

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ, ІМУНОЛОГІЇ

**ВЗАЄМОДІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ З НАВКОЛИШНІМ
СЕРЕДОВИЩЕМ. МІКРОБІОТА РОТОВОЇ
ПОРОЖНИНИ ЛЮДИНИ**

Навчальний посібник з мікробіології для студентів-стоматологів

II-III курсу медичного факультету

Запоріжжя

2015

УДК 579.26:616.31
ББК 52.64
Э 40

*Затверджено на засіданні Центральної методичної ради ЗДМУ
(протокол № 4 від 26.02.2015 року)*

РЕЦЕНЗЕНТ:

Зав. кафедрою фармакології, д.біол.н., професор *Бєленічев І. Ф.*

АВТОРИ:

Войтович О.В. – к.біол.н., асстент кафедри мікробіології, вірусології, імунології.

Ерьоміна А.К. – к.біол.н., старший викладач кафедри мікробіології, вірусології, імунології.

Камишний О.М. – д.мед.н., доцент, зав. кафедри мікробіології, вірусології, імунології.

Кірсанова О. В. – к.мед.н., доцент кафедри загальної гігієни та екології.

Взаємодія мікроорганізмів з навколишнім середовищем.
Мікробіота ротової порожнини людини : навч. посібник з мікробіології для студентів-стоматологів II-III курсу мед ф-ту / О. В. Войтович [та ін.]. – Запоріжжя : [ЗДМУ], 2015. – 86 с.

Мікроекологія є новим науковим і практичним напрямком біології і медицини, що знаходиться на стику мікробіології, екології, епідеміології та гігієни, яка важлива для подальшого вивчення студентами клінічної мікробіології.

Представлені дані симбіотичних взаємозв'язків мікроорганізмів між собою і з організмом людини. Приділена значна увага позитивному і негативному впливу на здоров'я людини мікробіоти різних біотопів навколишнього середовища і різних біотопів організму людини. Висвітлені основні методи санітарної мікробіології та вірусології.

ЗМІСТ

Взаємовідносини мікроорганізмів між собою і з навколишнім середовищем	4
Санітарна мікробіологія	8
Методи мікробної деконтамінації	54
Санітарна вірусологія	63
Протоколи по темі мікроекологія і санітарна мікробіологія	79

ВЗАЄМОВІДНОСИНИ МІКРООРГАНІЗМІВ МІЖ СОБОЮ І З НАВКОЛИШНІМ СЕРЕДОВИЩЕМ

Взаємовідносини організмів між собою і з навколишнім середовищем вивчає екологія (грецьк. oikos - житло, logos - поняття, вчення). Цей термін запропонував в 1866 році Е. Геккель. Мікроекологія вивчає взаємозв'язки між людиною і мікроорганізмами навколишнього середовища, а також симбіотичні взаємовідношення з власною мікробіотою. Коло інтересів мікроекології знаходиться на перехресті мікробіології, екології, епідеміології ті гігієни.

Розміри мікробних екосистем дуже різноманітні. Це може бути, наприклад, ставок, озеро або коренева система дерева. Можливі й такі маленькі екосистеми, як ротова порожнина або ділянка кишечника. У межах екосистеми для кожного виду можна описати його місце проживання. При цьому поняття "екологічна ніша" відображає не просто місце мікроорганізма в просторі, а функцію його або популяції мікроорганізмів у співтоваристві організмів. Кожен вид або популяція у такому співтоваристві виконує певну функцію, яка обумовлена потребами в їжі, рухливостю, способами розмноження, біохімічними, структурними особливостями, межами толерантності до умов середовища. Може або не може який-небудь вид виконувати певну функцію в певній екосистемі, залежить від сукупності його властивостей. Ступінь пристосованості виду до змін умов середовища називається екологічною валентністю. Екологічною валентністю виду мікроорганізмів також називають його здатність заселяти середу, що характеризується певними змінами екологічних факторів. Завдяки різноманітності механізмів утилізації джерел живлення і енергії, а також вираженої адаптації до зовнішніх впливів, мікроорганізми можуть мешкати там, де інші форми життя неможливі. Природні середовища проживання більшої частини мікроорганізмів – вода, ґрунт і повітря. Число мікроорганізмів, що мешкають на рослинах і в організмах людини і тварин, значно менше. Широке поширення мікроорганізмів пов'язане з легкістю їх

переміщення по повітрю і воді; зокрема, поверхню і дно прісноводних і солоних водойм, а також кілька сантиметрів верхнього шару ґрунту рясніють мікроорганізмами, що руйнують органічні речовини. Менша кількість мікроорганізмів колонізує поверхню рослин, шкіру і волосяний покрив, а також деякі внутрішні порожнини тварин (шлунково-кишковий тракт, верхні відділи дихальних шляхів). У зонах проживання мікроорганізми утворюють мікроценоз. Кожне мікробне співтовариство в конкретному ценозі утворюють специфічні аутохтонні мікроорганізми (від грец. autos - свій, chthon - країна), зазвичай у них зустрічаються. У природних біоценозах (ґрунт, вода, повітря) виживають і розмножуються лише ті мікроорганізми, яким сприяє навколишнє середовище; їх ріст припиняється, як тільки умови навколишнього середовища змінюються. При настанні сприятливих умов вони дають початок новим клонам мікроорганізмів.

Мікроорганізми як симбіотичні партнери

З незапам'ятних часів склалися складні взаємини між мікроорганізмами, з вищими організмами рослинного і тваринного світу, з одного боку, і навколишнім середовищем - з іншого. Тісне співжиття двох різних організмів, у тому числі мікроорганізму з макроорганізмом, називають симбіозом. Учасники симбіозу називаються симбіонтами. Симбіоз характеризується різними типами біотичних взаємовідносин по відношенню до клітин свого господаря і один до одного.

Мутуалізм - це така форма співжиття, коли обидва симбіонти - господар і мікроорганізм отримують взаємну вигоду. При мутуалізмі співіснування створює сприятливі умови для обох партнерів, тобто це взаємовигідний симбіоз. Бактерії багатьох видів продукують вітаміни В₆, В₁₂, а також вітамін К. Прикладом мутуалізму служить співжиття рослин з бульбочкових бактерій, які харчуються речовинами з соків рослини (наприклад, бобових - гороху, вики), а рослини, у свою чергу,

використовують азотисті сполуки, синтезовані бульбочкових бактерій, які являються фіксаторами азоту.

Комменсализм - це така форма співжиття, коли один з симбіонтів (в даному випадку мікроб) живе за рахунок господаря, користується його захистом, але не заподіює господареві ніякої шкоди. При комменсализм партнерство може бути вигідно одному з організмів без надання шкідливого впливу на іншого. Мікроби-комменсали (стафілококи, стрептококи) населяють в якості нормальної мікробіоти шкірних покривів і слизові оболонки людини і тварин. Проте слід визнати, що комменсализм в цьому випадку досить відносно поняття, бо серед представників умовно-патогенної мікробіоти є такі, які за певних умов можуть викликати важкі захворювання.

Паразитизм - це така форма співжиття, коли мікроорганізми- паразити харчуються компонентами тканин господаря, при цьому завдають йому шкоди, викликаючи інфекційну хворобу, і не можуть існувати без нього. Такі мікроорганізми називаються патогенними. Отже, середовищем проживання паразита є організм господаря, до якого паразит адаптується в процесі еволюції. Це середовище безпосередньо впливає на паразитів так само, як і паразити впливають на господаря. Навколишнє середовище в звичайному розумінні впливає на таких паразитів вже опосередковано, через організм хазяїна. Багато мікроорганізмів, потрапляючи в організм людини, ніяк не впливають один на одного, тобто між ними немає взаємодії, така ситуація називається нейтралізм. При нейтралізмі партнери (мікроорганізм і макроорганізм) можуть не надавати один на одного ніякого впливу.

Антагонізм - це протилежна дія, взаємна протидія. Антагонізм мікроорганізмів - це складне взаємовідношення, коли при спільному розвитку популяцій бактерії одного виду або всередині одного і того ж виду пригнічують розвиток інших, а іноді повністю їх знищують. Антагонізм мікроорганізмів широко використовують для профілактики і лікування різних хвороб, головним чином шлунково-кишкових захворювань. Наприклад, багато штамів кишкової палички здатні пригнічувати розвиток і

знищувати стрептококи, стафілококи, сальмонели. Антагоністичні взаємовідносини між мікроорганізмами представляють великий практичний інтерес. Антагонізм мікробів у ґрунті спостерігав ще Л. Пастер (1870), І.І. Мечников (1905 р) спостерігав антагонізм між молочнокислими і гнильними бактеріями. Заслуга І.І. Мечникова полягає в тому, що він заклав основи вчення про антагонізм мікроорганізмів, яке в даний час переросло в вчення про антибіотики.

Синергізм - це однакові фізіологічні процеси різних мікробних асоціацій, в результаті яких відбувається збільшення кінцевих продуктів.

Сателлізм - це стимуляція зростання одного мікроорганізму продуктами життєдіяльності іншого, який потім стає його супутником.

Серед різноманітних представників світу мікроорганізмів розвинулися різні форми симбіотичних взаємин. Взаємно корисні стосунки склалися між аеробними бактеріями, що мешкають в ґрунті, у відділі товстого кишечника та інших субстратах. Аеробні бактерії використовують кисень, присутній в ґрунті, тим самим створюють сприятливі умови для розвитку анаеробів. У свою чергу, анаероби розкладають целюлозу, утворюючи органічні кислоти, які є джерелом енергії для аеробних бактерій. З величезного числа мікроорганізмів, що мешкають в природі, тільки незначна частина хвороботворних. У процесі багатоміліардної еволюції одні види мікробів, пристосувавшись до вилучення харчових ресурсів з неживої природи, до цього часу залишаються свободноживущими, інші види поступово адаптувалися до співжиття з тваринами або рослинами і за рахунок їх отримують поживні речовини. У процесі еволюції адаптація паразитів до господаря йшла по лінії спеціалізації, зокрема, шляхом придбання здатності паразитувати в певних тканинах, наприклад, збудники бруцельозу паразитували в плаценті, сальмонели - в слизовій тонкого кишечника. У цьому випадку мова йде про тропизме паразитів, тобто здатності вибірково вражати переважно ті чи інші органи і тканини. Різними можуть бути і просторові відносини між симбіонтами. Якщо один симбіонт знаходиться

поза клітин іншого, то говорять про ектосімбіозе, а якщо всередині клітин - про ендосімбіоз. Крупнішого з симбіонтів називають господарем. При інфекційних захворюваннях взаємодія різних видів мікроорганізмів зумовлює розвиток так званих асоційованих інфекцій. Асоційовані інфекції викликаються двома або болем збудниками. Асоціація мікроорганізмів - це спільнота різних їх видів, існуюче в природно або штучно створених умовах.

САНІТАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Санітарна мікробіологія - напрямок медичної мікробіології, що вивчає мікрофлору навколишнього середовища та її вплив на здоров'я людини. Основні завдання санітарної мікробіології:

вивчення біоценозів, в яких присутні мікроорганізми, патогенні для людини;

розробка методів мікробіологічних досліджень зовнішнього середовища, мікробіологічних нормативів і заходів з оздоровлення об'єктів навколишнього середовища.

Практична санітарна мікробіологія використовує два основних методи оцінки санітарно-епідемічного стану зовнішнього середовища: пряме виявлення патогенних мікроорганізмів і виявлення непрямих ознак їх перебування в зовнішньому середовищі. Мікроорганізми, за якими можна побічно судити про можливу присутність патогенних мікроорганізмів у зовнішньому середовищі називають санітарно-показовими (СПМ). Основні характеристики санітарно-показових мікроорганізмів:

СПМ повинен постійно мешкати в організмі людини або тварин і постійно виділятися в зовнішнє середовище;

СПМ не повинен розмножуватися на об'єктах довкілля;

Тривалість виживання СПМ у зовнішньому середовищі повинна відповідати тривалості виживання патогенних мікроорганізмів;

Методи ідентифікації та диференціації СПМ повинні бути прості і надійні.

Наявність СПМ визначають двома методами:

- прямий підрахунок кількості бактерій;
- посів на живильні середовища.

Кількість СПМ виражають у титрах і індексах.

Титр СПМ - найменший об'єм досліджуваного матеріалу (в мл) або вагова кількість (в г), в якому ще присутній хоча б одна особина СПМ.

Індекс СПМ - кількість СПМ, виявлене в певному обсязі або кількості досліджуваного об'єкта.

Для виявлення загальної мікробної обсіменіння визначають загальне мікробне число (ЗМЧ) шляхом підрахунку всіх мікроорганізмів (ростуть на поживних середовищах) в 1г або 1 мл субстрату.

Дається оцінка популяційного рівня мікробіоти проводили шляхом визначення рівня бактеріального обсіменіння на одиницю дослідженого біотопа (Наказ МОЗ СРСР № 720, від 31.07.1978):

+ – дуже слабкий ріст (ріст поодиноких колоній – до 10 на чашці із середовищем), що складає менше 10^3 колонієутворювальних одиниць (КУО)/од.;

++ – слабкий ріст (10–25 колоній), що складає $10^3 - 5 \cdot 10^3$ КУО/од.;

+++ – помірний ріст (від 50 до 100 колоній), що складає $10^4 - 10^6$ КУО/од.;

++++ – масивний ріст (суцільний газон колоній, які не піддаються підрахунку), що складає 10^9 КУО/од.

Розраховують коефіцієнт кількісного домінування мікробіоти (d) за формулою:

$$d = P_i \times 100\%,$$

де P_i – доля виду (штаму) бактерій, що розраховується, як n_i/N , n_i – кількість бактерій даного виду, N – загальна кількість бактерій у зразку змива.

Розраховують індекс постійності штама мікроорганізма в складі мікробіоти, як відношення кількості мікроорганізмів даного штама до загальної кількості досліджених зразків. В залежності від значення індекса

постійності мікроорганізми розподіляються на постійні (індекс постійності яких в межах 50% і більше), додаткові (зі значенням індексу постійності в межах 25 – 50%) і випадкові (індекс постійності яких знаходяться в межах 25% і нижче).

Мікробіота ґрунту.

Ґрунт складається з неорганічних речовин та органічних сполук, що утворюються в результаті загибелі і розкладання живих організмів. Ґрунтові живі організми в сукупності складають ґрунтовий біоценоз. Містяться в ґрунті живі організми (у тому числі мікроорганізми) складають живу фазу ґрунту. У неї входять макроорганізми і мікроорганізми, як тварини, так і рослинного походження.

Мікроорганізми, що мешкають в ґрунті поділяються на два види:

- аутохтонні мікроорганізми (резидентні мікроорганізми, резидентна мікробіота), тобто мікроби, які притаманні тільки конкретному типу ґрунту;
- алохтонні мікроби (транзиторна мікробіота), тобто ті мікроорганізми, які в звичайних умовах в ґрунті не зустрічаються.

Мікроорганізми в ґрунті розвиваються у водних і колоїдних плівках, що покривають тверді частинки, і особливо в капілярної і гравітаційної воді, що заповнює пори між мінеральними частинками ґрунту і містить розчинені органічні та неорганічні речовини.

У ґрунті мешкають:

1. Водорості (зелені, синьо-зелені і діатомові). Вони поширені повсюдно, особливо в поверхневих шарах ґрунту. Найбільш важливим екологічним фактором, що регулює поширення водоростей, є вологість, хоча вони здатні витримувати тривалі періоди посухи. Морфологічна різноманітність водоростей дуже велике, але всі вони мають мікроскопічні розміри, ниткоподібну форму і складаються з однієї клітини. Найбільш численні синьо-зелені і зелені водорості. Кількість їх в 1 г ґрунту може досягати 100 тис.

2. Гриби. Їх можна розділити на три групи: дріжджі і дріжджоподібні, цвілі, включаючи ниткоподібні гриби, базидіоміцети. Дріжджі і дріжджоподібні гриби мало поширені в звичайних ґрунтах, і тому роль і значення їх у житті ґрунту невеликі. Цвілі і базидіоміцети більш численні в ґрунтах, особливо базидіоміцети в лісових ґрунтах, де вони викликають утворення мікоризи. Гриби можуть жити в умовах часткового анаеробіозу, але аеробіоз стимулює їх розвиток. Число грибів в поверхневому шарі ґрунту від 8 тис. До 1 млн. на 1 г, а біомаса - від 1000 до 1500 кг / га. Найбільш сприятлива реакція середовища для грибів - кисла (рН 4,0).

3. Бактерії (спороутворюючі бактерії, спірохети, мікобактерії, псевдомонади, азотфіксуючі і нітрифікуючі бактерії, архебактерії). В окультурених ґрунтах бактерії перевершують всі інші групи мікроорганізмів, як за чисельністю, так і за своєю різноманітністю. Число бактерій в 1 г ґрунту коливається від 300 тис. до 95 млн. і навіть до 4 млрд. У родючому ґрунті загальна біомаса бактерій досягає 500 кг/га і більше. Бактерії діляться на гетеротрофи і автотрофи. Гетеротрофи використовують енергію та вуглець, укладені в складних органічних речовинах. Аутотрофи використовують енергію, що виділяється при окисненні мінеральних речовин, добуваючи вуглець з вуглекислого газу, а азот - з мінеральних сполук. Велика частина ґрунтових бактерій належить до гетеротрофів, тобто вимагають для свого існування готових органічних речовин.

По відношенню до кисню ґрунтові мікроорганізми поділяються на аеробні (вимагають для свого існування вільний кисень) та анаеробні (не вимагають для свого існування вільного кисню). Найбільше значення в ґрунті мають азотфіксуючі бактерії, здатні засвоювати молекулярний азот (*Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Mycobacterium* та інші), і спороутворюючі палички родів *Bacillus* і *Clostridium*.

ґрунтові мікроорганізми беруть участь у процесах ґрунтоутворення, самоочищення ґрунту, кругообігу в природі азоту, вуглецю та інших елементів. У ґрунті є всі умови для розвитку мікроорганізмів: достатня

кількість органічних і мінеральних речовин для їх харчування, які підходять вологість і реакція середовища, захист від прямих сонячних променів, кисень. Кількісний та видовий склад мікроорганізмів у ґрунті обумовлений вмістом у ній органічних речовин, вологи, рН, температурою, кліматичними умовами, способом обробки. Зі збільшенням кількості органічних речовин у ґрунті, як правило, зростає і кількість мікроорганізмів. Органічні речовини є живильним середовищем для більшості ґрунтових бактерій. Загальний запас органічних речовин ґрунту досягає 400 т на 1 га, з них більша частина знаходиться в поверхневому шарі (до 30 см) ґрунту. Головна складова частина органічних речовин ґрунту - останки тварин і рослинних тканин. Жива маса мікроорганізмів в 1 га ґрунту (удобреному) перевищує 5-6 т. Найбільш багаті мікроорганізмами чорноземні, каштанові ґрунти, сіроземи і спеціально оброблені ґрунту. Кількість бактерій в 1 г таких ґрунтів іноді досягає декількох десятків мільярдів. Бідні мікробіотою піщані, гірські та позбавлені рослинності ґрунту. Найбільш численні мікроорганізми у верхньому 5-15-сантиметровому шарі, менше їх на глибині 20-30 см і мінімальна кількість на глибині 30-40 см. Однак бактерії були знайдені в ґрунті навіть на глибині 5 м. ґрунти, багаті бактеріями, біологічно болем активні. Між родючістю ґрунту та вмістом у ній мікроорганізмів є певна залежність. Підрахунки показали, що на кожен гектар малородючої ґрунту припадає 2,5-3 т мікробної маси, високородючих - до 16 т. Число мікроорганізмів в 1 г ґрунту може коливатися від $1-3 \cdot 10^6$ до $20-25 \cdot 10^9$.

Максимальна кількість мікробів у ґрунті міститься на глибині 10-20 см. Починаючи з глибини в 1-2 м, кількість їх різко скорочується. Це пояснюється тим, що в міру поглиблення в ґрунт зменшується вміст органічних речовин, а також кисню, необхідного для життєдіяльності аеробних бактерій. Чисельність мікроорганізмів у ґрунті збільшується в напрямку з півночі на південь, причому навесні кількість їх значно зростає, досягаючи максимуму до початку літа, осені; взимку - різко зменшується. До типових ґрунтових бактеріям відносяться *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*,

Bacillus mesentericus, *Bacillus megatherium*, а також термофільні бактерії та інші мікроорганізми, що становлять іноді 80-90% всієї мікробіоти ґрунту.

Забруднення і самоочищення ґрунту.

Ґрунт населених місць забруднюється твердими і рідкими покидьками, виділеннями людей і тварин, їх трупами, залишками рослин, господарсько-побутовими і промисловими стічними водами. Разом з органічними забрудненнями в ґрунт потрапляє велика кількість мікроорганізмів. Особливо небезпечні в епідеміологічному відношенні стічні води боєнь, м'ясокомбінатів, підприємств з переробки шкіри, вовни, які можуть містити патогенних бактерій. У зв'язку з цим ґрунт може служити фактором передачі збудників інфекційних захворювань. Через ґрунт може відбуватися обсіменіння сапрофітними і хвороботворними мікробами сировини, харчових продуктів, кормів. Тому покидьки, що надходять у ґрунт, повинні піддаватися очищенню та знешкодженню. Тривалість виживання в ґрунті патогенних бактерій залежить від біологічних властивостей і умов середовища проживання. Найбільш тривало живуть спороутворюючі мікроби - збудники правця, ботулізму; спори бацил сибірської виразки можуть зберігатися протягом десятиліть. За сприятливих умов мікроорганізми в ґрунті не тільки виживають, але і довго (тижні, місяці і навіть роки) зберігають вірулентні властивості.

Класифікація ґрунтових патогенних мікроорганізмів:

- Патогенні мікроорганізми, постійно живуть у ґрунті (наприклад, збудник ботулізму). Бактерії потрапляють у ґрунт з випорожненнями людини і тварин, їх спори зберігаються в ній невизначено довго.

- Патогенні спороутворюючі мікроорганізми, для яких ґрунт є вторинним резервуаром (наприклад, збудник сибірської виразки). Бактерії потрапляють у ґрунт з фекаліями та іншими виділеннями хворих тварин, а також з трупами загиблих тварин.

- Патогенні мікроорганізми, що потрапляють у ґрунт з виділеннями людини і тварин і зберігаються протягом декількох тижнів або місяців. У цю

групу входять різні що не утворюють спори мікроорганізми. Основні фактори, що призводять до швидкої загибелі мікроорганізмів - нездатність до спороутворення і антагоністичні властивості мікробіоти ґрунту (конкуренція за джерела енергії та харчування).

Тривалість виживання патогенних мікроорганізмів у ґрунті залежить від біології збудника, вмісту вологи та відповідних поживних речовин, рН, температури, наявності мікробів-антагоністів, бактеріофагів. У вологих ґрунтах їх виживання в 2-4 рази довший, ніж у сухих. Неспорообразующие мікроорганізми гинуть швидше, ніж спорообразующие. Патогенні неспорообразующие мікроби виживають в ґрунті незначний час: збудники дизентерії - від 10 днів до 9 місяців; холерні вібріони - від 10 днів до 4 місяців; бактерії черевного тифу - від 14 днів до 10 місяців; бактерії туляремії - від 10 днів до 2,5 місяців; мікобактерії туберкульозу - від 3 до 7 місяців і більше; бруцели - від 2 до 3 місяців. Виживаності у ґрунті неспорообразующих мікробів сприяє потраплянню разом зі збудником достатньої кількості поживних речовин (кал, мокротиння, гній і т. д.), наявність сприятливих фізико-хімічних умов середовища, відсутність мікробів-антагоністів. Найбільш небезпечною є ґрунт, забруднена фекаліями хворих на кишковій інфекції. Збудники дизентерії, холери, черевного тифу, сальмонельозів, ентеровірусних захворювань потрапляють в організм людини з забрудненою землею овочами, фруктами та іншими харчовими продуктами. Встановлена пряма залежність між рівнем захворюваності населення кишковими інфекціями і незадовільним санітарним станом ґрунту, обумовленим поганий її очищенням. Описано ряд водних спалахів кишкових інфекцій, причиною яких були забруднений ґрунт і стоки нечистот. У ґрунті мешкає багато цвілевих грибів. Деякі з них, наприклад гриби з роду *Fusarium*, потрапляючи на злакові та інші рослини, в процесі свого розвитку, виробляють токсичні речовини. При вживанні хліба, випеченого із зерна пізнього обмолоту і ураженого грибом *Fusarium sporotrichiella*, у людини виникає токсикоз, відомий під назвою отруєння "п'яним хлібом". Гриби з

роду *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*), що паразитують на земляних горіхах, зернових культурах і кормах, можуть також утворювати токсичну речовину - афлатоксин. При вживанні в їжу продуктів заражених афлатоксинов виникає важке отруєння, яке характеризується некротичним ураженням печінки, нирок, геморагічним запаленням травного тракту.

Санітарна оцінка ґрунту за мікробіологічними показниками.

При санітарній оцінці ґрунту враховують результати хімічного, мікробіологічного та гельмінтологічного досліджень. Мікробіологічне дослідження проводять для санітарної оцінки ґрунту, характеристики процесів самоочищення, оцінки ґрунтового та біотермічного методів знешкодження відходів, при визначенні придатності ділянок для будівництва, а також при епідеміологічних та епізоотологічних обстежень з метою з'ясування шляхів зараження ґрунту, тривалості виживання в ній патогенних мікробів і т. д. Залежно від поставленого завдання застосовують короткий або повний санітарно-бактеріологічний аналіз ґрунту. Короткий санітарно-мікробіологічний аналіз передбачає визначення ЗМЧ, титрів бактерій групи кишкової палички (БГКП), ентерококів, *Cl. perfringens*, термофільних бактерій, нітрифікуючих бактерій. Отримані результати вказують на наявність і ступінь фекального забруднення. Короткий аналіз ґрунту здійснюють при проведенні поточного санітарного нагляду за станом ґрунту.

Повний санітарно-мікробіологічний аналіз включає визначення всіх показників короткого аналізу, а також загальної чисельності сапрофітів, ОМЧ і процентного вмісту спорових мікроорганізмів, аеробних бактерій, що руйнують клітковину, бактерій-аммонификаторов. Крім того, досліджують токсичність ґрунтів для мікроорганізмів. Повний аналіз проводять при здійсненні попереджувального санітарного нагляду, первинному обстеженні при виборі території для розміщення окремих об'єктів.

Санітарне значення мікробного числа ґрунту не можна розглядати без урахування особливостей різних типів ґрунту. Наприклад, чорноземні ґрунти

містять значно більше мікроорганізмів, ніж підзолисті. Тому при визначенні загальної кількості бактерій в ґрунті необхідно отримані результати порівнювати з мікробним числом незабруднених ґрунтів того ж типу. Дослідження на пряме виявлення патогенних мікробів у ґрунті проводять тільки при розслідуванні спалахів інфекційних захворювань. В якості непрямих показників можливого забруднення ґрунту патогенними бактеріями використовують санітарно-показові мікроорганізми: бактерії групи кишкової палички, *Cl. perfringens*, бактерії з роду *Proteus*, термофільні бактерії. Наявність у ґрунті бактерій групи кишкової палички свідчить про її фекальне забруднення. Виявлення *Cl. perfringens* в ґрунті також вказує на її фекальне забруднення. Ґрунтовий шар збагачується одночасно бактеріями групи кишкових паличок і *Cl. perfringens*. Через 4-5 місяців відзначається відмирання кишкових паличок, а *Cl. perfringens* ще виявляється в титрі 0,01. Отже, *Cl. perfringens* має санітарно-показове значення тільки в тому випадку, якщо титр його визначають в комплексі з колі-титром і іншими показниками. Свіже або давнє фекальне забруднення ґрунту можна визначити за співвідношенням кількості вегетативних форм *Cl. perfringens* і спорових форм мікроба. Виявлення в ґрунті бактерій з роду *Proteus* свідчить про забруднення її органічними речовинами тваринного походження або фекаліями людей. Термофільні мікроорганізми є показниками забруднення ґрунту гноєм, компостами. У чистих ґрунтах термофіли не виявляють.

Методи визначення складу і активності ґрунтових мікроорганізмів.

Для оцінки діяльності ґрунтової біоти використовують показник біологічної активності ґрунту. Біологічну активність ґрунту визначають такими способами:

- Підрахунком загальної кількості ґрунтових мікроорганізмів. У зв'язку з недосконалістю методик цей метод визначення дає умовну, приблизну характеристику біологічної активності ґрунту.

- Визначенням кількості окремих фізіологічних груп мікроорганізмів, наприклад, нитрифіцируючих або целлюлозорозкладаючих бактерій.

- Визначення виділяється ґрунтом діоксиду вуглецю - основний біохімічний спосіб визначення біологічної активності ґрунту. Чим інтенсивніше виділення вуглекислого газу з ґрунту, тим активніше відбуваються в ній біологічні процеси, тим краще умови для обробітку культур і вище їх потенційна врожайність.

Виділення вуглекислого газу з ґрунту в приземний шар атмосфери називають диханням ґрунту. Інтенсивність дихання ґрунту залежить від її властивостей, гідротермічних умов, характеру рослинності, агротехнічних заходів. Виділення діоксиду вуглецю ґрунтом посилюється при її окультуреності у зв'язку з активізацією біологічних процесів і поліпшенням умов аерації. Зменшення виділення вуглекислого газу ґрунтом (зниження біологічної активності) може погіршити надходження кисню в ґрунт, що, в свою чергу, сприятиме утворенню токсичних речовин. Для санітарної оцінки ґрунту досліджують проби з метою виявлення патогенних мікробів. Для адекватної оцінки ґрунту особливу значимість має вибір індикаторних мікроорганізмів.

Оцінка фекального забруднення ґрунту і його давності проводиться за наступними показниками:

- За індексом БГКП (кількість бактерій групи кишкової палички - БГКП в 1 г ґрунту);

- За перфрінгенс-титром (найменша кількість ґрунту, в якому виявляється *Cl. perfringens*);

- За титром ентерококів.

З усіх ентеробактерій найбільш довго зберігається в ґрунті кишкова паличка, тому за її вмістом судять про наявність у ґрунті інших ентеробактерій. Термофільні бактерії потрапляють у ґрунт з перепрілим гноєм або компостом, тому їх доцільно виявляти для з'ясування характеру та давності органічного забруднення ґрунту. Свіжий гній, стічні води зазвичай містять багато БГКП, але мало термофільних бактерій. У міру розкладання органічних речовин кількість термофілів збільшується. Поява нітрифікуючих

бактерій вказує на розвиток процесу самоочищення, адже вони завершують цикл розкладання азотовмісних сполук, перетворюючи аміак в азот. При свіжому фекальному забрудненні нітрифікаторів не буде, оскільки субстрат для їх розвитку відсутній. У ході життєдіяльності мікроорганізмів, що розкладають органічні речовини, утворюється аміак, який стимулює розвиток нітрифікаторів. На свіже фекальне забруднення ґрунту вказують високі титри БГКП при низьких титрах нітрифікаторів, а також відносно високий вміст вегетативних форм *CI. perfringens*.

Виявлення ентерококів завжди свідчить про свіже фекальне забруднення, які б не були інші показники. Мета санітарно-мікробіологічного дослідження ґрунту:

санітарна оцінка ґрунту населених пунктів і нових ділянок для заселення та розміщення будівель;

вирішення питань водопостачання, каналізації та очистки населених пунктів;

санітарна оцінка ґрунту, забрудненого хімічними речовинами;

контроль процесів самоочищення ґрунту, що зазнав біологічного забруднення;

епідеміологічне обстеження ґрунту для з'ясування шляхів його зараження.

Відбір проб проводять з квадратної ділянки (не менше 5x5 м) із 5 точок - з кожного кута і центру квадрата («метод конверта»). Зразки кількістю 1 кг забирають в умовах асептики з глибини 20-30 см. Періодичність контролю залежить від контрольованих об'єктів, але не рідше 1 разу на рік. При вивченні динаміки самоочищення ґрунту на забруднених територіях проби беруть протягом першого місяця після забруднення щотижня, в наступні місяці - 1 раз на місяць протягом вегетаційного періоду до завершення активної фази самоочищення.

Мікробіота води.

У морях, річках, озерах та інших водоймах, а також в ґрунтових водах міститься значна кількість видів мікроорганізмів. Сукупність усіх мікроорганізмів, що заселяють водойми, позначають терміном «микробиальний планктон». Мікробіота природних вод в значній мірі залежить від їх походження. Розрізняють прісні і морські води. Прісні води поділяють на поверхневі, включаючи проточні (річки, струмки) і стоячі (озера, ставки, водосховища), підземні (ґрунтові, артезіанські) і атмосферні (дощ, сніг). Вивченням водних угруповань займається гідробіологія. Зростаючий дефіцит прісної води на Землі змушує звернути серйозну увагу на процеси формування екосистеми у водоймі та переробку водними мікроорганізмами надходять у водойму забруднень. Вода - природне середовище проживання мікробів, основна маса яких надходить з ґрунту, повітря з осідаючої пилом, з відходами, стоками промислових і тваринницьких об'єктів та ін. Особливо багато мікроорганізмів у відкритих водоймах та річках, нерідко зустрічаються вони в мулистих відкладеннях океанів, морів, боліт, мінеральних водах. Їх знаходять як в поверхневих шарах, так і на глибині до 10 тис. метрів. Живуть мікроорганізми і в гарячих джерелах. Процес фотосинтезу у них відбувається при температурі 75⁰С, а в лужних водах бактерії виживають при температурі 100⁰С. Якісний склад мешкають у воді мікроорганізмів залежить в основному від властивостей самої води, надходження до неї стічних та промислових відходів. До постійно живуть у воді мікроорганізмів відносяться *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Spirillum* та ін. Глибокі ґрунтові води, ключова, артезіанська вода майже вільні від мікроорганізмів. Незначно забруднені мікробіотою атмосферні опади, так як сніг і вода захоплюють більшість мікробів повітря разом з пилом і після випадання опадів повітря особливо чисте. Характер мікробіоти водойм визначається особливостями конкретної водного середовища.

Мікробіоту водойм утворюють дві групи: аутохтоні (власне водні) і алохтонні (потрапляють ззовні при забрудненні) мікроорганізми. Аутохтонна мікробіота - сукупність мікроорганізмів, що постійно живуть і розмножуються у воді. Мікробний склад води нагадує мікрофлору ґрунту, з якою вода стикається (придонні і прибережні ґрунту). Алохтонна мікробіота - сукупність мікроорганізмів, які випадково потрапили у воду і зберігаються в ній порівняно короткий час.

Кількісні співвідношення мікроорганізмів у відкритих водоймах варіює в широких межах, що залежить від типу водойми, ступеня його забруднення, зміни метеорологічних умов, пори року. Мікроорганізми води відіграють значну роль у кругообігу речовин, розщеплюючи органічні продукти тваринного і рослинного походження та забезпечуючи поживними речовинами інші організми, живуть у воді. Джерелом забруднення води в річках найчастіше служать побутові та промислові стоки. У відкриті водойми більша частина мікробів потрапляє з ґрунту. Тому в озерах, ставках, річках найвищий вміст мікробіоти наголошується в прибережній зоні. У воді живуть всі відомі групи мікроорганізмів, але найбільш істотний компонент населення водойм - бактерії. Як відомо, цитоплазматическая мембрана бактерій має здатність активного переносу через клітинну стінку поживних речовин. Завдяки цьому бактерії здатні споживати живильний субстрат, присутній в мізерно малих концентраціях (1-5 мг / г). Мікроби окислюють до мінеральних сполук органічні речовини, у величезних кількостях попадають у водойми. Ступінь забруднення, в тому числі хвороботворними мікробами, може бути перешкодою для використання води. Тому будь-який водний джерело необхідно піддавати санітарно-мікробіологічній оцінці.

Самоочищення водойм обумовлюється рядом факторів:

швидкою течією води, що веде до зменшення концентрації органічних речовин;

бактерицидною дією інсоляції;

мініралізацією органічних сполук мікробами;

-наявністю харчового ланцюга: бактерія - найпростіші - комахи – риба-тварини - людина;

адсорбцією твердими частинками мулу;

адсорбцією на поверхні рослин;

дією фітонцидів рослин.

Вода є фактором передачі збудників багатьох інфекційних захворювань. У відкритих водоймах, особливо на територіях неблагополучних щодо інфекційних хвороб, виявляють збудників кишкових і природно-вогнищевих інфекцій. У донних відкладеннях ставків і озер нерідко живуть збудники ботулізму. Патогенні мікроорганізми водойм можуть включатися в харчові ланцюги і по них передаватися різним групам тварин, птахів і риб. Відомо, що водним шляхом передаються черевний тиф, бактеріальна і амебна дизентерія, холера, лептоспіроз, поліомієліт, гепатити А і Е і ряд інших хвороб. При санітарно-бактеріологічному дослідженні води визначають:

загальне мікробне число (загальна кількість мікроорганізмів в 1 мл);

наявність патогенних мікроорганізмів;

кількість БГКП, як показник ступеня фекального забруднення.

Додатково визначають титр *Сl. perfringens*, індекс бактеріофага і цистилямблій. Наявність патогенних мікроорганізмів визначають за епідеміологічними показниками. Серед об'єктів, що підлягають мікробіологічному контролю, найважливіше місце відводиться дослідженню води. У відповідності з діючими нормативними документами контролю підлягають:

вода питна (центрального і місцевого водопостачання);

вода плавальних басейнів;

вода відкритих водойм;

стічні води;

вода очищена для приготування ліків;

вода для приготування ін'єкційних розчинів і очних крапель.

Попереджувальний нагляд здійснюють:

1. при вирішенні питань водопостачання та каналізації населених територій;
2. при санітарній оцінці басейнів, пляжів, місць колективного відпочинку.

Поточний санітарний нагляд здійснюють:

1. при оцінці якості питного водопостачання населених місць;
2. при оцінці санітарного стану поверхневих вод для встановлення ступеня впливу біологічного забруднення на здатність води до самоочищення;
3. при контролі над знезараженням стічних вод;
4. за епідемічними показаннями для виявлення можливого шляху передачі інфекційних захворювань (проводять виявлення санітарно-показових і патогенних мікроорганізмів).

Для взяття проб води використовують як багаторазовий, так і одноразовий стерильний посуд. Багаторазовий виготовляється з матеріалів, що витримують обробку сухим жаром і автоклавуванням. Ємності для забору води закривають щільними пробками і захисним ковпачком з фольги або щільного паперу. Перед взяттям проб з водопроводу кран протирають тампоном, змоченим спиртом, і обпалюють, після чого 10-15 хв зливають застоюну в трубах воду і тільки потім відбирають зразок для дослідження.

Аналіз проводять відразу після взяття проб. При необхідності транспортування воду зберігають при температурі 1-5° С і аналізують не пізніше ніж через 2-6 год з моменту її забору.

1. Визначення загальної кількості мікроорганізмів у воді.

Загальне мікробне число води визначають шляхом культивування бактерій, що містяться в пробах, на щільних поживних середовищах. Залежно від передбачуваної забрудненості водойми перед посівом готують десятикратні розведення вихідної проби у стерильній водопровідній воді. У таблиці 1 наведено рекомендовані для посіву розведення води в залежності

від ступеня її забрудненості (обсяг кожного розведення для подальшого посіву в МПА становить 1 мл).

Таблиця 1.

Рекомендовані для посіву розведення води залежно від ступеня її забруднення (об'єм кожного розведення для посіву складає 1 мл)

Тип досліджуваної води	Рекомендовані розведення води
Водопроводна вода и вода артезіанских колодязів	1мл води без розведення
Чиста вода (вода криниць, джерел та ін., вода плавальних басейнів)	1 и 1:10
Відкриті водойми, не забруднені стоками	1; 1:10 и 1:100
Чисті водойми в місцях масового купання	1:10 и 1:100
Відкриті водойми, забруднені стоками	1:10; 1:100 и 1:1000
Сильно забруднені стічні води	1:10000; 1:10 0000 и 1:100 000

Для отримання розведень беруть ряд пробірок, що містять по 9 мл стерильної водопровідної води. Досліджувану воду в обсязі 1 мл вносять в першу пробірку, отримують розведення 1:10, потім з цієї пробірки переносять 1 мл в наступну і т.д. Для приготування кожного розведення використовують нову стерильну піпетку. З отриманих розведень вносять по 1 мл води в 2 чашки Петрі для підрахунку середніх показників. і заливають 15-20 мл розплавленого і охолодженого до 45°C МПА. Вміст чашок ретельно перемішують круговими рухами, переміщаючи їх по поверхні столу. Після застигання агару, чашки поміщають в термостат на 24 год при температурі 37°C. Колонії бактерій ростуть, як на поверхні живильного середовища (аероби), так і в її глибині (анаероби). Підраховують їх сумарна кількість і обчислюють загальне мікробне число. Якщо воду попередньо розводили, то отриману суму множать на ступінь розведення і в результаті отримують кількість мікроорганізмів в 1 мл вихідної води. Загальне мікробне число в 1 мл питної води не повинна перевищувати 50.

2.Визначення бактерій групи кишкової палички (БГКП)

Санітарно-показовими мікроорганізмами в воді, також як і в ґрунті, є бактерії групи кишкової палички (БГКП). Вони також називаються коліформні. Ця група об'єднує факультативно анаеробних представників сімейства *Enterobacteriaceae*. Всі вони мають паличковидну форму, не утворюють спор, грамнегативні, оксидазоонегативні, розкладають лактозу до кислоти і газу. Слід звернути увагу на температуру, при якій найбільш активно проявляються сахаролітичні властивості коліформних бактерій. Більшість з них зброжує лактозу через 24-48 год при температурі 37°C. Такі бактерії відносять до загальних коліформних бактерій (ЗКБ). Відмінною особливістю термотолерантних коліформних бактерій (ТКБ) є те, що вони розкладають лактозу до кислоти і газу при більш високій температурі - 44°C протягом більш короткого часу - за 24 год. Виявлення ТКБ вказує на свіже фекальне забруднення води. Бактерії групи кишкової палички виявляються різними методами. Найбільш поширеним є метод мембранних фільтрів.

Для визначення БГКП цим методом використовують фільтрувальний апарат Зейтца, який перед початком досліджень протирають тампоном, змоченим в спирті, стерилізують прокаливаним і встановлюють на колбі Бунзена.

Потім в прилад поміщають нітрацеллюлозний або ацетатцеллюлозних мембранний фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм. Такі фільтри попередньо стерилізують методом кип'ятіння. Обраний для дослідження об'єм води пропускають через фільтр, приєднуючи апарат до вакуумного насоса. Якщо аналізують кілька проб води, то для кожної з них використовують окремий мембранний фільтр. Перед фільтруванням нової проби апарат стерилізують. Після пропускання через них води фільтри поміщають на поверхню середовища Ендо в чашки Петрі, розташовуючи їх на живильному середовищі фільтрує стороною вгору. Чашки потім інкубують в термостаті 24 год при 37°C. До складу середовища Ендо входять лактоза, індикатор і МПА і тому БГКП утворюють на ній колонії червоного

кольору з металевим відливом. Підраховують кількість таких колоній, готують з них мазки і фарбують за Грамом, а також перевіряють оксидазную активність. Оксидазоотрицательні бактерії, що розкладають лактозу до кислоти і газу, виявлені на фільтрі, дозволяють дати позитивну відповідь про наявність у воді БГКП. При аналізі питної води обчислюють кількість БГКП, що містяться в 100 мл.

Для диференціації загальних коліформних бактерій і термотолерантних коліформних бактерій кожен виростає на фільтрі колонію БГКП засівають у дві пробірки з лактозною середовищем. Одну з пробірок попередньо прогрівають до 44°C з тим, щоби інактивувати загальні коліформні бактерії. Потім цю пробірку інкубують при цій же температурі протягом 24 год (для підтвердження наявності термотолерантних коліформних бактерій). Другу пробірку з посівом ставлять в термостат при температурі 37°C на 48 год, щоб переконатися в наявності загальних коліформних бактерій.

Забруднену воду відкритих водойм попередньо розводять, як зазначено в табл. 1 і для фільтрації використовують об'єм не менше 10 мл. Подальші дослідження проводять, як описано вище.

Для визначення колі-титру води частіше використовують двофазний бродильний метод.

Перший етап (1-ий день) - роблять посів на середовище Ейкман (глюкозопептонне середовище) з поплавками для збору газу і посіви ставлять в термостат (інкубують) при 43°C 24 години.

Для посіву малих об'ємів води використовується розведене середовище Ейкмана (1% пептон; 0,4% NaCl, 0,5% глюкоза). Для посіву великих об'ємів - концентроване середовище Ейкмана, що містить 10-кратну концентрацію основних компонентів. Концентроване середовище Ейкмана використовують для аналізу водопровідної води. Роблять посів двох проб води по 100 мл у колби з 10 мл середовища і десяти проб по 10 мл води в пробірки з 1 мл середовища. Таким чином, об'єм засіяної води - 300 мл: 2 колби по 100 мл і 10 пробірок по 10 мл.

Другий етап (2-ий день) - роблять пересівання на середовище Ендо з тих колб і пробірок, де спостерігається рост колоній. Ознаки росту *E. coli* на середовищі Ейкмана - дифузне помутніння і утворення газу. Посіви інкубують при 37⁰С 24 години.

Третій етап (3-ій день) - переглядають посіви на середовищі Ендо. Ознаки росту *E. coli* на середовищі Ендо - утворення гладких колоній червоного кольору, з металевим блиском. Проводять мікроскопічне підтвердження *E. coli*: з підозрілих колоній роблять мазки і фарбують за Грамом; під мікроскопом спостерігають грам «-» дрібні палички.

Проводять біохімічне підтвердження *E. coli* - оксидазний тест на цитохромоксидазу. Якщо є цитохромоксидаза - папірець синіє протягом 1 хвилини. *E. coli* - оксидазонегативна. Оксидазний тест дозволяє відрізнити *E. coli* від грамнегативних, але оксидазопозитивних бактерій родини *Pseudomonadaceae*. Якщо виявляють в мазках грам «-» дрібні палички, які є оксидазонегативними, результат аналізу вважається позитивним (висновок: виявлено кишкову паличку).

Мікробіота повітря

Мікробіота повітря залежить від мікробіоти ґрунту і води, звідки мікроби разом з пилом і крапельками вологи захоплюються в атмосферу. Повітря - несприятливе середовище для розмноження мікроорганізмів. Відсутність живильних речовин, сонячні промені, і висушування обумовлюють швидку загибель мікроорганізмів. Внаслідок цього в атмосферному повітрі постійно відбуваються процеси самоочищення. Склад мікробіоти повітря дуже різноманітний - це пігментні сапрофітні бактерії (мікрококи, сарціни), актиноміцети, цвілеві, дріжджові гриби тощо. Найбільша кількість мікроорганізмів містить повітря крупних промислових міст. Повітря ж полів, лісів, луків, а також над водними просторами, у видаленні від населених пунктів відрізняється порівняльною чистотою. Значних змін зазнає мікробіота повітря залежно від пори року. Максимальна

кількість мікробів виявляють в літній час, а мінімальне - в зимовий час. Мікробіота повітря закритих приміщень більш різноманітна і відносна стабільна. Серед мікроорганізмів домінують мешканці носоглотки людини, у тому числі і патогенні види, які потрапляють в повітря при кашлі, чханні або розмові. Основне джерело забруднення повітря патогенними видами - бактеріоносії. Рівень мікробного забруднення залежить від щільності населення, активності руху людей, санітарного стану приміщення, вентиляції, частоти провітрювання, способу збирання, ступеня освітленості і т. д.

Мікроорганізми в повітрі знаходяться в стані аерозолі. Аерозоль - колоїдна система, що складається з повітря, крапельок рідини або твердих частинок, і включає різні мікроорганізми. Розмір аерозольних часток варіюється від 10 до 2000 нм. При чханні може утворюватися до 40000 крапель. Виділяють три основні фази бактеріального аерозолі:

крапельна фаза складається з бактеріальних клітин, оточених водно-сольовий оболонкою. Діаметр частинок близько 0,1 мм. Тривалість перебування у повітрі становить кілька секунд;

мілка ядерна фаза утворюється при висиханні частинок першої фази. У цій фазі частинки мають найменші розміри, легко переміщуються потоками повітря, тривало знаходяться в підвішеному стані. Саме так поширюються більшість збудників повітряно-крапельних інфекцій;

фаза «бактеріальної пилу» складається з великих, бістро осідають частинок, що утворюють пил, здатну підніматися в повітря.

Патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми у повітря потрапляють з краплями слини людини або тварин, при розмові, кашлі, при злущування клітин епітелію шкіри. Через повітря передаються:

бактерії - збудники туберкульозу, дифтерії, кашлюку, спорові форми бактерій та ін. ;

віруси - збудники гострих респіраторних інфекцій (вітряної віспи, грипу, парагрипу та ін.);

гриби з роду *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* та ін.

Для оцінки санітарного стану повітря закритих приміщень визначають загальне мікробне число і кількість санітарно-показових мікроорганізмів, до яких належать гемолітичні стафілококи, α - і β - гемолітичні стрептококи. При необхідності, наприклад, в хірургічних стаціонарах, пологових будинках додатково визначають наявність і кількість синьогнійної палички та ін. Грамнегативних умовно-патогенних бактерій - збудників внутрішньолікарняних інфекцій.

Кількість бактерій і кількість санітарно-показових мікроорганізмів визначають за їх кількісним вмістом в 1 м³ (1000 літрів) повітря.

В даний час існує багато методів і пристроїв для відбору проб повітря та їх дослідження. Найбільш простими і доступними для проведення санітарно-бактеріологічного дослідження повітря є седиментаційний і аспіраційний методи.

Седиментаційний метод Коха заснований на спонтанному осіданні мікроорганізмів під дією сили тяжіння на поверхні живильного середовища відкритої чашки Петрі.

Для визначення загального мікробного числа дві чашки Петрі зі стерильним МПА залишають відкритими протягом 10-30 хв. Потім їх закривають, надписують і інкубують в термостаті при 37°C протягом 24 год. Потім посіви витримують 24 год при кімнатній температурі для виявлення цвілевих грибів. Таким чином, через 48 год підраховують сумарну кількість колоній, що виростили на чашках. Виходять з того, що за 5 хв. на поверхню 100см² щільного середовища осідають бактерії з 10 літрів повітря (Омелянський В.Л.), або користуються даними таблиці 2.

Таблиця 2

Розрахунок числа мікроорганізмів в 1 м³ повітря

Діаметр чашки,	Площа чашки,	Коефіцієнти для розрахунку кількості
----------------	--------------	--------------------------------------

см	см ²	мікроорганізмів в 1 м ³ повітря
8	50	100
9	63	80
10	78	60
11	95	50
12	113	45

Приклад: на чашці діаметром 10 см виросло 40 колоній, тож, кількість мікроорганізмів в 1 м³ повітря складає: 40 x 60=2400.

Для виявлення санітарно-показових мікроорганізмів використовують спеціальні живильні середовища: для стафілококів - жовточно-сольовий агар (експозиція 15 хв), для гемолітичних стафілококів і стрептококів - кров'яний агар (експозиція 10-15 хв), для грибів - середовище Сабуро (посіви витримують 3- 5- діб при 20-22 °С).

Аспіраційний метод заснований на ударній дії повітряного струменя об поверхню живильного середовища, на яку осідають мікроорганізми. Його проводять з використанням апарату Кротова або його сучасних модифікацій. Вони складаються з вузла для відбору проб повітря, мікроманометра і електромотора. В апараті Кротова вузол для відбору проб вмонтований в металевий корпус і має відцентровий вентилятор, майданчик з зажимами для установки чашки Петрі, кришку з плексиглаза, в якій вирізана клиноподібна щілину для всмоктування повітря. На майданчик встановлюють відкриту чашку Петрі з живильним середовищем, закривають кришкою апарату і включають мотор. Обертанням відцентрового вентилятора повітря засмоктується через клиноподібну щілину і з силою вдаряється об поверхню живильного середовища, на якій осідають мікроорганізми, рівномірно розподіляючись по ній. Швидкість обертання чашки Петрі регулюється, що дозволяє пропускати різний об'єм повітря в хвилину, який фіксується мікроманометром. Після закінчення заданого часу експозиції вимикають

мотор, чашку Петрі з посівом повітря знімають, закривають і ставлять в термостат.

Для визначення загального мікробного числа використовують МПА, швидкість пропускання повітря через апарат 25л / хв. з експозицією 4 хв, що гарантує осідання мікроорганізмів з обсягу не менше 100 л повітря. Для виявлення золотистого стафілокока використовують желточно-сольовий агар, гемолітичних стафілококів і стрептококів - 3-5% кров'яний агар, а час експозиції збільшують до 10-15 хв, що забезпечує посів бактерій з 250-300 л повітря.

Посів повітря проводять в дві чашки Петрі з МПА агаром і вирощують 48 годину (24 год в термостаті при 37°C, потім витримують 24 год при кімнатній температурі). Чашки Петрі з кров'яним агаром інкубують в термостаті при 37°C 24 годину. Підраховують кількість колоній, що вирости і отримані дані перераховують на 1 м3 досліджуваного повітря.

Приклад розрахунку: на одній чашці Петрі при підрахунку виявлено 246 колоній, на другий - 254, тобто в середньому $246 + 254 = 250$ колоній. Апарат обертає чашку Петрі 2 хвилини зі швидкістю 25 л / хв. Всього було пропущено 50 л повітря. Таким чином в 50 л повітря міститься 250 мікробів, в загальне мікробне число в перерахунку на 1 м3 повітря становить $(250 \cdot 1000) : 50 = 5000$ бактерій.

Вивчення якісного складу мікробіоти проводять за звичайними методиками: з колоній роблять мазки, фарбують за Грамом, виділяють чисту культуру, яку ідентифікують. При дослідженні атмосферного повітря додатково визначають спороутворюючі анаероби. З цією метою роблять посів повітря в обсязі 200-300 л на чашки Петрі з залізо-сульфітної середовищем, інкубують в термостаті при 37°C 24 годину. Для виявлення цвілевих грибів посів повітря роблять на середовище Сабуро і культивують 3-5 діб при 20-22 °C.

Допустимі рівні бактеріальної забрудненості повітряного середовища різних приміщень лікувальних закладів та аптек представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Допустимі рівні бактеріального обсіменіння повітря приміщень лікувальних закладів залежно від класу чистоти і їх функціонального призначення

Клас чистоти	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 м ³ повітря (КУО)	Кількість колоній <i>S. aureus</i> в 1 м ³ повітря (КУО)	Кількість цвілевих і дріжджоподібних грибів 1 дм ³ повітря (КУО)
Клас А (особливо чисті)	Не більше 200	Не має бути	Не должно быть
Клас Б (чисті)	Не більше 500	Не має бути	Не має бути
Клас В (умовно-чисті)	Не більше 750	Не має бути	Не має бути
Клас Г (забруднені)	Не нормується	Не нормується	Не нормується

Примітки:

клас А - операційні, пологові зали, асептичні бокси, палати для недоношених дітей;

клас Б - процедурні, перев'язувальні, передопераційні, палати і зали реанімації, дитячі палати;

клас В - палати хворих, оглядові, ординаторські, матеріальні, комори чистої білизни;

клас Г - коридори, сходові марші, санітарні кімнати, туалети, кімнати для брудної білизни та тимчасового зберігання відходів.

Мікробіота організму людини

В організмі людини живуть приблизно 500 видів мікроорганізмів, що формують його нормальну мікробіоту. Макроорганізм і його мікробіота в нормальних умовах перебувають у стані динамічного рівноваги (еубіоза), яке склалося в процесі еволюції. Відкритими біотопами, які сполучаються з

зовнішнім середовищем, є - шкіра, розташовані до голосової щілини відділи респіраторного тракту, ротова порожнина, шлунково-кишковий тракт, слизові оболонки газу, носа, передньої уретри, вагіна. Вони заселяються мікроорганізмами, серед яких домінують бактерії.

Найпростіші і віруси представлені значно меншим числом видів. У нормі від мікроорганізмів вільні - кров, ліквор, синовіальна рідина, кістковий мозок, черевна порожнина, плевральна порожнина, матка.

Як вже вказувалося вище природну мікробіоту будь-яких біотопів в залежності від значення індекса постійності підрозділяють на резидентную (або постійну), факультативну (або додаткову) і транзиторну (або випадкову). Якщо постійна мікробіота містить представників, специфічних для даного біотопу, то випадкова складається з особин, занесених ззовні. Так, в шлунково-кишковому тракті можуть виявитися сторонні мікроорганізми, що потрапили з їжею або питвом. Шкірні покриви найбільш часто контамінуються випадковою мікробіотою з навколишнього середовища. У трахеї, бронхах, легенях, стравоході також може виявлятися транзиторна мікробіота.

Постійна мікробіота конкретного біотопу відносно стабільна за складом. Разом з тим склад і фізіологічна роль складових її мікроорганізмів далеко не рівнозначні. Тому в постійній мікробіоті розрізняють дві фракції: облигатную і факультативну. Облігатна мікробіота є головною складовою будь-якого мікробіоценозу, вона протидіє заселенню біотопу випадковими мікроорганізмами, бере участь у процесах ферментації, імуностимуляції, тобто виконує захисні або нормофізіологічні функції. Частка облигатної мікробіоти у складі здорового біоценозу в кілька разів вище, ніж частка факультативної фракції. Наприклад, концентрація біфідобактерій в товстій кишці досягає 10¹¹-10¹² КУО / г. (КУО - колонієутворюючих одиниць - число колоній, що виростають на живильному середовищі при посіві 1 г або 1 мл досліджуваного матеріалу. При визначенні концентрації мікроорганізмів беруть до уваги те, що кожна жива бактеріальна клітина утворює колонію).

Факультативна мікробіота становить меншу частину постійних мешканців біотопу, максимальна концентрація окремих представників не перевищує 10^3 - 10^5 КУО/г. Якщо постійна мікробіота проявляє себе переважно бродильною активністю (тобто розщепленням вуглеводів з утворенням кислих продуктів), то факультативна фракція вельми активно бере участь в гнильних процесах.

Склад нормальної мікробіоти тіла людини.

Мікробіота шкіри.

Шкірний покрив є найбільш великою областю людського тіла, доступною для постійних контактів з мікроорганізмами навколишнього середовища. До складу резидентної мікробіоти шкіри входять грампозитивні сапрофітні бактерії - стафілококи, мікрококи, непатогенних коринебактерии, пептострептококи. До транзитної мікробіоти відносяться грампозитивні сарціни, золотистий стафілокок, гриби роду *Candida*, плісняві гриби. Таким чином, у складі мікробіоти шкіри представлені як аеробні, так і анаеробні види. Основні зони колонізації - поверхня ороговілих клітин епідермісу, устя волосяних фолікулів, протоки сальних залоз. На одному cm^2 шкіри може перебувати від 10 тис. До 1 млн. Бактеріальних клітин. Бактерії розщеплюють секрети сальних залоз до ненасичених жирних кислот, при цьому відбувається зсув рН в кислу сторону. Кисла реакція середовища та продукти метаболізму представників нормальної мікробіоти є несприятливими факторами для патогенних бактерій, які на поверхні здорової шкіри швидко гинуть (протягом 5 хв). При ослабленні захисних реакцій макроорганізму на шкірі зростає кількість грамнегативних бактерій, зокрема кишкової палички (*E. coli*).

Мікробіота верхніх дихальних шляхів.

Найбільш колонізовані верхні відділи дихальних шляхів, які анатомічно пристосовані для осадження бактерій з вдихуваного повітря. Резидентная мікробіота порожнини носа та носоглотки представлена грампозитивними зеленящий і негемолитическими стрептококами,

пептострептококи, мікрококи, стафілококами, лактобактеріями. З грамнегативних мікроорганізмів тут мешкають непатогенних нейсерії та анаеробні неспорообразуючі палички - бактероїди.

Мікробіота шлунково-кишкового тракту.

Порожнина рота - один з найбільш заселених ділянок тіла людини, там виявляється близько 300 видів мікроорганізмів (таблиця 4). У порожнині рота мешкають представники всіх морфологічних форм бактерій: коки, палички, спірохети форми, а також найпростіші, гриби, віруси. Високою обмінення порожнини рота сприяють її анатомічні особливості - наявність ясенних кишень, складок слизової, міжзубних проміжків - велика кількість поживних речовин, лужна реакція середовища, достатнє постачання киснем.

Таблиця 4

Мікробний пейзаж ротової порожнини здорових людей.

Microorganisms	%
Стрептококи	100
Лактобактерії	90,3
Стафілококи	40,7
Гриби рода Candida	25,7
Бактероїди	21,0
Корінебактерії	13,1
Нейсерії	6,9
Вейлонели	5,3
Лептотріхії	4,5
Фузобактерії	3,5
Актиноміцети	3,0

Спірохети	2,7
Мікрококи	2,0
Найпростіші	0,9

До облигатної мікробіоти відноситься перш за все основна маса грампозитивних коків, яка представлена гетерогенною групою стрептококів. У цю групу входять *Str. salivarius*, *Str. sanquis*, *Str. mutans*. Вони відрізняються один від одного за здатністю ферментувати вуглеводи і утворювати перекис водню. Зрушення рН в кислу сторону приводить до декальцинації емалі. Важлива також здатність стрептококів синтезувати з сахарози полісахариди. При цьому Глюкозна частина молекули перетворюється на нерозчинний декстран, який сприяє утворенню зубних бляшок. Стрептококом зустрічаються в порожнині рота в різних кількісних співвідношеннях, які залежать від дієти, гігієни порожнини рота, віку та інших факторів.

Грамнегативні анаеробні коки представлені родом *Veilonella*. Вони досить добре розкладають лактат, піруват, ацетат та інші вуглеводи до вуглекислоти і води. За рахунок катаболізму молочної кислоти, утвореної стрептококом, вейлонелли можуть надавати противокариозне дію.

Грампозитивні палички представлені в порожнині рота родом *Lactobacillus*. Вони розкладають вуглеводи з утворенням молочної кислоти, зберігаючи життєздатність при низьких значеннях рН середовища. Найбільш часто в порожнині рота здорових осіб зустрічаються *L. casei*, *L. acidophylus*, *L. salivarius*.

Грамнегативні анаеробні і мікроаерофільні бактерії частіше за все відносяться до сімейства *Bacteroidaceae*. Вони ферментують цукру до газу, а пептони - з утворенням амінокислот. До даного сімейства ставляться три роду: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia* . Найбільш часто зустрічаються *B. melaninogenicus* і *B. gingivalis*. Вони характеризуються

низькою сахаролітичною активністю, проте глюкозу розкладають з утворенням суміші кислот, причому рН середовища залишається досить високим. Дані види є постійними мешканцями ясенних кишень. Наявність протеолітичних ферментів у бактероидов має велике патогенетичне значення в розвитку захворювань пародонту.

Рід *Fusobacterium* представлений паличками веретеноподібної форми. Вони утворюють з пептона або глюкози молочну кислоту. Фузобактерії мешкають в ясенних кишнях в асоціаціях зі спірохетами.

З сімейства *Actinomycetaceae* порожнини рота найчастіше зустрічаються пологи *Actinomyces* і *Bifidobacterium*. Перші ферментують вуглеводи з утворенням кислих продуктів без виділення газу. Кінцевими продуктами розщеплення глюкози є оцтова, молочна, мурашина і бурштинова кислоти. Мають слабку протеолітичної активністю. Актиноміцети знаходяться на слизовій оболонці рота, складають струму зубного каменю і входять до складу зубного нальоту. Поряд з цим, вони містяться в каріозних порожнинах зубів, в патологічних ясенних кишнях, в протоках слинних залоз.

У порожнині рота зустрічаються бактерії роду *Corynebacterium*. Характерною особливістю їх є здатність знижувати окисно-відновний потенціал, створюючи тим самим умови для зростання анаеробів. При захворюваннях пародонту вони зустрічаються в асоціаціях з фузобактеріями і спірохетами.

Спірохети, що мешкають в порожнині рота, відносяться до трьох родів: Трепонемі порожнини рота представлені видами *T. macrodentium*, *T. denticola* і *T. orale*. Вони відрізняються один від одного за утворенням молочної, оцтової та інших кислот і утилізацією вуглеводів. Борелії порожнини рота представлені *B. buccalis*, частіше зустрічаються в асоціаціях з фузіформними бактеріями.

У порожнині рота зустрічаються мікоплазми - *M. rale* і *M. salivarius*. Вони гідролізують аргінін, що не ферментують глюкозу і відрізняються за деякими біохімічними ознаками.

З усіх факторів, що визначають природу і стан мікробіоти порожнини рота, вирішальним є слина. Найважливішими в цьому відношенні факторами слини є інтенсивність її утворення, в'язкість, вміст мінеральних компонентів, іонна потенція, буферні властивості, рН, основні метаболіти, присутність або відсутність слинних газів, органічний склад (особливо амінокислот, полісахаридів, вітамінів, пуринів, піримідинів), антибактеріальні властивості (лізоцим, секреторні антитіла, лейкоцити).

В 1 мг зубного нальоту, за даними різних авторів, міститься від 5 до 800 млн. мікроорганізмів. Мікроорганізми зубного нальоту ділять на дві великі групи: 1 - бактерії ацидофільні, до яких відносяться види, здатні розвиватися в кислому середовищі; 2 -протеолітичні мікроорганізми, що виробляють протеїнази.

У першу групу входять молочно - кислі стрептококи, лактобацили, актиноміцети, лептотріхій і коринебактерії. Стрептококи, коринебактерії і актиноміцети можуть розвиватися і в основній середовищі. У цьому випадку через свою здатності синтезувати молочну кислоту вони швидко нейтралізують середовище. Серед ацидофільних бактерій є ацидогенним, які здатні синтезувати з сахарози велика кількість молочної кислоти (іноді оцтової).

Всі стрептококи зубного нальоту поділяються на групи: *Str. salivarius*, *Str. mitis*, *Str.mutans*. *Str. salivarius* легко визначаються морфологічно за формою колоній, що утворюються на желатині, що містить 5% сахарози: великі слизові колонії, що містять велику кількість левану. Ці стрептококи зустрічаються в зубному нальоті в малих кількостях, але їх досить багато на слизових оболонках і в слині.

Str. mitis складають основну масу стрептококів, виділених з зубного нальоту. Вони дуже гетерогенні, відносяться до групи зеленящих

стрептококів і мають слабку біохімічної активністю. Всього лише кілька штамів *Str. mitis* здатні синтезувати екстрацелюлярний полісахариди. *Str. sanguis* займає друге місце за кількісним вмістом в зубному нальоті.

Найбільш цікавим видом молочно - кислих стрептококів є *Str. mutans* у зв'язку з його різко вираженими карієсогенними властивостями.

Серед ацидофільних бактерій зубної бляшки, 15% складають ниткоподібні форми (актиноміцети, лактобацили і лептотріхій). Актиноміцети утворюють леваніни; лактобацили не утворюють позаклітинних полісахаридів, за винятком *Lactobacillus casei*, які можуть утворювати деякі капсульні полісахариди; лептотріхій взагалі не виробляють полісахаридів; другу групу бактерій зубного нальоту складають анаероби, які використовують харчові протеїни і амінокислоти. Кількість анаеробів в зубному нальоті зменшується при вживанні сахарози і збільшується при вживанні мальтози.

У некаріозній зубній бляшці велику частину складають вейллонелли, нейсерії і найменшу -спірохети. У каріозній зубній бляшці головними протеолітичними бактеріями є ристелли. Крім згаданої вище мікробіоти, в зубній бляшці виявлені й інші види мікроорганізмів, зокрема дріжджоподібні гриби, діфтероїди, стафілококи. На всіх етапах розвитку зубної бляшки в ній переважають стрептококи.

Бактерії знаходяться в основному в трьох зонах:

- 1) в зубних бляшках на коронках зубів, а в разі карієсу - в каріозній порожнині;
- 2) у гінгівальних борознах;
- 3) на спинці язика, особливо в задніх її відділах.

За даними різних авторів, кількість бактерій в слині коливається від 43 млн до 5,5 млрд в 1 мл, тобто в середньому 750 млн в 1 мл. Мікробна ж концентрація в бляшках і гінгівальній борозні майже в 100 разів вище. Близько половини резидентів є факультативними і облігатно анаеробними стрептококами, які включають в свій склад *Str. mutans*, *Str. mitis*, *Str. sanguis*

пептострептококки. R-гемолітичні стрептококи не є складовою частиною резидентної флори. Різні види стрептококів займають певну нішу, наприклад найбільшу кількість ентерококів було виявлено на спинці язика і в гінгівальній борозні, *Str. mutans* зазвичай локалізуються в бляшці на коронці.

Інша половина резидентної флори складається з вейллонел (близько 25%) і дифтероїдів (близько 25%). Стафілококи, лактобацили, жгутикові мікроорганізми, спірохети, лептоспіри, фузобактерії, бактероїди, нейсерії, спіралеподібні форми, дріжджі, інші гриби, найпростіші знаходяться в порожнині рота в набагато меншій кількості. Хоча ці мікроорганізми постійно присутні в порожнині рота, вони ніколи не бувають так широко представлені, як стрептококи, вейллонелли, діфтероїди. Ці дані свідчать про те, що необхідно розрізняти головних і другорядних представників резидентної мікробіоти.

Нерівнозначна мікробна щільність різних біотипів порожнини рота, свідчить про наявність просторово-репродуктивних угруповань мікроорганізмів. Найбільша мікробна щільність, висока екологічна значимість умовно-патогенної флори, а також найменший індекс видового різноманіття дозволяють вважати зубний наліт найбільш важливим в епідеміологічному значенні.

Серед представників резидентної мікробіоти порожнини рота домінантний склад мікробіоценозу формують *Str. salivarius*, *Str. sanguis* і лактобактерії. Їх поєднання визначають індивідуальний ценотип, а разом з ним і відмінні риси конкретної екосистеми. За кількістю домінантів в ценотипі мікробіоценози підрозділяються на полідомінантні, монодомінантні і адомінантні. Індивідуальний ценотип мікробіоти зубного нальоту формують стрептококи (*Str. salivarius*, *Str. sanguis*) і лактобактерії, тому присутність їх в ценотипі є визначальною.

Ценотип зубного нальоту здорових осіб, в якому домінують *Str. salivarius*, *Str. sanguis* і лактобактерії відноситься до нормоценозу першого порядку, що є найбільш фізіологічним.

Поява в мікробіоценозі *Str. mitis* і зміна пропорцій між основними представниками ценотіпа характеризує нормоценоз другого порядку.

Присутність в ценотипі здорових осіб умовно-патогенних і патогенних видів (*Str. mutans*) стафілококи, гриби роду Кандида) відноситься до нормоценозу третього порядку, розцінюється як дисбіотичними реакція.

Наведена характеристика мікробіоценозу порожнини рота дозволяє представити його структуру в загальних рисах і вловити головні тенденції змін при розглянутих станах. Фактично це збірний образ мікробіоценозу порожнини рота, який може відрізнятись від індивідуального в кожному конкретному випадку. Тим часом в практиці клініцистів виникає необхідність в оцінці саме таких індивідуальних екосистем.

Так як *Str. salivarius* переважає як за індексом постійності, так і за популяційним рівнем у біотопі, а також має високу антагоністичну активність до більшості інших бактерій порожнини рота, його наявність в ценотипі визначає характер биоценоотических взаємин. Тому ценоטיפи, до складу яких входить слинної стрептокок, були віднесені до ценотипів першого порядку. Збалансованість екосистеми ротової порожнини спостерігається при ценотипі, що складається з *Str. salivarius*, *Str. sanguis*, лактобактерій і досягається частіше за рахунок домінантного складу. Разом з тим зустрічалися мікробіоценози, де поряд з домінантними виявлені й інші види, що входять в таксономічну структуру співтовариства. Їх проява, мабуть, відображає зміну пропорцій між представниками ценотіпа і відбувається в межах нормоценоза, оскільки не супроводжується домінуванням невластивих видів і не викликає перевищення порога щільності бактеріальних популяцій.

Варіанти, де місце *Str. salivarius* займав *Str. sanguis*, склали другу групу - мікробіоценози з ценотіпом другого порядку.

Показниками декомпенсації мікробіоти або дисбактеріозу є або зменшення значення індексу видового різноманіття нижче рівня 1,71 lg КУО/г, або поява мікроорганізмів невластивих для мікробіоти зубного

нальоту здорових людей, таких, як *Str. pyogenus*, ентеробактерії, пептострептококи та інші.

Вивчення індивідуальних варіантів ценотіпа і їх екологічна характеристика дозволяють створити алгоритм оцінки мікробіоценозу порожнини рота. З його допомогою можна визначити п'ять станів екосистеми від еубіоза першого порядку, що позначає кількісно і функціонально збалансований нормоценоз до дисбіотичних реакції - спільноти з компенсованим кількісним або якісним дисбалансом. Два стану нормоценоза першого і другого порядку відображають ефективність заміщення відсутніх компонентів ценотіпа. Існуючі варіанти нормоценоза являють собою градації порушень біоценотичних взаємин від повної гармонії (нормоценоз першого порядку) через дискомфорт (нормоценоз другого порядку) до дисгармонії (нормоценоз третього порядку або дисбіотична реакція). Критеріями останнього не випадково обрані наявність невластивих видів і значення індексу видового різноманіття нижче $1,71 \lg \text{ КУО/г}$. Саме ці показники свідчать про порушення просторової і функціональної структури екосистеми, коли гомеостатичні механізми втрачають здатність повернути її до початкового рівня і вона виходить з керованого стану.

Дослідження мікробіоти порожнини рота.

Для вивчення якісного і кількісного складу мікробіоти порожнини рота досліджується зубний наліт, слизові оболонки щоки, ясна, неба, поверхню язика і ротова рідина.

Зубний наліт для дослідження збирається стерильним екскаватором. Отриманий матеріал зважується на аналітичних вагах з подальшим розведенням від 1: 100 до 1: 1000 і посівом на поживні середовища.

Забір матеріалу зі слизових оболонок і поверхні язика проводиться стерильним ватним тампоном з площі 1см^2 і подальшим висівом на поживні середовища.

Ротова рідина збирається в стерильну пробірку, досліджується 0,1 мл.

Для вивчення орального мікробіоценозу застосовуються такі поживні середовища: 5% кров'яний агар для підрахунку загального мікробного обмінення, желточно-сольовий агар - для стафілококів, цукровий бульйон і "Mitis Salivarius Agar" - для стрептококів, рослинно -молочні середовище для лактобактерій, середу Сабуро з полімексин - для грибів роду Candida, середу Вільсона - Блера для анаеробів, середовище Ендо - для ентеробактерій. Посіви інкубуються в термостаті 24 години, середовище Сабуро близько 5 днів. Ідентифікацію виділених штамів мікроорганізмів здійснюють на підставі морфологічних, культуральних і біохімічних ознак відповідно до визначника бактерій Д. Бергі.

Кількісний облік щільності популяцій різних екологічних груп проводиться шляхом підрахунку КУО в одному грамі зубного нальоту, 1 мл. ротової рідини на 1 см² поверхні язика і слизових оболонок щоки, ясна і неба.

Загальна характеристика популяційного рівня мікробіоти різних біотопів порожнини рота представлена в таблиці 5.

Таблиця 5

Популяційний рівень мікроорганізмів порожнини рота, КУО/од.

Біотоп порожнини рота	Мікроорганізми		Гриби рода Candida	Загальне мікробне число
	Грампозитивні	Грамнегативні		
Зубний наліт	8,50x10 ⁴	4,69x10 ²	4,09x10 ²	8,59x10 ⁴
Ротова рідина	7,52x10 ⁴	3,12x10 ²	3,17x10 ²	7,53x10 ⁴
Поверхня язика	7,58x10 ⁴	1,68- 10 ²	4,80x10 ²	7,64x10 ⁴
Слизова оболонка щоки	1,14x10 ⁴	1,38x10 ²	3,17x10 ²	1,15x10 ⁴

Десни	$2,70 \times 10^3$	$0,73 \times 10^2$	$2,24 \times 10^2$	$2,72 \times 10^3$
Ньобо	$1,12 \times 10^3$	$0,60 \times 10^2$	$1,86 \times 10^2$	$1,14 \times 10^3$

Стравохід і шлунок у здорових людей не має постійної мікробіоти. Стравохід у здорових людей не містить мікроорганізмів, або їх дуже мало (*Candida albicans*, *Actinomyces israelii*). У шлунку прижились дріжджі (*C. albicans*, *C. tropicalis*); сарцини (*S. ventriculi*); кампілобактерії (*Campylobacter fetus*, *H. pylori*); рідко виявляють лактобацили, стафіло- і стрептококи.

У тонкому кишечнику знаходиться 10^5 - 10^8 мікроорганізмів на 1 мл вмісту. Тут виявляються біфідобактерії, лактобактерії, клостридії, ентерококи. У товстій кишці спостерігається найбільша кількість мікроорганізмів. В 1 г фекалій міститься до 10^{12} мікробних клітин. Близько 95% всіх видів мікроорганізмів складають анаеробні неспороутворюючі бактерії. Основними представниками мікробіоти товстої кишки є:

грампозитивні анаеробні палички (біфідобактерії, лактобацили, еубактерії);

грампозитивні спороутворюючі анаеробні палички (клостридії перфрінгенс);

грамнегативні анаеробні палички (бактероїди); грамнегативні факультативно-анаеробні палички (кишкові палички і схожі з ними бактерії - клебсієли, протей);

анаеробні грампозитивні коки (пептострептококи, пептококки).

У менших кількостях виявляються фузобактерії, протей, вейлонелли, стафілококи, синьогнійна паличка та дріжджоподібні гриби.

Найбільш численна й різноманітна мікробіота товстого кишечника. Основну її масу складають анаеробні мікроорганізми: *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* На долю цих двох родів припадає 96-99 % всіх мікробів, що населяють товсті кишки. Тут

вегетує значна кількість *Escherichia spp.*, *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* Залишкову мікрофлору товстого кишечника складають численні види родів *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Candida*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* та ін. Всього описано понад 260 видів бактерій. У окремих людей у кишечнику знаходять ентеровіруси, які при порушенні опірності організму можуть викликати різноманітні захворювання. В ряді випадків у випорожненнях можна виявити різні види найпростіших.

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

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

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

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

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

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

Для виявлення патогенних ентеробактерій нативний рідкий кал, або з розведень 10^{-1} , бактеріологічною петлею сіють на середовища Ендо, Плоскирева та вісмут-сульфіт агар. По $1-2\text{ см}^3$ із розведення 10^{-1} сіють на середовища збагачення (Мюллера, селенітовий чи магнієвий бульйон). Склад і методика виготовлення всіх живильних середовищ приводиться в інструкції для діагностики дисбактеріозів.

Посіви для вирощування факультативно-анаеробних бактерій інкубують при $37\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 24-48 год, біфідобактерій – 48 год, анаеробів – 4-5 діб в анаеростатах, грибів – 96 год при $28-30\text{ }^\circ\text{C}$. Після ідентифікації виділених культур проводять розрахунки кількості мікроорганізмів тієї чи іншої групи на 1 г випорожнень.

Мікробіота сечостатевого тракту.

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

У піхві здорових жінок переважають молочнокислі бактерії (палички Додерлайна), дифтероїди та грамнегативні *Comma variabile*. Значно рідше виявляють стрепто-, стафіло-, пептококи та клостридії. У 15-20 % вагітних жінок зустрічається *Streptococcus agalactiae*, дуже небезпечний для новонароджених. Присутність грамнегативних бактерій є наслідком фекальної контамінації.

Порцію першої ранкової сечі (3-5 см³) беруть у стерильний посуд, починаючи з середини сечовипускання, і не пізніше як через 1 год проводять посів для кількісного визначення мікробіоти або каліброваною платиновою петлею (діаметр 2 мм) на агар в чашці Петрі, або в склянку ємністю 30 см³, на стінках якої є живильне середовище площею 12,5 см². Середовище обливають мірною кількістю сечі, потім її виливають (метод Нейчева). Після інкубації посівів підраховують число колоній і визначають кількість бактерій в 1 см³ сечі. Критичний (небезпечний) рівень бактеріурії – 10⁵ і більше.

Матеріал для дослідження мікробіоти піхви і визначення ступеня чистоти вагінального вмісту беруть ложечкою Фолькмана, шпателем, або жолобоподібним зондом із заднього склепіння піхви й наносять тонким шаром на предметне скло. Мазок фіксують 10 хв у суміші Никифорова, забарвлюють за методом Грама й досліджують під імерсійною системою.

У вагітних жінок визначають чотири ступені чистоти вагінального секрету:

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

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

третьої – дуже рідко палички Додерлайна або *Comma variabile*, багато лейкоцитів, наявна кокова мікробіота;

четвертий – відсутні палички Додерлайна і *Comma variabile*, дуже багато лейкоцитів, наявна гноєрідна мікробіота (рис. 29).

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

Вікові зміни у складі мікробіоти.

Дитина народжується стерильним, але, проходячи через родові шляхи, захоплює супутню мікрофлору. Формування мікробіоти здійснюється в результаті контакту новонародженого з мікроорганізмами довкілля та організму матері, а також визначається санітарним станом середовища, в якій проходили пологи, типом вигодовування. До 3 місяців життя нормальна мікробіота дитини стає схожою з мікробіотою дорослого. Спочатку після народження порожнину рота дитини заселяють аероби, які після прорізування зубів заміщуються анаеробами. При грудному вигодовуванні основою мікробіоти кишечника дитини є біфідобактерії та лактобактерії. При штучному вигодовуванні у недоношених і слабких дітей порушується розмноження біфідобактерій, і збільшується кількість грамнегативних бактерій (кишкової палички), а також коків. Такі діти часто хворіють.

Значення нормальної мікробіоти організму людини.

Нормальна мікробіота виконує важливі фізіологічні функції і бере участь:

в обмінних процесах - регуляції газового складу кишечника, в розщепленні білків, ліпідів, нуклеїнових, жирних і жовчних кислот;

у регуляції моторної функції кишечника;

у синтезі вітамінів групи В, К, нікотинової, фолієвої кислот;

в детоксикації ендогенних і екзогенних токсичних продуктів;

в стимуляції процесу формування імунної системи у новонароджених та підтримання імунного статусу у дорослих.

Однак найважливішою функцією нормальної мікробіоти є її участь у колонізаційній резистентності. Колонізаційної резистентність - це сукупність антагоністичних властивостей нормальної мікробіоти, що запобігають колонізацію слизових оболонок сторонніми, в тому числі патогенними або

умовно-патогенними мікроорганізмами. Антагоністична активність нормальної мікробіоти реалізується за допомогою наступних механізмів:

1. Утворення кислих продуктів, що пригнічують ріст мікроорганізмів-конкурентів (молочна кислота, оцтова кислоти). Кисла середа перешкоджає розмноженню гнильної і патогенної мікробіоти, стимулює перистальтику кишечника;

2. Біосинтез речовин, що володіють активністю антибіотиків (бактеріоцинів);

3. Конкуренції бактерій за харчові субстрати;

4. Конкуренції за площу адгезії на клітинах епітелію.

Порушення складу нормальної мікробіоти.

При різних захворюваннях порушується кількісне і якісне співвідношення представників нормальної мікробіоти, що сприяє розмноженню патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. У цьому випадку розвивається патологічний процес, званий дисбактеріозом (дисбіозом).

Дисбактеріоз - це кількісне і якісне зміна складу нормальної мікробіоти, що приводить до розвитку або посилення патологічного процесу.

Причини розвитку дисбактеріозу:

захворювання шлунково-кишкового тракту інфекційної або неінфекційної природи;

нераціональне застосування антибіотиків і хіміопрепаратів;

неповноцінне (незбалансоване) харчування (особливо у дітей 1-го року життя)

злякисні новоутворення;

хірургічні втручання;

гормональні порушення;

імунодефіцитні стани.

Таким чином, дисбактеріоз - це не самостійне захворювання, а стан організму, який може спостерігатися у хворих з різними діагнозами.

Приклади дисбактеріозов:

1. Кандидозне ураження слизової оболонки порожнини рота - часто виникає у дітей грудного віку.

2. Дисбактеріоз кишечника при інфекційних захворюваннях – це стан, при якому різко зменшується кількість облигатних анаеробів і збільшується популяція факультативних анаеробів, в результаті чого в товстій кишці починають переважати гнильні процеси, збільшується газоутворення, посилюється перистальтика кишечника. Спостерігається здуття живота, болючість при пальпації, рідкий стілець.

3. Дисбактеріоз піхви (вагіноз) - бактеріальний вагіноз розвивається у жінок при зниженні продукції естрогенів. Відбувається заміщення резидентної молочнокислої флори гарднерелами, стафілококами.

Для лікування дисбактеріозу кишечника використовують препарати нормальної мікробіоти (еубіотики), що містять живі бактерії - резиденти: біфідобактерії, лактобактерії, кишкову паличку. Наприклад: біфідумбактерин, лактобактерин, колібактерин, біфікол, Біфілакт. Застосовуються перорально. Таким чином, нормальна мікробіота відіграє важливу роль у захисті організму від патогенних мікроорганізмів. У той же час представники нормальної мікробіоти за певних умов також здатні викликати запальні процеси мікробної етіології. Наприклад, після перенесеного грипу мікроорганізми, що мешкають в носоглотці когуч викликати запалення легенів.

Виникнення захворювань, викликаних представниками нормальної мікробіоти, може бути обумовлено наступними причинами:

1. Проникнення мікроорганізмів у незвичайні для них місця проживання - в нормі стерильні (кров, черевна порожнина, легені, сечовивідні шляхи);

2. Зниження реактивності організму. У осіб з пригніченим імунітетом представники нормальної мікробіоти можуть викликати важкі захворювання

з летальним результатом. Наприклад: генералізований кандидоз - у хворих у термінальній стадії СНІДу.

3. На тлі деяких соматичних захворювань може різко збільшуватися надходження в системний кровотік ендотоксинів грамнегативної кишкової мікробіоти. Розвивається ендотоксінний шок, поліорганна недостатність. При цьому ніяких мікроорганізмів ззовні не надходить. Ендотоксінемія пов'язана з власної мікробіотою макроорганізму. Такий процес можливий при патології вагітності, застійної серцевої недостатності, патології печінки. Наприклад: гепатит, цироз печінки.

4. У результаті дії липополисахарида грамнегативних мікроорганізмів вивільняється додаткова кількість гістаміну, що може викликати алергічні стани.

Необхідно відзначити також, що окремих представників нормальної мікробіоти використовують як санітарно-показових мікроорганізмів, що свідчать про забруднення навколишнього середовища (води, ґрунту, повітря, продуктів харчування) виділеннями людини, що дозволяє нам судити про їх епідеміологічної небезпеки. Такими мікроорганізмами є, наприклад мешкають в товстій кишці *Clostridium perfringens* та *Enterococcus faecalis*.

Дані про патогенність бактерій для людини представлені в таблиці 6.

Таблиця 6

Класи (групи) патогенності бактерій

№	Вид бактерії	Захворювання
Бактерії		
I група		
1.	<i>Yersinia pestis</i>	Чума
II група		
1.	<i>Bacillus anthracis</i>	Сибірка
2.	<i>Brucella abortus</i> <i>Brucella melitensis</i> <i>Brucella suis</i>	Бруцельоз

3.	<i>Francisella tularensis</i>	Туляремія
4.	<i>Legionella pneumophila</i>	Легіонельоз
5.	<i>Vibrio cholerae</i> 01 <i>Vibrio cholerae non</i> 01	Холера
III група		
1.	<i>Bordetella pertussis</i>	Кашлюк
2.	<i>Borrelia recurrentia</i>	Поворотний тиф
3.	<i>Campylobacter fetus</i>	Абсцеси, сепсис
4.	<i>Campylobacter jejuni</i>	Ентерит, холецистит, септицемія
5.	<i>Clostridium botulinum</i>	Ботулізм
6.	<i>Clostridium tetani</i>	Правець
7.	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Дифтерія
8.	<i>Helicobacter pylori</i>	Гастрит, виразкова хвороба
9.	<i>Leptospira interrogans</i>	Лептоспіроз
10.	<i>Mycobacterium leprae</i>	Проказа
11.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium avium</i>	Туберкульоз
12.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Гонорея
13.	<i>Neisseria meningitidis</i>	Менінгіт
14.	<i>Salmonella paratyphi</i> A	Паратиф А
15.	<i>Salmonella paratyphi</i> B	Паратиф В
16.	<i>Salmonella typhi</i>	Брюшної тиф
17.	<i>Shigella</i> spp.	Дизентерія
18.	<i>Treponema pallidum</i>	Сифіліс
19.	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Псевдотуберкульоз
20.	<i>Vibrio cholerae</i> 01	Діарея
21.	<i>Vibrio cholerae non</i> 01	Діарея, раньові інфекції, септицемія
IV група		

1.	<i>Aerobacter aerogenes</i>	Ентерит
2.	<i>Bacillus cereus</i>	Харчова токсикоінфекція
3.	<i>Bacteroides spp</i>	Абсцес легень, бактеріємія
4.	<i>Borrelia spp.</i>	Кліщовий спірохетоз
5.	<i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Bordetella parapertussis</i>	Бронхосептикоз Паракашлюк
6.	<i>Campylobacter spp</i>	Гастроентерит, періодонтит
7.	<i>Citrobacter spp</i>	Місцеві запальні процеси, харчові токсикоінфекції
8.	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium novyi</i> , <i>Clostridium septicum</i> , <i>Clostridium hiatolyticum</i> , <i>Clostridium bifermentans</i> .	Газова гангрена
9.	<i>Escherichia coli</i>	Ентерит
10.	<i>Haemophilus influenza</i>	Менінгіт, пневмонія, ларингіт
11.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Пневмонія
12.	<i>Mycobacterium spp.</i> <i>Mycobacterium</i> <i>photochromogens</i> <i>Mycobacterium</i> <i>scotochromogens</i> <i>Mycobacterium</i> <i>nonphotochromogens</i> <i>Mycobacterium rapid</i> <i>growers</i>	Мікобактеріози
13.	<i>Mycoplasma hominis 1</i> <i>Mycoplasma hominis 2</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Місцеві запальні процеси, пневмонії
14.	<i>Proteus spp.</i>	Харчова токсикоінфекція, сепсис, місцеві запальні процеси
15.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Сепсис, місцеві запальні процеси
16.	<i>Salmonella spp.</i>	Сальмонельоз
17.	<i>Staphylococcus spp.</i>	Харчова токсикоінфекція, сепсис, пневмонія

18.	<i>Streptococcus spp</i>	Пневмонія, тонзиліт, поліартрит, септицемія
19.	<i>Vibrio spp.</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio mimicus</i> , <i>Vibrio fluviales</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i>	Діарея, харчова токсикоінфекція, раньова інфекція, септицемія
20.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ентерит, коліт

Якщо відхилення кількісних і якісних характеристик мікроорганізмів (мікробіоти) в нашому тілі виходять за межі, в яких вони можуть бути компенсовані за рахунок власних фізіологічних механізмів тіла, то розвивається патологічний стан, зване дисбіоз. Факторами, що приводять до виникнення дисбіозу, найчастіше виступають схильність стресу, антибіотикотерапія і гормонотерапія, алергізація організму, радіоактивне опромінення і часта зміна кліматичних умов. Бактеріологічний аналіз фекалій показує рівень рівноваги між групами симбіонтних (біфідобактерій, лактобацил і ін.) і патогенних (патогенних видів ентеробактерій і кишкової палички, псевдомонад, мікроскопічних грибів та ін.) Мікроорганізмів. В деяких випадках, якщо порушується екосистема тонкої кишки, то відбувається «забруднення» тонкої кишки товстокишкової мікроорганізмами, що володіють патогенними властивостями. У важких випадках, ці патогенні мікроорганізми можуть поширитися за межі кишечника і заселитися у внутрішніх органах. Наступний етап супроводжується глибокими порушеннями травної (розщеплення полісахаридів) і біосинтетичної (продукція вітамінів, незамінних амінокислот та ін.) функцій. Якщо не брати ці умови під контроль і нормалізувати ситуацію, то буде спостерігатися посилене розмноження в одних і висока смертність в інших видів мікроорганізмів. Це може спричинити негативний вплив на життєдіяльність людини через посилення утворення токсичних продуктів.

Для запобігання небажаної ситуації, описаної вище, слід: уникати непотрібного застосування антибактеріальних засобів; споживати пребіотики, що є харчовими субстратами власної мікробіоти кишечника і стимулюють їх розмноження (йогурт, кефір та ін.); стимулювати місцевий і системний імунітет; застосовувати функціональне і рівномірне харчування. Таке харчування включає велику кількість харчових волокон (висівки, овочі, фрукти) і продуктів, збагачених живими культурами мікроорганізмів (кисломолочні суміші), стимулюючих розмноження власних біфідобактерій в кишечнику (картопляний, рисовий відвари, морква, гарбуз, соя).

МЕТОДИ МІКРОБНОЇ ДЕКОНТАМІНАЦІЇ

Стерилізація (від лат. *sterilis* ~ безплідний, вільний від бактерій) – повне знищення вегетативних і спорових форм усіх мікроорганізмів на предметах, матеріалах, у живильних середовищах. Стерилізують інструменти, перев'язочний і шовний матеріал, операційну білизну, лікарські препарати. У мікробіологічних лабораторіях - живильні середовища, пробірки, піпетки, колби, чашки Петрі тощо.

Оброблення інструментів:

1. прополіскують у проточній воді;
2. замочують у миючому розчині 15 хв;
3. миють у тому ж розчині 0,5-1 хв;
4. прополіскують проточною і дистильованою водою;
5. висушують у сухожаровій шафі при 80-85 °С до повного зникнення вологи.

Пробірки, флакони, колби закривають ватними пробками. Пробірки загортають у папір по 25-30 штук, а чашки Петрі - по 4-5 штук або вміщують у стерилізаційні коробки (бікси). Пастерівські й градуйовані піпетки з широкого кінця затикають ватою, обгортають папером або вміщують у

картонні чи металеві пенали по 10-15 штук. Живильні середовища в колбах, флаконах, пробірках закривають пробками.

Види стерилізації:

- а) фізична (висока температура, опромінення);
- б) механічна (холодна);
- в) хімічна (дез. розчинами і газами).

Фізичні способи

Стерилізація високою температурою. Ефективність характеризується (D) – часом, який необхідний при даній температурі, щоб отримати десятикратне зменшення популяції бактерій (на 90%). Величина вимірюється, як правило, у хвилинах.

Прожарювання в полум'ї – бактеріальні петлі, пінцети, предметні й покривні скельця.

Кип'ятіння – 40 хв у спеціальних стерилізаторах – хірургічні інструменти, шприци, голки, гумові трубки. Для підвищення температури кипіння й усунення жорсткості води додають 1% бікарбонату натрію. Метод не забезпечує повної стерилізації, деякі види виживають (клостридії).

Сухим жаром (сухожарова шафа) 160°C, 120-150 хв/180°C, 45-60 хв(після досягнення заданої температури). Стерилізують скляний посуд. Перевага – не пошкоджується скло, не відбувається корозії металевих інструментів. Використовують для стерилізації термостійких порошків, інших речовин. Недоліки – достатньо тривалий строк стерилізації, відбувається обвуглювання і загоряння ватних пробок, паперу, в який загорнутий посуд.

Парою під тиском - повне знищення бактерій та спор. Досягається дією пари, то якої під тиском вища, ніж при кип'ятінні.

Текучою парою (100°C) проводиться в автоклаві з незагвинченою кришкою. При нагріванні пара проникає між вкладеними об'єктами й стерилізує їх. Таким способом обробляють середовища з вуглеводами. Одноразова дія пари не вбиває спори, застосовують дробну стерилізацію—3

дні підряд по 30 хв. Спори, які не загинули, проростають до наступного дня у вегетативні клітини й гинуть при другій і третій обробці.

Для речовин, які не витримують 100°C (білкові рідини, вітаміни, деякі ліки) – тиндалізація – на водяній бані 58-60°C протягом години 5-6 днів підряд.

Пастеризація – одноразове прогрівання матеріалу до температури нижче 100°C, знищення вегетативних форм мікроорганізмів. Спори живі. Мікроорганізми, що залишились, помітно ослабленими. Широко використовують у харчовій промисловості. Термічну обробку молока, пива, вина, різних соків при 70°C протягом 30 хв або при 80°C - 5-10 хв. Пастеризовані продукти зберігаються на холоді.

Автоклавування. Більш ефективна метод стерилізації, ніж дія сухого жару. Конструктивно автоклав – двостінний міцний металевий котел циліндричної форми з кришкою(герметично закривається). Внутрішня частина – стерилізаційна камера(для матеріалу). Кран для виходу повітря і манометр (визначає робочий тиск пари в камері) із запобіжним клапаном.

Опромінення. Застосовують різні типи *опромінення*. У практиці використовуються для цього електрони, гамма-промені, ультрафіолетові промені, радіочастотне опромінення.

Електронні прискорювачі дозволяють фокусувати електрони у вузький спрямований пучок високої потужності. Використовують для стерилізації в промислових масштабах хірургічного перев'язочного і шовного матеріалів на етапі виробництва. Недолік – низька проникність променів. До гамма-опромінення чутливі вегетативні та спорові форми різноманітних бактерій, грибів, дріжджів, віруси. Опромінення потужністю 2,5 Мрад – знезараження антибіотиків, вітамінів, гормонів, пластмасового одноразового устаткування (чашок Петрі, шприців), хірургічного перев'язочного та шовного матеріалів тощо.

Ультрафіолетове опромінення – знешкодження бактерій в повітрі операційних, палат, боксів, мікробіологічних лабораторій тощо –

бактерицидні лампи різної потужності – БУВ-15, БУВ-30 та ін. Мікроби можуть бути захищені численними органічними речовинами, пилом та іншими факторами. Вегетативні форми бактерій у 3-10 разів більш чутливі до ультрафіолетового опромінення, ніж спори.

Методи радіочастотного опромінення інтенсивно розробляють. Складність – небезпека для обслуговуючого персоналу (перешкоди систем зв'язку, різна частота опромінення).

Механічні способи

Не руйнують субстрати. Рідкі середовища і рідини (містять білки, вітаміни, антибіотики, вуглеводи, леткі речовини тощо). Застосовують для очищення бактеріальних токсинів, бактеріофагів від мікроорганізмів.

Механічна (холодна) стерилізація проводиться шляхом фільтрування через дрібнопористі антибактеріальні чи антивірусні фільтри. Їх створюють із спеціальних матеріалів, пронизаних порами, які мають різну форму та йдуть через фільтр звивисто. Фільтри можна виготовляти із позитивно зарядженого матеріалу, тоді бактерії, що несуть на поверхні негативний заряд ще й взаємодіють з ним електростатично, а не тільки механічно внаслідок різного діаметру бактерій і пор. Для перевірки якості фільтрів, використовують дрібні тест-мікроорганізми (*Serratia marcescens* або *Pseudomonas aeruginosa*). Фільтрат висівають на живильне середовище і витримують при оптимальній температурі протягом 5 днів. При відсутності росту тест-бактерій можна застосовувати фільтр для стерилізації. Мембранні або колоїдні фільтри, які виготовляють із нітроцелюлози, представляють собою диски діаметром до 3 5 мм. Фільтри Зейтца – пластини (диски або квадрати) товщиною 4-6 мм (суміші азбесту і целюлози).

Недоліки:

1. можливе забруднення фільтратів сторонніми речовинами, які попадають у нього з фільтра (луги, солі лужних металів, волокна азбесту);
2. азбест внаслідок свого негативного заряду зв'язує деякі речовини з рідини, що фільтрується. Крім того, слід ретельно перевіряти фільтри перед

роботою, щоб не використовувати ті, які мають механічну деформацію (тріщини, надломи тощо).

Перед роботою фільтр закріплюють у спеціальному тримачі. Зокрема, азбестові пластинки вміщують між циліндричною й опорною частиною металевого корпусу апарата Зейтца. Обидві частини з'єднують гвинтами. Зібраний фільтр вставляють у гумовий корок колби Бунзена з боковим відростком. Повністю вмонтований фільтр загортають у папір і стерилізують в автоклаві. Рідину для фільтрування наливають у металевий циліндр, з'єднують боковий відросток колби з вакуумним насосом, щоб створити вакуум у колбі й прискорити фільтрування. Фільтрат у колбі буде стерильним.

Хімічні способи

Стерилізуються вироби з гумових і полімерних матеріалів – 6 % розчин перекису водню, в який занурюють вироби на 6 год при 18°C і на 3 год при 50°C. Можна застосувати розчин дексона з експозицією 45 хв при 18°C. Після закінчення виробу двічі прополіскують у стерильній дистильованій воді, кожного разу змінюючи її, та переносять корнцангом у стерильний бікс. Інструменти для ендоскопії й автоматичні піпетки можна також стерилізувати спиртом.

Стерилізація парами формальдегіду, хлороформу, окису етилену, окису пропілену, метилброміду, озоном – знезараження ендоскопічних інструментів, апаратів для штучного кровообігу, радіоелектронного обладнання, пластмасових виробів, кетгуту тощо. Ефективною зарекомендувала себе суміш окису етилену і бромистого метилу в співвідношенні 1:1,44. Для стерилізації парами використовують спеціальні щільні камери, які герметично закриваються. Для кожного діючого фактора розроблено свої режими стерилізації. Після завершення процедури газова суміш викачується з камери і замінюється стерильним повітрям. Предметами, які було простерилізовано вказаним способом, рекомендується користуватись не раніше, ніж через 24 год – щоб видалився весь газ.

Для перевірки ефективності стерилізації, надійності роботи автоклавів застосовують хімічний та біологічний контроль. Відомі хімічні речовини з певною температурою плавлення: бензонафтол - 110 °С, антипірин -115 °С, сірка -119 °С, бензойна кислота - 120-122 °С, манноза і сечовина - 132-133 °С. Саме при таких температурах найчастіше здійснюють стерилізацію. Хімічні речовини вміщують у скляні трубки, додають невелику кількість анілінового барвника (сафранін, фуксин або метиленовий синій), запаюють і кладуть між об'єктами, що стерилізуються. Рівномірне забарвлення препарату в колір барвника в трубці свідчить про належну температуру в автоклаві, а отже й надійність стерилізації. Для біологічного контролю стерилізації в автоклав вміщують спеціальні біотести - смужки фільтрувального паперу, марлі тощо, на яких знаходяться спори бактерій з відомою термостійкістю, спори відомої чисельності та ін. Розкладаються в біксах, які підлягають стерилізації. Після завершення циклу в пробірки з смужками заливають живильне середовище та інкубують при оптимальній температурі. Відсутність проростання спор бактерій свідчить про ефективну стерилізацію.

Способи стерилізації медичних об'єктів

<i>Спосіб стерилізації</i>	<i>Об'єкти стерилізації</i>
Сухий жар	Скляний посуд, олія, Інструменти, голки, порошки
Волога пара	Розчини для парентерального введення, інструменти, середовища, резинові пробки
Фільтрування	Живильні середовища, що не витримують нагрівання, із білками, деякими вітамінами, амінокислотами, гази, рідини, мазі, олії з низькою в'язкістю
Окис етилену	Обладнання для наркозу, катетери, діагностичне обладнання, протези,

	лабораторне устаткування, допоміжні хірургічні матеріали, оптичні інструменти, пластмасові вироби, пакувальні матеріали
Іонізуюче опромінення	Порошки, перев'язочний матеріал, пробірки для забору крові, щітки, мазі від опіків, центрифужні стакани, шовний матеріал, хірургічний одяг

Дезінфекція – сукупність заходів для повного, часткового або селективного знищення потенційно патогенних для людини збудників на різних об'єктах довкілля з метою попередження передачі збудника від джерела інфекції до сприйнятливого організму.

Виділяють чотири ступені дезінфекції (за різницею у чутливості до дезінфікуючих засобів): А, В, С, D.

Ступінь А – знищення аспорогенних форм мікробів, рикетсій, мікоплазм, найпростіших.

Ступінь В – ліквідація грибів, деяких вірусів, бактерій, з підвищеною стійкістю (стафілококи, мікобактерії).

Ступінь С – збудники особливо небезпечних інфекцій (чуми, холери, висипного тифу, меліоїдозу, сапу).

Ступінь D – спори мікроорганізмів і найпростіших.

Заходи дезінфекції в клініках, мікробіологічних, вірусологічних та інших лабораторіях включають дію фізичних та хімічних факторів. Це такі заходи, як спалювання використаного перев'язочного матеріалу, відходів, сміття, пропалювання в полум'ї пальника, дію сухого жару, автоклавування за різних режимів, використання ультразвуку, кип'ятіння предметів з поверхнево активними речовинами, дезінфекція повітря за допомогою ультрафіолетового опромінення. Використання елементарних заходів - вологе прибирання, миття, очищення, витріпування ковдр, простирадл тощо. Крім того заходи дезінфекції включають застосування хімічних препаратів – дезінфектантів, до яких пред'являють певні вимоги:

- 1) протимікробний ефект широкого спектра дії;
- 2) висока розчинність у воді, здатність утворювати з водою або повітрям активні та стійкі суспензії, емульсії, аерозолі;
- 3) здатність не втрачати протимікробних властивостей при наявності в середовищі органічних домішок;
- 4) низька токсичність;
- 5) відсутність алергізуючої дії;
- 6) відсутність пошкоджуючого ефекту щодо предметів, які ними обробляються;
- 7) доступність сировини, з якої виготовляються дезінфектанти, її дешевизна тощо.

До таких дезінфектантів відносять спирти, альдегіди, четвертинно-амонієві сполуки. Найширше використання знайшли хлоромісткі препарати. До них належать 0,2-1,0 % хлорне вапно, яке виготовляють *ex tempore* з 10 % освітлених розчинів цієї речовини; 0,2-1,0 % розчини хлораміну В або Т; 5 % водні розчини гіпохлориду кальцію; 0,05-0,1 % розчин трихлорізоціанурової кислоти (диконіту); 0,1-0,2 % розчин сульфохлорантину.

Окислювачі представлені 1-10 % розчином перекису водню, фенолами та їх похідними - 3-5 % розчинами лізолу, карболової кислоти, фенолу.

До групи препаратів із солей важких металів належать мертиолят натрію, сулема. 2-3 % розчин формальдегіду, 3-10 % розчин крезолу та інші.

Використовуються газоподібні дезінфектанти - 40 % водний розчин формальдегіду, суміші окису етилену з вуглекислим газом (1:10) і окису етилену з бромідметилом (1:1).

Виділяють поточну та заключну дезінфекцію. Поточну дезінфекцію проводять для зменшення мікробної контамінації у вогнищах інфекції (ліжка, постільна, натільна білизна, рушники, матраци, подушки, меблі, килими, посуд, інструменти, прилади, повітря, виділення, стічні води тощо). При цьому поверхні столів, вікон, стелі, стіни, меблі протирають і миють дезінфікуючими розчинами, постільну та іншу білизну перуть у цих

розчинах. Ліжка, матраци, подушки обробляють у спеціальних камерах термохімічними методами, м'які меблі - за допомогою спеціальних аерозолів, посуд - дезінфікуючими розчинами. Обробка виділень і стічних вод проводиться термічними і хімічними методами. Повітря приміщень можна дезінфікувати пропусканням через спеціальні антибактеріальні фільтри, як це роблять в палатах гнотобіологічної ізоляції, або опромінюючи його ультрафіолетовими променями. Медичні інструменти, прилади спочатку очищають, дезінфікують, а потім, у разі потреби, стерилізують відомими способами.

Заключна дезінфекція полягає у знищенні збудників інфекційних захворювань у приміщенні, де перебував інфекційний хворий, і предметах – після виписування з інфекційного стаціонару, переводу із соматичного відділення в інфекційне тощо. Для забезпечення догляду за проведенням дезінфікуючих заходів необхідно:

а) забезпечити зовнішній і внутрішній контроль відділами дезінфекції санітарно-епідеміологічних станцій та лабораторій лікувально-профілактичних закладів, який здійснюється візуальним, бактеріологічним, біологічним, хімічним та іншими методами;

б) здійснювати бактеріологічний контроль виявляючи у вогнищах інфекції індикаторних бактерій. При кишкових захворюваннях - кишкові палички, при крапельних інфекціях, туберкульозі - стафілококи, у лікувально-профілактичних закладах - умовно-патогенні мікроорганізми. Бактеріологічний контроль здійснюється 1 раз у місяць - один раз у квартал залежно від рангу лабораторії;

в) проводити забір контрольних проб (10-30 штук) не раніше, ніж через 30-45 хвилин після закінчення дезінфекції; площа змивів не повинна бути меншою, ніж 200 см²;

г) змиви брати стерильними ватними тампонами і засівати на поживні середовища з дотриманням всіх правил асептики з метою запобігання контамінації сторонньою мікробіотою.

САНІТАРНА ВІРУСОЛОГІЯ

Предметом санітарної вірусології є вивчення різноманітних патогенних для людини вірусів в об'єктах навколишнього середовища (вода, ґрунт, повітря, харчові продукти і ін.), розробка методів їх ідентифікації та ефективних заходів щодо санації об'єктів оточуючого середовища.

У природі віруси зайняли всі екологічні ніші і входять до складу всіх екологічних систем, починаючи з краплі води (мікроекосистема) і закінчуючи біосферою (глобальна екосистема). Очевидно, немає жодної клітини, у геномі якої були б відсутні профаги і провіруси ссавців. У зв'язку з цим при виділенні та ідентифікації вірусів важко підібрати культури клітин, вільні від вірусних генетичних структур. По суті, генетичний матеріал вірусів став частиною генетичного фонду всіх організмів. Проте, виявити його у еукаріотичних клітинах набагато важче, ніж у прокаріотичних, зокрема при індукції лізогенних бактерій ультрафіолетовими променями чи ДНК-тропними речовинами.

Порушуючи проблему інтеграційних вірусів, слід відмітити, що вона вже давно вийшла за рамки наукових інтересів окремих дослідників і отримала більш практичне значення. Вірусна конверсія, наприклад, затрудняє ідентифікацію бактерій і діагностику інфекційних хвороб, з нею пов'язують злякисне переродження клітин, виникнення повільних вірусних інфекцій, аутоімунних і деяких інших патологічних процесів.

Помірні фаги і інтеграційні віруси тварин і людини, переносячи чужорідні гени, відіграють важливу роль у еволюції їх хазяїв. Вони можуть інактивувати гени клітин або сприяти їх експресії, вводити, видаляти або переміщувати вставочні послідовності (IS-елементи), сприяти рекомбінаційним процесам, а також рекомбінувати з замаскованими дефектними вірусами, які знаходяться у клітинному геномі. Передаються інтеграційні віруси нащадкам тварин і людини трансваріальним шляхом через яйцеклітини, а до дочірніх особин бактерій – при амітотичному

діленні. Переходячи у автономний стан, інтеграційні віруси отримують здатність до реплікації і за ефектом дії на клітини нічим не відрізняються від інфекційних, тобто справляють цитопатичну дію. З цього, однак, не можна робити висновок, що у екологічних системах інфекційні віруси порушують природні взаємозв'язки організмів. Навпаки, вони стабілізують екосистеми. Знаходячись у симбіозі з організмами, інфекційні віруси регулюють чисельність популяцій на такому рівні, який склався в процесі тривалої еволюції. Вірулентні фаги, наприклад, очищують водойми від надлишкової кількості бактерій і водоростей, а віруси тварин вирівнюють періодично виникаючі сплески надмірного збільшення кількості гризунів і комах (полівок, щурів, сарани). У антагоністичному симбіозі з господарем віруси як патогени очищують популяцію від генетично неповноцінних особин, тобто виявляються потужним фактором природного відбору, а як антигени – провають організми до безперервного удосконалення механізмів імунітету. В організмі стійких особин відбувається антигенна перебудова вірусів-паразитів і відточуються їх механізми пристосування і виживання.

Порушення створених взаємовідносин у симбіозі вірус-господар, заснованих на принципі нерівноцінної стійкості, може призводити до розпаду системи. При цьому вивільняється екологічна ніша, яка, як показує порівняльний аналіз інфекційної захворюваності останніх 30 – 40 років, відразу ж заповнюється іншим, не менш небезпечним паразитом.

Отже, задачею санітарно-вірусологічної служби є систематичне санітарно-вірусологічне обстеження стічних вод на міських очисних спорудах, води відкритих водойм, які використовуються для питного і господарського водопостачання, питної води джерел централізованого водопостачання, ґрунтів землеробних полів зрошення, повітря лікарняних закладів, продуктів харчування і т. д. Ці дослідження дозволяють контролювати циркуляцію патогенних для людини вірусів в навколишньому середовищі.

Індикація вірусів у навколишньому середовищі складається з декількох етапів:

- 1) концентрація вірусних агентів із оточуючого середовища;
- 2) транспортування проб в лабораторію;
- 3) виділення вірусів з використанням культур клітин і лабораторних тварина або курячих ембріонів;
- 4) ідентифікація виділених агентів.

Транспортування, виділення та ідентифікація вірусів здійснюється за допомогою загальноприйнятих вірусологічних методів і специфічної для санітарної вірусології проблемою виявляється лише концентрація вірусів із навколишнього середовища, яка потребує розробки спеціальних методичних прийомів.

Санітарна вірусологія води

Основною причиною наявності у воді патогенних для людини вірусів є забруднення її фекаліями людини. У фекаліях людини виявлено більше 100 різноманітних вірусів, причому деякі з них, які належать до сімейства пікорнавірусів, аденовірусів і реовірусів, мають високу термостабільність і тривалий час можуть зберігати життєздатність. Ряд вірусів стійкі до звичайних дезінфектантів, включаючи хлорування, і можуть бути виявленими в стічних водах на великій відстані від джерела контамінації. У воді при контамінації її людськими фекаліями виявляються ті ж самі віруси, що і у фекаліях.

Найбільше виділення кишечних вірусів відбувається літом і восени у зв'язку зі збільшенням кількості кишечних захворювань. Однак спалахи гастроентеритів, викликаних ротавірусами, зустрічаються зазвичай зимою і ранньою весною. Масивне виділення ентеровірусів із кишечника хворих людей і здорових вірусоносіїв викликає значне забруднення вірусами стічних вод, а їх стійкість їх до несприятливих факторів зовнішнього середовища обумовлює тривале виживання у воді. Таким чином, стічні води є основним резервуаром ентеровірусів у зовнішньому середовищі.

Присутність ентеровірусів у воді централізованого водопостачання представляють епідемічну небезпеку щодо поліомієліту та інших ентеровірусних інфекцій, гастроентеритів, гепатиту А і може призвести як до спорадичних випадків, так і до спалахів цих інфекцій.

Тривалість зберігання вірусів у воді значно збільшується при зменшенні температури. Так, вірус поліомієліту зберігає свою життєздатність у річковій і водопровідній воді при температурі 4⁰С 90 днів, а при температурі 37 і 20⁰С відповідно 10 і близько 49 днів. Чим більша вихідна концентрація вірусу, тим більш тривалий час він виявляється у воді. Терміни життєздатності для різних вірусів коливаються у широких межах. Найбільш витривалими до дії зовнішніх факторів є віруси Коксаки групи А, менш витривалими – віруси поліомієліту, найбільш короткий термін збереження життєздатності у вірусів Коксаки групи В (30 – 50 днів). Віруси ЕСНО 7 набагато довше зберігаються у воді, ніж віруси поліомієліту. Аденовіруси більш стійкі до зовнішніх чинників, ніж віруси поліомієліту та ЕСНО. Аденовіруси деяких серотипів зберігають свою життєздатність у воді при температурі 4⁰С на протязі двох років і більше. До несприятливих факторів зовнішнього середовища найбільш стійким із групи ентеровірусів є вірус гепатиту А. Даний вірус досить тривалий час зберігає життєздатність у воді – від декількох тижнів до місяців. Відомі спалахи гепатиту А у зв'язку з поширенням інфекції через сиру колодязьну воду. У забруднених водоймах віруси зберігають свою інфекційну здатність набагато довше, ніж у чистих. Так, у морській воді термін життєздатності вірусів набагато коротший у зв'язку з підвищеним вмістом різноманітних солей та наявності йоду, який має віруліцидну дію. Певну віруліцидну дію справляють різні речовини, які виробляються мікроорганізмами та розчинені хімічні речовини, що знаходяться в морській воді. Із ряду мікроорганізмів у експериментальних умовах найбільш тривалий термін збереження життєздатності у воді різного ступеню забрудненості виявлено у

фага кишкової палички (понад 10 місяців). Він є можливим кандидатом у санітарно-показові мікроорганізми.

Основними об'єктами санітарно-вірусологічного дослідження є стічні води, стічні води на етапах очистки та знезаражування, вода відкритих водойм, що використовуються як джерела водопостачання, водопровідна вода, вода підземних джерел, питна вода у розвідній водопровідній мережі, вода питна доочищена, вода питна бутильована, вода морських і прісних водойм, що використовуються для рекреаційних потреб та вода плавальних басейнів та аквапарків.

Санітарно-вірусологічне дослідження водних об'єктів здійснюється під час проведення запобіжного та поточного державного санітарно-епідеміологічного нагляду, а також за епідемічними показаннями. Санітарно-вірусологічне дослідження води складається з наступних етапів:

- відбір проб для дослідження;
- підготовка проб для дослідження (первинна обробка матеріалу);
- концентрація вірусів у пробах води;
- деконтамінація вірусного концентрату;
- вірусологічне дослідження (виділення вірусу або виявлення його антигенів та фрагменту геному).

Щодо методів концентрації кишечних вірусів, що знаходяться у воді, то дослідженню підлягає вода центрального водопостачання, колодязів, відкритих водойм та плавальних басейнів. Дослідження стічний вод проводять з ціллю вивчення циркуляції вірусів серед населення даної місцевості, ступінь забруднення води вірусами, ефективність роботи очисних споруд тощо. Дослідження води поверхневих і підземних вод проводять при виборі джерела води для центрального водопостачання, для оцінки санітарного стану місць відпочинку та за епідеміологічними показниками. Дослідження питної води проводять лише за епідеміологічними показниками.

Методи концентрації вірусів із води можна умовно поділити на 4 групи:

I. Фізичні (ультрацентрифугування, фільтрація, ультрафільтрація, пінна флотація, електрофорез та електроосмос).

II. Фізико-хімічні методи (преципітація етиловим спиртом, сульфатом амонію, сульфатом алюмінію, двохвалентними катіонами, преципітація у ізоелектричній точці вірусного білка, концентрація поліетиленгліколем).

III. Адсорбційні методи (адсорбція на марлевому тампоні, активованому вугіллі, природних мінеральних сорбентах – бентоніті, асканінті та інших іонообмінних смолах, а також адсорбція на аміноетоксіяеросилі, поліметилксилосані, макро-пористому склі та ін.).

IV. Біологічні методи (адсорбція на дріжджових клітинах та інших мікроорганізмах).

Вибір методу концентрації вірусів у пробах води залежить від багатьох чинників: ступеня забруднення води, чутливості методики, доступності стандартизованого адсорбенту, наявності відповідного обладнання (наприклад, ультрацентрифуг з охолодженням або спеціального обладнання для ультрафільтрації) та навантаження на лабораторію. Усі роботи, пов'язані з концентрацією та виділенням вірусів, здійснюються за умови дотримання правил безпеки у повній відповідності до регламентуючих документів.

Санітарно-вірусологічний моніторинг за забрудненням води (стічної, поверхневих та підземних водойм, питної), як правило, в практичних лабораторіях проводиться за кількома показниками (ентеровіруси, ротавіруси, аденовіруси, віруси гепатиту А, коліфаги), тому доцільно використовувати такий спосіб концентрації і використовувати єдиний реактив для концентрації, який би дозволяв визначати декілька показників вірусів одномоментно. Найбільш надійним методом концентрації вірусів є метод ультрацентрифугування. Інші методи також використовуються, зокрема методи ультрафільтрації, методи концентрації вірусів за допомогою

поліетиленгліколя та адсорбційні методи – адсорбція на марлевих тампонах та іонообмінних смолах. Ці методи відрізняються простотою, швидкістю і достатньою ефективністю.

Для виділення вірусу заражають культуру клітин чи лабораторних тварин. Питна вода вважається безпечною щодо вірусних інфекцій, якщо вона містить менше однієї вірусної частки у 1 л.

Санітарна вірусологія ґрунту

Кишечні віруси можуть адсорбуватися підзолистими ґрунтами, однак в результаті дії ряду факторів можуть десорбуватися і знову надходити у навколишнє середовище. Таким шляхом кишечні інфекції можуть передаватися через ґрунт і овочі при використанні заражених вірусами стічних вод на полях зрошення, городах і присадибних ділянках: стічні води → ґрунт → овочі → людина.

Кишечні віруси довгий час зберігаються на овочах. Збереження їх інфекційності залежить від виду рослини, умов вегетації, типу вірусу і його початкової концентрації. Так при температурі 6 – 10°C вірус поліомієліту I типу зберігав свою інфекційність на редисі протягом 2 місяців. Із овочевих культур найбільш швидко інактивація вірусів відбувається на капусті у результаті її фітонцидної активності. Інфікування овочів може відбуватися не тільки шляхом потрапляння вірусів на їх поверхню, а також і шляхом проникнення вірусу із землі у наземні частини овочевих культур через кореневу систему. Тому необхідно систематично проводити санітарно-вірусологічні дослідження води для поливу, ґрунту і продукції полів зрошування на присутність кишечних вірусів. Завдяки швидкій адсорбції кишечних вірусів частками ґрунту найбільш вірогідна локалізація вірусів у верхньому шарі (0 – 25см), однак іноді є важливим визначити проникнення вірусів у більш глибокі шари ґрунту (75 – 100см).

Дослідження ґрунту проводять за епідеміологічними показниками. Зразки ґрунту (10 – 20 г) відбирають з глибини 0 – 20 см у декількох точках наміченої ділянки. Проби змішують і доставляють в лабораторію у

стерильному поліетиленовому мішку. Лабораторна обробка ґрунту включає десорбцію вірусів з поверхні ґрунту у рідинну фазу (фосфатний буфер, рН 8,2) і концентрацію рідинної фази через фільтри або за допомогою осадження сульфатом амонію. Таким же методом обробляють і осад стічних вод.

Санітарна вірусологія повітря

Повітряно-крапельний шлях передачі інфекції характерний для хвороб дихальних шляхів – найбільш масових інфекційних захворювань. Віруси попадають у повітря в крапельній фазі аерозоля в результаті чхання, кашлю, розмови і знаходиться в складі крапель різної величини, які складаються із слини, слизу і солі. У найбільш високих концентраціях вірус знаходиться у великих краплях, які менш стійкі в аерозолях та швидко осідають. Більш тривалий час у повітрі знаходяться малі краплини вірусного аерозолю. Висихання крапель аерозолю супроводжується інактивацією віруса. Зараження респіраторними вірусами майже завжди здійснюється за рахунок крапельної фази аерозоля у закритих приміщеннях. В першу чергу інфікуються люди з ослабленим імунітетом, які знаходяться на близькій відстані від хворої людини. Менш небезпечно вдихати висохлі краплі, у яких частина вірусних часток уже інактивована. Концентрація вірусних часток у аерозольній хмаринці зменшується за рахунок розведення великим об'ємом повітря і осідання великих крапель аерозолю. Разом з тим наявність у аерозолі малих крапель дає можливість вірусу проникати у нижні відділи дихальних шляхів. Інфекційний агент може переноситися потоками повітря на значні відстані – десятки кілометрів від центру інфекції. Розповсюдження вірусів залежить від швидкості вітру, з іншого боку дощова погода зменшує розповсюдження вірусів.

Стійкі у навколишньому середовищі віруси, в першу чергу аденовіруси, можуть з пиловою фазою аерозоля багатократно надходити у повітря і досить тривалий час циркулювати у даному приміщенні. За стійкістю вірусів у аерозолях і на поверхні, їх можна розділити на три групи:

малостійкі віруси, такі як параміксовіруси (вірус парагрипу і особливо респіраторно-синцитіальний вірус), більш стійкі віруси гриппу, які передаються від хворих людей здоровим лише у вигляді крапельної фази аерозоля, та стійкі віруси, такі як аденовіруси і ЕСНО віруси, які проникають до організму не лише у виді крапельної фази, але і пилової фази аерозоля.

Для вивчення мікробіоти повітря, а саме бактерій і пліснявих грибів існують різні методи дослідження і створено ряд приладів для концентрації цих мікроорганізмів з повітря. Деякі прилади з належними модифікаціями використовуються і для концентрації вірусів з повітря. Оскільки віруси, як правило, знаходяться у повітрі закритих приміщень у низькій концентрації, яка не дозволяє їх виділити, необхідна попередня концентрація вірусів з повітря. Найбільш сприятливі умови для вловлювання вірусного аерозоля зі збереженням інфекційної активності вірусів створюється шляхом концентрування їх у рідкому середовищі. Вловлюючи рідину використовують як матеріал для виділення вірусів або проводять подальшу концентрацію вірусів, додаючи у пробірки з вловлюючою рідиною 30% розчин поліетиленгліколя з молекулярною масою 4000 або 6000.

Після центрифугування суспензії видаляють верхній шар речовини і аналізують вірусвмісний нижній шар. Крім вловлювання на рідких середовищах для концентрації вірусів з повітря можуть бути використані мембранні фільтри. З поверхні фільтрів віруси змивають рідким середовищем з антибіотиками. Визначення тривалості збереження інфекційної активності у повітряному середовищі різних респіраторних вірусів є актуальним питанням у зв'язку з повітряно-крапельним шляхом розповсюдження респіраторних інфекцій. В експериментальних дослідженнях визначено, що тривалість інфекційної активності вірусів у аерозольному стані залежить від таких факторів, як температура і відносна вологість повітря, сонячне світло, склад зволожуючої рідини і т.д.

У закритих приміщеннях головним фактором, який впливає на швидкість інактивації вірусів у аерозолі, є відносна вологість повітря. Віруси різною мірою є стійкими до показників відносної вологості повітря. Так, віруси грипу, парагрипу і респіраторно-синцитіальний вірус швидше інактивуються при високій відносній вологості повітря і у меншій мірі – при низькій. Вірус поліомієліту, віруси ЕСНО і аденовіруси більш стійкі в повітрі при високій відносній вологості, але швидше інактивуються при низькій відносній вологості. Віруси везикулярного стоматиту і корі стійкі як при низькій, так і при високій відносній вологості, але інактивуються при середній відносній вологості.

Санітарна вірусологія предметів побуту

Предмети побуту можуть бути посередниками при перенесенні вірусних агентів від хворої до здорової людини. Особливо велика роль предметів вжитку в дитячих закладах у зв'язку з тісним контактом дітей. Віруси можуть бути виділені із змивів з різних предметів ужитку в дитячих закладах та лікарнях: іграшок, посуду, кухонного інвентарю, тканин, скла, дерева, рук обслуговуючого персоналу.

Аденовіруси типу 5 і віруси ЕСНО 7 зберігають інфекційну активність на деяких предметах побуту більше 7 діб, а віруси парагрипу і респіраторно-синцитіального вірусу – на протязі декількох хвилин або годин. Аденовіруси і ентеровіруси можуть з предметів побуту вторинно надходити у повітря і поширюватись у вигляді пилевої фази аерозоля. Дослідження змивів з предметів вжитку на наявність вірусів проводиться за епідеміологічними показниками у дитячих садках, яслах, лікарнях та інших закладах. Змив беруть з поверхні предметів за допомогою стерильного тампона, який кладуть у пробірку з рідиною (розчин Хенкса, гідролізат лактальбуміна). Тампон віджимають і вірус із рідини концентрують за допомогою фільтрації або за допомогою осадження сульфатом алюмінію.

Санітарно-харчова вірусологія

Про поширення вірусів у харчових продуктах відомо набагато менше, ніж про бактерії і гриби з кількох причин.

По-перше, будучи облігатними паразитами, віруси не ростуть на поживних середовищах. Зазвичай для їх вирощування використовують тканинні культури та курячі ембріони.

По-друге, віруси не розмножуються у харчових продуктах, їх концентрація нижча у порівнянні з бактеріями, а методи концентрування є необхідними для їх виділення. Не дивлячись на ряд досліджень, які присвячені даній проблемі, надзвичайно важко виділити більш ніж 50% вірусних часток з таких продуктів, як м'ясний фарш.

По-третє, робота з вірусами не практикується у багатьох мікробіологічних лабораторіях харчових виробництв. Однак, застосування методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням зворотної транскриптази (РТ-ПЛР) дозволило виявляти ряд вірусів у продуктах харчування, зокрема у тканинах устриць та молюсків. Метод ПЛР підняв лабораторну діагностику харчових продуктів на принципово новий рівень – рівень прямого виявлення вірусів у надзвичайно малих концентраціях.

Ряд вірусів, які виявлені у продуктах харчування, здатні протягом певного часу зберігати свою інфекційну активність. Зокрема, ентеровіруси зберігають свою інфекційність у м'ясному фарші протягом 8 днів при температурі 23 – 24 °С, що не залежить від псування продукту. Вживання продуктів харчування, які містять неінактивовані віруси є причиною певних захворювань. Зокрема спалахи гепатиту мають тісний зв'язок з вживанням певної продукції харчової промисловості. Оскільки вірус гепатиту А передається фекально-оральним шляхом, то вживання молюсків із заражених вірусом водоймищ призводить до розвитку захворювання. Існують дані про зв'язок захворювання на гепатит із вживанням салатів та м'ясних бутербродів у готельно-ресторанних закладах. Приблизно у 8 % хворих на гепатит людей причиною інфікування є вода та продукти харчування, які містили вірус. Норовіруси (рід *Norovirus*, родина

Caliciviridae) викликають кишечні інфекції у ссавців, зокрема гастроентерит. Дослідження харчових продуктів проводять за епідеміологічними показниками. Віруси, які знаходяться у рідких молочних продуктах, концентрують за допомогою поліетиленгліколя з молекулярною масою 4000 або 6000. Обробка напівтвердих харчових продуктів (сир, сирні продукти, м'ясні та рибні напівфабрикати, хліб) і твердих (крупа, сири, м'ясо та ін.) полягає у екстракції вірусних часток у рідку фазу, а із екстракту вірус осаджують за допомогою поліетиленгліколя. Дані про патогенність вірусів для людини представлені в таблиці 7.

Таблиця 7

Класи (групи) патогенності вірусів

№	Вид мікроорганізму	Захворювання
I група		
1.	Filoviridae: віруси Марбург та Ебола	Геморагічні лихоманки
2.	Arenaviridae: віруси Ласса, Хунін и Мачупо	Геморагічні лихоманки
3.	Poxviridae: вірус натуральної віспи	Натуральна віспа людини
II група		
1.	Togaviridae віруси конячих енцефаломієлітів	Енцефаліти енцефаломієліти, енцефаломенінгіти, лихоманки

2.	Flaviviridae: віруси комплексу кліщового енцефаліта: омської геморагічної лихоманки, японського енцефаліта, західного Ніла. Вірус жовтої лихоманки. Вірус гепатита С.	Енцефаліти, енцефаломієліти. Геморагічні лихоманки Парентеральний гепатит, гепатоцелюлярна карцинома печінки
3.	Bunyaviridae, <i>Род Bunyavirus</i> : Комплекс Каліфорній- ського енцефаліта <i>Род Nairovirus</i> : вірус кримської геморагічної лихоманки.	Енцефаліт, енцефаломієліт, менінгоенцефаліт, лихоманки. Лихоманки, міозити, артрити Лихоманки с менінгеальним синдромом, енцефаліт
4.	Rhabdoviridae, <i>Род Lyssavirus</i> : вірус сказу.	Сказ
5.	Herpesviridae: віруси гепатитів В и Д (Дельта)	Парентеральні гепатити
6.	Retroviridae: Віруси імунодефіциту людини (ВИЛ-1,ВИЛ-2) вірус Т-клітинного лейкоза людини (HTLV)	СНІД Т - клітинний лейкоз людини
7.	Unconventional agents: Збудники повільних нейроінфекцій (пріони)	Хвороба Крейцфельд-Якоба, Куру, Скрепі.
III група		
1.	Orthomyxoviridae : віруси грипа А, В и С	Грип
2.	Picornaviridae: <i>Род Enterovirus</i> : віруси поліомієліта дикі штами, віруси гепатита А и Е	Поліомієліт Ентеральний гепатит
3.	Herpesviridae: віруси простого герпеса I и II	Герпес простий Вітряна віспа, оперізуючий

	типів, зостер-герпесвірус вірус герпеса 6 типу (HBLV- HHV6) вірус цитомегалії вірус Епштейн-Барра	лишай. Цитомегалія, інфекційний мононуклеоз, лімфома Беркіта, назофарингеальна карцинома.
IV-група		
1.	Adenoviridae: аденовіруси всіх типів	ГРВІ, пневмонії, кон'юнктивіти
2.	Reoviridae, <i>Род Reovirus</i> : ретровіруси людини <i>Род Rotavirus</i> : ротавіруси людини.	Риніти, гастроентерити. Гастроентерити, ентерити.
3.	Picomaviridae, <i>Род Enterovirus</i> : віруси Коксакі групи А и В віруси ЕСНО ентеровіруси-типи 68-71 <i>Род Rinovirus</i> : ріновіруси людини 120 типів	ГРВІ, поліневрити. Серозні менінгіти, діарея, ГРВІ, поліневрити, увеїти Серозні менінгіти, кон'юнктивіти.
4.	Coronaviridae Коронавіруси людини	ГРВІ (профузний насморк без температури), ентерит
5.	Paramyxoviridae: віруси парагрипа людини 1-4 типа респіраторно-синцитіальний вірус (РС-вірус), вірус епідемічного паротита, вірус кору	ГРВІ, бронхопневмонії Пневмонії, бронхіт, бронхіоліти, Епідемічний паротит Кір Кон'юктивіт
6.	Togaviridae <i>род Rubivirus</i> : вірус краснухи	Краснуха
7.	Rabdoviridae, <i>Род Vesiculovirus</i> : вірус везикулярного стоматита	Везикулярний стоматит

Контамінація вірусами овочів можлива при використанні інфікованих стічних вод на полях зрошення, городах та присадибних ділянках. Для десорбції вірусних частинок з поверхні овочів їх заливають

фосфатним буфером (рН = 8,2), взбовтують, рідину освітлюють центрифугуванням і вірус із надосадової рідини концентрують, як описано вище.

Дослідження природи вірусів на сьогоднішній день дозволяють говорити, що віруси не є організмами, нехай навіть дрібними, так як будь-які, навіть найдрібніші організми типу мікоплазм, рикетсій і хламідій мають власні білок синтезуючі системи. Віруси – автономні генетичні структури, які здатні функціонувати тільки у клітинах, мають різну ступінь залежності від клітинних систем синтезу нуклеїнових кислот і повністю залежать від клітинних білоксинтезуючих та енергетичних систем, а також здатні еволюціонувати.

Таким чином, віруси представляють собою різноманітну і багато чисельну групу неклітинних форм життя, які не є мікроорганізмами, і об'єднані у царство *Vira*. Віруси вивчаються у рамках вірусології, яка представляє собою самостійну наукову дисципліну, що має свій об'єкт і методи дослідження.

Розглядаючи взаємовідносини вірусів з організмами треба мати на увазі, що вони є особливими симбіонтами, які паразитують на генетичному і біохімічному рівнях, але, незважаючи на це, віруси мають свою історію, незалежну від еволюції організмів, у яких вони репродукуються. Так само, як про- та еукаріотам, вірусам притаманна генетична безперервність, здатність до відтворення та мінливість, обумовлена мутаціями та рекомбінаціями.

ПРОТОКОЛИ ПО ТЕМІ МІКРОЕКОЛОГІЯ І САНІТАРНА МІКРОБІОЛОГІЯ

ПРОТОКОЛ № 1

Дата _____

Тема: Екологічна мікробіологія. Мікробіота навколишнього середовища та її вплив на організм людини. Знешкодження патогенних мікроорганізмів у навколишньому середовищі. Мікробіологічний контроль у стоматологічних приміщеннях.

1. Мікробіота ґрунту _____

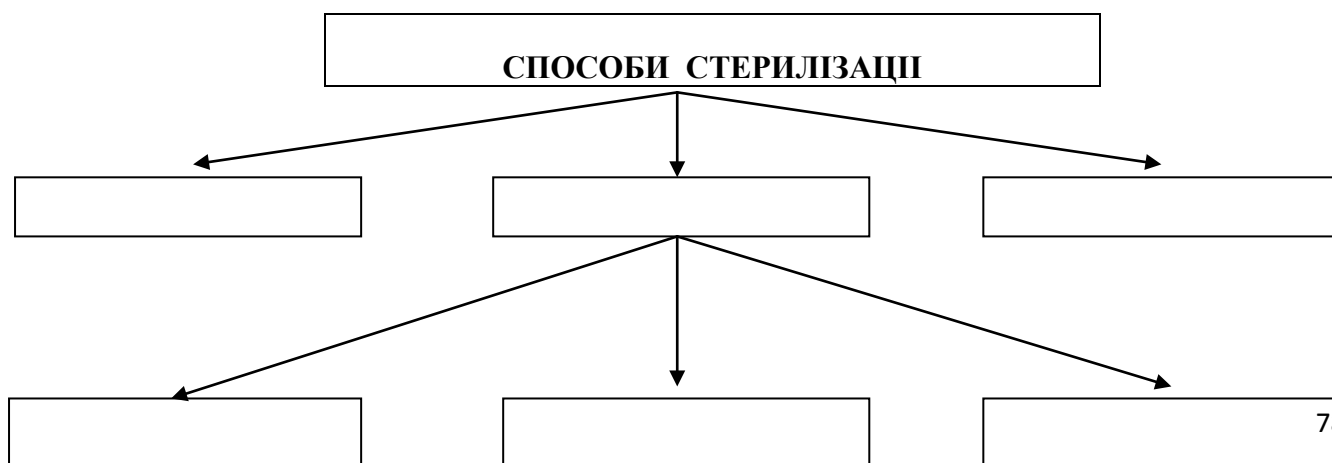
Функції ґрунтових мікроорганізмів _____

2. Мікробіота води _____

3. Мікробіота повітря _____

4. Методи знешкодження мікроорганізмів у навколишньому середовищі.

❖ СТЕРИЛІЗАЦІЯ _____



Термічні способи стерилізації

Спосіб, апаратура	Режим стерилізації	Застосування способу, особливості

Хімічні способи стерилізації

Хімічні речовини	Режим стерилізації	Призначення стерилізації

Біологічний спосіб _____

Контроль якості стерилізації _____

❖ **ДЕЗИНФЕКЦІЯ** - _____

Мета дезінфекції - _____

Методи дезінфекції

Метод дезінфекції	Принцип методу

Антисептика _____

Асептика _____

Дезінсекція _____

Дератизація _____

5. Мікробіологічний контроль у стоматологічних приміщеннях.

ПРОТОКОЛ № 2

Дата _____

Тема: Санітарно-бактеріологічне дослідження води. Схема проведення досліджень.

1. Від чого залежить мікробіота води? _____

2. Які мікроорганізми можуть знаходитись у воді?

3. Назвіть санітарно-показові мікроорганізми при дослідженні води.

4. Санітарно-бактеріологічний контроль якості питної води включає:
 - 1) _____
 - 2) _____
5. Мікробне число води - _____

Норма мікробного числа води _____
6. Колі - індекс - _____

Норма колі - індекса - _____
7. Колі – титр - _____
Норма колі – титру - _____

8. Провести санітарно-бактеріологічне дослідження води,

Засіяти пробу питної води на середовище Ейкмана (глюкозо-пептонне середовище - ГПС) двофазним бродильним методом з метою визначення колі-титру та колі-індексу та на чашку Петрі з МПА для визначення мікробного числа води.

I етап: _____

№	Об'єм поживного середовища	Об'єм питної води у мл								
		100	100	100	10	10	10	1	1	1
1.	10мл конц. ГПС	10	10	10						
2.	1мл конц. ГПС				1	1	1			
3.	10мл розбавл. ГПС							10	10	10

II етап:

III етап:

Облік дослідження питної води двофазним бродильним методом на ГПС

Засіяні об води	100 мл	100 мл	100 мл	10 мл	10 мл	10 мл	1 мл	1 мл	1 мл	Результат
Ріст на ГПС										Колі – індекс - Колі – титр -

Примітка: ознаками росту у середовищі ГПС
 + муть, газ та кислота (зміна кольору індикатора);
 -- відсутність росту мікроорганізму.

ОБЛІК -

ПРОТОКОЛ № 3

Тема: Мікробіота організму людини. Мікробіота ротової порожнини та вікові зміни в її складі. Мікробіота при патологічних процесах порожнини рота.

1. Провести облік результатів дослідження мікробіоти навколишнього середовища, проведених на попередньому практичному занятті.

а) визначити колі-титр та колі-індекс досліджуваної води. Данні занести до протоколу.

б) визначити загальне мікробне число повітря. Зробити висновки про наявність санітарно-показових мікроорганізмів.

Данні дослідження:

в) Дати оцінку результатам дослідження змивів з предметів на середовищі Ендо.

2. Провести санітарно-мікробіологічне дослідження мікробіоти організму людини:

а) засіяти змиви з поверхні шкіри на середовище Ендо з метою виявлення патогенної кишкової палички; та інші мікроорганізми.

3. Назвіть санітарно-показові мікроорганізми при дослідженні змивів з рук.

4. Назвіть представників нормальної мікробіоти ротової порожнини.

5. Вкажіть мету дослідження мікробіоти організму людини.

6. Значення нормальної мікробіоти у житті людини.

7. Вікові зміни в складі мікробіоти ротової порожнини.

8. Мікробіота при патологічних процесах порожнини рота.

ПРОТОКОЛ № 4

Дата _____

Тема: Санітарна вірусологія води, ґрунту, повітря, предметів вжитку, харчових продуктів.

1. Санітарна вірусологія

2. Задачі санітарної вірусології:

★ _____

—
✦

3. Особливості вірусного забруднення навколишнього середовища.

•

•

•

4. Групи вірусів по патогенності для людини.

1 група - _____

2 група - _____

3 група - _____

4 група - _____

5. Основні джерела попадання вірусів у зовнішнє середовище.

✦

✦

✦

6. Основні шляхи попадання вірусів у зовнішнє середовище.

✓

✓

✓

7. Збереження вірусів в об-
факторів:

□єктах зовнішн

■

■

- _____
- _____
- _____

8. Заповніть таблицю.

Збереження вірусів у воді.

Вид віруса	Сроки збереження активності

9. Шляхи розповсюдження респіраторних вірусів у зовнішньому середовищі.

- _____

- _____

10. Комплекс яких методів використовується при санітарно-вірусологічному контролі?

- 1) _____

- 2) _____

- 3) _____

11. Визначення вірусів у навколишньому середовищі складається з таких етапів:

- _____
- _____
- _____
- _____

12. Мікробіологічні критерії якості об'єктів
ентеровірусам.

ектів

Вода. _____

Ґрунт. _____

