

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению лабораторных работ

по дисциплине «**Общая микробиология**»

для студентов направления подготовки

19.03.03 Продукты питания животного происхождения

Направленность (профиль) Пищевая инженерия и продуктивное программирование

Введение

Методические указания предназначены для подготовки студентов направления подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения, профилю «Пищевая инженерия и продуктивное программирование» к лабораторным работам по дисциплине «Общая микробиология». Включают краткое изложение теоретических основ, рекомендации по выполнению и оформлению работ, вопросы для самоконтроля, список рекомендуемой литературы.

Цель освоения дисциплины «Общая микробиология» - формирование профессиональных (ПК-1) компетенций будущего бакалавра по направлению подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения, профилю «Пищевая инженерия и продуктивное программирование».

В задачи дисциплины входит изучение систематики, морфологии, физиологии, генетики микроорганизмов, действия на них факторов внешней среды, принципов промышленного культивирования, методов идентификации и учета микроорганизмов.

Компетенции обучающегося, формируемые в результате изучения дисциплины

Индекс	Формулировка:
ПК-1	Способен проводить работы по обработке и анализу научно-технической информации, проводить экспериментальные исследования и стандартные испытания, оформлять результаты исследований и разработок

1. Перечень лабораторных работ

№ Темы дисциплины	Наименование тем лабораторных работ
1.	Организация работы в микробиологической лаборатории. Устройство светового микроскопа и правила работы с ним
2.	Виды микроскопии
3.	Методы приготовления препаратов в микробиологии
4.	Строение клеток и морфологические типы бактерий
5.	Методы культивирования микроорганизмов. Питательные среды.
6.	Методы и средства стерилизации в микробиологии.
7.	Методы выделения чистых культур микроорганизмов.*
8.	Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов.
9.	Определение вида выделенной культуры микроорганизмов.
10.	Методы количественного учета микроорганизмов. *
11.	Изучение морфологических и культуральных свойств мицелиальных грибов (плесеней).
12.	Изучение морфологических и культуральных свойств сумчатых грибов (дрожжей). *
13.	Методы исследования объектов окружающей среды (посев)
14.	Методы исследования объектов окружающей среды (учет)

Лабораторная работа № 1

Организация работы в биологической лаборатории. Устройство светового микроскопа и правила работы с ним.

Цель: изучить устройство и назначение оборудования микробиологической лаборатории, усвоить правила работы в ней.

Техника безопасности

Для получения достоверных результатов исследований, обеспечения личной безопасности и безопасности окружающих при выполнении лабораторных работ необходимо соблюдать следующие основные правила.

1. Каждый студент в лаборатории работает на постоянном месте, выполняя задания индивидуально. Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта.
2. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов (в том числе портфелей и сумок).
3. В лаборатории нельзя находиться в верхней одежде, принимать пищу, курить; на столах не должно быть посторонних предметов, в т.ч. одежды и сумок.
4. Студент должен работать в чистом застегнутом халате, волосы должны быть подобраны под специальную шапочку или косынку.
5. Студент должен строго соблюдать общие правила техники безопасности работы с электроприборами, химическими веществами и спиртовками, а также специальные правила техники выполнения микробиологических работ.
6. Перед началом работы обязательно проверяют наличие и исправность приборов, посуды, спиртовых горелок и др. О замеченных недостатках, неисправностях сообщают преподавателю или лаборанту.
7. При работе с культурами микроорганизмов необходимо соблюдать все правила микробиологической техники. На пробирках, колбах, чашках Петри должна быть сделана надпись, содержащая название культуры, дату засева, фамилию студента и номер группы.
8. Все предметы, использованные при работе с культурами, должны быть обеззаражены либо обжиганием в пламени горелки (петли, иглы), либо погружены в дезинфицирующий раствор (предметные и покровные стекла, пипетки, шпатели).
9. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место и сдать его лаборанту, вымыть руки с мылом.

Теоретическое обоснование

К оборудованию биологической лаборатории относятся: микроскопы, штативы с инструментами – бактериологическими петлями, иглами, пинцетами, скальпелями; стерильная посуда, в т.ч. чашки Петри, пипетки, пробирки.; спиртовки, штативы с капельницами, содержащими красители и иммерсионное масло; стеклянные кюветы со стеклодержателями; предметные и покровные стекла; электронные счетчики для подсчета колоний микроорганизмов; термостаты для создания оптимальных условий развития культур; холодильники для хранения биологических образцов; вспомогательные помещения - автоклавная и моечная.

Основными рабочими инструментами в лаборатории являются биологические световые микроскопы: монокулярный **микроскоп** «Микмед» (ЛОМО, Россия) и бинокулярный микроскоп . Primo Star (Carl Zeiss, Германия) (рис.1).

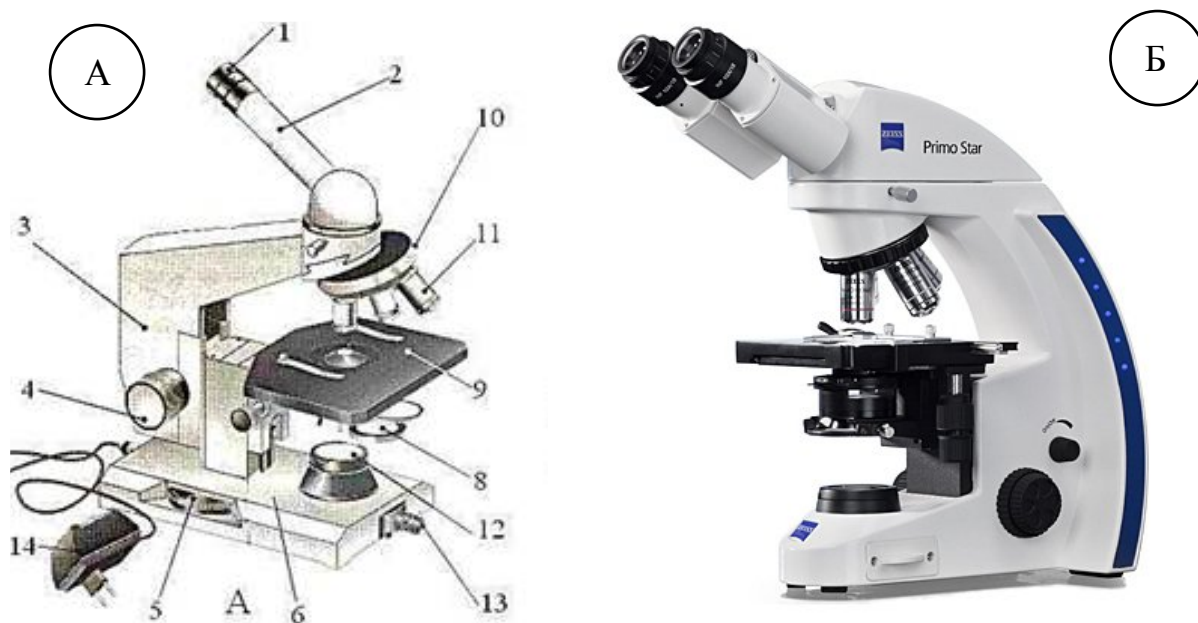


Рисунок 1 – Схемы световых микроскопов Микмед (А) и Primo Star (Б).

Световой микроскоп состоит из двух основных частей:

- ♦ механической, включающей штатив (основание, тубусодержатель), предметный столик с клеммами для закрепления предметного стекла, макрометрический (для перемещения тубуса и грубой настройки изображения) и микрометрический (для тонкой настройки) винты, вращающийся револьвер для крепления объективов, тубус и кронштейн конденсора;
- ♦ **оптической**, включающей в свою очередь две системы:

осветительную, в которую входит **источник света** (лампочка или зеркало), **ири-с-диафрагма** (диск, состоящий из тонких подвижных металлических пластин-сегментов и предназначенный для регулирования интенсивности освещения) и **конденсор** (система линз, которые собирают лучи света в пучок в плоскости просматриваемого препарата);

наблюдательную, в которую входят объективы и окуляры.

Объектив является основной оптической частью микроскопа, состоит из системы линз, заключенных в металлическую оправу. Увеличение объектива зависит от фокусного расстояния передней (**фронтальной**) линзы, остальные линзы являются **коррекционными**, т.е. служат для устранения дефектов изображения оптических систем – сферической и хроматической аберраций. На оправе объектива указаны цифры, показывающие увеличение (обычно x8, x20, x40, x60, x90) и другие характеристики данного объектива (рис.2).



Рисунок 2 – Устройство объектива

Объективы бывают сухие (между фронтальной линзой и препаратом находится воздух) и иммерсионные (специальное иммерсионное масло). К иммерсионным относятся объективы с большим увеличением (x90), для которых необходима максимальная освещенность препарата. Для устранения светорассеивания применяют жидкости, показатель преломления которых близок к показателю стекла, например, кедровое или касторовое масло. Фокусное расстояние объективов большого увеличения (1,9,2,1 мм) позволяет исследовать объект, не поднимая объектив из капли иммерсионного масла, что создает однородную оптическую среду между линзой и препаратом (рис. 3).

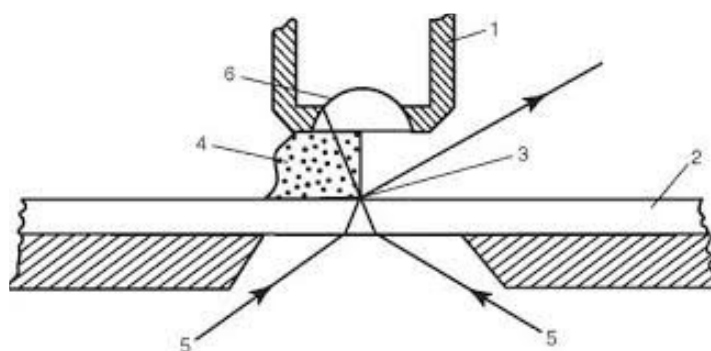


Рисунок 3 – Сравнение сухого и иммерсионного объектива (1 – объектив, 2 – предметное стекло, 3 – центр фокусировки, 4 – иммерсионное масло, 5 – лучи света, 6 – линза объектива)

Окуляр состоит из двух линз: глазной (верхней) и собирающей (нижней), увеличивающих изображение, данное объективом, в 7, 10 или 15 раз.

Общее увеличение микроскопа равно произведению увеличения объектива на увеличение окуляра: например, $100 \times 15 = 1500$ – максимальное увеличение оптического микроскопа.

Фокусное расстояние – рабочее расстояние между объективом и верхней частью наблюдаемого объекта. Чем больше увеличение объектива микроскопа, тем обычно меньше его фокусное расстояние.

Разрешающая способность микроскопа – минимальное расстояние между двумя точками рассматриваемого предмета, при котором они не сливаются в одну и предмет виден отчетливо (0,21 мкм).

Аппаратура и материалы: биологические световые микроскопы, готовые временные и постоянные биологические препараты; иммерсионное масло; бинокулярный микроскоп, готовые препараты, плакаты и атласы по теме «Виды микроскопии».

Порядок и методика выполнения работы

1. Записать, выучить и соблюдать основные правила техники безопасности работы в лаборатории.
2. Ознакомиться с оборудованием биологической лаборатории.
3. Изучить устройство светового микроскопа и заполнить таблицу.

Таблица - Устройство светового монокулярного микроскопа

Часть, система	Устройство	Описание, назначение

4. Используя рисунок 1, зарисовать и подписать основные части микроскопа.

5. Записать в тетради и выучить последовательность действий при работе с микроскопом, обратив особое внимание на работу с иммерсионным объективом.

Правила работы с микроскопом БИОЛАМ и иммерсионным объективом:

- снять защитный чехол, поднять тубус, включить вилку в розетку;
- поместить препаратное стекло с каплей иммерсионного масла на предметный столик, закрепить его клеммами;
- проверить установку объектива вращением револьвера до щелчка;
- под контролем глаза (вид сбоку) с помощью макрометрического винта опустить тубус почти до соприкосновения фронтальной линзы с предметным стеклом;
- включить лампочку; глядя в окуляр, медленно поднимать тубус макрометрическим винтом до появления изображения; настроить резкость изображения с помощью микрометрического винта;
- с помощью ручек кронштейна конденсора и ирис-диафрагмы отрегулировать освещение;
- просмотреть препарат в разных полях зрения, не поднимая объектива и осторожно перемещая стекло в разных направлениях;
- закончив работу, выключить лампочку, отключить электричество, протереть салфеткой объектив, опустить объектив, надеть чехол.

5. Просмотреть под микроскопом при разных увеличениях и зарисовать в тетради готовые временные и постоянные препараты в соответствии с заданием преподавателя. **Зарисовка препарата проводится в круге диаметром 5 см или в квадрате 5х5 см. Справа от рисунка должна быть подпись, содержащая необходимую информацию о препарате (как правило, название объекта исследования, тип препарата, вид окраски, описание структуры и свойств рассматриваемого объекта), под рисунком указывается общее увеличение, при котором препарат просматривался.**

Содержание отчета и его форма

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: **дату, название, цель работы***, правила техники безопасности выполнения работ в биологической лаборатории; заполненную таблицу с подробным описанием всех частей микроскопа; определения общего увеличения и разрешающей способности микроскопа;

схему устройства микроскопа; правила работы со световым микроскопом; зарисовки просмотренных препаратов.

При оформлении работы сокращения не допускаются! Защита работы проводится в форме письменного опроса на следующем занятии.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Основное оборудование биологической лаборатории и его назначение.
2. Правила техники безопасности в биологической лаборатории.
3. Устройство светового микроскопа (части и системы).
4. Устройство и назначение конденсора и ирис-диафрагмы.
5. Устройство и назначение объективов и окуляров.
6. Общее увеличение, фокусное расстояние и разрешающая способность микроскопа.
7. Правила работы с иммерсионным объективом.

Лабораторная работа № 2

Виды микроскопии

Цель: изучить сущность разных видов световой и электронной микроскопии, освоить методику работы с бинокулярным микроскопом.

Теоретическое обоснование

Для исследования объектов малой величины, лежащей за пределами видимости светлопольной микроскопии, используют другие виды световой микроскопии, а также электронную микроскопию (рис. 1).



Рисунок 1 – Классификация основных методов микроскопии

Для темнопольной микроскопии применяют специальные устройства - конденсор и диафрагму темного поля, которые пропускают только боковые лучи и создают резкий боковой контраст на темном поле, просматриваемые объекты при этом выглядят светлыми.

Фазово-контрастная микроскопия позволяет получать изображения неконтрастных неокрашенных прозрачных объектов за счет преобразования невидимых изменений световой волны по фазе в видимые изменения по амплитуде. Для получения фазовоконтрастного изображения свет от источника разбивается на два когерентных световых луча, один из них называют опорным, другой предметным, которые проходят разные оптические пути. Микроскоп юстируют таким образом, чтобы в фокальной плоскости, где формируется изображение, интерференция между этими двумя лучами гасила бы их.

Поляризационная микроскопия позволяет изучать свойства гистологических структур, обладающих способностью двойного лучепреломления. Для реализации метода оптический микроскоп снабжают дополнительно двумя поляризационными фильтрами. Первый фильтр помещают непосредственно между осветителем объектом (поляризатор). Он преобразует обычный свет в линейно-поляризованный. Второй поляризационный фильтр помещают между объективом и глазом исследователя (анализатор). Он служит для анализа поляризованного света, прошедшего через объект исследования.

Люминесцентная микроскопия основана на освещении способного к свечению объекта сине-фиолетовыми лучами (460 нм) или ультрафиолетовыми лучами с длиной волны 300,400 нм. Собственная (первичная) люминесценция биологических объектов бывает часто слабо выражена, поэтому обычно препарат обрабатывают веществами-флюорохромами, которые создают наведенную (вторичную) флюоресценцию.

Электронная микроскопия позволяет получать увеличение в десятки и сотни тысяч раз. Роль световых лучей играет поток электронов, а линз – электромагнитные поля. Электронные микроскопы делятся на просвечивающие (трансмиссионные), в которых поток электронов проходит сквозь тонкий срез объекта (300,600Å), и сканирующие, которые дают возможность получить изображение рельефа поверхности объекта.

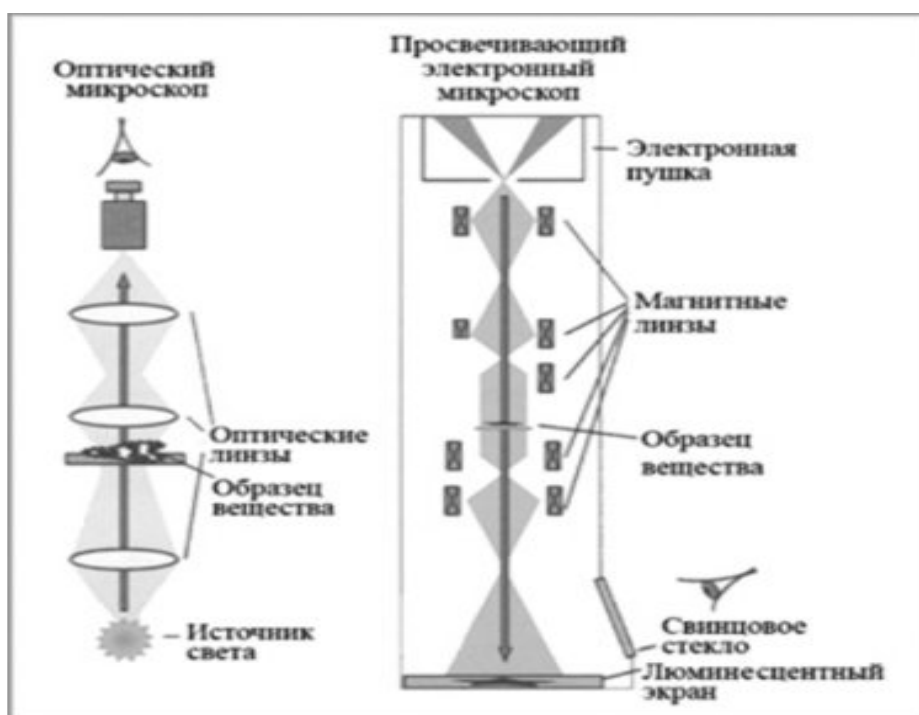


Рисунок 2 – Схема устройства светового и электронного микроскопов

Таблица 1 Сравнение светового и электронного микроскопа

	Трансмиссионный электронный микроскоп	Световой
Источник излучения	электроны	свет
Длина волны	например, 0,005 нм при 50 кВ	400 - 700 нм
Максимальное полезное увеличение	x250000 (на экране)	x1500
Максимальное разрешение		
на практике	0,5 нм	200 - 500 нм
в теории	0,2 нм	200 нм

Линзы	электромагниты	стеклянные
Объект	не живой, обезвоженный, относительно маленький или тонкий	живой или неживой
Распространённые красители	содержат тяжелые металлы, которые отражают электроны	цветные красители
Изображение	чёрно-белое	цветное

Аппаратура и материалы: биологические световые микроскопы, готовые временные и постоянные биологические препараты; иммерсионное масло; бинокулярный микроскоп, готовые препараты, плакаты и атласы по теме «Виды микроскопии».

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить сущность разных видов световой и электронной микроскопии по плакатам и атласам, записать краткую информацию в тетради.
2. Сравнить световую и электронную микроскопию, результаты оформить в виде рисунка и таблицы.
3. Освоить работу с бинокулярным микроскопом, просмотреть препараты и зарисовать их в тетради.

Содержание отчета и его форма

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: **дату, название, цель работы***, описание сущности разных видов микроскопии; таблицу сравнения электронной и световой микроскопии; зарисовки просмотренных препаратов.

При оформлении работы сокращения не допускаются! Защита работы проводится в форме письменного опроса на следующем занятии.

Контрольные вопросы и защита работы

8. Классификация видов микроскопии.
9. Сущность фазово-контрастной микроскопии.
10. Сущность темнопольной микроскопии.
11. Сущность люминесцентной микроскопии.
12. Сущность поляризационной микроскопии.
13. Виды и сущность электронной микроскопии.
14. Сравнение электронной и световой микроскопии.

Лабораторная работа № 3

Методы приготовления препаратов в микробиологии

Цель работы: освоить методы приготовления и особенности изучения препаратов живых и фиксированных клеток.

Теоретическое обоснование

Выбор метода приготовления микробиологических препаратов зависит от цели и объекта исследования. В микробиологии чаще всего используют **фиксированные окрашенные препараты**, в которых клетки убиты и прикреплены к предметному стеклу.

Приготовление фиксированного окрашенного препарата включает 4 основных этапа.

- **Приготовление мазка.** На предметное стекло наносят каплю воды, стерильной бактериологической петлей вносят небольшое количество исследуемого материала, взятого из плотной питательной среды. Материал аккуратно перемешивают с каплей и равномерно, тонким слоем распределяют (размазывают) ее петлей на площади 2-3 см². При использовании жидких биологических объектов или культур, выращенных на жидких питательных средах, каплю воды не наносят.
- **Сушка.** Мазок высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем спиртовки.
- **Фиксация.** Полностью высушенный мазок фиксируют, проводя 3-4 раза через верхнюю часть пламени. При фиксации клетки погибают, чем обеспечивается безопасность работы и лучшее их прокрашивание, мазок прикрепляется к стеклу и при окрашивании не смывается. Иногда используют химическую фиксацию, например, обработку препарата спиртом.
- **Окраска.** На мазок наливают краситель, выдерживают определенное время (в зависимости от препарата и вида красителя), после чего сливают краску, промывают мазок водой, аккуратно обсушивают фильтровальной бумагой, досушивают мазок окончательно на воздухе и микроскопируют.

Фиксированный мазок может быть окрашен методом простой или сложной окраски. При **простой окраске** используется один краситель и выявляются морфологические свойства – форма, взаимное расположение и размер клеток. **Сложная окраска** препаратов заключается в последовательном окрашивании препарата несколькими красителями и позволяет дифференцировать виды клетки или выявить отдельные клеточные структуры. Примером сложной окраски является окраска по Граму, которая является важным этапом определения вида микроорганизма. Бактериальные клетки, способные образовывать с генцианвиолетом и йодом прочное, нерастворимое в спирте соединение фиолетового цвета, называются грамположительными. Другие после аналогичной обработки обесцвечиваются спиртом и называются грамотрицательными.

Для окраски препаратов применяют анилиновые красители в виде водных или спиртовых растворов. Различают основные, кислые и нейтральные красители. Окраска микроорганизмов – это сложный физико-химический процесс, связанный с явлениями адсорбции, капиллярности, химического сродства между красителем и веществом клетки. В микробиологии чаще всего используют основные красители, которые обладают наибольшим сродством к соединениям кислой природы, составляющим основу бактериальной клетки. Некоторые красители обладают избирательностью по отношению к отдельным компонентам клетки (ядерному веществу, включениям) и применяются для их выявления. К наиболее часто употребляемым красителям относятся метиленовый синий (раствор Леффлера), фуксин, генцианвиолет, нейтральрот, сафранин, пикрин, гематоксилин-эозин, судан III. В качестве вспомогательных средств применяют растворы йода (Люголя), кислот и щелочей, спирт и др.

При изучении **живых** клеток используют препараты **«раздавленная капля»** и **«висячая капля»**, которые позволяют изучать не только форму, размеры, взаимное расположение, но и подвижность клеток и организмов (рис 1). При этом не следует путать собственное движение объекта с броуновским (беспорядочное колебательное) или механическим (с током жидкости, в одном направлении) движением.

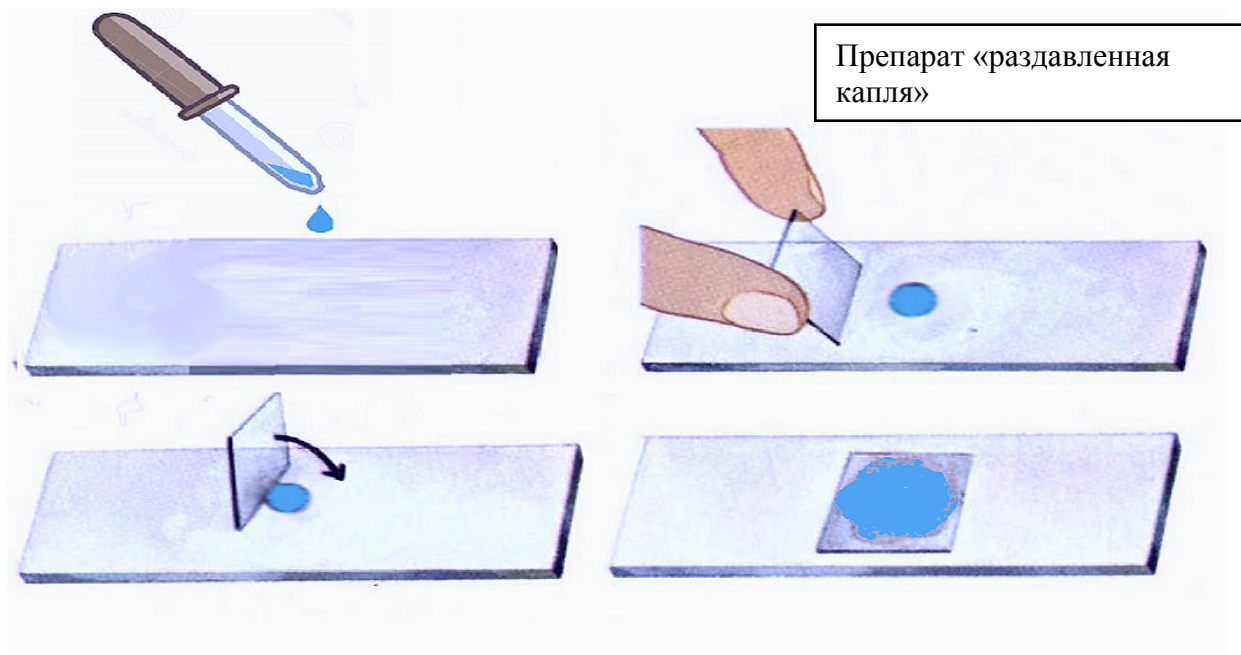
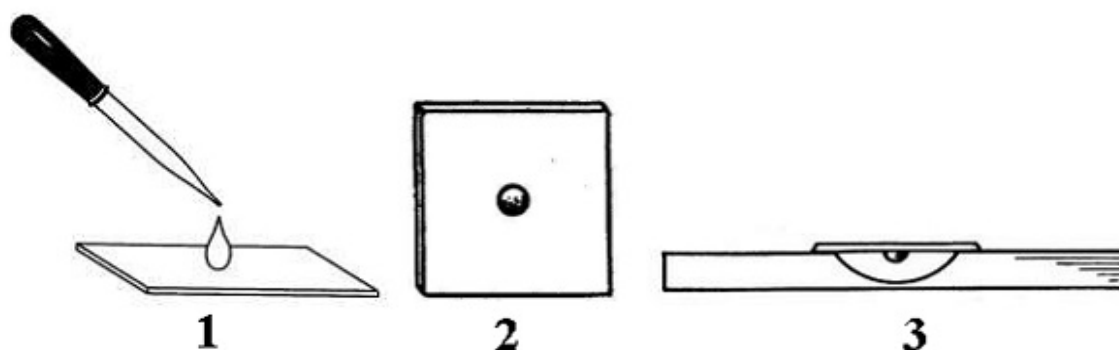


рис. Препарат "Висячая капля"



1-2: Нанесение суспензии или капли воды из водоема на покровное стекло.

Опустить на предметное стекло с лункой

Рисунок 1 – Методика приготовления препаратов живых клеток

Для приготовления препарата «раздавленная капля» на предметное стекло стерильной пипеткой наносят каплю жидкого биологического объекта или воды, в которую стерильной бактериологической петлей вносят исследуемый биологический объект (например, культуру микроорганизмов). Каплю накрывают покровным стеклом так, чтобы в жидкости не образовалось пузырьков воздуха. Избыток жидкости удаляют фильтровальной бумагой. Для приготовления препарата прижизненно окрашенных микроорганизмов к капле суспензии добавляют краситель, что позволяет дифференцировать живые и мертвые клетки. Для приготовления препарата «висячая капля» каплю исследуемого объекта наносят на покровное стекло и осторожно накладывают на него специальное предметное стекло с луночкой, края которой предварительно смазывают вазелином. Капля должна свободно уместиться в центре углубления. Препарат переворачивают и просматривают при разном увеличении.

Описанные выше операции применяются для приготовления **временных** препаратов. Для приготовления **постоянного** препарата на мазок наносят специальный клей (смолу), после чего сверху накладывают покровное стекло, придавливают его и удаляют излишки клея. Такой препарат может длительно храниться и использоваться.

Аппаратура и материалы: микроскоп, штатив с набором красителей, тушь, бактериологические петли, пипетки, предметные и покровные стекла, культуры микроорганизмов на плотных питательных средах (чашки Петри) и в жидких питательных средах (пробирки), вода из открытых водоемов; вспомогательное оборудование и материалы (спиртовки, стеклянные кюветы, емкости с дистиллированной водой, фильтровальная бумага и т.п.)

Техника безопасности

Так как в работе используется открытое пламя спиртовой горелки, следует особое внимание уделить правильной подготовке рабочего места для того, чтобы не было перекрестных движений рук над спиртовкой. Халаты должны быть застегнуты, волосы убраны под косынку или шапочку. Все работы с микроорганизмами ведутся только в стерильной атмосфере зажженной спиртовки! При работе с чашками Петри, в которых находятся колонии микроорганизмов, следует слегка приоткрывать, а не открывать крышку!

Порядок и методика выполнения работы: 1. Изучить назначение и сущность методов приготовления и окраски препаратов фиксированных и живых биологических объектов, описать их в тетради.

2. Приготовить фиксированные мазки из колоний микроорганизмов на плотных питательных средах в чашках Петри и из заквасок на жидких средах в пробирках, окрасить их простым методом, просмотреть под микроскопом при разном увеличении и зарисовать.

3. Приготовить неокрашенные препараты живых биологических объектов «раздавленная капля» или «висячая капля»; просмотреть под микроскопом и зарисовать.

Содержание отчета по лабораторной работе: подробное описание назначения, сущности методик и последовательности приготовления препаратов фиксированных и живых биологических объектов; зарисовки самостоятельно выполненных и просмотренных препаратов (правила зарисовки описаны в лабораторной работе №1).

Контрольные вопросы

1. Назначение и этапы приготовления фиксированного препарата с простой окраской.
2. Цели фиксации мазка.
3. Назначение и этапы приготовления препаратов живых клеток
4. Простая и сложная окраска препаратов.
5. Назначение и виды красителей, применяемых в микробиологии

Лабораторная работа №4 СТРОЕНИЕ КЛЕТОК И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ТИПЫ БАКТЕРИЙ

Цель: изучить строение прокариотической клетки и основные морфологические типы бактерий; закрепить навыки приготовления фиксированных препаратов с простой окраской и препаратов живых микроорганизмов; освоить методы сложной окраски препаратов бактерий.

Аппаратура и материалы: микроскоп, набор красителей, бактериологические петли, пипетки, предметные и покровные стекла, культуры микроорганизмов на плотных питательных средах (чашки Петри) и в жидких питательных средах (пробирки); вспомогательное оборудование и материалы (спиртовки, стеклянные кюветы, емкости с дистиллированной водой, фильтровальная бумага и т.п.)

Техника безопасности

При выполнении работ следует точно соблюдать правила приготовления и микроскопирования биологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить при максимальном увеличении микроскопа и зарисовать строение прокариотических клеток бактерий чистых культур различных морфологических типов.

2. Окрасить мазки методом простой окраски, просмотреть под микроскопом с иммерсионным объективом в разных полях зрения и зарисовать форму и взаимное расположение клеток микрококков, стрептококков, сарцин, непорообразующих палочек (бактерий), спорообразующих палочек (бацилл), извитых форм (спирохет).

3. Один из препаратов по заданию преподавателя окрасить по Граму или для выявления капсул, спор или жгутиков. Зарисовать увиденную под микроскопом картинку и сделать вывод о свойствах изученных микроорганизмов.

Окраска по Граму проводится в следующей последовательности:

- ♦ на фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу (для предотвращения попадания частиц нерастворившейся краски) и наливают раствор генцианвиолета (с избытком) на 1-2 мин;
- ♦ снимают фильтровальную бумагу и, не промывая водой, наливают на препарат раствор Люголя на 1 мин (мазок чернеет, на его поверхности появляется радужная пленка);
- ♦ аккуратно стряхивают смесь красителей и наливают на мазок спирт на 0,5, 1 мин;
- ♦ промывают мазок водой;
- ♦ дополнительно для выявления грамотрицательных микроорганизмов окрашивают мазок фуксином в течение 1-2 мин.

Окраска спор по методу Циля включает следующие этапы:

- подготовленный фиксированный мазок обрабатывают 5%-м раствором хромовой кислоты в течение 5-10 мин. и промывают водой;
- мазок окрашивают карболовым фуксином Циля при одновременном осторожном нагревании в течение 2-3 мин. (предметное стекло берут пинцетом и нагревают над пламенем горелки до появления паров, но не до кипения, по мере испарения краситель доливают по каплям, не допуская высыхания), затем промывают препарат водой;
- обесцвечивают препарат 1%-м раствором серной кислоты в течение 10-15 с и промывают препарат водой;
- окрашивают препарат метиленовым синим около 20 мин. Промывают водой, высушивают и микроскопируют.

Если препарат приготовлен правильно, вегетативные клетки должны быть синими, а споры красными.

Для выявления **капсул**, которые имеют консистенцию геля и обычно плохо просматриваются под микроскопом, чаще всего применяют негативные методы окраски, когда клетки остаются неокрашенными и ярко выделяются на окрашенном тушью фоне препарата. Исследуемый материал смешивают с каплей черной туши и готовят мазок. Высушенный мазок микроскопируют с иммерсионной системой.

Окраска капсул по методу Омелянского включает следующие этапы:

- на предметное стекло наносят каплю карболового фуксина Циля и каплю воды;
- вносят в каплю исследуемую культуру микроорганизмов и выдерживают 2-3 мин;

- добавляют каплю жидкой черной туши или 10%-го водного раствора нитрозина и тщательно перемешивают;
- накрывают каплю покровным стеклом и просматривают с объективом 40х или размазывают суспензию по стеклу, высушивают и микроскопируют с иммерсионным объективом.

Красители не проникают в капсулу, поэтому бесцветная капсула хорошо видна на общем темном фоне препарата и окрашенных в красный цвет клеток бактерий.

Задание выполняется в форме самостоятельной работы (проверка освоения методов приготовления фиксированных препаратов с простой окраской из разных сред): подготовить рабочее место, продумать последовательность действий, приготовить фиксированные мазки из культур микроорганизмов на плотной и жидкой питательной среде в соответствии с индивидуальным заданием, окрасить их методом простой окраски и по Граму. При зарисовке просмотренных под микроскопом препаратов следует обратить внимание на относительный размер клеток, их взаимное расположение, цвет красителя, расположение спор у спорообразующих палочек (особый интерес представляют вегетативные клетки с формирующимися спорами).

5. Изучить по плакатам и альбомам ультраструктуру прокариотической клетки и зарисовать подробную схему ее строения в тетради, подписав общие и специфические структурные компоненты.

Содержание отчета по лабораторной работе: зарисовки основных морфологических типов бактерий (надпись справа от рисунка должна включать названия препарата, питательной среды, красителя, морфологического типа микроорганизма на русском и латинском языках, степень увеличения объекта), подробная схема строения прокариотической клетки.



Контрольные вопросы

1. Перечислите обязательные и специфические структурные компоненты прокариотической клетки.
2. Строение и функции ядерного аппарата, цитоплазмы и цитоплазматической мембраны прокариот.

3. Строение и функции органелл прокариотической клетки.
4. Строение и функции клеточной стенки истинных бактерий.
5. Строение и функции капсул бактерий.
6. Строение и функции жгутиков бактерий.
7. Строение и функции спор бактерий.
8. Перечислите основные таксономические единицы, применяющиеся в микробиологии.
9. Каковы правила написания основных таксономических единиц? Приведите примеры.
10. Дайте определение понятию «вид», приведите пример.
11. Дайте определение понятию «штамм», приведите пример.
12. Морфологические типы шаровидных бактерий.
13. Морфологические типы палочковидных бактерий.
14. Морфологические типы извитых бактерий.

Лабораторная работа № 5 Методы культивирования микроорганизмов. Питательные среды

Цель работы: изучить методы культивирования микроорганизмов, классификацию питательных сред; освоить методики приготовления питательных сред.

Теоретическое обоснование

Культивирование (выращивание) микроорганизмов в лабораторных и производственных условиях проводят на специальных питательных средах с целью количественного и качественного анализа микрофлоры различных объектов: пищевых продуктов, биологических образцов (например, в медицине), воды, воздуха и т.д.; изучения свойств микроорганизмов и их идентификации (определение вида); выращивания полезных микроорганизмов (приготовление заквасок, получение продуктов микробиологического синтеза).

Питательные среды должны содержать все питательные вещества, макро- и микроэлементы, необходимые для развития данного вида микроорганизмов, а также иметь оптимальные значения активной кислотности и окислительно-восстановительного потенциала. К обязательным компонентам относятся: вода, биогенные элементы (С, Н, О, N, P, S), для большинства микроорганизмов необходимы также К, Са, Fe, Mg, для некоторых требуются микроэлементы (Co, Ni, Zn), витамины и др. ростовые факторы.

Питательные среды классифицируются по происхождению, консистенции, назначению. По **происхождению** среды делятся на:

- естественные – полученные из природных объектов, чаще всего из натуральных пищевых продуктов (овощи, фрукты, мясо и мясной бульон МБ, молоко, отвары, настои и экстракты трав и т.д.);
- искусственные (полусинтетические) – полученные путем добавления в естественные среды различных добавок (например, мясо-пептонный бульон МПБ, мясо-пептонный агар МПА), а также путем специальной обработки (например, гидролизованное молоко ГМ);
- синтетические – растворы химически чистых веществ в точных концентрациях с заранее заданными свойствами (например, углеводные среды Гисса, среда Козера с цитратами).

По **консистенции** среды бывают жидкие (ГМ, МБ), полужидкие (среды для определения анаэробов) плотные (МПА, МПЖ, АГМ), а также сухие (перед приготовлением их растворяют в воде в соответствии с инструкцией, фильтруют и стерилизуют). Для уплотнения сред используют агар-агар (полисахарид из морских

водорослей, не усваивается микроорганизмами, вносится в количестве от 0,1 до 3% в зависимости от желаемой консистенции) и желатин (белковое вещество животного происхождения, некоторые виды протеолитических микроорганизмов способны разжижать желатин, поэтому он используется в основном для дифференциально-диагностических сред).

По **назначению** среды делятся на 3 основные группы:

- стандартные (общеупотребительные) – для определения многих видов микроорганизмов (МПА, МПБ), применяются для количественного учета и определения стандартных показателей, например, количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ);
- элективные (избирательные, среды накопления) обеспечивают преимущественное накопление одного вида или группы микроорганизмов по сравнению с другими видами или группами. Примеры: среда Кесслер (с лактозой, реагентом-индикатором синего цвета, желчью и стеклянным поплавком) для определения бактерий группы кишечной палочки, способных усваивать лактозу с выделением кислоты (изменяет цвет красителя до желтого) и газа (собирается в поплавке в виде пузырька), устойчивых к желчи (большинство других в присутствии желчи погибает); молоко, ГМ, АГМ – для преимущественного развития молочнокислых;
- дифференциально-диагностические – для определения вида микроорганизма путем отделения от других на основании различий в метаболизме (среда Эндо – для выявления кишечной палочки *E.coli*, которая дает на этой среде колонии красного цвета с металлическим блеском; среда Блаурока для определения бифидобактерий).

Аппаратура и материалы: образцы питательных сред (жидкие, полужидкие, плотные, сухие); посуда, инструменты и вспомогательные материалы для приготовления питательных сред.

Порядок выполнения работы: 1. Изучить цели культивирования микроорганизмов, основные требования к составу и свойствам питательных сред и их классификацию по разным признакам.

2. Заполнить в тетради табл. 10.1.

Таблица 10.1 - Классификация питательных сред

Классификационный признак	Вид питательной среды	Примеры

Содержание отчета: определение культивирования, заполненная таблица по классификации питательных сред.

Контрольные вопросы

1. Что такое культивирование микроорганизмов?
2. От чего зависит состав питательных сред?
3. Классификация питательных сред по происхождению.
4. Классификация питательных сред по консистенции.
5. Классификация питательных сред по назначению.

Лабораторная работа № 6 Методы и средства стерилизации в микробиологии

Цель работы: изучить методы и средства стерилизации, устройство автоклава; освоить методики подготовки посуды к стерилизации.

Теоретическое обоснование

Необходимым условием проведения микробиологических анализов и культивирования является стерильность инструментов, посуды и питательных сред.

Методы термической стерилизации:

-



—

Таблица 11.1 - Классификация методов стерилизации

Вид стерилизации	Метод стерилизации	Параметры	Средства

2. Изучить и зарисовать устройство автоклава.

3. Подготовить посуду, пипетки, питательные среды к стерилизации в автоклаве.

Содержание отчета: заполненная таблица по классификации методов стерилизации; схема устройства автоклава.

Контрольные вопросы

1. Цель стерилизации и пастеризации.
2. Термическая стерилизация: методы, средства и назначение.
3. Сущность и режимы дробной стерилизации.
4. Холодная стерилизация: методы, средства и назначение.

Лабораторная работа №7

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

Цель: изучить и освоить методы выделения чистых культур микроорганизмов.

Теоретическое обоснование

В естественных условиях исследуемые объекты содержат смешанную микрофлору. Идентификация вида возможна только при работе с чистыми культурами, поэтому качественный анализ смешанной микрофлоры объекта начинается с выделения микроорганизмов в виде чистых культур. Чистая культура – культура одного вида, выращенная как потомство одной клетки.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов основаны на изоляции одной микробной клетки из смешанной микрофлоры объекта и последующем выращивании ее на питательных средах. Наиболее распространенный способ – посев на плотные питательные среды в чашки Петри. Основная задача методов – разведение исследуемого материала с таким расчетом, чтобы выросли изолированные колонии микроорганизмов. Чаще всего в микробиологии используют методы истощающего (фракционированного) посева, пластинчатых разводов Коха, предварительного разведения исследуемого материала, а для крупных объектов (например, эукариотических дрожжевых клеток) – капельный метод и микроманипуляторы.

Метод истощающего (фракционированного) посева на поверхности плотной питательной среды включает следующие этапы:

- подписывают стерильные чашки Петри с заранее приготовленной питательной средой на крышках карандашом по стеклу (как правило, указывают сокращенное название специальности, номер подгруппы, номер варианта по журналу, номер разведения; цифры располагают в столбик);
- в стерильных условиях на поверхность среды первой чашки (первое разведение) бактериологической петлей наносят каплю исследуемого материала;
- стерилизуют шпатель Дригальского обжигом в пламени со спиртом;
- быстро, тщательно и равномерно растирают каплю на поверхности среды, не повреждая ее;
- не стерилизуя, шпатель переносят во вторую чашку (второе разведение) и растирают остатки биологического материала на поверхности питательной среды;
- аналогично делают посев в 3, 4 и последующие чашки, при этом количество высеваемого материала последовательно убывает; количество разведений определяется степенью микробиологической загрязненности материала

Метод предварительного разведения исследуемого материала в стерильной воде или физрастворе:

- готовят разведения материала в 10, 100, 1000 и т.д. раз в зависимости от его обсемененности в пробирках со стерильной водой;
- вносят по 1мл каждого разведения в заранее подписанные стерильные чашки Петри пустые (глубинный посев) или со средой (поверхностный посев);
- при глубинном посеве чашки Петри с внесенным материалом заливают предварительно расплавленной и охлажденной до температуры 45,50°C средой, осторожно вращательным движением перемешивают содержимое чашки и оставляют для застывания среды;
- когда среда полностью застынет, чашки ставят в термостат вверх дном при 30°C на 3 суток.

Метод пластинчатых разводов Коха:

- бактериологической петлей в стерильных условиях вносят каплю исследуемого материала в пробирку с расплавленной средой МПА;
- закрыв пробирку пробкой, тщательно перемешивают содержимое путем вращения пробирки между ладонями;
- берут вторую пробирку со стерильной средой и, держа обе пробирки в левой руке, переносят стерильной петлей каплю среды из первой пробирки во вторую, тщательно перемешивают ее содержимое, поставив первую пробирку в водяную баню, чтобы среда не застыла;
- повторяют операцию последовательного разведения материала необходимое количество раз, после чего содержимое пробирок выливают в предварительно подписанные стерильные чашки Петри.

Если разведение исследуемого материала выполнено правильно, на поверхности среды и в ее толще образуются отдельные колонии микроорганизмов, видимые невооруженным глазом. Исследуемую культуру изолируют, т.е. пересевают на отдельную среду после проверки на чистоту (визуально и микроскопированием мазка).

Капельный метод применяют при исследовании крупных (обычно эукариотических) клеток и выполняют в следующей последовательности:

- готовят взвесь микроорганизмов на специальных средах с таким расчетом, чтобы в 1 капле жидкости была 1 клетка (концентрация взвеси определяется экспериментально);
- на стерильное покровное стекло стерильным инструментом наносят капли рядами по 3-4 капли в ряду, после чего накрывают предметным стеклом с лункой, предварительно смазанной по краям вазелином;
- микроскопируют препарат, каплю с 1 клеткой отмечают тушью;
- препаратное стекло переносят в термостат; из помеченных капель, в которых произошло размножение, производят пересев в жидкую питательную среду.

Выделение чистых культур крупных микроорганизмов можно проводить также **при помощи микроманипулятора** – специального прибора, позволяющего проводить очень тонкие и сложные операции под микроскопическим контролем с помощью микроигл, микропипеток и др. инструментов.

Аппаратура и материалы: исследуемый объект (например, кисломолочный продукт), стерильные пипетки, пробирки со стерильной водой и обезжиренным молоком, чашки Петри (пустые и с плотными питательными средами), флаконы и пробирки с расплавленными питательными средами, шпатели Дригальского, бактериологические петли и иглы, спиртовки, карандаши по стеклу.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить теорию и практику методов выделения чистых культур микроорганизмов, описать их в тетради.
2. Освоить методы выделения чистых культур микроорганизмов заквасочной микрофлоры по заданию преподавателя, зарисовать в тетради схему посевов.
2. Оценить результаты посевов разных методов выделения чистых культур на подготовленных образцах.

Содержание отчета по лабораторной работе: описание методов выделения чистых культур, зарисовки схемы посевов и результатов одного из методов по заданию преподавателя с выводом о правильности выполнения посева.

Контрольные вопросы.

1. Что такое культивирование микроорганизмов? С какой целью оно может проводиться?
2. Что такое чистая культура микроорганизмов? Смешанная культура?
3. Перечислите методы выделения чистых культур микроорганизмов. В чем сущность этих методов?
4. Сущность и последовательность выполнения посевов:
 - методом истощающего посева;
 - методом предварительного разведения;
 - методом пластинчатых разводов.
5. Какие микроорганизмы можно выделить капельным методом и с помощью микроманипулятора?

Лабораторная работа № 8

Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов

Цель работы: освоить основные методы исследования морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов.

Теоретическое обоснование

Микроорганизмы, как и все живые существа, обладают определенными признаками, по которым их отличают и разделяют на устойчивые, отчетливо различающиеся группы. Раньше для такого разделения использовались в основном морфологические признаки, затем добавились культуральные и биохимические свойства, в будущем классификации микроорганизмов будут создаваться на основе генетических карт.

Морфологические свойства - форма, взаимное расположение, размер и строение клеток, некоторые внешние особенности строения, например, наличие или отсутствие спор, капсул, жгутиков; окраска по Граму. Размеры микроорганизмов обычно измеряют в мкм. Для точного измерения используют специальные приспособления – объект- и окуляр-микрометры.

Культуральные свойства – особенности роста на разных питательных средах (на плотных – в виде колоний разного цвета, формы и размера, каждая колония вырастает из одной клетки, представляет собой миллионы организмов с одинаковыми генами, т.е. клоны).

Физиолого-биохимические свойства - способы получения энергии, потребности в питательных веществах, отношение к температуре и другим факторам внешней среды.

Аппаратура и материалы: чистые культуры микроорганизмов заквасок в виде отдельно выросших колоний на плотных питательных средах в чашках Петри;

предметные и покровные стекла, спиртовки, красители, микроскопы, лупы, вспомогательные материалы для подготовки препаратов.

Указания по технике безопасности: необходимо строго выполнять правила работы подготовки и просмотра микробиологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы:

1. В соответствии с заданием преподавателя исследовать отдельную колонию микроорганизмов на МПА в чашках Петри в следующей последовательности:

- описать колонию (размер, форму, цвет, поверхность, прозрачность, профиль, характер края, консистенцию);
- приготовить фиксированный мазок с простой окраской, просмотреть под микроскопом в 10 полях зрения и сделать вывод о чистоте культуры;
- изучить, зарисовать и описать морфологические свойства данной культуры микроорганизмов (форму и взаимное расположение клеток, размер, подвижность, наличие или отсутствие спор и др.), определить морфологический тип;
- исследовать тинкториальные свойства (окраска по Граму), зарисовать, сделать вывод.

2. Ознакомиться с методикой определения культуральных и биохимических свойств, выполнить необходимые посевы.

Для исследования **культуральных** свойств выделенной чистой культуры микроорганизмов проводят посевы на различные питательные среды:

- на скошенный агар (плотную питательную среду) – штрихом;
- в столбик МПА (плотную питательную среду) – уколом;
- в столбик МПЖ (плотную питательную среду) – уколом;
- в МПБ (жидкую питательную среду) – бактериологической петлей, с определением оптимальной температуры.

По результатам учета посевов описывают характер роста микроорганизма на различных питательных средах, делают выводы об отношении к кислороду и оптимальной температуре развития исследуемого микроорганизма.

Для исследования **биохимических** свойств чистой культуры микроорганизмов проводят посевы:

- на сахаролитические свойства – в углеводные среды Гисса с моносахарами (глюкозой, галактозой, фруктозой), дисахаридами (лактозой, сахарозой) или полисахаридами, индикаторным красителем и стеклянными поплавками;
- на протеолитические свойства – в МПБ с добавлением 3% пептона и индикаторами на сероводород и аммиак; в обезжиренное молоко;
- на липолитические свойства – в среду с тугоплавким жиром;
- на редуцирующие – в обезжиренное молоко с метиленовой синью.

Сахаролитические свойства, т.е. способность использовать в метаболических процессах определенные углеводы, определяются по изменению цвета среды и образованию газа. Появление желтой окраски свидетельствует о том, что микроорганизм использует данный углевод с образованием кислоты, зеленой – щелочи; образование пузырьков в поплавках указывает на образование при этом CO_2 .

Протеолитические свойства, т.е. способность разлагать белковые вещества, определяются по изменению внешнего вида сред (помутнению МПБ, осветлению молочной среды, свидетельствующей о пептонизации молочных белков) и изменению индикаторов (почернение свинцовой бумажки свидетельствует об образовании при распаде белка сероводорода, покраснение лакмусовой бумажки – аммиака).

Если выделенная культура микроорганизмов обладает липолитическими свойствами, т.е. способна разлагать жир, то на мутной жировой среде рядом с колониями появляются осветленные зоны.

Если выделенная культура обладает редуцирующими свойствами, то наблюдается обесцвечивание индикаторного красителя в обезжиренном молоке.

3. Проведите учет посевов, опишите результаты по каждому из методов, сделайте выводы о свойствах изучаемой чистой культуры микроорганизмов.

Содержание отчета: описание методов исследования морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов, результаты исследований и выводы.

Контрольные вопросы

5. Основные процессы метаболизма.
6. Питательные потребности микроорганизмов.
7. Деление микробов по источнику азота.
8. Деление микробов по источнику углерода.
9. Пути поступления питательных веществ в клетку.
10. Деление микроорганизмов по типу дыхания.
11. Аэробное и анаэробное дыхание: виды, сущность.
12. Энергетический баланс биологического окисления глюкозы.
13. Способы и формы размножения микроорганизмов.
14. Этапы деления бактериальных клеток.
15. Фазы развития микробов в статической культуре.
16. Способы культивирования микроорганизмов: периодическое, непрерывное, синхронное.
17. Применение турбидостатов и хемостатов для непрерывного культивирования микроорганизмов.

Лабораторная работа № 9

Определение вида выделенной чистой культуры микроорганизмов

Цель работы: изучить основные этапы определения вида микроорганизма; ознакомиться со структурой и правилами работы с определителями бактерий; определить наиболее вероятный вид исследуемой культуры.

Теоретическое обоснование

В микробиологии используются общие принципы систематики, принятые в биологии.

Вид (основная таксономическая единица) – совокупность особей микроорганизмов, сходных по морфологическим, биохимическим, культуральным свойствам, имеющих единое происхождение и генотип.

Определение вида микроорганизма проводится по результатам исследования его свойств с помощью специальных классификаторов (определителей). Наиболее часто для практических целей используется определитель бактерий Берджи, в соответствии с 9 изданием которого все прокариоты с целью дифференциации делятся на 4 категории:

1 – **грамотрицательные зубактерии**, имеющие клеточные стенки (характерного строения, разной формы, подвижные и неподвижные, автотрофы и гетеротрофы, некоторые – внутриклеточные паразиты);

2 – **грамположительные зубактерии**, имеющие клеточные стенки (разнообразная форма, у актиномицетов – ветвление, гетеротрофы с разным отношением к кислороду);

3 – **эубактерии, лишенные клеточной стенки** (микоплазмы; изменчивая форма, чаще нитчатая ветвящаяся, грамотрицательные, характерно проникновение внутрь сред и образование глубинных колоний);

4 – **архебактерии** (или археобактерии, преимущественно почвенные или водные микроорганизмы, встречаются в гиперсоленых или геотермальных водах, муреин в клеточных стенках отсутствует).

Аппаратура и материалы: результаты предыдущей работы, определители бактерий Циона и Берджи.

Порядок и методика выполнения работы:

1. Обобщите данные исследований морфологических, культуральных и биохимических свойств чистой культуры микроорганизмов, заполнив соответствующую колонку таблицы 1.

Таблица 1- Определение вида бактерий

№	Признак	Результаты исследований	Данные определителя Циона	Данные определителя Берджи
1	Движение			
2	Окраска по Граму			
3	Разжижение желатина			
4	Свертывание молока			
5	Образование газа с глюкозой			
6	Спорообразование			
7	Отношение к кислороду			
8	Форма и расположение клеток			
9	Величина			
10	Колонии на агаре			
11	Рост на бульоне			
12	Рост в молоке			
13	Глюкоза: газ, реакция			
14	Лактоза: газ, реакция			
15	Образование H ₂ S			
16	Образование NH ₃			
17	Пигмент			
18	Оптимальная температура			
19	Место выделения			
20	(дополнительные			

...	сведения по определителям)			
	Вид			

4. Используя данные первых 6 пунктов таблицы и ключ к определителю Циона, найдите номер таблицы для ориентировочного определения вида. Выберите в таблице 2-3 наиболее подходящих варианта, выпишите названия видов.

5. Найдите полное описание выбранных видов в определителе Циона, сравните свойства, определите вид, который по наибольшему количеству признаков совпадает с результатами Ваших исследований. Внесите данные Циона в таблицу.

6. Ознакомьтесь с принципами определения группы микроорганизмов по Берджи. Найдите группу, соответствующую данным ваших исследований. Сверьте признаки, определите вид по Берджи. Заполните соответствующую графу таблицы.

7. По результатам выполненной работы сделайте вывод о виде выделенной и исследованной чистой культуры микроорганизмов.

8. Кратко опишите в тетради основные классификационные группы бактерий по Берджи.

Содержание отчета: заполненная таблица, вывод о наиболее вероятном виде исследуемого микроорганизма, описание основных классификационных групп бактерий по Берджи.

Контрольные вопросы

1. Полиморфизм и мономорфизм как направления в науке об изменчивости бактерий. Формы изменчивости микроорганизмов.
2. Фенотипическая изменчивость: сущность, виды.
3. Генотипическая изменчивость: сущность, виды.
4. Мутационная изменчивость: сущность, виды.
5. Трансформация, трансдукция, конъюгация: открытие, сущность, стадии.
6. Цель и этапы селекции микроорганизмов.
7. Цель и этапы генной инженерии в микробиологии.

Лабораторная работа № 10

Методы количественного учета микроорганизмов

Цель работы: изучить сущность методик и освоить методы прямого счета клеток микроорганизмов, счета колоний, предельных разведений.

Теоретическое обоснование

Количественные методы используют для определения количества микроорганизмов в определенном объеме (или массе) исследуемого материала при исследовании доброкачественности и эпидемиологической безопасности пищевых продуктов, бактериологической загрязненности природных объектов и биологических субстратов, санитарном контроле воды, воздуха, оборудования и т.д. Стандартные методы определения суммарного микробного обсеменения могут быть разделены на три группы:

- прямой подсчет клеток микроорганизмов;
- количественный посев на плотные питательные среды и счет колоний;
- методы предельных разведений и титрационные посевы на жидкие питательные среды.

Выбор метода зависит от характера изучаемых объектов и цели исследований.

Для количественного микробиологического анализа отбирают т.н. среднюю пробу – сравнительно небольшое количество исследуемого материала, взятое как сумма проб из различных участков или в определенном объеме и представляющее среднее содержание микроорганизмов в материале. Пробы берут с соблюдением строгих условий стерильности. Чтобы не допустить размножения микроорганизмов после взятия пробы, ее охлаждают и приступают к анализу не позднее 2-6 ч (в зависимости от вида продукта или субстрата).

Подсчет клеток микроорганизмов под микроскопом производят в счетных камерах, на фиксированных препаратах или с помощью специальных приборов-счетчиков.

Счетная камера Горяева представляет собой толстое предметное стекло с нанесенной сеткой в виде больших и малых квадратов определенной площади и применяется для подсчета достаточно крупных объектов – дрожжей, одноклеточных водорослей, спор грибов и т.п. Метод прост, удобен, достаточно широко применяется в производственных условиях.

Подсчет клеток в единице объема суспензии с использованием фиксированных окрашенных мазков проводят по методу Виноградского-Брида. Сущность метода заключается в приготовлении мазка из строго определенного объема исследуемой суспензии (0,01, 0,05 мл) на определенной площади предметного стекла (1-4 см²). Преимуществом метода по сравнению с использованием счетных камер является возможность исследования мелких клеток бактерий.

Подсчет выросших на плотных питательных средах колоний - наиболее распространенный метод оценки микробного обсеменения объекта. При этом считают, что каждая изолированная колония является результатом развития одной клетки. Работа выполняется в три этапа: приготовление количественных разведений исходного материала; посев на плотную питательную среду; подсчет выросших колоний и определение количества микроорганизмов в единице объема (или массы) исследуемого объекта.

Недостатком метода является заниженная количественная оценка микробной обсемененности, т.к. абсолютно универсальных сред для всех микроорганизмов не существует. При использовании стандартных методов культивирования можно говорить лишь о КМАФАнМ (количестве мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов).

Метод предельных разведений (титрационный метод) заключается в определении предельного разведения исследуемого материала, содержащего жизнеспособные микроорганизмы. Для выполнения анализа в емкости с жидкой питательной средой вносят точные объемы из различных разведений материала и после инкубации определяют, в каком наименьшем количестве посевного материала обнаруживаются микроорганизмы. Это количество называется титром микроорганизмов. Титрационный метод применяется для определения микроорганизмов, которые плохо развиваются на стандартных питательных средах, а также для выявления бактерий определенных физиологических групп (молочнокислых, бактерий группы кишечной палочки, анаэробных и т.п.). При этом обычно используют элективные или дифференциально-диагностические среды.

Аппаратура и материалы: чистые культуры микроорганизмов в жидких питательных средах, чашки Петри с колониями микроорганизмов из разных разведений,

пробирки со стерильным обезжиренным молоком и посевом культур молочнокислых микроорганизмов по методу предельных разведений, бактериологические петли, спиртовки, красители, счетчики колоний микроорганизмов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Проведите количественный учет микроорганизмов в контрольном образце методом непосредственного подсчета клеток под микроскопом.

Метод подсчета клеток на мазке (Виноградского-Брида, для живых и мертвых клеток бактерий) включает следующие этапы:

- на предметном стекле очерчивают квадрат примерно 20х20 мм - место нанесения мазка (или накладывают стекло на миллиметровую бумагу с очерченной площадью);
- наносят каплю исследуемой суспензии с помощью микропипетки, отмечают объем капли;
- равномерно размазывают каплю исследуемой суспензии микроорганизмов на очерченной площади;
- мазок высушивают, фиксируют, окрашивают;
- микроскопируют препарат при максимальном увеличении, посчитывая количество клеток в 10-100 полях зрения, рассчитывают среднее количество клеток в поле зрения;
- зная площадь одного поля зрения, рассчитывают количество клеток на всей площади мазка;
- зная количество нанесенной суспензии, рассчитывают количество клеток в 1 см³ исходного образца.

Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 1.

2. Используя подготовленные образцы посевов на МПА в чашках Петри, определите количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в исходном материале. Проведите количественный учет микроорганизмов методом счета колоний на плотных питательных средах (метод Коха), который используется для определения аэробных и факультативно-анаэробных живых микроорганизмов и включает следующие основные этапы:

- приготовление десятикратных разведений исследуемого объекта в стерильном физрастворе (в пробирках);
- посев 1 см³ разведений (и/или продукта) на плотные питательные среды (поверхностный или глубокий, в чашках Петри);
- термостатирование (выращивание микроорганизмов при определенной температуре в течение определенного времени);
- учет посевов – подсчет количества колоний, определение среднего по нескольким разведениям, пересчет на 1 см³ образца; результат дается в КОЕ – колониеобразующих единицах.

Подсчет колоний проводят, не открывая чашек Петри, со стороны дна, отмечая просчитанную колонию карандашом по стеклу или пользуясь специальными автоматическими счетчиками. При значительном количестве колоний (сотни) площадь чашки со стороны дна делят на секторы, подсчитывают количество в 2-3 секторах, определяют среднее арифметическое и умножают на число секторов. Для определения микробной обсемененности исходного материала число колоний в чашке умножают на 10 в степени соответствующего разведения.

Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 2.

3. Используя подготовленные образцы посевов в жидкую питательную среду (обезжиренное молоко) методом предельных разведений, определите наиболее вероятное количество молочнокислых микроорганизмов в исходном образце продукта. Проведите количественный учет микроорганизмов методом НВЧ – наиболее вероятного числа микроорганизмов (титрационный, предельных разведений) в следующей последовательности:

- проводим учет посевов исследуемого образца в жидкую питательную среду после термостатирования;
- рисуем схему посевов и отмечаем (зачеркиваем или штрихуем) пробирки с признаками роста микроорганизмов;
- определяем числовую характеристику, состоящую из трех цифр, и пишем ее под соответствующими разведениями;
- используя специальные таблицы, по числовой характеристике находим наиболее вероятное число микроорганизмов при параллельном заражении 2 (3, 4...) пробирок в разведении, соответствующем первой цифре числовой характеристики;
- проводим пересчет наиболее вероятного количества микроорганизмов на 1 см³ или 1 г образца
- если в образце несколько видов микроорганизмов, то готовят мазки, микроскопируют их и составляют числовую характеристику по каждому виду.

Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 3.

Содержание отчета: описание методов количественного учета с результатами собственных исследований по каждому из методов.

Контрольные вопросы

1. Цель и классификация методов количественного учета микроорганизмов.
2. Сущность и этапы непосредственного подсчета клеток под микроскопом. Камеры Горяева. Метод Виноградского-Брида.
3. Сущность и этапы метода счета колоний.
4. Сущность и этапы метода предельных разведений. Последовательность определения наиболее вероятного числа микробов по таблицам Мак-Креди.
5. Современные методы количественного учета микроорганизмов.

Лабораторная работа № 11

Изучение морфологических и культуральных свойств мицелиальных грибов (плесеней)

Цель работы: изучить особенности роста на питательных средах и строения разных видов плесеней.

Теоретическое обоснование

Плесневые грибы относят к царству Мусота. По строению клетки это низшие эукариоты, гетеротрофы, способны к ветвлению и неограниченному верхушечному росту, способ питания – всасывание. Плесени – аэробы, не требовательны к питательным веществам, растут преимущественно на поверхности различных субстратов. Устойчивы к неблагоприятным условиям среды, выдерживают низкие температуры, высокие концентрации осмотически активных и других химических веществ. Чаще всего грибы –

сапрофиты, но встречаются и паразиты. Размножаются обычно бесполым путем (делением или экзоспорами – хламидоспорами, оидиями, конидиями, спорангиоспорами), но способны и к половому размножению (аскоспорами, базидиоспорами, зигоспорами). Вегетативное тело плесневого гриба состоит из гиф, имеющих диаметр 2-10 мкм и представляющих собой разветвленную нить, включающую цитоплазму и органоиды. Совокупность (сплетение) гиф образует мицелий. Гифы разделяются на отдельные клетки септами – перегородками полностью или частично (у многоклеточных). Врастающий в питательный субстрат мицелий называют вегетативным, спорообразующий – репродуктивным. Рост грибов осуществляется за счет кончиков гиф и может продолжаться до тех пор, пока хватает питательных веществ. Мицелий обычно не окрашен (белый), цвет колонии придают споры.

Плесени иногда используются в производстве пищевых продуктов (сыров, соусов), но чаще приносят вред: вызывают разнообразные пороки пищевых продуктов (плесневение и меловую болезнь хлеба, макаронных и кондитерских изделий); некоторые виды могут вызывать заболевания растений (спорынья, фузариоз, черная гниль), животных и человека (передаются через зараженное зерно, муку, готовые изделия, вызывают отравления – микотоксикозы).

Аппаратура и материалы: плотные питательные среды с культурами плесеней родов *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidium* и др.; микробиологические принадлежности для приготовления препаратов и микроскопирования.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Описать характер роста каждой культуры на питательных средах (размер и форма колонии, цвет, характер мицелия – пышный воздушный, бархатистый низкий и т.п.).

2. Приготовить и просмотреть под микроскопом препарат «раздавленная капля». Зарисовать и подписать рисунки, обратив внимание на правильность написания названий на латинском языке. Сделать вывод об особенностях строения клеток (одноклеточный или многоклеточный мицелий, размеры клеток, внутренние органеллы) и способах размножения (названия плодоносящих органов и спор).

Содержание отчета: рисунки препаратов с подписью названий исследованных плесеней на латинском языке с кратким описанием особенностей культуральных свойств и строения плодоносящих органов.

Контрольные вопросы

1. Особенности строения и классификация мицелиальных грибов.
2. Способы бесполого размножения плесеней.
3. Способы полового размножения плесеней.
4. Характеристика классов *Ascomycetes*, *Phycomycetes*, *Deuteromycetes*, *Basidiomycetes*.
5. Роль плесеней в биотехнологии.

Лабораторная работа № 12

Изучение морфологических и культуральных свойств сумчатых грибов (дрожжей)

Цель работы: Изучить особенности роста на питательных средах и строения клетки разных видов дрожжей.

Теоретическое обоснование

Дрожжи – почкующиеся грибы (бесполое размножение – почкованием), относятся к классу аскомицетов (половое размножение – аскоспорами, к аскомицетам относится род

Saccharomyces, в который входят хлебопекарные, спиртовые, пивные, молочные дрожжи) или к дейтеромицетам (нет способности к половому размножению, представители семейства криптококковые родов Torulopsis, Candida, Rhodotorula вызывают пороки пищевых продуктов; некоторые виды образуют пигменты – красные, желтые, оранжевые). Форма клеток – круглая, овальная, эллипсоидная, цилиндрическая; неподвижные, грам+, крупные эукариотические клетки, под микроскопом видны внутренние включения – ядро, запасные питательные вещества, жировые капли, вакуоли.

Аппаратура и материалы: плотные и жидкие питательные среды с культурами: Saccharomyces cerevisiae (хлебопекарные), Sacch.lactis (молочные), Sacch.vini (винные), Sacch.carlsbergensis (пивные), Rhodotorula (образующие пигменты); микробиологические принадлежности для приготовления, окраски препаратов и микроскопирования; счетные камеры Горяева.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Описать характер роста каждой культуры на питательных средах.
2. Приготовить и просмотреть под микроскопом препарат «раздавленная капля». Зарисовать и подписать рисунки, обратив внимание на правильность написания названий на латинском языке. Сделать вывод о подвижности дрожжей, форме, взаимном расположении клеток, внутреннем строении (показать на рисунке цитоплазму, клеточную оболочку и цитоплазматическую мембрану, ядро, запасные питательные вещества). Найти почкующиеся дрожжи, сделать вывод о способе размножения.

3. Приготовить фиксированные препараты дрожжей и окрасить их дифференциально-диагностическими методами:

- окраска по Граму (сделать вывод о тинкториальных свойствах);
- выявление запасного углевода - гликогена (окраска раствором йода - гликоген окрашивается йодом в бурый цвет);
- выявление запаса полифосфата в виде волютина (окраска метиленовым синим, волютин в виде капель окрашен в сине-фиолетовый, а цитоплазма – в голубой цвет);
- выявление жира (окраска суданом 111, капли жира окрашиваются в красный цвет).

4. Освоить метод непосредственного счета микроорганизмов с использованием камеры Горяева на примере клеток дрожжей.

На поверхность клетки наносят каплю исследуемой суспензии, накрывают шлифованным стеклом и притирают покровное стекло к боковым площадкам. Подсчет клеток производят через 3-5 мин, чтобы клетки осели и расположились в одной плоскости. Подсчет проводят с объективом 8X или 40X, для получения достоверных результатов – в 5 больших или 20 малых квадратах в 3-х повторностях. Количество клеток в 1 мл исходной суспензии (C):

$$C = a \cdot 1000 \cdot n / h \cdot S, \text{ где}$$

a – среднее число клеток в квадрате сетки; h – глубина камеры 0,1 мм; S – площадь квадрата сетки (1/25 мм² большого квадрата) или 1/400 мм² малого квадрата); n – степень разведения исходной суспензии.

Содержание отчета: зарисовки просмотренных препаратов дрожжей с выводами о морфологических, тинкториальных свойствах, наличии гликогена, волютина, жира, способах размножения.

Контрольные вопросы

1. Особенности строения и размножения дрожжевых клеток.
2. Методы выявления клеточных включений в дрожжевых клетках.
3. Особенности метаболизма дрожжей.
4. Классификация дрожжей.

Лабораторная работа № 13, 14

Микробиологическое исследование объектов окружающей среды (посев, учет)

Цель: изучить требования СанПиН к питьевой воде, воздуху производственных помещений, биотехнологической продукции; освоить методы микробиологического исследования и оценки состояния воды, воздуха, оборудования, рук работников предприятия; разных видов готовой продукции.

Теоретическое обоснование

К объектам контроля санитарно-гигиенического состояния производства биотехнологической продукции относят оборудование, трубопроводы, аппаратуру, посуду, инвентарь, тару, руки и спецодежду работников, воду, воздух, а также вспомогательные материалы производства.

Вода, используемая в биотехнологическом производстве, должна отвечать требованиям СанПиН 2.1.4.559-96 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». Нормы по микробиологическим показателям приведены в таблице 20.1. Анализ воды проводится в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.671-97 «Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды».

Таблица 20.1 – Нормы для воды питьевой из централизованной системы водоснабжения

Микробиологический показатель	Норма
Общее микробное число, КОЕ/1см ³	Не более 50
Термотолерантные колиформные бактерии	Не допускаются в 100 мл
Общие колиформные (БКГП)	Не допускаются в 100 мл
Колифаги, число бляшкообразующих единиц (БОЕ)	Не допускаются в 100 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	Не допускаются в 20 мл

В биотехнологической промышленности в **воздухе** производственных помещений определяют общее количество бактерий (КМА), количество дрожжей (Др) и плесеней (Пл) не реже одного раза в месяц.

Примерные микробиологические показатели оценки воздуха седиментационным методом (методом осаждения микробов на поверхность среды в чашках Петри) приведены в таблице 20. 2.

Таблица 20. 2 - Оценка воздуха по микробиологическим показателям

Объект анализа	Оценка								
	отлично			хорошо			удовлетворит.		
	Количество колоний, выросших в чашке Петри (осаждение в течение 5 мин)								
	КМА	Пл	Др	КМА	Пл	Др	КМА	Пл	Др
Воздух цеховых помещений	До 20	-	-	20-50	До 5	До 5	50-70	До 5	До 5
Воздух остальных помещений	До 30	До 5	-	30-70	5-10	До 5	70-100	До 15	5-10

Аппаратуру и оборудование контролируют после мойки и дезинфекции непосредственно перед началом работы. Смывы с плоских поверхностей оборудования с площади около 100 см² отбирают ватными или марлевыми тампонами, смачивая их в стерильной воде (3–4 мл). Затем весь объем смыва (можно вместе с тампоном) засевают в 5 мл среды Кесслер. БГКП в смывах должны отсутствовать. В случае необходимости проводят посев 1 мл смыва на КМАФАнМ, а оставшееся количество засевают в среду Кесслер или Кода.

Руки работников контролируют без предварительного предупреждения перед началом работы. Смыв с рук делают тампоном, смоченным в стерильной воде, обтирая поверхности обеих рук. В смывах не должны обнаруживаться БГКП. Контроль хлорирования рук проводят с помощью йод-крахмального индикатора: если после его нанесения на поверхности рук появляется сине-бурое окрашивание, руки были обработаны раствором хлорной извести.

Аппаратура и материалы: нормативные документы, образцы пищевых продуктов (в потребительской упаковке или в стерильных бюксах по 1г), чашки Петри, питательная среда для определения КМАФАнМ (МПА), питательная среда для определения дрожжей и плесеней (БФ), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, стерильные пипетки, спиртовки.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться со структурой и содержанием основных стандартов, нормирующих микробиологические показатели питьевой воды и воздуха.
2. Изучить и описать в тетради методы микробиологического анализа и требования к качеству воды, используемой в производственных процессах. Отобрать пробу водопроводной воды, исследовать ее на основные микробиологические показатели.
3. Изучить и описать в тетради методы микробиологического исследования и требования к воздуху производственных помещений. Провести анализ воздуха помещения седиментационным методом.
4. Изучить и описать в тетради методы контроля санитарно-гигиенического состояния оборудования, инвентаря, посуды, тары, рук персонала. Провести смывы и посевы с оборудования и рук.
5. По результатам проведенных исследований заполнить таблицу 1 и сделать вывод о соответствии исследованных объектов требованиям санитарных норм.

Таблица 1 – Результаты микробиологических исследований

№	Объект	Нормируемые показатели	Результаты исследований

6. Изучить нормативные требования стандартов к микробиологическим показателям разных видов продукции отрасли и записать их в тетрадь.

7*. Составить схему определения микробиологических показателей одного из видов продуктов по заданию преподавателя по образцу. Провести необходимые разведения и посевы для исследования микробиологических показателей образца продукции.

8*. Провести учет посевов. Обобщить данные исследования группы в виде таблицы 20.4 и сделать вывод о соответствии исследованных продуктов требованиям стандартов.

Таблица 20. 4 - Результаты определения микробиологических показателей

№	Название продукта	КМАФАнМ, КОЕ / г	БГКП (наличие или отсутствие в Х г продукта)	Дрожжи и плесени, КОЕ / г

Контрольные вопросы:

1. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние воды?
2. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние воздуха?
3. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние оборудования и аппаратуры?
4. Какие группы микроорганизмов играют роль в формировании качества и безопасности биотехнологической продукции?
5. Какие микробиологические показатели контролируются в биотехнологической продукции?
6. Как проводится отбор проб и исследование микробиологических показателей продукции на производстве?
7. Что такое санитарно-показательные микроорганизмы?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Емцев, В. Т. Микробиология : учебник для бакалавров : [для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям и специальностям агрономического образования] / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. - 8-е изд., испр. и доп. - Москва : Юрайт, 2016. - 446 с. : ил. - (Бакалавр). - Гриф: Рек. УМО. - На тит. л.: Книга доступна в электронной библиотечной системе biblio-online.ru. - Прил.: с.429-431. - Библиография: с. 427. - Указатель латинских названий: с. 432-441. - ISBN 978-5-9916-3019-1

Дополнительная литература:

2. Гусев М. В. Микробиология : учебник для вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева . - 7-е изд. . - М. : Академия, 2007. - 462 с.
3. Нетрусов А. И. Микробиология : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. - 3-е изд., испр. - Москва. : Академия, 2009. - 352 с

4. Доценко, Владимир Антонович (д-р мед. наук) Практическое руководство по санитарному надзору за предприятиями пищевой и перерабатывающей промышленности, общественного питания и торговли : учеб. пособие для вузов / В. А. Доценко. - 4-е изд., стер. - Санкт-Петербург : ГИОРД, 2013. - 830, [1] с.
5. Павлович С. А. Микробиология с микробиологическими исследованиями: учебное пособие Минск: Вышэйшая школа, 2009, 504с.
http://biblioclub.ru/index.php?page=book_red&id=143864&sr=1

11.1.3. Методическая литература:

11.1.4. Интернет-ресурсы:

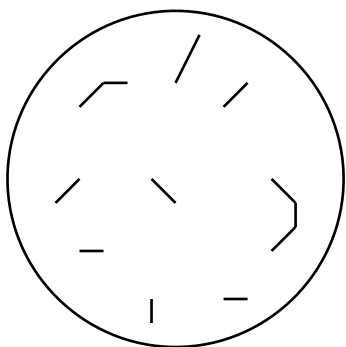
1. http://window.edu.ru/catalog/resources?p_str=Микробиология
2. <http://microbiology.ucoz.org/> - справочная информация по микробиологии
3. <http://www.microbiologyinpictures.com> - атлас по микробиологии;

Приложение 1

Пример оформления результатов метода непосредственного подсчета клеток под микроскопом

Исследуемый образец – сыворотка, содержащая молочнокислые палочки, разведенная в 100 раз.





Фиксированный мазок

Окраска метиленовой синью

Количество палочковидных клеток в 10 полях зрения при увеличении 90х15:

8, 3, 15, 12, 23, 2, 19, 20, 11, 19

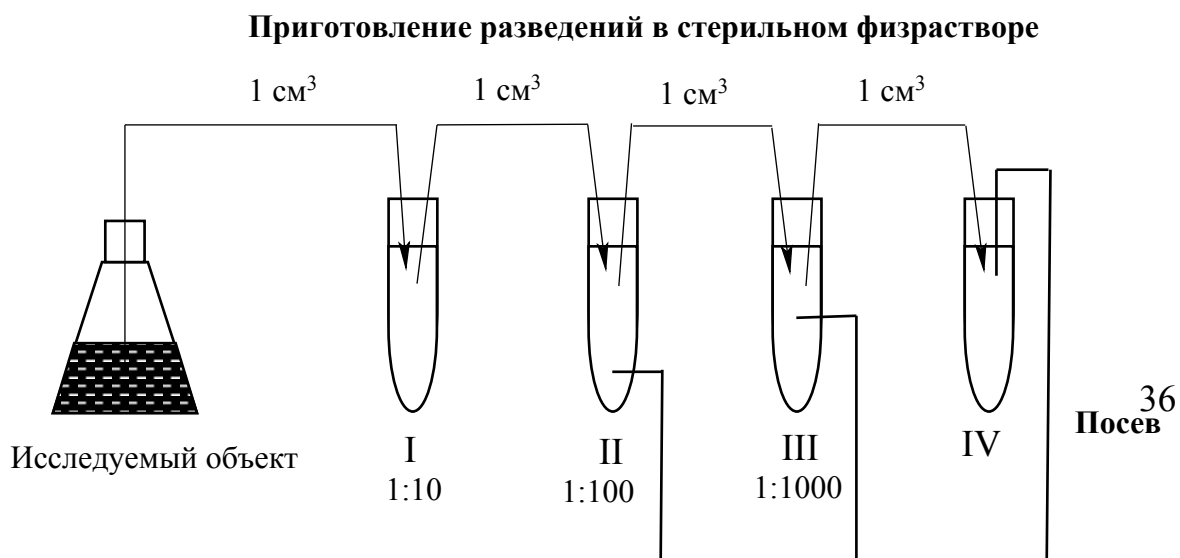
Среднее количество клеток: 13,2

Так как площадь одного поля зрения равна $0,02 \text{ мм}^2$, то на всем мазке находится 168300 клеток. На мазок было нанесено $0,05 \text{ см}^3$ разведения сыворотки, следовательно, в 1 см^3 разведения сыворотки содержится $3,4 \cdot 10^6$ клеток. Учитывая разведение в 100 раз, можно сделать

Вывод: *в 1 см^3 сыворотки содержится $3,4 \cdot 10^8$ молочнокислых палочек*

Приложение 2

Пример оформления результатов метода счета колоний



Составляется схема разведений и посевов с указанием объекта, питательной среды и условий термостатирования.

Подсчет количества колоний в разведениях:

II – 246 колоний → в 1 см³ образца содержится $246 \cdot 10^2$ КОЕ;

III – 51 колония → в 1 см³ образца содержится $51 \cdot 10^3$ КОЕ;

IV – 5 колоний → в 1 см³ образца содержится $5 \cdot 10^4$ КОЕ.

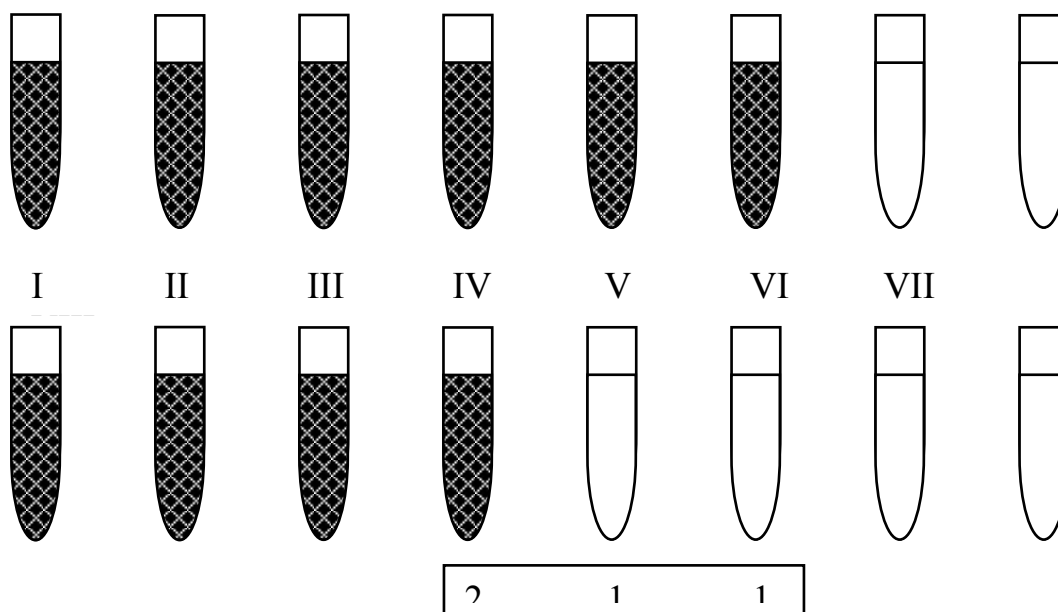
Среднее: $(2,46 \cdot 10^4 + 5,1 \cdot 10^4 + 5 \cdot 10^4) / 3 = 4,2 \cdot 10^4$

Вывод: в 1 см³ исследуемого образца содержится $4,2 \cdot 10^4$ КОЕ

Приложение 3

Пример оформления результатов метода НВЧ

Задание: Определите количество молочнокислых микроорганизмов в йогурте по результатам посевов образца в 2 параллельных ряда пробирок со стерильным обезжиренным молоком, которые термостатировались при 40°C в течение 24 ч. Пробирки, в которых образовался сгусток, на схеме заштрихованы.



Числовая характеристика, определенная по схеме посевов, равна 211. Следовательно, наиболее вероятное число микроорганизмов при параллельном заражении 2 пробирок, определенное по таблице и соответствующее IV разведению, равно 13. Если в 4 разведении, т.е. в 10^{-4} см³ образца содержится 13 клеток, то в 1 см³ образца содержится $1,3 \cdot 10^5$ клеток.

Вывод: в 1 см³ образца йогурта содержится $1,3 \cdot 10^5$ клеток молочнокислых микроорганизмов.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические рекомендации
по организации самостоятельной работы обучающихся
по дисциплине «**Общая микробиология**»
для студентов направления подготовки
19.03.03 Продукты питания животного происхождения
Направленность (профиль) Пищевая инженерия и продуктовое
программирование

Оглавление

Введение.....	3
Общая характеристика самостоятельной работы студента при изучении дисциплины.....	3
План-график выполнения самостоятельной работы.....	5
Контрольные точки и виды отчетности по ним.....	5
Методические рекомендации по изучению теоретического материала.....	5
Методические указания по подготовке к аттестации.....	6
Список рекомендуемой литературы.....	10

Введение

1. Цель и задачи освоения дисциплины

Цель освоения дисциплины «Общая микробиология» - формирование профессиональных (ПК-1) компетенций будущего бакалавра по направлению подготовки 19.03.03 Продукты питания животного происхождения, профилю «Пищевая инженерия и продуктивное программирование». В задачи дисциплины входит изучение систематики, морфологии, физиологии, генетики микроорганизмов, действия на них факторов внешней среды, принципов промышленного культивирования, методов идентификации и учета микроорганизмов.

Методические рекомендации по изучению теоретического материала

При изучении дисциплины у студентов должен вырабатываться рационально-критический подход к изучаемым проблемам и явлениям. Это включает понимание того, что со временем ряд информационных и теоретических материалов устаревает, требуя критического отношения. С другой стороны, каждый текущий вопрос имеет свою историю, которую тоже полезно знать.

Чтобы понять содержание теоретического материала, нужно уметь его прочитывать. Начинать следует с предварительного просмотра, в ходе которого ознакомиться с названием работы, с аннотацией, оглавлением, предисловием. Часто замысел работы ясен уже при ознакомлении с ее названием. Но особенно интересен просмотр оглавления, в результате которого становится ясным развитие мысли автора. Неплохо было бы появившиеся при этом мысли зафиксировать на бумаге.

Просматривая текст оглавления, нужно остановиться на тех главах, которые представляют для вас особенный интерес, бегло ознакомиться с ними, составляя в общих чертах свое представление о них. Цель этого действия – найти места, относящиеся к искомой теме, определив при этом, что ценного в каждом из них.

Следующий этап – прочтение выделенных мест с фиксацией самых главных сведений. При этом надо четко и ясно осознавать цель чтения, постоянно держа ее перед собой: по какому вопросу нужна информация, для чего нужна, ее характер и т.д. необходимо менять режим чтения – от беглого вдумчивого – в зависимости от ценности информации, останавливаясь там, где это требуется для глубокого понимания текста.

Следует научиться определять структуру текста по соподчиненности его частей, учитывая взаимосвязь текста с рисунками, сносками, примечаниями и таблицами. Все это поможет пониманию текста при беглом ознакомлении с ним. Так вырабатывается способность при прочтении сразу понимать смысл и значение новой информации.

Многие книги и статьи имеют в своем аппарате списки литературы, которые дают возможность пополнить информационную осведомленность о дополнительной литературе по данному вопросу.

Отдельный этап прочтения – ведение записей прочитанного. Существует несколько видов записей: план, выписки, тезисы, аннотация, резюме, конспект.

Планом удобно пользоваться при подготовке к устному выступлению по выбранной теме. Каждый пункт плана должен раскрывать одну из сторон избранной темы, а весь план должен охватывать ее целиком.

Тезисы предполагают сжатое изложение основных положений текста в форме утверждения или отрицания. Они являются более совершенной формой записей и представляют основу для дискуссии. К тому же их легко запомнить.

Аннотация – краткое изложение содержания – дает общее представление о работе.

Резюме кратко характеризует выводы, главные итоги произведения.

Конспект является наиболее распространенной формой ведения записей. Основную ткань конспекта составляют тезисы, дополненные доказательствами и рассуждениями. Конспект может быть текстуальным, свободным или тематическим. Текстуальный представляет собой цитатник с сохранением логики работы и структуры текста. Свободный конспект основан на изложении материала в том порядке, который более удобен автору. В этом смысле конспект представляет собирание воедино мыслей, разбросанных по всей книге. Тематический конспект может быть составлен по нескольким источникам, где за основу берется тема, интерпретируемая по-разному.

Экономия времени дает использование при записях различного рода сокращений, аббревиатуры и т.д. многие используют для регистрации исследуемых тем систему карточек. Преимущество карточек в том, что тема там излагается очень сжато, и они очень удобны в использовании, т.к. их можно разложить на столе, перегруппировать и без труда найти искомую тему.

Методические указания по видам работ, предусмотренных рабочей программой

Работа на лекции является очень важным видом студенческой деятельности для изучения дисциплины «Проектирование предприятий общественного питания», т.к. на лекции происходит не только сообщение новых знаний, но и систематизация и обобщение накопленных знаний, формирование на их основе идейных взглядов, убеждений, мировоззрения, развитие познавательных и профессиональных интересов. Лектор ориентирует студентов в действующем законодательстве Российской Федерации и соответственно в учебном материале.

Краткие записи лекций (конспектирование) помогает усвоить материал. Написание конспекта лекций: кратко, схематично, последовательно фиксировать основные положения, выводы, формулировки, обобщения; пометить важные мысли, выделять ключевые слова, термины. Конспект лучше подразделять на пункты, параграфы, соблюдая красную строку. Принципиальные места, определения, формулы следует сопровождать замечаниями: «важно», «особо важно», «хорошо запомнить» и т.п. или подчеркивать красной ручкой. Целесообразно разработать собственную символику, сокращения слов, что позволит сконцентрировать внимание студента на важных сведениях. Прослушивание и запись лекции можно производить при помощи современных устройств (диктофон, ноутбук, нетбук и т.п.).

Работая над конспектом лекций, всегда следует использовать не только учебник, но и ту литературу, которую дополнительно рекомендовал лектор, в том числе нормативно-правовые акты соответствующей направленности. По результатам работы с конспектом лекции следует обозначить вопросы, термины, материал, который вызывают трудности, пометить и попытаться найти ответ в рекомендуемой литературе. Если самостоятельно не удастся разобраться в материале, необходимо сформулировать вопрос и задать преподавателю на консультации, на лабораторной работе.

Лекционный материал является базовым, с которого необходимо начать освоение соответствующего раздела или темы.

В процессе подготовки к лабораторной работе студент знакомится с рабочей программой дисциплины, темами и планами лабораторных работ, уделяя особое внимание целям и задачам, структуре и содержанию дисциплины, проводит анализ основной нормативно-правовой и учебной литературы, после чего работает с рекомендованной дополнительной литературой.

Формы организации лабораторных работ определяются в соответствии со специфическими особенностями учебной дисциплины и целями обучения. При устном выступлении по контрольным вопросам студент должен излагать (не читать) материал выступления свободно. Необходимо концентрировать свое внимание на том, что

выступление должно быть обращено к аудитории, а не к преподавателю, т.к. это значимый аспект профессиональных компетенций выпускника.

По окончании занятия студенту следует повторить выводы, проследив логику их построения, отметив положения, лежащие в их основе. Для этого студенту в течение лабораторной работы следует делать пометки. Более того, в случае неточностей и (или) непонимания какого-либо вопроса пройденного материала студенту следует обратиться к преподавателю для получения необходимой консультации и разъяснения возникшей ситуации.

Для подготовки к зачету необходимо выполнить цикл лабораторных работ, тщательно изучить и проанализировать теоретические сведения по каждому виду работ. При подготовке к ответу студенту предоставляется право пользования основной и дополнительной литературой, научными статьями, а также ресурсами сети интернет.