

**БУЗУЛУКСКИЙ ГИДРОМЕЛИОРАТИВНЫЙ ТЕХНИКУМ – ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Учебно-методическая документация по освоению дисциплины

ОП.07 Микробиология, санитария и гигиена

Специальность 35.02.20 Технология производства, первичной
переработки и хранения сельскохозяйственной продукции

Форма обучения очная

Бузулук, 2025 г.

Лекция № 1

Тема: «Морфология и классификация микроорганизмов»

1 Вопросы лекции:

1.1. Понятие о микробиологии.

1.2. Морфология микроорганизмов.

2. Краткое содержание вопросов

Понятие о микробиологии.

Микробиология (греч. micros - малый, bios - жизнь, logos - учение) - наука о мельчайших (невидимых невооруженным глазом) организмах, названных микробами или микроорганизмами. Она изучает закономерности их жизни и развития, а также изменения, вызываемые ими в организме людей, животных, растений и в неживой природе и методы устранения их вредного воздействия. Микроорганизмы широко распространены в природе. Их общая масса на планете примерно в 25 раз превышает массу всех животных. Встречаются они повсеместно, кроме кратеров вулканов и эпицентра ядерного взрыва. В 1 м³ воздуха содержится от нескольких микробных клеток до десятков тысяч.

Значение микроорганизмов в природе и жизни человека велико. С их помощью получают различные кислоты, спирты, витамины, гормоны, ферменты, антибиотики и др.; используют в хлебопечении, при производстве пива, вина, кисломолочных продуктов, сыра; получают белок (дрожжи, цианобактерии). Развитие микробиологии, как и других научных дисциплин, находится в тесной зависимости от способов производства, запросов практики, общего прогресса науки и техники. Микроорганизмы участвуют в почвообразовательных процессах, формируют полезные ископаемые (нефть, залежи железа, серы, марганца), фиксируют азот. Их условно подразделяют на полезные и вредные. Полезные микроорганизмы изучает общая микробиология, вредные — специальная.

Общая микробиология включает:

- техническую или промышленную, она изучает микроорганизмы, применяемые в производстве молочных продуктов, хлебопечении, виноделии, получении витаминов, ферментов, органических кислот, антибиотиков и других биологически активных веществ;
- сельскохозяйственную — рассматривает микроорганизмы, поражающие сельскохозяйственные растения, повышающие урожайность, участвующие в силосовании кормов, разрабатывает методы борьбы с микроорганизмами — вредителями сельскохозяйственных культур;
- водную — изучает микроорганизмы водоемов, их роль в пищевых цепях, в загрязнении и очистке питьевой и сточных вод, исследует коррозию водных сооружений;
- геологическую — изучает микроорганизмы, обитающие в различных геологических разрезах, участие микроорганизмов в образовании и разрушении горных пород, нефти и газа;
- космическую — исследует влияние космического излучения на земные микроорганизмы, разрабатывает методы использования микроорганизмов в космических кораблях для обеспечения нормальных условий жизни при длительном пребывании человека в космосе;
- почвенную — изучает роль микроорганизмов в образовании и плодородии почвы, в питании растений; ищет методы приготовления бактериальных удобрений.
- пищевую - изучает микроорганизмы, применяемые в изготовлении разнообразных пищевых продуктов путем микробиологического синтеза, а также способы предотвращения их порчи, вызываемой микроорганизмами;
- генетическую - рассматривает молекулярные основы наследственности и изменчивости микроорганизмов;
- военную - создание и производство бактериологического оружия.

Специальная микробиология включает:

- медицинскую — исследует патогенные микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, и разрабатывает методы диагностики, профилактики и лечения этих болезней;

- ветеринарную — изучает возбудителей заболеваний животных, разрабатывает методы их диагностики, профилактики и лечения;
- санитарную — рассматривает распространение патогенных микроорганизмов во внешней среде и методы борьбы с ними.

Морфология микроорганизмов.

Морфология микроорганизмов изучает форму и особенности строения клеток, способность двигаться, образовывать споры, способы размножения и др. По современным представлениям весь органический мир делится на 2 большие империи: 1. доклеточные организмы и 2. клеточные организмы. Организмы, не имеющие клеточного строения - акариоты (вирусы и фаги). Все остальные живые организмы, имеющие клеточное строение, делятся на два надцарства:

1. прокариоты (доядерные). К ним относят царство -дробянки и подцарство - бактерии, т.к. у их клеток нет ядра, а есть только одна внутренняя полость, образуемая клеточной оболочкой.

2. эукариоты (ядерные). К ним относят царства -животных, растений и грибов, у них имеется ядро с ядрышком, окруженное ядерной мембраной.

Микроорганизмы - это мельчайшие, невидимые невооруженным глазом, в большинстве своем одноклеточные живые организмы, широко распространенные в природе и относящиеся к животному и растительному миру. Величина их исчисляется микрометрами ($1 \text{ мкм} = 1/1000 \text{ м}$) и нанометрами ($1 \text{ нм} = 1/1000 \text{ мкм}$).

В мире микроорганизмов бактерий по численности около 4000 видов. Существуют три основные формы бактерий (см. рис. 1) : шаровидная (кокки), палочковидная и извитая, или спиралевидная.

Размеры бактерий ничтожно малы, поперечное сечение клеток большинства бактерий не превышает 0,5-0,8 мкм, средняя длина палочковидных бактерий от 0,5 до 3 мкм. Объем бактериальной клетки в среднем составляет 0,07 мкм³, масса - 5~10-12 г.

В 1 мм³ воды может содержаться более 100 бактериальных клеток. Размеры и форма тела бактерий могут значительно изменяться под влиянием различных факторов внешней среды.

Между строением бактерий и строением высших форм живых организмов имеется существенная разница. Высшие организмы построены сложно в них различают органы, состоящие из тканей, которые в свою очередь сложены из отдельных клеток. Бактерии же представлены лишь одной клеткой, которая и является полностью самостоятельным организмом.

Лекция № 2

Тема: «Физиология микроорганизмов»

1 Вопросы лекции:

1.1. Обмен веществ у микроорганизмов.

1.2. Ферменты микроорганизмов.

1.3. Химический состав микроорганизмов

2. Краткое содержание вопросов

Обмен веществ у микроорганизмов.

Основу жизнедеятельности микроорганизмов, как и всех живых существ, составляет обмен веществ. Обмен веществ (метаболизм) - это совокупность химических превращений веществ, которые протекают в клетке в тесном взаимодействии с окружающей средой. Обмен веществ у микроорганизмов складывается из двух процессов: процессов конструктивного обмена (питание) и энергетического (дыхание).

Процесс питания организма состоит из поступления и усвоения пищи (ассимиляция). Поступившие извне вещества сначала расщепляются на более простые (распад или катаболизм) и из этих разнообразных низкомолекулярных соединений синтезируются сложные вещества (анаболизм). Это так называемый строительный обмен, поскольку постоянно происходит обновление клеточной структуры организма. Этот процесс преобладает в период роста.

Дыхание организма состоит из процессов расщепления и окисления органических веществ (диссимиляция), которая сопровождается освобождением энергии, необходимой для жизни и осуществления синтетических процессов. Этот процесс начинает преобладать у организмов к старости.

Оба эти противоположных процесса находятся в тесной взаимосвязи и взаимозависимости. Они неотделимы один от другого, обуславливают рост, развитие и размножение организма. Конечные продукты обмена веществ выделяются во внешнюю среду.

Особенностью микробов является необычайно интенсивный обмен веществ. За сутки при благоприятных условиях одна клетка потребляет пищи (по массе) в 30-40 раз больше массы своего тела. Основная часть пищи расходуется в энергетическом обмене, при котором выделяется в среду большое количество продуктов обмена: кислот, спиртов, углекислого газа, водорода и др. Эта особенность микроорганизмов широко используется в практике переработки растительного и животного пищевого и непищевого сырья; она же вызывает явление быстрой порчи пищевых продуктов. Такая способность обуславливается наличием у микроорганизмов большого разнообразия ферментов.

Питание микроорганизмов

Микроорганизмы не имеют специальных органов питания. Поступление питательных веществ и воды в клетку и выделение продуктов обмена во внешнюю среду происходит через всю поверхность клеток. Проникновение питательных веществ в клетку всегда осуществляется за счет явления осмоса и диффузии. Явление осмоса всегда возникает там, где есть два раствора с разной концентрацией веществ, разделенных между собой полупроницаемой мембраной.

Проникновение через полупроницаемую перегородку воды и растворенных в ней веществ происходит по-разному. Вода всегда стремится в сторону большей концентрации, чтобы разбавить раствор. Скорость движения будет тем больше, чем больше будет разность концентраций растворенных веществ по обе стороны полупроницаемой мембраны. Каждое растворенное вещество движется в ту сторону, где его концентрация ниже. Движущей силой будет возникшее осмотическое давление т. е. та энергия, с которой оба вещества будут стремиться выровнять свою концентрацию.

Проникновение каждого вещества через перегородку прекращается лишь тогда, когда по обе стороны концентрация его станет одинаковой. В зависимости от концентрации веществ в окружающей среде микробная клетка может находиться в трех состояниях.

1. Тургор - если осмотическое давление микробных клеток, обусловленное растворенными в клеточном соке веществами, несколько выше, чем в среде, то за счет притока из нее воды в клетке создается определенное упругое напряжение. Протопласт клетки при этом прижимается к клеточной оболочке, слегка растягивая ее. Находясь на пищевых продуктах в таком состоянии, микробы проявляют большую активность и быстро вызывают порчу. Поэтому в пищевой промышленности часто используются такие методы консервирования пищевых продуктов, как сушка и вяление, чтобы микробы не переходили в состояние тургора и не вызывали их порчу.

2. Плазмолиз - если микроорганизм попадает в субстрат, осмотическое давление которого выше, чем в клетке, то цитоплазма отдает воду во внешнюю среду. Питательные вещества в клетку не поступают, содержимое клетки уменьшается в объеме, и протопласт отстает от клеточной оболочки. Это явление широко используется в пищевой промышленности, когда продукты питания консервируются сахаром и солью.

3. Плазмолитис - явление, обратное плазмолизу. Наступает при чрезмерно низком осмотическом давлении внешней среды, когда вследствие высокой разности осмотических давлений цитоплазма быстро переполняется водой. Это может привести к разрыву клеточной оболочки, что наблюдается, например, при помещении бактерий в дистиллированную воду.

Требования большинства микроорганизмов к источникам питания разнообразны. Однако, учитывая некоторые общие особенности питания микробов, их принято делить на две группы.

Автотрофы - питаются, подобно зеленым растениям, минеральными веществами, синтезируя из этих простых веществ все сложные компоненты клетки. Автотрофные (от греч. autos

- сам, *trophe* - пища) микроорганизмы способны в качестве единственного источника углерода для синтеза органических веществ тела использовать угольную кислоту и ее соли.

Среди автотрофных микроорганизмов имеются виды, которые ассимилируют углекислый газ, как и зеленые растения, используя солнечную энергию, - их называют - фотосинтезирующими. К ним относятся некоторые пигментные бактерии, например зеленые и пурпурные серобактерии.

Другие автотрофные микроорганизмы в процессе синтеза органических соединений используют энергию химических реакций окисления некоторых минеральных веществ. Такие микроорганизмы называют хемосинтезирующими. К ним относятся бактерии, окисляющие водород с образованием воды (водородные бактерии), аммиак в азотистую кислоту (нитрифицирующие бактерии), сероводород до серной кислоты (бесцветные серобактерии).

Гетеротрофы (от греч. *heteros* - другой) - подобно животным организмам нуждаются в органических соединениях, которые служат одновременно источником углерода и энергии. Их подразделяют на две группы:

- сапрофиты (от греч. *sapros* - гнилой, *phyton* - растение) - они живут за счет использования органических веществ различных субстратов животного и растительного происхождения. К ним относятся все те микробы, которые разлагают органические вещества в природе (в почве, воде), вызывают порчу пищевых продуктов или используются в процессах переработки растительного и животного сырья;

- паразиты - они способны развиваться только в теле других организмов, питаясь органическими веществами, входящими в состав последних. К паразитам принадлежат возбудители заболеваний человека, животных и растений.

Ферменты микроорганизмов.

Ферменты (энзимы) - вещества, способные каталитически влиять на скорость биохимических реакций. Они играют важную роль в жизнедеятельности микроорганизмов. Открыты ферменты в 1814 г. русским академиком К.С.Кирхгофом.

Как и другие катализаторы, ферменты в реакциях превращения веществ принимают участие лишь в качестве посредников. Количественно в реакциях они не расходуются. Ферменты микроорганизмов обладают целым рядом свойств:

- 1) При температуре до 40-50°C увеличивается скорость ферментативной реакции, но затем скорость падает, фермент перестает действовать. При температуре выше 80°C практически все ферменты необратимо инактивируются.

- 2) По химической природе ферменты бывают однокомпонентными, состоящими только из белка, и двухкомпонентными, состоящими из белковой и небелковой частей. Небелковая часть у ряда ферментов представлена тем или иным витамином.

- 3) На активность фермента оказывает большое влияние pH среды. Для одних ферментов наилучшей является кислая среда, для других - нейтральная или слабощелочная.

- 4) Ферменты обладают высокой активностью. Так, молекула каталазы разрушает в минуту 5 млн молекул пероксида водорода, а 1 г амилазы при благоприятных условиях превращает в сахар 1 т крахмала.

- 5) Каждый фермент обладает строгой специфичностью действия, т. е. способностью влиять только на определенные связи в сложных молекулах или лишь на определенные вещества. Например, амилаза вызывает расщепление только крахмала, лактаза - молочного сахара, целлюлаза - целлюлозы и т. д.

- 6) Ферменты, присущие данному микроорганизму и входящие в число компонентов его клетки, называются конститутивными. Существует и другая группа - ферменты индуцируемые (адаптивные), которые вырабатываются клеткой только при добавлении к среде вещества (индуктора), стимулирующего синтез данного фермента. В этих условиях микроорганизм синтезирует фермент, которым, он не обладал.

7) По характеру действия ферменты подразделяются на экзоферменты, которые выделяются клеткой во внешнюю среду, и эндоферменты, которые прочно связаны с внутренними структурами клетки и действуют внутри нее.

8) Хотя ферменты вырабатываются клеткой, но и после ее смерти они временно еще остаются в активном состоянии и может произойти автолиз (от греч. autos - сам, lysis - растворение) - саморастворение или самопереваривание клетки под влиянием ее собственных внутриклеточных ферментов.

В настоящее время известно более 1000 ферментов. Ферменты делятся на 6 классов:

1-й класс - оксидоредуктазы - играют большую роль в процессах брожения и дыхания микроорганизмов, т. е. в энергетическом обмене.

2-й класс - трансферазы (ферменты переноса) катализируют реакции переноса групп атомов от одного соединения к другому.

3-й класс - гидролазы (гидролитические ферменты). Они катализируют реакции расщепления сложных соединений (белки, жиры и углеводы) с обязательным участием воды.

4-й класс - лиазы включают двухкомпонентные ферменты, отщепляющие от субстратов определенные группы (CO_2 , H_2O , NH_3 и т. д.) негидролитическим путем (без участия, воды).

5-й класс - изомеразы - это ферменты, катализирующие обратимые превращения органических соединений в их изомеры.

6-й класс - лигазы (синтетазы) - это ферменты, катализирующие синтез сложных органических соединений из более простых. Лигазы играют большую роль в углеводном и азотном обмене микроорганизмов.

Применение ферментов микробов в пищевой и легкой промышленности позволяет значительно интенсифицировать технологический процесс, повысить выход и улучшить качество готовой продукции. Препараты амилазных ферментов применяют при производстве этилового спирта из крахмалосодержащего сырья вместо зернового солода, а в хлебопекарной промышленности взамен солода при приготовлении заварного ржаного хлеба; добавляют грибные амилазы и в пшеничное тесто. Поскольку в этом препарате помимо амилазы имеются, хотя и в небольшом количестве, другие ферменты (мальтаза, протеазы), процесс изготовления теста ускоряется, увеличиваются объем и пористость хлеба, улучшаются его внешний вид, аромат и вкус. Применение этих ферментных препаратов в пивоварении позволяет частично заменить солод ячменем. С помощью грибной глюкоамилазы получают глюкозную патоку и кристаллическую глюкозу из крахмала. Пектолитические ферментные грибные препараты используют в сокоморсовом производстве и виноделии. В результате разрушения пектина этими ферментами ускоряется процесс выделения сока, повышается его выход, фильтрация и осветление. Ферментные препараты, содержащие микробные протеазы, используют для повышения стойкости (предохранения от белкового помутнения) вина и пива, а в сыроделии - взамен (частично) сычужного фермента. Целесообразно применять микробные протеазы для размягчения мяса, ускорения созревания мяса и сельди, получения из отходов рыбной и мясной промышленности пищевых гидролизатов и для других технологических процессов переработки животного и растительного сырья.

Химический состав микроорганизмов

По составу веществ клетки микроорганизмов мало чем отличаются от клеток животных и растений. В них содержится 75-85% воды, остальные 16-25% составляет сухое вещество. Вода в клетке находится в свободном и в связанном состоянии. Связанная вода входит в состав коллоидов клетки (белки, полисахариды и др.) и с трудом высвобождается из них. Свободная вода участвует в химических реакциях, служит растворителем для различных соединений, образующихся в клетке в процессе обмена веществ.

Сухое вещество клетки состоит из органических и минеральных веществ.

Если содержание сухого вещества принять за 100%, то на долю минеральных веществ приходится 2-14%, остальная часть сухого вещества представлена органическими соединениями:

белки - до 52%,

полисахариды - до 17%,
нуклеиновые кислоты (РНК до 16%, ДНК до 3%),
липиды - до 9%

Эти соединения входят в состав различных клеточных структур микроорганизмов и выполняют важные физиологические функции. В клетках микроорганизмов находятся и другие вещества - органические кислоты, их соли, пигменты, витамины и др.

Лекция № 3

Тема: «Влияние условий внешней среды на микроорганизмы»

1 Вопросы лекции:

1.1. Влияние физических факторов.

1.2. Влияние химических и биологических факторов.

1.3. Распространение микроорганизмов в природе

2 Краткое содержание вопросов

Влияние физических факторов.

Жизнедеятельность микробов находится в зависимости от условий окружающей среды. Создавая те или иные условия в среде, где развиваются микроорганизмы, можно способствовать развитию полезных и подавлять жизнедеятельность вредных микробов. Большинство пищевых продуктов по химическому составу представляют собой благоприятную питательную среду для различных микроорганизмов. Поэтому очень важно обратить внимание на то, что пищевые продукты могут хорошо сохраняться только при создании неблагоприятных условий для развития в них вредных микробов.

Оптимум - величина, при которой лучше всего проявляются отдельные функции микроорганизма и его жизнедеятельность в целом. Максимум и минимум - верхний и нижний пределы величины фактора, выше и ниже которой жизнедеятельность микроорганизмов почти не проявляется. Пороговый эффект - неожиданно, без каких бы то ни было предупреждающих сигналов, следующее, даже небольшое изменение во влиянии фактора внешней среды может оказаться критическим.

Факторы среды подразделяются на 3 группы: физические, химические и биологические.

Температура - один из главных факторов, определяющих развитие микроорганизмов. Интервал между максимальными и минимальными значениями у разных микроорганизмов неодинаков. Например, пределы температуры развития плесневых грибов составляют от - 8°C до 60°C, т.е. интервал составляет почти 70°C, тогда как у других он равен всего 1-2°C. В зависимости от оптимальной температуры развития микробы подразделяются на группы.

Психрофилы - холодолюбивые микроорганизмы, хорошо растут при относительно низких температурах. Для них характерны: минимум (-10 - 0°C), оптимум (10-15°C), максимум (около 30°C). К ним относятся микробы, обитающие в почве полярных стран, в северных морях, на охлажденных и замороженных продуктах.

Мезофилы - микроорганизмы, для которых температурный минимум лежит около 5-10°C, оптимум - около 25-35°C, максимум - в пределах 40-50°C. Представители этой группы чаще остальных вызывают порчу пищевых продуктов, хранящихся без охлаждения.

Термофилы - теплолюбивые микроорганизмы, лучше развиваются при относительно высоких температурах. Для них характерны: минимум (около 30°C), оптимум (50-65°C), максимум (70-80°C), а для некоторых и более. Обитают они в некоторых почвах, пищеварительном тракте животных, горячих источниках, в почве южных широт.

Влияние высоких температур. Температуры, превышающие максимальные, действуют на микробы губительно. Высокие температуры микроорганизмы переносят значительно хуже, чем низкие. Более устойчивы к нагреванию термофилы, обладающие повышенной термоустойчивостью.

Термоустойчивость - это способность микроорганизмов выдерживать длительное нагревание при температурах, превышающих температурный максимум их развития. Термоустойчивость связана с наличием у микроорганизмов спор. Наиболее термоустойчивыми являются споры бактерий. На губительном действии высоких температур основаны различные методы уничтожения микроорганизмов в пищевых продуктах. Это кипячение, варка, бланширование, обжарка, а также пастеризация и стерилизация.

Влияние низких температур. К низкой температуре микроорганизмы более устойчивы. Несмотря на то, что размножение и биохимическая активность микробов при температуре ниже минимальной прекращаются, гибель самих клеток чаще всего не наступает, они переходят в состояние анабиоза («скрытой жизни»). В таком состоянии многие микроорганизмы, и особенно их споры, остаются жизнеспособными длительное время.

Влажность среды оказывает большое влияние на развитие микроорганизмов. Вода входит в состав из клеток (до 85%) и поддерживает тургорное давление в них. Минимальная влажность среды, при которой возможно еще развитие бактерий, равна 20-30%, а для многих плесеней 11-13%, а в отдельных случаях даже 6% (хлопковое волокно). Потребность во влаге у различных микроорганизмов колеблется в широких пределах.

Различают микроорганизмы гидрофиты - влаголюбивые, мезофиты - средневлаголюбивые и ксерофиты - сухолюбивые. Бактерии и дрожжи в преобладающем большинстве гидрофиты.

Для жизнедеятельности микроорганизмов большое значение имеет осмотическое давление среды, которое определяется концентрацией растворенных в ней веществ. Находясь в субстратах с высоким осмотическим давлением, микроорганизмы не могут осуществлять нормальный обмен веществ. Значительная часть воды из цитоплазмы уходит в окружающую среду. Клетка обезвоживается, и наступает состояние плазмолиза. На этом основаны некоторые способы сохранения различных продуктов с помощью концентрированных растворов сахара и соли. Среди микроорганизмов имеются осмофильные, которые способны развиваться в сильноконцентрированных средах. Например, хорошо переносят большие концентрации сахара некоторые дрожжи, стафилококки, плесневые грибы. Микробы, устойчивые к высоким концентрациям поваренной соли, носят название галофильных (солелюбивые).

Свет - рассеянный солнечный свет мало влияет на жизнедеятельность микробов, на прямой солнечный свет вызывает довольно быструю гибель большинства из них. Наиболее заметным бактериоубивающим (бактерицидным) действием обладает часть светового спектра с короткими длинами волн (ультрафиолетовая, фиолетовая, голубая). Ультрафиолетовые лучи - вызывают либо гибель, либо мутации микроорганизмов в зависимости от вида микробов, дозы и продолжительности облучения. УФ-лучи применяются для дезинфекции воздуха в медицинских и производственных помещениях, в холодильных камерах, для обеззараживания производственного оборудования, упаковочных материалов тары. Обработка воздуха в течение 6 ч уничтожает до 80% микробов.

Влияние химических и биологических факторов.

Водородный показатель реакции среды pH показывает степень ее кислотности (pH от 7 до 1) или щелочности (pH от 7 до 14). Нейтральная реакция среды соответствует 7. Пределы эти для одних микроорганизмов широки, для других значительно уже. В зависимости от отношения к pH среды все микроорганизмы можно разделить на три группы.

Нейтрофилы - предпочитают нейтральную среду (6,8-7,3). Это почти все гнилостные бактерии, возбудители пищевых отравлений, бактерии группы кишечной палочки и др.

Ацидофилы (кислотолюбивые) развиваются при оптимальном pH 4 и ниже. Это уксуснокислые, молочнокислые и другие бактерии, продуцирующие органические кислоты и плесневые грибы.

Алкалофилы (щелочелюбивые) развиваются при оптимальном pH 9 и выше. Это некоторые представители бактерий кишечной группы - холерный вибрион и др. Влиянием кислотности на

микроорганизмы широко пользуются в микробиологической практике при переработке и хранении пищевых товаров. Так, подавляющее действие кислот на гнилостные микроорганизмы положено в основу квашения овощей. На этом же принципе основано получение кисломолочных продуктов.

Многие химические вещества действуют губительно на микроорганизмы. Такие вещества называют антисептиками. Их действие на микроорганизмы зависит от концентрации и продолжительности воздействия, а также pH среды и температуры. Чувствительность различных видов к одному и тому же антисептику неодинакова. В связи с тем, что некоторые из них придают продуктам неприятный вкус и запах и что большинство антисептических веществ в определенной степени ядовиты для человека, применение их для обработки пищевых товаров ограничено. Бактерицидные химические вещества по их действию на бактерии подразделяются на ряд групп:

поверхностно-активные вещества - способны накапливаться на поверхности и вызывать резкое снижение поверхностного натяжения, что приводит к нарушению нормального функционирования клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. К ним относятся жирные кислоты, в том числе и мыла, которые вызывают повреждение только клеточной стенки и не проникают в клетку;

фенол, крезол и их производные - первоначально повреждают клеточную стенку, а затем и белки клетки; красители - обладают свойством задерживать рост бактерий. В основе их действия лежит выраженное родство к фосфорнокислым группам нуклеопротеидов. К красителям с бактерицидными свойствами относят бриллиантовый зеленый, риванол, триафлавин, акрифлавин и др.;

соли тяжелых металлов (свинец, медь, цинк, серебро, ртуть) вызывают коагуляцию белков клетки. При взаимодействии соли тяжелого металла с белком образуются альбуминат металла и свободная кислота. Ряд металлов (серебро, золото, медь, олово, свинец и др.) обладает олигодинамическим действием (бактерицидная способность). Доказано, что в воде, находящейся в контакте с металлическим серебром, в которой не обнаруживаются обычным методом даже следы растворившегося металла, микроорганизмы погибают;

окислители - к ним относятся хлор, поражающий дегидразы, гидролазы, амилазы, протеазы бактерий, широко используемый для дезинфекции питьевой воды, тары, оборудования, инвентаря. В этих же целях используют озон.

формальдегид употребляют в виде 40%-ного раствора - так называемого формалина. Его противомикробное действие объясняется тем, что он присоединяется к аминогруппам белков и вызывает их денатурацию. Формальдегид убивает как вегетативные формы, так и споры.

Применение антисептиков для консервирования пищевых продуктов ограничено. Доза антисептика должна быть достаточной, чтобы обеспечить надлежащее консервирующее действие, но безвредной для человека, и не влиять отрицательно на продукт. Поэтому к использованию допущены очень немногие антисептики в малых дозах (от сотых до одной-двух десятых процента) и только для некоторых пищевых продуктов. Это салициловая кислота, которая эффективно подавляет развитие плесневых грибов. В связи с токсичностью для человека применение ее для защиты пищевых товаров постепенно снижается, и в последнее время все чаще используют лимонную кислоту. Бензойная кислота содержится в бруснике, клюкве и ее применяют для консервирования полуфабрикатов из плодово-ягодного сырья и рыбных и мясных пресервов. Сорбиновая кислота (естественная, выделенная из ягод рябины) находит все более широкое применение для консервирования плодовоовощной продукции. Этиловый спирт в разведенном состоянии (50-70°) более активен, чем ректификат (96°). Спиртовые настойки и экстракты плодов и ягод являются более стойкими, обычно не поддающимися микробной порче длительное время, тогда как водные экстракты быстро разрушаются микроорганизмами. Углекислый газ (CO₂) абсолютно безвреден при введении в пищевые продукты, обладает способностью быстро и полностью удаляться из них после извлечения продуктов из камеры хранения. Находясь в атмосфере в количестве 20-30%, углекислый газ значительно замедляет жизнедеятельность большинства микробов, а концентрации его 60-80% и больше практически прекращают их

развитие. Углекислый газ обладает свойством легко проникать через различные материалы, поэтому подавляет развитие микробов не только на поверхности, но и в толще продуктов (в фарше, колбасах и т.д.). Углекислый газ при его промышленном получении дешев, недефицитен, практически безопасен при использовании. На антисептических свойствах дыма, получаемого от некоторых пород деревьев, основано копчение рыбных и мясных продуктов. Содержащиеся в дыме альдегиды, кетоны, фенолы, спирты, смолы, кислоты и другие вещества оказывают бактерицидное действие на микроорганизмы.

Распространение микроорганизмов в природе

Микробы повсеместно распространены в окружающей нас среде. Они находятся в почве, воде, воздухе на растениях, в пищевых продуктах, в организме человека, животных. Глубокие знания о микроорганизмах во внешней среде приобретают особое значение в условиях постоянно и быстро развивающейся промышленности, роста городов и усиливающегося в целом влияния человека на состояние окружающей среды. Особенно серьезным становится положение с пресными водами, загрязняемыми как промышленными и бытовыми отходами, так и разнообразной микрофлорой. Состав микрофлоры, его формирование и динамика изменений зависит от окружающей среды, а также от свойств и состояния каждого объекта.

Почва является хорошей средой для обитания микроорганизмов в связи с наличием в ней питательных веществ и влаги. Почва хорошо защищает их от влияния прямого солнечного света, высушивания, вследствие чего количество микробов в 1 г почвы достигает колоссальных размеров: от 200 млн. бактерий в глинистой почве, до 5 млрд. в черноземной. В 1 г пахотного слоя почвы содержится 1-10 млрд. бактерий. Наибольшее количество (1000000 в 1 мм³) микробов содержится в верхнем слое почвы на глубине 5-15 см. В глубинных слоях встречаются единичные микробы; они обнаружены и в артезианской воде.

Обсемененность почвы микроорганизмами находится в тесной зависимости от степени загрязнения ее фекальными массами и мочой, а также от характера обработки и удобрения.

Из почвы микробы с пылью или с потоками дождевой или снеговой воды попадают в реки, озера и другие природные воды, в воздух. Таким образом, почва является первоисточником микробов в природных условиях.

Ценным показателем санитарного состояния почвы является обнаружение в ней бактерий *E.coli* (кишечная палочка) и близких к ней бактерий, а также *Str. faecalis* (фекального стрептококка), *Clostridium perfringens* (клостридии перфрингенс).

Природные воды, как и почва, являются естественной средой обитания многих микроорганизмов, где они способны жить, размножаться, участвовать в процессах круговорота углерода, азота, серы, железа и других элементов. Количественный и качественный состав микрофлоры природных вод разнообразен.

По степени микробного загрязнения различают три зоны водоема:

1) Полисапробная зона - сильно загрязненная вода, бедная кислородом и богатая органическими соединениями. Число бактерий в 1 мл достигает 1 000 000 и более; преобладают *E.coli* и анаэробные бактерии, вызывающие процессы гниения и брожения.

2) Мезосапробная зона - зона умеренного загрязнения, где происходит минерализация органических веществ с интенсивным окислением и выраженной нитрификацией. Число бактерий в 1 мл составляет сотни тысяч; количество *E. coli* значительно меньше.

3) Олигосапробная зона - характерна для чистой воды. Количество микробов незначительно, в 1 мл насчитывается несколько десятков или сотен; *E. coli* в этой воде отсутствует.

Водопроводная вода считается хорошей, если общее количество микробов в 1 мл равно 100, сомнительной при 100-150 микробах, загрязненной - при 500 и более. В воде колодцев и открытых водоемов число микробов в 1 мл не должно быть более 1000. Кроме того, качество воды определяется по наличию в ней *E. coli* и ее вариантов. Вода является мощным фактором передачи

ряда инфекционных заболеваний: брюшного тифа, сальмонеллезных гастроэнтеритов, холеры, дизентерии, лептоспирозов и др.

Воздух является неблагоприятной средой для жизни микроорганизмов. В нем они не находят пищи, подвергаются высушиванию, губительному действию прямых солнечных лучей и поэтому большая часть их погибает.

Состав микробов воздуха весьма разнообразен. Он зависит от степени загрязнения воздуха минеральными и органическими взвесями, температуры, осадков, характера местности, влажности и других факторов. Чем выше концентрация в воздухе пыли, дымов, копоти, тем больше микробов. Над поверхностью гор, морей арктических стран, океанов микробы встречаются редко. Например, воздух Арктики содержит 2-3 микроба на 20 м³. В лесу, особенно хвойном, микробов очень мало, на них оказывают губительное действие летучие вещества растений - фитонциды, обладающие бактерицидными свойствами. Над Москвой на высоте 500 м в 1 м³ воздуха обнаруживают 1100-2700 микробов, в то время как на высоте 2000 м - от 500 до 700. В 1 г пыли содержится до 1 млн бактерий. Через воздух могут передаваться вместе с каплями слюны и мокроты при чиханье, кашле, разговоре возбудители гриппа, кори, скарлатины, дифтерии, коклюша, стафилококковой, стрептококковой и менингококковой инфекций, ангина, острых катаров дыхательных путей, туберкулеза, оспы, легочной формы чумы и других заболеваний.

Микробы могут распространяться токами воздуха, воздушно-пылевым и воздушно-капельным путем. При чиханье, кашле, разговоре больной человек выбрасывает в окружающую среду на расстояние 1-1,5 м и более вместе с каплями слюны, мокроты патогенные бактерии. Человек в среднем вдыхает за сутки 12 000-14 000 л воздуха, причем 99,8% микробов, содержащихся в воздухе, задерживаются в дыхательных путях.

Лекция № 4

Тема: «Влияние условий внешней среды на микроорганизмы»

1 Вопросы лекции:

- 1.1. Свойства патогенных микроорганизмов.**
- 1.2. Защитные силы организма в борьбе с инфекциями.**
- 1.3. Пищевые заболевания микробной природы.**

2 Краткое содержание вопросов Свойства патогенных микроорганизмов.

Микробы, способные вызывать заболевания людей, животных и растений, получили название патогенных или болезнетворных.

Инфекционный процесс - исторически сложившееся взаимодействие восприимчивого человеческого организма и патогенного микроорганизма в определенных условиях внешней и социальной среды, крайней степенью которого является инфекционная болезнь.

Для возникновения и развития инфекционного процесса необходимы:

- . Наличие патогенного микроба.
- . Проникновение его в восприимчивый организм.
- . Определенные условия внешней среды, в которой происходит взаимодействие между микроорганизмом и макроорганизмом.

Условно-патогенные микроорганизмы - обитают на коже, в кишечнике, дыхательных путях, мочеполовых органах. При нормальных физиологических условиях жизни эти микробы не вызывают заболевания, но при переутомлении организма, его перегревании, охлаждении, интоксикации, ионизирующей радиации они становятся способными вызывать ряд заболеваний - аутоинфекций.

Свойства патогенных микроорганизмов:

строгая специфичность - каждый вид микробов способен вызывать только определенную болезнь с характерными для нее симптомами.

патогенность - потенциальная способность определенного вида микробов приживаться в макроорганизме, размножаться и вызывать определенное заболевание.

вирулентность - означает степень болезнетворного действия микроба.

способность к токсинообразованию - способность патогенных микроорганизмов вырабатывать ядовитые вещества - токсины. Поступая в кровь или лимфу, они поражают внутренние органы и вызывают отравления организма различной степени. Они могут быть двух видов: экзо- и эндотоксины. Экзотоксины выделяются в окружающую среду микробами при их жизни, они обладают большой ядовитостью по отношению к живому организму. Под влиянием нагревания и света они легко разрушаются, а под действием некоторых химических веществ теряют свою токсичность. Эндотоксины - прочно связаны с телом микробной клетки и освобождаются после ее гибели и разрушения. Они менее токсичны, весьма устойчивы к действию высоких температур, не теряют своей токсичности даже при кипячении.

Инкубационный период - определенный промежуток времени с момента внедрения патогенного микроба до появления первых признаков заболевания.

Явление бактерионосительства возникает при прекращении лечения до наступления полного выздоровления; при неправильно проводившемся лечении; иногда при самоизлечении легко протекавшего заболевания, прошедшего незамеченным.

Пути передачи инфекции от больного человека к здоровому:

- фекально-оральный (через воду, воздух, почву, пищевые продукты, загрязненные руки, предметы обихода и т.п.);
- воздушно-капельный (через воздух, в котором микробы находятся в виде аэрозолей - при чихании, кашле);
- воздушно-пылевой (с пылью);
- трансмиссионный - переносчиками инфекций являются некоторые насекомые (клещи, блохи, вши, комары, мухи) и грызуны.

Защитные силы организма в борьбе с инфекциями.

Под термином иммунитет (от лат. *immunitas* - избавление от чего-либо) подразумевают невосприимчивость организма к инфекционным и неинфекционным агентам. Организмы животных и людей весьма четко дифференцируют «свое» и «чужое», благодаря чему обеспечивается защита не только от внедрения патогенных микроорганизмов, но и от чужеродных белков, полисахаридов, липополисахаридов и других веществ.

Защитные факторы организма против инфекционных агентов и других чужеродных веществ подразделяются на:

неспецифическая резистентность - механические, физико-химические, клеточные, гуморальные, физиологические защитные реакции, направленные на сохранение постоянства внутренней среды и восстановления нарушенных функций макроорганизма.

специфический иммунитет — когда в организме уже содержатся готовые антитела или они начинают вырабатываться на внедренный чужеродный агент. Специфический иммунитет может быть:

- врожденный иммунитет - резистентность организма к определенным патогенным агентам, которая передается по наследству и присуща определенному виду;
- приобретенный иммунитет - специфическая защита против генетически чужеродных субстанций (антигенов), осуществляемую иммунной системой организма в виде выработки антител.

Неспецифическая резистентность организма обусловлена такими факторами защиты, которые не нуждаются в специальной перестройке, а обезвреживают чужеродные тела и вещества в основном за счет механических или физико-химических воздействий. К ним относятся:

Кожа - являясь физической преградой на пути микроорганизмов, она одновременно обладает бактерицидным свойством в отношении возбудителей желудочно-кишечных и других заболеваний. Бактерицидное действие кожи зависит от ее чистоты. На загрязненной коже микробы сохраняются дольше, чем на чистой.

Слизистые оболочки глаз, носа, рта, желудка и других органов, подобно кожным барьерам, в результате непроницаемости их для различных микробов и бактерицидного действия секретов осуществляют противомикробные функции. В слезной жидкости, мокроте, слюне находится специфический белок лизоцим, который вызывает «лизис» (растворение) многих микробов.

Желудочный сок (в его состав входит соляная кислота) обладает весьма выраженными бактерицидными свойствами в отношении многих возбудителей, особенно кишечных инфекций.

Лимфатические узлы - в них задерживаются и обезвреживаются патогенные микробы. В лимфатических узлах развивается воспаление, губительно действующее на возбудителей инфекционных болезней.

Фагоцитарная реакция (фагоцитоз) - открыл ее И.И.Мечников. Он доказал, что некоторые клетки крови (лейкоциты) способны захватывать и переваривать микробы, освобождая от них организм. Такие клетки называют фагоцитами.

Антитела - особые специфические вещества микробной природы, способные инактивировать микробы и их токсины. Эти защитные вещества в различных тканях и органах (селезенке, лимфатических узлах, костном мозге). Они вырабатываются при внедрении в организм болезнетворных микробов, чужеродных белковых веществ, сыворотки крови других животных и т.д. Все вещества, способные вызывать образование антител - антигены. Так, антитела бактериолизины вызывают лизис бактерий, агглютинины - склеивание микробных клеток, антитоксины - нейтрализуют токсины.

Приобретенный иммунитет может быть естественным, появляющимся в результате перенесенного инфекционного заболевания и искусственным, который приобретается вследствие введения в организм специфических биопрепаратов - вакцин и сывороток.

Вакцины представляют собой убитых или ослабленных возбудителей инфекционных заболеваний или их обезвреженные токсины. Приобретенный иммунитет является активным, т.е. возникшим в результате активной борьбы организма с возбудителем болезни.

Лечебные сыворотки представляют собой жидкую часть крови животных, перенесших инфекционное заболевание в результате искусственного заражения. Иммунитет, возникающий при их применении, наступает быстро - в течение нескольких часов. Называют его пассивным, т.к. он обуславливается содержащимися в сыворотке защитными веществами (антителами), вводимыми в организм в готовом виде

Пищевые заболевания микробной природы.

Заболевания, возникающие в связи с употреблением пищевых продуктов, инфицированных токсигенными микроорганизмами, называются пищевыми. Загрязнение пищевых продуктов этими микробами может происходить через руки персонала пищевых производств, предприятий торговли и общественного питания, а также через бацилло-, бактерио- и вирусоносителей, работающих в этих сферах; через воздух производственных помещений, через воду, не отвечающую санитарным требованиям, и полученный из нее лед, соприкасающийся с продуктами при хранении; через грязную тару. Плоды, овощи и ягоды загрязняются при выращивании их на почве, удобряемой фекалиями. Мясо и молоко могут быть заражены токсигенной микрофлорой, если они получены от больных животных.

Пищевые заболевания по происхождению и симптомам болезни принято делить на несколько групп:

Пищевые инфекции - к ним относятся заразные заболевания, при которых пищевые продукты являются лишь передатчиками токсигенных микробов, в них они не размножаются, но могут длительное время сохранять жизнеспособность и вирулентность.

Для возникновения заболевания достаточно содержания в продукте небольшого количества клеток возбудителя заболевания, которые, попав в макроорганизмы, активно размножаются и вызывают определенное заболевание. Источником заражения пищевых продуктов возбудителями пищевых инфекций являются люди и животные (больные и носители инфекций).

Пищевые отравления (интоксикации) - возбудители в отличие от возбудителей пищевых инфекций способны жить и активно размножаться на продуктах. При этом пищевые продукты, не меняя заметно органолептических свойств, становятся ядовитыми в результате накопления в них токсинов.

Пищевые токсикоинфекции - это группа заболеваний, занимающих промежуточное положение между типичными инфекциями и пищевыми отравлениями. Протекают они подобно интоксикациям, как острые желудочно-кишечные заболевания, и в то же время они заразны.

Гельминтозы - возбудителями гельминтозов служат паразитические черви, или гельменты. Они отравляют организм человека токсическими веществами, лишают его пищи, вызывают истощение и заболевания.

Диарея «путешественников» - возникновение частого жидкого стула в связи с переменой места жительства. У людей, попавших в другие страны и на континенты, вследствие употребления

местных продуктов питания и воды, содержащих другую по составу микрофлору, может возникнуть диарея.

Лекция № 5

Тема: «Микроорганизмы зерна и продуктов его переработки»

1 Вопросы лекции:

1.1. Микрофлора зерна.

1.2. Микрофлора муки.

1.3. Микрофлора крупы.

1.4. Микрофлора комбикормов

2 Краткое содержание вопросов

Микрофлора зерна.

Микрофлора зерна представлена несколькими группами микроорганизмов.

I – эпифитные м/о – микроорганизмы, которые нормально сопутствуют жизни растений и находятся на его поверхности. Они питаются за счет органических выделений тканей растений и загрязнителей на них.

II – микробы, случайно попавшие на зерно с пылью, дождем, насекомыми.

III – микробы, паразитирующие на растениях и вызывающие их заболевания.

IV – микроорганизмы почвы, попадающие на зерно во время обмолота и уборки.

Эпифитные м/о не могут проникать в ткани через оболочки растительных леток и не оказывают вредного воздействия на развитие растений. Типичными эпифитами являются не образующие спор палочки Бактериум гербикола и Псевдомонас флюоресцирующий, а также разнообразные кокки, спорообразующие бактерии и некоторые плесневые грибы.

В зерне, поступающем на хранение, содержится 3 основных группы м/о, подразделяемых по типу питания:

1) сапрофитные микробы – образующие споры бактерии, плесневые грибы, актиномицеты, дрожжи, дрожжеподобные грибы и др. Для хранения зерна очень важен количественный и качественный состав сапрофитов в зерне, т.к. они отрицательно влияют на качество зерна: снижается общая масса зерна, ухудшаются его блеск, запах, цвет, вкус. Зерно приобретает посторонние запахи: амбарный, гнилостный, плесневелый, затхлый.

2) фитопатогенные микробы (паразиты) – возбудители болезней растений, чаще всего грибы разного вида головни, спорыньи, фузариозы и др. Допускается содержание спорыньи, головни, а также вредных сорняков растений - куколя и горчака – в сумме не более 0,06%.

3) патогенные микробы – попадают в зерновую массу случайно, от больных животных или бациллоносителей (возбудители сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза и др.). Переносчиками вредных микробов на зерно являются сельскохозяйственные животные, грызуны, некоторые птицы и насекомые. Зерно не является благоприятной средой для развития патогенных м/о и при хранении большинство из них отмирает. Зерно может быть только передатчиком инфекции, но при соблюдении санитарных мер по очистке и дезинфекции зернохранилищ, мельниц, складов и др. помещений для хранения и переработки зерна, оно не будет являться передатчиком патогенных м/о.

По отношению к кислороду воздуха в зерне содержатся в основном аэробы (плесени, бактерии), нестрогие анаэробы (дрожжи) и анаэробы или факультативные анаэробы (молочнокислые бактерии). Отсутствие кислорода задерживает развитие м/о, а содержание углекислого газа 18-20%, выделяемого при дыхании зерна, рост бактерий и грибов прекращается.

Нарушение целостности зерна и его оболочек при механическом воздействии способствует развитию м/о. Так, на травмированных зернах пшеницы вырастают грибы рода Пенициллиум.

На микрофлору зерна большое влияние оказывают условия уборки и хранения. При уборке влажность зерна 7-30%, а сорных примесей до 60%. При повышенной влажности зерна и температуре 25-30°C в первую очередь активно развиваются некоторые грибы и бактерии.

Микрофлора муки.

При размоле зерна в муку переходят все микроорганизмы, находящиеся на поверхности зерна, и чем их больше, тем больше будет в муке. Мука – продукт менее стойкий, чем зерно, и в процессе хранения она может подвергаться порче в результате жизнедеятельности м/о.

В муке встречаются различные бактерии, грибы, актиномицеты и др. м/о. Но практическое значение для производства мучных изделий имеют дрожжи, молочнокислые бактерии, плесневые грибы, картофельная палочка. В муке влажностью 14,5% все эти м/о находятся в неактивном состоянии. Однако при увлажнении более 15% в результате неправильного хранения активность и численность м/о возрастает и наступает порча муки.

Виды порчи муки:

- плесневение – при хранении муки в складах при повышенной (более 80%) относительной влажности воздуха.

- прокисание – результат жизнедеятельности молочнокислых бактерий, сбраживающих углеводы муки с образованием кислот.

- прогоркание – результат биохимического процесса частичного окисления жиров муки кислородом воздуха, а частично гидролиза жиров под воздействием жирорасщепляющих ферментов некоторых бактерий и плесеней.

- самосогревание – при хранении муки с повышенной (более 20%) влажностью. Самосогревание сопровождается размножением спорообразующих бактерий, вызывающих тягучую болезнь хлеба.

Мука с признаками порчи для производства изделий не используется.

Микрофлора крупы.

В первую очередь микрофлора крупы определяется составом микрофлоры перерабатываемого зерна.

Степень обсеменения микроорганизмами свежесобранного зерна крупяных сельскохозяйственных культур, как и зерна одной и той же культуры, может значительно различаться.

В одном грамме доброкачественного зерна (пшеницы, ячменя, проса, риса, овса, гречихи) насчитывается от тысяч до миллионов бактерий, но по качественному составу микрофлора их близка между собой. Она представлена преимущественно (до 90 % и более) бактериями, количество плесеней (спор) не более 5–7%, дрожжей еще меньше. Среди бактерий преобладает (до 80–90%) бесспорная, факультативно-аэробная палочковидная бактерия гербикола (травяная палочка *Erwinia herbicola*) – типичный представитель эгшфитной микрофлоры зерна злаков. В небольших количествах встречаются микрококки, молочнокислые бактерии, а также спорообразующие аэробные бактерии, представленные главным образом картофельной и сенной палочками (по новой номенклатуре обе эти бактерии отнесены к виду *Bacillus subtilis*). В грибной флоре свежесобранного зерна обычно присутствуют *Alternaria*, *Clado-sporium*, *Ascochyta*. Пенициллы и аспергиллы обнаруживают в небольших количествах.

По мере хранения зерна в условиях, не допускающих развития микроорганизмов, число их на зерне снижается за счет отмирания *Erwinia herbicola*, хотя она остается преобладающей формой. Принято считать, что большое количество этих бактерий на зерне служит показателем его хорошего качества. Значительно изменяется состав грибной флоры. Доминирующими компонентами становятся пеницилловые и аспергилло-вые грибы (получившие название «плесени хранения»), а типичные представители свежесобранного зерна – «полевые плесени» – сохраняются в единичных количествах.

Количество бактерий в 1 г крупы составляет 10⁴–10⁵, а плесени (споры) – Ю2–10³, за исключением кукурузной крупы, которая обычно обсеменена спорами грибов в большей степени (табл. 23). Преобладающим компонентом бактериальной флоры крупы, выработанной из непропаренного зерна, является (до 70–90% общего числа) гербикола, а для крупы из зерна, прошедшего гидротермическую обработку, характерно преобладание спороносных бактерий (35–50 %) и микрококков (10–20%). Из бацилл чаще обнаруживают *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*. Грибная флора крупы представлена в основном видами *Penicillium* (*P. cyclopium*, *P. viridicatum* и др.) и *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. flavus*, *A. repens*). В небольшом количестве встречаются мукоровые грибы.

Многие найденные в крупах бактерии и плесени способны разлагать белки, липиды, крахмал, пектиновые вещества и сбраживать сахара с образованием кислот. Некоторые пенициллы могут, хотя и медленно, расти при температуре до –2, –5°C, аспергиллы сухоустойчивы и способны развиваться при влажности субстрата, равновесной относительной влажности воздуха 70–75%. Некоторые обнаруживаемые в крупах плесени вырабатывают токсичные вещества. Поэтому крупы

в период длительного хранения могут подвергаться различным видам порчи под воздействием микроорганизмов и находящихся в крупе ферментов.

Возможность и интенсивность развития микробов определяются в первую очередь влажностью крупы, которая меняется при хранении продукции в зависимости от величины относительной влажности воздуха. Имеет значение и температура хранения: чем выше влажность крупы, тем более широк интервал температур возможного развития микроорганизмов.

При опытном хранении товарных образцов различных видов " крупы (пшено, кукурузная, ячневая, перловая, овсяная, рис, овсяные хлопья, ядрица, ядрица быстрорастворимая) в различных температурно-влажностных условиях установлено (К- А. Мудрецова-Висс и Е. В. Куликова), что по мере удлинения срока хранения во всех крупах снижается число бактерий главным образом ввиду вымирания эпифита зерна – *Egwinia herbicola*. Через полгода хранения при 70–75 %-ной относительной влажности воздуха и температуре 15–16 °С сохраняется 25–40 % бактерий от их первоначального количества, а через год – 10–15%; преимущественно это споровые формы. Число плесеней (спор) на крупах, сохраняемых в тех же условиях, практически не изменяется. На крупах, сохраняемых при той же температуре, но при 80 %-ной относительной влажности воздуха к четвертому – шестому месяцу, а при 85 %-ной – ко второму-третьему месяцу хранения активно развиваются плесени. Плесневение вызывают сухоустойчивые виды *Aspergillus*: *A. repens*, *A. candidus*, *A. chevalieri*.

На крупах, выработанных из пропаренного зерна, плесени развиваются интенсивнее, чем на крупах из непропаренного зерна; при низких положительных температурах (4–5 °С) плесневение крупы обнаруживается на несколько месяцев раньше.

Микрофлора комбикормов

В комбикормах могут быть грибы, бактерии, актиномицеты, дрожжи. В ветеринарно-санитарном отношении наибольшее значение имеют грибы и патогенные бактерии. Из грибов часто встречаются в комбикормах *Aspergillus*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Trichothecium*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Mucor*.

Наиболее типичными являются представители родов: *Aspergillus* - *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. glaucus*; *Penicillium* - *P. pupurogenum*, *P. cyclopium* и др.; *Mucor* *aceae*.

Среди встречающихся в комбикормах грибов обнаруживаются и токсические виды - продуценты опасных для животных метаболитов, имеющие большое значение при санитарно-гигиенической оценке качества комбикормов.

Большое значение в развитии грибов имеет химический состав комбикормов. Известно, что для их жизнедеятельности необходимы микроэлементы, витамины и различные ростовые вещества. Добавки, включаемые в комбикорма, повышают скорость роста грибов и участвуют в синтезе их метаболитов. Для некоторых грибов аминокислоты служат единственным субстратом питания - источником азота и углерода.

В комбикорме микрофлора развивается значительно интенсивнее, чем в зерне, что обусловлено благоприятной средой; высокой гигроскопичностью, наличием соответствующей влажности и температуры. Зерно же, если оно не повреждено, имеет защитные свойства - активный иммунитет растения, а также вещества, тормозящие или подавляющие развитие микроорганизмов.

В период хранения комбикорма количество микрофлоры быстро увеличивается, происходит смена ее видового состава. Более интенсивные изменения происходят при нарушении режимов хранения продукции. При высокой температуре наблюдается преимущественное развитие аспергиллов, участвующих в процессе самосогревания комбикорма (*A. fumigatus*, *A. candidus*), а при 10 °С количественный рост их прекращается.

Также установлено, что увеличение числа диаспор грибов, особенно в обогащенных комбикормах, происходит уже при относительной влажности воздуха 60%; наиболее благоприятна для развития грибов влажность 90%. Ввод в комбикорм витаминов, аминокислот, микроэлементов и кормовых дрожжей вызывает интенсивный рост *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucoraceae*.

Подобные закономерности подтверждают данные о том, что в течение одного года хранения комбикормов в условиях хозяйства общее количество грибов увеличивалось в 2 раза; наиболее активно развивались *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Penicillium*.

Лекция № 6

Тема: «Основные сведения о гигиене и санитарии»

1 Вопросы лекции:

1.1. Основные сведения о гигиене и санитарии труда

1.2. Виды дезинфицирующих растворов

2 Краткое содержание вопросов

Основные сведения о гигиене и санитарии труда

Гигиена труда — раздел гигиены, изучающий воздействие трудового процесса и окружающей производственной среды на организм работающих. Производственная санитария — комплекс мероприятий, направленных на обеспечение безопасных и здоровых условий труда на производстве.

Принципы: изучение особенностей производственных процессов, оборудования и обрабатываемых материалов с точки зрения их влияния на организм работающих; разработка санитарно-гигиенических и лечебно-профилактических нормативов и мероприятий.

Методы исследования: санитарное обследование производственной среды с помощью физических, химических, биологических инструментальных методов, исследование состояния здоровья работающих с использованием клинических, физиологических, биохимических и статистических методов.

Производственная санитария

Цели: предотвращение или снижение воздействия вредных производственных факторов на сотрудников; обеспечение безопасности работников на рабочем месте.

Контроль за качеством воздуха: вентиляция и фильтрация воздуха снижают концентрацию вредных веществ, таких как пыль, газ и пары химикатов.

Гигиена рабочего пространства: регулярная уборка помещений, соблюдение порядка на рабочих местах и правильное хранение материалов предотвращают распространение инфекций и загрязнение среды.

Освещение и температура: правильное освещение и поддержание оптимального температурного режима снижают утомляемость работников и предотвращают несчастные случаи.

Защита от шума и вибрации: чрезмерный шум и вибрация могут негативно сказываться на здоровье работников, вызывая различные заболевания. Производственная санитария предусматривает использование шумо- и виброизолирующих средств, а также обязательное ношение средств индивидуальной защиты.

Меры по предотвращению несчастных случаев: инструктажи, обучение персонала и наличие первой медицинской помощи на производстве — всё это способствует снижению риска травм и аварий.

Виды дезинфицирующих растворов

Дезинфицирующие растворы — это средства для уничтожения микроорганизмов, которые используются для обработки поверхностей, оборудования, медицинских инструментов, рук и кожи, а также воды и воздуха. Они могут быть классифицированы по составу, способу применения и форме выпуска.

По составу. Некоторые виды дезинфицирующих растворов по химическому составу:

Хлорсодержащие — эффективны против большинства бактерий, вирусов и грибов, в том числе их спор. Примеры: растворы на основе гипохлорита натрия и хлорамина.

Кислородсодержащие — например, перекись водорода и препараты на её основе, обладают выраженным окислительным эффектом.

Спиртовые — содержат этанол, пропанол или изопропанол, быстро уничтожают микроорганизмы и испаряются без следов.

Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) — мягкие антисептики, применяются в медицине и быту.

Фенольные — обладают мощным антимикробным действием, но требуют осторожности при использовании.

Альдегидные — глутаровый альдегид и формальдегид, применяются в медицинских учреждениях и лабораториях.

Йодосодержащие — имеют широкий спектр действия, способны уничтожать различные бактерии и микроорганизмы.

По способу применения. Дезинфицирующие растворы могут использоваться для: Протирания, орошения или замачивания поверхностей и объектов. Например, инструменты, посуду и бельё обеззараживают путём погружения в раствор.

Обработки больших поверхностей (пола, стен, жёсткой мебели, оборудования) — используют метод протирания или орошения.

Обработки слизистых — используются для дезинфекции ротовой полости, горла, носа и других слизистых оболочек.

По форме выпуска. Дезинфицирующие растворы могут выпускаться в виде:

Жидкостей — концентратов и готовых к применению средств.

Порошковых — порошков для растворения в воде или для нанесения на поверхности.

Таблетированных — таблеток для растворения в воде.

Салфет, пропитанных дезинфицирующим раствором.

Также существуют комбинированные дезинфицирующие средства — комбинации нескольких активных действующих веществ

Лекция № 7

Тема: «Основы микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности»

1 Вопросы лекции:

1.1. Контроль пищевых продуктов.

1.2. Контроль воды.

1.3. Контроль воздуха производственных помещений.

1.4. Контроль чистоты рук и одежды персонала.

2 Краткое содержание вопросов

Контроль пищевых продуктов.

Задачей микробиологического контроля является возможно быстрое обнаружение и выявление путей проникновения микроорганизмов - вредителей в производство, очагов и степени размножения их на отдельных этапах технологического процесса; предотвращение развития посторонней микрофлоры путем использования различных профилактических мероприятий; активное уничтожение ее путем дезинфекции с целью получения высококачественной готовой продукции.

Для оценки качества сырья, полуфабрикатов, вспомогательных материалов, готовой продукции в нашей стране в основном используются два показателя – МАФАМ КоЕ – количество мезофильных аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов колоний образующих единиц и количество бактерий кишечной группы (преимущественно кишечной палочки)

МАФАМ определяют в основном чашечным методом. Выполнение анализа включает четыре этапа:

- приготовление ряда разведений из отобранных проб (при обследовании поверхности продукта или оборудования пробу отбирают путем смыва или соскоба с определенной площади);
- посев на стандартную плотную питательную среду (для выявления бактерий - на мясо - пептонный агар в чашки Петри);
- выращивание посевов в течение 24—28 ч в термостате при 30°C;
- подсчет выросших колоний. Число колоний, выросших на каждой чашке, пересчитывают на 1 г или 1 мл продукта с учетом разведения. Окончательным результатом будет среднее арифметическое от результатов подсчета колоний в 2 - 3 чашках.

Полученные результаты будут меньше истинного обсеменения продукта, так как чашечным методом учитываются только сапрофитные мезофильные бактерии (аэробы и факультативные анаэробы). Термофильные и психрофильные бактерии не растут из-за несоответствия температуры оптимальной; анаэробы не растут, поскольку выращивание проводится в аэробных условиях; другие бактерии (в частности, патогенные) не растут из-за несоответствия питательной среды и условий культивирования. Не образуют колоний мертвые клетки. Однако эти микроорганизмы можно не учитывать и ошибкой анализа пренебречь, поскольку сапрофиты являются основными возбудителями порчи пищевых продуктов.

В некоторых производствах (консервном, сахарном, хлебопекарном и др.) используются дополнительные микробиологические показатели, например, количество анаэробных,

термофильных, спорообразующих и других микроорганизмов, характерных для каждого вида исследуемого объекта. Для их учета имеются специальные методические приемы, описанные в соответствующей нормативной документации. Например, для определения процентного содержания спорообразующих бактерий посев производят из пробирок с разведениями проб, предварительно прогретых несколько минут в кипящей водяной бане. При посевах из прогретых проб вырастают только спороносные бактерии, а из непрогретых - все остальные. Затем рассчитывают процентное содержание спорообразующих форм микроорганизмов.

Чем выше показатель МАФМ, тем больше вероятность попадания в исследуемый объект патогенных микроорганизмов - возбудителей инфекционных болезней и пищевых отравлений. Обычно в 1 г (или 1 мл) продукта, не прошедшего термической обработки, содержится не более 100 тысяч сапрофитных мезофильных бактерий. Если же их количество превышает 1 млн. клеток, то стойкость готового продукта при хранении снижается и его употребление может нанести вред здоровью человека.

Определение бактерий кишечной группы основано на способности кишечной палочки сбраживать лактозу до кислоты и газа. При санитарно - гигиеническом контроле сырья, полуфабрикатов, готовой продукции исследование на наличие бактерий кишечной группы ограничивают проведением так называемой первой бродильной пробы.

Бродильную пробу осуществляют путем посева в пробирки со специальной дифференциально-диагностической средой для кишечной палочки (среда Кесслера с лактозой) различных объемов (или навесок) исследуемого объекта - 1,0; 0,1; 0,01; 0,001 мл (или г). Пробирки с посевами помещают в термостат при 37°C на 24 ч, затем их просматривают и устанавливают бродильный титр, т. е. те пробирки, в которых наблюдается рост (помутнение среды) и образование газа в результате брожения. При отсутствии газообразования объект контроля считают не загрязненным кишечной палочкой. При наличии газообразования производят вычисление количества для различных объектов контроля по специальным таблицам. Существуют нормы допустимой общей бактериальной обсемененности и содержания кишечной палочки в объектах контроля.

Контроль воды.

Для санитарно-гигиенической оценки воды используются два микробиологических показателя: общее количество бактерий в воде и коли-индекс, которые определяются в соответствии с ГОСТ 18963—73 “Вода питьевая. Методы санитарно - бактериологического анализа”.

Общее количество бактерий - это количество колоний аэробных и факультативно-анаэробных мезофильных сапрофитных бактерий, вырастающих при посеве 1 мл неразбавленной воды на мясо - пептонном агаре (МПА) за 24 ч при 37°C.

Для оценки качества воды наибольшее значение имеет не общее количество бактерий, а наличие в ней патогенных микроорганизмов. Микробиологическим показателем загрязненности воды патогенными бактериями кишечной группы служит коли-индекс. В соответствии с ГОСТ 2874—82 “Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством” общее количество клеток бактерий в 1 мл воды должно быть не более 100, а коли-индекс - не более 3 в 1 л.

Анализ воды проводится при пользовании городским водопроводом 1 раз в квартал, а при наличии собственных источников водоснабжения - 1 раз в месяц.

Выявление патогенных микроорганизмов в воде (возбудителей брюшного тифа, холеры и дизентерии) осуществляется местными санитарно-эпидемиологическими станциями только по эпидемиологическим показателям.

Контроль воздуха производственных помещений.

Для санитарно - гигиенической оценки воздуха закрытых помещений определяют два показателя.

Первым является общее количество сапрофитных микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Воздух производственных цехов пищевых производств считается чистым, если в нем содержится не более 500 сапрофитных микроорганизмов в 1 м³. Вторым показателем является количество в том же объеме воздуха санитарно - показательных микроорганизмов - гемолитических стрептококков и стафилококков. Нормативов по этому показателю в настоящее время нет. Обнаружение их в воздухе производственных помещений указывает на санитарное неблагополучие данного объекта и возможность возникновения у персонала инфекционных заболеваний, вызываемых микрофлорой

дыхательных путей, которая передается через воздух (ангины, гриппа, коклюша, дифтерии, туберкулеза и др.). Такой воздух может стать источником обсеменения пищевых продуктов, а, следовательно, представлять потенциальную опасность для здоровья людей. Определение в воздухе санитарно - показательных микроорганизмов производят только по эпидемиологическим показаниям санитарно-эпидемиологическими станциями.

Для санитарно-гигиенического контроля воздуха применяют седиментационные и аспирационные методы анализа, описание которых имеется в нормативной документации.

Контроль оборудования, инвентаря, тары. Для предотвращения загрязнения посторонними микроорганизмами сырья и полуфабрикатов в процессе их переработки и готовой продукции при хранении необходимым условием является поддержание чистоты на рабочем месте, в производственных помещениях, санитарная обработка оборудования, инвентаря, тары.

Под санитарной обработкой подразумевается механическая очистка рабочих поверхностей от остатков пищевых продуктов, тщательное промывание горячей водой с применением моющих средств; дезинфекция и заключительное тщательное промывание горячей водой до полного удаления дезинфицирующего средства (дезинфектанта). Дезинфекция преследует цель уничтожить оставшуюся микрофлору. Дезинфекция оборудования может осуществляться путем пропаривания его насыщенным паром, при котором гибнут как вегетативные клетки, так и споры микроорганизмов. Дезинфекцию можно проводить и химическими дезинфицирующими средствами. Заключительная обработка горячей водой играет двойную роль: с одной стороны, удаляются остатки дезинфектанта, с другой - происходит нагревание поверхностей, что способствует их быстрому высыханию.

После санитарной обработки проводят санитарно - гигиенический контроль качества мойки и дезинфекции оборудования, инвентаря, тары, который включает определение общей бактериальной обсемененности смывов с технологического оборудования. Смывы берут с помощью стерильных нержавеющих металлических трафаретов с вырезанной серединой (площадь выреза 10, 25 или 100 см²). Эту площадь протирают стерильным ватным тампоном, смоченным в стерильной воде в пробирке на 10 мл, после чего тампон погружают в эту пробирку, тщательно перемешивают содержимое и высевают 1 мл смыва на мясо - пептонный агар. После термостатирования посевов при 30 °С в течение 24 - 28 ч определяют общую бактериальную обсемененность в пересчете на 1 см² исследуемой поверхности.

В смывах с хорошо вымытого оборудования общее количество микроорганизмов и коли-индекс не должны превышать их содержания в чистой воде, поступающей на мойку.

Контроль качества мойки и дезинфекции трубопроводов, рукавов, шлангов подобным образом осуществить нельзя, так как с их внутренней поверхности трудно сделать смывы с помощью трафарета. В этом случае общее количество микроорганизмов и коли-индекс определяют в последней промывной воде путем ее микроскопирования и посева. Общая бактериальная обсемененность и коли-индекс промывной воды не должны отличаться от показателей воды, применяемой в производстве.

Для контроля качества мойки и дезинфекции инвентаря пробы отбирают в тот момент, когда инвентарь подготовлен к работе. С мелкого инвентаря (мешалки, пробники, термометры, ножи, шприцы и т. п.) мазки берут стерильным тампоном со всей поверхности предмета и исследуют на общее количество микроорганизмов и на наличие кишечной палочки. Со столов, стеллажей, лотков, ведер, лопат и т. д. мазки берут стерильным тампоном при помощи обожженного трафарета и производят аналогичные анализы.

Для контроля качества мойки и дезинфекции тары (бочки, бидоны, цистерны) пробы последней промывной воды микроскопируют или высевают на плотные питательные среды. Общее количество микроорганизмов в 1 мл и коли-индекс не должны значительно отличаться от обсемененности воды, применяемой в производстве.

Контроль чистоты рук и одежды персонала.

При несоблюдении личной гигиены (чистоты рук, санодержки), особенно во время ручных операций, на пищевые продукты могут попадать микроорганизмы, в том числе и патогенные.

Бактериальную загрязненность рук и одежды определяют путем исследования микрофлоры смывов. В смывах, которые берут перед началом работы, обычно определяют общую бактериальную обсемененность и наличие кишечной палочки. Чистоту рук оценивают по количеству микроорганизмов в 1 мл смыва. Наличие бактерий группы кишечной палочки в смывах

с рук и одежды не допускается. Контроль за соблюдением правил личной и производственной гигиены осуществляется работниками санитарного надзора и санитарными постами.

Для соблюдения правильного санитарно - гигиенического режима на предприятиях пищевой промышленности эффективным способом уничтожения и подавления развития посторонних микроорганизмов является дезинфекция.

Дезинфекцией (обеззараживанием) называется уничтожение в объектах внешней среды сапрофитных микроорганизмов - вредителей данного производства, которые вызывают порчу сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, а также патогенных микроорганизмов - возбудителей пищевых инфекций и пищевых отравлений. Дезинфекция оборудования, инвентаря, тары, производственных и бытовых помещений пищевых предприятий является профилактической мерой для предупреждения загрязнения продуктов микроорганизмами. Она проводится систематически в соответствии с установленными санитарными требованиями для каждой отрасли промышленности. Это так называемая текущая, или профилактическая, дезинфекция.

Кроме того, на пищевых предприятиях возможно проведение экстренной дезинфекции по эпидемиологическим показаниям: при подозрении на пищевое отравление, в случае инфекционных заболеваний среди персонала, при поступлении инфицированного сырья, полуфабрикатов, тары и т. п.

По виду действующего агента методы дезинфекции бывают физические и химические. К физическим средствам дезинфекции относятся: кварцевое и ультрафиолетовое облучение, ультразвук, действие высоких температур (обжигание, прокаливание, кипячение, ошпаривание посуды, тары и оборудования, обработка острым паром).

К химическим средствам дезинфекции относится большое количество химических веществ, обладающих антимикробным действием. Кроме питательных химических веществ, оказывающих положительное влияние на микроорганизмы, имеется ряд химических веществ, тормозящих или полностью прекращающих их рост. Химические вещества вызывают либо микробоцидное (гибель микроорганизмов), либо микробостатическое действие (приостанавливают их рост, но после удаления этого вещества рост вновь возобновляется). Характер действия (микробоцидный или микробостатический) зависит от дозы вещества, времени его воздействия, также температуры и pH. Малые дозы антимикробных веществ часто стимулируют развитие микроорганизмов. С повышением температуры токсичность многих антимикробных веществ, как правило, возрастает. Температура влияет не только на активность самого химического вещества, но и на микроорганизмы. При температурах, превышающих максимальную для данного микроорганизма, даже небольшие дозы таких веществ вызывают их гибель. Аналогичное действие оказывает и pH среды.

К различным антимикробным веществам один и тот же микроорганизм проявляет разную степень устойчивости. Одно и то же вещество может оказывать неодинаковое действие на различные виды микроорганизмов - одни вызывают быструю гибель, другие приостанавливают их развитие, третьи могут вообще не оказывать действия. Это зависит от наличия спор и капсул, устойчивых к химическим веществам. Антимикробные вещества значительно сильнее действуют на вегетативные клетки, чем на споры.

Из неорганических веществ сильным антимикробным действием обладают соли тяжелых металлов (ртути, меди, серебра), окислители - (хлор, озон, йод, пероксид водорода, хлорная известь, перманганат калия), щелочи и кислоты (едкий натр, сернистая, фтористоводородная, борная кислоты), некоторые газы (сероводород, оксид углерода, сернистый и углекислый газы). Вещества органической природы (спирты, фенолы, альдегиды, особенно формальдегид) также оказывают губительное действие на микроорганизмы. Механизм губительного действия антимикробных веществ различен и зависит от их химической природы. Например, спирты, эфиры растворяют липиды ЦПМ, вследствие чего они легко проникают в клетку и вступают во взаимодействие с различными ее компонентами, что нарушает нормальную жизнедеятельность клетки. Соли тяжелых металлов, формалин вызывают быструю коагуляцию белков цитоплазмы, фенолы - инактивацию дыхательных ферментов, кислоты и щелочи - гидролиз белков. Хлор и озон, обладающие сильным окислительным действием, также инактивируют ферменты. Антимикробные химические вещества используются в качестве дезинфицирующих средств и антисептиков.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Факультет среднего профессионального образования

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ
СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
ОП.07 МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА**

Специальность 35.02.20 Технология производства, первичной переработки и хранения сельскохозяйственной продукции

Форма обучения очная

Оренбург, 2025 г.

1 Морфология и классификация микроорганизмов

1.1 Вопросы к занятию

1. Знакомство с микробиологической лабораторией.
2. Общие представления о культивировании при работе с микроорганизмами.

1.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: цель, задачи микробиологических исследований, основные методы выявления микроорганизмов, оборудование микробиологической лаборатории, основные правила поведения и работы в микробиологической лаборатории, работу с микроскопом.

Цель микробиологических исследований - установить факт наличия или отсутствия возбудителя в организме больного и на объектах окружающей среды. Объект изучения медицинских микробиологических лабораторий - патогенные биологические агенты. Задачи микробиологических исследований - идентифицировать микроорганизмы в исследуемом материале, определить их видовую принадлежность, а также установить чувствительность выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Основные методы выявления микроорганизмов

Микроскопические методы включают приготовление мазков и препаратов для микроскопирования. В большинстве случаев результаты микроскопических исследований носят ориентировочный характер, так как многие микроорганизмы лишены морфологических и тинкториальных особенностей.

Микробиологические методы позволяют точно установить факт наличия возбудителя в исследуемом материале: включает культивирование, выделение чистой культуры и идентификацию микроорганизмов с учетом морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, токсигенных и антигенных свойств.

Биологические методы направлены на определение наличия токсинов возбудителя в исследуемом материале и на обнаружение возбудителя, включают заражение лабораторных животных с последующим исследованием их.

Серологические методы выявления специфических антител и антигенов возбудителя - важный инструмент в диагностике инфекционных заболеваний.

Аллергологические методы. Антигены многих возбудителей обладают сенсibilизирующим действием, что используют для диагностики инфекционных заболеваний (кожно-аллергические пробы).

Оборудование микробиологической лаборатории

Для выращивания, хранения культур, стерилизации лабораторной посуды и других целей используется следующая аппаратура.

Термостат. Аппарат, в котором поддерживается постоянная температура.

Микроанаэроустат. Аппарат для выращивания микроорганизмов в анаэробных условиях.

Холодильник. Используется в микробиологических лабораториях для хранения культур микроорганизмов, питательных сред, крови, вакцин, сывороток и прочих биологически активных препаратов при температуре около 4°C.

Центрифуги. Применяются для осаждения микроорганизмов, эритроцитов и других клеток, для разделения неоднородных жидкостей (эмульсии, суспензии).

Сушильно-стерилизационный шкаф (печь Пастера). Предназначена для воздушной стерилизации лабораторной посуды и других материалов.

Стерилизатор паровой (автоклав). Предназначен для стерилизации паром под давлением.

Основные правила поведения и работы в микробиологической лаборатории

В помещение микробиологической лаборатории нельзя входить без специальной одежды - халата и белой шапочки или косынки, сменной обуви.

Запрещается выходить за пределы лаборатории в халатах или надевать верхнее платье на халат.

В помещении бактериологической лаборатории категорически запрещается курить, принимать пищу, хранить продукты питания.

Весь материал, поступающий в лабораторию, должен рассматриваться как инфицированный.

При распаковке присланного заразного материала необходимо соблюдать осторожность: банки, содержащие материал для исследования, при получении обтирают снаружи дезинфицирующим раствором и ставят не прямо на стол, а на подносы или кюветы.

Переливание жидкостей, содержащих патогенных микробов, производят над сосудом, наполненным дезинфицирующим раствором.

О случаях аварии с посудой, содержащей заразный материал, или пролевания жидкого заразного материала надо немедленно сообщить заведующему лабораторией или его заместителю. Мероприятия по обеззараживанию загрязненных патогенным материалом осуществляется немедленно.

Поступающий в лабораторию материал для исследования регистрируют в специальном журнале и маркируют.

По окончании работы руки, инструменты, рабочее место обрабатывают дезинфицирующим раствором. Зараженный материал и ненужные культуры подлежат обязательному уничтожению, по возможности в тот же день.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Для приготовления препарата исследуемый материал берут из пробирки, колбы или чашки Петри бактериологической петлей или стерильной пипеткой. В некоторых случаях используют для этой цели препаровальные иглы.

Приготовление препарата для изучения микроорганизмов в нативном виде. Метод «висячей капли». Препарат готовят на покровном стекле, в центре которого наносят одну каплю бактериальной культуры. Затем предметное стекло с лункой, края которой предварительно смазывают вазелином, прижимают к покровному стеклу так, чтобы капля находилась в центре лунки. Быстрым движением переворачивают препарат покровным стеклом вверх. В правильно приготовленном препарате капля должна свободно висеть над лункой, не касаясь ее дна или края. Для микроскопии вначале используют малый сухой объектив 8X, под увеличением которого находят край капли, а затем устанавливают объектив 40X и исследуют препарат. Метод «раздавленной» капли. На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят каплю исследуемого материала или суспензию бактерий и покрывают ее покровным стеклом. Капля должна быть небольшой, не выходящей за край покровного стекла. Микроскопируют препарат с объективом 40X. После микроскопии препараты «раздавленной» капли или «висячей» капли опускают в дезинфицирующий раствор.

Приготовление фиксированных препаратов-мазков. Для приготовления препарата на обезжиренное предметное стекло наносят каплю воды или изотонического раствора хлорида натрия, в которую петлей вносят исследуемый материал и распределяют его таким образом, чтобы получить тонкий и равномерный мазок. При таком распределении материала в мазке при микроскопии можно увидеть изолированные бактериальные клетки. Если исследуемый материал содержится в жидком виде, то его непосредственно наносят петлей на предметное стекло и готовят мазок. Мазки высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем горелки, не давая капле закипать. Для фиксации мазка предметное стекло (мазком вверх) медленно проводят 3 раза через пламя горелки. Микроорганизмы при фиксации погибают, плотно прикрепляясь к поверхности стекла, и не смываются при дальнейшей обработке. Более длительное нагревание может вызвать деформацию клеточных структур. Мазки крови, мазки-отпечатки органов и тканей и в некоторых случаях мазки из культур микроорганизмов фиксируют погружением на 15-20 мин. в метиловый или этиловый спирт, смесь Никифорова, сулемовый спирт и другие фиксирующие жидкости.

МЕТОДЫ ОКРАСКИ МАЗКОВ

Простой метод. Фиксированный мазок окрасить каким-либо одним красителем, например фуксином водным (1-2 мин) или метиленовым синим (3-5 мин), промыть водой, высушить и микроскопировать. Сложные методы. Последовательно нанести на препарат определенные красители, различающиеся по химическому составу и цвету, протравы, спирты, кислоты и др. Это позволяет выявить определенные структуры клеток и дифференцировать одни виды микроорганизмов от других. Окрас методом Грама является сложным методом.

На фиксированный мазок нанести карболово-спиртовой раствор генцианового фиолетового через полоску фильтровальной бумаги. Через 1-2 мин ее снять, а краситель слить. Нанести раствор Люголя на 1-2 мин. Обесцветить этиловым спиртом в течение 30-60 с до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя. Промыть водой. Докрасить водным раствором фуксина в течение 1-2 мин, промыть водой, высушить и микроскопировать. Грамположительные бактерии окрашиваются в темно-фиолетовый цвет, грамотрицательные - в красный.

ЗНАКОМСТВО С МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНИКОЙ. РАБОТА С БИОЛОГИЧЕСКИМ МИКРОСКОПОМ.

Для микроскопических исследований используют несколько типов микроскопов (биологический, люминесцентный, электронный и другие) и специальные методы микроскопии (фазово-контрастный, темнопольный и др.).

при микроскопии препаратов с иммерсионным объективом следует строго придерживаться определенного порядка в работе:

- на подготовленный и окрашенный мазок на предметном стекле нанести каплю иммерсионного масла и поместить его на предметный столик, укрепив зажимами;

- повернуть револьвер до отметки иммерсионного объектива X90;

- осторожно опустить тубус микроскопа до погружения объектива в каплю масла;

- установить ориентировочный фокус при помощи макрометрического винта;

- провести окончательную фокусировку препарата микроскопическим винтом, вращая его в пределах только одного оборота.

По окончании работы с микроскопом необходимо вытереть масло с иммерсионного объектива и перевести револьвер на малый объектив X8.

2. Физиология микроорганизмов

2.1 Вопросы к занятию

1. Питательные среды и методы стерилизации.

2. Учет численности бактерий в воздухе (закладка опыта).

2.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: основные компоненты питательных сред, виды питательных сред, подсчет клеток микроорганизмов под микроскопом, подсчет клеток в счетных камерах.

Основные компоненты питательных сред

Культивирование микроорганизмов является одним из основных методов микробиологии. От умения культивировать микроорганизмы в лабораторных условиях в значительной степени зависят успехи их изучения и практического применения. В лабораторных условиях микроорганизмы культивируют на питательных средах, поэтому питательная среда должна содержать все вещества, необходимые для их роста. Основными компонентами любой питательной среды для культивирования микроорганизмов являются соединения углерода и азота. По потребностям в углеводе микроорганизмы принято делить на две большие группы - автотрофы и гетеротрофы. Для развития гетеротрофных микроорганизмов среда должна содержать органические соединения в зависимости от их индивидуальных особенностей: кислоты, спирты, углеводороды, ароматические соединения.

Вторым основным компонентом питательной среды является источник азота. Питательные среды для культивирования некоторых микроорганизмов должны включать од-

ну, несколько или полный набор аминокислот в концентрации от 0,1 до 0,05 г на 100 мл. Потребности микроорганизмов в некоторых аминокислотах часто удовлетворяют добавляя к среде гидролизат белка. Многие микроорганизмы требуют наличия в среде факторов роста, к которым относятся витамины, пурины, пиримидины и аминокислоты. Чтобы подчеркнуть потребность микроорганизмов в факторах роста, принято использовать термины «прототрофы» и «ауксотрофы». Прототрофы не нуждаются в факторах роста, для ауксотрофов абсолютно необходимо наличие в среде одного или нескольких факторов роста. Примерами смесей, содержащих различные факторы роста, могут служить дрожжевой экстракт, дрожжевой автолизат, а также кукурузный экстракт. Дрожжевой экстракт вносят в среду для культивирования от 0,05 до 0,5 г на 100 мл, дрожжевой автолизат - в таком количестве, чтобы концентрация аминного азота составляла 5 - 30 мг на 100 мл среды.

По составу принято выделять естественные, или натуральные, среды и синтетические среды. Натуральными называют среды, в состав которых входят продукты животного или растительного происхождения. К таким средам относятся овощные или фруктовые соки, животные ткани, разведенная кровь, молоко, воды морей, озер и минеральных источников, отвары или экстракты, полученные из природных субстратов, таких как мясо, почва, навоз, различные части растений, клетки микроорганизмов.

Натуральные среды используются главным образом для поддержания культур микроорганизмов, накопления биомассы и для диагностических целей. К числу натуральных сред, широко применяемых в лабораторной практике, относятся мясо-пептонный бульон, неохмеленное пивное сусло, дрожжевая и картофельная среды, почвенный экстракт.

Мясо-пептонный бульон (МПБ) представляет собой мясную воду, к которой добавляют 1% пептона и 0.5% NaCl. МПБ - богатая питательная среда, но она почти не содержит углеводов. В случае необходимости их добавляют к МПБ чаще всего в количестве 1 - 2 г на 100 мл. МПБ стерилизуют при 1 атм.

Синтетические среды - это среды, в которые входят лишь соединения определенного химического состава, взятые в точно указанных количествах. Синтетические среды широко используют при исследовании обмена веществ, физиологии и биохимии микроорганизмов, для разработки состава синтетических сред, обеспечивающих рост микроорганизмов или усиленный биосинтез какого-либо продукта жизнедеятельности. Синтетические среды могут иметь относительно большой набор компонентов, но могут быть и довольно простыми по составу. Наряду с натуральными и синтетическими средами выделяют так называемые полусинтетические среды. Главными компонентами полу синтетических сред являются соединения известного химического состава углеводы, соли аммония или нитраты, фосфаты и т.д. Однако в их состав всегда включаются вещества неопределенного состава, такие как дрожжевой автолизат, почвенный экстракт или гидролизат казеина. Эти среды находят широкое применение в промышленной микробиологии для получения аминокислот, витаминов, антибиотиков и других важных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Методы определения количества микроорганизмов могут быть прямыми (подсчет клеток под микроскопом, взвешивание на весах) или косвенными, посредством которых определяют число колоний микроорганизмов, выросших после посева суспензии клеток на питательную среду, рассеяние или поглощение суспензией клеток света, содержание в ней белка и др. Выбор метода зависит от целей исследования, свойств питательной среды или субстрата, а также особенностей роста и морфологии микроорганизмов.

Подсчет клеток микроорганизмов под микроскопом.

Подсчитать клетки микроорганизмов под микроскопом можно используя счетные камеры, капилляры Перфильева, препараты фиксированных и окрашенных клеток, приготовленные на предметных стеклах или мембранных фильтрах. Перечисленные методы позволяют определить общее количество клеток в единице объема. Следует помнить, что подсчитывают все клетки, как живые, так и мертвые.

Подсчет клеток в счетных камерах.

Этот метод рекомендуется использовать для подсчета крупных объектов - дрожжей, одноклеточных водорослей, конидий грибов и некоторых относительно крупных бактерий. Обычно используют камеру Горяева - Тома, хотя можно применять и другие счетные камеры. При работе с камерой необходимо соблюдать определенный порядок ее заполнения. Вначале углубление с сеткой покрывают специальным шлифованным покровным стеклом и, слегка прижимая, смещают покровное стекло в противоположные стороны до появления колец Ньютона. Эти кольца указывают на то, что покровное стекло притерто к сторонам камеры. Только при таком условии объем взвеси микроорганизмов, находящийся в камере, соответствует расчетному. После этого камеру заполняют исследуемой суспензией микроорганизмов. Суспензию вносят через бороздку камеры капилляром или пипеткой. Подсчет клеток рекомендуется начинать через 3 - 5 мин после заполнения камеры, чтобы клетки осели и при микроскопировании были видны в одной плоскости. Подвижные клетки перед заполнением камеры убивают нагреванием или суспендированием в 0,5%-ном водном растворе формалина. Число клеток подсчитывают с объективом 8х или 40х. С иммерсионным объективом работать нельзя, так как его фокусное расстояние меньше толщины стекла камеры. Обычно подсчитывают клетки микроорганизмов в 10 больших или 20 маленьких квадратах сетки, перемещая последние по диагонали. Учитывают все клетки, лежащие в квадрате сетки, а также клетки, пересекающие верхнюю и правую стороны квадрата. При подсчете количество клеток в большом квадрате не должно превышать 20, а в малом 10, в противном случае исходную суспензию разводят водопроводной водой. Для получения достоверного результата общее число подсчитанных клеток микроорганизмов должно быть не менее 600. Подсчет клеток повторяют 3 - 4 раза, каждый раз заново монтируя камеру и заполняя ее исследуемой взвесью микроорганизмов. Это обеспечивает большую точность, чем подсчет 600 клеток при однократном монтаже камеры. Количество клеток в 1 мл исследуемой суспензии вычисляют по формуле.

3. Влияние условий внешней среды на микроорганизмы

3.1 Вопросы к занятию

1. Количественный учет бактерий в воздухе.
2. Микрофлора почвы.
3. Микрофлора воды.
4. Микрофлора воздуха.

3.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: методы зараженности воздуха, микроорганизмы почвы, воды, воздуха, санитарно-бактериологическое исследование почвы, воды, воздуха, показатели санитарного состояния воздуха.

Количественный учет микрофлоры воздуха. Для исследования общего количества микроорганизмов в воздухе применяют наиболее простой, хотя и недостаточно точный, метод «оседания» (седиментационный метод), предложенный Кохом (1881). Стерильные чашки Петри с питательной средой (МПА (мясо-пептонный агар) – для бактерий, СА (сусловый агар) – для грибов) открывают в исследуемом помещении на 5 минут (чашки располагают на высоте, соответствующей уровню дыхания сидящего или стоящего человека). Следят за тем, чтобы при открывании крышки чашки Петри не было движения воздуха. После этого чашки закрывают и помещают на сутки в термостат при 37 °С, что дает возможность развиваться бактериальной флоре. Затем чашки переставляют в термостат и выдерживают при температуре 25 °С. В таких условиях прорастают бактерии, требующие для своего развития более низкие температуры, а также плесневые грибы. Обычно опыт ставится в двух повторностях. Затем подсчитывают выросшие колонии микроорганизмов. Счет колоний на чашках производят с помощью прибора для счета колоний бактерий или лупы. Для лучшей видимости считают колонии на темном фоне (под чашку кладут

темную бумагу), чашки помещают дном кверху. Каждую колонию отмечают на две чашки чернилами или тушью.

Седиментационный метод – самый простой метод для суждения о зараженности воздуха микроорганизмами, но он позволяет иметь лишь ориентированное представление о содержании микрофлоры в воздухе. С его помощью определяется только 35-60% микроорганизмов в воздухе. Хотя этот метод и не дает полного представления ни о количестве микроорганизмов, находящихся в воздухе, ни об их видовом разнообразии, однако с его помощью можно учесть микрофлору тяжелой оседающей пыли, которая не захватывается и не учитывается другими аспирационными методами. Метод не точен и абсолютно не пригоден для изучения атмосферного воздуха, где имеют место большие колебания в скорости его движения. Этот метод может быть использован для анализа микрофлоры воздуха в закрытых помещениях в тех случаях, когда отсутствуют более совершенные приборы или нет электроэнергии.

Используя данный метод можно рассчитать количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Обычно производят перерасчет по Омелянскому: допускают, что на площадь в 100 см² за 5 мин осаждаются примерно столько бактерий, сколько их содержится в 10 л воздуха (0,01 м³). Зная площадь чашки Петри, определяют количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Для этого: 1) определяют площадь агаровой пластинки в чашке Петри по формуле $S = \pi \times r^2 = 3,14 \times r^2$ (радиус чашки Петри равен 0,5 дм, соответственно, площадь агаровой пластинки равна 0,785 дм²); 2) вычисляют количество колоний на площади 1 дм²; 3) пересчитывают количество бактерий на 1 м³ воздуха, умножая найденное количество колоний на площади 1 дм² на 100; 4) результаты определения микробного числа воздуха оценивают по суммарному числу колоний, выросших на обеих чашках; 5) обязательно учитывают, что полученные показатели занижены примерно в 3 раза.

После проведенного подсчета, при наличии в 1 м³ воздуха менее 250 клеток воздух считается чистым, 250–500 клеток – загрязненным в средней степени, при количестве клеток более 500 – загрязненным. По данным А. Ф. Войткевича, в 1 м³ морского воздуха содержится 1–2 клетки, в таком же объеме воздуха в городском парке – 200, городской улице – 5 тыс., жилом помещении – 20 тыс., скотном дворе – более 1 млн. клеток.

Для исследования микрофлоры воздуха можно использовать различные аспирационные методы, например, аппарат Кротова, работа которого основана на принципе ударно-прибивного действия воздушной струи. Подобные методы наиболее надежны и точны.

При качественном анализе микрофлоры воздуха отмечают культуральные особенности роста микроорганизмов на плотных питательных средах, общее количество типов колоний, их морфологические особенности и количественное соотношение. Отдельные колонии микроскопируют с иммерсионной системой либо пересевают на дифференциально-диагностические питательные среды для выделения чистых культур микроорганизмов, видовой состав которых можно определить, используя специальные определители.

Почва является главным резервуаром и естественной средой обитания микроорганизмов, которые принимают участие в процессах формирования и очищения почвы, а также круговорота веществ в природе.

Жизнедеятельность микроорганизмов в почве, их качественный и количественный состав определяется почвенными условиями: наличием питательных веществ, влажностью, аэрацией, реакцией среды, температурой и т.д.

Большое влияние, как на общую численность, так и на соотношение отдельных систематических групп микроорганизмов оказывает тип почвы. Различаясь по физическим и химическим свойствам почва представляет различную среду для жизнедеятельности микроорганизмов. Их больше в увлажненной и обработанной почве (4,2-5,2 млрд/г), меньше в лесной почве, в песках (0,9-1,2 млрд/г). Наиболее обильна микрофлора в верхнем горизонте почвы глубиной 2,5-15 см. В этом слое протекают основные биохимические процессы превращения органических веществ, обусловленные жизнедеятельностью микроорганиз-

мов. На глубине 4-5 м число микроорганизмов значительно снижается, так как уменьшается количество питательных веществ и ухудшаются условия аэрации.

В составе микрофлоры почвы выделяют следующие группы микроорганизмов:

бактерии аммонификаторы, вызывающие гниение трупов животных, остатков растений, разложение мочевины с образованием аммиака и других продуктов: аэробные бактерии – *B.subtilis*, *B.mesentericus*, *Serratiamarcescens*; бактерии рода *Proteus*; грибы рода *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*; анаэробы – *C.sporogenes*, *C.putrificum*; уробактерии – *Urobacilluspasteuri*, *Sarcinaurea*, расщепляющие мочевины;

нитрифицирующие бактерии: *Nitrobacter* и *Nitrosomonas* (*Nitrosomonas* окисляют аммиак до азотистой кислоты, образуя нитриты, *Nitrobacter* превращают азотистую кислоту в азотную и нитраты);

азотфиксирующие бактерии: усваивают из воздуха свободный кислород и в процессе своей жизнедеятельности из молекулярного азота синтезируют белки и другие органические соединения азота, используемые растениями;

бактерии, участвующие в круговороте серы, железа, фосфора и других элементов – серобактерии, железобактерии и т.д. (серобактерии окисляют сероводород до серной кислоты, железобактерии окисляют соединения железа до гидрата окиси железа, фосфорные бактерии способствуют образованию легко растворимых соединений фосфора);

бактерии, расщепляющие клетчатку, вызывающие брожение (молочнокислые, спиртовые, маслянокислые, уксусные, пропионовые и др.).

С выделениями человека и животных, с фекально-бытовыми сточными водами в почву могут попадать патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (возбудители грибковых заболеваний, ботулизма, столбняка, газовой гангрены, сибирской язвы, бруцеллеза, лептоспироза, кишечных инфекций и др.).

Санитарно-бактериологическое исследование почвы

При исследовании почвы может проводиться полный или краткий анализ.

Полный санитарно-бактериологический анализ почвы проводится:

- а) для подробной и глубокой характеристики санитарного состояния почвы;
- б) для определения пригодности почвы при размещении жилья, мест отдыха, детских учреждений и водопроводных сооружений;
- в) для эпидемиологических исследований.

Краткий анализ рекомендуется при осуществлении текущего санитарного надзора и включает определение общего количества сапрофитных бактерий, БГКП (коли-титр и коли-индекс), клостридий (перфрингенс-титр), термофильных бактерий, нитрифицирующих.

В полный санитарно-бактериологический анализ входят дополнительно: определение актиномицетов, грибов, сальмонелл, шигелл, возбудителей столбняка, ботулизма, бруцеллеза, сибирской язвы.

Подготовка почвы

Почву освобождают от включений – камней, осколков стекла и др. Крупные агрегаты почвы дробят. Навеску почвы в количестве 30 г заливают стерильной водопроводной водой в соотношении 1:10. Полученную суспензию встряхивают 10 мин и отстаивают 2-5 мин. Из первого разведения 1:10 готовят ряд последующих 10-ти кратных разведений от 1:10 до 1:1000 при исследовании чистых почв и до 1:10 000 при исследовании сильно загрязненных почв.

Определение общего количества сапрофитных бактерий (микробное число почвы)

Микробное число почвы – общее количество микроорганизмов, содержащихся в 1 г почвы.

Посев почвенной суспензии производят на МПА в чашки Петри по 1 мл из каждого разведения. Затем в чашки выливают по 7-10 мл расплавленного и остуженного до 45°C агара. Посевы инкубируют при 28-30°C в течение 72 ч и подсчитывают количество выросших колоний. Если на чашке Петри вырастает более 150 колоний, то подсчет ведется

на $\frac{1}{4}$ площади с последующим перерасчетом на всю площадь. Из суммы колоний, подсчитанных на всех чашках Петри, выводится среднее арифметическое и затем определяют количество микроорганизмов в 1 г почвы с учетом разведений.

Вода – естественная среда обитания микроорганизмов. Состав микрофлоры воды зависят от химического состава воды, температуры, содержания CO_2 и O_2 , pH, облучения солнечными лучами, содержания питательных веществ, флорой и фауной, глубиной водоёма, выпуском сточных и промышленных вод.

В пресных водоёмах (реки, озёра) нормальными обитателями являются *Micrococcus roseus* и др. микрококки, *Pseudomonas fluorescens*, извитые формы (*Sp. rubrum*). В воду поступают сапрофитные микробы почвы: р. *Azotobacter*, р. *Nitrobacter*, р. *Proteus*, р. *Pseudomonas*, р. *Spirillum* и др. Микробы воды участвуют в самоочищении водоемов. Они расщепляют органические вещества и делают их пригодными для усвоения другими организмами. Они являются также пищей для раков и моллюсков.

Больше всего микроорганизмов находится в придонных слоях, на дне, в прибрежной зоне (осенью и весной), т.к. на твердых частицах, в пористых материалах задерживаются питательные вещества. Чем больше органических веществ содержится в открытых водоёмах, тем у них более богатая микрофлора. В такой загрязненной органическими веществами воде можно обнаружить клостридии и другие анаэробы, увеличивается также количество аэробов (бактерий, вибрионов, спирохет). В водоёмах, богатых сероводородом, обитают фотосинтезирующие бактерии.

Таким образом, микрофлора рек и озёр определяется, в основном, степенью их биологического загрязнения, которое происходит при поступлении в водоемы сточных и промышленных вод. В большой степени она отражает микрофлору почвы около водоёма, т.к. микроорганизмы попадают в воду с частичками пыли, ливневыми, сточными, тальными водами. Микроорганизмы также попадают в водоёмы из организма рыб, гниющих растений, с отбросами и выделениями человека, животных, а также из воздуха.

В морях и океанах обитает меньшее количество микробов, чем в пресных водоемах. Это, в основном, соленлюбивые (галофильные) и светящиеся микроорганизмы.

В воду могут попадать патогенные и условно-патогенные микробы из почвы, вместе со сточными и промышленными водами из населённых пунктов и плавающих судов, при стирке белья, купании лошадей, при попадании в воду трупов грызунов и других животных, погибших от инфекций.

Эти бактерии не приспособлены к существованию в воде и через некоторое время погибают. Но определенное время они сохраняются в воде: сальмонеллы – от 2 дней до 3 месяцев, шигеллы 5-9 дней, лептоспиры 7-150 дней, холерный вибрион до нескольких месяцев и даже может размножаться.

Таким образом, вода может быть фактором передачи инфекционных заболеваний (брюшного тифа и паратифа, дизентерии, сальмонеллёза, холеры, лептоспироза, полиомиелита, гепатита, туляремии). В связи с этим необходимо проводить санитарно-эпидемиологический контроль состояния воды.

Оценка санитарного состояния воды. Критерии санитарного состояния воды.

1. ОБЩАЯ МИКРОБНАЯ ЗАГРЯЗНЕННОСТЬ ВОДЫ.

2. КОЛИЧЕСТВО САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВОДЫ.

Санитарно-показательными микроорганизмами воды являются:

а) *E. coli*, *Str. faecalis* (свидетельствуют о свежем фекальном загрязнении);

б) р. *Citrobacter*, р. *Enterobacter* (свидетельствуют о сравнительно давнем фекальном загрязнении).

Показатели санитарного состояния воды.

1. ОБЩЕЕ МИКРОБНОЕ ЧИСЛО (ОМЧ) ВОДЫ – общее количество микроорганизмов в 1 мл воды.

2. КОЛИ-ТИТР, КОЛИ-ИНДЕКС, ТИТР ЭНТЕРОКОККА и др. (оценивают количество санитарно-показательных микробов).

КОЛИ-ИНДЕКС – число жизнеспособных клеток *E. coli* в 1 л воды.

КОЛИ-ТИТР – наименьший объем воды в мл, в котором определяется хоть одна жизнеспособная клетка *E. coli*.

Методы определения.

Для оценки санитарного состояния исследуют: 1) водопроводную воду; 2) дистиллированную воду; 3) воду открытых водоемов.

Определение ОМЧ водопроводной воды: а) берут не менее 500 мл воды с соблюдением асептики (обжигают краны, используют стерильную посуду); б) делают посев 10-кратных разведений воды (1:10, 1:100 и т.д.) в чашки Петри по 1 мл глубинным методом Коха на МПА (для бактерий) и на сусло-агар (для грибов); в) инкубируют при 37°C, 24 час для бактерий и при 24°C, 2-3 суток для грибов; г) считают число колоний (1 колония – 1 клетка); г) число колоний (1 колония=1 клетка) умножают на степень разведения и получают микробное число воды (т.к. объем посева - 1 мл, а ОМЧ воды – число микроорганизмов в 1 мл воды).

Определение микробного числа дистиллированной воды. 300 мл воды отбирают в стерильные бутылки из бюретки, которую обжигают ваткой, смоченной спиртом. Бутылки закрывают ватными пробками и бумажными колпачками. Дистиллированную воду для приготовления инъекционных растворов, отбирают в стерильные флаконы по 15-20 мл из ёмкостей, в которых проводится стерилизация. Посев и расчет производят так же, как и при исследовании водопроводной воды.

Определение микробного числа речной воды. 100 мл воды берут при помощи батометра с определенной глубины. Делают посева 1,0; 0,1 и 0,001 мл так же, как и при исследовании водопроводной воды.

Определение коли-титра и коли-индекса. Разработаны стандарты определения этих показателей для водопроводной воды и воды артезианских скважин. Для воды открытых водоемов стандарты не разработаны и для ее анализа используют разные методы в зависимости от загрязнения воды.

Для определения коли-титра воды чаще используют двухфазный бродильный метод.

Двухфазный бродильный метод.

Первый этап (1-ый день) – делают посев на среду Эйкмана (глюкозопептонная среда – ГПС) с поплавками для сбора газа и посева ставят в термостат (инкубируют) при 43°C на 24 часа.

Для посева малых объемов воды используется разведённая среда Эйкмана (1% пептон; 0,4% NaCl; 0,5% глюкоза).

Для посева больших объемов – концентрированная среда Эйкмана, содержащая 10-кратную концентрацию основных компонентов.

Концентрированную среду Эйкмана используют для анализа водопроводной воды. Делают посев двух проб воды по 100 мл в колбы с 10 мл среды и десяти проб по 10 мл воды в пробирки с 1 мл среды. Таким образом, объем засеянной воды – 300 мл: 2 колбы по 100 мл и 10 пробирок по 10 мл.

Второй этап (2-ой день) – делают пересевы на среду Эндо и РДА (розово-дифференциальный агар) из тех колб и пробирок, где наблюдается рост. Признаки роста *E. coli* на среде Эйкмана - диффузное помутнение и образование газа. Посевы инкубируют при 37°C 24 часа.

Третий этап (3-ий день) – просматривают посева на среде Эндо и РДА. Признаки роста *E. coli* на среде Эндо - образование гладких колоний красного цвета, с металлическим блеском. Признаки роста *E. coli* на РДА - пожелтение среды, вспенивание конденсационной жидкости и разрывы в РДА.

Проводят микроскопическое подтверждение *E. coli*: из подозрительных колоний делают мазки и окрашивают по Граму; под микроскопом наблюдают грам «-» мелкие палочки.

Проводят биохимическое подтверждение *E. coli* - оксидазный тест на цитохромоксидазу. Если есть цитохромоксидаза - бумажка синее в течение 1 минуты. *E. coli* - оксидазоотрицательная. Оксидазный тест позволяет отличить *E. coli* от грамотрицательных, но оксидазоположительных бактерий семейства *Pseudomonadaceae*.

Если обнаруживают в мазках грам «-» мелкие палочки, которые являются оксидазоотрицательными, результат анализа считается положительным (вывод: обнаружена кишечная палочка).

По количеству положительных проб по специальным таблицам ГОСТа 18963-73 определяют коли-титр и коли-индекс. Например, *E. coli* обнаружена в одной колбе и в трёх пробирках. Ищем в таблице по вертикали 1 и горизонтали 3. На пересечении находим коли-титр 56 и коли-индекс 18.

Если проводят определение коли-титра воды открытых водоемов, то для анализа используют разведённую среду Эйкмана, т.к. эта вода более загрязненная, поэтому ее засевают в малых объемах (1 мл воды + 10 мл среды).

Для определения коли-индекса воды используют метод мембранных фильтров.

Метод мембранных фильтров.

1. Воду пропускают через мембранный фильтр №3 (диаметр пор = 0,7 мкм). Мембранные фильтры перед фильтрованием стерилизуют кипячением в дистиллированной воде.

Воду из водопроводной системы Москвы и Санкт-Петербурга и воду артезианских скважин фильтруют в объёме 500 мл, воду других городов – в объёме 333 мл.

2. Фильтры помещают на поверхность среды Эндо в чашку Петри.

3. Инкубируют при 37°C в течение суток и подсчитывают количество выросших колоний, типичных для *E. coli*.

4. Из 2-3 колоний красного цвета готовят мазки, окрашивают по Граму, а также ставят оксидазный тест. Если в мазках видны грам «-» мелкие палочки, которые являются оксидазоотрицательными, то результат считается положительным.

5. 2-3 такие колонии засевают в разведённую среду Эйкмана и инкубируют в течение суток при 37°C. Если в пробирках имеется газообразование, дают окончательный положительный ответ на наличие *E. coli*.

Коли – индекс рассчитывают по количеству красных колоний на фильтре. Например, на фильтре выросли 3 окрашенные колонии, а воды было 300 мл. Следовательно, в 100 мл – 1 клетка *E. coli*, а в 1000 мл – 10 клеток, т.е. коли-индекс равен 10. Исходя из этого значения коли-индекса, рассчитываем коли-титр: $1000/10 = 100$. Если коли-индекс равен 5, то коли-титр равен $1000/5=200$.

Воздух является неблагоприятной средой для микроорганизмов. Отсутствие питательных веществ, влаги, оптимальной температуры, губительное действие солнечных лучей и высушивания приводят к быстрой гибели микробов в воздухе. Но некоторые виды могут сохраняться в воздухе достаточно долго. Их распространение в воздухе связано с образованием в нём аэрозоля – системы из воздуха, капель жидкости и твёрдых частиц. Микроорганизмы адсорбируются на частицах аэрозоля и оказываются надёжно защищёнными от губительного действия УФ-лучей.

В воздухе могут встречаться до 100 видов сапрофитных микроорганизмов: пигментообразующие бактерии (микрококки, жёлтая сарцина, палочка чудесной крови и др.), спорообразующие микробы (дрожжи, плесневые грибы, актиномицеты), споровые палочки (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. cereus*), которые наиболее устойчивы к действию прямого солнечного света и высушивания.

Количество микробов в воздухе открытого воздушного пространства колеблется от нескольких тысяч до нескольких десятков тысяч в 1 мм³. Это зависит от степени загряз-

нённости воздуха частицами пыли, от температуры, от характера местности, осадков, влажности, от населённости, от времени года и т.д. Чем выше концентрация в воздухе пыли, дыма, копоти, тем больше микробов, т.к. каждая частица адсорбирует на поверхности множество микроорганизмов. Микрофлора открытого воздушного пространства в основном отражает микрофлору почвы, т.к. в воздух микроорганизмы попадают с поверхности почвы с пылью.

Воздух больших городов содержит большие количества микроорганизмов, а воздух лесов, гор, полей, лугов и также воздух над водной поверхностью отличается сравнительной чистотой. Особенно мало микроорганизмов в воздухе хвойных лесов, над ледяными и снежными просторами Арктики. Летом воздух загрязнён больше, чем зимой. Атмосферные осадки способствуют очищению воздуха от микробов.

Много микроорганизмов содержится в воздухе закрытых помещений. Количество микробов в воздухе закрытых помещений зависит от их объёма, частоты проветривания, качества уборки, степени освещённости, нахождения в них людей и др. Воздух закрытых помещений отражает, в основном, микрофлору организмов людей и животных, находящихся в этих помещениях. Микроорганизмы попадают в воздух с поверхности тела (с чешуйками кожи) и через верхние дыхательные пути при разговоре, кашле, чихании.

В результате в воздух попадают и патогенные микроорганизмы: гноеродные кокки, микобактерии туберкулёза, дифтерийная палочка, палочка коклюша, сибиреязвенная бактерия, стрептококки, бактерии туляремии, риккетсии и другие. Некоторое время они могут находиться в воздухе, что связано с их устойчивостью к высушиванию и действию УФ-лучей. Через воздух они могут передаваться вместе с каплями слюны и мокроты при чихании, кашле, разговоре.

В связи с этим воздух может быть фактором передачи ряда инфекций: гриппа, кори, скарлатины, дифтерии, туберкулёза, коклюша, стрептококковых, стафилококковых и менингококковых инфекций, ангины, оспы, лёгочная форма чумы и др.

Поэтому проводится санитарно-бактериологический контроль состояния воздуха, особенно в больничных и детских учреждениях, в аптеках.

Оценка санитарного состояния воздуха. Состояние атмосферного воздуха оценивается по микробному числу. Критерии оценки санитарного состояния воздуха закрытых помещений.

1. ОБЩАЯ МИКРОБНАЯ ЗАГРЯЗНЕННОСТЬ.

2. КОЛИЧЕСТВО САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРОБОВ ВОЗДУХА.

Санитарно-показательными микробами воздуха закрытых помещений являются:

- 1) золотистый стафилококк - *S. aureus*;
- 2) -зеленящий стрептококк - *Str. viridans*;
- 3) -гемолитический стрептококк - *Str. haemolyticus*.

Эти бактерии являются показателями орально-капельного загрязнения. Они имеют общий путь выделения в окружающую среду с патогенными микроорганизмами, передающимися воздушно-капельным путём. Сроки выживания их в окружающей среде не отличаются от сроков, характерных для большинства возбудителей воздушно-капельных инфекций.

Показатели санитарного состояния воздуха.

1. МИКРОБНОЕ ЧИСЛО ВОЗДУХА - общее количество микробов в 1м³ (1000 литров) воздуха.

2. КОЛИЧЕСТВО САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРОБОВ В 250 ЛИТРАХ ВОЗДУХА.

4. Патогенные микроорганизмы

4.1 Вопросы к занятию

1. Определение качественного состава микроорганизмов.
2. Форма бактериальных клеток.

4.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: морфологическими признаками бактерий, культуральные признаки, физиолого-биохимические признаки микроорганизмов, характеристики бактериальных клеток.

При определении вида бактерий и актиномицетов учитывают морфологические, культуральные и физиолого-биохимические признаки, а у актиномицетов дополнительно химический состав клеточной стенки.

Морфологическими признаками бактерий служат: форма клеток (шаровидные, палочковидные и извитые); у палочковидных отмечают форму концов клеток (вогнутые, закругленные или усеченные); клетки могут быть одиночные, соединенные попарно, в цепочки или в виде пакетов; размеры клеток в микрометрах (мкм) (поперечное сечение, длина палочки, диаметр шаровидных форм); способность к спорообразованию и расположение в клетках спор (бацилярное, клостридиальное и плектридиальное); наличие капсул и клеточных включений; способность к движению и тип жгутикования (один жгутик – монотрих, пучок жгутиков на одном конце – лофотрих, пучки жгутиков на обоих концах клеток – амфитрих, по всей поверхности клетки – перитрих); окраска по Граму и кислотоустойчивость.

К морфологическим признакам актиномицетов относят образование ветвящегося мицелия. У отдельных представителей он может быть очень коротким или хорошо развитым, диаметр его варьирует в пределах 0,5–2 мкм (обычно менее 1 мкм). Мицелий можно наблюдать не всегда, так как у отдельных родов и видов он легко фрагментируется. Иногда фрагментация ведет к образованию кокковидных, удлинённых или дифтероидных клеток. Для некоторых актиномицетов характерно формирование спораносцев и спор на воздушном или субстратном мицелии. Спораносцы могут быть прямые, длинные, разветвленные, короткие в виде крючков или спиралей, в мутовках.

Актиномицеты – грамположительные микроорганизмы, хотя с возрастом культуры окраска по Граму может меняться. Среди актиномицетов есть кислото- и спиртоустойчивые. Почти все представители группы актиномицетов – аэробы, за исключением некоторых родов, виды которых могут быть анаэробами или факультативными анаэробами.

Характер роста культуры на жидких средах или колоний на плотных средах – важные систематические признаки микроорганизмов.

При развитии культуры на жидких средах отмечают: характер развития пленки (тонкая, сухая, складчатая, слизистая) и ее цвет; наличие мути (слабая, умеренная, сильная); присутствие, характер осадка (обильный, плотный, хлопьевидный) и его цвет. При этом можно выделить следующие характеристики:

рост с равномерным (диффузным) помутнением жидкой среды – характерен для факультативных анаэробов, обладающих подвижностью;

придонный рост с образованием осадка на дне пробирки дают анаэробные микроорганизмы. Осадок отличается по консистенции: может быть вязким, слизистым, хрупким. Питательная среда над осадком может быть прозрачной и мутной. Цвет осадка и среды определяется наличием пигмента, продуцируемого культурой микроорганизма. Если культура пигмента не образует, цвет среды не изменяется, а осадок, как правило, бывает белого или желтого цвета;

пристеночный рост проявляется в том, что питательная среда остается прозрачной. Бактерии растут, образуя круглые или компактные зерна, прикрепленные к внутренней поверхности стенок сосуда;

поверхностный рост характерен для аэробных микроорганизмов, образующих пленку различной плотности и консистенции и цвета.

Отмечая культуральные свойства культуры, большее значение придают характеру ее развития на плотной среде. Это дает возможность быстро определить род микроорганизма и проводить его дальнейшую идентификацию.

Культуральные признаки на плотных средах следующие:

форма колоний (крутая, с фестончатым краем, с валиком по краю, амёбовидная, нитевидная, концентрическая). У большинства бактерий обнаруживаются чаще всего два типа колоний одновременно: S-тип (от англ. smooth) – гладкие, круглые выпуклые, имеют ровные края и гладкую блестящую поверхность. Они образуются в том случае, если микробные клетки после деления соприкасаются своими поверхностями. Большинство патогенных микроорганизмов образуют S-колонии. R-тип (от англ. rough) шероховатые колонии, характеризуются неправильной формой, зазубренными краями и морщинистой, шероховатой поверхностью. Формирование R-колоний обусловлено своеобразным делением бактерий, - наличием протоплазменных мостиков между разделившимися клетками и образованием цепочек, которые накладываются друг на друга. В результате разделившиеся бактерии имеют хаотичное расположение, что и создает неровные края и шероховатую поверхность;

профиль колоний (изогнутый, кратеровидный, бугристый, плоский, выпуклый, каплевидный, конусовидный);

край колоний (гладкий, волнистый, зубчатый, лопастной, реснитчатый, ворсистый, ветвистый);

размеры (10 мм и более в диаметре крупная, от 1 до 10 — средняя, не превышает 1 мм — точечная). Размеры колоний варьируют у одного и того же вида. Это зависит от свойств самого микроба, а также от среды, в которой или на которой он развивается. При пересеве одного и того же штамма можно наблюдать типичные и атипичные по размерам колонии;

поверхность (гладкая, морщинистая, шероховатая, складчатая, бугристая);
оптические свойства поверхности (прозрачная, просвечивающая, непрозрачная, блестящая, матовая, флуоресцирующая);

цвет (пигментация) – (грязно-белый, белый, желтый, оранжевый, сиреневый, синий, красный, черный и т. д.).

Внутриклеточные и внеклеточные пигменты – наиболее наглядный признак, позволяющий провести предварительную дифференциацию колоний на чашке. Внутриклеточные пигменты сообщают окраску самой колонии, внеклеточные – диффундируют в среду и окрашивают ее. Наиболее распространен среди бактерий желтый внутриклеточный пигмент (каротиноидные и липохромные пигменты). Он свойствен ряду таксономически различных бактерий: псевдомонадам, ксантобактеру, эрвиниям, флавобактериям, многим представителям коринеформных бактерий. Оранжево-красные пигменты образуют бактерии группы *Flavobacterium* *Cytophaga*, миксобактерии, коринеформные бактерии родов *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*. Причем одни культуры способны образовывать оранжевый пигмент (каротиноидный) только на свету (скотохромогенные бактерии), другие – при изменении окислительно-восстановительных условий (пропионовокислые бактерии), у третьих – наблюдается постепенное появление оранжевой окраски по мере развития культуры (бrevибактерии). Розово-красные оттенки пигментации (продигиозин или пироловый пигмент) свойственны бактериям родов *Serratia*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*. Коричневый или черный пигменты (меланин) образуются многими видами бацилл, бактероидами, дрожжами, грибами и азотобактером (при старении культуры). Внутриклеточный фиолетовый пигмент (виолацеин) характерен для культур рода *Chromobacterium* и одного из видов *Pseudomonas*. Образование внеклеточных флуоресцирующих желто-зеленых пигментов (пиовердин) служит важным диагностическим признаком при разделении рода *Pseudomonas* на секции. Внеклеточные желто-зеленые флуоресцирующие пигменты могут также выделяться спирохетами и азотобактером. Синий пигмент (пиоцианин – феназиновый пигмент) характерен для синегнойной палочки, индигоидин (азахинон) выделяется некоторыми псевдомонадами, коринеформными бактериями, артробактериями; структура колоний (однородная, мелкоили крупнозернистая, радиально или концентрически исчерченная, мучнистая, пленчатая, врастающая в агар, легко сни-

мающаяся иглой с агара); консистенция (маслянистая, тестообразная, слизистая, сухая, плотная, сметанообразная).

При изучении колоний актиномицетов обращают особое внимание на пигмент, выделяемый в среду, окраску воздушного и субстратного мицелия. Значение имеет структура и консистенция колоний (плотная, кожистая, порошковидная, рыхлая), поверхность колоний (мучнистая, пушистая, бархатистая) и запах колоний (землистый, эфирный, фруктовый).

Культуральные признаки имеют разную таксономическую значимость в разных группах бактерий. Так, в группе грамотрицательных атипичных бактерий форма, размер и консистенция колоний практически не отличаются у представителей разных родов и имеют, следовательно, низкую диагностическую ценность. В группе спорообразующих бактерий возможно провести предварительную дифференциацию даже на видовом уровне на основании формы и характера поверхности колонии. Колонии в виде башен из плотной слизи со складчатой поверхностью, характерные для представителей родов *Beijerinckia* и *Derxia*; специфические колонии образуют миксобактерии: либо плоские и тонкие с большим числом концентрических складок или радиальных линий, широко распространяющиеся по поверхности среды, либо складчатые, из плотной слизи, имеющие неправильную форму и растущие в виде языков или отдельных скоплений и струй. Колонии многих видов миксобактерий эродировать агар.

В группе коринеподобных бактерий диагностическую ценность имеет врастание колонии в агар благодаря образованию субстратного мицелия — роды *Promiromonospora* и *Nocardioidea*. Этим же бактериям свойственно образование воздушного мицелия на специфических средах. Следует отметить также в качестве общей закономерности, что колонии псевдомонад, как правило, плоские и прозрачные в проходящем свете, а большинство колоний коринеподобных бактерий непрозрачные (плотные), выпуклой формы, гладкие или слегка щероховатые.

Из каждой группы колоний, выросших на плотных средах, готовят препарат и определяют по форме клеток, к какому роду микроорганизмов они относятся.

Для определения общего микробного числа (ОМЧ) и сапрофитной микрофлоры различных субстратов используют универсальную среду — мясопептонный агар (МПА). Из общего числа микроорганизмов, развивающихся на МПА, можно выделить следующие роды: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*.

Род *Pseudomonas*. На МПА микроорганизмы этого рода формируют колонии: круглые, неправильной формы, плоские и выпуклые, слизистые и пастообразные, просвечивающие, бесцветные или пигментированные (грязно-белые, синие, сине-зеленые, красные, желтые, бурые и черные).

Характерная особенность представителей рода — образование сине-зеленого или желто-зеленого флуоресцирующего пигмента. Некоторые колонии удается наблюдать только, в ультрафиолетовых лучах. У других видов пигменты диффундируют в среду, окрашивая ее в соответствующий цвет. Образование определенного пигмента зависит от состава и реакции среды.

Клетки *Pseudomonas* прямые или слегка изогнутые, часто с заостренными концами. Они располагаются одиночно, парами или короткими цепочками. Размеры клеток 1,5–4 [0,5–1 мкм. Двигаются эти организмы при помощи жгутиков (монотрихи или лофотрихи), не образуют чехлов. Бактерии *Pseudomonas* — аэробы, но в анаэробных условиях способны использовать для дыхания кислород нитратов. Клетки грамотрицательные.

Род *Flavobacterium*. На МПА дают выпуклые или слабо выпуклые округлые колонии диаметром 2–3 мм с цельным краем, чаще гладкие и блестящие, прозрачные, желтого цвета за счет каротиноидных пигментов, не диффундирующих в среду, встречаются желтовато-оранжевые колонии, иногда и красные.

Клетки палочковидной формы ($0,5 \times 1,0-3,0$ мкм) с закругленными концами, неподвижны. Располагаются флавобактерии одиночно, парами и в виде коротких цепочек, иногда в виде нити. Характерен защелкивающийся тип деления, или снэпинг-тип обособления делящихся клеток. Эндоспор не образуют. Грамотрицательные.

Род *Micrococcus*. На МПА, как правило, образуют колонии мелких и средних размеров (диаметр 2–4 мкм). Колонии могут быть: матовые, блестящие, маслянистые; гладкие, выпуклые, плоские; зернистые, мелко складчатые; пастообразной или слизистой консистенции, иногда встречаются сухие плотные; цвет колоний возможен белый, серый, реже колонии бесцветные, встречаются буроватые, обычно — желтые, розовые или красные. Пигменты в среду не диффундируют. Клетки мелкие (диаметр $0,2-1,5$ мкм), одиночные, могут встречаться пары, тетрады или скопления неправильной формы. Клетки неподвижные, не образуют эндоспор. Грамположительные.

Род *Sarcina*. Колонии средних размеров; круглые, компактные, выпуклые, плоские; гладкие, бугристые или складчатые, зернистой структуры; матовые или жирно-блестящие; желтые, лимонно-желтые, иногда розовые, красные, белые. Клетки сферические (диаметр $1,8-3$ мкм), соединены в пакеты. Пакет объемный — куб, состоит из 8 клеток, поскольку образуется при делении клетки в трех взаимно перпендикулярных плоскостях. Под микроскопом пакет выглядит состоящим из четырех клеток (одна сторона куба). Есть сарцины, у которых пакеты уложены упорядоченно по четыре, и под микроскопом они смотрятся как большие тьюки, состоящие из четырех пакетов.

Род *Mycobacterium*. Относится к группе микобактерий. На МПА микобактерии растут медленно или очень медленно.

Они образуют мелкие, круглые компактные колонии, иногда приподнятые; мягкие, пастообразной или слизистой консистенции (растекающиеся по субстрату), бывают сухие крошащиеся, бугристые складчатые; матовые, блестящие, бесцветные или окрашенные (розовые, оранжевые, желтые, зеленые, синие, бурые, черные). Пигмент в среду не выделяют. Молодые клетки — ветвистые или угловатые с неправильными контурами ($3,0-7,0 \times 0,7$ мкм); с возрастом у большинства видов клетки распадаются на кокки и палочки. Обособление делящихся клеток происходит по снэпинг-типу. Большинство видов грамположительные.

Род *Bacillus*. Палочковидные бактерии, способные образовывать более или менее термоустойчивые споры. Во время формирования споры палочковидная форма клеток сохраняется. По характеру роста колоний на МПА (или МПА + сусло-агар) можно иногда определить видовую принадлежность бацилл. Клетки этого рода грамположительные.

B. megaterium — земляная палочка (от лат. terra — земля, почва). Колонии гладкие, белые, выпуклые, жирно-блестящие, редко — складчатые; края колоний резко очерчены или волнисто-бахромчатые. Споры овальные или цилиндрические, не шире материнской клетки, в поперечнике достигают 2 мкм. Длина клеток 5–7 мкм и более.

B. subtilis (от лат. sub — внутри или под, tilia — липа, трава, луб; впервые выделена из сена) — сенная палочка. Колонии сухие мелко морщинистые, бархатистые; бесцветные или розовые; срастающиеся с агаром; край колоний волнистый или слегка волнистый. Палочки короткие тонкие — $3-5 \times 0,9$ мкм. Споры овальные ($0,9 \times 0,6$ мкм), расположены не строго центрально, на некоторых средах — ближе к центру. Клетки подвижные (перитрихи).

B. mesentericus — картофельная палочка. Название связано не с картофелем, а с картофельной болезнью хлеба, которую она вызывает. Появляется картофельная палочка на качественном пшеничном хлебе (зерновом, барвихинском) при хранении его в течение нескольких дней в теплом месте при повышенной влажности, вызывая разрушение белковых веществ и крахмала. При ее интенсивном развитии внешние признаки мякиша изменяются: при разломе он становится тягучим и липким, появляется затхло-гнилостный, иногда с примесью сладковатого, запах. Колонии на МПА тонкие, сухие, морщинистые, серовато-белые. Палочки тонкие, длинные и короткие; подвижные ($3-10 \times 0,5-0,6$ мкм);

иногда они соединены в длинные нити. Споры овальные и продолговатые (0,9–0 5 мкм). При формировании спор клетки не меняют палочковидной формы.

B. mycoides – грибовидная палочка. Образует колонии, напоминающие рост гриба: ризоидные или мицелиевидные, стелющиеся по поверхности агара. Пучки нитей отходят от края колоний, создавая иллюзию ветвления; нити изгибаются направо или налево, образуя право или левовращающиеся формы колоний. Клетки в поперечнике – 0,8–1,2 мкм, по длине в зависимости от среды — 5–7 мкм, часто 10 мкм и более. Цитоплазма вакуолизирована, с гранулами запасных питательных веществ. Формы подвижные (перитрихи). Вид имеет много вариантов.

B. cereus (от лат. *cera* — восковой) — колонии восковидные, толстые, компактные, матовые со складчатым центром и ризоидными волнистыми краями; иногда мелкобугристые, с бахромчатыми краями, от которых отходят тонкие сплетения нитей. Клетки толстые, диаметром 1 — 1,5 мкм, длиной 3— 5 мкм, иногда и более; одиночные или соединены в цепочки, нити. Споры овальные (1,2 — 1,5×0,9 мкм), расположены субтерминально, прорастают полярно.

B. idosus (от лат. *idos* — образ, вид) — колонии сухие, матовые, плоские, мелкоморщинистые, легко и целиком снимающиеся иглой с поверхности агара. Клетки — тонкие прямые палочки (2–3×0,6 мкм), подвижные. Споры овальные, чаще образуются в центральной части клеток.

Род *Actinomyces* — лучистые грибы. Зрелые колонии (7–14 сут) обычно шероховатые, рыхлые по текстуре, могут быть бугристые, складчатые, бородавчатые с мучнистым налетом; разных оттенков; срastaются с субстратом и состоят из несептированных ветвящихся нитей длиной 10–50 мкм.

Используя селективные среды, также возможно определить некоторые рода микроорганизмов.

На нитритном агаре лучше выявляются представители автохтонной микрофлоры, так как нитрит ингибирует рост бациллярных форм, подавляющих микроорганизмы автохтонной группы. По культуральным признакам выделяют следующие рода:

Род *Nocardia* — колонии пастообразные, слизистые, сухие, по периферии образуется мицелиальная зона или мицелиальный, ободок, состоящий из субстратного и надсубстратного мицелия. В центре колонии чаще преобладают фрагментированные гифы, состоящие из палочковидных и кокковидных клеток. Колонии бесцветные, лимонно-желтые, желтые, розовые, красные.

Род *Arthrobacter* — колонии мелкие, плоские или слегка приподнятые, бесцветные, иногда с зеленовато-желтым оттенком. По их периферии образуется кружевной или складчатый ободок. У отдельных представителей края колоний зазубренные. Молодая культура состоит из мелких искривленных палочек, затем они довольно быстро распадаются, чаще — на кокковидные клетки.

Микромоноспоры — их компактный мицелий полностью погружен в субстрат и едва заметен под микроскопом; На поверхности агара кольцеобразно или радиально располагаются бесцветные или темноокрашенные комочки слизи, содержащие споры;

Род *Bactoderma* — колонии мелкие в виде розовой или белой бархатистой пленки; в центре она — складчатая, а по периферии — стекловидная; край колоний волнистый или лопастный.

На среде Эшби на 5-6-е сутки выделяют колонии азотобактера (*Azotobacter*)— плоские, слизистые, мажущейся консистенции, диаметром 5–10 мм темно-бурого (*A. chroococcum*) или зеленого (*A. agile*) цвета, и олионитрофильные бактерии — мелкие, слизистые, бесцветные колонии. Олионитрофильные дрожжи – *Lipomyces* – образуют на среде Эшби слизистые молочно-белые колонии.

5. Микроорганизмы зерна и продуктов его переработки

5.1 Вопросы к занятию

1. Микробиология основных пищевых продуктов

5.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: микробиология молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов, зерновых культур, плодов и овощей.

Микробиология молока и молочных продуктов

Состав микрофлоры свежего сырого молока очень разнообразен. Он зависит от многих факторов, например от степени чистоты шкуры животного и доильных аппаратов; воды, используемой для мойки; воздуха доильных помещений и многих других причин.

В свежем молоке содержатся бактерицидные вещества – лактенины, которые в первые часы после дойки задерживают развитие в молоке бактерий, а многие из них даже гибнут. Период времени, в течение которого сохраняются бактерицидные свойства молока, называют бактерицидной фазой. Бактерицидность молока со временем снижается и тем быстрее, чем больше в молоке бактерий и выше его температура. Чтобы удлинить бактерицидную фазу молока, необходимо возможно скорее охладить его до 10 °С. Обычно эта фаза длится от 2 до 40 ч.

В дальнейшем наступает быстрое развитие всех микробов. Однако молочнокислые бактерии, если они до этого находились даже в меньшинстве, постепенно становятся преобладающими. Это объясняется тем, что они используют молочный сахар, недоступный большинству прочих микроорганизмов, а также тем, что молочная кислота угнетает развитие всех остальных микробов. Постепенно под влиянием накопившейся молочной кислоты прекращается размножение и молочнокислых бактерий. В молоке, подвергнутом сквашиванию, создаются условия для развития плесневых грибов и дрожжей. Кислотность молока снижается, снова в нем могут развиваться гнилостные бактерии. В конечном счете происходит полная гнилостная порча молока.

Возбудители:

В основном это стафилококки, молочнокислые стрептококки, микрококки, могут встречаться бактерии группы кишечной палочки, спорообразующие бактерии. Эти микроорганизмы могут быть возбудителями различных инфекционных заболеваний (дизентерии, брюшного тифа, бруцеллеза, туберкулеза и др.).

Виды порчи:

1. Кислотное брожение: молочнокислые бактерии (продукт подвергается сквашиванию). Использование низких температур.

2. Плесневение: оидиум пенициллум (опреснение продукта). Использование низких температур.

3. Гниение: кишечная палочка, протей, стафилококки (горький вкус, сине-серая окраска, неприятный запах). Использование низких температур.

Микробиология мяса и мясных продуктов

Мясо является хорошим питательным субстратом для микроорганизмов.

Во внутренних слоях мяса здорового животного непосредственно после убоя микроорганизмы вообще отсутствуют или встречаются единичные клетки. При разделке туши происходит обсеменение ее поверхности микроорганизмами, которые в дальнейшем могут вызвать порчу продукта. Микрофлора поверхности мяса весьма разнообразна и зависит от многих причин: чистоты шкуры животного перед убоем, условий убоя и первичной обработки туш (метода съемки шкуры), соприкосновения с загрязненными инструментами (ножами), чистоты воздуха. В связи с этим количество микроорганизмов на 1 см² площади поверхности мяса может колебаться в широких пределах (10²—10⁶ и более).

Возбудители:

Состав микрофлоры разнообразен. Преимущественно это аэробные и факультативные анаэробные микробы: стафилококки, микрококки, БГКП, протей, молочнокислые бактерии, дрожжи, плесневые грибы.

Мясо может быть инфицировано и токсигенными бактериями, например: клостридиями, сальмонеллами.

Виды порчи:

Гниение: вызывают клостридий, протей (мясо липкое, покрывается слизью, консистенция становится мягче). Хранить в низких температурах.

Ослизнение: вызывает псевдомонада (большой слой слизи на поверхности мяса). Соблюдать ОВВ при хранении.

Ослизнение не затрагивает глубокие слои мяса и мало влияет на его пищевую ценность, однако существенно ухудшает товарный вид. Такое мясо реализации не подлежит.

Кислотное брожение: вызывают клостридии, молочно-кислые бактерии, дрожжи (неприятный запах, изменение окраски до серой, размягчение продукта). Соблюдение правил хранения.

Кислотное брожение возникает вследствие плохого обескровливания животных при убойе, а также в тех случаях, когда туши долго не охлаждают.

Пигментация мяса: синегнойная палочка, сарцины, палочка чудесной крови (синие пятна на поверхности мяса, желтые пятна, красные пятна). Соблюдение правил хранения.

Микробиология рыбы и рыбных продуктов

Несмотря на большое сходство в химическом составе с мясом, рыба и рыбные продукты еще менее стойки к воздействию микробов. Это объясняется следующими факторами:

Процесс обсеменения и порчи мяса происходит только с поверхности, а рыба портится как с поверхности, так и изнутри, потому что большое количество микробов находится у рыб в жабрах и кишечнике;

Микрофлора рыбы в значительной части является холодолюбивой. Попадая в условия более высокой температуры после вылова рыбы, эта микрофлора чрезвычайно быстро развивается;

Поверхность рыбы покрыта слоем слизи, служащей для множества находящихся в ней микробов хорошей питательной средой;

При массовом улове рыбы бывает очень трудно отделить больные экземпляры от здоровых, которые могут создавать очаги порчи при хранении.

Рыба является скоропортящимся продуктом, поскольку ее мышечная ткань содержит много влаги и может обсеменяться микрофлорой через кишечник, слизь кожи и жабры. Поэтому ее немедленно обрабатывают – моют, потрошат, разделяют, затем охлаждают и хранят при 0 до -1°C . Предлагается вводить в лед, используемый для хранения рыбы, антисептики и антибиотики, это позволяет увеличить сроки хранения на несколько дней.

Возбудители:

Микрококки, сарцины, споровые и бесспоровые палочки, в том числе и гнилостные.

Виды порчи:

Гниение: протей, псевдомонады, кишечная палочка, клостридии (размягчается консистенция, глаза впалые, жабры бурого цвета, брюшко вздутое). Использование антибиотика биомицина.

Кислотное брожение: стафилококки, синегнойная палочка (Внешних признаков порчи нет). Хранить в газонепроницаемой упаковке.

Плесневение: аскомицеты, зигомицеты (пушистые налеты различных оттенков). Соблюдение правил хранения.

Для более длительного сохранения рыбу замораживают или подвергают другим способам консервирования: посолу, копчению, маринованию, вялению.

Микробиология зерновых культур

В зерновых продуктах содержится очень много микробов, которые при низкой влажности продуктов находятся в состоянии покоя и не вызывают в них каких-либо изменений. При увеличении влажности свыше 15% микробы начинают развивать свою жизнедеятельность и могут нанести зерновым продуктам большой вред. Прежде всего, раз-

виваются плесневые грибы, которые выделяют большое количество ферментов, размягчающих оболочку зерна, что создает благоприятные условия для развития бактерий и дрожжей.

В результате жизнедеятельности микробов в зерне выделяется большое количество тепла и происходит его порча.

Микрофлора муки происходит в основном от микрофлоры зерна. В процессе размала зерна микроорганизмы, находящиеся на его поверхности, в значительном количестве переходят в муку.

Возбудители:

Бактерии: преобладает бесспорная, факультативная аэробная травяная палочка – гербикола (*Erwinia herbicola*). Встречаются также молочнокислые бактерии, микрококки, кишечная, картофельная и сенная палочки, протей, плесневые грибы и дрожжи.

Состав микрофлоры муки зависит от степени зараженности зерна, а также от способа его размала и очистки. В высокосортной муке микроорганизмов меньше, чем в муке низкосортной с большим количеством отрубей.

Микрофлора свежемолотой муки в основном представлена микроорганизмами перерабатываемого зерна. Основная масса состоит из бактерий, среди которых преобладает (до 90%) палочки гербикола (*Erwinia herbicola*). Отличаясь удивительной устойчивостью к высушиванию, она долго сохраняется и на продуктах переработки зерна.

Чаще всего встречаются следующие виды порчи муки:

Прокисание: молочнокислые бактерии (образование комков, запах затхлости, мука темнеет). Соблюдение правил хранения и ОВВ при хранении.

Прогоркание: Мицелиальные грибы (образование комков, запах затхлости, мука темнеет). Соблюдение правил хранения и ОВВ при хранении.

Плесневение: Аспергиллы, пенициллы (образование комков, запах затхлости, мука темнеет). Соблюдение правил хранения и ОВВ при хранении.

Плесневение наиболее распространенный вид ее порчи. Плесневелая мука небезопасна: *Aspergillus*, *Penicillium*, способны продуцировать микотоксины, многие из которых термостойки и могут сохраниться в хлебе и стать причиной пищевых отравлений.

Микробиология плодов и овощей

На поверхности фруктов и овощей постоянно находится значительное количество микроорганизмов.

В плодах, овощах, ягодах содержится большое количество воды, что делает их нестойкими в хранении. Кроме того, они подвержены заболеваниям, которые ведут к их порче и делают непригодными в пищу.

Плоды и овощи являются живыми организмами и даже в снятых плодах и овощах преобладают диссимиляционные процессы (дыхание) и в них сохраняется также функция транспирации (испарения воды). У разных плодов и овощей в зависимости от их происхождения и видовых особенностей эти процессы протекают с различной интенсивностью.

Чем интенсивнее биохимические процессы, тем быстрее происходят в плодах и овощах глубокие и необратимые изменения, характеризующие их старение. По мере старения плодов и овощей лежкоспособность их падает, ухудшается внешний вид, снижается способность сопротивляться заболеваниям, на них начинают развиваться различные микроорганизмы.

Однако плоды и овощи достаточно устойчивы к микробным поражениям благодаря высокой кислотностью сока мякоти, наличием эфирных масел, дубильных веществ и др. Важную роль в защите плодов и овощей играет кожица благодаря особенностям своего строения (ее толщина, кутикулы, восковой налет).

В случае же нарушения целостности покрова плодов и овощей для микробов создается доступ к глубинным слоям их тканей. Обычно порча начинается с развития плесневых грибов, так как кислая среда тканевого сока для них благоприятна. Затем в порче могут принять участие и бактерии. Особенно быстро порча происходит при повышенной

температуре. У неповрежденных плодов и овощей микробиологическая порча может возникнуть и в результате их полного созревания или перезревания.

Возбудители:

Молочнокислые бактерии, оцтовокислые, дрожжи, плесневые грибы.

Отдельные виды порчи:

Горькая гниль (яблоки, груши): Дейтеромицеты (монилия) (появляются вдавленные округлые пятна, плоды приобретают горечь). Хранение по принципу биогаза.

Серая гниль (вишня, сливы, персики): Дейтеромицеты (монилия). Хранение по принципу биогаза.

Гниль цитрусовых плодов: Аскомицеты (пенициллум) (ткань плода чернеет и размягчается). Хранение по принципу биогаза.

Белая гниль (морковь, корнеплоды): Плесневой гриб склеротиния (белые пушистые налеты). Хранение по принципу биогаза.

Черная сухая гниль моркови: Дейтеромицеты (альтернация) (сухие, черные вдавленные пятна). Хранение по принципу биогаза.

Мокрая бактериальная гниль моркови: бактерия *P. Grivinia* (ткань размягчается и превращается в слизистую кашеобразную массу с неприятным запахом). Хранение по принципу биогаза.

Серая или шейковая гниль лука: Дейтеромицеты (ботридис) (Ткань луковицы бурет, размягчается). Хранение по принципу биогаза.

Согласно санитарным требованиям, плоды и овощи гнилые, заплесневелые, пораженные вредителями и болезнями, поврежденные грызунами, насекомыми и личинками, а также с резким посторонним запахом, с ядохимикатами не допускаются к реализации.

Необходимыми мероприятиями и обязательными требованиями в борьбе с болезнями плодов и овощей в период после съема до реализации являются бережное обращение с ними, систематическая проверка, сортировка, своевременное удаление испорченных экземпляров, содержание хранилищ в чистоте, санитарная обработка транспортировочной тары, соблюдение необходимого режима хранения (хранение в регулируемой газовой среде, т.е. в атмосфере с определенным повышенным содержанием углекислого газа и с пониженным содержанием кислорода).

6. Основные сведения о гигиене и санитарии

6.1 Вопросы к занятию

1. Виды дезинфицирующих растворов и их применение

6.2 При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: определение, классификация и основные представители дезинфицирующих растворов и их применение.

Антисептики и дезинфицирующие вещества относятся к противомикробным средствам, лишенным избирательности противомикробного действия (активны в отношении большинства микроорганизмов, простейших и грибов и не вызывают развития резистентности). Дезинфицирующие средства используются для борьбы с возбудителями, находящимися во внешней среде (обработка помещений, воды, инструментов, белья и т. д.).

Антисептики используются для уничтожения возбудителей, находящихся на поверхности тканей человека. Их наносят на кожу и слизистые (в том числе желудочно-кишечного тракта и мочевыводящих путей), в стоматологии применяют для обработки патологических зубодесневых карманов при парадонтозе, корневых каналов и полостей зуба.

Механизм действия большинства антисептиков и дезинфицирующих средств связан с их способностью денатурировать белки (структурные и ферментативные) и оказывать таким образом бактерицидное действие. В связи с отсутствием избирательности антисептики и дезинфицирующие средства обладают органотропностью в отношении макроорганизма).

Классификация и основные представители

Антисептики и дезинфицирующие средства классифицируются по химическому строению:

I. Галоидосодержащие соединения (производные хлора, йода и др.). Антисептики этой группы обладают выраженным бактерицидным, спороцидным, фунгицидным и дезодорирующим действием. Наиболее активны препараты, содержащие элементарные галогены или освобождающие их (раствор хлорной извести, хлорамин Б, раствор йода спиртовой, раствор Люголя, йодиол, йодокам, йодоформ, пантоцид).

II. Окислители (калия перманганат, раствор перекиси водорода, гидроперит). Принцип действия препаратов этой группы заключается в освобождении кислорода и окислении органических компонентов протоплазмы микроорганизмов. Оказывают дезодорирующее действие. Раствор перекиси водорода способствует механическому очищению раны и остановке кровотечений.

III. Антисептики группы фенола (фенол чистый, резорцин, трикрезол, ферозол, резорцин, бензонафтол, ваготил). Фенол оказывает бактерицидное, спороцидное и фунгицидное действие. Раздражает ткани, легко всасывается с места нанесения, токсичен. Как антисептик применяется в стоматологии при обработке корневых каналов и некротизации пульпы зуба. Ваготил оказывает местное бактерицидное и трихомонацидное действие. Резорцин как антисептик уступает фенолу. В малых концентрациях оказывает кератопластическое, а в больших - кератолитическое и прижигающее действие.

К группе фенола относится также эвгенол (аллилгваякол), являющийся главной составной частью гвоздичного масла и оказывающий дезинфицирующее и местноанестезирующее действие.

IV. Антисептики алифатического ряда из группы спиртов и альдегидов (раствор формальдегида, гексаметиленetetрамин (метенамин), спирт этиловый, бета-1-лизоформ, циминаль).

Препараты формальдегида обладают противомикробным, спороцидным, дезодорирующим, дегидратирующим и мумифицирующим свойствами. Применяются для обработки кожи при потливости, в стоматологии - для некротизации и мумификации пульпы зуба. Противомикробная активность этилового спирта повышается с увеличением его концентрации. На споры он не влияет.

Гексаметиленetetрамин применяют как антисептик при инфекциях мочевых путей (способность препарата разлагаться в кислой среде с образованием формальдегида). Входит в состав таблеток "Уросал", "Уробесал", "Кальцекс". Лизоформ (смесь формалина и калийного мыла в спирту) применяется для спринцеваний в гинекологии. Циминаль местно подавляет грамположительную и грамотрицательную флору, способствует заживлению и эпителизации ран.

V. Соединения тяжелых металлов (цинка окись, серебра нитрат, меди сульфат, ртути дихлорид, ртути амидохлорид, ртути монохлорид, протаргол, колларгол, цинка сульфат, цинка окись, пластырь свинцовый - простой и сложный).

Кроме антибактериального эффекта, антисептики этой группы оказывают выраженное местное действие (см. раздел "Вяжущие средства"). Из препаратов ртути используют ртути дихлорид как дезинфицирующее средство (водным раствором обрабатывают помещения, посуду, перчатки, неметаллические предметы), ртути амидохлорид - как антисептик в виде мазей при инфекциях кожи и глаз. При применении ртутьсодержащих препаратов следует помнить об их токсичности.

Препараты цинка обладают вяжущим, антисептическим, подсушивающим действием. Препараты свинца применяют местно при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи. Препараты меди - при отравлениях белым фосфором, ожогах кожи фосфором (образуют нерастворимые соединения), конъюнктивитах и уретритах.

VI. Красители (бриллиантовая зелень, метиленовый синий, этакридина лактат).

Бриллиантовый зеленый и метиленовый синий - высокоактивные и относительно быстродействующие антисептики, применяющиеся при пиодермиях. Этакридина лактат не раздражает ткани, малотоксичен, не теряет антибактериальной активности в присутствии белка и тканевых жидкостей, действует постепенно. Раствор метиленового синего вводят в вену при отравлении цианидами, окисью углерода и сероводородом ("Хромосмон").

VII. Детергенты (церигель, роккал, дегмицид, этоний). Эти катионные мыла обладают мощным антибактериальным и фунгицидным действием, которое снижается в присутствии органических веществ и при сочетании с анионными мылами. Применяются для обработки рук хирурга, стерилизации инструментов и аппаратуры. Дегмицид обладает выраженными дезинфицирующими свойствами, применяется для обработки рук хирурга.

VIII. Бигуаниды (хлоргекседин). Обладают выраженным антибактериальным и фунгицидным действием. Применяют 0,1-1%-ные водные и спиртовые растворы для обработки рук хирурга, операционного поля, ран, а также для стерилизации инструментов.

IX. Кислоты и щелочи (кислота борная, кислота надуксусная, раствор аммиака). 2-4%-ный раствор борной кислоты назначают для промывания слизистых оболочек, полоскания полости рта, в составе мазей и присыпок (противомикробная активность ее достаточно низка).

Кислота надуксусная (0,5%-ный раствор) - очень сильный антисептик, обладает спороцидным действием и не нуждается в последующей нейтрализации. Нашатырный спирт содержит 9,5-10,5 % аммиака. Его 0,5%-ный раствор применяют для обработки рук хирурга.

X. Производные нитрофурана - фурацилин (нитрофуран). Препараты этой группы нарушают эндогенное дыхание и синтез белка в бактериальной клетке. Их применяют для полоскания слизистой оболочки полости рта, промывания ран, серозных и суставных полостей. Иногда могут вызывать сенсibilизацию и дерматит.

X. Другие препараты. Дегти (деготь березовый, линимент бальзамический по А. В. Вишневскому) обладают антисептическими свойствами и ускоряют процессы регенерации. Ихтиол - производное сланцевого масла - оказывает противовоспалительное, антисептическое и обезболивающее действие. Применяется наружно.

Широко используются также производные нефти: нефть нафталанская рафинированная (мазь нафталанная и др.), парафин твердый, озокерит.

Нефть нафталанная обладает смягчающим, рассасывающим и дезинфицирующим действием. Применяется местно. Парафин и озокерит обладают высокой теплопроводностью и применяются в виде компрессов для тепловых процедур. Препараты серы (сера осажденная, сульсен) обладают противомикробным и противопаразитарным действием (чесотка). Винолин (бальзам Шостаковского) и винизоль применяют для очищения, регенерации и эпителизации ран.

Кроме того, используются различные препараты природного происхождения: хлорофиллипт, экстерид, лизоцим, полифенан, настойка чеснока, настойка софоры японской и др.

7. Основы микробиологического контроля на предприятиях пищевой промышленности

7.1. Вопросы к занятию

1. Санитарные требования к транспортировке и хранению пищевых продуктов.
2. Санитарно-эпидемиологический надзор и санитарно-эпидемиологическое законодательство

7.2

При подготовке к вопросам акцентировать внимание необходимо на следующих вопросах: требования к транспорту и перевозке пищевых продуктов, требования складским помещениям и хранению пищевых продуктов.

Требования к транспорту и перевозке пищевых продуктов. Пищевые продукты доставляют на предприятия общественного питания с продовольственных складов и баз. При неправильной перевозке продукты могут загрязняться и портиться в результате действия пыли, солнечных лучей, высокой температуры, механических воздействий. Поэтому при транспортировке пищевых продуктов соблюдение санитарных правил является обязательным условием сохранения их качества. Для перевозки продуктов используют только специализированный автотранспорт с соответствующими надписями («хлеб», «молоко», «продукты»), с закрытыми кузовами, внутри обитыми оцинкованным железом или белой жстью. Картофель, капусту, арбузы разрешается перевозить и в открытых кузовах автомашин, но обязательно прикрытыми брезентом. Для перевозки продуктов на небольшие расстояния используют грузо-вые мотороллеры. Скоропортящиеся продукты перевозят в авто-транспорте с холодильным оборудованием (авторефрижераторы) или с изотермическим охлажденным кузовом.

Тара для перевозки изготавливается из легкого нержавеющей материала и предназначена для определенного вида продукта. На все виды транспортируемых продуктов должны быть документы о качестве (сертификат) и накладная с указанием даты изготовления, срока реализации продукции. Скоропортящиеся продукты следует перевозить в течение 2 ч при температуре не выше 8°C.

Особое внимание следует уделять перевозке полуфабрикатов и готовой пищи в столовые-догоотовочные, в магазины кулинарии, бу-феты, так как эти продукты подвержены большой обсеменяемости микробами. Санитарные правила перевозки этих изделий следующие: 1) перевозить сырые полуфабрикаты и готовые изделия следует порознь; 2) в теплое время года полуфабрикаты нужно перевозить в закрытых охлаждаемых кузовах с температурой не выше 8°C в течение 2 ч; 3) полуфабрикаты необходимо перевозить в специальной металлической таре с плотно закрывающейся крышкой, а готовую пищу и изделия — в термосах, кастрюлях, лотках с крышками; 4) при перевозке продукты нужно снабдить документами с указанием предприятия-изготовителя, наименования продукта, даты и часа изготовления, номера упаковщика; 5) блюда, подлежащие транспортировке, должны готовиться не более чем за 1 ч до перевозки.

В соответствии с санитарными требованиями транспорт, предназначенный для перевозки пищевых продуктов, должен ежедневно после использования промываться горячей водой с кальцинированной содой и не реже одного раза в неделю дезинфицироваться 2%-ным раствором хлорной извести. Брезент стирают в щелочном растворе по мере загрязнения. Площадки для мойки автомашин оборудуют на автобазе и на пищевых предприятиях. Тару, подлежащую возврату, очищают и моют горячей водой на каждом предприятии общественного питания в специальных ваннах.

На пищевых предприятиях, продовольственных базах и складах, на фабриках-заготовочных, откуда поступают продукты и полуфабрикаты, тара обязательно моется с моющими средствами и дезинфицируется 2%-ным раствором хлорной извести или горячей водой, или острым паром.

Лица, сопровождающие продукты в пути и выполняющие погрузку и выгрузку их, обеспечиваются санитарной одеждой (халат, рукавицы), которую надевают во время работы.

Требования складским помещениям и хранению пищевых продуктов. Для обеспечения бесперебойной работы предприятия общественного питания имеют запас сырья, количество которого определяется производственной мощностью предприятия и сроками хранения-продуктов. Поэтому поступившие пищевые продукты сначала принимают на склад предприятия, а затем по мере необходимости выдают в производственные цехи для переработки.

При приемке продуктов проверяют качество их в соответствии с требованиями стандарта и сопроводительного документа. Качество проверяют органолептическим методом, а в случае необходимости прибегают к лабораторным исследованиям.

Запрещается принимать: мясо без клейма и сопроводительного документа; непотрошеную домашнюю* птицу; утиные, гусиные и маринованные (из инкубатора) куриные яйца; баночные* консервы, по внешнему виду не отвечающие стандартам (бомбажные, мятые, заржавевшие); скоропортящиеся продукты при отсутствии холодильного оборудования.

К условиям хранения пищевых продуктов предъявляют следующие санитарные требования, направленные на сохранение качества сырья: 1) наличие достаточного количества складских помещений; 2) соблюдение режима хранения продуктов (температура, влажность, вентиляция); 3) соблюдение сроков хранения; 4) запрещение совместного хранения сырья, полуфабрикатов и готовой продукции; 5) соблюдение правил товарного соседства (во избежание передачи запаха продуктов); 6) наличие специального складского оборудования (стеллажи, полки, крючья, подтоварники, лари, закрома), обеспечивающего хорошую сохранность продуктов.

Все складские помещения делят на охлаждаемые камеры (мясные, рыбные, молочно-жировая, для фруктов и зелени) и неохлаждаемые склады (для сухих продуктов, овощей, хлеба).

В холодильной камере для хранения мяса нужно поддерживать температуру воздуха 2°C и относительную влажность 85%. Срок хранения мясopодуKтов от 1 (субпродукты) до 5 дн (замороженные мясные туши). Мясные туши подвешивают на крючьях на расстоянии друг от друга и от стен. Ящики с птицей, субпродуктами устанавливают на стеллажах или полках.

В холодильной камере для хранения рыбы и рыбopодуKтов должна быть температура — 2°C и относительная влажность 90%. Срок хранения рыбopодуKтов от 1 дн (охлажденные) до 3 дн (мороженные). Крупную рыбу рекомендуют подвешивать на крючьях. Коробки с брикетами замороженной рыбы укладывают на стеллажи, бочкой с рыбой — на подтоварники.

Холодильная камера для молочных продуктов должна иметь температуру 4°C, относительную влажность воздуха 85%. Сроки хранения продуктов следующие: молока — 20 ч, творога — 36 ч, сметаны — 72 ч, яиц — 6 дн, вареных колбас — до 48 ч, сыра — 20 дн. Бидоны, фляги, бочки с молоком; творогом и сметаной, коробки с яйцами устанавливают на подтоварники, сыры укладывают на стеллажи рядами с прокладкой из картона между ними. Колбасы, окорока подвешивают на крючьях; сливочное масло, сосиски хранят в упаковке на полках или стеллажах.

В камере для хранения фруктов и зелени должна поддерживаться температура 4°C, относительная влажность 90%. Срок хранения зелени и ягод — до 2 сут, яблок и цитрусовых до 3 дн. Ящики, корзины устанавливают на стеллажи и подтоварники, обеспечивая хороший доступ воздуха.

Склад сухих продуктов в зимнее время отапливается, температура в нем должна быть 15—17°C, относительная влажность 65%. Срок хранения сухих продуктов от 5 до 10 дн. Крупы хранят в ларях с крышками, муку в мешках, уложенных в штабеля высотой 2 м, — на подтоварниках. При длительном хранении муки для предупреждения ее увлажнения мешки перекалывают из нижних рядов наверх. Макароны хранят в ящиках, а растительное масло — в бочках или бидонах на подтоварниках. Сахар и соль при хранении оберегают от увлажнения, сильно пахнущие продукты (чай, кофе) размещают изолированно от других товаров.

Склад овощей оборудуют хорошей вентиляцией. Температура в нем колеблется в зависимости от температуры наружного воздуха. Картофель и овощи хранят в закромах высотой не более 1,5 м, свежую капусту — рядами на решетчатых полках стеллажей, квашеные, соленые, овощи — в бочках, установленных на подтоварниках.

Хранение хлеба, как правило, организуют в хлебобрезной, которую располагают рядом с обеденным* залом и оборудуют окном с разгрузочной площадкой. Такое расположение помещения облегчает разгрузку хлеба и сокращает транспортировку, а следовательно, предохраняет хлеб от загрязнения. Помещение должно быть сухим, светлым с температурой не ниже 17°C и относительной влажностью воздуха 70%. Хлеб — продукт, готовый к употреблению, поэтому его хранят не более 24 ч в закрытых шкафах с вентиляционными отверстиями или на полках, закрытых занавесками. Каждый вид хлеба размещают отдельно.

Все складские помещения содержат в чистоте. Освободившуюся тару немедленно убирают. Закрома, лари, полки перед загрузкой тщательно очищают от остатков продуктов. При появлении на складе амбарных вредителей проводится дезинфекция помещений специалистами санэпидемстанции.

**БУЗУЛУКСКИЙ ГИДРОМЕЛИОРАТИВНЫЙ ТЕХНИКУМ – ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ
САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
ОП.07 МИКРОБИОЛОГИЯ, САНИТАРИЯ И ГИГИЕНА**

Специальность 35.02.20 Технология производства, первичной
переработки и хранения сельскохозяйственной продукции
Форма обучения очная

Бузулук, 2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Данное учебно-методическое пособие предназначено для выполнения самостоятельных работ по дисциплине «Математические методы решения прикладных профессиональных задач» для студентов специальностей 35.02.20 Технология производства, первичной переработки и хранения сельскохозяйственной продукции. Пособие соответствует требованиям федерального государственного образовательного стандарта СПО и рабочей программы по дисциплине.

Так как самостоятельная работа является обязательным условием организации учебного процесса, то данное пособие призвано способствовать приобретению студентами необходимых умений и навыков при выполнении индивидуальных работ, развитию логического мышления, умению применять полученные знания в профессиональной деятельности.

Учебно-методическое пособие содержит задания для самостоятельных работ и подробные методические указания по их выполнению с разобранными примерами. Также в пособии присутствуют таблицы и формулы, которые помогут студенту решить задания.

В процессе изучения данной дисциплины студент должен выполнить все предлагаемые задания. Номер варианта в каждом из них дается лично преподавателем и соответствует номеру студента в учебном журнале.

Время, выбранное на самостоятельную работу по данной(ым) теме(ам) обосновано: сложностью материала, большим объемом вычислительных действий и преобразований.

ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ЭТАПАМ ВЫПОЛНЕНИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНЫХ РАБОТ

Выполнение самостоятельной работы должно способствовать более полному усвоению программного материала.

Методические указания для выполнения самостоятельной работы составлены в соответствии с рабочей программой по дисциплине.

Цель методических указаний – оказать помощь студентам в работе с учебной и научной литературой, в овладении определенными учебными умениями и навыками, к которым относится:

- умение накапливать информацию;
- умение творчески ее перерабатывать;
- умение выдавать новую информацию;
- умение находить на все это время.

Самостоятельная работа студентов является основным способом овладения учебным материалом в свободное от обязательных учебных занятий время.

Самостоятельная работа студентов проводится с целью:

- систематизации и закрепления полученных теоретических знаний и практических умений студентов;
- углубления и расширения теоретических знаний;
- формирования умений использовать нормативную, правовую, справочную документацию и специальную литературу;
- развития познавательных способностей и активности студентов: творческой инициативы, самостоятельности, ответственности и организованности;
- формирования самостоятельности мышления, способностей к саморазвитию, самосовершенствованию и самореализации;
- развития исследовательских умений.

В учебном процессе среднего специального учебного заведения выделяют два вида самостоятельной работы:

аудиторная;
внеаудиторная.

Для успешного овладения навыками самостоятельной работы студенту обязательно следует научиться работать с учебной литературой. Для чего необходимо знать основные пути к литературным источникам, знать, как их находить в библиотечных фондах, уметь выбрать в них нужную информацию, правильно ее обрабатывать.

Цели самостоятельной внеаудиторной работы студентов:

- закрепление, углубление, расширение и систематизация знаний, самостоятельное овладение новым учебным материалом;
- формирование профессиональных явлений;
- формирование умений и навыков самостоятельного умственного труда;
- мотивирование регулярной целенаправленной работы по освоению специальности;
- развитие самостоятельного мышления;
- формирование убежденности, волевых черт характера, способности к самоорганизации.

Основные виды самостоятельной работы студентов:

1. Первичное овладение знаниями (усвоение нового материала):

- чтение дополнительной литературы;
- составление плана текста, конспектирование прочитанного;
- выписки из текста;

- ознакомление с нормативными документами.
- 2. Закрепление и систематизация знаний:
 - работа с конспектами лекций;
 - изучение нормативных документов;
 - ответы на контрольные вопросы;
 - подготовка к выступлению на занятиях.
- 3. Применение знаний, формирование умений:
 - решение задач по образцу, вариативных задач;
 - выполнение ситуационных производственных задач;
 - выполнение индивидуальных заданий.

Основные этапы выполнения самостоятельной работы:

1. Изучить содержание задания.
2. Подобрать литературу для получения ответов на задания.
3. Составить план выполнения задания:
 - 3.1. Выбрать вопросы для изучения.
 - 3.2. Определить сроки выполнения задания.
 - 3.3. Согласовать с преподавателями намеченный план
4. Выполнить составленный план.
5. Убедиться, что задание выполнено:
 - 5.1. Оценить в полном ли объеме материал.
 - 5.2. Обдумать собранную информацию, обобщите ее.
 - 5.3. Выяснить дополнительные вопросы, возникшие в ходе выполнения задания.
 - 5.4. Изложить результаты выполнения задания в соответствии с указанием

преподавателя. Студентам необходимо знать, что для каждого этапа выполнения плана самостоятельной работы они могут обращаться за консультацией к преподавателю или руководителю для дальнейшей работы и ее корректировки.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНЫХ РАБОТ

1. Бактерии. Плесневые грибы. Дрожжи. Вирусы и фаги
2. Пищевые отравления немикробного происхождения. Микотоксикозы. Токсикоинфекции.
3. Личная гигиена работников предприятий
4. Санитарные требования к оборудованию, инвентарю, посуде, таре