**Мікрофлора повітря**

 Дефіцит вологи та поживних речовин, сонячна радіація перешкоджають розмноженню мікроорганізмів в атмосферному повітрі. Мікроби потрапляють до повітря з поверхні ґрунту та рослин, з відходами виробництва, із тваринних організмів. Мікрофлора атмосферного повітря є вторинною та досить бідною за видовим складом. Вона залежить від інтенсивності сонячної радіації, вітру, опадів, пори року.

 При чханні, кашлі, розмові із верхніх дихальних шляхів людини в повітря викидається безліч краплинок слизу з епітеліальними клітинами та мікроорганізмами. Зважені в повітрі краплинки утворюють стійкий мікробний аерозоль, дрібнодисперсні фракції якого здатні проникати навіть в середні та нижні відділи респіраторного тракту людини.

 Повітряно-крапельним шляхом відбувається передача збудників т. з. респіраторних інфекцій – грипу та корі, туберкульозу, коклюшу, дифтерії, краснухи, паротиту. Мікробний аерозоль може стати причиною розвитку алергічних захворювань, особливо за наявності в повітрі цвільових грибів та актиноміцетів.

 Розповсюдження мікробів за участі повітря може реалізовуватись й іншим шляхом, якщо викинуті з респіраторного тракту краплинки висихають на поверхнях і перетворюються на бактеріальний пил. Доведено, що в білковому субстраті деякі бактерії виживають довше і такий бактеріальний пил може інтенсивно переміщуватись з повітряними потоками.

 Мікробіологічні дослідження повітря мають за мету контроль стану повітряного середовища замкнених приміщень: операційних, асептичних палат і блоків, боксів аптек, дитячих закладів і бактеріологічних лабораторій.

 Для дослідження мікрофлори повітря використовують наступні методи:

1. Звичайна седиментація – т. з. чашковий метод Коха з пасивним осадженням мікробів на поверхню щільного поживного середовища за певний час, зазвичай 5-10хв.

2. Примусова седиментація мікроорганізмів повітря з використанням спеціальних приладів – імпакторів типу приладу Кротова (мікроби осаджують на поверхню щільних поживних середовищ) та імпінджерів типу приладу Дьяконова (при продуванні повітря мікроби поступають в рідкі поживні середовища). Ці методи найбільш надійні, бо дозволяють давати кількісну характеристику забрудненості повітря мікроорганізмами та вивчати їх видовий склад.

3. Фільтраційний метод – повітря продувають крізь воду або мембранні фільтри з наступним мірним висівом на поживні середовища.

 Критеріями оцінки мікробіологічного стану повітря замкнених приміщень є:

а) Загальне мікробне число (ЗМЧ) – кількість бактерій в перерахунку на 1м3 повітря, що виросли при посіві на поверхню поживного агару. Посіви інкубують добу при 370С, потім ще добу при температурі ~200С.

б) Індекс санітарно-показових бактерій - кількість в перерахунку на 1м3 повітря умовно-патогенних мікробів дихальних шляхів – гемолітичних стрептококів, золотистого стафілокока, грамнегативних бактерій, дріжджеподібних та цвільових грибів.

 Велике значення для профілактики гнійних ускладнень має мікробна чистота повітря в таких місцях, як, наприклад, операційні приміщення, для яких ЗМЧ в 1м3 повітря не повинно перебільшувати до операції 500, а після – 1000.

 **Мікрофлора ротової порожнини**

 Ротова порожнина людини являє собою унікальну екосистему з багатством харчових ресурсів, постійною вологістю, оптимальними значеннями рН і температури, що створюють сприятливі умови для адгезії, колонізації та розмноження мікроорганізмів.

 Однак наявність в ротовій порожнині слини та її бактерицидних компонентів (імуноглобулінів, лізоциму, ферментів), а також потужного епітеліального покриву, обмежує можливість оральних мікроорганізмів викликати патологічні зміни.

 В наш час описано кількасот видів мікроорганізмів, що складають нормальну мікрофлору ротової порожнини. До її складу входять бактерії, віруси, гриби та найпростіші.

 Серед мікробів ротової порожнини зустрічаються автохтонні (постійні) та аллохтонні види – іммігранти з інших біотопів хазяїна (носоглотки, кишечнику та ін.) та заносна мікрофлора із зовнішнього середовища. Автохтонна мікрофлора поділяється на облігатну, яка постійно мешкає в ротовій порожнині, та тимчасову – транзиторну, до складу якої частіше входять патогенні або умовно-патогенні бактерії.

 Основна маса грампозитивних коків ротової порожнини представлена гетерогенною групою стрептококів, які приймають активну участь у процесах, що призводять до вражень твердих тканин зуба і пародонта(Streptococcus mutans, S.sanguis, S.mitis, S.salivarium). Вони відрізняються за здатністю ферментувати вуглеводи, утворювати перекис водню, синтезувати полісахариди. Ці види зустрічаються у ротовій порожнині в різних кількісних співвідношеннях, які залежать від дієти, гігієни ротової порожнини та інших факторів.

 Друга група грампозитивних коків – пептококи, які активно розщеплюють пептони та амінокислоти. Найчастіше вони зустрічаються в асоціаціях з фузобактеріями та спірохетами при різних захворюваннях ротової порожнини.

 Грамнегативні анаеробні коки представлені родом Veillonella, які приймають активну участь в розщепленні лактату, пірувату, ацетату. За рахунок катаболізму лактату утвореного стрептококами вейлонелли можуть здійснювати протикаріозну дію.

**Таблиця 1. Бактерії, що входять до складу зубного нальоту**

|  |  |
| --- | --- |
| Морфологічні форми | Відношення до фарбування за Грамом |
| Грампозитивні мікроорганізми | Грамнегативнімікроорганізми |
|  | **Аероби,****Факультативні****анаероби** | **Анаероби** | **Аероби,****Факультативні****анаероби** | **Анаероби** |
| Коки | Стрептококи | ПептококиСтрептококи | Нейсерії | Вейлонелли |
| Палички | АктиноміцетиЛактобактеріїКоринебактерії | БіфідобактеріїПропіонібактерії |  \_\_\_\_\_\_\_ | БактероїдиФузобактеріїЛептотріхіїПорфіромонаси |
| Спірохети |  \_\_\_\_\_\_\_\_ |  \_\_\_\_\_\_\_\_ | Лептоспіри | ТрепонемиБорелії |

 Грампозитивні палички представлені родом Lactobacillus, характерною ознакою представників якого є розщеплення вуглеводів з утворенням великої кількості молочної кислоти, зберігаючи життєздатність у кислому середовищі. Це явище є одним з факторів, що сприяють розвитку карієсу зубів людини.

 Грамнегативні анаеробні та мікроаерофільні бактерії частіше за все відносяться до бактероїдів, які не мають каталази і ферментують цукри до газів, а пептони – з утворенням амінокислот. До них належать три роди: Bacteroides, Fusobacterium, Leptotrichia.

 Bacteroides melaninogenicus та B.gingivalis характеризуються низькою сахаролітичною активністю, але глюкозу розщеплюють з утворенням суміші кислот, причому рН середовища залишається досить високим (~6.0). Через наявність великої різноманітності протеолітичних ферментів мають велике патогенетичне значення.

 Рід Фузобактерії, що представлений веретеноподібними паличками складає разом з бактероїдами автохтонну мікрофлору ротової порожнини. Утворюють з пептону або глюкози молочну кислоту.

 Представники роду Leptotrichia(L.buccalis) мають вигляд попарно розташованих зернистих паличок, часто ниткоподібної форми. Ферментують глюкозу з утворенням великої кількості молочної кислоти, що призводить до зниження рН (~4.5).

 Представники роду Actinomyces кінцевими продуктами розщеплення глюкози мають молочну, оцтову, мурашину та янтарну кислоти, характеризуються слабкою протеолітичною активністю, приймають участь в утворенні зубного каменю, зубних бляшок.

 Бактерії роду Коринебактерії мають здатність знижувати окисно-відновний потенціал, створюючи таким чином умови для розвитку анаеробів.

 Спірохети, що мешкають в ротовій порожнині, відносять до трьох родів:

Treponema, Borrelia, Leptospira, представники яких відрізняються один від одного за біохімічними та ін. особливостями.

 В ротовій порожнині зустрічаються й мікоплазми (M.orale, M.salivarium), які гідролізують аргінін та не ферментують глюкозу.

**Практична частина**

 Найпоширенішим методом дослідження мікрофлори повітря є чашечний метод(м-д Коха), суть якого полягає у культивуванні (при певних умовах) мікроорганізмів, що осіли на щільне середовище (МПА, КА) чашки Петрі. Кількість колоній, що виросли на середовищі визначається безпосередніми підрахунками. Колонія не завжди є результатом поділу однієї клітини. У зв’язку з цим фактом виникає необхідність виражати кількість мікроорганізмів в КУО (колонієутворюючих одиницях) на 1м3 повітря. Це співвідношення знаходить свою реалізацію у формулі Омелянського(для методу Коха):

 ;

при тому, що х – кількість мікробів в 1м3 повітря;

а – кількість колоній в чашці Петрі;

в – площа чашки Петрі;

t – час експозиції;

5 – час за розрахунками Омелянського;

100 – площа, на яку відбувалось осадження;

1000 – досліджуваний об’єм повітря.

 Об’єктами досліджень стали приміщення буфету та кафедри мікробіології.

В результаті підрахунків з’ясовані наступні значення КУО:

а) для мікробіологічної аудиторії ;

б) для буфету .

 При дослідженні отриманих колоній їх розрізняють за такими ознаками, як:

форма, консистенція, розмір, край, колір, профіль, поверхня.

 Дослідивши вищевказані ознаки складаємо таблицю № 1.

 Наступними завданнями практичних робіт були роботи по виділенню чистих культур мікроорганізмів методом штриха, що виснажується, перевірка їх однорідності світловою мікроскопією з додаванням емерсії і т.д.

Таблиця 1. Морфолого-культуральні властивості мікроорганізмів.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Пож. серед** | **К-ість****колоній****одного****типу** | **Ознаки колоній** | **Морфологія** **клітин** |
| **Форма** | **Розмір,мм** | **Колір** | **Поверхня** | **Профіль** | **Край** | **Консистенц.** |
| МПА | **4** | **амебоїдна** | **4-8** | **жовтий** | **зморшкувата** | **кратероподібний** | **хвилястий** | **тверда** | **маленькі коки** |
| МПА | **2** | **амебоїдна** | **8-14** | **білий** | **зморшкувата** | **випуклий** | **хвилястий** | **м’яка** | **бацили** |
| МПА | **6** | **округла** | **5-6** | **білий** | **блискуча** | **випуклий** | **рівний** | **м’яка** | **бацили** |
| МПА | **2** | **округла** | **1-3** | **рожев.** | **гладенька** | **випуклий** | **рівний** | **м’яка** | **коки** |
| КА | **6** | **округла** | **2-5** | **жовтий** | **блискуча** | **випуклий** | **рівний** | **м’яка** | **тетракоки** |
| КА | **5** | **округла** | **1-3** | **рожев** | **гладенька** | **випуклий** | **рівний** | **м’яка** | **коки** |
| КА | **3** | **амебоїдна** | **8-9** | **біла** | **зморшкувата** | **випуклий** | **хвилястий** | **м’яка** | **бацили** |
| КА | **4** | **амебоїдна** | **6-9** | **жовта** | **зморшкувата** | **кратероподібний** | **хвилястий** | **тверда** | **маленькі коки** |

Вивчення біохімічних та фізіологічних властивостей мікроорганізмів.

 Вищезазначені властивості відіграють провідну роль в ідентифікації та систематиці мікроорганізмів. Біохімічні властивості, в першу чергу, досліджуються шляхом визначення здатності мікроорганізмів утилізувати певні вуглеводи за участю специфічних ферментів, та здатності нейтралізувати інші речовини (наприклад, визначення каталазної активності бактерій).

 Грампозитивність та грамнегативність мікроорганізмів визначається в реакції з 3% розчином КОН.

 Рухливість визначається характером росту мікроорганізмів засіяних уколом у напіврідке поживне середовище.

 Отримані практично дані, використовуємо при заповненні таблиці:

Таблиця 2.

Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості виділеної культури.

|  |  |
| --- | --- |
| Ознаки колонії | Рожева, округла, 1-3 мм, край рівний, профіль випуклий, поверхня гладенька, м’яка консистенція |
| Морфологія клітин | коки |
| Спороутворення  | невиявлене |
| Рухливість | невиявлена |
| ГрампозитивністьГрамнегативність | Грамнегативні |
| Засвоєння цукрів | Виявлена гідролізаційна ативність до глюкози |

Мікрофлора зубного нальоту та ротоглотки

 При дослідженні мікрофлори зубного нальоту відбір зразку проводився стерильною зубочисткою, готувався препарат, який після фарбування розглядався з імерсією.

 При вивченні мікрофлори зіву проби брались ватним тампоном, попередньо змоченим у фізрозчині. Після цього проводився висів проби на МПА газоном з одночасним використанням методу стандартних паперових дисків насичених розчином антибіотиків для перевірки чутливості культури до їх дії. Результатом є утворення зон затримки росту, діаметр яких залежить від чутливості мікроорганізму та, відповідно, активності антибіотика.

Таблиця 3.

Морфологія клітин зубного нальоту та ротоглотки.

|  |  |
| --- | --- |
| Морфологія мікроорганізмів зубного нальоту | Морфологія мікроорганізмів ротоглотки |
| Дрібні паличковидні | Великі та малі коки  |
| Нитковидні | Диплококи |
| Малі та великі коки | Дріжджі |

 Паралельно з методом стандартних паперових дисків використовували метод блоків, при якому використовують поверхневі культури продуцентів антимікробних речовин. Результати чутливості мікроорганізмів внесли до наступної таблиці:

Таблиця 4.

Чутливість мікрофлори ротоглотки до антибіотиків та метаболітів актиноміцетів.

|  |  |
| --- | --- |
| Назва антибіотиків та актиноміцетів | Діаметр зон затримки росту |
| Тетрациклін | 25 мм |
| Еритроміцин | 5-7 мм |
| Бензілпеніцилін | 19мм |
| Streptomyces sp.1 | 24 мм |
| Streptomyces cyanogenes, Streptomyces griseus |  \_\_\_\_\_\_\_\_\_ |

Висновок

 В результаті проведення курсу практичної мікробіології з ознайомлення екологічних ніш мікроорганізмів, їх складу у різних біотопах, фізико-хімічних та біологічних властивостей, патогенезу та важливих корисних функцій опанували комплекс цінних методик, а саме:

а) Визначення КУО за методом Коха та з використанням методик Омелянського;

б) отримання чистих культур методом штриха, що виснажується;

в) вивчення специфічних морфологічних та фізіолого-біохімічних особливостей виділеної культури;

г) визначення мікрофлори зубного нальоту та ротоглотки;

д) опанування важливого в медицині метода визначення активності певних антибіотиків та екзометаболітів актиноміцетів на бактеріальні колонії.

 ***Київський національний університет ім. Тараса Шевченка***

 ***Біологічний факультет***

 **Звіт з мікробіології**

***Студента ІІІ курсу***

***Групи біохімії***

***Фролова Артема***

**Київ** **2002**

 **План:**

І. Теоретична частина

 1. Мікрофлора повітря

 2. Мікрофлора ротової порожнини

 ІІ. Практична частина

 1. Методологія

 2. Таблиці

 3. Пояснення та хід роботи

 ІІІ. Висновок.