент обязан соблюдать опрятность в работе, содержать в чистоте рабочее место и оборудование;
- по окончании занятия студенты под контролем убирают рабочие места, после чего дежурный сдает аудиторию преподавателю или лаборанту;
- перед уходом из лаборатории студенты снимают халаты, руки обрабатывают дезинфицирующим раствором и тщательно их моют.

Контрольные вопросы

1. Особенности устройства и оборудования микробиологической лаборатории.
2. Требования предъявляемые к технике безопасности при работе с микроорганизмами.

Лабораторная работа №2

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха закрытых помещений

Цель занятия: Провести исследование микрофлоры воздуха закрытых помещений в корпусе факультета по количественным и качественным показателям.

Задание 1. Определить микробное число воздуха: седиментационным методом (по Коху) — посев воздуха на мясопептонный агар.

Задание 2. Определить микробное число воздуха: аспирационным методом (с помощью аппарата Кротова) — посев воздуха на мясопептонный агар, кровяной и молочно-желточно-солевой агар.

Материалы и оборудование. Чашки Петри с мясопептонным агаром, кровяным и молочно-желточно-солевым агаром, аппарат Кротова.

Методические указания к выполнению работы.

1. Седиментационный метод (по Коху) — оседание микробов на поверхность твердой питательной среды под действием силы тяжести. Для исследования воздуха помещений чашки Петри со средой открывают на 5—10 мин (для определения общей обсемененности воздуха) и на 40 мин (для учета кокковой флоры). Осевшие из воздуха микробы в термостате при 37°C в течение 24 часов и затем при комнатной температуре (сутки). О степени загрязненности воздуха судят по количеству выросших колонии, которые подсчитывают, затем определяют количество микробов в 1 м³ воздуха (микробное число) по формуле Омелянского (1).

2. Аспирационный метод более точный по сравнению с предыдущим и используется для исследования как воздуха помещений, так и атмосферного воздуха. Для определения общей бактериальной обсемененности воздуха закрытых помещений используют две чашки Петри с мясопептонным агаром и пропускают через аппарат по 100 л воздуха. После подрачивания посевов в течение 48 ч при температуре 37°C подсчитывают количество выросших колоний на обеих чашках, вычисляют среднее арифметическое и делают пере-

счет на количество микробов в 1 м³ воздуха. При определении санитарно-показательных бактерий используют две чашки Петри с 3—5% кровяным агаром (определение α - и β -гемолитических стрептококков), а также две чашки Петри с молочно-желточно-солевой средой (обнаружение золотистых стафилококков). При этом через аппарат пропускают по 250 л воздуха. Через сутки подращивания в термостате и еще одни сутки сохранения при комнатной температуре производят макро- и микроскопическое исследование колоний, определяют патогенность бактерий по общепринятым тестам.

3. Состав микрофлоры воздуха оценивают с учетом спорообразующих анаэробов. С этой целью посев воздуха в объеме 200-300 л производят на чашку с железосульфитной средой (среда Вильсона - Блера) и заливают ее 15 мл расплавленного и охлажденного до 45°C мясопептонного агара для создания анаэробных условий. После суток подращивания в термостате подсчитывают количество черных колоний и делают перерасчет на 1 м³ исследуемого воздуха, результаты занести в таблицу 2.

Таблица – Санитарно-бактериологическое исследование воздуха

Метод исследования	Число микробов в 1 м ³ воздуха (пигментных, споровых, плесневых грибов)	Число золотистых стафилококков и стрептококков в 1 м ³ воздуха
Посев по методу Коха		
Посев с помощью аппарата Кротова		

Результаты исследований сравнить с микробиологическими нормативами санитарного состояния воздуха (приложение В, таблица 1) и сделать соответствующее заключение.

Контрольные вопросы

1. Микрофлора воздуха и методы микробиологического исследования (атмосферный воздух и воздух закрытых помещений).
2. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.
3. Приборы, служащие для определения санитарно-микробиологических показателей воздуха.

Лабораторная работа №3
Санитарно-микробиологическое исследование воды

Цель занятия: провести санитарно-микробиологическое исследование проб воды из различных источников и оценить возможность ее использования на питьевые цели.

Задание 1. Провести отбор проб воды;

Задание 2. Определить микробное число (МАФАНМ) воды;

Задание 3. Провести посев проб воды методом бродильных проб для определения показателей. Определить коли-титр воды;

Задание 4. Определить индекс энтерококка воды;

Задание 5. Изучить методы исследования воды на наличие сальмонелл.

Материалы и оборудование. Колба с исследуемой водой – 50 мл, пробирки со стерильной водой по 9 мл, стерильные чашки Петри, стерильные пипетки на 1-2 мл, пробирки с МПА по 10 мл, водяная баня, термометр; пробирки с концентрированной глюкозо-пептонной средой - одна с 10 мл и одна с 1 мл среды; 3 пробирки, содержащие по 10 мл среды нормальной концентрации; чашки Петри со средой Эндо и висмут-сульфитным агаром; пробирки с щелочно-элективной средой по 5 мл; колбы с 10% пептонной водой - 10 мл и селенитовой средой - 200 мл.

Методические указания к выполнению работы.

1. По заданию преподавателя провести отбор проб воды и подготовить пробы. Из открытых водоемов пробы воды отбирают с глубины 10-15 см от поверхности и на расстоянии 10-15 см от дна. Из водопровода воду берут в стерильные флаконы с притертой пробкой ёмкостью 0,5 л. Водопроводную воду наливают после предварительного обжигания крана и стекания первых порций воды из него в течение 10-15 мин.

2. Микробное число воды - количество микробов в 1 мл используемой воды - определяют путем высева воды на МПА. Исследуемую воду разводят в 10, 100 и 1000 раз. В пробирку с 9 мл стерильной воды вносят 1 мл исследуемой воды (разведение 1:10), затем после перемешивания другой пипеткой переносят в аналогичную пробирку 1 мл разведенной воды (разведение 1:100) и т. д. По 1 мл полученных разведении воды, начиная с большего, переносят в маркированные стерильные чашки Петри и заливают 10 мл

расплавленного и охлажденного до 45°C МПА. Осторожно кругообразными движениями перемещают по поверхности стола чашку Петри, перемешивая содержимое. Затем чашки Петри с застывшим агаром переворачивают вверх дном и помещают на сутки в термостат. При исследовании водопроводной воды в каждую из двух чашек засевают 1 мл неразведенной воды.

3. **Первый день исследования.** В случае исследования воды на этапах очистки и обеззараживания производят посев 100; 10; 1; 0,1; 0,01 мл воды соответственно во флаконы с 10 и 1 мл концентрированной среды накопления и 10, 10 и 10 мл среды накопления нормальной концентрации. При исследовании питьевой водопроводной воды производят посев 100, 100, 100 и 10, 10, 10 мл воды соответственно во флаконы с 10 и 1 мл концентрированной среды накопления и по 1, 1, 1 мл в 10 мл среды накопления нормальной концентрации. Культивирование посевов производят при температуре 37°C в течение 24 ч. **Второй день исследования.** Учесть результаты брожения в глюкозопептонной среде (по помутнению, кислото- и газообразованию или по помутнению и кислотообразованию), из положительных проб произвести высеивание на среду Эндо. Посевы необходимо производить штрихами, чтобы получить рост изолированных колоний. Культивируют посевы при температуре 37°C в течение 16-18 ч. **Третий день исследования.** При учете результатов на среде Эндо изучают цвет выросших колоний. Если на секторах среды выросли темно-красные колонии, характерные для БГКП, то проводят подтверждающие исследования путем микроскопии окрашенных по Граму мазков и постановки оксидазного теста. Для этого по 2—3 характерные колонии снимают петлей и наносят на фильтровальную бумагу, смоченную реактивом. При отсутствии изменения цвета бумаги пробу на оксидазу считают отрицательной и, наоборот, посинение бумаги в течение 1 мин свидетельствует о наличии активной оксидазы у бактерий. Обнаружение в мазках грамотрицательных палочек с отрицательным оксидазным тестом позволяет дать положительный ответ о наличии БГКП в исследуемой пробе воды.

4. Определение индекса энтерококка, т. е. количество энтерококков в 1 л воды, проводится параллельно с определением микробного числа и индекса БГКП путем посева различных объемов воды на жидкую щелочную элективную среду с полимиксином. Высокая элективность среды достигается установлением рН 10-

10,2 и применением полимиксина, подавляющих рост посторонних бактерий. Посевы помещают в термостат при температуре 37°C на 48 ч.

5. При исследовании воды на сальмонеллы питьевую воду и воду открытых водоемов засевают по 200 мл в среды обогащения - селенитовую среду (или магниевую среду) двойной концентрации. Посевы культивируют при температуре 37°C в течение 18-20 ч. При наличии диффузного роста в колбах с селенитовой средой делают высев на чашки Петри со средой Эндо и на 2—3 чашки с висмут-сульфитным агаром. Посевы помещают в термостат на 18—20 ч при температуре 37°C. Сальмонеллы образуют на висмут-сульфитном агаре круглые черные колонии с сероватым металлическим ободком или зеленые колонии (с потемнением среды под колонией). Подозрительные колонии (в количестве 4 и 5) пересевают на среду Ресселя или трехсахарный агар с мочевиной по Олькеницкому, далее исследование проводят по обычной схеме: посев на пестрый ряд, определение подвижности, агглютинация с поливалентной и монорецепторными сальмонеллезными сыворотками, фаготипирование.

6. Санитарными правилами и нормами (СанПиНом) для питьевой воды установлены следующие нормативы бактериологических показателей:

- Количество МАФАНМ в 1 мл – не более 100;
- Коли-титр – не менее 333;
- Коли-индекс не должен превышать 3 кишечных палочек в 1000 мл.

Сравнить результаты исследований с нормативами (Приложение В, таблица 2) и сделать соответствующее заключение

Контрольные вопросы

1. Микрофлора воды и методы ее бактериологического исследования.
2. Санитарно-показательные микроорганизмы воды.
3. Методы индикации патогенных микроорганизмов.

Лабораторная работа №4
Санитарно-микробиологическое исследование почвы.

Цель занятия: провести санитарно-микробиологическое исследование образцов почвы, изучить морфологию микроорганизмов почвы, дать оценку ее санитарного состояния.

Задание 1. Провести отбор проб почвы;

Задание 2. Определить микробное число почвы (МАФАНМ в 1 г) методом серийных разведений;

Задание 3. Определить коли-титр почвы методом бродильных проб с использованием среды Кесслера;

Задание 4. Определить перфрингенс-титр почвы.

Материалы и оборудование. Колбы на 500мл, пробирки со стерильной водой по 9 мл, пипетки на 1-2 мл, пробирки с мясопептонным агаром по 15 мл, стерильные чашки Петри; пробирки со средой Кесслера по 9 мл; пробирки со средой Вильсона-Блера по 15 мл, водяная баня, термометр.

Методические указания к выполнению работы.

1. По заданию преподавателя провести отбор проб почвы и подготовить пробы. На обследуемой территории площадью до 1000м² выбирают два участка по 25 м³ (один - вблизи источника загрязнения, другой - в отдалении от него. На каждом из участков (с соблюдением стерильности) берут из 5 точек (4 - по углам участка, одна - в центре) на глубине 10-20 см стерильным совком (из более глубоких с помощью специального бура.

Помещают по 200-300 г почвы в широкогорлые колбы с ватными пробками (можно все взятые пробы одного участка перемешать и направить на исследование. На банки наклеивают этикетки, пишут сопроводительное письмо и отправляют с нарочный. Пробы почвы полагается исследовать сразу же или в течение 6-18 ч, сохраняя их при температуре не выше 1-5 °С.

В лаборатории пробу почвы измельчают, освобождают от камней, осколков стекол, корней растений, просеивают через сито, тщательно перемешивают и отвешивают 30 г. в колбу объемом 500 мл, наливают 270 мл стерильной водопроводной воды и вносят в нее отвешенную пробу почвы, все интенсивно встряхивают 10 минут и, не давая отстояться частицам суспензии, готовят серию десятикратных последовательных разведений.

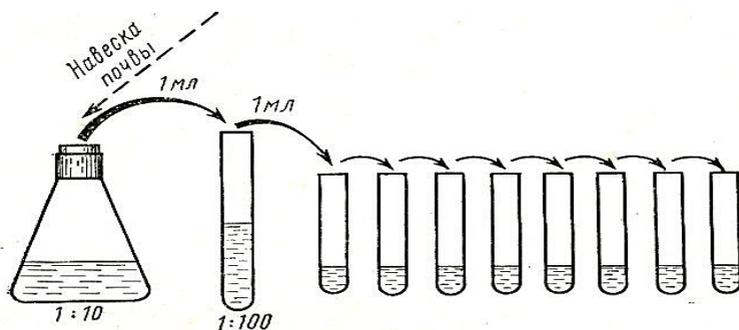


Рис. 2. Метод последовательных разведений

2. При определении микробного числа почвы по 1 мл приготовленных разведений почвенной суспензии вносят в чашки Петри, заливают расплавленным и охлажденным МПА; культивируют 48 ч при 28-30°C. Подсчитать выросшие в толще агара и на поверхности колонии, пользуясь лупой или счетной камерой. Вычислить среднее арифметическое.

3. По методу бродильных проб (I этап) готовят 10% почвенную суспензию, из нее делают разведения. Из суспензии и разведения 1:10, 1:100 засевают по 1 мл в пробирки со средой Кесслера. Таким образом, в среду вносятся 0,1 г, 0,01 и 0,001 г исследуемой почвы. На втором этапе Присутствие в бродильной пробе кишечных палочек подтверждается высевом со среды Кесслера на среду Эндо. Посевы помещают в термостат на сутки. На третьем этапе изучить характер колоний на среде Эндо, из подозрительных колоний сделать мазки, окрасить по Граму, микроскопировать.

4. Перфрингенс-титр определяют, используя для посева два ряда параллельных разведений почвы. При этом пробирки с одним рядом разведений прогревают при 80°C 15 мин. По 1 мл из обоих рядов разведений переносят в чашку Петри и заливают расплавленной средой Вильсона-Блера. Пробирки помещают в термостат при 37°C на 24 ч. Результат учитывают через 24 ч культивирования при температуре 37°C по образованию колоний черного цвета. Присутствие патогенных клостридий в почве связано с попаданием их в почву с фекалиями человека и животных. Существуют следующие критерии оценки степени загрязнения почвы по титру БГКП и клостридиум-титру: для сильно загрязненных почв коли-титр 0,009 и ниже, клостридиум-титр 0,00009 и ниже; для чистых почв

коли-титр 1 и выше, клостридиум-титр 0,01 и выше.

5. Для санитарной оценки почвы рекомендуется пользоваться показателями таблицы 3 (приложение В).

6. Результаты исследований оформить в виде таблицы и сравнить с санитарно-бактериологическими показателями почвы (приложение В, таблица 3) и сделать соответствующее заключение.

Таблица – Санитарно-бактериологические показатели исследуемых образцов почвы

Проба почвы	МАФАНМ в 1 г	Коли-титр	Перфрингенс-титр	Заключение

Контрольные вопросы

1. Характеристика процесса самоочищения вод.
2. Правила отбора проб почвы, объемы отбираемых проб.
3. Методы и питательные среды, применяемые для определения санитарно-показательных микроорганизмов почвы.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Для определения микробного числа воздуха используют:
 - 1) МПА;
 - 2) МПБ;
 - 3) среду Сабуро;
 - 4) молочный агар.

2. По формуле Омелянского на площадь чашки с питательной средой 100 см^2 оседает столько микроорганизмов, сколько содержится в 10 л воздуха в течение:
 - 1) 1 ч;
 - 2) 30 мин;
 - 3) 10 мин;
 - 4) 5 мин.

3. Допустимые санитарно-бактериологические показатели для воздуха животноводческих помещений летом:
 - 1) 10 бактерий в 1 м^3 ;
 - 2) 100 бактерий в 1 м^3 ;
 - 3) 500–1000 бактерий в 1 м^3 ;
 - 4) 1500–2500 бактерий в 1 м^3 .

4. Показателем загрязнения воздуха в животноводческих помещениях являются:
 - 1) кишечные палочки;
 - 2) споры актиномицетов;
 - 3) стафилококки;
 - 4) дрожжеподобные грибы;

5. К почвенным инфекциям относятся возбудители:
 - 1) сибирской язвы;
 - 2) сальмонеллеза;
 - 3) хламидиоза;
 - 4) столбняка;
 - 5) злокачественного отека.

- 6.** Коли-титр воды — это:
- 1) число кишечных палочек в 1 л воды;
 - 2) число кишечных палочек в 1 мл воды;
 - 3) объем, в котором обнаруживается одна кишечная палочка.
- 7.** Методы определения коли-титра воды:
- 1) метод бродильных проб;
 - 2) метод мембранных фильтров;
 - 3) метод серийных разведений;
 - 4) метод «висячей капли».
- 8.** Коли-индекс воды — это:
- 1) число кишечных палочек в 1 л воды;
 - 2) объем, в котором обнаруживается одна кишечная палочка;
 - 3) число кишечных палочек в 1 мл воды.
- 9.** При помутнении лактозопептонной среды после посева проб воды пересев делается на среду:
- 1) Китта — Тароцци;
 - 2) Чапека;
 - 3) Эндо;
 - 4) Вильсона — Блера.
- 10.** По медицинскому ГОСТ коли-титр для водопроводной воды:
- 1) менее 100 мл;
 - 2) 1000 мл;
 - 3) не менее 333 мл.
- 11.** Для определения коли-титра почвы методом бродильных проб используются питательные среды:
- 1) среда Кесслера;
 - 2) МПБ;
 - 3) МБА;
 - 4) кровяной агар.

12. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в воде определяют:

- 1) путем посева на МПА;
- 2) путем посева на МППБ;
- 3) путем посева на среду Эндо;
- 4) путем посева на среду Ревина.

13. Коли-индекс показывает число кишечных палочек:

- 1) в 10 мл воды;
- 2) в 100 мл воды;
- 3) в 500 мл воды;
- 4) в 1000 мл воды.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Устройства для отбора проб воздуха, воды, почвы

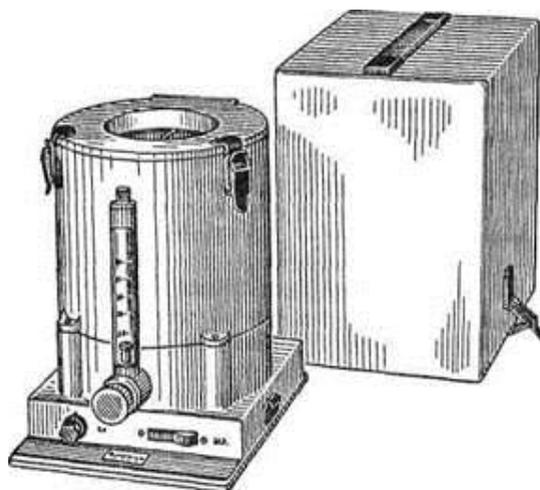
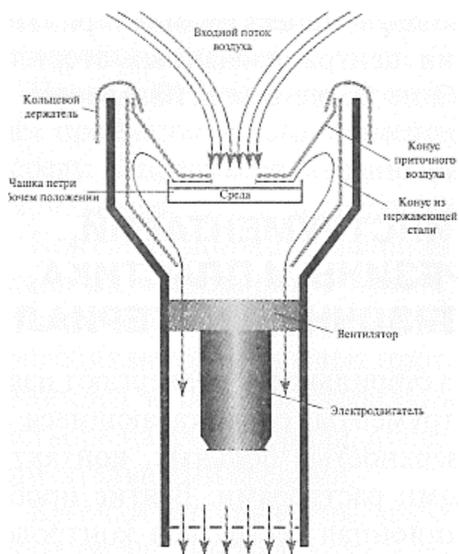


Рис. 1. Аппарат Крогова



Рис. 2. Прибор Речменского



Рис. 3. Пробоотборник воздуха Spin Air

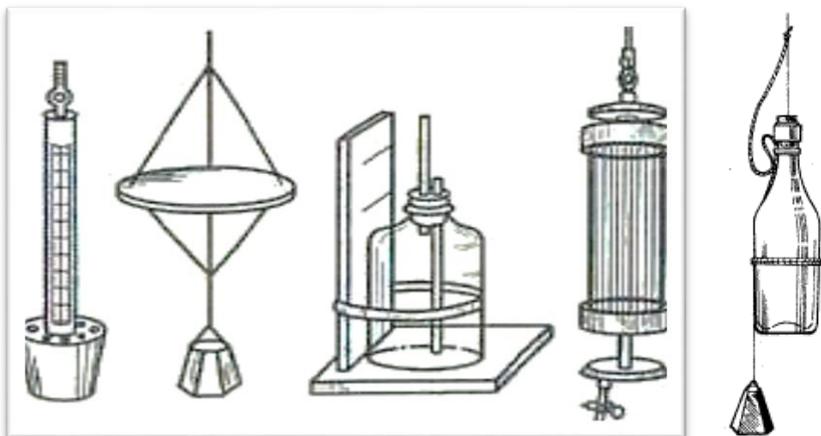


Рис. 4. Приборы для определения физических свойств и отбора проб воды: термометр, диск Ски, бутылка с шестом, батометр, бутылка с грузилом.



Рис. 5 Фильтр Зейтца, смонтированные фильтры



Рис. 6. Набор почвенных буров Эдельмана Р 1.01 для почв на глубине до 8-10 метров



Рис. 7. Пробоотборник Аккермана – для почв на глубине до 50 м с сохранением структуры образца

Приложение Б**Перечень нормативно-технической документации (НТД)
по санитарно-микробиологическому контролю воды**

Название документа	НТД
Охрана природы. Гидросфера. Классификация водопользований.	ГОСТ 17.1.1.03-86
Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества морских вод	ГОСТ 17.1.3.08— 82
Организация госсанэпиднадзора за обеззараживанием сточных вод.	МУ 2.1.5.800-99
Качество вод.	ГОСТ 27065-86
Гигиенические требования к охране поверхностных вод.	СанПиН 2.1.5.980-00
Методические указания по санитарно-биологическому анализу воды поверхностных водоемов.	МУ 2285-81
Санитарно-эпидемиологический надзор за обеззараживанием сточных вод ультрафиолетовым излучением.	МУ 2.1.5.732-99
Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения.	ГОСТ 2764-84
Зоны санитарной охраны источников водоснабжения и водопроводов питьевого назначения	СанПиН 2.1.4.1110-02
Качество питьевой воды централизованных систем водоснабжения	СанПиН 2.1.4.1074-01
Качество воды нецентрализованного водоснабжения	СанПиН 2.1.4.1175-02
Источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Гигиенические, технические требования и правила выбора.	ГОСТ 2761—84
Вода питьевая. Полевые методы санитарно-микробиологического анализа	ГОСТ 24849-81

Приложение В**Микробиологические нормативы санитарного состояния воздуха, воды, почвы****Таблица 1****Микробиологические нормативы санитарного состояния воздуха производственных помещений**

Метод исследования	МАФАНМ, КОЕ, не более	Плесневые грибы, КОЕ, не более
Метод Коха	200 колоний за 20 мин	20 колоний за 20 мин
Метод Кротова	150 колоний в 100 л	15 колоний в 100 л

Таблица 2**Микробиологические нормативы питьевой воды**

Объект контроля	Количество МА-ФАНМ, КОЕ в 1 мл, не более	Коли-титр, не менее	Коли-индекс, не более
Вода водопроводная	100	333	3
Вода открытых водоёмов	1000	111	9

Таблица 3**Ориентировочная схема оценки санитарного состояния почвы**

Почва	Титр			Количество термофилов (в 1 г)
	кишечной палочки	перфрингенса	нитрифицирующих бактерий	
Чистая	1,0 и выше	0,2 и выше	0,1 и выше	100 -1000
Загрязненная	0,9-0,01	0,1-0,0001	0,09-0,001	1001 - 100000
Сильно загрязненная	0,009 и ниже	0,00009 и ниже	0,0009 и ниже	100001 - 400000 0

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БГКП	– бактерии группы кишечной палочки
ВСЭ	– ветеринарно-санитарная экспертиза
ГОСТ	– государственный отраслевой стандарт
ГОСТР	– государственный отраслевой стандарт Российской Федерации
ГПС	– глюкозопептонная среда
МАФАНМ	– мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы
МПА	– мясопептонный агар
МПБ	– мясопептонный бульон
МУ	– методические указания
НТД	– научно-техническая документация
СанПиН	– санитарные правила и нормы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Золотухин, С.Н. Методические указания по проведению лабораторно-практических занятий по санитарной микробиологии / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев. – Ульяновск, 2000. – 14 с.
2. Госманов, Р.Г. Санитарная микробиология: учебное пособие / Р.Г. Госманов, А.Х. Волков, А.К. Галиуллин, А.И. Ибрагимова. – СПб.: Издательство «Лань», 2010. – 240 с.
3. Инешина, Е.Г. Методические указания к лабораторному практикуму по курсу «Санитарная микробиология» / Е.Г. Инешина, С.В. Гомбоева. – Улан-Удэ: Издательство ВСГТУ, 2006. – 90 с.
4. Кондакова, Г.В. Санитарная микробиология: Текст лекций / Г.В. Кондакова; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль: ЯрГУ, 2005. – 84 с.
5. Ожередова, Н.А. Санитарная микробиология: учебное пособие / Н.А. Ожередова, Е.В. Светлакова, М.Н. Веревкина, В.И. Дорофеев. – Ставрополь, 2008. – 141 с.
6. Ожередова, Н.А. Санитарная микробиология: учебное пособие / Н.А. Ожередова, А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов и др. – Ставрополь: АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2014. – 180 с.

Учебное издание

*Федоренко Татьяна Валерьевна,
Землянская Наталья Ивановна*

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебно-методическое пособие
по изучению дисциплины

Часть 1

*для студентов 4 курса очной формы обучения
по направлению подготовки бакалавров
36.03.01 - Ветеринарно-санитарная экспертиза*

В редакции составителей

Лицензия ЛР 020427 от 25.04.1997 г.
Подписано к печати 30.06.2016 г. Формат 60×90/16.
Уч.-изд.л. – 2,3. Усл.-п.л. – 3,3.
Тираж 50 экз. Заказ 95.

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии
издательства Дальневосточного ГАУ
675005, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86

