

Занятие 3

Экология микроорганизмов.

Нормальная микробиота организма человека. Микробиота полости рта и ротовой жидкости. Влияние физических, химических и биологических факторов на микроорганизмы. Стерилизация и дезинфекция. Фаги

Экология микроорганизмов

- ▶ Микроорганизмы обнаруживаются в почве, воде, воздухе, на растениях, в организме человека и животных
- ▶ Экология микроорганизмов (от греч. *oikos* - дом, место обитания) изучает взаимоотношения микроорганизмов друг с другом и с окружающей средой

Экосистема и ее компоненты

- ▶ **Экосистема** – биологическая система, состоящая из сообщества живых организмов, среды их обитания, системы связей, осуществляющей обмен веществ и энергии между ними.
- ▶ **Биотические компоненты** экосистемы формируют биоценозы - микробные популяции, которые различаются по численности и видовому составу.
- ▶ **Абиотические компоненты** - это физические и химические факторы экосистемы, в которой живут организмы

Микроорганизмы, обитающие в экосистеме

- ▶ Все микроорганизмы, обитающие в экосистеме подразделяются на две категории – аутохтонные и аллохтонные
- ▶ *Аутохтонная микрофлора* – это совокупность микроорганизмов постоянно живущих и размножающихся в определенной экосистеме (н-р, почве, кишечнике). Подобная экосистема имеет все условия для жизнедеятельности этих микроорганизмов.
- ▶ *Аллохтонные (зимогенные) микроорганизмы* – микроорганизмы не способные к длительному существованию в конкретной экосистеме, поскольку в ней нет необходимых условий для их существования.
- ▶ В качестве примера можно указать бифидобактерии - постоянные (аутохтонные) микроорганизмы кишечника и грибы рода *Candida* - аллохтонную микрофлору кишечника.

Типы взаимоотношений между микроорганизмами

- ▶ В окружающей среде, а также в организме-хозяине микроорганизмы формируют **биоценозы**, в которых они находятся в различных взаимоотношениях друг с другом. Совместное существование двух различных организмов (симбионтов) называется **симбиозом**.
- ▶ Различают несколько вариантов симбиоза:
- ▶ **мутуализм**
- ▶ **антагонизм**
- ▶ **нейтрализм**

Типы взаимоотношений между микроорганизмами

- ▶ **Мутуализм** - взаимовыгодные взаимоотношения разных симбионтов, которое выгодно для каждого из них. Примером мутуалистического симбиоза служат лишайники – симбиоз гриба и сине-зеленой водоросли (цианобактерии).
- ▶ - *Метабиоз* – взаимоотношение микроорганизмов, при котором один из них использует для своей жизнедеятельности продукты жизнедеятельности другого.
- *Комменсализм* – сожительство особей разных видов, при котором выгоду извлекает один вид, не причиняя вреда другому.
- *Сателлизм* – усиление роста одного вида микроорганизма под влиянием другого вида
- ▶ **Антагонизм** выражается в виде неблагоприятного воздействия одного вида микроорганизма на другой, приводящий к повреждению и даже его гибели.

Микроорганизмы в окружающей среде

Основы санитарной микробиологии

- ▶ **Санитарная микробиология** – раздел медицинской микробиологии, изучающей микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде (почве, воде, воздухе, пищевых продуктах и пр.) и вызываемые ими процессы
- ▶ *Основной целью санитарной микробиологии* является выявление возбудителей инфекционных заболеваний в окружающей среде, реализация мер по предотвращению загрязнения окружающей среды микроорганизмами, а также профилактика инфекционных заболеваний.

Санитарно-показательные микроорганизмы

- ▶ Прямое обнаружение патогенных микроорганизмов в окружающей среде несколько затруднено, так как содержание их во внешней среде относительно невелико, и патогенная микрофлора распределена во внешней среде неравномерно
- ▶ И поэтому для косвенного определения возможного присутствия в окружающей среде патогенных микроорганизмов используют **санитарно-показательные микроорганизмы**. Каждый из объектов окружающей среды (вода, воздух, почва, пищевые продукты и др.) имеет свойственные для него санитарно-показательные микроорганизмы, по количеству которых можно судить о санитарном состоянии данного объекта. СПМО:
- ▶ *Постоянно обитают в организме человека и животных и постоянно выделяются в окружающую среду*
- ▶ *Выживают во внешней среде дольше или аналогично патогенным микроорганизмам, и не способны размножаться во внешней среде*

Нормальная микрофлора организма человека

- ▶ Большинство представителей нормальной микрофлоры являются не причиняющими вреда комменсалами-сапрофитами.
- ▶ Представителей нормальной микрофлоры можно обнаружить на коже и слизистых оболочках верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочевыводящих путей и т.д.
- ▶ Распределение нормальной микрофлоры в слизистых оболочках подчиняется особой «географической специализации». К примеру, дистальные отделы слизистых оболочек, сообщающиеся с внешней средой более богаты микроорганизмами.
- ▶ Многие ткани и органы организма человека не сообщающиеся с внешней средой не содержат микроорганизмов. Они являются стерильными. К ним относятся кровь, лимфа, внутренние органы, мозг, спинномозговая жидкость и т. д.

Нормальная микрофлора организма человека

- ▶ Различают постоянную и транзиторную микрофлору
- ▶ *Постоянная или резидентная* (индигенная, автохтонная) представлена микробами, постоянно присутствующими в организме.
- ▶ Она представлена облигатной (бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, кишечные палочки) и факультативной (стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, клостридии) микрофлорой
- ▶ *Транзиторная микрофлора* (аллохтонная) не способна к длительному существованию в организме

Микробиота полости рта и ротовой жидкости

Анатомическая область	Микроорганизм	Морфологические особенности
Ротовая полость		
Слюна и зубы	p.Streptococcus p. Lactobacillus p.Veilonella p.Bacteroides Fusobacteria p.Actinomyces	Грам(+) кокки в виде цепочек Грам(+) палочки Грам (-) диплококки Грам(-) плеоморфные палочки Грам(-) палочки Грам(+) палочки, или нитевидные, образующие мицелий

НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА

АУТОХТОННЫЕ

АЛЛОХТОННЫЕ

**РЕЗИДЕНТНЫЕ
(ПОСТОЯННО
ОБИТАЮЩИЕ)**

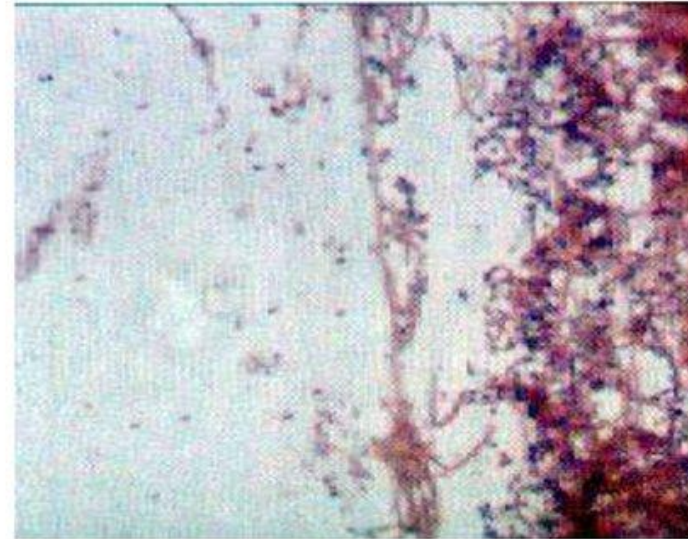
**ТРАНЗИТОРНЫЕ
(ВРЕМЕННО
ПРИСУТСТВУЮЩИЕ)**

**ПОПАДАЮТ В
ПОЛОСТЬ РТА ИЗ
ДРУГИХ БИОТОПОВ**

МИКРОФЛОРА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

В ротовой полости на бактерии действует слюна, смывающая их и содержащая большой набор антимикробных веществ. Среди бактерий доминируют α -гемолитические стрептококки, составляющие до 60% всей микрофлоры ротоглотки. Встречаются также:

- ❑ бактероиды, фузобактерии, вей-лонеллы, актиномицеты и др.;
- ❑ нейссерии, непатогенные кори-небактерии, молочнокислые бактерии, стафилококки, спирохеты;
- ❑ простейшие (*Entamoeba buccalis*, *Entamoeba dentalis*, *Trichomonas buccalis*).



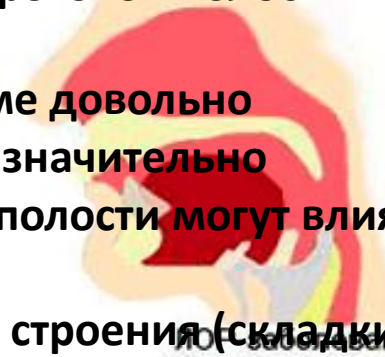
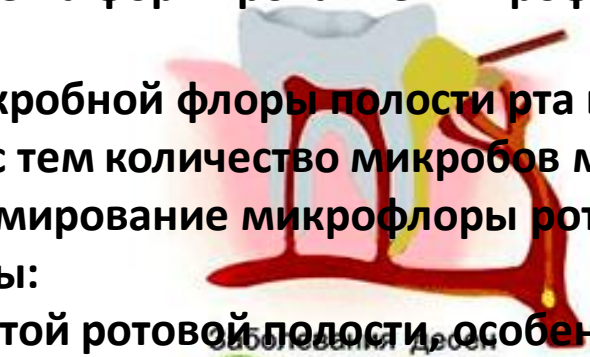
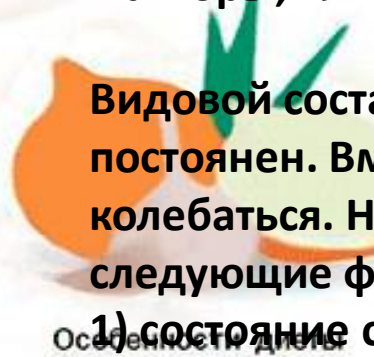
Fusobacterium nucleatum,
окр. по Граму

Постоянные обитатели способны к адгезии поверхности зубов и слизистой оболочки. Состав микрофлоры зависит от состояния организма, состава пищи, гигиены полости рта.

Факторы, влияющие на формирование микрофлоры ротовой полости.

Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов может значительно колебаться. На формирование микрофлоры ротовой полости могут влиять следующие факторы:

- 1) состояние слизистой ротовой полости, особенности строения (складки слизистой, десневые карманы, слущенный эпителий);
- 2) температура, pH, окислительно-восстановительный потенциал ротовой полости;
- 3) секреция слюны и ее состав;
- 4) состояние зубов;
- 5) состав пищи;
- 6) гигиеническое состояние полости рта;
- 7) нормальные функции слюноотделения, жевания и глотания;
- 8) естественная резистентность организма.



Факторы, влияющие на формирование микрофлоры ротовой полости.

- Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов может значительно колебаться. На формирование микрофлоры ротовой полости могут влиять следующие факторы:
 - 1) состояние слизистой ротовой полости, особенности строения (складки слизистой, десневые карманы, слущенный эпителий);
 - 2) температура, рН, окислительно-восстановительный потенциал ротовой полости;
 - 3) секреция слюны и ее состав;
 - 4) состояние зубов;
 - 5) состав пищи;
 - 6) гигиеническое состояние полости рта;
 - 7) нормальные функции слюноотделения, жевания и глотания;
 - 8) естественная резистентность организма.

Динамика формирования микробиоценоза полости рта.

Формирование микробиоценоза полости рта представляет собой многоступенчатый процесс взаимодействия различных его составляющих. Колонизация полости рта микробами зависит:

- от способности микроорганизмов прилипать к различным поверхностям, прежде всего - к эпителию и эмали;
- от взаимосвязи метаболизма различных групп микроорганизмов.

Механизм формирования микробных ассоциаций

Чтобы поселиться в полости рта, микроорганизмы должны сначала прикрепиться к поверхности слизистой оболочки или к зубам. Адгезия (прилипание) необходима для обеспечения устойчивости к току слюны и последующей колонизации (размножению).

Адгезия опосредована адгезинами поверхности бактерий и рецепторами эпителиоцитов ротовой полости, структурами зубной эмали.

В процессе адгезии со стороны грамотрицательных бактерий могут участвовать пили или фимбрии, в то время как у грамположительных бактерий в качестве адгезинов могут выступать липотейхоевые кислоты.

Механизм формирования микробных ассоциаций

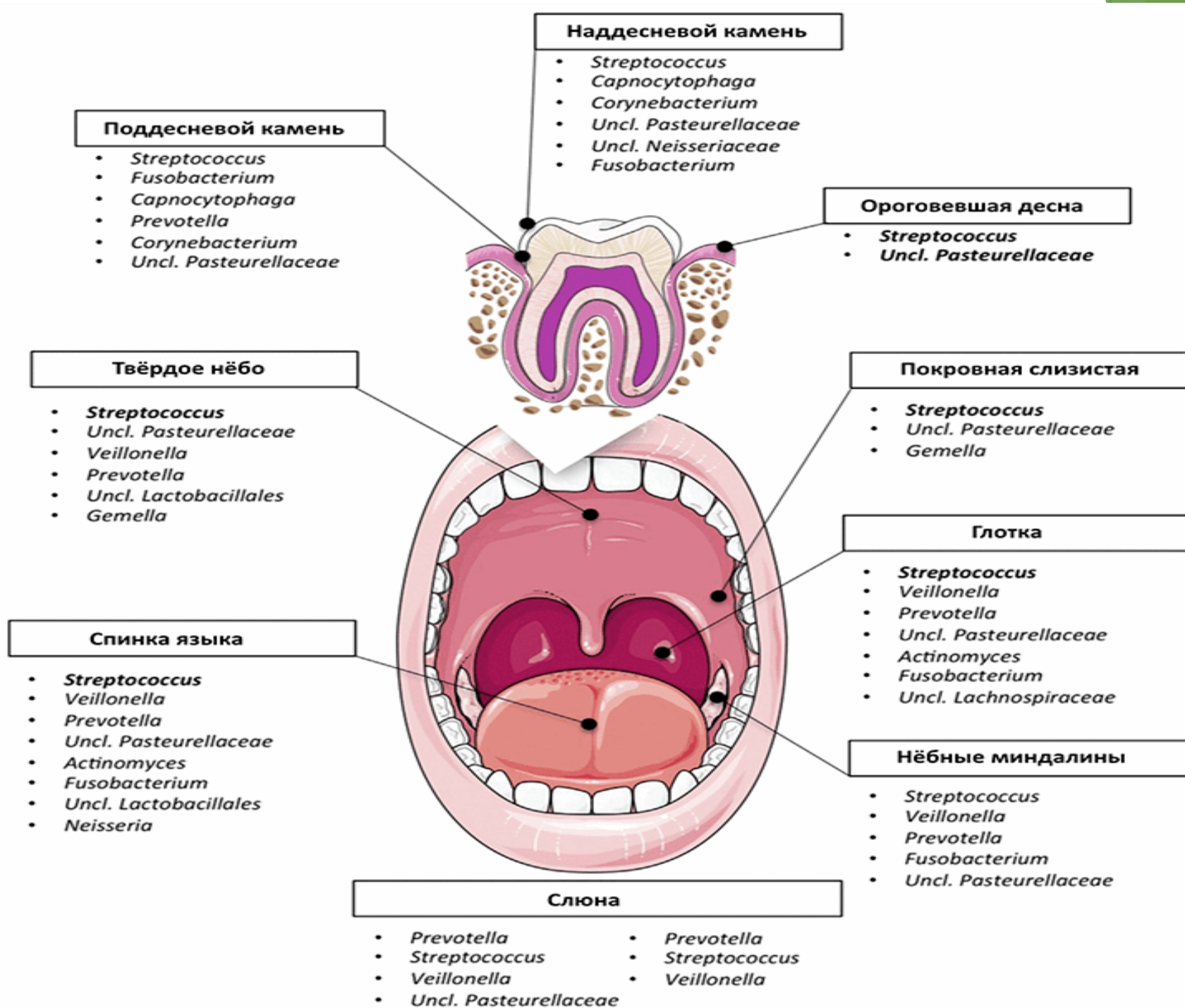
- ▶ В процесс адгезии вовлекаются специфические рецепторы эпителиоцитов ротовой полости (специфические взаимодействия имеются и при адгезии к поверхности зубов).
- ▶ Некоторые бактерии не имеют собственных адгезинов, тогда они закрепляются на поверхности слизистых, используя адгезины других микроорганизмов, т.е. происходит процесс **коагрегации** между бактериальными видами ротовой полости.
- ▶ Стрептококки разных видов коагрегируются с актиномицетами, *F.nucleatum*, *Veillonella*, *Haemophilus parainfluenzae*. *F.nucleatum* связывается с *Porphyromonas gingivalis*, *Haemophilus parainfluenzae* и *Treponema spp.*

Взаимоотношения в микробном сообществе полости рта могут быть взаимовыгодными и антагонистическими и направлены на сохранение гомеостаза оральной флоры. На микрофлору полости рта существенное влияние оказывает наличие пищевых субстратов, витаминов, ОВП, рН среды, выделение ингибиторов, влияющих на размножение.

Нормальный состав микроорганизмов в данной экологической нише поддерживается во многом благодаря антагонистическим отношениям между микробами

Роль микробиоты





Ротовая жидкость

- ▶ Ротовая жидкость представляет собой важнейший биотоп полости рта, т.к. через неё осуществляется взаимодействие между всеми биотопами полости рта и регуляция микрофлоры со стороны макроорганизма.
- ▶ В ротовую жидкость постоянно поступают микробы, размножающиеся на слизистой оболочке полости рта, в десневом желобке, карманах, складках слизистой и в зубной бляшке (налёте). В ротовой жидкости они долго сохраняют жизнеспособность, а многие виды, особенно те, которые не имеют факторов адгезии к слизистой и эмали, активно размножаются.
- ▶ В ротовой жидкости в значительном количестве содержатся стрептококки (*S. salivarius*), нейссерии, вейлонеллы. Кроме того, встречаются подвижные виды - вибрионы, спириллы и спирохеты.

Состав и свойства ротовой жидкости

- ▶ Органические компоненты - протеины, углеводы, свободные аминокислоты, ферменты, витамины и др. Основным органическим веществом является белок
- ▶ По происхождению делятся на 2 группы: 1) поступающие в слюну из сыворотки крови (аминокислоты, мочевины)
- ▶ 2) синтезируемые железами (амилаза, гликопротеиды, муцин, иммуноглобулины)

Состав и свойства ротовой жидкости. Ферменты

- ▶ Ферменты- карбогидразы, эстеразы, протеазы, трансферазы
- ▶ По происхождению делятся на 3 группы:
- ▶ 1. Секретируемые слюнными железами
- ▶ 2. Образующиеся в результате ферментативной деятельности бактерий
- ▶ 3. Образующиеся в рез-те распада лейкоцитов в ротовой полости

Состав и свойства ротовой жидкости

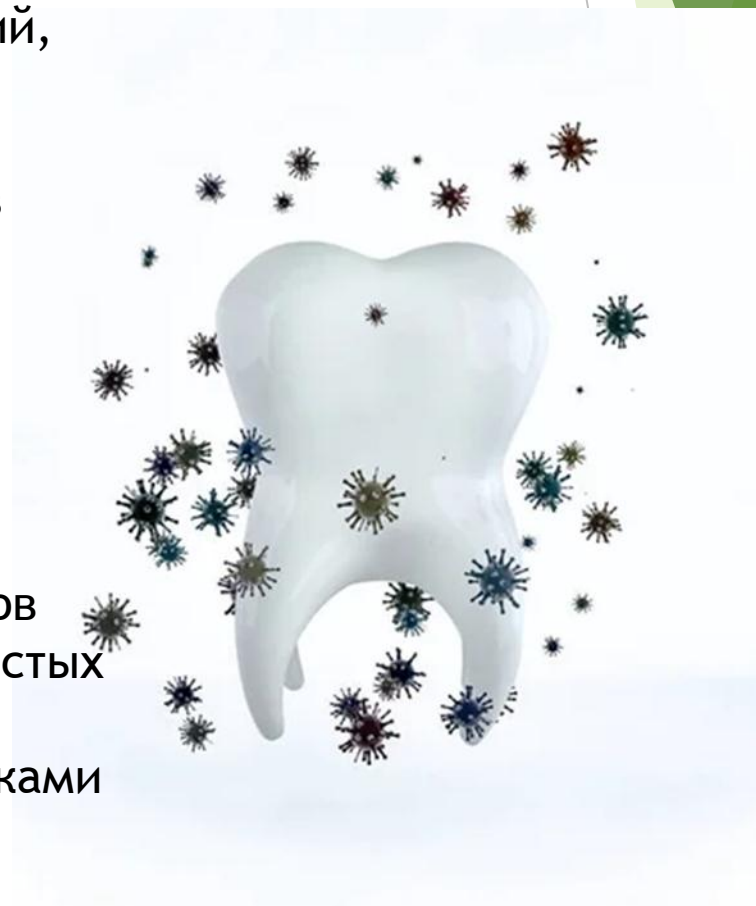
- ▶ Амилаза - гидролизует углеводы, превращая их в декстраны и мальтозу.
- ▶ Фосфатаза (кислая и щелочная). Щелочная участвует в фосфорно-кальциевом обмене, отсоединяя фосфат от соединений фосфорной кислоты и перенося его к костям и зубам.
- ▶ Гиалуронидаза и калликреин - ферменты, изменяющие проницаемость тканей
- ▶ Протеазы (эластаза) - участвуют в развитии воспалительного процесса

▶ Роль микрофлоры ротовой полости в неспецифической резистентности организма

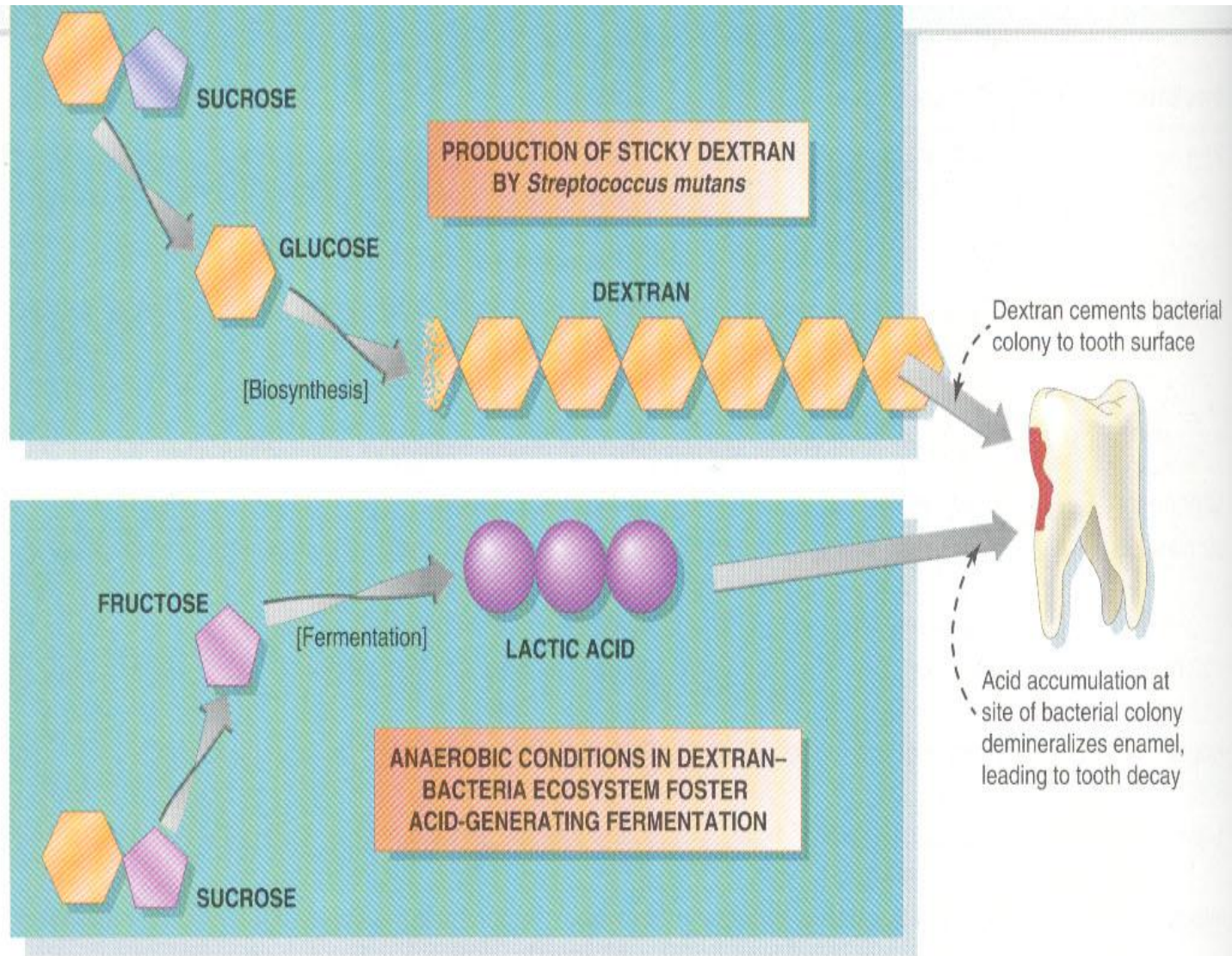
- ▶ Полость рта, ее слизистая оболочка и лимфоидные ткани челюстно-лицевой области играют важнейшую роль во взаимодействии организма человека с окружающей средой. Микроорганизмы, обитающие в полости рта, способствуют перевариванию пищи и синтезу витаминов с одной стороны, а с другой стороны образуют продукты, повреждающие ткани зубов.
- ▶ В полости рта содержится более 700 видов микроорганизмов
- ▶ 1 мл слюны содержит до 10^9 микроорганизмов
- ▶ Микробы полости рта – антагонисты патогенной флоры, и в то же время могут вызывать развитие серьёзных заболеваний
- ▶ Спектр микрофлоры может варьировать в связи с гигиеническими привычками, состоянием зубов, возрастом

Роль нормальной микрофлоры полости рта:

1. оказывает антагонистическое действие в отношении различных патогенных видов бактерий, попадающих в полость рта.
2. стимулирует развитие лимфоидной ткани
3. поддерживает физиологическое воспаление в слизистой оболочке и повышают готовность к иммунным реакциям
4. обеспечивает самоочищение ротовой полости
5. способствует снабжению организма аминокислотами и витаминами, которые секретируются м/о в процессе метаболизма
6. продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут стимулировать секрецию слюнных и слизистых желез
7. являются возбудителями и главными виновниками основных стоматологических заболеваний.



Этиологическая роль микроорганизмов в развитии кариеса



Значение нормальной микрофлоры

- ▶ Большинство представителей нормальной микрофлоры, особенно облигатные, обладают *антагонистической активностью* в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.
- ▶ Эта активность связана со способностью продуцировать органические кислоты (молочную, уксусную и др.) антибиотики, бактериоцины и пр. соединения, препятствующие *колонизации патогенных микроорганизмов*
- ▶ Таким образом, микрофлора участвует в *колонизационной резистентности*, которая является совокупностью защитных свойств организма и конкурентных свойств нормальной микрофлоры кишечника, придающих стабильность микрофлоре и предотвращающих колонизацию организма посторонними микробами.

Значение нормальной микрофлоры

- ▶ Нормальная микрофлора - важный фактор *врожденного иммунитета*. Антигены микрофлоры неспецифически стимулируют иммунную систему
- ▶ Нормальная микрофлора индуцирует синтез антител, которые можно обнаружить в сыворотке здоровых людей.
- ▶ Нормофлора кишечника участвует в водно-солевом обмене, обмене белков, углеводов, жирных кислот, в продукции биологически активных соединений (антибиотиков, витаминов (К и группы В))

Значение нормальной микрофлоры

- ▶ Значение микрофлоры было установлено после того, как были получены *безмикробные животные-гнотобионты*.
- ▶ Животные-гнотобионты содержат в специальных безмикробных условиях (подаются стерильный воздух, пища, вода).
- ▶ Недоразвитие основных иммунокомпетентных органов у гнотобионтов (например, тимуса, лимфоидной ткани кишечника) делает эти животные восприимчивыми к инфекциям и неспособными выживать в обычных условиях

Влияние факторов окружающей среды на микроорганизмы

- ▶ Факторы окружающей среды оказывают влияние на жизнедеятельность, рост, размножение и гибель микроорганизмов.
- ▶ Факторы, влияющие на микроорганизмы подразделяются на *физические, химические и биологические*
- ▶ Действие этих факторов может быть различным в зависимости от их природы и особенностей микроорганизмов. Н-р, влияние может быть губительным или благоприятным для роста микробов.

Влияние физических факторов на микроорганизмы

- ▶ **Температура.** По отношению к температуре все микроорганизмы делятся на три группы:
- ▶ ***Психрофильные*** (от греч. *psychros*- холод, *phileo*- люблю) ***микроорганизмы***
 - минимальная t – 0°C , оптимальная – $6-20^{\circ}\text{C}$, максимальная – 30°C
- ▶ ***Мезофильные*** (от греч. *mesos*- средний) ***микроорганизмы***
 - минимальная t – 10°C , оптимальная – $34-37^{\circ}\text{C}$, максимальная – 45°C
- ▶ ***Термофильные*** (от греч. *termos* - тепло, жар) или теплолюбивые микроорганизмы развиваются при температуре выше 55°C
 - минимальная t – 30°C , оптимальная – $50-60^{\circ}\text{C}$, максимальная – $70-75^{\circ}\text{C}$

Влияние физических факторов на микроорганизмы

- ▶ **Высушивание** приводит к обезвоживанию цитоплазмы, нарушению целостности цитоплазматической мембраны, вследствие чего нарушается питание микробных клеток и наступает их гибель.
- ▶ К примеру патогенные нейссерии (менингококки, гонококки), лептоспиры, бледная трепонема и др. погибают при высушивании через несколько минут. Холерный вибрион выдерживает высушивание 2 сут, сальмонеллы тифа - 2 мес, а микобактерии туберкулеза - до 3 мес.
- ▶ Для хранения культур микроорганизмов, вакцин и других биологических препаратов широко применяют метод **лиофильной сушки**. Сущность метода состоит в том, что предварительно микроорганизмы или препараты подвергают замораживанию, а затем их высушивают в условиях вакуума. При этом микробные клетки переходят в состояние анабиоза и сохраняют свои биологические свойства в течение нескольких месяцев или лет.

Влияние физических факторов на микроорганизмы

- ▶ **Лучевая энергия.** В природе микроорганизмы постоянно подвергаются воздействию *солнечной радиации*. Прямые солнечные лучи вызывают гибель многих микроорганизмов в течение нескольких часов.
- ▶ Губительное действие солнечного света обусловлено активностью *ультрафиолетовых лучей (УФ-лучи)* с длиной волны 254-300 нм. Они инактивируют ферменты клетки и повреждают ДНК. Патогенные бактерии более чувствительны к действию УФ-лучей, чем сапрофиты.
- ▶ Другие виды лучистой энергии - *рентгеновские лучи, α-, β-, γ-лучи* оказывают губительное действие на микроорганизмы только в больших дозах, порядка 440-280 Дж/кг. Гибель микробов обусловлена разрушением ядерных структур и клеточной ДНК. Малые дозы излучений стимулируют рост микробных клеток.
- ▶ Бактерицидное действие *ионизирующего излучения* используется для консервирования некоторых пищевых продуктов, *стерилизации* биологических препаратов (сывороток, вакцин и др.)

Влияние физических факторов на микроорганизмы

- ▶ **Ультразвук** это звуковые волны частотой выше 20 000 Герц . Одним из основных эффектов влияния ультразвука на микроорганизмы является *эффект кавитации* (от лат. *cavatum* - полость).
- ▶ **Ультразвук** вызывает значительное поражение микробной клетки. Под действием ультразвука газы, находящиеся в жидкой среде цитоплазмы, активируются, внутри клетки возникает высокое давление (до 10000 атм.) и образуются кавитационные полости. Это приводит к разрыву клеточной оболочки и гибели клетки.
- ▶ Ультразвук используют для стерилизации пищевых продуктов (молока, фруктовых соков), питьевой воды.
- ▶ **Высокое давление** . Высокое атмосферное давление не губительно для большинства микроорганизмов. В природе встречаются даже бактерии, живущие в морях и океанах на глубине 1000-10000 м под давлением от 100 до 900 атм. Некоторые виды бактерий выдерживают давление до 3000-5000 атм, а бактериальные споры - даже 20000 атм.
- ▶ Примечательно, что воздействие *насыщенного водяного пара при давлении выше атмосферного* приводит к гибели как вегетативных, так и споровых форм микроорганизмов. Этот способ **стерилизации паром под давлением** производят в автоклаве

Дезинфектанты и антисептики

- ▶ **Поверхностно-активные вещества** - жирные кислоты, мыла и прочие детергенты (декамин, хлоргексидин и пр.)
- ▶ **Фенол, крезол и их производные** (трикрезол, фенол-резорцин, фенолсалицилат)
- ▶ **Окислители** (перекись водорода, перманганат калия, и др)
- ▶ **Галогены** - препараты йода (спиртовой раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, йодиол), препараты хлора (хлорная известь, хлорамин, пантоцид)
- ▶ **Спирты** (этиловый и пр.)
- ▶ **Кислоты, и их соли** (борная, салициловая, бензойная, уксусная кислоты) и **щелочи** (соли аммония, квасцы);
- ▶ **Альдегиды** (формальдегид - применяют в виде 40% раствора (формалин), гексаметиленetetрамин-уротропин, глутаральдегид и пр.)
- ▶ **Соли тяжелых металлов** (ртуть, свинец, цинк, золото и др.)
- ▶ **Красители** (бриллиантовый зеленый, риванол, этакридина лактат , метиленовый синий и др.)

Влияние химических факторов на микроорганизмы

- ▶ **Дезинфекция** (обеззараживание) это уничтожение патогенных микроорганизмов в различных объектах окружающей среды. Химические вещества, используемые для уничтожения микроорганизмов называются *дезинфицирующими*.
- ▶ Вещества, характеризующиеся выраженным антимикробным эффектом, но не обладающие токсичностью для макроорганизма, называются *антисептическими средствами* и применяются для гибели или подавления роста микробов, контактирующих с поверхностью кожи, слизистых оболочек и ран.
- ▶ **Антисептика** - комплекс мер, направленных на уничтожение микроорганизмов в ране, целом организме или на объектах внешней среды, с применением различных обеззараживающих химических веществ.
- ▶ Антисептика включает комплекс мероприятий, направленных на уничтожение микробов в патологическом очаге, ране или другом объекте.
- ▶ **Асептика** – комплекс профилактических мероприятий, препятствующих микробному загрязнению различных объектов (раны, операционного поля, кожи и слизистых и т. д.).

СТЕРИЛИЗАЦИЯ

- ▶ Стерилизация - это полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор
- ▶ Стерилизацию производят различными способами:
- ▶ *физическими* (воздействие высокой температуры, УФ-лучей);
- ▶ *химическими* (использование различных дезинфектантов, антисептиков и антибиотиков);
- ▶ *механическими* (использование бактериальных фильтров)

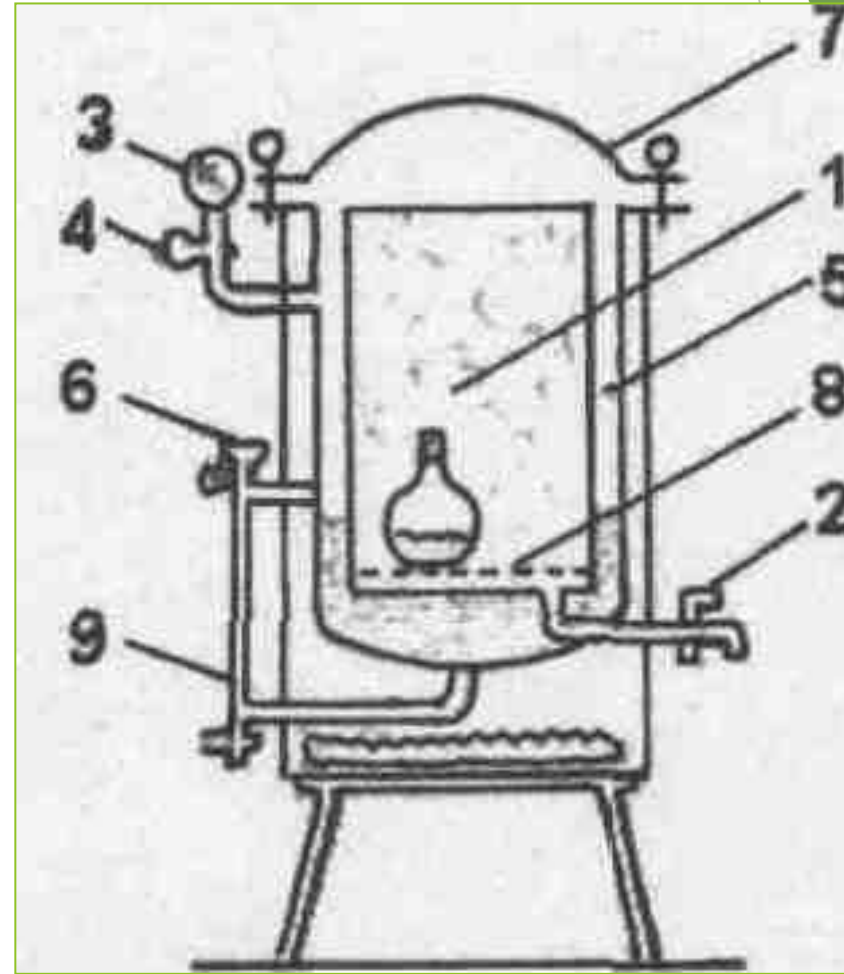
Стерилизация физическими методами (тепловая стерилизация)

- ▶ *Стерилизация кипячением и прокаливание* можно считать самыми простыми и доступными методами тепловой стерилизации
- ▶ Для тепловой стерилизации применяют в основном *сухой жар и пар под давлением*.
- ▶ *Стерилизацию сухим жаром* или горячим воздухом осуществляют в печах Пастера (сушильных сухожаровых шкафах) при 165-170⁰С в течение 1 часа. Метод позволяет уничтожать не только вегетативные клетки, но и споры микроорганизмов.
- ▶ Стерилизацию паром под давлением производят в *паровых стерилизаторах* (автоклавах), способ основан на воздействии на стерилизуемые материалы насыщенного водяного пара при давлении выше атмосферного. При рабочем режиме в 2 атм. при 121⁰С в течение 30 мин. погибают как вегетативные, так и споровые формы микроорганизмов. *Пастеризацию* условно можно считать стерилизацией. В результате часовой экспозиции при 65⁰-70⁰С уничтожаются вегетативные формы микроорганизмов в пищевых продуктах (молоко, соки, вино, пиво и др.)

ВОЗДУШНЫЙ СТЕРИЛИЗАТОР



Принцип работы автоклава



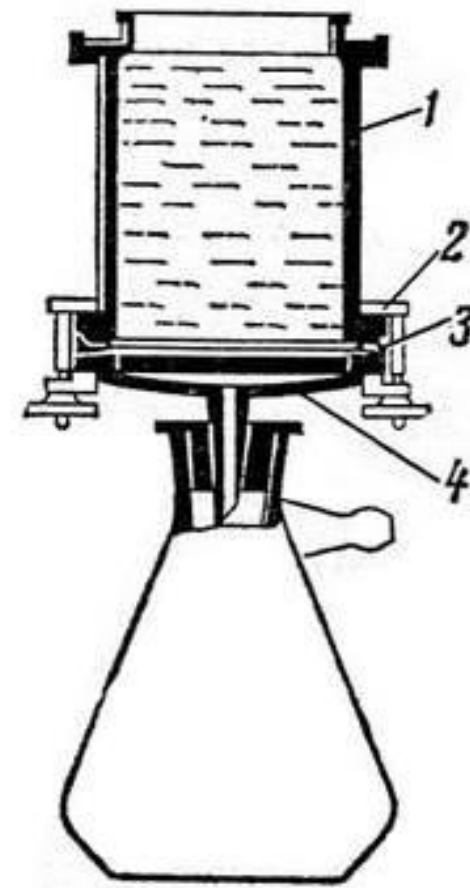
Физическая стерилизация

(лучевая стерилизация)

- ▶ Используется для стерилизации термолабильных материалов.
- ▶ Применение *УФ-излучения* для стерилизации ограничено его низкой проникаемостью и высокой поглотительной активностью воды и стекла
- ▶ *Рентгеновское и гамма излучение.* Работа с ними требует строго соблюдения правил безопасности. Применяют для стерилизации бактериологических препаратов (сывороток, вакцин и пр.) одноразовых шприцев, чашек Петри, шовных материалов и пр.
- ▶ *Микроволновое излучение.* Основано на эффекте быстрого повышения температуры, применяют для повторной стерилизации длительно хранящихся сред.

Механическая стерилизация

- ▶ Стерилизацию через бактериальные фильтры применяют в тех случаях, когда стерилизуемые предметы изменяются при нагревании.
- ▶ В микробиологической практике используют асбестовые фильтры Зейтца, мембранные фильтры из нитроцеллюлозы, изготовленные из каолина с примесью песка и кварца фильтры (свечи) Шамберлана и фильтры из инфузорной земли Беркефельда.
- ▶ Методом фильтрования стерилизуют питательные среды, содержащие белок, сыворотки, некоторые антибиотики, а также отделяют бактерии от вирусов, фагов и экзотоксинов



Химическая стерилизация

- ▶ *Химическая стерилизация* проводится с применением губительных для микроорганизмов антимикробных препаратов-дезинфектантов и антисептиков, а также антибиотиков с избирательным действием и синтетических противомикробных препаратов
- ▶ С этой целью также используют токсичные газы, н-р, оксид этилена.

Контроль за качеством стерилизации

- ▶ Химический контроль – используются вещества с известной температурой плавления (сера - 119°C , бензойная кислота – $120-122^{\circ}\text{C}$, бензолафтол - 110°C , манноза и карбамид- $132-133^{\circ}\text{C}$) и индикаторные бумажки температурного режима. Оценка контроля осуществляется на основании изменений происходящих с указанными веществами, которые помещают в автоклав вместе со стерилизуемым материалом.
- ▶ Биологический контроль – проводится с применением биотестов (бумажные полоски с нанесенными на поверхность споровыми бактериями устойчивыми к температуре). Оценка контроля осуществляется на основании гибели споровых бактерий на поверхности бумажек, которые помещают в автоклав вместе со стерилизуемым материалом.

Асептика и антисептика



Асептика

- ▶ Стерилизацию белья и перевязочных материалов проводят в автоклавах, для контроля стерилизации в пробирку набирают бензойную кислоту и пирамидон или резорцин, и если в конце стерилизации эти вещества расплавляются и превращаются в массу, это означает что стерилизация проведена должным образом.
- ▶ Стерилизацию хирургических инструментов проводят в специальных стерилизаторах, но прежде их промывают механическим способом, затем помещают в емкость с кипящей водой, добавляют 1-2% раствор соды, кипятят 20-30 мин
- ▶ С целью профилактики воздушно-капельных инфекций, лица входящие в операционную должны надевать маски и бахиллы. Разговоры строго запрещены. Целесообразно применение бактерицидных ламп

Антисептика

- ▶ **Антисептика** - это система мер, способствующая уменьшению и уничтожению микробов в ране. Различают механическую, физическую, химическую, биологическую антисептику.
- ▶ **Механическая антисептика** — первичная хирургическая обработка инфицированной раны, т. е. удаление омертвевших и нежизнеспособных тканей с краев и со дна раны.
- ▶ **Физическая антисептика** - проводится с помощью гигроскопичных ватных тампонов, высушивающих тампонов, присыпок, дренажа и пр. с целью предотвращения размножения микробов и накопления токсических веществ в ране

Антисептика

- ▶ **Химическая антисептика** - использование химических веществ, создающих неблагоприятные условия для микробов, останавливающие рост, развитие или вызывающие их гибель. Наиболее часто используемые:
- ▶ Нитрат серебра 1:500-1:3000 для промывания, 1% раствор бриллиантового зеленого - для обработки ран, 1% йод, йодинол - для промывания ран, операционного поля, для мытья рук, 2-5% раствор карболовой кислоты - для мытья перчаток и инструментов, формалин (40 %), фурацилин (1:5000), хлорамин (0,5-2%) и др.
- ▶ **Биологическая антисептика** - использование инъекций (в/в, в/м, в различные полости), ингаляций, а также путем введения антибиотиков на поверхность или внутрь раны

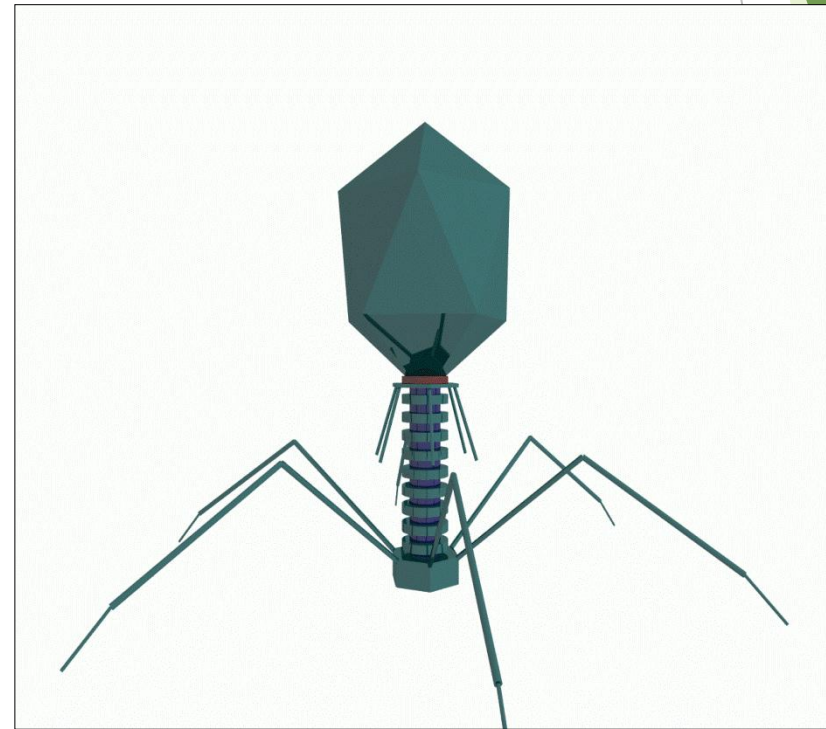
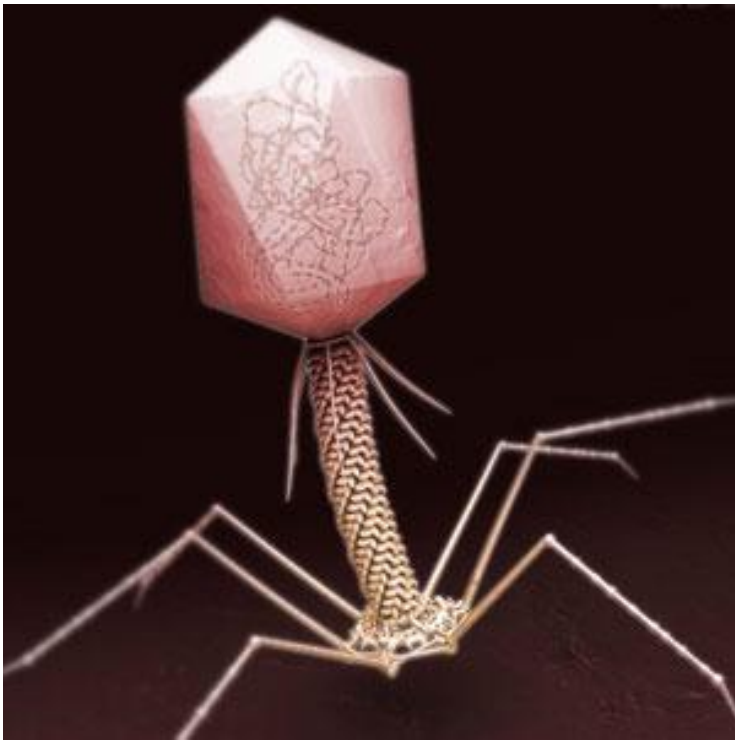
Бактериофаги

- ▶ Фаги широко распространены в природе, способны паразитировать в клетках бактерий и других микроорганизмов, способствуя их гибели (лизису).
- ▶ В 1917 г фр. ученый Ф.Д'Эрелль наблюдал, что при добавлении фильтрата испражнений больного дизентерией к бульонной культуре дизентерийных бактерий происходит их полный лизис.
- ▶ Ф.Д'Эрелль сделал заключение, что наблюдаемый им литический агент, проходящий через бактериальные фильтры, является вирусом бактерий, и назвал их «*бактериофагом*» (пожиратель бактерий).

Строение бактериофагов

- ▶ Размеры фагов колеблются от 20 до 800 нм. Их подразделяют на несколько морфологических типов: нитевидные, кубические, сперматозоидной формы и т.д.
- ▶ Наиболее изучены колифаги Т (от англ. *type* - типовые). Существуют 7 представителей фагов Т группы, среди которых есть одиночные (Т1, Т3, Т5, Т7) и парные фаги (Т2, Т4, Т6).
- ▶ Т2 фаги имеют наиболее сложное строение

Схема строения бактериофагов



Характер взаимодействия с бактериальной клеткой

- ▶ В зависимости от типа взаимодействия с бактериальной клеткой различают **вирулентные** и **умеренные** бактериофаги
- ▶ В результате взаимодействия **вирулентных** фагов с бактериальной клеткой происходит *лизис* бактерий
- ▶ Данный процесс характеризуется просветлением бульонной культуры, т.е. образованием фаголизата. В культурах, растущих на плотной питательной среде участки лизиса бактерий проявляются в виде *негативных колоний фага*.

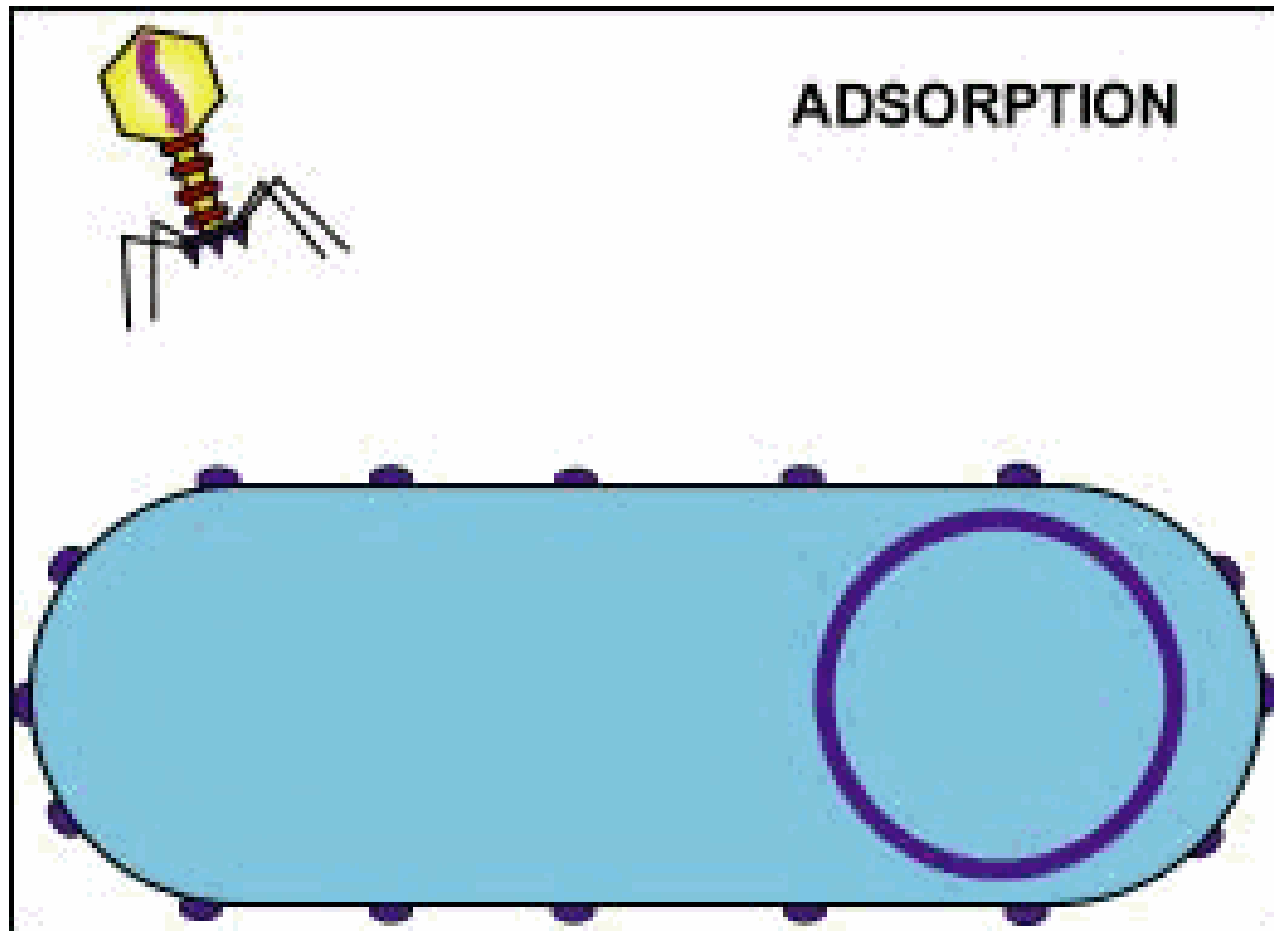
Взаимодействие вирулентных фагов с бактериальной клеткой

1. Адсорбция фагов на бактериальной клетке
2. Проникновение нуклеиновой кислоты фага внутрь бактериальной клетки
3. Репликация нуклеиновой кислоты и синтез белков фага
4. Формирование фаговой частицы
5. Выход фага из бактериальной клетки

Взаимодействие умеренных фагов с бактериальной клеткой

- ▶ После проникновения умеренного фага в бактериальную клетку ДНК фага встраивается в хромосому бактерии и существует вместе с ней, то есть развивается *интегративная* инфекция. Гибель клетки при этом не происходит.
- ▶ ДНК бактериофага, встроенная в хромосому бактерии, называется *профагом*.
- ▶ Подобное сосуществование бактерии и умеренного бактериофага называется *лизогенией*, а культура бактерии, зараженная таким фагом - *лизогенной*
- ▶ Профаги некоторой части лизогенных бактерий могут исключаться из хромосом и переходить в вегетативное состояние. Этот процесс заканчивается продукцией фагов и лизисом бактерий
- ▶ Превращение умеренного фага в вирулентный возможно под действием различных факторов, н-р, ионизирующего излучения, УФ-лучей и т.д.

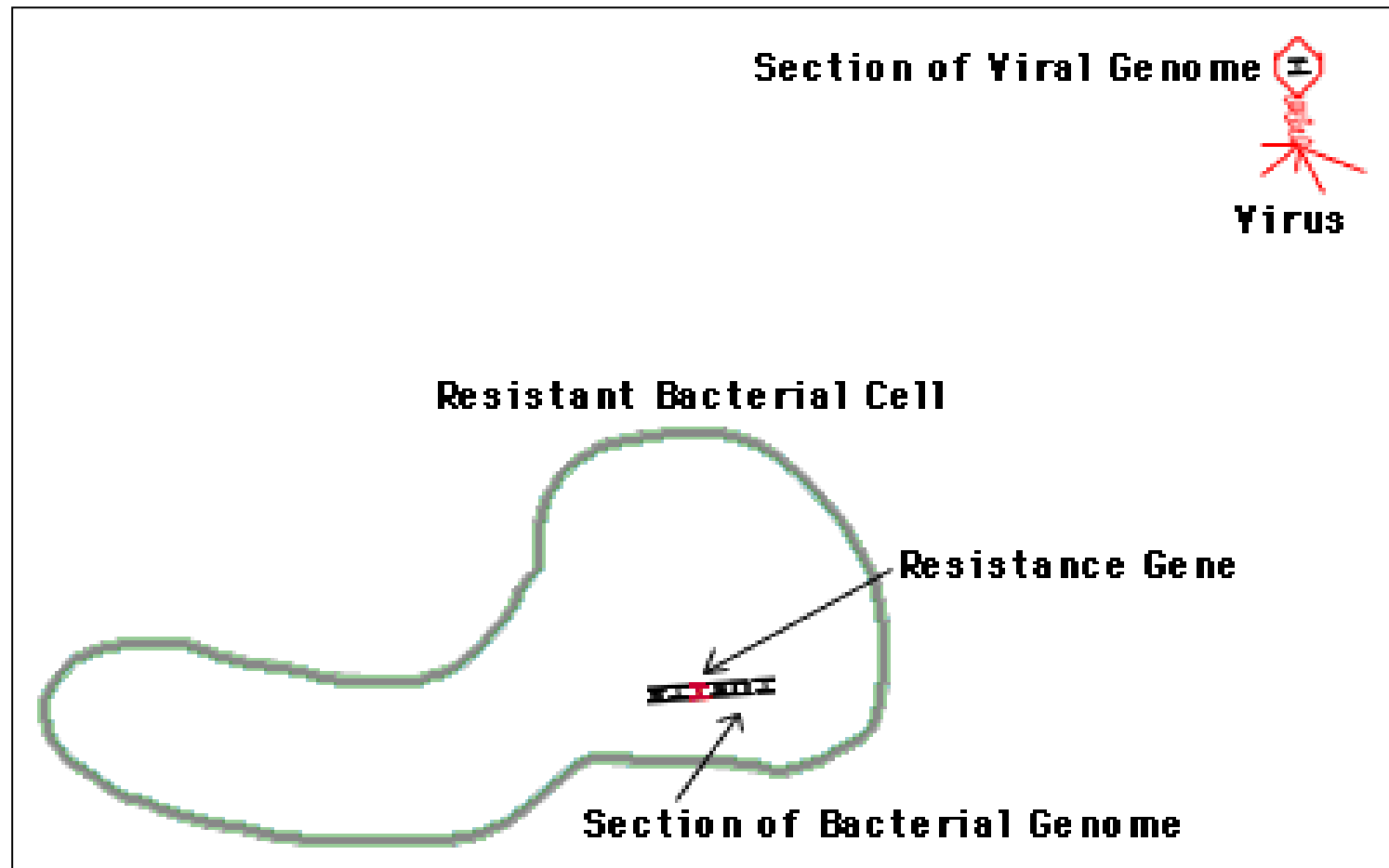
Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой



Дефектные фаги

- ▶ *Дефектные фаги* образуются в результате фрагментации бактериальной ДНК после фаговой инфекции и встраивания кусочка бактериальной ДНК в ДНК фага.
- ▶ Дефектные фаги, несущие в геноме частичку бактериальной ДНК при встраивании в геном могут придавать бактерии новые (морфологические, культуральные, биохимические, токсигенные и др.) свойства. Этот феномен изменения свойств под влиянием профага называется *фаговой* или *лизогенной конверсией*.
- ▶ Н-р, токсигенность возбудителя дифтерии обусловлена наличием гена *tox*, источником которого является лизогенный бактериофаг в интегрированном в хромому состоянии.
- ▶ Дефектные бактериофаги используют в качестве вектора в генной инженерии

Дефектные фаги



Получение бактериофагов

- ▶ Исследуемый материал (воду, испражнения, раневое отделяемое) суспендируют и фильтруют. Фильтрат и гомологичную тест-культуру инокулируют в питательный бульон и инкубируют при 37⁰С 18-24 ч.
- ▶ Затем инокулят центрифугируют и фильтруют с целью очищения от бактерий
- ▶ Фильтрат и тест культуру засевают на агар в чашки, и инкубируют. По мере роста бактериальной культуры на агаре наблюдается появление пятен (негативных колоний).
- ▶ Материал взятый из негативных колоний переносят в пробирку с бульоном, к нему добавляют тест-культуру и инкубируют. Фаги размножающиеся внутри бактерий вызывают их лизис , в пробирке получают фаголизат, состоящий из многочисленных фагов и полностью освобожденный от бактерий.

Определение чувствительности бактерий к фагам методом «стекающей капли»

Определение чувствительности к фагам основывается на строгой специфичности их действия

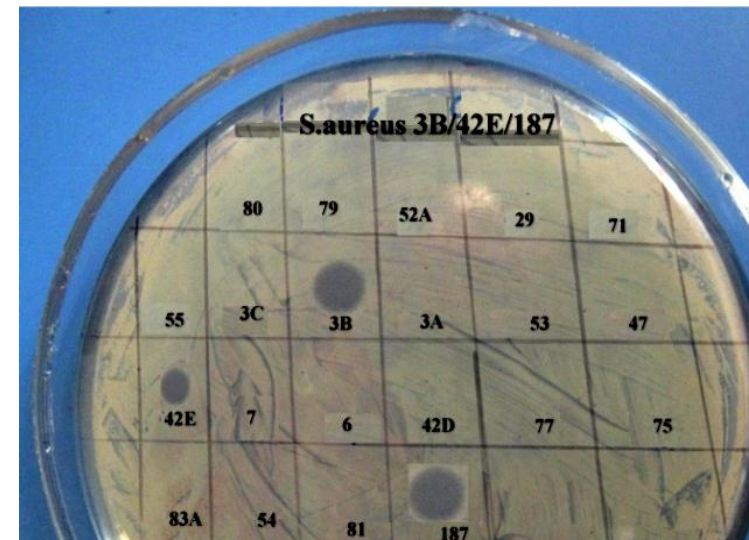
- ▶ Применение диагностических (известных) фагов позволяет идентифицировать неизвестную культуру микробов
- ▶ Исследуемую бактериальную культуру засевают газоном на поверхности плотной питательной среды в чашке Петри. Затем на поверхность агара наносят суспензию известного фага, и наклонив чашку способствуют растеканию жидкости. Чашки инкубируют в термостате.
- ▶ Чувствительность исследуемой культуры к фагу судят по наличию или отсутствию зоны лизиса в области контакта с фагом



Определение фаготипа (фаготипаж)

Фаготип бактерий определяют с целью выявления источника инфекции

- ▶ Испытуемую суточную бульонную культуру засевают на плотную питательную среду в чашку Петри, задняя поверхность которой разграничена на квадраты.
- ▶ На каждый квадрат наносят по одной капле различных типоспецифических фагов пастеровской пипеткой
- ▶ После суточной инкубации просматривают чашку, отмечая те квадраты, в которых наблюдается лизис бактерий. Фаготип бактериальной культуры определяется тем типом фага, который вызвал лизис.



Практическое применение фагов

- ▶ Специфичность фагов составляет основу **фагодиагностики**
 - Применение диагностических фагов позволяет проводить идентификацию неизвестной микробной культуры
 - Фаготипирование (**фаготипаж**) применяется для выявления источника заболевания
- ▶ **Фагопрофилактика** и **фаготерапия** основывается способности фагов уничтожать чувствительные к ним бактерии в организме больного. С этой целью фаги выпускают в виде лекарственных препаратов

Фагодиагностика

