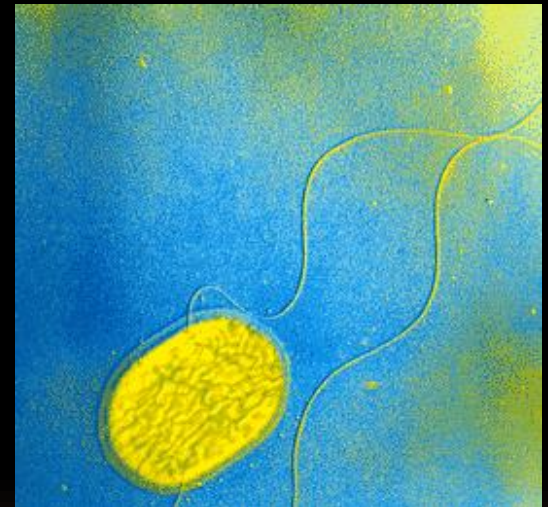


- **Uticaj sredine na mikroorganizme**
- **Abiotički faktori**



Klasifikacija bakterija prema temperaturi rasta

- Psihrofilne $<0-15^{\circ}\text{C}$
- Psihotrofne $0-20$ do 30°C
- Mezofilne $25-40^{\circ}\text{C}$
- Termofilne $50-60$
- Ekstremno termofilne $>80^{\circ}\text{C}$

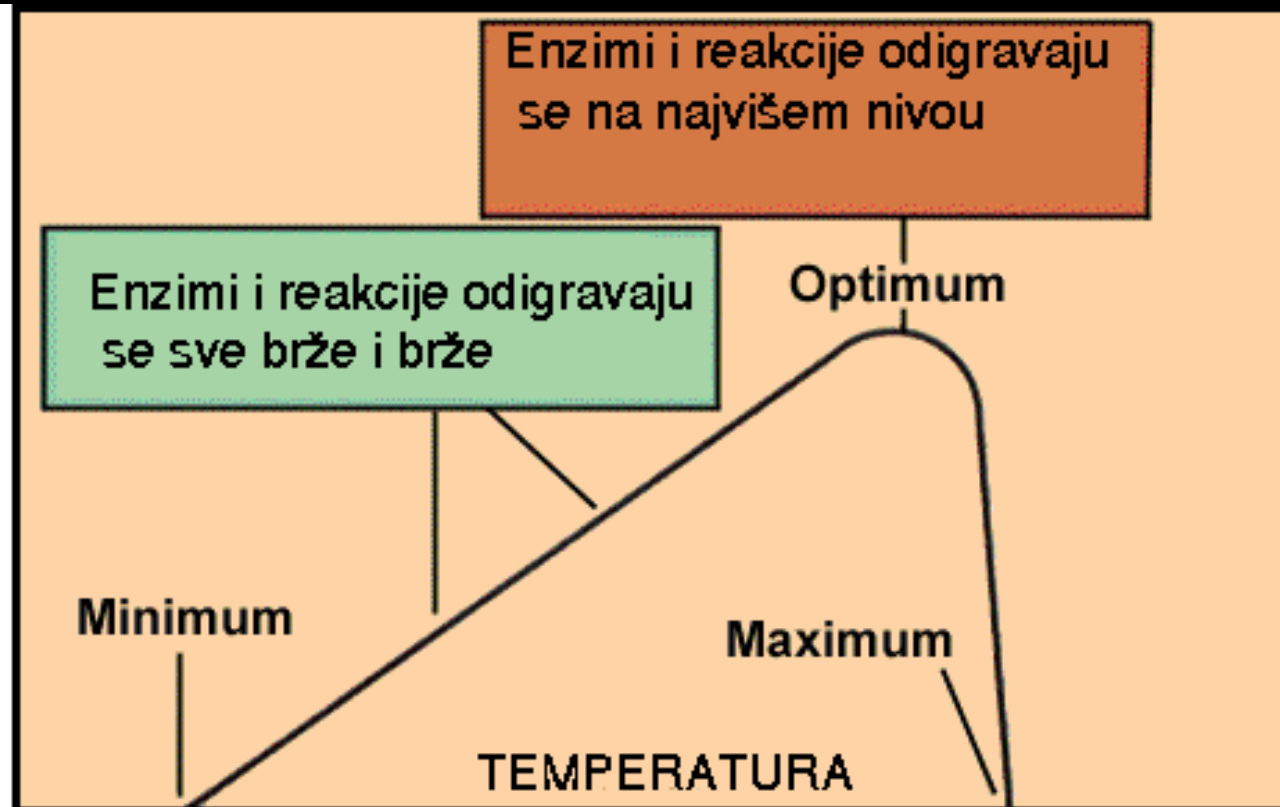


Temperatura rasta

- Minimalna
- Optimalna
- Maksimalna

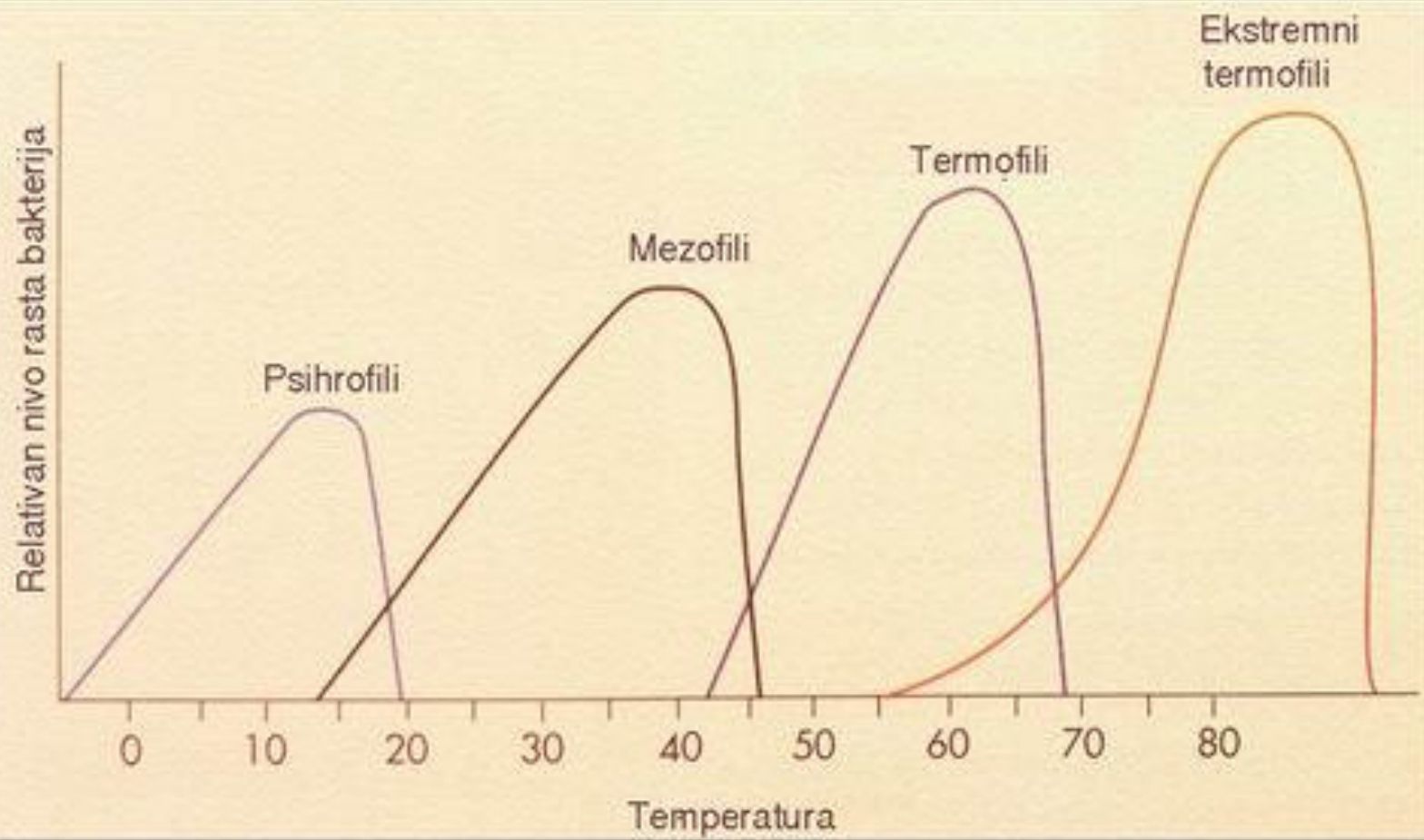
	Min	Opt	Max
■ Psihrofilne	0°C	15-20°C	22-25°C
■ Mezofilne	5-25°C	30-37°C	40-50°C
■ Termofilne	40-50°C	50-60°C	do 80°C

BRZINA RASTA



Neadekvatna propustljivost
ćelijske membrane

Denaturacija proteina
- termalna liza

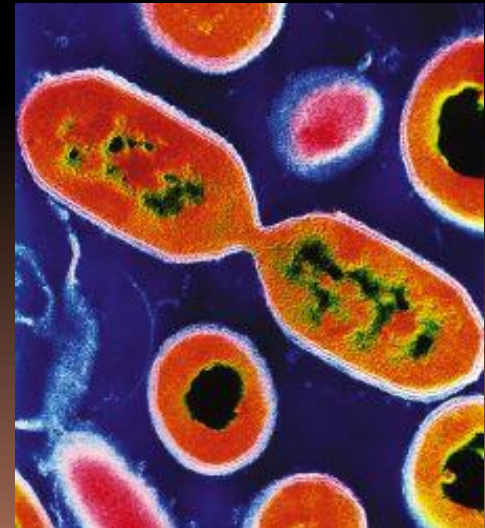


Koncentracija jona vodonika - pH

- Kao i za temperaturu postoji minimalna, optimalna i maksimalna vrednost
- Acidofilne <pH 4
 - Raspon 0.1-5.4
 - Lactobacillus pH 5 - 5,5
 - Kisela sredina sprečava razmnožavanje proteolitičkih bakterija- konzerviranje hrane
- Neutrofilne optimalna 7,2-7,4
 - Raspon 5,4-8,5
- Alkalifilne
 - Vibrio cholerae pH 8,5 - 9,5
 - Raspon 7.0-11.5

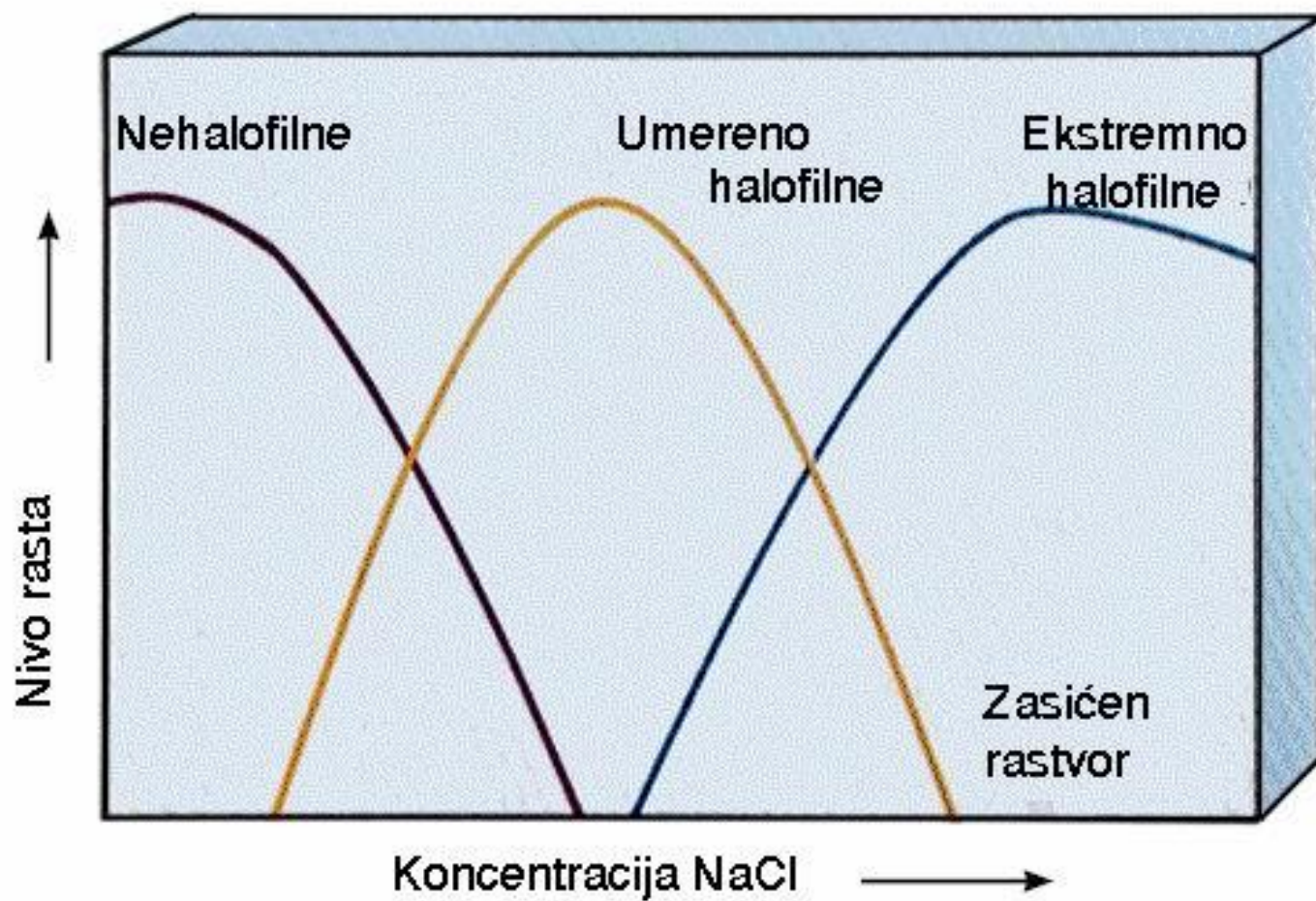
Vlaga i osmotski pritisak

- Bakterije : 80-90 % voda – A_w – aktivnost vode
- Plazmoliza : ćelije u hipertoničnoj sredini gube vodu posledica skupljanje - smrt
- Liza : hipotonična sredina pucanje ćelijskog zida



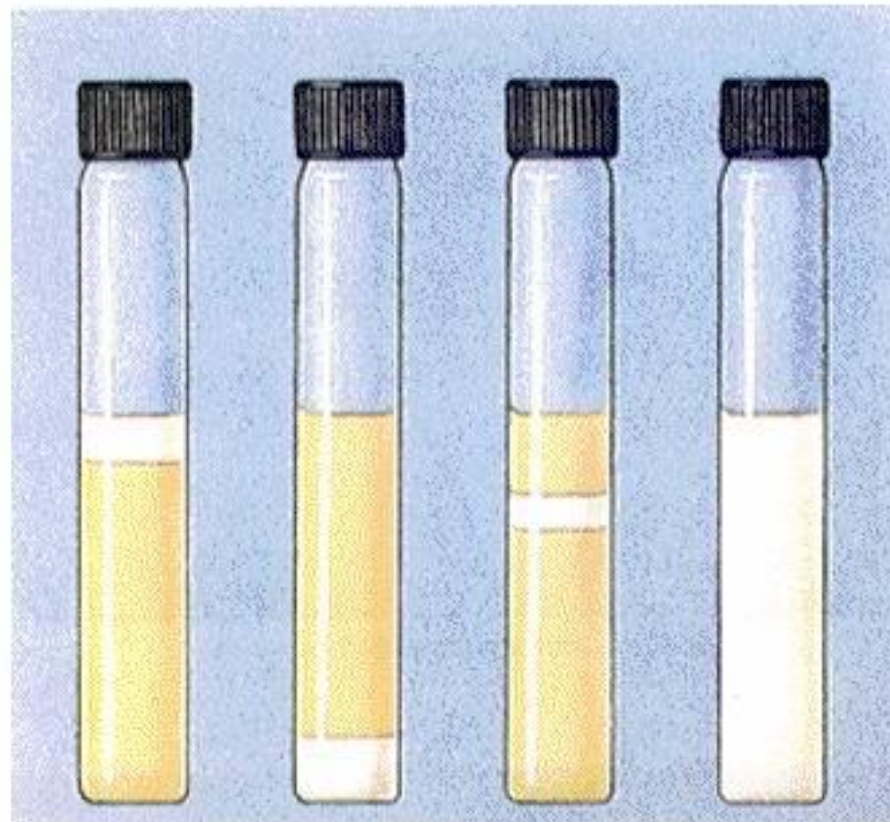
Halofili – mikroorganizmi koji zahtevaju NaCl

- Blagi halofili do 6 % NaCl
- Srednji halofili 6 – 15 % NaCl
- Ekstremni halofili 15 -30 % NaCl
- Bakterije koje mogu da rastu u sredini sa NaCl ali bolje rastu bez njega - halotolerantne



Kiseonik

- Striktni aerobi - neophodan O_2
- Mikroaerofili – aerobi ali smanjena koncentracija
- Striktni anaerobi – toksičan O_2
- Fakultativni anaerobi – mogu se razmnožavati u sredini i sa i bez O_2
- Aerotolerantni anaerobi – anaerobi koji tolerišu prisustvo O_2



Obligatni
aerobi

Obligatni
anaerobi

Mikro-
aerofili

Fakultativni
anaerobi

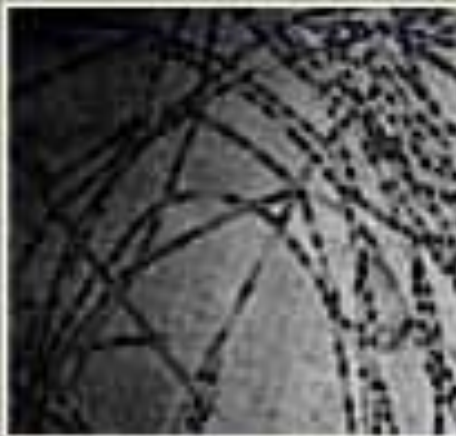
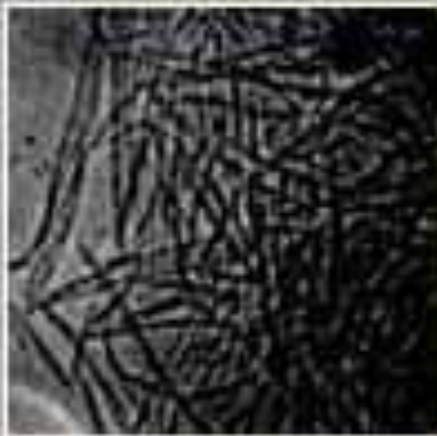
Toksično delovanje vodonik peroksida

- Katalaza $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- Peroksidaza $2 \text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$
- Superoksid dismutaza



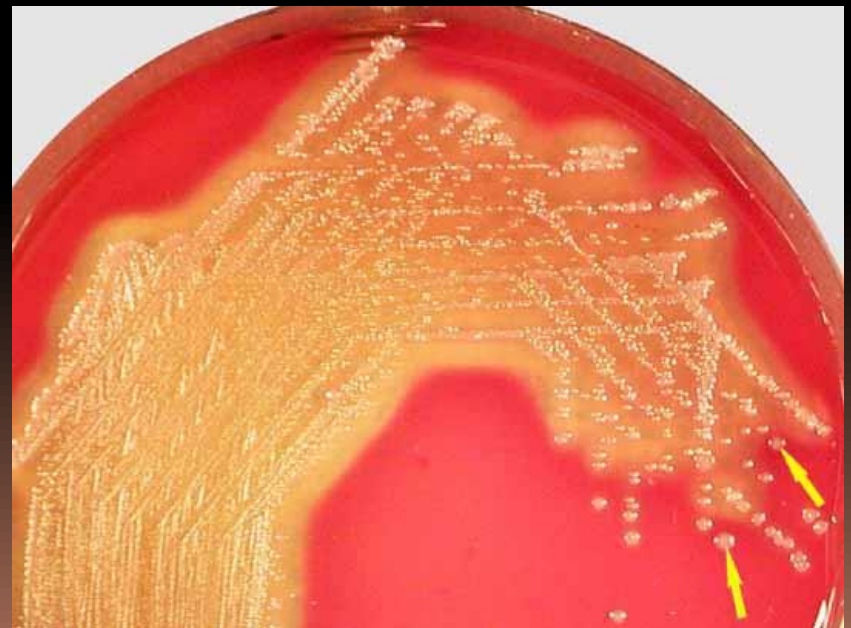
Hranljive podloge

- Precizno definisane
- Izvor ugljenika i energije
- Makroelementi – N, S, P, Mg, Ca, K
- Mikroelementi – vitamini, minerali, aminokiseline
- ...
- Nedefinisani kompleksi – ekstrakt govedeg mesa, kvasac, pepton, soja, sadržaj buraga



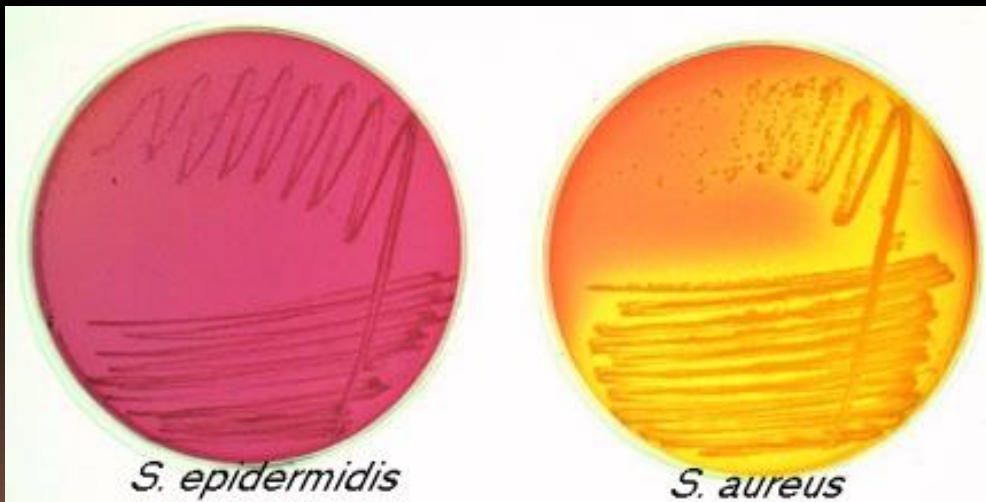
Hranljive podloge

- Hemijski definisane podloge – sintetske
- Kompleksne podloge koje sadrže i nedefinisane kompleksne materije

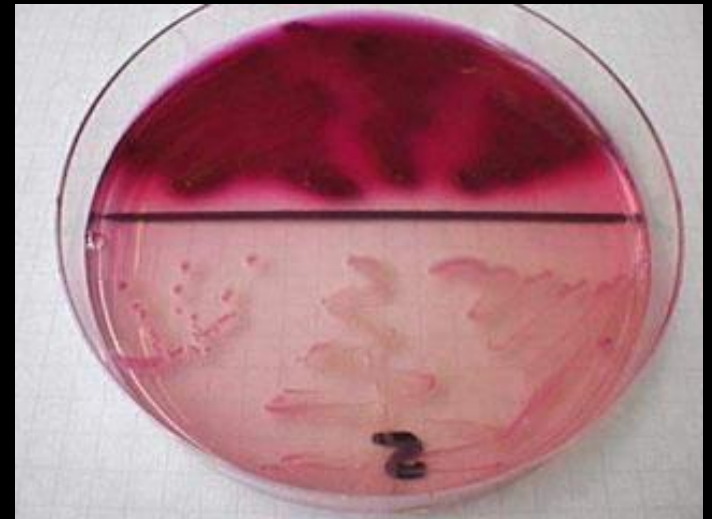


Hranljive podloge

- Selektivne podloge
- Diferencijalne podloge



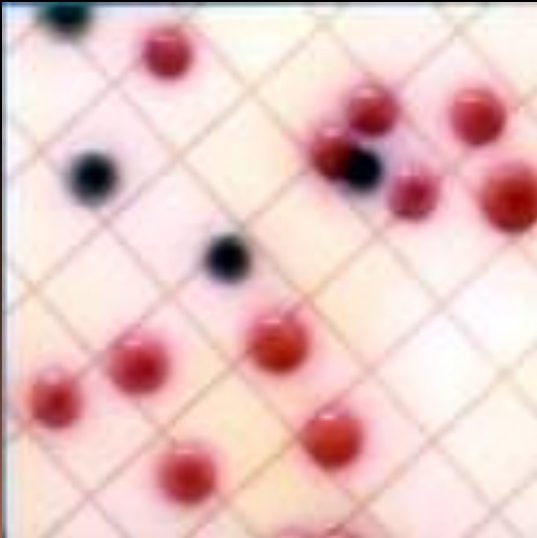
Manitol slani agar



MacConkey agar

Hranljive podloge

- Podloge za obogaćenje
- Specijalne podloge
- Podloge sa hromogenima



Hranljive podloge za anaerobe

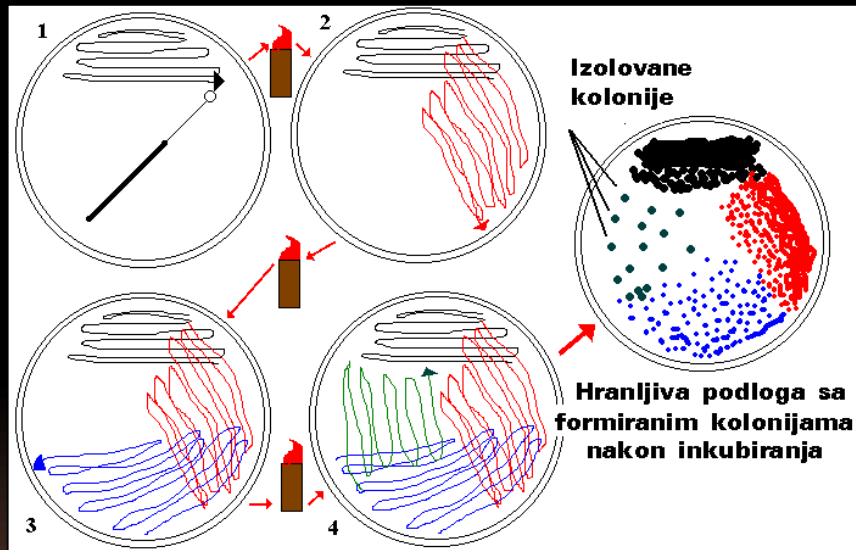
- Definisana ili kompleksna mora biti bez kiseonika
- Kuvanjem i hlađenjem podloge
- Dodavanjem sredstava za redukciju poput Na_2S , Na tioglikolat...
- Rast u posebnim loncima ili komorama za anaerobe



Identifikacija bakterija

- Morfološki izgled na mikroskopskom preparatu
- Tintorijelne osobine - sposobnost bojenja
- Uslovi kultivisanja
- Izgled kolonija na hranljivim podlogama
- Fiziološke i biohemijske karakteristike
- Antigenska građu
- Patogena svojstva

Dobijanje čiste kulture

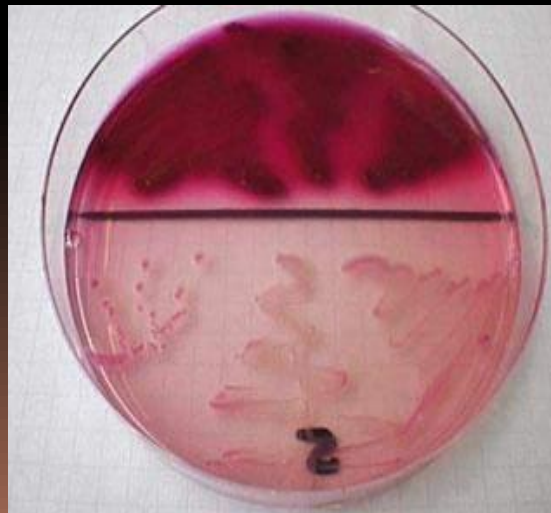
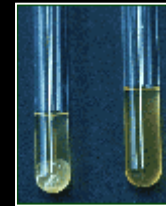
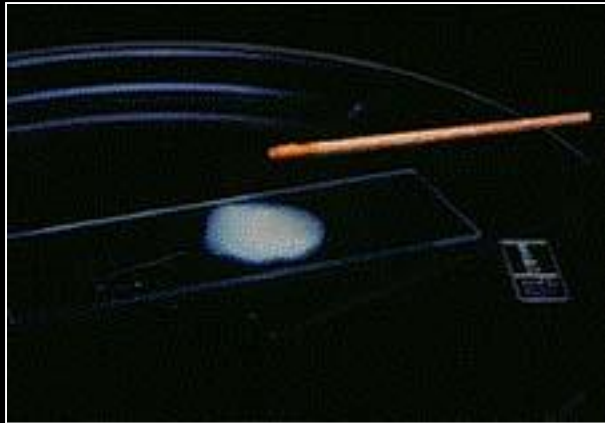




Metabolički profil

- Zbog posedovanja različitih enzima bakterije se odlikuju određenim metaboličkim profilom
 - Ispitivanje njihovih fizioloških i biohemijskih osobina obezbeđuje preciznu identifikaciju vrste mikroorganizama
- 

Klasično izvođenje biohemijskih reakcija



Primeri komercijalnih testov





KONTROLA - SPREČAVANJE “RASTA” MIKROORGANIZAMA

1. Ubijanje mikroorganizama
2. Inhibicija njihovog rasta i
razmnožavanja



Uticaj faktora spoljašnje sredine

- Faktori koji ubijaju - **cidno dejstvo**
- Faktori koji sprečavaju rast i razmnožavanje - **statsko dejstvo**
- Primer 1 - baktericidno vs bakteriostatsko
- Primer 2 – baktericidno vs fungicidno vs virucidno

Faktori koji utiču na efikasnost “ubijanja” mikroorganizama

- Tip mikroorganizma
- Broj mikroorganizama
- Karakteristika primenjivane fizičke ili hemijske metode (visina temperature, dužina delovanja, koncentracija...)
- Prisustvo organskih jedinjenja
- “Priroda” predmeta

Otpornost mikroorganizama

Manje otporni

Bakterijske
spore

Mycobacteria

"Nelipidni" virusi

Gljivice

Bakterije

"Lipidni virusi"



Sterilizacija

- Kompletно uništavanje ili eliminisanje svih živih mikroorganizma – bakterija (i spora i vegetativnih oblika), gljivica i virusa
- Sterilizacija se može postići primenom toplote, zračenja, hemijskih sredstava i fizičkim uklanjanjem mikroorganizama

Dezinfekcija

- Redukcija broja mikroorganizama
- Cilj - uništavanje patogenih mikroorganizama, ali ne obavezno i njihovih spora
- Primena i hemijskih i fizičkih metoda

“Antiseptična”

- Redukcija broja mikroorganizama sa površine kože i sluznica
- Primena hemijskih sredstava koja ne ispoljavaju toksičan efekat na tkiva
- Često se primenjuju hemijska jedinjenja koja se primenjuju i kod dezinfekcije samo u nižim koncentracijama



Fizički faktori

- Temperatura
 - Zračenje
 - Filtracija
 - Sušenje
 - Osmotski pritisak
- 

Primenjena temperatura

- Visoka i niska temperatura
- Niže temperature – usporen metabolizam
- Više temperature – do izvesnih granica pojačana aktivnost, a iznad njih letalno delovanje

Visoka temperatura - toplota

- Najznačajniji i najčešće primenjivani metod sterilizacije
- Faktori efikasnosti
 - Visina temperature
 - Vreme trajanja
- Vlažna i suva toplota

Suva toplota



- Direktna primena plamena
 - Žarenje - eza
 - Opaljivanje – rub epruvete, zapušači
 - Spaljivanje – uništavanje materijala
- Primena vrelog vazduha
 - Suvi sterilizator
 - 160 °C 2 sata
 - 170 °C 60 minuta
 - 180 °C 30 minuta

Suvi sterilizator



Vlažna toplota

- Topla voda – zagrevanje vode do 100 °C
 - Tindalizacija – frakciona sterilizacija 56-60 °C 3 dana
 - Pasterizacija - 62,8 °C 30 minuta
71,7 °C 15 sekundi
- Kuvanje
 - 100 °C minimalno 30 minuta
- Strujeća vodena para
 - Kohov lonac do 100 °C - Dezinfekcija 60 -90 minuta
- Sterilizacija - frakciono 3 dana
- Vodena para pod pritiskom - Autoklav

Autoklav

temp - 121 °C, pritisak 1 bar, vreme 15 minuta

temp - 134 °C, pritisak 2,2 bara, vreme 3

minuta





Niska temperatura

- Hlađenje i zamrzavanje
- Većina mikroorganizama ne raste i ne razmnožava se na 0 °C
- Duža održivost namirnica
- Psihrofilni i psihrotrofni mikroorganizmi
 - *Listeria monocytogenes*

Zračenje

- UV zračenje

- Talasna dužina 253,7 nm živina lampa
- Genetski materijal apsorbuje energiju – nastanak pirimidinskih dimera

- Jonizujuće zračenje

- γ zračenje – izvor kobalt 60
- Direktno i indirektno oštećenje DNK i RNK

Filtracija



- Duboki filteri
 - Infuzorijska zemlja, porcelan, azbest, staklo
- Membranski filteri
 - Celuloza, polivinil fluorid, polikarbonat
- Diametar pora 0,2 μm
- Vazduh, gasovi i tečnosti

Sušenje

- Isušivanje – $A_w < 0,90$
- **Liofilizacija** – sušenje + zamrzavanje
- Osmotski pritisak
 - Visoka koncentracija soli, šećera



Biocidi - Hemijski faktori

- Hemijska aktivna sredstva
- Širi opseg delovanja od antibiotika
- Inaktivišu mikroorganizme

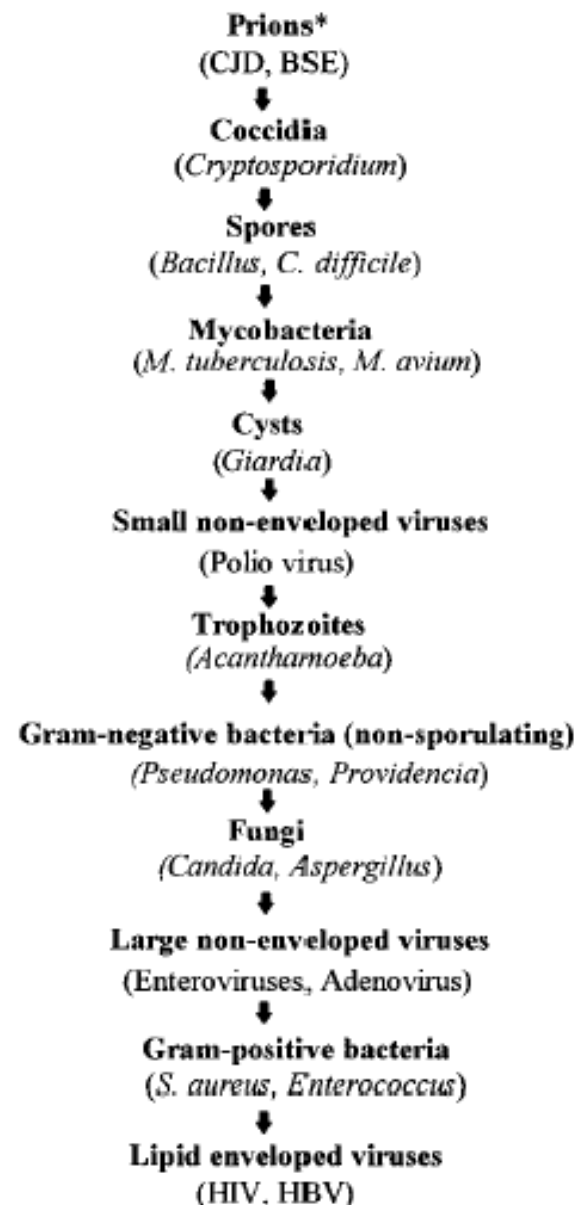
1. Dezinfekcija

2. Sterilizacija

3. Antiseptika

4. Prezervacija

Otpornost mikroorganizama prema biocidima





Efikasnost biocida

- Primena jednog ili više sredstava u kombinaciji
 - Prisustvo organskih materija
 - Temperatura
 - pH vrednost
 - Koncentracija
 - Metod primene
- 

Klasifikacija biocida prema hemijskoj građi

- **Alkoholi** – etanol, izopropanol **As, D, P**
 - Širok spektar delovanja – izuzetak spore
 - Etanol bolje deluje na viruse, izopropanol na bakterije
 - Koncentracija 60-90%
 - Bolje deluju uz prisustvo vode
 - Mehanizam – oštećenje membrane, denaturacija proteina, liza ćelije
- **Aldehidi** – glutaraldehid, formaldehid **D, S, P**
 - Delovanje na ćelijske omotačem sprečavaju germinaciju spora 0,1%, sporocidno delovanje 2%

Klasifikacija biocida prema hemijskoj građi

- Anelidi – triklokarbon As
 - Utiču na ćelijsku membranu, sapun
- Biguanidi – hlorheksidin As, D, P
 - Širiko primena, ne iritira kožu, destrukcija ćelijske membrane i koagulisanje citosola mikroorganizama
- Bisfenoli – triklosan, heksahlorofen As, Dez, P
- Diamidini – propamidin As, P

Klasifikacija biocida prema hemijskoj građi

- Halogeni elementi

- hlor D, As, San
hipohlorit, oksidativno sredstvo
- jod D, As, San

- Halofeni – hloroksilenol As, P

- Derivati teških metala

- srebro P, As
srebro nitrat
- živa D

Klasifikacija biocida prema hemijskoj građi

- Peroksigeni - Oksidansi

denaturacija proteina, povećanje ćelijske propustljivosti

vodonik peroksid 3-90 %

D, S

ozon

persirćetna kiselina <0,3 %

- Fenoli i krezoli

D, P

deluju na citoplazmatsku membranu

- Deterdženti – anjonski, katjonski, nejonski, amfotenzidi

Klasifikacija biocida prema hemijskoj građi

- **Kvaternerna amonijumova jedinjenja** As, D, P, San
površinski aktivne materije – surfaktanti
– katjonska grupa deterdženata
- **Kiseline i baze**
- **Biocidi u vidu pare**
 - Etilen oksid D, S
 - Formaldehid
 - Vodonik peroksid