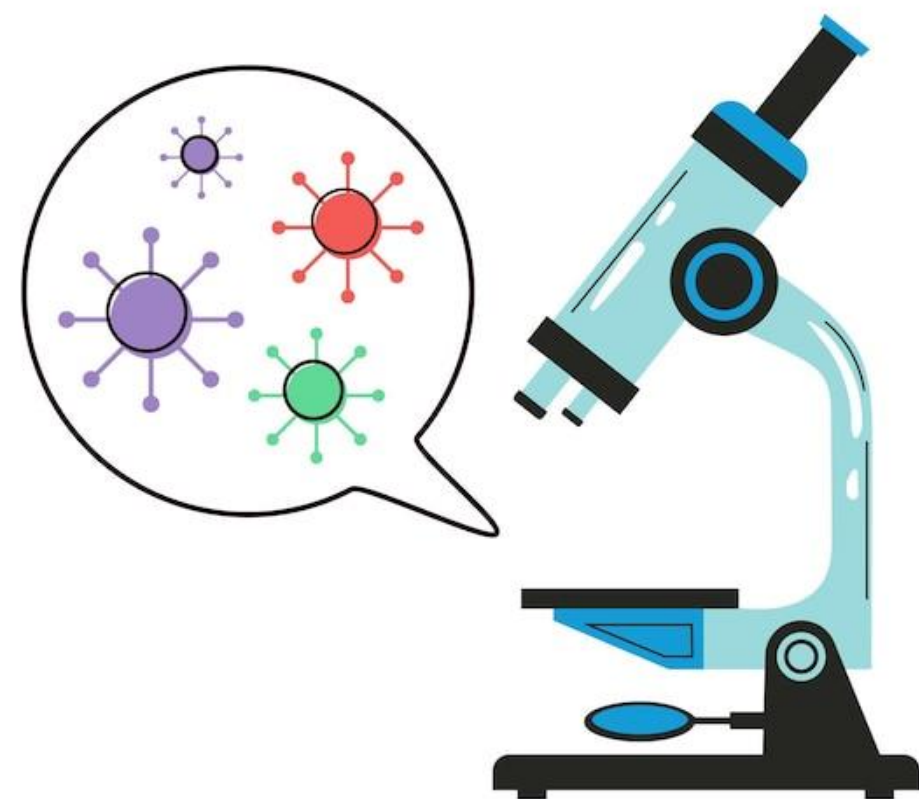




WYKŁAD nr 8

Wybrane zagadnienia mikrobiologii

Zakres merytoryczny:

- ❑ podstawy mikrobiologii (morfologia i fizjologia drobnoustrojów, naturalne siedliska drobnoustrojów, oddziaływanie na organizm ludzki)
- ❑ zagrożenia biologiczne i sposoby ochrony ludzi (podział zagrożeń na grupy, przykłady zagrożeń, tj. wąglik, SARS)
- ❑ metody sterylizacji i dezynfekcji stosowane w ratownictwie chemicznym

Podstawy mikrobiologii

Mikrobiologia – nauka zajmująca się zagadnieniami związanymi z mikroorganizmami (tj. **bakterie, grzyby**) oraz **wirusami**.

Mikroorganizmy (drobnoustroje, mikroby) – organizmy widoczne jedynie pod mikroskopem; są to organizmy jednokomórkowe (np. bakterie) lub wielokomórkowe (np. niektóre grzyby i glony). Do grupy tej zaliczane są także wirusy, które nie są organizmami żywymi. Niektóre z mikroorganizmów są chorobotwórcze.

Komórka – podstawowa jednostka budulcowa i funkcjonalna, a zarazem najprostszy zdolny do życia twór materii. Komórki różnią się od siebie wielkością, kształtem, a także wewnętrzną organizacją. Podstawą jest podział komórek na: **prokariotyczne** i **eukariotyczne**. Komórka prokariotyczna nie posiada jądra komórkowego (w przeciwieństwie do eukariotycznej); prokarioty są w większości jednokomórkowe, lecz występują też formy kolonijne. Komórka eukariotyczna może więc stanowić organizm jednokomórkowy lub współtworzyć organizm wielokomórkowy

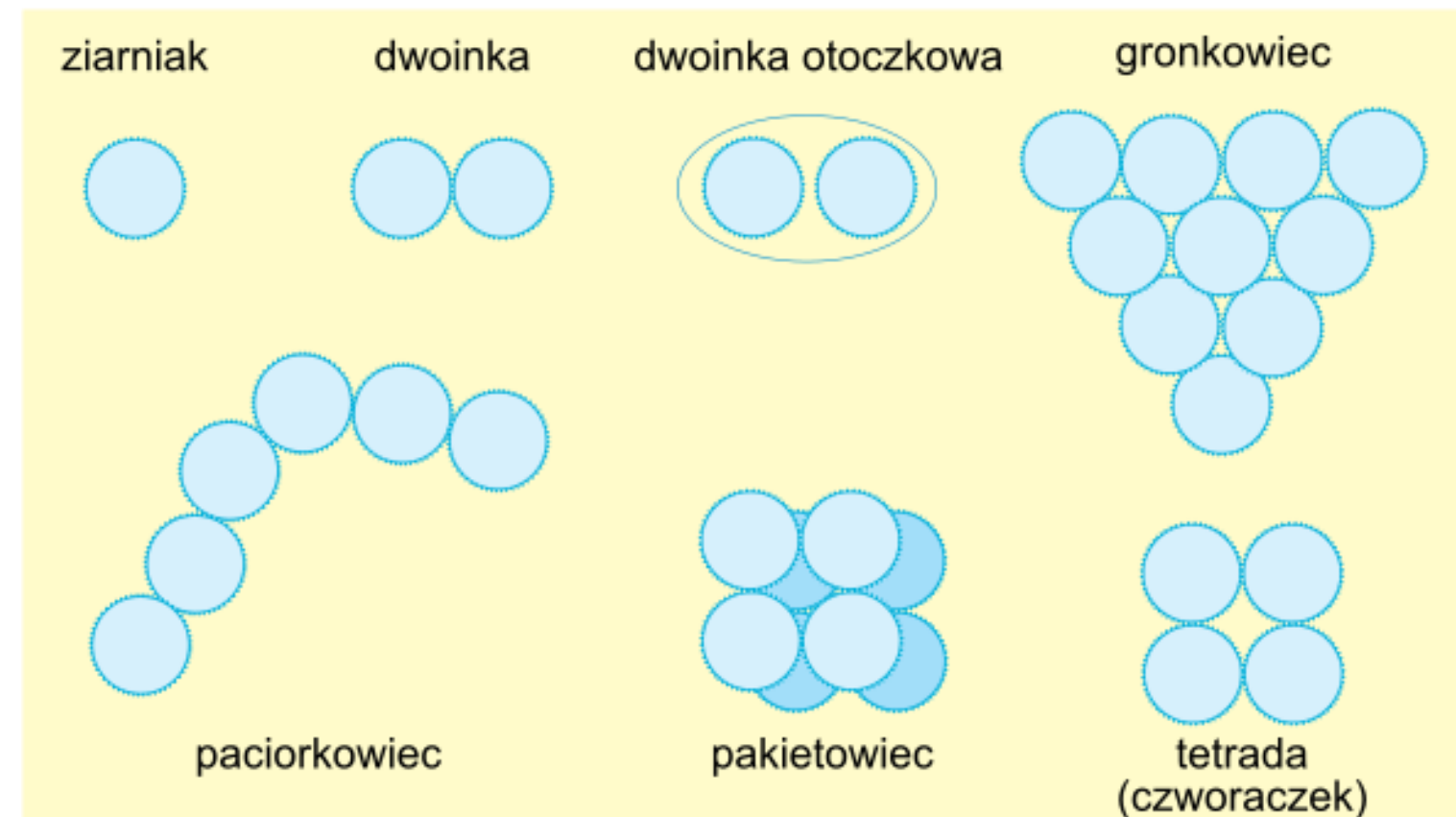
Morfologia – nauka o kształtach i budowie organizmów.

Fizjologia – nauka o mechanizmach rządzących przebiegiem czynności życiowych organizmów.

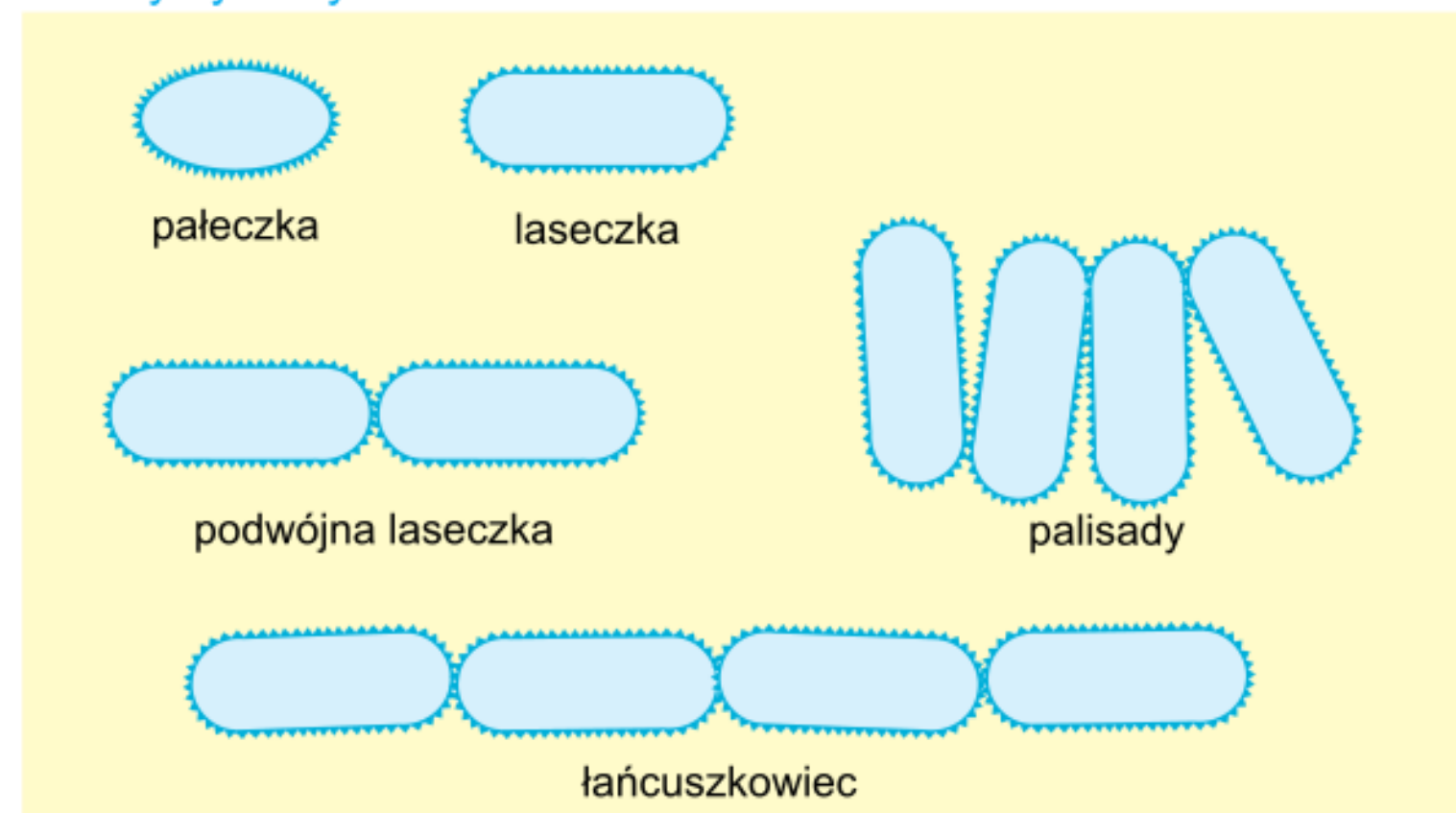
Bakterie

Kształty kolonii bakteryjnych

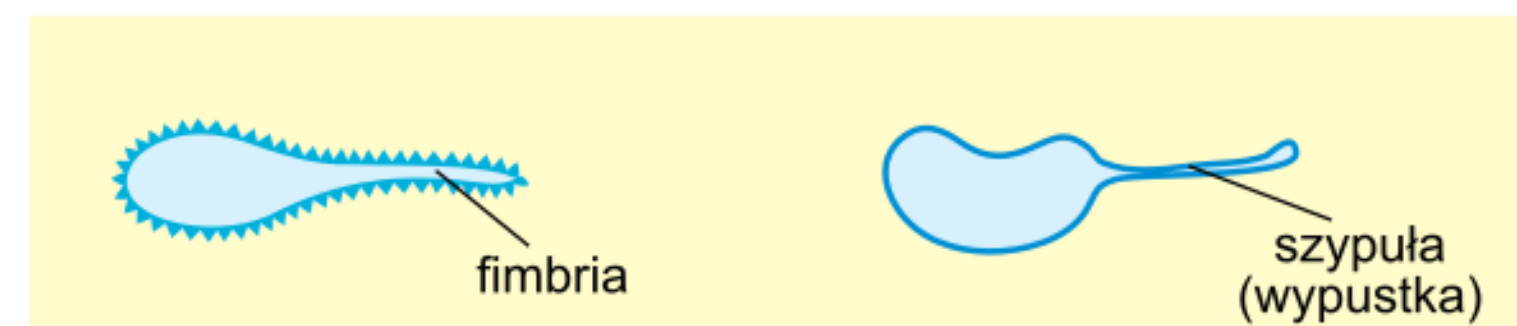
Ziarniaki



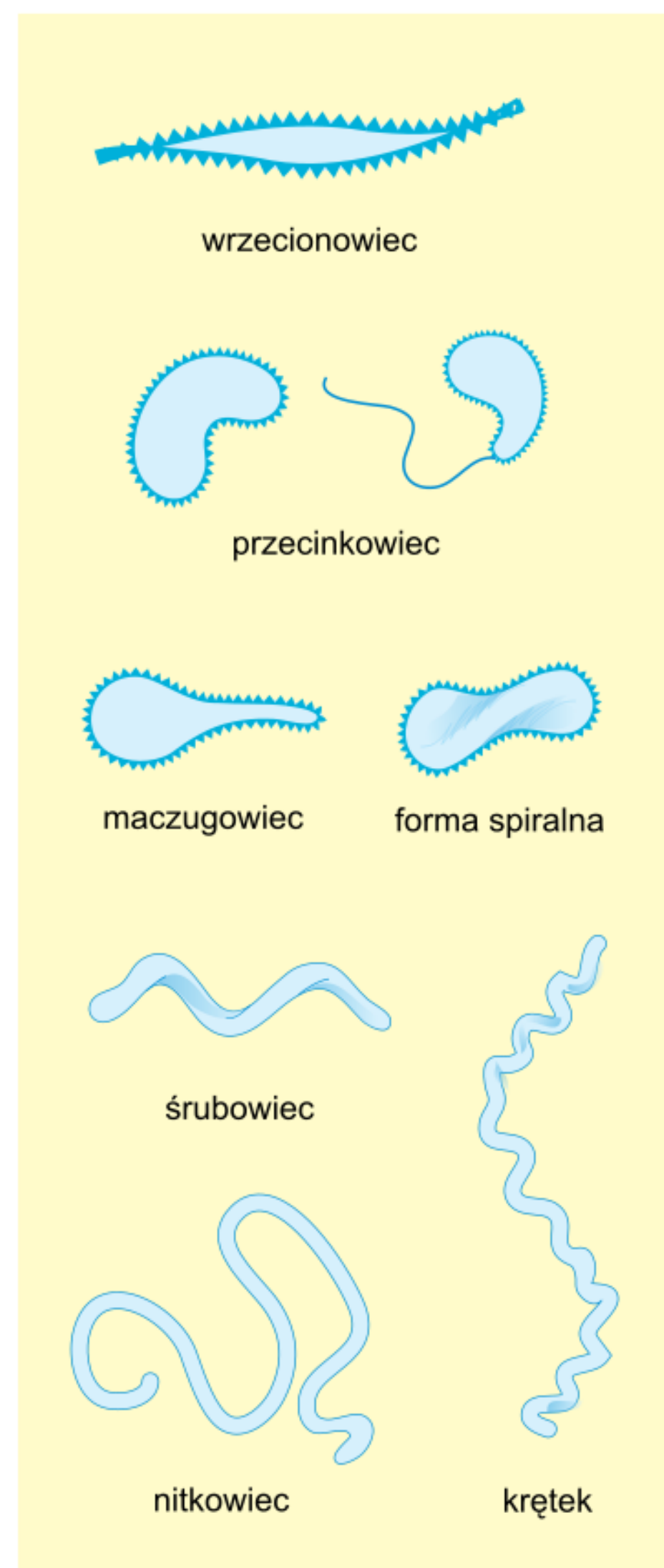
Formy cylindryczne



Rozmnażanie i dodatki bakterii



Inne formy



Bakterie – grupa mikroorganizmów, stanowiących osobną domenę. Są to najczęściej jednokomórkowce (choć istnieją też prymitywne formy wielokomórkowe), często tworzą kolonie i mają budowę prokariotyczną.

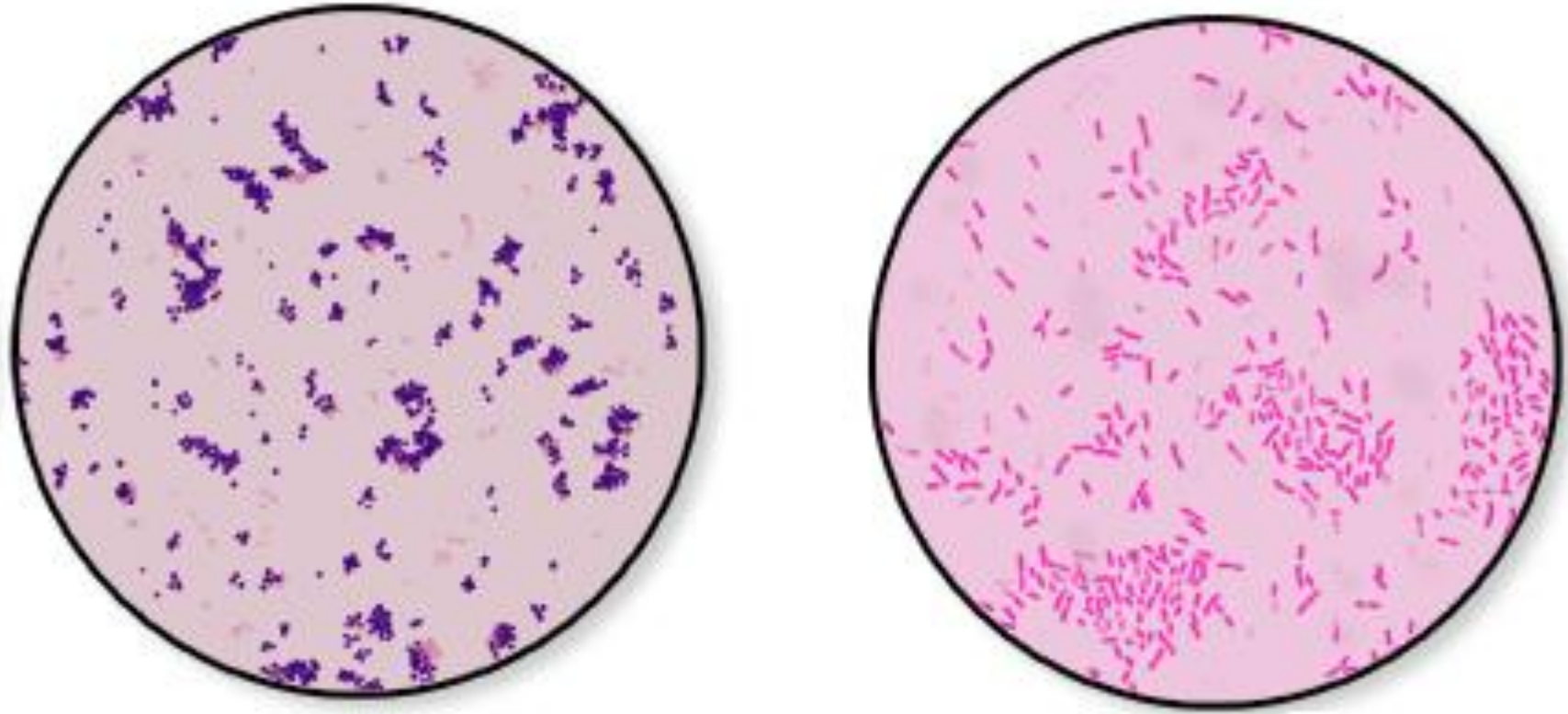
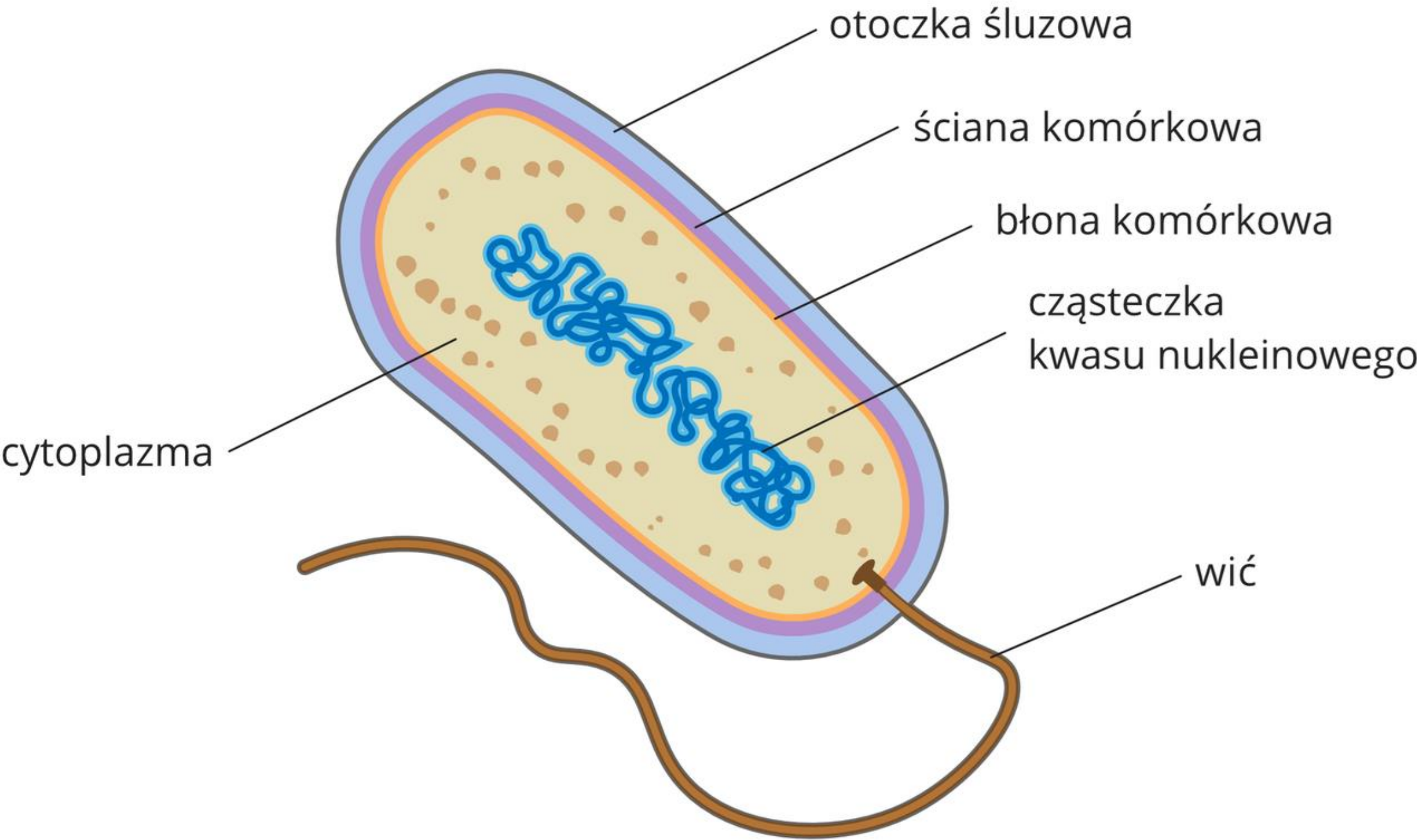
Wielkość komórki:

od 0,175 μm do 750 μm

Morfologia bakterii

Mureina (peptydoglikan) – podstawowy składnik ściany komórkowej bakterii

Cechy bakterii	Gram-dodatnie	Gram-ujemne
przedstawiciel	gronowiec złocisty (<i>Staphylococcus aureus</i>)	pałeczka okrężnicy (<i>Escherichia coli</i>)
grubość mureiny	15-80 nm	2-10 nm
warstwy mureiny	wielowarstwowa sieć	jednowarstwowa sieć
błona zewnętrzna	brak	obecna
wynik barwienia metodą Grama	fioletowe	różowe



Naturalne siedliska bakterii

Bakterie występują wszędzie w środowisku (**wodzie, glebie i powietrzu**) – w naturze żadne środowisko nie jest od nich wolne. Dzięki mikroskopijnym rozmiarom są one łatwo przenoszone przez prądy powietrza na drobinach kurzu lub w kroplach wody. Każdy gatunek bakterii ma swoje wymagania co do rodzaju podłoża, temperatury otoczenia i dostępu do tlenu. Wiele bakterii żyje na powierzchni ciała organizmów lub w ich wnętrzu, gdyż mają tam odpowiednią temperaturę, wilgoć oraz dostateczną ilość pokarmu.

Bakterie występują w każdym mieszkaniu, miejscu pracy, sklepie itp. Układ immunologiczny (odpornościowy) człowieka jest tak skonstruowany, aby chronić organizm przed większością z nich. Niestety ochrona nie jest stuprocentowa. Bakterie nieustannie mutują – organizm może nie umieć ich rozpoznać, a co za tym idzie, może nie być w stanie się obronić.



95% bakterii nie zagraża zdrowiu, przeciwnie – jest pożyteczna.

Tylko kilka procent to **bakterie chorobotwórcze (patogeny)**.

Znaczenie bakterii w gospodarce



Wykorzystanie bakterii:

- **w przemyśle spożywczym** – m.in. do otrzymywania produktów nabiałowych (tj. jogurty, keiry, ser żółty, twaróg) oraz produktów kiszonych (tj. ogórków, kapusty). W tym celu wykorzystuje się naturalne zdolności bakterii do prowadzenia **fermentacji mlekowej**, polegającej na beztlenowym rozkładzie węglowodanów.
- **w przemyśle farmaceutycznym i medycynie estetycznej** – m.in. antybiotyki, leki hormonalne, preparaty przeciwzmarszczkowe.
- **w rolnictwie** – m.in. do biologicznego zwalczania szkodników upraw.
- **w ochronie środowiska** – m.in. do bioremediacji.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) do **najbardziej niebezpiecznych** dla życia człowieka bakterii należą, m.in.: ***Acinetobacter baumannii*** (występuje w wodzie i glebie; zakażenie może prowadzić np. do sepsy), ***Pseudomonas aeruginosa*** (pałeczka ropy błękitnej; występuje w glebie, wodzie, na roślinach i skórze zwierząt; wywołuje zakażenie u osób o obniżonej odporności)

6 i ***Enterobacteriaceae*** (*E. coli* przyczynia się np. do zakażenia krwi i płuc).



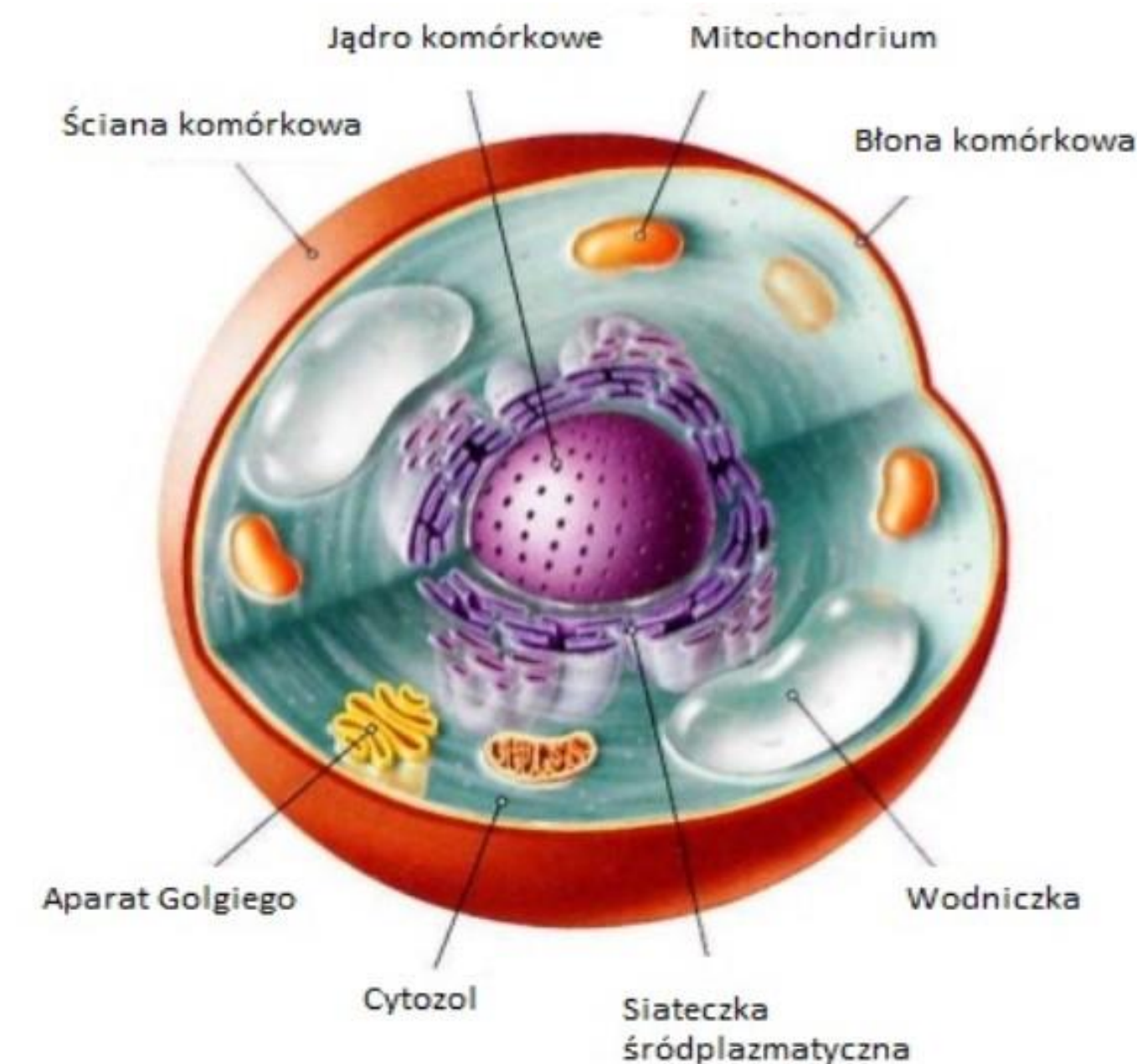
NARODOWY FUNDUSZ
OCHRONY ŚRODOWISKA
i GOSPODARKI WODNEJ



Łukasiewicz

Grzyby

Grzyby strzępkowe (nitkowate) – grzyby rosnące w postaci wielokomórkowych włókien zwanych strzępkami, w odróżnieniu od drożdży i grzybów drożdżopodobnych, które są grzybami jednokomórkowymi. Są szeroko rozprzestrzenione. **Występują głównie w glebie, wodzie i na materiałach pochodzenia organicznego**, a ich zarodniki znajdują się w powietrzu i na powierzchniach wszelkiego rodzaju materiałów, również nieorganicznych i syntetycznych.



Budowa komórki grzyba



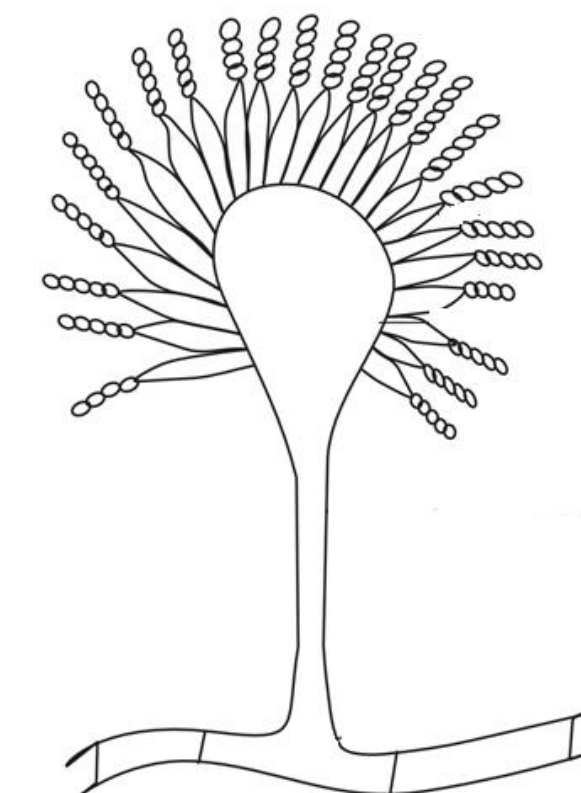
Pleśń – grzyby z różnych grup systematycznych, których grzybnia rozwija się na **pokarmach roślinnych, na nawozie, skórze i różnych resztkach roślin**, m.in. pleśniak, pędzlak, kropidlak. Zalicza się do nich również grzyby domowe, rozwijające się na **materiałach budowlanych**.

Pleśń tworzą głównie grzyby strzępkowe.

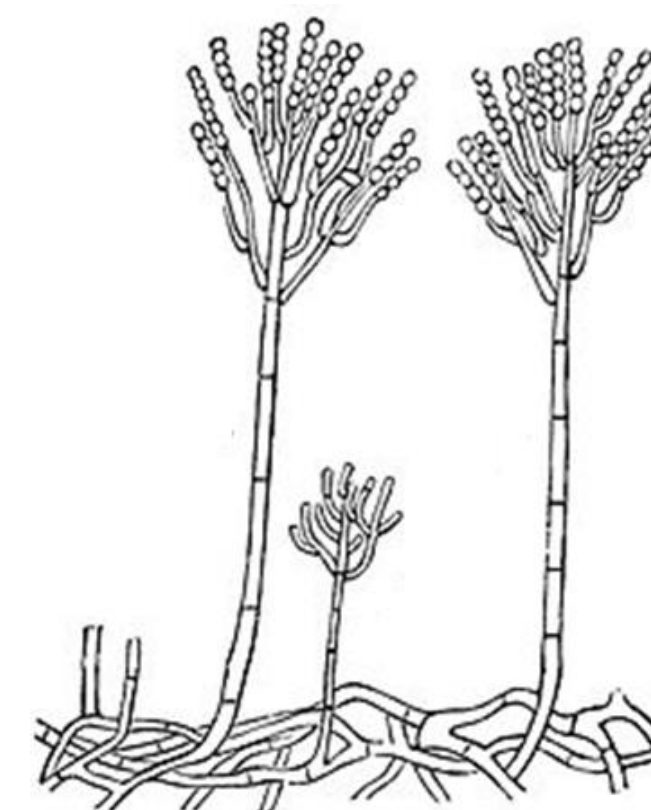
Znaczenie grzybów strzępkowych w gospodarce

Liczne gatunki grzybów strzępkowych w przemyśle są używane na skalę przemysłową w różnych obszarach, m.in.:

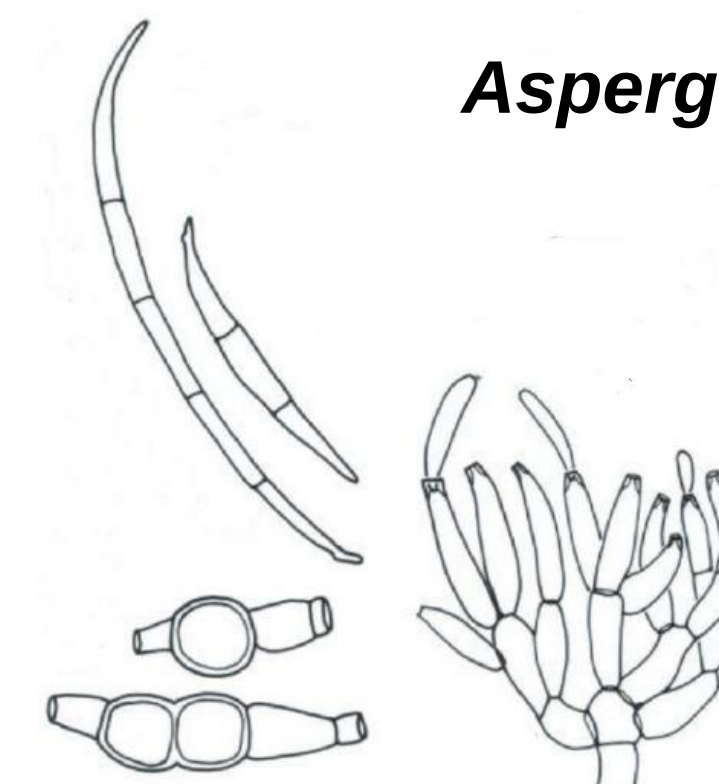
- produkcja antybiotyków, np. penicylina i cyklosporyna A
- wytwarzanie kwasów organicznych: kwas cytrynowy (*Aspergillus Niger*), kwas itakonowy (*Aspergillus itaconicus* i *Aspergillus terreus*), kwas mlekowy (*Rhizopus oryzae*)
- regulatory wzrostu i rozwoju roślin (gibereliny – *Giberella fujikuroi*)
- produkcja serów pleśniowych (*Penicillium roquefortii*, *Penicillium camambertii*, *Penicillium candidum* i *Penicillium glaucum*)
- oczyszczanie i biodegradacja ścieków (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger* i *Rhizopus oligosporus*)



Asperg



Penicillium



Fusarium



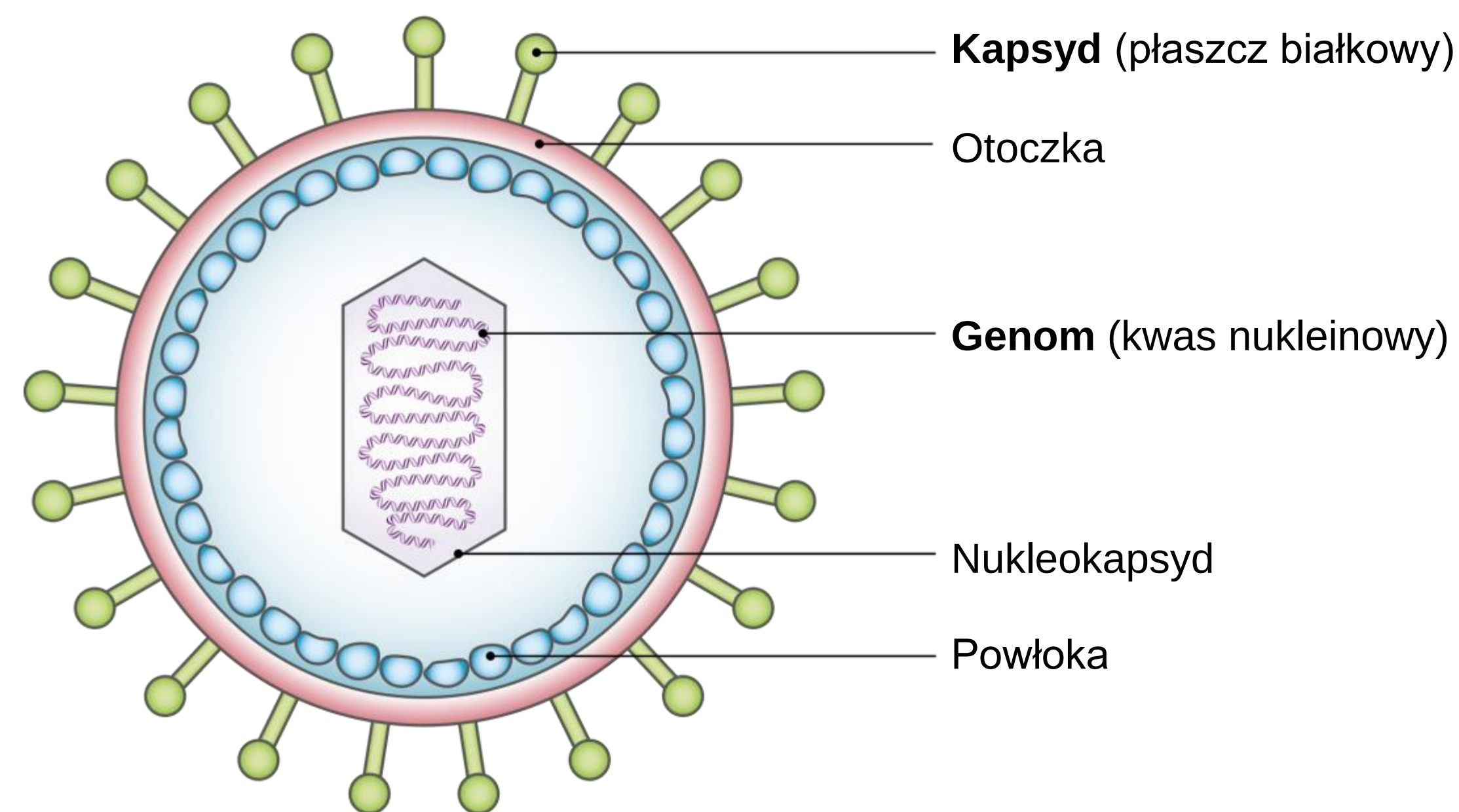
Wirusy

Wirusy – niewielkie cząstki zakaźne infekujące wszystkie formy życia, niezdolne do namnażania się poza komórką pełniącą rolę gospodarza.

Wirusy **infekują wszystkie komórkowe formy życia.**

Są obecne w organizmach zarówno chorych, wykazujących objawy chorobowe, jak i zdrowych, które są zakażone bez wywoływania następstw chorobowych, z infekcją aktywną lub utajoną.

Poza gospodarzami wirusy występują w środowisku: **glebie, powietrzu, wodzie.**



Cząstka wirusowa (wiron)

Oddziaływanie na organizm ludzki

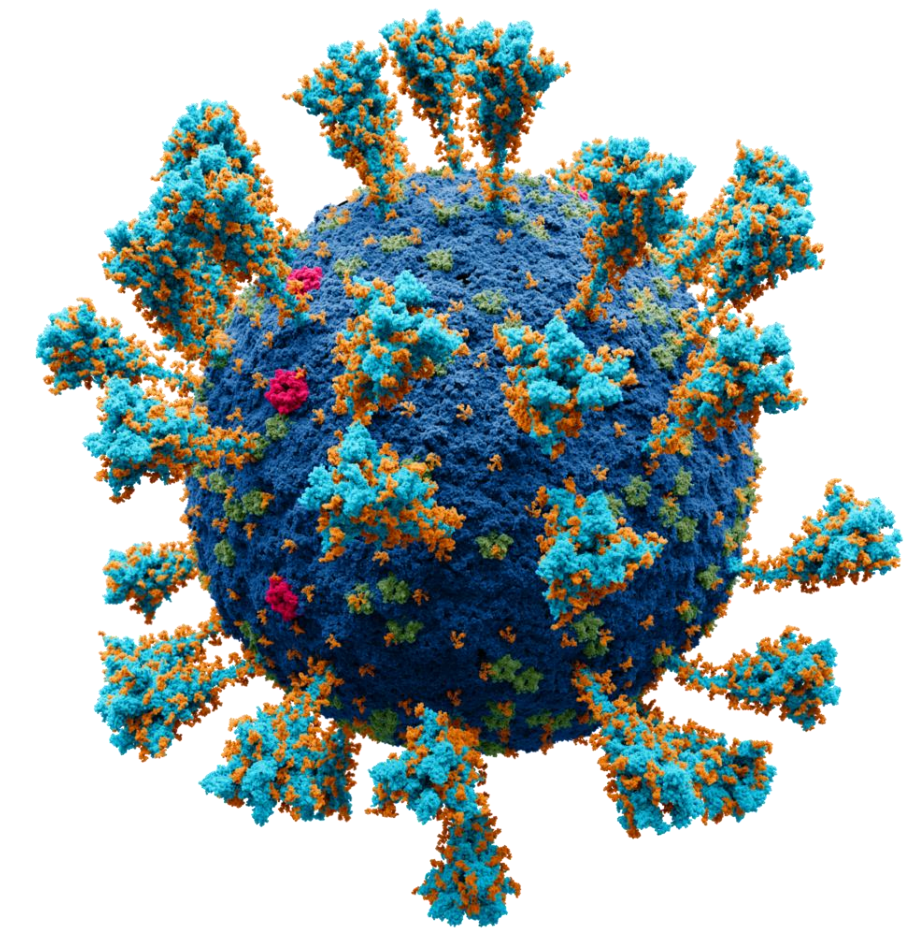
W następstwie zakażenia wirusowego komórki gospodarza może zająć:

- **zniszczenie komórki (martwica)** – infekcja doprowadza do destrukcji komórki
- **zakażenie przewlekłe** – zachodzi ciągle wytwarzanie wirusa, co jest spowodowane tym, że zainfekowana komórka przeżywa
- **zakażenie utajone** – genom wirusa jest obecny w komórce, może ulec integracji, ale komórka nie jest niszczone ani nie występują objawy chorobowe
- **transformacja nowotworowa** – w wyniku infekcji pewnymi wirusami komórka może zacząć dzielić się szybciej od pozostałych, podlegając przy tym różnym zmianom, ulegając transformacji nowotworowej
- **zakażenie nieproduktywne** – zakażenie komórki, w której wirus replikuje się nieefektywnie lub produkuje cząstki potomne wadliwej jakości

Pandemie

Rozwojowi pandemii sprzyja **degradacja środowiska i brak bioróżnorodności**. Rośnie społeczna świadomość, że największym zagrożeniem dla ludzkości może być **wirus**, pochodzący z wylesionego obszaru lub od dzikiego zwierzęcia sprzedawanego np. na targowisku. **75%** znanych dotąd ludzkich chorób zakaźnych pochodzi od zwierząt (**zoonozy**). Choroby odzwierzęce co roku powodują około miliarda zachorowań i miliony zgonów. Według WHO znanych jest ponad 200 zoonoz, m.in. **wścieklizna, SARS, MERS, żółta gorączka, denga, HIV, ebola, grypa**.

Zmiany użytkowania gruntów i niszczenie naturalnych siedlisk drobnoustrojów (tj. np. lasy tropikalne) odpowiadają za co najmniej połowę nowo pojawiających się chorób odzwierzęcych. Rozwojowi i ich rozprzestrzenianiu się sprzyjają: utrata siedlisk, tworzenie sztucznych środowisk, handel dzikimi zwierzętami.



SARS-CoV-2
(koronawirus)

Transport materiałów zakaźnych

Jednostki transportowe dopuszczone do przewozu niebezpiecznych odpadów (zakaźnych) to pojazdy zamknięte lub kontenery zamknięte, które nie mogą zawierać więcej niż jednej przyczepy lub naczepy. Niebezpieczne odpady medyczne, zgodnie z ADR, zostały przypisane do **klasy 6.2** jako „**Materiały zakaźne**” i są to materiały, o których wiadomo lub co do których istnieje uzasadnione podejrzenie, że zawierają drobnoustroje chorobotwórcze, tj.: **bakterie, wirusy, grzyby** oraz inne czynniki, które mogą powodować choroby u ludzi lub u zwierząt.



UN 2814

materiały zakaźne dla ludzi

UN 3373

materiały biologiczne zakaźne

UN 2900

materiały zakaźne dla zwierząt



**UWAGA !
Materiał zakaźny**

UN 3291

odpady medyczne lub kliniczne

Grupy zagrożeń biologicznych

Zagrożenie biologiczne – organizmy lub substancje pochodzenia organicznego, które stanowią zagrożenie dla zdrowia człowieka

Najczęściej zagrożenia biologiczne dzieli się na cztery grupy: I oznacza praktycznie brak zagrożenia, II – umiarkowane zagrożenie, III – poważne zagrożenie, IV – bardzo poważne zagrożenie, grożące śmiercią.

- I** – czynniki, przez które wywołanie chorób u ludzi **jest mało prawdopodobne**.
- II** – czynniki, które mogą wywoływać **choroby** u ludzi, mogą być niebezpieczne, ale rozprzestrzenienie ich w populacji ludzkiej jest mało prawdopodobne. Zazwyczaj **istnieją** w stosunku do nich skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.
- III** – czynniki, które mogą wywoływać u ludzi **ciężkie choroby**, są niebezpieczne, a rozprzestrzenienie ich w populacji ludzkiej jest bardzo prawdopodobne; zazwyczaj **istnieją** w stosunku do nich skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.
- IV** – czynniki które wywołują u ludzi **ciężkie choroby**, są niebezpieczne, a ich rozprzestrzenienie w populacji ludzkiej jest bardzo prawdopodobne; zazwyczaj **nie istnieją** w stosunku do nich skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.

Poziomy bezpieczeństwa biologicznego



Materiały klasyfikuje się w grupy zagrożeń biologicznych, odpowiadających czterem poziomom bezpieczeństwa biologicznego (ang. *Biosafety Levels*): **od BSL-1 do BSL-4**.

Każdy z poziomów wymaga zastosowania odpowiednich procedur, które mają za zadanie zapobieganie rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów lub czynników biologicznych. Klasyfikacja ściśle wiąże się z zakaźnością, jak również z ciężkością wywoływanych chorób oraz ze zdolnością do ich przenoszenia się.

Biorąc pod uwagę powyższe czynniki, należy przestrzegać odpowiednich procedur postępowania z zachowaniem zasad bezpieczeństwa.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego BSL-1

Organizmy: Organizmy, które nie wywołują chorób u zdrowych ludzi i stanowią minimalne zagrożenie dla bezpieczeństwa i zdrowia. Należą do nich m.in. niechorobotwórcze szczepy *Escherichia Coli*, *Staphylococcus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Zasady bezpieczeństwa: Nie ma konieczności używania zabezpieczeń barierowych. Podczas pracy stosuje się standardowe procedury mikrobiologiczne. Personel powinien myć ręce przed wejściem i przed wyjściem z laboratorium. Z tego względu pracownicy muszą mieć dostęp do umywalek na terenie laboratorium.

Środki ochrony osobistej: standardowe (fartuchy laboratoryjne, rękawice, ewentualnie maski ochronne i okulary laboratoryjne). Laboratorium powinno być oddzielone drzwiami, które można zamknąć, w celu ograniczenia dostępu. Nie jest jednak wymagane wydzielenie oddzielnej strefy w budynku.



Poziom bezpieczeństwa biologicznego BSL-2

Organizmy: Organizmy stanowią umiarkowane zagrożenie dla środowiska i ludzi. Należą do nich m.in.: wirus HIV, wirusy zapalenia wątroby typu A, B lub C, *Plasmodium falciparum* i *Toxoplasma gondii*.

Zasady bezpieczeństwa: Podczas pracy stosuje się wszystkie środki ostrożności z poziomu BSL-1. Dodatkowo, personel laboratorium powinien posiadać przeszkolenie w zakresie pracy z czynnikami chorobotwórczymi.

Środki ochrony osobistej: Procedury, które mogą generować aerozol lub rozpryski należy przeprowadzać w komorze laminarnej klasy II o wymuszonym obiegu powietrza. W tym przypadku należy również zastosować ochronę dróg oddechowych maską ochronną. Sprzęt laboratoryjny wymaga regularnej dekontaminacji. Do tego celu używane są m.in. autoklaw, światło UV (ozonowanie), a także roztwory alkoholu do dezynfekcji powierzchni. Wymaga się stosowania odzieży ochronnej, rękawic jednorazowych.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego BSL-3

Organizmy: Organizmy zaliczane są do potencjalnie niebezpiecznych dla zdrowia i życia człowieka. Mogą wywoływać poważne lub potencjalnie śmiertelne choroby przenoszone drogą kropelkową. Należą do nich, m.in. *Mycobacterium tuberculosis* wywołująca gruźlicę, pałeczka wąglika, *Chlamydia psittaci*, wirus *Venezuelan equine encephalitis*, SARS-CoV-2, MERS-CoV, wirus żółtej gorączki, wirus Zachodniego Nilu.

Zasady bezpieczeństwa: Podczas pracy stosuje się wszystkie środki ostrożności z poziomu BSL-2. Dodatkowo, aby zminimalizować ryzyko zakażenia, personel powinien mieć możliwość zaszczepienia.

Środki ochrony osobistej: Odzież ochronna obejmuje: fartuch z pełnym przodem lub kombinezon (wykonaniu pracy należy je wyrzucić lub poddać dezynfekcji), podwójną parę rękawic ochronnych, maski, okulary ochronne. Wszelkie prace z użyciem materiału biologicznego można wykonywać jedynie w komorze laminarnej klasy II. Laboratorium wymaga regularnego czyszczenia i dezynfekcji. Powinno znajdować się w nim stanowisko do przemywania oczu, umywalki bezdotykowe, autoklaw. Do pomieszczenia powinien prowadzić podwójny zestaw samozamykających się drzwi.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego BSL-4

Organizmy: Organizmy są wysoce niebezpieczne dla zdrowia i życia ludzkiego. Przenoszą się drogą kropelkową. Należą do nich, m.in.: wirus *Ebola*, *Marburg* (gorączka krwotoczna), wirus *Lassa* (gorączka krwotoczna krymsko-kongijska).

Zasady bezpieczeństwa: Laboratorium musi być wyposażone w komorę laminarną o klasie szczelności III lub w szczelne kombinezony z odrębną instalacją oddechową i komorę laminarną klasy II. Wejście odbywa się przez służę powietrzną z hermetycznymi drzwiami.

Środki ochrony osobistej: Praca z organizmami w tej klasie wymaga szczególnej ostrożności i zachowania ściśle określonych zasad bezpieczeństwa.

Niewystarczające są standardowe środki ochrony osobistej.



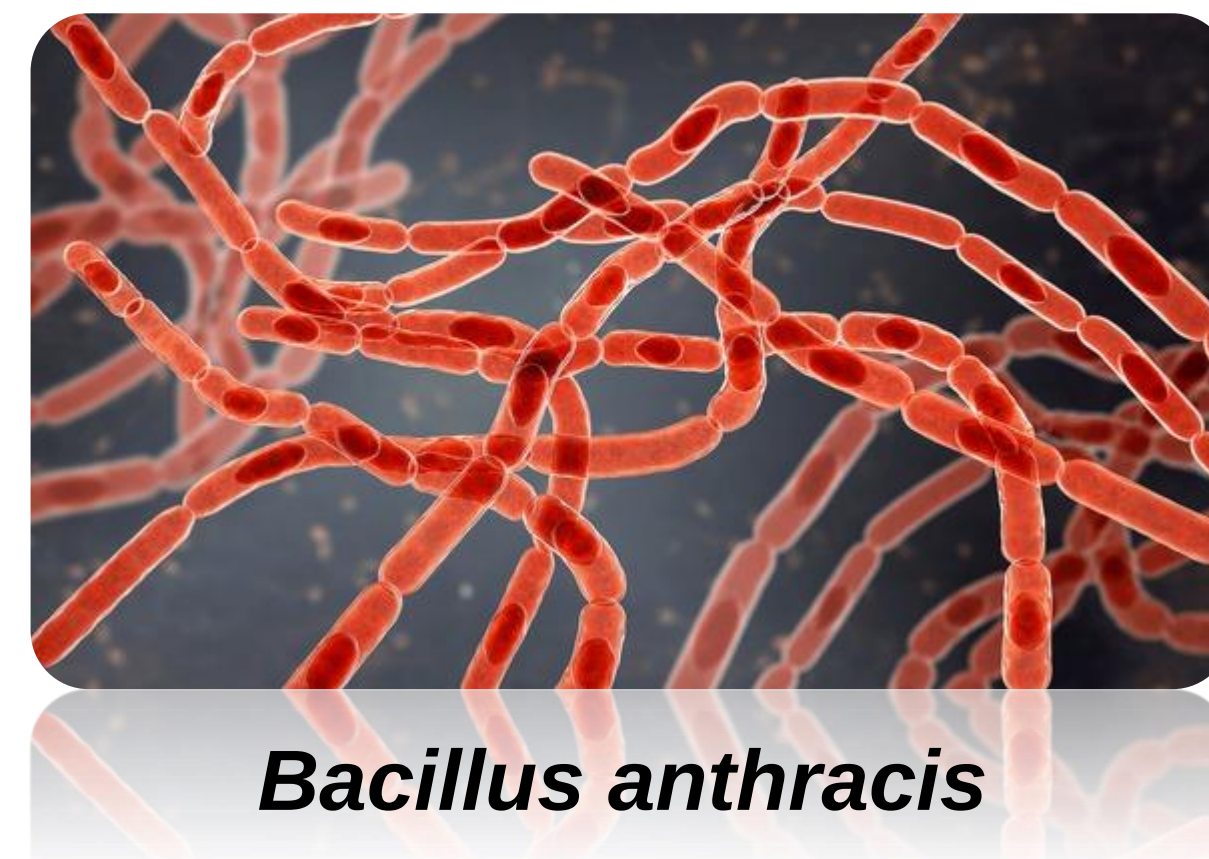
klasa II



klasa III

Wąglik – przykład zagrożenia biologicznego

Wąglik – choroba zakaźna, zaraźliwa, wywoływana przez Gram-dodatnią **bakterię**: laseczkę wąglika (*Bacillus anthracis*). Wąglik występuje na całym świecie, najczęściej u bydła, koni, owiec i kóz. Ptaki są niewrażliwe na zakażenia naturalne. Optymalnym środowiskiem bytowania *B. anthracis* jest gleba. Wąglik, dzięki zdolności wytwarzania przetrwalników, może w niej pozostawać nawet kilkadziesiąt lat – charakteryzuje się dużą odpornością na niesprzyjające warunki środowiska. Przetrwalniki mogą być wraz z wodą transportowane do zagłębień terenu i osadzać się na roślinach spożywanych przez zwierzęta, u których mogą się rozwinać formy wegetatywne wąglika.



Źródła zakażenia u zwierząt: pasza, woda, padlina, zawierająca przetrwalniki bakterii. Zakażenie bezpośrednio z jednego zwierzęcia na drugie jest możliwe tylko wtedy, gdy krew lub wydaliny zwierzęcia chorego dostaną się na świeże rany lub błonę śluzową zwierzęcia zdrowego.

Leczenie wąglika u zwierząt polega na zastosowaniu surowic odpornościowych oraz antybiotyków. Padłe zwierzęta zarażone wąglikiem powinny być spalone.

Wąglik – przykład zagrożenia biologicznego

Laseczka wąglika lub jej zarodniki wnikają do organizmu:

- drogą oddechową
- drogą pokarmową
- przez skórę

Leczenie wąglika u ludzi polega na stosowaniu wysokich dawek antybiotyków

W miejscu wniknięcia bakterie rozmnażają się, powodując miejscowe zmiany zapalno-martwicze.

Z ogniska pierwotnego dochodzi do rozprzestrzeniania się infekcji na cały organizm.

Infekcja laseczką wąglika u człowieka występuje w jednej z trzech postaci:

- skórnej (czarna krosta) – 95%
- jelitowej
- płucnej

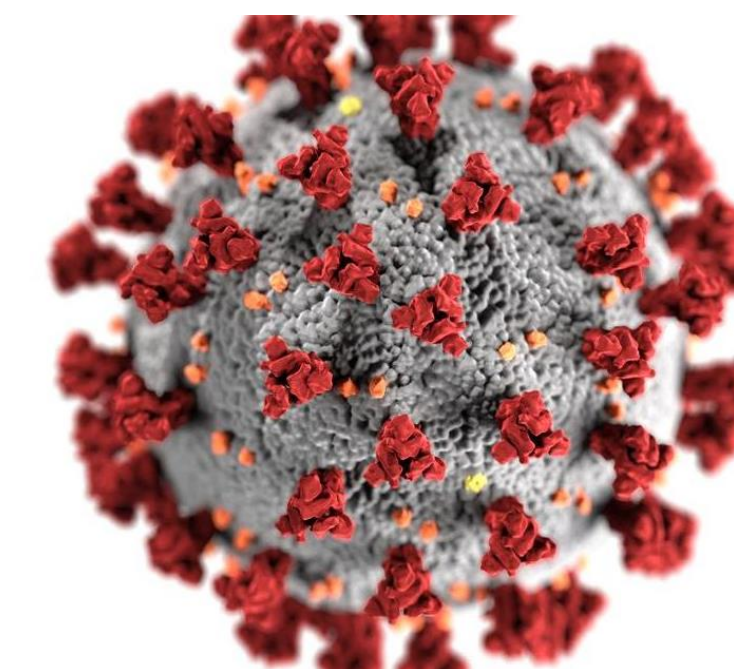
Mikroorganizmy te są zaliczane w klasyfikacji CDC (Center for Disease Control), dotyczącej **broni biologicznej** do kategorii A, tzn. odznaczają się znaczną zakaźnością i **powodują wysoką śmiertelność**.



SARS

SARS, SARS-CoV (ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus*) – **wirus** z rodziny **koronawirusów**, będący czynnikiem etiologicznym ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (SARS). Uważa się, że jest to wirus pochodzący od zwierząt, być może nietoperzy, za sprawą których rozprzestrzenił się na inne zwierzęta oraz ludzi. Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą kropelkową, a także przez kontakt zakaźnego materiału z błonami śluzowymi. Stosunkowo często dochodzi do zakażeń wśród personelu medycznego.

30 stycznia 2020 r. Światowa Organizacja Zdrowia ogłosiła **epidemię SARS-CoV-2** zagrożeniem dla zdrowia publicznego o znaczeniu międzynarodowym.



COVID-19 to choroba wywołana przez koronawirus z Wuhan (SARS-CoV-2)

Zakażenie koronawirusem SARS-CoV-2 może powodować łagodne objawy, tj. ból gardła, kaszel i gorączkę, lub mieć ciężki przebieg – prowadzić do zapalenia płuc i problemów z oddychaniem. Zakażenie koronawirusem (COVID-19) **może prowadzić do zgonu**.

Metody sterylizacji i dezynfekcji

Sterylizacja (wyjaławianie) – zniszczenie **wszystkich**, zarówno wegetatywnych, jak i przetrwalnikowych oraz zarodnikowych, form mikroorganizmów. Sterylizacji można dokonać termicznie, fizycznie lub chemicznie – najczęściej używa się **metod fizycznych**.



Prawidłowo wysterylizowany materiał jest jałowy – **nie zawiera żadnych żywych drobnoustrojów oraz ich form przetrwalnikowych**.

Dezynfekcja (odkażanie) – niszczenie drobnoustrojów i ich przetrwalników. Dezynfekcja **nie likwiduje wszystkich** mikroorganizmów (niszczy formy wegetatywne; nie zawsze usuwa formy przetrwalnikowe), ale redukuje ich ilość do nieszkodliwego poziomu. Zdezynfekowany materiał nie musi być jałowy.

Dezynfekcja dotyczy przedmiotów i powierzchni użytkowych.

Stosuje się metody: fizyczne, chemiczne i termiczno-chemiczne.

Metody sterylizacji

Sterylizacja termiczna

- wyżarzanie lub spalanie
- proces UHT
- sterylizacja suchym gorącym powietrzem
- sterylizacja nasyconą parą wodną pod ciśnieniem



Sterylizacja gazami

- tlenkiem etylenu
- formaldehydem
- ozonem

Sterylizacja roztworami środków chemicznych

- aldehydu glutarowego
- kwasu nadoctowego

Sterylizacja przez sączenie

Sterylizacja promieniowaniem

- jonizującym
- UV
- mikrofalowym



Sterylizacja plazmowa

Metody dezynfekcji

Wyniki dezynfekcji zależą od:

- **drobnoustroju** – gatunek, liczba, aktywność fizjologiczna,
- **środka dezynfekcyjnego** – wł. chemiczne i fizyczne, stężenie, czas działania,
- **środowiska** – temperatura, wilgotność, pH, obecność materii organicznej itp.

Czynniki chemiczne używane do dezynfekcji:

- czwartorzędowe sole amoniowe
- alkohole, np. alkohol etylowy
- aldehydy, np. formaldehyd
- związki fenolowe
- związki metali ciężkich, np. srebra, miedzi
- związki halogenowe np. jodyna
- utleniacze, np. H_2O_2 , nadmanganian potasu; ozon
- kwasy i zasady

Czynniki fizyczne używane do dezynfekcji:

- **para wodna** – temp. 100–105°C pod obniżonym ciśnieniem (0,45–0,5 atm).
Pary wodnej pod normalnym ciśnieniem używa się do odkażania m.in. wyposażenia sanitarnego.
- **promieniowanie UV** – dł. fali 256 nm
- **ultradźwięki** – fale o częstotliwości >20 kHz.

Szkolenie zostało dofinansowane ze środków NFOŚiGW
w ramach programu priorytetowego nr 7.2.1
„Edukacja ekologiczna Część 1. Edukacja ekologiczna na lata 2021-2025”



Niniejszy materiał został opublikowany dzięki dofinansowaniu
Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.

Za jego treść odpowiada wyłącznie
Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Technologii Eksploatacji