

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Санитарная микробиология изучает микробиоту окружающей среды и вызываемые ее жизнедеятельностью процессы неблагоприятного влияния на человека.

Основными источниками распространения возбудителей инфекционных заболеваний являются люди и животные. Наибольшее число м/о поступает фекальным и воздушно-капельным путем.

Обнаруженные м/о служат показателем санитарного неблагополучия и потенциальной опасности, поэтому их называют **санитарно-показательными м/о**.

1. ТРЕБОВАНИЯ К САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫМ М/О:

1. антропогенный характер, т.е. они должны являться нормальными обитателями организма человека и животных и должны выделяться в окружающую среду постоянно и в больших количествах.
2. не должны иметь другого резервуара, кроме организма человека
3. после выделения в окружающую среду должны сохранять жизнеспособность в течение сроков близких к срокам выживания патогенов, поступающих тем же путем.
4. не должны размножаться в окружающей среде
5. не должны подвергаться изменчивости
6. должны быть типичными, легко диагностируемыми и учитываемыми на простых и доступных средах

Патогенные м/о в общем случае не могут быть санитарно-показательными из-за сложности их обнаружения и количественного учета т.к.:

1. Патогенные м/о находятся в окружающей среде не постоянно. Обнаружить их легко только в период эпидемических вспышек.
2. Кол-во патогенных м/о существенно меньше, чем нормальных обитателей, а распространение их неравномерно.
3. Патогенные м/о страдают от конкуренции с сапрофитами и требуют использования богатых питательных сред.

Другими словами прямым путем обнаружить патогенных м/о трудно, поэтому к оценке санитарного состояния подходят косвенным путем, выявляя факт загрязнения среды выделениями нормальной микробиоты человека.

Чем больше м/о нормальных обитателей, тем выше вероятность попадания патогенных м/о.

2. ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

1. Правильный отбор проб
2. Проведение серийных анализов (м/о распределены неравномерно и постоянно пребывают в антагонистических отношениях с нормальными обитателями воды, т.е. необходим отбор с разных участков)
3. Повторность отбора проб

4. Применение только стандартных методик и унифицированных методов утвержденных ГОСТ. (для того, чтобы иметь возможность сравнивать результаты анализов, полученных в разных лабораториях)
5. Использование комплексных тестов для доказательства
6. Проведение оценки загрязнений по совокупности полученных результатов
7. Ответственность микробиологов за точность и обоснованность выводов о состоянии контролируемых объектов.

Микробиологический контроль предусматривает:

1. подсчет общей микробной загрязненности
2. выявление и количественный учет санитарно-показательных м/о

Точный учет невозможен, т.к. нельзя создать условия для размножения и роста всех присутствующих м/о. Поэтому в качестве критерия выбрано содержание **мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных м/о (МАФАМ)**, объединенных потребностями в питании и условиями культивирования.

ОМЧ_{воды} – содержание м/о (бактерий и грибов) в 1 мл

ОМЧ_{почвы} – содержание м/о в 1 г

ОМЧ_{воздуха} – содержание м/о в 1 м³

Наиболее адекватно оценивают ОМЧ как индикатор загрязнения объекта органическими веществами. Обнаружение санитарно-показательных м/о косвенно свидетельствует о присутствии патогенов.

Методы исследования:

1. **Прямой подсчет** Недостаток – невозможность отличить живые клетки от мертвых, трудно анализировать непрозрачную воду. Метод используют только в экстренных случаях, при авариях на трубопроводе.
2. **Бактериологический** – выделение м/о и идентификация. В этом случае м/о засевают на питательные среды и проводят определения на основании микро- и микробиологических характеристик.
3. **Биологический** – заражение лабораторных животных. Используют для анализа на вирусы.

В санитарной микробиологии используют показатели титра и индекса.

Тиртром называют min объем воды или почвы, в котором содержится 1 жизнеспособная клетка санитарно-показательного м/о.

Индексом называют количество клеток санитарно-показательных м/о для воды в 1 л, а для почвы в 1 кг.

Титр и индекс взаимосвязаны следующим соотношением: $I = 1000 \text{ мл} / T$

3. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ М/О.

К м/о кишечного происхождения, которых обнаруживают при санитарном анализе относят:

- БГКП – для почвы,
- Колиформные (общие и термотолерантные) – для воды.

БГКП – это не таксономическая, а искусственная группа м/о, которая включает представителей четырех родов: *Esherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, являющихся обитателями кишечника человека и животных.

По морфологии БГКП – это G^- , неспорообразующие, факультативно-анаэробные (оксидазоотрицательные) м/о, способные ферментировать глюкозу при $37^\circ C$.

Из БГКП выделяют **колиформные м/о**, которые могут ферментировать глюкозу и лактозу до кислоты и углекислого газа. (*общие* – при $37^\circ C$, *термотолерантные* при $43-44,5^\circ C$)

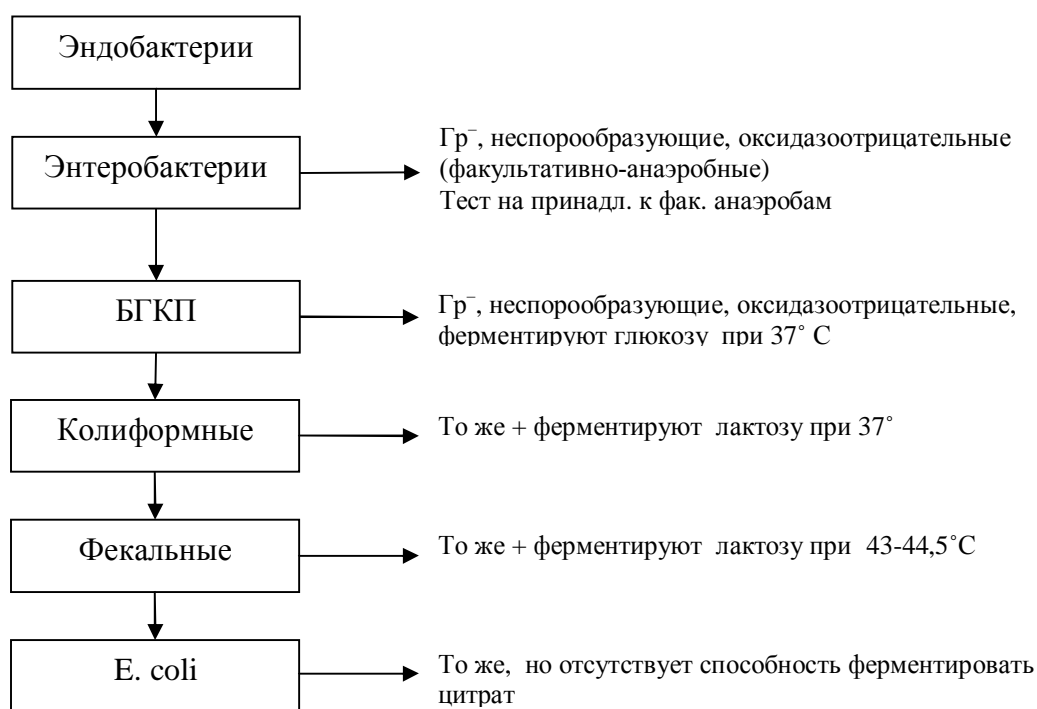
Термотолерантные колиформные м/о также называют **фекальными кишечным палочками**.

Преимуществом этой группы санитарно-показательных м/о является:

1. постоянное выделение в окружающую среду в больших количествах
2. относительная простота выявления
3. стабильность биохимических признаков

Основной метод анализа на колиформные, который принят САНПиНом – **мембранный метод**.

Принцип метода: образец питьевой воды после нейтрализации хлора фильтруют через мембрану с порами $0,45 \text{ мкм.}$, а фильтр после фильтрации накладывают на среду Эндо.



E. coli не используют как индикатор фекального загрязнения в связи с рядом недостатков:

1. Обилие аналогов во внешней среде. Возникает необходимость в проверке дополнительных свойств
2. Высокая вариабельность

3. Недостаточная устойчивость к неблагоприятным факторам (к хим. вещ-вам, к изменению pH и др.).
4. Способна размножаться в окружающей среде при концентрации органического С 0,28 мкг/мл.
5. *E. coli* не четкий индикатор фекального загрязнения, известны вспышки сальмонеллеза при концентрации 17 клеток/л, тогда как содержание *E. coli* составляло 4 клетки/л.

3.1 Клостридии как санитарно-показательные м/о.

Для воды и почвы приняты: ***Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes***

Это Gr⁺, спорообразующие палочки, обитатели нормальной микробиоты кишечника человека и животных. Постоянно выделяются из кишечника, но в меньших количествах, чем колиформные и БГКП.

Основное преимущество – легкая индикация на **железосульфитной среде**.

Подозрительными для этой группы являются **колонии черного цвета**, появление которых вызвано наличием у клостридий фермента **сульфитредуктазы**, восстанавливающего сульфит железа до сульфида (черного цвета). Этот признак отличает кишечные клостридии от клостридий обитающих в окружающей среде.

Недостатки:

1. высокая устойчивость
2. длительное сохранение в окружающей среде
3. возможность размножения в богатых почвах при температурах > 18°C

Кишечные клостридии могут включаться в почвенные природные биоценозы.

Обнаружение кишечных клостридий свидетельствует о давнем фекальном загрязнении.

Обнаружение фекальных кишечных палочек свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, а обнаружение БГКП считаются неопределенными по времени загрязнения.

При анализе обычно сравнивают количество колиформных и количество клостридий.

Анализ на клостридии производят после термического прогревания пробы воды для инактивации других кишечных м/о, т.к. некоторые из них также имеют сульфитредуктазу и способны формировать колонии черного цвета на ЖСА (железо-сульфитном агаре).

3.2 Колифаги как санитарно-показательные м/о.

Исследователи выделяли 3 основные точки зрения на назначение колифагов:

- показатели вирусного загрязнения
- показатели фекального загрязнения
- **показатели загрязнения сточными водами**

Проведенные в последнее время исследования показали, что колифаги не могут быть признаны индикаторами вирусного загрязнения (например обнаружение энтеровирусов совпадало с отсутствием колифагов).

Несмотря на то, что фаги и вирусы проникают в окружающую среду одинаковым путем, а их устойчивость к факторам внешней среды вполне сопоставима друг с другом, колифаги иногда обнаруживают, а кишечные вирусы - нет. Расхождение в уровне загрязнения вирусами и фагами связано с репродукцией фагов в окружающей среде.

Фаги обнаруживаются там, где есть кишечные бактерии. Кишечные бактерии, в свою очередь, могут размножаться в условиях обрастания водопроводных сооружений и канализационных стоков.

Многие исследователи полагают, что присутствие в воде фагов указывает на ее загрязнение скорее стоками, чем фекалиями. Подобные загрязнения часто сопровождаются залповыми выбросами в окружающую среду при изменении давления в трубопроводах.

Методы выявления колифагов основаны на применении чувствительных штаммов *E. coli*

3.3 Санитарная вирусология воды.

Вода из всех объектов окружающей среды наиболее опасна в плане распространения вирусов. Выделено более 100 вирусов патогенных для человека. Концентрация может достигать 10^6 для энтеровирусов и 10^{11} для ротавирусов. (Reoviridae) на 1 л.

При наличии вспышек вирусных кишечных инфекций осуществляют анализ воды на вирусы.

Схема анализа на вирусы:

1. Отбор проб
2. Концентрирование вирусов
3. Идентификация или индикация вирусов

Для концентрирования используют методы:

- адсорбции на полиэлектролитах (АБ17, ЭДЕ10П...)
- ультрафильтрации и микрофильтрации на специальных + заряженных мембранах
- осаждения солями (используют $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)
- адсорбции на клетках

После концентрирования (десорбции) заражают культуры клеток чувствительных к данному вирусу. Результат оценивают по цитологическому действию (гибель клеток). Применяют культуры клеток фибропластов, почек обезьян или эмбриона человека. После внесения концентрата культивируют 10 суток.

Альтернативными методами анализа являются:

- ИФА (иммуноферментный анализ)
- ПЦР (полимеразная цепная реакция)