

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОРГАНИЗАЦИИ И ПРОВЕДЕНИЮ
ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ
ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»
ДЛЯ СТУДЕНТОВ СПЕЦИАЛЬНОСТИ 30.05.01 МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

Введение. Микробиология как наука.

Лабораторная работа - Распространение микроорганизмов.

Цель работы – изучить морфологию и распространение представителей бактерий

Порядок выполнения работы

Выполняя первую работу, студенты учатся обращению с микроскопом, просматривают готовые препараты представителей бактерий, затем самостоятельно готовят препараты живых бактерий и микроскопируют их.

Сначала студенты микроскопируют готовые фиксированные препараты бактерий. Фиксированные препараты представляют собой микроорганизмы, суспендированные в водной среде, высушенные на предметном стекле и окрашенные анилиновыми красителями.

Препараты некоторых живых микроорганизмов студенты готовят самостоятельно. Для этого на чистое предметное стекло наносится небольшая капля водопроводной воды, в которую прокаленной и остуженной бактериологической петлей вносится небольшое количество исследуемых микробов, тщательно размешивается и накрывается покровным стеклом. Избыток воды снимается фильтровальной бумагой. Препарат помещается на предметный столик и закрепляется зажимами. Сначала, глядя в окуляр и вращая макровинт, добиваются резкого изображения объекта при малом увеличении с объективом 10х. Затем переводят микроскоп на большое увеличение с объективом 40х. Вращение винтов надо производить с осторожностью, так как при слишком резком опускании можно раздавить линзы объективом.

При микроскопировании следует иметь в виду, что микроскоп, особенно при больших увеличениях, не захватывает всей глубины объекта, поэтому при постепенном опускании тубуса с помощью микровинта объект виден сначала сверху, а потом – в оптическом разрезе.

1. Просмотр фиксированных препаратов микроорганизмов.

Lactococcus lactis – возбудитель молочнокислого брожения; форма клеток шаровидная – кокки; клетки соединены в цепочки. Используется для получения молочнокислых продуктов.

Lactobacillus acidophilum – палочковидные бактерии; возбудитель молочнокислого брожения. Используется для получения молочнокислых продуктов.

Acetobacter aceti – палочковидные бактерии, окисляющие этанол в уксусную кислоту. Используется для получения пищевого уксуса.

Streptomyces griseus – актиномицет, форма клетки в виде тонких разветвленных нитей; продуцент антибиотика стрептомицина.

Sacccharopolyspora erythrae – актиномицет, форма клетки в виде тонких разветвленных нитей; продуцент антибиотика эритромицина.

2. Просмотр живых препаратов

Bacillus subtilis – форма клеток в виде тонких подвижных палочек; образует споры; продуцент ферментных препаратов.

Spirulina platensis – цианобактерия; форма клеток в виде одиночной нити, состоящей из цилиндрических клеток, плотно прилегающих друг к другу; обладает скользящим движением. Применяется в виде пищевой добавки.

Содержание отчета

1. Латинское название микроорганизма.

2. Морфология клетки (дать рисунок с указанием увеличения микроскопа и сохраняя соотношение размеров клеток).

3. Использование изучаемых бактерий в промышленности.

Контрольные вопросы

1. Опишите устройство микроскопа.
2. Как определить увеличение микроскопа?
3. Какова форма клеток бактерий.
4. Назовите особенности морфологии актиномицетов.
5. Каких представителей бактерий Вы знаете и каково их практическое значение?

Лабораторная работа

Форма и размеры прокариот

Цель работы – изучить морфологию представителей различных групп эукариотов.

Порядок выполнения работы

Студенты самостоятельно готовят живые препараты представителей грибов, дрожжей, водорослей и простейших; микроскопируют их с объективом х40 и зарисовывают с указанием увеличения микроскопа.

Плесневые грибы

Aspergillus niger – форма клеток в виде мицелия с перегородками; на некоторых гифах имеются неразветвленные конидиеносцы со спорами. Конидиеносцы одноклеточные, шаровидно вздутые, на поверхности вздутия расположены короткие кеглеобразные клетки (стеригмы), каждая из которых отшнуровывает по цепочке конидий, окрашенных в черный цвет. Применяется для получения органических кислот и ферментов.

Penicillium chrysogenum – гифы имеют перегородки; на некоторых гифах имеются разветвленные конидиеносцы со спорами. Конидии образуются на концах мутовчато разветвленных конидиеносцев. Применяется для получения антибиотика пенициллина.

Дрожжи

Saccharomyces cerevisiae – одиночные дрожжи с овальными и округлыми клетками; размножаются почкованием. Применяются в пивоварении, хлебопечении, производстве спирта. В природе встречаются на поверхности ягод и других плодов.

Saccharomyces vini – форма клеток овальная и округлая; размножаются почкованием; после почкования некоторое время не отделяются, образуя небольшие «веточки». Применяются в виноделии.

Rhodotorula glutinis – форма клеток эллиптическая; клетки одиночные; размножаются почкованием. Окрашены в оранжевый цвет благодаря содержанию в клетках каротиноидов. Могут расти в средах с углеводородами нефти в качестве источника углерода. Используются как кормовые дрожжи.

Candida tropicalis – дрожжи с овальными и сильно вытянутыми клетками, образующие «псевдомицелий». Могут расти в минеральной среде с углеводородами в качестве источника углерода. Используются как кормовые дрожжи. В промышленном масштабе выращиваются на отходах производства спирта, бумаги.

Водоросли

Chlorella vulgaris – микроскопическая зеленая водоросль, имеющая округлые клетки (5–10 мкм в диаметре); размножаются автоспорами, которые формируются внутри материнской клетки в количестве от 4 до 32 и освобождаются после разрыва ее оболочки. Могут применяться для массового культивирования с целью получения кормового белка, а также для регенерации воздуха в замкнутых системах (подводные лодки, космические станции и т.д.). *Scenedesmus sp.* – относится к группе зеленых водорослей; имеет овальную форму клеток; наружные клетки часто бывают с заостренными концами; клетки соединены вместе по четыре. Применяется для получения пищевого белка.

Простейшие

Препарат готовится из активного ила аэротенка. Изучить морфологию обнаруженных представителей простейших и зарисовать их.

Содержание отчета

1. Латинское название микроорганизма.
2. Морфология клетки (дать рисунок с указанием увеличения микроскопа и сохраняя соотношение размеров клеток).
3. Использование изучаемых микроорганизмов в промышленности.

Контрольные вопросы

1. Опишите форму клеток представителей грибов и их практическое использование.
2. Опишите форму клеток дрожжей; назовите представителей, и расскажите об их практическом использовании.
3. Расскажите о морфологии микроводорослей и их практическом использовании.
4. Назовите представителей простейших и расскажите об их применении в биотехнологии.

Лабораторная работа

Методы изучения морфологии микроорганизмов

Цель работы – освоить основные методы изучения морфологии микроорганизмов.

Порядок выполнения работы

1. Приготовить фиксированные препараты молочнокислых бактерий из биокефира и ацидофилина.
2. Выполнить окраску по Граму клеток *Bacillus subtilis* (грам+) и *Escherichia coli* (грам-).
3. Определить размеры дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*.
4. Определить число живых и мертвых клеток *Saccharomyces cerevisiae* в суспензии дрожжей.

Содержание отчета

1. Морфология клеток молочнокислых бактерий (рисунки фиксированных препаратов молочнокислых бактерий с указанием увеличения микроскопа).
2. Рисунки фиксированных препаратов грамотрицательных и грамположительных бактерий.
3. Определение цены деления измерительного барабана окулярного микрометра.
4. Размеры дрожжевой клетки *Saccharomyces cerevisiae*.
5. Число живых и мертвых клеток в суспензии дрожжей.

Контрольные вопросы

1. Как приготовить фиксированный препарат бактерий?
2. С чем связано различие бактерий в окраске по Граму?
3. В чем заключается метод окраски по Граму?
4. Как определить размер микроорганизмов?
5. Как определить количество живых и мертвых клеток микроорганизмов методом окраски метиленовой синью?

Лабораторная работа
Методы окраски капсул и включений бактерий

Цель работы – освоить методики окраски капсул и включений бактерий.

Порядок выполнения работы

1. Выполнить окраску мазка капсульных микроорганизмов по Бурри и Бурри-Гинсу.
2. Выявить включения у бактериальных клеток.
3. Определить преобладающие морфотипы микроорганизмов и наличие включений в бактериальных клетках.
4. Зарисовать и дать описание микробному пейзажу.

Содержание отчета

1. Конспект основных методов окрашивания капсул и включений у бактерий.
2. Описание морфологии клеток (рисунки препаратов бактерий окрашенных различными методами окраски с указанием увеличения микроскопа).
3. Рисунки фиксированных препаратов.

Контрольные вопросы

1. Что представляет собой капсула у бактерий? Каково ее значение?
2. В чем заключается метод окраски по Бурри?
3. В чем заключается метод окраски по Бурри-Гинсу?
4. В чем заключается метод окраски по Михину?
5. Что представляют собой включения у бактериальных клеток?
6. Какие включения бывают и какого их значение?
7. Какие методы окраски включений вам известны?

Примечание

1. Методика окраски на выявление зерен волютина по Лёффлеру:

1. На готовый зафиксированный мазок наносят 1-2 капли водноспиртового раствора метиленовой синьки. Красят 3-5 минут.
2. Сливают краску, ополаскивают водой, высушивают.
3. Микроскопируют с иммерсионной системой.

Результат: на мазке - клетки голубого цвета с синими, почти черными зернами волютина (зависит от интенсивности действия красителя).

2. Методика окраски на выявление гликогена:

1. На чистое предметное стекло наносят небольшую каплю суспензии микроорганизма, и к ней добавляют такую же каплю раствора йода в йодистом калии (7 г йода и 20 г йодистого калия в 100-300 мл дистиллированной воды) на 2-3 минуты.
2. Сверху помещают покровное стекло, избыток жидкости удаляют фильтровальной бумагой.
3. Препарат просматривают с масляной иммерсией (на покровное стекло наносят каплю масла) с объективом х40.

Результат: цитоплазма клеток окрашивается в светло- желтый цвет, а гранулы гликогена - в красно-бурый.

3. Методика окраски на выявление гранулезы:

1. В небольшую каплю суспензии маслянокислых бактерий добавляют небольшую каплю раствора Люголя.
2. Закрывают покровным стеклом, удаляют избыток жидкости фильтровальной бумагой.
3. На покровное стекло наносят каплю масла и просматривают с иммерсионной системой.

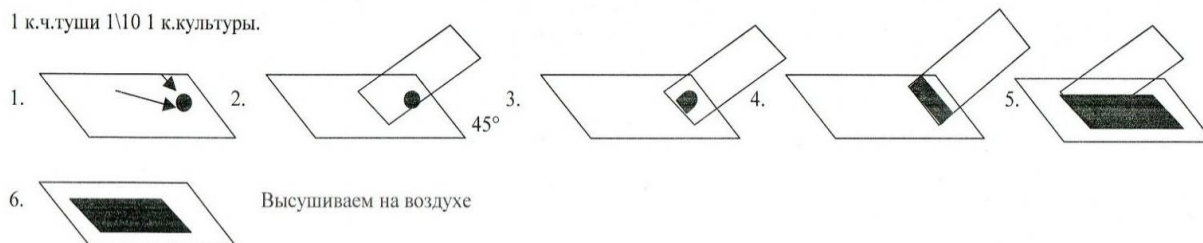
Результат: включения гранулезы окрашиваются в темно-синий цвет.

4. Методика окраски по Бурри:

1. Каплю взвеси микробов смешивают с каплей туши на обезжиренном стекле и готовят мазок шлифованным краем стекла, как мазки крови; высушивают на воздухе.
2. Микроскопируют с иммерсионной системой.

Результат: на темном фоне туши видны неокрашенные светлые капсулы и клетки бактерий.

1 к.ч.туши 1/10 1 к.культуры.



5. Методика окраски по Бурри-Гинсу:

1. Каплю взвеси микробов смешивают с каплей туши на обезжиренном стекле и готовят мазок шлифованным краем стекла, как мазки крови; высушивают, фиксируют.
2. Наносят водный раствор фуксина на 1-2 мин.
3. Промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: на темном фоне туши видны неокрашенные светлые капсулы, внутри которых – красные бактерии.

6. Методика окраски по Михину:

1. Фиксированный мазок окрашивают метиленовой синькой Леффлера в течение 2—3 минут при подогревании (до появления паров).
 2. Краску смывают водой и мазок высушивают фильтровальной бумагой.
- Лучше окрашивать старым раствором краски.

Результат: капсулы — светло-розовые, бактерии — темно-синие.

Лабораторная работа Техника микробиологических посевов.

Цель работы — овладеть методами микробиологических посевов и получить навыки описания культуральных признаков микроорганизмов.

Студенты должны сделать посевы различных культур разными способами. При посевах микроорганизмов применяют металлические петли, пипетки и шпатели. Петлей пользуются для взятия небольших количеств культуры с твердых сред. Пипетками отбирают пробы из жидких сред. Шпатели служат для размазывания биомассы по поверхности агаровой среды. Пипетки и шпатели стерилизуются завернутыми в бумагу. Для стерилизации петли ее перед посевом и после посева прокалывают в пламени горелки.

Пересевы производятся около пламени горелки. Через пламя проводятся горлышки колб и пробирок, а также пипетки и шпатели, которыми пользуются при посеве.

Использованные пипетки и шпатели помещают в специальные сосуды с дезинфицирующим раствором.

Порядок выполнения работы

Часть 1

1. Посев петлей на пробирку со скошенным агаром. Посев одной из перечисленных дрожжевых культур: *Saccharomyces cerevisiae* раса XII

Saccharomyces vini – на сусло-агар

Bacillus subtilis – на мясо-пептонный агар (МПА)

2. Посев на чашки Петри. (Берется одна из перечисленных культур):

Rhodotorula glutinis – на сусло-агар

Candida tropicalis – на сусло-агар

3. Посев в жидкую среду.

Посев культуры плесневого гриба *Aspergillus niger* – посев петлей из пробирки на минеральную среду с сахарозой в колбах.

На чашках, пробирках и колбах надписывается дата посева, название культуры и фамилия студента. Чашки заворачиваются в бумагу кверху дном. Посевы помещаются в термостат.

В тетради делается запись о посевах. Схема записи

Дата посева. Способ посева. Название культуры. Название среды.

Через неделю проводится просмотр посевов. Студенты рассматривают визуально и под микроскопом культуры, посеянные на 1-м занятии, и проводят описание роста микроорганизмов по приложенной схеме.

Часть 2 Описать культуральные признаки роста культуры на пробирке со скошенным агаром.

1. Описать культуральные признаки роста культуры на чашках Петри.
2. Описать культуральные признаки роста культуры на жидкой среде.

Содержание отчета

1. Название культуры. Название среды.
2. Способ посева. Культуральные признаки. Микроскопическая картина. Возраст культуры.
3. Температура культивирования.

Контрольные вопросы

1. Принципы составления питательных сред.
 2. Классификация питательных сред по составу, физическому состоянию и назначению. Привести примеры питательных сред.
 3. Как микроорганизмы разделяются по отношению к таким физико-химическим факторам как pH, температура, аэрация?
4. Способы стерилизации микробиологической посуды и сред.
5. Основные способы посевов микроорганизмов.
 6. Какие признаки используются при описании роста микроорганизмов на жидких и твердых средах?
7. Назовите культуральные признаки исследованной культуры.

Лабораторная работа

Изучение микроорганизмов маслянокислого брожения.

Цель: освоить методику приготовления культур маслянокислых бактерий и ознакомиться с основными представителями группы.

Маслянокислое брожение – сложный процесс превращения углеводов в масляную кислоту и другие продукты, совершаемый группой анаэробных спороносных бактерий. Маслянокислые бактерии имеют различные активные ферменты, способные производить расщепление сложных углеводов. Образующаяся масляная кислота в невысоких концентрациях является веществом, стимулирующим рост высших растений.

Материалы и оборудование: большие пробирки, резиновые пробки к ним, клубни картофеля, пинцеты, скальпели, толченый мел, водяная баня, раствор Люголя, 5%-ный раствор хлорного железа.

Порядок выполнения работы

1. Неочищенный картофель нарезать ломтиками, которые могут легко войти в пробирку.
2. Заполнить ими пробирку на 1/3 объема, добавить щепотку мела и заполнить водой почти до верха.
3. Пробирки поместить в водяную баню при температуре 80°C на 10-15 мин.
4. Затем пробирки закрыть пробками и ставить в термостат с температурой 35°C.

В этих условиях уже через 2-3 дня в жидкости обнаруживают бактерии маслянокислого брожения. Культура является элективной. Для их преимущественного развития созданы анаэробные условия, бесспорные формы убиты предварительным нагреванием, добавка мела нейтрализует образующиеся кислоты и способствует развитию бактерий.

Культуру микроскопировать, в ней обнаруживается главным образом *Clostridium pasteurianum* – подвижные палочки с закругленными концами, одиночные и парные. В старых культурах у одного из концов клетки обнаруживается спора. При микроскопировании можно добавить к капле культуральной жидкости каплю раствора Люголя. Маслянокислые бактерии содержат в клетках гранулезу, которая окрашивается раствором Люголя в синий цвет.

С культуральной жидкостью проводят качественную реакцию на масляную кислоту. Для этого к 5 мл жидкости добавляют 2 мл 5%-ного хлорного железа. При нагревании образуется маслянокислое железо коричневого цвета. Результаты занести в лабораторную тетрадь. Сделать рисунок.

Содержание отчета

1. Записать характеристики маслянокислым бактериям.
2. Морфология клетки (дать рисунок с указанием увеличения микроскопа и сохраняя соотношение размеров клеток).
3. Использование изучаемых бактерий в промышленности.

Контрольные вопросы:

1. Какую функцию в экосистеме выполняют маслянокислые бактерии?
2. Где в природе они обитают?
3. Какой запасной продукт синтезируют бактерии этой группы?
4. Назовите основных представителей группы маслянокислых бактерий.
5. Какой тип метаболизма осуществляют эти бактерии?
6. Какие экологические условия они предпочитают?

Лабораторная работа

Изучение микроорганизмов молочнокислого брожения.

Цель: освоить методику приготовления культур молочнокислых бактерий и ознакомиться с основными представителями группы.

Молочнокислое брожение представляет собой анаэробный процесс разложения углеводов ферментами молочнокислых бактерий с образованием молочной кислоты и другими продуктами. В зависимости от вида бактерий, производящих этот процесс, конечные продукты могут быть разными. Различают гомоферментативное молочнокислое брожение, при котором молочный сахар образует только молочную кислоту и гетероферментативное, при котором кроме молочной кислоты образуются и другие продукты: летучие кислоты спирты и эфиры.

Возбудители гомоферментативного брожения являются:

Streptococcus lactis – овальные кокки, диаметром 0,5-1 мкм, располагаются в культуре попарно (диплококки), цепочками (стрептококки), реже одиночными клетками.

Streptococcus cremoris – клетки расположены более длинными цепочками.

Lactobacterium bulgaricum – болгарская палочка, крупная бактерия, длиной 4-5 мкм, неподвижная, грамположительная, располагается в виде отдельных клеток и коротких цепочек (стрептобактерия). Температура развития 40-45°C.

Lactobacterium acidophilum – ацидофильная палочка, по морфологии близка к болгарской, но имеет другой температурный оптимум развития – 37°C.

Lactobacterium cucumeris – огуречная палочка, короткая грамположительная неподвижная бактерия. Располагается парами или цепочкой. Оптимальная температура ее развития – 20-25°C. Встречается в рассоле засоленных огурцов, капусты, силосе.

Возбудители гетероферментативного брожения это палочковидные бактерии: *Lactobacterium brassicae fermentatae* – капустная палочка, *Betabacterium breve*, *Leuconostoc mesenteroides*.

Молочнокислые бактерии широко распространены в природе. Они всегда имеются в почве, на поверхности растений.

Материалы и оборудование: молочнокислые продукты (простокваша, кефир), огуречный и капустный рассолы, микробиологические петли, спиртовки, раствор метиленового синего, пинцеты, микроскопы, пробирки, спиртовки, смесь Никифорова (этиловый спирт и серный эфир в равных объемах).

Порядок выполнения работы

1. Указанные продукты нанести петлей на предметное стекло и смешать с каплей воды.
2. Сделать микробиологический мазок.
3. Мазок фиксировать в пламени спиртовки, одновременно обезжирить смесью Никифорова 10 мин.
4. Произвести окраску в течение 3-5 мин водным раствором метиленового синего.
5. Промыть водой, высушить при комнатной температуре или осторожно рядом с пламенем спиртовки.
6. Микроскопировать в иммерсии.

Результаты занести в лабораторную тетрадь. Сделать рисунок и обозначения.

Содержание отчета

1. Записать характеристики таксономических групп гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий
2. Морфология клетки (дать рисунок с указанием увеличения микроскопа и сохраняя соотношение размеров клеток).
3. Использование изучаемых бактерий в промышленности.

Контрольные вопросы:

1. Какую функцию в экосистеме выполняют молочнокислые бактерии?
2. Где в природе они обитают?
3. Какой запасной продукт синтезируют бактерии этой группы?
4. Назовите основных представителей группы молочнокислых бактерий.
5. Какой тип метаболизма осуществляют эти бактерии?
6. Какие экологические условия они предпочитают?

Лабораторная работа

Наследственность и изменчивость микроорганизмов

I. Вопросы для обсуждения.

1. Наследственность и изменчивость микроорганизмов. Понятия: ген, генотип, фенотип.
2. Модификации и мутации, репарации.
3. Мутагены и механизмы их действия на микроорганизмы
4. Ауксотрофные микроорганизмы и методы их выделения.
5. Контрольная работа по теме: “Морфолого-биологические свойства кокков и палочковидных бактерий”.

II. Работа, выполняемая студентами.

1. Действие мутагенов на микроорганизмы (см. схему постановки опыта).

Схема постановки опыта.

0,5 мл взвеси 0,1 0,5 0,5

2,5 мл H₂O + 9,9 4,5 4,5

Контроль 1:100 1:1000 1:10000

0,1 мл 0,1 мл

посев на чашку

0,5 мл взвеси 0,1 0,5

8 мл исходной 2,5 мл H_2O_2 + 9,9 4,5

взвеси в пробирке - Качалка 30 мин 1:100 1:1000

0,1 мл 0,1 мл посев на чашку

4 мл в чашку 0,1 0,5 0,5

опыт с УФЛ 9,9 4,5 4,5

(1300 эрг/мм²мин) 1:100 1:1000 1:10000

0,1 мл 0,1 мл посев на

1. Приготовить 8 мл взвеси клеток одного из видов клоновых культур дрожжей: *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorulas sp.*, *Aureobasidium pullulans* по 500 млн стандарту. 0,5 мл взвеси добавить в пробирку, где содержится 2,5 мл раствора мутагена (0,5% раствор H_2O_2), пробирку поставить на качалку на 30 мин при температуре 25°C. Через 30 мин отобрать пробы, сделать разведения 1:100, 1:1000 и засеять по 0,1 мл каждого разведения на агаризованную среду шпателем

2. Приготовленную взвесь дрожжей залить в чашку Петри с ровным дном по 4 мл и подвергнуть УФ-облучению, осторожно поворачивая чашку для перемешивания взвеси. Продолжительность облучения: *Saccharomyces cerevisiae* – 1 мин, *Rhodotorulas sp.*, *Aureobasidium pullulans* – 2 мин. Сразу же после облучения чашки заворачивают в черную бумагу, чтобы предотвратить фотореактивацию, затем из разведенной взвеси (1:1000, 1:10000) по 0,1 мл каждого разведения засевают на агаризованную среду газоном в чашку Петри с МПА. Контрольную суспензию действию мутагенов не подвергают. Её разводят 1:1000, 1:10000 и высевают каждое разведение по 0,1 мл на чашку.

3. Изучение механизма действия фенола на подвижность бактерий.

Культуру *Proteus vulgaris* засеять в 2 пробирки с МПБ, в одну из которых был предварительно внесен 1% раствор фенола. После инкубации при температуре 37°C (на следующем занятии) определить подвижность протей в обеих пробирках (препарат “раздавленная капля”). Неподвижную культуру протей со среды с фенолом пересеять на свежий МПБ и инкубировать при 37°C. Определить реверсию утраченного признака (подвижности) и сделать заключение о модификационном характере изменчивости.

Таблица 1

Летальное действие мутагенов

Мутаген	Длительно сть воздействи я мутагена	Количество колоний на чашке при разведении			Количес тво жизнесп особных клеток в мл	Выживаемость, %
		1:100	1:1000	1:10000		

Контроль						
H ₂ O ₂						
УФЛ						

Таблица 2

Изменчивость под действием мутагенов

Мутаген	Длительность воздействия мутагена	Общее число колоний на чашках	Количество морфологически измененных колоний	Изменчивость, %
Контроль				
H ₂ O ₂				
УФЛ				

Структура отчета

1. Описание полученных изолированных колоний.
2. Определение чистоты колонии (окраска по Граму). Рисунок микроорганизмов
3. Заполнить таблицы 1 и 2.

Контрольные вопросы:

1. Отличительные особенности генотипа бактерий.
2. Внехромосомные факторы наследственности.
3. Что такое плазмиды, их функции и роль. Виды плазмид. За что отвечают R -, F -, Col-, Тох-, Нем - плазмиды?
4. Отличия транспозонов от IS - элементов.
5. Что такое модификационная изменчивость, виды?
6. Что лежит в основе адаптационных реакций бактерий?
7. Особенности фенотипической изменчивости бактерий?
8. Что такое мутационная изменчивость, виды?
9. Особенности генотипической изменчивости бактерий?
10. Что такое рекомбинационная изменчивость, виды?
11. Что лежит в основе трансдукции, трансформации, конъюгации?
12. Что используют для постановки опытов трансдукции, трансформации, конъюгации?

Лабораторная работа

Изучение влияния различных факторов на кинетику роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Цели работы: научиться измерять основные кинетические параметры роста микроорганизмов на примере дрожжей.

Материалы и оборудование: питательные среды, культура дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, стерильные пробирки, метиленовый синий, покровные и предметные стекла, микроскоп.

Ход работы

В работе изучается влияние на кинетику роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*:

- А) концентрации источника углерода;
- Б) концентрации источника азота;
- В) температуры;
- Г) рН среды.

На каждом этапе выбирается оптимальный параметр фактора, который не изменяется в последующих экспериментах. Задача - найти оптимальные параметры исследуемых факторов для роста дрожжей и обосновать их.

Занятие 1

Подготовка к эксперименту по влиянию концентрации источников углерода и азота в среде на кинетику роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Приготовить питательные среды. Количество минеральных солей в питательных средах должно быть одинаковым (из расчета г/л H₂O): KН₂РO₄ – 1,0; KСl – 0,15; MgSO₄*7H₂O – 0,2; СаСl₂ – 0,05. рН питательных сред должно быть равным 6. В эксперименте используются несколько сред, которые отличаются по концентрации источников углерода и азота.

Первая среда: доля сахарозы в питательной среде составляет 1%, количество сульфата аммония рассчитывается исходя из правила, что соотношение углерода и азота в питательной среде равно 6.

Вторая среда: доля сахарозы в питательной среде составляет 2%, количество сульфата аммония рассчитывается исходя из правила, что соотношение углерода и азота в питательной среде равно 6.

Третья среда: доля сахарозы в питательной среде составляет 1%, сульфат аммония взвешивается в два раза больше, чем в первой среде.

Четвертая среда: доля сахарозы в питательной среде составляет 2%, сульфат аммония взвешивается в два раза больше, чем в третьей среде.

Питательные среды наливают по 150 мл в колбы объемом 250 мл, закрывают ватно-марлевыми пробками и автоклавировуют при 0,5 атм.

Занятие 2

Провести опыт по кинетике роста дрожжей. Для этого взвесить по 30 мг дрожжей, стерильно поместить в колбы с питательными средами, размешать и стерильно отлить в пробирку 5 мл. Это будет нулевая проба, начало роста биомассы. Колбы поместить в термостат при температуре 300С.

В дальнейшем пробы следует стерильно отбирать по 5 мл культуральной жидкости в пробирку каждые 0,5 ч. Прирост биомассы сопровождается увеличением мутности культуральной жидкости, которое можно регистрировать как изменение оптической плотности. Результаты эксперимента записывать в тетрадь.

Для определения доли живых, мертвых и почкующихся клеток в суспензии дрожжей в момент отбора проб можно использовать следующую методику. В каплю суспензии дрожжей на предметном стекле внести каплю рабочего раствора метиленового синего, покрыть покровным стеклом и микроскопировать. При этом живые клетки очень слабо окрашиваются красителем, мертвые клетки становятся синего цвета. Почкующиеся клетки легко отличить от живых непочкующихся по четко видимому выросту (почке) на клетке. Для достоверности результата клетки следует считать не менее чем в 10 полях зрения.

Занятие 3

Математическая обработка результатов эксперимента. По полученным данным каждой группе студентов необходимо построить свою кривую роста. По результатам микроскопирования посчитать долю живых, почкующихся и мертвых клеток в суспензии дрожжей.

Построить кривую роста дрожжей, отложив по оси абсцисс время культивирования, по оси ординат – натуральный логарифм оптической плотности. Определить основные параметры роста культуры: удельную скорость роста и время генерации. На том же графике построить зависимость доли почкующихся клеток от времени и доли мертвых клеток от времени. Провести сравнение графиков, построенных студентами для разных питательных сред, сделать выводы. Среди исследованных питательных сред найти наиболее пригодную для роста дрожжей.

Подготовиться к эксперименту по зависимости кинетики роста дрожжей от температуры. Для этого приготовить наиболее пригодную для роста дрожжей питательную среду и разлить по 150 мл в две колбы объемом 250 мл. Колбы закрыть ватно-марлевыми пробками и отдать на стерилизацию.

Занятие 4

Провести эксперимент по зависимости кинетики роста дрожжей от температуры по методике, предложенной в занятии 2, однако суспензию дрожжей в одной колбе культивировать при комнатной температуре, а в другой – при температуре 35°C в термостате.

Занятие 5

Обработать результаты математически. Найти оптимальную температуру роста дрожжей. Подготовиться к эксперименту по зависимости кинетики роста дрожжей от pH. Для этого приготовить наиболее пригодную для роста дрожжей питательную среду и разлить по 150 мл в три колбы объемом 250 мл. Колбы закрыть ватно-марлевыми пробками и отдать на стерилизацию. Отдельно приготовить и простерилизовать 1 н. растворы соляной кислоты и гидроксида натрия. Перед экспериментом в первой колбе значение pH оставить неизменным, во второй колбе значение pH снизить на 2 единицы с помощью кислоты, в третьей колбе значение pH увеличить на 2 единицы с помощью щелочи.

Занятие 6

Провести эксперимент по зависимости кинетики роста дрожжей от pH. Методика проведения эксперимента описана в занятии 2. Дрожжи культивировать при температуре, выбранной в предыдущем эксперименте.

Занятие 7

Обработать результаты математически. Найти оптимальное для роста дрожжей значение pH.

Вопросы для собеседования :

Базовый уровень :

1. Перечислите основные экологические группы бактерий по отношению к температуре.
2. В чем сущность адаптации психрофильных и термофильных бактерий?
3. Перечислите экологические группы бактерий по отношению к кислотности среды.
4. Каковы особенности галофильных бактерий?
5. Перечислите экологические группы бактерий по отношению к кислороду.
6. В чем заключается эффект действия ультрафиолетового излучения на микроорганизмы?

Повышенный уровень:

7. Поясните понятие «кардинальные температуры».
8. В чем состоит сущность осморегуляции у бактерий?
9. Каким образом влияет на бактерии земное тяготение?
10. Влияют ли на бактерии магнитные поля? Какие микроорганизмы относят к магнитобактериям?
11. Какова устойчивость различных бактерий к повышенному давлению?
12. Назовите основные механизмы защиты анаэробных бактерий от кислорода.
13. Каковы способы использования бактериями энергии солнечного излучения?

Получение пищевой уксусной кислоты при окислении этилового спирта уксуснокислыми бактериями

Цель работы – изучение способности уксуснокислых бактерий *Acetobacter aceti* окислять этиловый спирт в уксусную кислоту.

Для выращивания *Acetobacter aceti* используется минеральная среда Лойцянской состава, г/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,0

KH_2PO_4 – 0,5

MgSO_4 – 0,5

Источником углерода служит этиловый спирт, который добавляется ежедневно в количестве 0,2–0,5 %. Выращивание уксусно-кислых бактерий можно проводить, осуществляя «воздушное» питание этанолом, например, поставить колбы с культурой *Acetobacter aceti* в эксикатор, поместив в него сосуд с этиловым спиртом.

Среда разливается тонким слоем в конические колбы с ватными пробками. Для засева используется двух- трехсуточная культура *Acetobacter aceti* на жидкой среде. Выращивание ведется при t 30°C в течение 5–7 суток. В конце опыта определяется количество образовавшейся уксусной кислоты.

Порядок выполнения работы

1. В колбы со стерильной средой внести 0,5 мл посевного материала, добавить 2–3 капли этилового спирта, поставить в термостат на 30°.
2. Определить pH в стерильной среде при помощи pH-метра.
3. По окончании выращивания *Acetobacter aceti* описать культуральные признаки (наличие пленки, ее вид, осадок и т.д.) и микроскопическую картину (форма, размер бактерий, подвижность).
4. Определить pH культуральной жидкости при помощи pH-метра.
5. Определить количество образовавшейся уксусной кислоты в процентах. Метод определения содержания уксусной кислоты

10 мл фильтрата культуральной жидкости перенести пипеткой в плоскодонную коническую колбу на 100–200 мл воды и 2–3 капли фенолфталеина, титровать 0,1 н раствором NaOH до слаборозовой не исчезающей окраски.

Количество образовавшейся уксусной кислоты вычисляется по формуле:

$$X = \frac{0,006 \times a \times k \times 100}{v} (\%), \text{ где}$$

a – объем 0,1 н раствора NaOH, пошедшего на титрование в миллилитрах; v – объем культуральной жидкости, взятой для титрования в миллилитрах; k – поправка щелочи;

0,006 – количество граммов уксусной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH.

Содержание отчета

1. Дата проведения опыта.
2. Название культуры.
3. Состав среды.
4. Возраст среды.
5. Описание культуры:
 - а) цвет, вид пленки, наличие осадка, запах культуральной жидкости (отметить характерный запах уксусной кислоты);
 - б) микроскопическая картина.
6. pH среды в начале и в конце опыта.
7. Количество образовавшейся уксусной кислоты.

Контрольные вопросы

1. Назовите способы получения уксусной кислоты.
2. Какой микроорганизм является продуцентом уксусной кислоты? Каковы его свойства?
3. Из какого вещества образуется уксусная кислота? Напишите суммарное уравнение процесса.
4. Как производится выращивание *Acetobacter aceti*?

Лабораторная работа **Исследование микрофлоры воздуха**

Цель работы – определить бактериальную загрязненность воздуха в помещении учебной лаборатории.

Порядок выполнения работы

Часть I

Для определения количества микроорганизмов в воздухе по методу Коха выполняются следующие процедуры.

1. Каждый студент устанавливает чашку Петри с мясо-пептонным агаром (МПА) на определенной высоте (на полу, на высоте от уровня пола 75 см, 150 см, 250 см)
2. Чашки открывают полностью и выдерживают в течение 5 мин.
3. Затем чашки закрывают и переносят в термостат с температурой 37⁰С на 24 часа.
4. После чего оставляют при комнатной температуре в помещении лаборатории на 48 часов.

Часть 2

1. Произвести подсчет колоний, выросших в чашках Петри.
2. По количеству подсчитанных колоний определяют микробную загрязненность воздуха следующим образом.

Экспериментально установлено, что за 5 мин при спокойном состоянии воздуха на площадь 100 см² оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 л воздуха. Определив площадь питательной среды в чашке и зная количество выросших на ней колоний микробов, рассчитывают количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха.

Пример. Пусть в чашке Петри диаметром 10 см выросло 25 колоний бактерий. Тогда площадь питательной среды равна πr^2 :

$$3,14 \times 5^2 = 78,5 \text{ см}^2.$$

Если на площадь 78,5 см² за 5 мин осело 25 микробных клеток, то за это же время на площадь 100 см² осело бы микробов:

$$78,5 \text{ см}^2 - \text{л } 25$$

$$100 \text{ см}^2 - X$$

$$X = 25 \times 100 / 78,5 = 32$$

Таким образом, за 5 мин на площадь 100 см² осело бы 32 микробных клетки из 10 л воздуха. Чтобы узнать количество бактерий, содержащихся в 1 м³ (1000 л) воздуха, составим пропорцию:

$$10 \text{ л} - 32 \text{ микроба } 1000 \text{ л} - X$$

$$X = 32 \times 1000 / 10 = 3200$$

Следовательно, в 1 м³ воздуха содержится 3200 бактерий.

По данным всей группы составляется таблица «Микрофлора воздуха в лаборатории».

Содержание отчета

1. Указать место отбора пробы воздуха.
2. Количество микроорганизмов в данной пробе, кл/м³.
3. Таблица «Микрофлора воздуха в лаборатории».

Контрольные вопросы

1. Что характеризует микрофлору воздуха?
2. Как определить микробную загрязненность воздуха?

Лабораторная работа

Исследование микрофлоры воды

Цель работы – определить общее микробное число водопроводной воды и воды открытых водоемов загрязненность в пробах, принесенных студентами из разных мест Москвы и Подмосковья.

Для определения общего количества микробов пробы воды студенты отбирают в день занятий в стерильные пробирки.

Порядок выполнения работы

Часть 1

1. В зависимости от степени предполагаемого загрязнения исследуемую воду развести стерильной водой. Обычно делают десятикратные разведения от 1:10 до 1:100.

2. Произвести посев 1 мл неразведенной водопроводной воды или 1 мл разведенной воды из естественного водоема. Для этого исследуемую воду в объеме 1 мл из соответствующего разведения, начиная с большего, вносят в стерильные чашки Петри (не менее двух) и заливают 15 мл расплавленного и остуженного до 45°C мясо-пептонного агара.

3. Плавными движениями чашки по столу равномерно перемешать содержимое и оставить на столе до застывания агара.

4. Затем чашки с застывшей питательной средой поместить дном кверху в термостат; при этом одну чашку поместить в термостат при температуре 37°C на 24 часа, а вторую – оставить при комнатной температуре на 48 часов.

Часть 2

1. После проращивания микробов произвести подсчет выросших колоний с помощью лупы, отмечая каждую колонию на дне чашки маркером. Количество выросших колоний соответствует количеству микроорганизмов в засеянном объеме воды с соответствующего разведения.

2. Вычислить показатель общего микробного числа воды, выражаемого средним арифметическим от количества выросших колоний. Для этого по каждому посеву следует сосчитать количество колоний, выросших в каждой чашке, и умножить на соответствующее разведение. Результаты, подсчитанные по отдельным чашкам, сложить и затем разделить на количество засеянных чашек. Полученное число и будет являться показателем общего микробного числа воды.

Водопроводная вода должна иметь микробное число, не превышающее 100.

3. По данным всей группы студенты составляют таблицу «Микрофлора воды в Ставрополе».

Контрольные вопросы

1. С какой целью проводят бактериологическое обследование воды?
2. Как отбирают пробы воды?

3. Как проводят определение общего микробного числа воды?
4. Какие микроорганизмы служат показателем санитарного состояния воды и почему?

Лабораторная работа

Исследование микрофлоры почвы

Цель работы – определить количество бактерий и актиномицетов в образцах почвы, принесенных студентами.

Для посева необходимо подготовить на каждый почвенный образец следующее:

- 1) 100 мл стерильной воды в колбе объемом 250 мл;
- 2) Пробирки со стерильной водой по 10 мл для приготовления разведений;
- 3) стерильные пипетки на 1 мл, учитывая, что для каждого разведения нужна другая пипетка;
- 4) стерильные чашки Петри;
- 5) стерильные питательные среды.

Порядок выполнения работы

Часть 1

1. Навеску почвы 10 г увлажнить до пастообразного состояния, растереть пальцем в резиновой перчатке и внести в колбу с 90 мл стерильной водопроводной воды. Содержимое колбы энергично взболтать в течение 5–10 мин до получения равномерной взвеси.
2. Почвенную суспензию разбавить, пользуясь методом серийных разведений (рис. 21). Для этого после полутора-двухминутного отстаивания из приготовленной взвеси (1:10) стерильной пипеткой берут 1 мл болтушки и вносят в пробирку с 9 мл стерильной воды. Получают разведение 1:100. После хорошего перемешивания в течение 1 мин и отстаивания в течение 30 сек из пробирки берут 1 мл взвеси стерильной пипеткой и переносят во вторую пробирку с 9 мл стерильной воды. Получают разведение 1:1000. Аналогичным образом переносят 1 мл взвеси из второй пробирки в третью, из третьей в четвертую и т.д., получая нужные десятикратные разведения. Обычно готовят разведения до 1:1000000. Для приготовления очередного разведения используется новая стерильная пипетка.
3. Из 3-го и 4-го разведений перенести по 1 мл пробы в пустые стерильные чашки Петри, предварительно обозначив на них разведение. Из каждой пробы почвы должно быть использовано для посева не менее двух различных разведений в зависимости от предполагаемого содержания микробов в почве. Из каждого разведения должен быть сделан посев минимум в две чашки. Перед посевом содержимое каждой пробирки тщательно перемешивают.
4. Подготовленные разведения залить 20 мл расплавленной и остуженной до 45 °С крахмало-аммиачной среды или среды Чапека.
5. Из 5-го и 6-го разведения аналогичным образом внести по 1 мл в пустые чашки Петри и залить 0 мл расплавленного и остуженного до 45 °С мясо-пептонного агара.
6. Осторожными круговыми движениями чашки по столу перемешать почвенную суспензию с питательной средой.
7. После застывания среды чашки помещают вверх дном в термостат с температурой 30–35 °С на 34–48 часов, а затем выдерживают 1–2 суток при комнатной температуре. На крышке чашки предварительно указывается номер группы, фамилия студента и степень разведения почвенной взвеси. После застывания среды чашки вверх дном завернуть в бумагу, подписать и поставить в термостат. Температура культивирования 28–30 °С. Продолжительность выращивания – 8–10 суток.

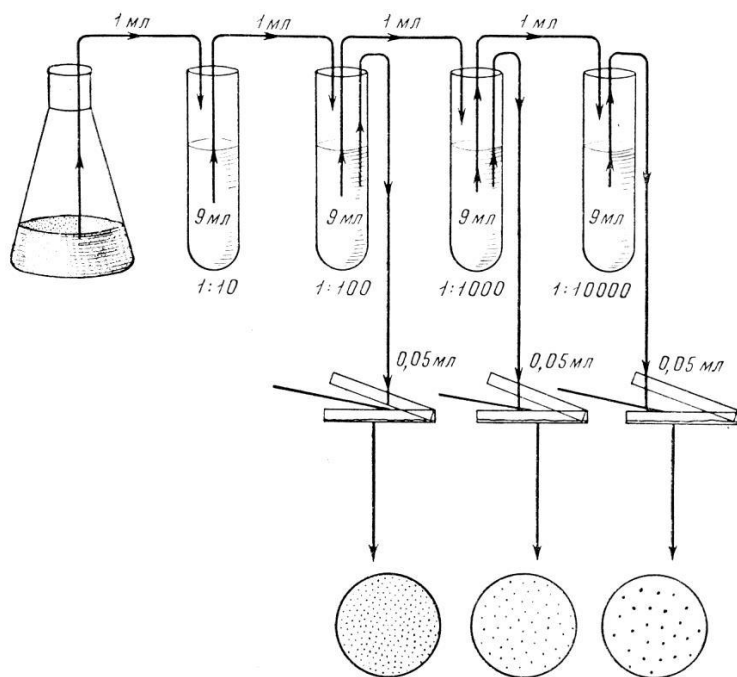


Рис. 21. Схема приготовления разведений суспензии микроорганизмов и проведения посева поверхностным способом

Часть 2

1. Определить количество бактерий, содержащихся в 1 г почвы, по количеству выросших в чашке колоний. Для подсчета необходимо брать такие разведения, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Чашки с количеством колоний менее 50 считаются недостоверными. При большом количестве выросших колоний (более 150) производят подсчет на $\frac{1}{4}$ чашки с последующим пересчетом на всю ее площадь. Из суммы колоний, выросших на двух чашках, выводят среднеарифметическое число и производят пересчет на число бактерий, содержащихся в 1 г почвы. Для этого среднее число колоний, выросших на чашках соответствующего разведения, умножают на степень разведения.

Пример. В чашках, засеянных почвенной суспензией из разведения 1:10000, выросло в среднем 60 колоний. $60 \times 10000 = 600000$ бактерий содержится в 1 г почвы.

Удобнее выражать такие большие величины в виде 10^n . В нашем примере $600000 = 6 \cdot 10^5$.

2. Все результаты подсчетов колоний и последующих пересчетов зано-

сят в табл. 1.

Таблица 1. Численность колоний бактерий, выросших на МПА

Разведение	Повторность (№№ чашек)	Кол-во колоний на чашке	Кол-во микроорганизмов в 1 г почвы
1:10 ⁵	1		
	2		
1:10 ⁶	1		
	2		

Описание колоний. Дать описание и зарисовки преобладающих, а также наиболее интересных колоний. Результаты наблюдений заносят в табл. 2.

Таблица 2. Признаки колоний бактерий, выросших на МПА

№ № кол о- ний	Фо р- ма	Диа - мет р, мм	Цве т	Блес к, проз рач- ност ь	Хар ак- тер по- вер х- нос ти	Пр о- фил ь	Рисун ок колон ии
1							
2							
3							

3. Из колоний преобладающих микроорганизмов приготовить препараты и просмотреть их под микроскопом с объективом 40X. Отметить форму клеток и их сочетаний, подвижность, наличие или отсутствие спор. Микроскопическую картину зарисовать. Все результаты наблюдений и рисунки занести в табл. 3.

Таблица 3. Некоторые особенности морфологии клеток бактерий, выросших на МПА

№№ ко- лони й	Микрос ко- пическ ая картин а (рисун ок)	Форм а клето к	Сочетан ие клеток	Подви ж- ность	Наличие спор
1					
2					
3					

4. Подсчитать количество колоний актиномицетов в каждой чашке Петри.
5. Вычислить количество актиномицетов в 1 г почвы.
6. Результаты занести в табл. 4.

Таблица 4. Численность колоний актиномицетов на среде Чапека или крахмало-казеиновом агаре

Разведение	Повторност ь. (№№ чашек)	Кол-во колоний на чашке	Кол-во актиномиц е-тов в 1 г почвы
------------	--------------------------------	-------------------------------	---

1:10 ³	1		
	2		
1:10 ⁴	1		
	2		

Мелкие колонии, чтобы отличить их от колоний других микроорганизмов, просматривают на чашках под микроскопом при малом увеличении или в стереоскопический микроскоп. Для исследования формы спор и спораносцев у актиномицетов пользуются методом «отпечатков». Для этого из агаризованной среды в чашке Петри вырезают скальпелем небольшой участок с колонией и переносят его на предметное стекло. Затем к колонии прикладывают чистое покровное стекло, слегка надавливают петлей и снимают, стараясь не сдвинуть в сторону. Это покровное стекло с отпечатком помещают в каплю воды на предметное стекло и рассматривают под микроскопом. Описание внешнего вида колоний актиномицетов и форм спор и спораносцев занести в табл. 5 и зарисовать.

Таблица 5. Внешний вид колоний актиномицетов на среде Чапека или крахмало-казеиновом агаре

№ колонии	Размер, мм	Поверхность	Цвет мицелия		Выделенный пигмент в среду	Рисунки спор и спораносцев
			Воздушного	Субстратного		
1						
2						
3						

Контрольные вопросы

1. Какую роль выполняют почвенные микроорганизмы?
2. Какие группы микроорганизмов обитают в почве?
3. Как производится отбор образцов почвы для микробиологических исследований?
4. Как проводится предварительная подготовка образцов почвы для посева?
5. Как определить общее количество бактерий в почве?
6. Охарактеризуйте морфологические особенности актиномицетов.

Перечень основной литературы:

Лабораторная работа Изучение микрофлоры ротовой полости

Цель работы – освоить методики сложного окрашивания микропрепарата, изучить морфологию микроорганизмов, ознакомиться с представителями грамотрицательных и грамположительных бактерий.

Порядок выполнения работы

5. Приготовить фиксированные препараты зубного налета.
6. Выполнить окраску мазка по Граму.
7. Определить преобладающие морфотипы микроорганизмов.
8. Зарисовать и дать описание микробному пейзажу.

9. Зарисовать схему основных представителей грамотрицательных и грамположительных бактерий.

Содержание отчета

4. Морфология клеток (рисунки фиксированных препаратов бактериальных мазков зубного налета с указанием увеличения микроскопа).
5. Схема основных представителей грамотрицательных и грамположительных бактерий.

Контрольные вопросы

8. Как приготовить фиксированный препарат бактерий?
9. С чем связано различие бактерий в окраске по Граму?
10. В чем заключается метод окраски по Граму?
11. Назовите представителей грамотрицательных бактерий.
12. Назовите представителей грамположительных бактерий.

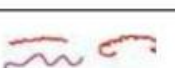
Примечание

I. Окраска по Граму:

1. На фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную карболово-спиртовым раствором генцианового фиолетового, и сверху капают несколько капель дистиллированной воды, оставляют на 2-3 мин.
2. Убирают фильтровальную бумагу и, не промывая водой, наносят раствор Люголя на 1-2 мин.
3. Сливают раствор Люголя.
4. Обесцвечивают спиртом в течение 30 секунд.
5. Тщательно промывают дистиллированной водой.
6. Докрашивают водным раствором фуксина 1-2 мин., промывают, высушивают, микроскопируют.

Результат: Гр(+) бактерии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, Гр(-) бактерии – в розовый.

II. Схема основных представителей грамотрицательных и грамположительных бактерий.

Тонкостенные грамотрицательные бактерии		Толстостенные грамположительные бактерии	
Менингококки		Пневмококки	
Гонококки		Стрептококки	
Палочки		Стафилококки	
Вибрионы		Палочки	
Кампилобактерии, хеликобактерии		Бациллы	
Спириллы		Клостридии	
Спирохеты		Коринебактерии	
Риккетсии		Микобактерии	
Хламидии		Актиномицеты	

Лабораторная работа

Получение лимонной кислоты в культуре плесневого гриба *Aspergillus niger*

Цель работы – ознакомление с процессом образования лимонной кислоты при выращивании плесневого гриба *Aspergillus niger*.

В предлагаемой задаче проводится выращивание культуры гриба *Aspergillus niger* на среде с сахаром и определение количества образовавшейся лимонной кислоты.

Порядок выполнения работы

Часть 1

1. С поверхности косяка с культурой *Aspergillus niger* снять петлей часть темного конидиального слоя, перенести в колбу со стерильной средой, осторожно перемешать, чтобы конидии распределились по поверхности среды.
2. В стерильной среде определить начальное значение pH при помощи pH-метра.
3. Записать дату постановки опыта, название культуры, состав среды, величину pH.
4. Посевы поместить в термостат с температурой 30°C на 7 суток

Часть 2

По окончании выращивания описать картину роста культуры (форма грибной пленки, цвет пленки, цвет культуральной жидкости). Следует отметить, что используемый в задаче штамм *Aspergillus niger* при развитии на сусло-агаре

(например, в посевной культуре на сусло-агаровых косяках) дает большое количество конидий, которые образуют темный слой на поверхности мицелия. При развитии же на жидкой синтетической среде конидий почти не образуется, поэтому мицелиальная пленка обычно имеет белую поверхность, и только в отдельных ее участках можно увидеть немногочисленные конидиальные головки.

1. Культуральную жидкость отделить от мицелия фильтрованием через бумажный фильтр
2. Измерить pH фильтрата при помощи pH-метра.
3. Определить процентное содержание лимонной кислоты в культуральной жидкости.
4. Рассчитать выход кислоты в процентах от исходного сахара (т.е. количество граммов кислоты на каждые 100 г сахара, введенного в среду).

Методика определения содержания лимонной кислоты в культуральной жидкости

Определение содержания лимонной кислоты производится путем титрования щелочью: 2 мл фильтрата помещают в коническую колбу на 250 мл, добавляют 20 мл дистиллированной воды, 3–4 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н NaOH до слабо-розовой окраски.

Полученную величину общей кислотности среды пересчитывают на лимонную кислоту. При этом учитывают, что лимонная кислота является трехосновной и ее молекулярный вес равен 210. Следовательно, 1 грамм-эквивалент лимонной кислоты равен $210 : 3 = 70$ г, и 1 мл 0,1 н раствора NaOH соответствует 0,007 г лимонной кислоты.

Процентное содержание лимонной кислоты рассчитывается по формуле:

$$\frac{X}{A} = \frac{0,007 \times B \times K \times 100}{A} (\%), \text{ где}$$

A – объем пробы культуральной жидкости, взятой для титрования, мл;

B – число миллилитров раствора NaOH, пошедшего на титрование;

K – поправка щелочи.

Содержание отчета

1. Дата проведения опыта.
2. Название культуры.
3. Состав среды.
4. Возраст культуры в конце опыта.
5. Описание роста культуры: форма грибной пленки, цвет пленки с верхней и нижней стороны, цвет культуральной жидкости.
6. pH среды: в исходной среде, в конце опыта.
7. Расчет количества лимонной кислоты:
 - объем пробы для титрования;
 - объем 0,1 н NaOH, пошедшего на титрование;
 - процентное содержание лимонной кислоты в культуральной жидкости (расчет по формуле).
8. Выход лимонной кислоты в процентах от исходного сахара.

Контрольные вопросы

1. Применение лимонной кислоты.
2. Какой микроорганизм является продуцентом лимонной кислоты?
3. Из какого вещества образуется лимонная кислота? Суммарное уравнение процесса.

4. Как производится выращивание *Aspergillus niger*?

Лабораторная работа

Изучение антибиотической активности микроорганизмов

Цель работы – изучение антибиотической активности культуры актиномицета и количественное определение активности готового лекарственного препарата.

Культура актиномицета *Saccharopolyspora erythraea* вырабатывает антибиотик эритромицин. Определение его активности проводят методом агаровых блочков. *Saccharopolyspora erythraea* высевает заранее сплошным газоном на твердой среде в чашках Петри. После того, как актиномицет хорошо вырастет, вырезают агаровые блочки с мицелием актиномицета и переносят их в другие чашки Петри, предварительно засеянные тест-культурой. В качестве тест-культуры служат бактерии *Bacillus subtilis*. Чашки помещают в термостат при 30°C. Если выделяемый актиномицетом антибиотик подавляет развитие *Bacillus subtilis*, то через 20–24 ч вокруг агарового блочка образуется зона отсутствия роста тест-культуры. Чем больше выделяется антибиотика или чем он активнее, тем больше будет диаметр зоны отсутствия роста *Bacillus subtilis*.

Как пример количественного определения антибиотической активности готовой лекарственной формы студенты проводят определение активности пенициллина микробиологическим методом.

Продуцентом пенициллина является плесневый гриб *Penicillium chrysogenum*. В качестве тест-культуры служит *Bacillus subtilis*. На поверхности твердой питательной среды в чашке Петри, засеянной тест-культурой, раскладывают несколько стерильных бумажных дисков (диаметр 8–10 мм), пропитанных раствором пенициллина различной концентрации. После выращивания *Bacillus subtilis* в термостате в течение 18–20 ч измеряют диаметр стерильных зон. По результатам опыта строят график на полулогарифмической миллиметровой бумаге. На линейной абсциссе откладывают диаметры стерильных зон, а на логарифмической ординате логарифмы взятых концентраций пенициллина. По полученным точкам строят калибровочный график для определения антибиотической активности неизвестного раствора пенициллина.

Порядок выполнения работы

Часть 1

1. В стерильной водопроводной воде приготовить густую суспензию тест-культуры *Bacillus subtilis*. По 1 мл суспензии внести в 2 стерильные пустые чашки Петри. После этого чашки залить предварительно расплавленным и остуженным до 50°C мясо-пептонным агаром (МПА). Чашки Петри осторожно перемешать круговыми движениями по столу и оставить до застывания.
2. На поверхность застывшей среды первой чашки разложить блочки, вырезанные из участков агаризованной среды с наиболее интенсивным ростом *Saccharopolyspora erythraea*. Блочки следует вырезать пробочным сверлом, обожженным в пламени горелки.
3. Положить на поверхность второй чашки Петри с тест-культурой стерильные диски фильтровальной бумаги, пропитанные раствором пенициллина различной концентрации.
4. Поместить чашки в термостат при 30°C Часть 2 (выполняется на следующем занятии)

1. После проращивания тест-культуры отметить наличие стерильных зон вокруг агаровых блочков с *Saccharopolyspora erythraea*.
2. Измерить диаметры стерильных зон подавления роста вокруг бумажных дисков, смоченных раствором пенициллина.
3. Построить калибровочную кривую для определения концентрации пенициллина.

Содержание отчета

1. Дата проведения опыта.
2. Название метода определения активности антибиотиков
3. Название продуцента антибиотика и тест-культуры.
4. Наличие и размер диаметра стерильных зон.
5. Калибровочный график для определения концентраций пенициллина.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение антибиотиков.
2. Назовите основные черты производства антибиотиков (состав среды, условия аэрации, асептичность).
3. На какой стадии роста продуцента идет интенсивный синтез антибиотика?
4. В чем сущность и преимущество микробиологического метода определения антибиотической активности?
5. На каком свойстве антибиотиков основан метод стерильных зон?
6. Что такое тест-культура?
7. В каких единицах выражается антибиотическая активность?

Лабораторная работа

Виды фагов. Применение и специфичность.

Цель работы – изучение способности углеводородокисляющих дрожжей утилизировать нефть.

Порядок выполнения работы

Обнаружение вирусов.

Активность бактериофага определяют по его способности вызывать лизис бактериальной культуры в жидких или твердых средах. Для обнаружения бактериофагов в лабораторной практике наиболее часто используют два приема: метод негативных колоний и цветную пробу. Негативными колониями или бляшками называют округлые прозрачные зоны отсутствия роста бактерий или культур клеток. Образование каждого стерильного пятна может быть вызвано единственной частицей бактериофага. Число негативных колоний может так же служить количественным показателем содержания инфекционных фаговых частиц в исследуемом растворе.

Цветная проба основана на различии в цвете среды, содержащей нормальную культуру клеток, и среды, содержащей культуру зараженных вирусом клеток. В процессе развития нормальной культуры клеток происходит накопление кислых продуктов обмена веществ, что приводит к сдвигу pH в кислую сторону. Поскольку среда культивирования содержит индикатор, то при изменении pH изменяется и ее цвет. Заражение культуры клеток вирусом приводит к развитию в ней дегенеративных процессов: подавление метаболизма, снижение гликолиза. В результате pH среды остается на исходном уровне, и ее цвет не изменяется. Так, по

сохранению цвета среды можно судить о наличии или отсутствии вируса во внесенном в культуру материале.

Оборудование

• Суточная бульонная культура *E. coli*; суспензия бактериофага; суспензия вируса; культура клеток в среде 199 – 2 пробирки. • Стерильная посуда: пипетки на 0.1 мл – 2 шт., пипетки на 1–2 мл – 2 шт.; шпатель – 1 шт.; чашка Петри с ГРМ-агаром – 1 шт.

Ход работы

1. Постановка эксперимента по обнаружению бактериофага методом негативных колоний.

С помощью стерильной пипетки внести 0.1 мл суспензии фага в бульонную культуру *E. coli*. Затем данную смесь в объеме 0.1 мл перенести на поверхность плотной питательной среды и равномерно распределить стерильным шпателем. Поставить чашку Петри с посевом в термостат на 37°C. Через 24–48 часов произвести учет результатов опыта путем подсчета стерильных зон на поверхности бактериального газона.

2. Постановка эксперимента по обнаружению вируса методом цветной пробы.

В каждую из пробирок с культурой клеток внести по 0.1 мл суспензии вируса.

Пробирки поместить в термостат на 37°C. Через 24–28 часов отметить цвет среды в каждой из пробирок.

На основании полученных результатов сделать вывод, об эффективности изученных методов для обнаружения вирусов.

Контрольные вопросы

1. Вирусы и бактериофаги.
2. История открытия.
3. Особенности строения

Лабораторная работа **Споровики. Инфузории**

Цель работы – изучение жизненного цикла споровиков.

Порядок выполнения работы

Объекты

1. Грегарина. Временный и постоянные препараты.
2. Кокцидия. Постоянные препараты.
3. Малярийный плазмодий. Постоянные препараты.

Задание

1. Изучение постоянных препаратов при малом и большом увеличении микроскопа;
2. Изготовление временных препаратов грегариин.

Грегарина. На постоянном препарате рассмотреть у одиночной грегарины протомерит и дейтомерит. Найти сизигий. Метанефридии или семенные мешки дождевого червя расщепить препаровальными иглами в капле воды. Накрыть покровным стеклом с пластилиновыми "ножками". Рассмотреть под биноклем (при увеличении 2х4) форму тела грегарины и при надавливании иглой на покровное стекло – пузыревидное ядро. Найти попарно соединившихся грегариин – сизигий.

Кокцидии. На микропрепарате изучить основные стадии той части жизненного цикла, которая протекает в теле хозяина (кролика), т.е. эндогенной части: шизонт, многоядерная стадия развития шизонта, гаметоциты, макрогаметы, микрогаметы.

Малярийный плазмодий. На микропрепарате рассмотреть отдельные стадии развития

плазмодия.

Инфузории (Ciliophora)

Форма тела, движение, питание. Строение: ресничный аппарат, трихоцисты, послойная дифференцировка цитоплазмы (пелликула, кортикальный слой, эндоплазма), перистом, цитостом, цитофаринкс, реснички и мембранеллы, пищеварительные вакуоли, круг пищеварения, порошица, сократительные вакуоли (центральный пульсирующий резервуар и приводящие каналы), экскреторные поры, осморегуляция и экскреция. Ядерный аппарат (макронуклеус и микронуклеус).

Объекты

1. Парамеция. Постоянные и временные препараты.
2. Сувойка. Временные препараты.
3. Стентор. Временные препараты.
4. Стилонихия. Временные препараты.

Задание

1. Изучение постоянных препаратов при разных увеличениях микроскопа;
2. Изготовление временных препаратов парамеций, сувойки, стентора, стилонихии.

Парамеция. На постоянном препарате при малом увеличении рассмотреть группу «туфелька», при большом увеличении – строение парамеции. Расщепить небольшой комочек ваты на отдельные волокна, поместить на предметное стекло с каплей культуры инфузорий и накрыть покровным стеклом. Движение инфузорий замедляется. Проплывая между волокнами ваты, они меняют форму тела и характер движения, заметно волнообразное движение ресничек по краю тела инфузории. Рассмотреть при большом увеличении микроскопа трихоцисты и реснички, окрашенные йодным раствором.

Сувойка (колония сувоек и сувойка – бродяжка). Внешний вид, ресничный аппарат, движение.

Стентор. Внешний вид, ресничный аппарат, движение.

Стилонихия. Внешний вид, ресничный аппарат, движение.

Контрольные вопросы

1. Анатомо-морфологическая характеристика споровиков
2. Половое размножение споровиков (гамонт, гамета, зигота, спора)..
3. Стадии жизненного цикла кокцидий в клетках, просвете кишечника хозяина и внешней среде. Шизонты, гаметоциты, гаметы, ооциты, споробласты.
4. Основные стадии жизненного цикла малярийного плазмодия в крови хозяина. Жизненный цикл.

Лабораторная работа

Инфекционный процесс. Роль макроорганизма в инфекционном процессе. Биологический метод диагностики.

Цель: Выяснить роль макроорганизма и внешней среды в инфекционном процессе. Изучить методы воспроизведения и оценки экспериментальной инфекции. Овладеть навыком оценки результатов биологического метода диагностики и методами оценки факторов естественной резистентности и бактерицидной активности кожи.

Вопросы для рассмотрения:

1. Роль макроорганизма в инфекционном процессе (понятие о восприимчивости, инфекционной чувствительности)
2. Причины и условия, влияющие на восприимчивость и инфекционную

- чувствительность макроорганизма.
3. Факторы естественной резистентности организма человека.
 4. Влияние внешней среды на устойчивость макроорганизма к действию патогенных микробов
 5. Роль социальных факторов в возникновении и развитии инфекционного процесса.
 6. Этапы в развитии инфекционного заболевания.
 7. Пути распространения микробов и токсинов в организме.
 8. Формы инфекционного процесса по длительности и по выраженности клинических проявлений.
 9. Экспериментальная инфекция и ее значение в научных исследованиях и практической медицине.
 10. Биологический метод диагностики (биологическая проба).

Лабораторная работа

Кокки и кокковые инфекции

Цель: изучить свойства стафилококков и стрептококков, их роль в патологии человека, методы диагностики, профилактики и лечения вызываемых заболеваний.

Вопросы для рассмотрения:

1. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства стафилококков.
2. Факторы патогенности стафилококков и патогенез вызываемых заболеваний.
3. Методы диагностики, профилактики и лечения заболеваний, вызываемых стафилококками.
4. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства стрептококков.
5. Факторы патогенности стрептококков и патогенез вызываемых заболеваний.
6. Методы диагностики, профилактики и лечения заболеваний, вызываемых стрептококками.

Лабораторная работа

Микробиологическая диагностика эшерихиозов

Цель. Изучить классификацию и особенности патогенеза эшерихиозов. Изучить методы оценки результатов лабораторного исследования для подтверждения диагнозов эшерихиозов.

Теоретическая справка

Кишечная палочка была впервые выделена из кишечника ребенка и определена как бактерия–коменсал. Установлено, что она может вызывать аутоинфекции на фоне снижения резистентности макроорганизма. По мере совершенствования бактериологических методов диагностики были выделены патогенные варианты *E.coli*, попадающие в организм фекально-оральным путем. Наиболее восприимчивы к этим инфекциям новорожденные, так как через плаценту не проходят IgM, IgA, обуславливающих защиту при кишечных инфекциях. В женском грудном молоке эти иммуноглобулины содержатся в титрах 1:8-1:128. в течение 12-18 месяцев ребенок получающий грудное молоко, более устойчив к этим инфекциям.

Патогенные варианты *E.coli* делятся на пять категорий по О-антигену:

- 1.Энтеропатогенные (ЭПКП): 0111, 055, 0126.
- 2.Энтероинвазивные (ЭИКП): 0152, 0124, 0144.
- 3.Этеротоксигенные (ЭТКП): 0128, 085, 0148.
- 4.Энтерогеморрагические (ЭГКП): 0157, 026, 0145.
- 5.Энтероадгезивные (ЭАГКП) (структурная основа пока неизвестна).

В лабораторной диагностике эшерихиозов используется первый принцип диагностики: обнаружение возбудителя – метод бактериологический.

Вопросы для рассмотрения:

1. Возбудители кишечных инфекций – семейство энтеробактерий
2. Характеристика семейства энтеробактерий.
3. Эшерихии.
4. Шигеллы.
5. Сальмонеллы.
6. Иерсинии.

Лабораторная работа **Микробиологическая диагностика пищевых токсикоинфекций**

Цель: изучить этиологию, эпидемиологию и патогенез пищевых токсикоинфекций (далее ПТИ). Овладеть основными методами лабораторной диагностики ПТИ и оценки результатов исследований.

Теоретическая справка.

К пищевым отравлениям микробной природы относятся острые системные заболевания, возникающие в результате употребления пищевых продуктов, массивно обсемененных некоторыми микроорганизмами или зараженных микробными экзотоксинами. Это определение позволило подразделить все пищевые отравления, связанные с микроорганизмами, на пищевые токсикоинфекции и интоксикации. Первые вызывают преимущественно грамотрицательные бактерии, среди которых энтеробактерии занимают первое место. При этом название токсикоинфекции определяется поступлением в кровь бактериального эндотоксина (ЛПС), освобождающегося в большом количестве после массивного разрушения бактерий. Пищевые продукты, содержащие экзотоксины бактерий, вызывают пищевые интоксикации, а токсины грибов микотоксикозы.

Наиболее распространенными возбудителями пищевых токсикоинфекций являются сальмонеллы, реже *E.coli*, *P.vulgaris*, *P.morganii*, *Bacillus cereus*.

Патогенез и клиническая картина ПТИ определяются проникновением в желудочно-кишечный тракт большого количества соответствующих бактерий с зараженными пищевыми продуктами (мясо, рыба), подвергшимися недостаточной термической обработке. При этом сохранившие жизнеспособность бактериальные клетки быстро размножаются в благоприятных условиях. Одновременное проникновение в кишечник человека массивной дозы возбудителя, его последующее размножение и разрушение бактериальных клеток приводит к освобождению большого количества эндотоксина, оказывающего воздействие на интрамуральный нейрорецепторный аппарат тонкой кишки, периферические сосуды брюшной полости. Это сопровождается нейродистрофическими

изменениями в стенке тонкой кишки и поражением клеток других органов. При ПТИ освобождение желудочно-кишечного тракта от возбудителей во многих случаях происходит достаточно быстро, иногда через несколько часов после начала заболевания. Бактериemia при этих заболеваниях как правило не наступает..

Лабораторная диагностика проводится бактериологическим методом, Материалом для исследования являются испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка больных людей и остатки пищи и продуктов, из которых лона была приготовлена.

Пищевые интоксикации бактериальной природы возникают также при попадании с пищей в желудочно-кишечный тракт бактериальных токсинов, из которых наибольшую опасность представляют энтеротоксины *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* особенно ботулинейротоксин *C. Botulinum*. Для возникновения пищевой интоксикации не обязательно присутствие в продукте живых возбудителей.

Микробиологическая диагностика пищевых отравлений проводится методом выявления токсинов, а также выделения чистых культур возбудителя – продуцентов токсинов в остатках пищи и в материале, взятом от больного.

Методика

Бактериологическая диагностика токсикоинфекций, вызванных сальмонеллами, эшерихиями и протеем.

Материалом для исследования являются испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, остатки пищевых продуктов – возможные факторы передачи инфекции.

1 этап Производится посев материала на дифференциально-диагностические среды (Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфит агар) для выделения чистой культуры сальмонелл или эшерихий, а также в конденсационную воду в пробирке со скошенным агаром.

2 этап. После инкубации посевов при температуре 37°C в течение 20 – 24 ч. отмечают цвет колоний на чашках с дифференциальной средой и наличие «ползучего» роста, характерного для протей, в пробирке со скошенным агаром. Подозрительные колонии пересевают на трехсахарный агар для получения чистой культуры и одновременно ставят с ними реакцию агглютинации на стекле, используя смесь диагностических сывороток к разным сероварам сальмонелл.

3 этап. С выросшей культуры на трехсахарном агаре делают мазок и определяют чистоту выделенной культуры, ставят реакции агглютинации с групповыми О сыворотками и монорецепторными Н- сыворотками и делают посев на среды «пестрого» ряда. При выделении одного и того же серовара сальмонелл из организма больного и пищевого продукта делают окончательное заключение об этиологии пищевой токсикоинфекции- факторе передачи инфекции.

На условно-патогенную микрофлору

2 этап При наличии «ползучего» роста на скошенном питательном агаре из конденсационной воды петлей берут материал для приготовления препарата «висячая» капля с целью установления подвижности и для мазка, который окрашивают по Граму и микроскопируют.

3 этап Производят пересев на трехсахарный агар (Клиглера, Олькеницкого) и выделяют чистую культуру протей,

4 этап определяют биохимические и другие признаки и устанавливают вид: *P. vulgaris*, *P. mirabilis*.

Оценка роли условно-патогенных микроорганизмов в этиологии пищевых токсикоинфекций должна быть строго аргументирована:

а) бактериологическим, серологическим, эпидемиологическим и клиническим исключением сальмонеллез, дизентерии, холеры;

б) выделением идентичных штаммов условно-патогенных бактерий из рвотных масс, промывных вод желудка, испражнений, продуктов;

в) нарастанием титров реакции агглютинации с аутоштаммами возбудителей в динамике заболевания.

Методика.

Лабораторная диагностика пищевых интоксикаций бактериальной природы

1. Материалом для определения стафилококкового энтеротоксина являются рвотные массы, промывные воды желудка больных, остатки пищи (чаще кремы, сметана, мороженое, а также мясные продукты, в которых хорошо размножаются стафилококки).

С целью выделения чистой культуры стафилококка исследуемые материалы, которые могут содержать жизнеспособные бактерии, засевают в чашки с ЖСА.

Для эпидемиологического анализа массовых стафилококковых интоксикаций проводят фаготипирование выделенных культур с помощью набора стафилококковых фагов.

2. Материалом для выявления энтеротоксина клостридий *C. perfringens* являются мясные, рыбные консервы и другие продукты, из которых экстрагируют токсин изотоническим раствором хлорида натрия. Экстракт центрифугируют и надосадочную жидкость вводят внутривентрально белым мышам или внутрикожно морским свинкам. Гибель животных в течение первых 3-4 дней появления некроза на месте внутрикожных инъекций свидетельствует о наличии токсина. Для его идентификации ставят реакцию нейтрализации с антитоксическими сыворотками *C. perfringens*.

Выделение чистой культуры *C. perfringens* и *C. botulinum* производят, используя методы выделения анаэробных бактерий.

3. Материалом для выявления ботулотоксина служат сыворотка крови, моча, испражнения, промывные воды желудка больного, остатки пищи или подозреваемые продукты (колбасы, мясные, рыбные, фруктовые, овощные консервы и др.). Для обнаружения ботулотоксина в сыворотке крови больного ставят реакцию нейтрализации токсина антитоксической сывороткой в биопробе на белых мышах. (с , моновалентными антитоксическими противоботулиническими сыворотками типов А, В, Е, F, С В качестве контроля берут нормальную сыворотку крови. При нейтрализации токсина гомологичной антитоксической сывороткой мыши остаются живыми.

Лабораторная работа
Возбудители ОРВ.

Цель: изучить классификацию и таксономию, основные биологические свойства, особенности культивирования, факторы патогенности возбудителей; эпидемиологию; патогенез, микробиологическую диагностику; методы профилактики и особенности терапии заболеваний.

Таксономия:

Семейство — *Enterobacteriaceae*, род — *Yersinia*, вид — *Y. pestis*.

Семейство — *Brucellaceae*, род — *Brucella*, виды - *Br. melitensis*, *Br. abortus*, *Br. suis*, *Br. ovis*, *Br. canis*, *Br. neotomae*.

Отдел - *Gracilicutes*, род — *Francisella*, вид — *F. tularensis*.

Семейство — *Bacillaceae*, род — *Bacillus*, вид — *Bac. anthracis*.

Семейство - *Leptospiraceae*, род – *Leptospira*, вид - *L. interrogans*.

Вопросы для рассмотрения

1. Общие свойства возбудителей зооантропонозов.
2. Основные биологические свойства чумных бактерий, бруцелл, возбудителя туляремии, сибирской язвы, лептоспироза.
3. Эпидемиология, патогенез, клинические формы чумы, туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза, лептоспироза.
4. Микробиологическая диагностика бруцеллеза, чумы, туляремии, сибирской язвы, лептоспироза.
5. Профилактика и лечение чумы, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы, лептоспироза.

Лабораторная работа
Прионы и прионные болезни

Цель: изучить особенности прионных болезней, их историю возникновения , диагностику и этиологию.

Вопросы для рассмотрения

1. Прионные болезни: медленные инфекции
2. История возникновения медленных инфекций
3. Этиология прионов
4. Способы заражения прионными болезнями
5. Диагностика и проявление прионных болезней
6. Болезнь Альперса
7. Влияние на мозг
8. Синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера (СГШШ)
9. Болезнь Крейтцфельда-Якоба
10. Лечение и профилактика прионных болезней человека

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

Перечень основной литературы:

1. Микробиология : учебник / А. П. Дуктов, Н. А. Садовиков, А. А. Бахарев [и др.]. — Тюмень : ГАУ Северного Зауралья, 2024. — 442 с. — ISBN 978-5-4266-0230-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/453389> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
2. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и микология : учебник для вузов / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. — 5-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 624 с. — ISBN 978-5-507-47654-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/401999> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
3. Маннапова, Р. Т. Микробиология, микология и основы иммунологии : учебник / Р. Т. Маннапова. — Москва : Проспект, 2023. — 616 с. — ISBN 978-5-392-37534-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/324092> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей

Перечень дополнительной литературы:

1. Кузнецова, Е. А. Микробиология. Часть 1 Электронный ресурс : Учебное пособие / Е. А. Кузнецова, А. А. Князев. - Микробиология. Часть 1, 2022-01-18. - Казань : Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2017. - 88 с. - Книга находится в премиум-версии ЭБС IPR BOOKS. - ISBN 978-5-7882-2278-3
2. Левинсон, У. Медицинская микробиология и иммунология : учебное пособие / У. Левинсон ; перевод с английского под редакцией В. Б. Белобородова. — 2-е изд.(эл.). — Москва : Лаборатория знаний, 2020. — 1184 с. — ISBN 978-5-00101-711-0. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/266453> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
3. Маннапова, Р. Т. Микробиология, микология и основы иммунологии (самоконтроль знаний, тестирование студентов) : учебное пособие / Р. Т. Маннапова. — Москва : Проспект, 2022. — 359 с. — ISBN 978-5-392-36782-5. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/324089> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
4. Методические рекомендации к проведению практических занятий по дисциплине «Микробиология» для студентов педиатрического факультета : методические рекомендации / составитель В. И. Коноплева. — Рязань : РязГМУ, 2024. — 79 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/443441> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
5. Санитарная микробиология : учебное пособие для вузов / Р. Г. Госманов, А. Х. Волков, А. К. Галиуллин, А. И. Ибрагимова. — 4-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 252 с. — ISBN 978-5-507-49134-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/379331> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
для обучающихся по организации и проведению самостоятельной работы
по дисциплине «ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»
для студентов специальности 30.05.01 Медицинская биохимия

Введение

Для современного специалиста важно формирование системных фундаментальных знаний, умений и навыков по биохимическим закономерностям, представляющих важность при подготовке студентов медиков к системному восприятию естественнонаучных и профессиональных дисциплин, формировании у них навыков биохимического анализа, необходимых для последующей практической деятельности.

Целью данного пособия является формирование общепрофессиональных компетенций будущего специалиста по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия.

Знания, полученные в ходе освоения дисциплины, применяются при написании выпускной квалификационной работы, при прохождении преддипломной практики, а также в дальнейшей профессиональной деятельности.

Общая характеристика самостоятельной работы студента при изучении дисциплины «Общая биохимия»

Самостоятельная работа проводится в виде самостоятельного изучения литературы и подготовки заданий. Основной целью этих видов самостоятельной работы является улучшение профессиональной подготовки специалистов высшей квалификации, направленное на формирование действенной системы фундаментальных и профессиональных знаний, умений и навыков, которые они могли бы свободно и самостоятельно применять в практической деятельности.

В ходе организации самостоятельной работы решаются следующие задачи:

- Показать связь между структурой и функцией ферментов; биологическое значение ферментов.
- Сформировать у студентов представления о ферментах, нарушение работы которых приводит к наследственным заболеваниям человека.
- Ознакомить со способами выделения и очистки ферментов.
- Обучить технике современного биохимического анализа, методам оценки и выбору методов анализа, адекватных поставленной задаче.

В ходе постановки целей и задач необходимо учитывать, что их выполнение направлено не только на формирование общеучебных умений и навыков, но и определяется рамками данной предметной области.

Общая характеристика самостоятельной работы студента при изучении дисциплины «Общая биохимия»

Самостоятельная работа проводится в виде самостоятельного изучения литературы и подготовки заданий. Основной целью этих видов самостоятельной работы является улучшение профессиональной подготовки специалистов высшей квалификации, направленное на формирование действенной системы фундаментальных и профессиональных знаний, умений и навыков, которые они могли бы свободно и самостоятельно применять в практической деятельности.

В ходе организации самостоятельной работы решаются следующие задачи:

- Показать связь между структурой и функцией белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов; биологическое значение витаминов.
- Сформировать у студентов представления о процессах переноса и реализации генетической информации, нарушение которых приводит к наследственным заболеваниям человека; основах биоэнергетики; метаболических путях и основных механизмах регуляции обмена углеводов, липидов, аминокислот, нуклеотидов.
- Ознакомить со способами обезвреживания токсических веществ в организме, применяя знания механизмов обезвреживания эндогенных веществ и чужеродных соединений.
- Обучить технике современного биохимического анализа, методам оценки и выбору методов анализа, адекватных поставленной задаче.

В ходе постановки целей и задач необходимо учитывать, что их выполнение направлено не только на формирование общеучебных умений и навыков, но и определяется рамками данной предметной области.

Методические рекомендации по изучению теоретического материала

При выполнении самостоятельного изучения теоретического материала курса «Биохимия» студент должен руководствоваться следующими правилами. За основу рекомендуется брать рабочую программу учебной дисциплины в библиотеке СКФУ. Согласно плану-графику аудиторных занятий и самостоятельной работы, на изучение отдельных тем отводится разное количество часов. Значительная часть самостоятельной работы студента должна отводиться на усвоение полученного на лекции материала по пройденной теме, написании конспекта по заданным теоретическим блокам, поиску дополнительной литературы на базе библиотеки СКФУ и в системе интернет.

Весь охваченный теоретический материал должен быть осмыслен и переработан для более глубокого осмысления полученных данных. Все это поможет в решении задач, тестировании и подготовке к зачету.

Методические указания по подготовке к лабораторным занятиям

При подготовке к практическим занятиям рекомендуется изучить контрольные вопросы по данному занятию, теоретический материал, изложенный в пособии, обратить внимание на технику безопасности и изучить методику проведения опытов. В протоколе должны быть отражены следующие разделы:

1. Номер занятия.
2. Название работы.
3. Цель работы.
4. Принцип метода и химический механизм реакций.
5. Расчеты.
6. Результаты.
7. Выводы.

Методические рекомендации по подготовке к индивидуальным заданиям

При выполнении самостоятельного изучения теоретического материала курса студент должен руководствоваться следующими правилами. За основу рекомендуется брать рабочую программу учебной дисциплины в библиотеке СКФУ. Согласно плану-графику аудиторных занятий и самостоятельной работы, на изучение отдельных тем отводится разное количество часов. Значительная часть самостоятельной работы студента должна отводиться на усвоение полученного на лекции материала по пройденной теме, написании конспекта по заданным теоретическим блокам, поиску дополнительной литературы на базе библиотеки СКФУ и в системе интернет.

Весь охваченный теоретический материал должен быть осмыслен и переработан для более глубокого осмысления полученных данных. Все это поможет в решении задач, тестировании и подготовке к контрольным точкам.

Методические рекомендации при подготовке к докладам

Изучение основных разделов заканчивается разработкой творческих заданий, на которых обобщается весь материал по данной части учебной программы.

Творческие задания представляет собой не только одну из форм текущего контроля, но и одну из активных форм учебных занятий, проводимых как в виде беседы преподавателя со студентами, так и в виде занятия, посвященного обсуждению определенной темы.

Целями творческих заданий являются: выяснение у студентов знаний, их углубление (повышение) и закрепление по той или иной теме курса; формирование у студентов навыков анализа теоретических проблем на основе самостоятельного изучения учебной и научной литературы.

Основная задача творческих заданий – пробудить у студента стремление к чтению и использованию дополнительной литературы. На занятия могут выноситься как проблемные (нередко спорные теоретические вопросы), так и вопросы, требующие самостоятельного изучения, а также более глубокой проработки.

На самостоятельную подготовку к творческому заданию студенту отводится 1-2 недели. Подготовка включает в себя изучение рекомендованной литературы и составление конспекта.

Методические указания к тестам

Самостоятельные ответы на вопросы, как и решение задач существенно дополняют лекции и самостоятельно пройденный материал по дисциплине. В процессе анализа и решения задач студенты расширяют и углубляют знания, полученные из лекционного курса и учебников, учатся глубже понимать биохимические законы и формулы, разбираться в их особенностях, границах применения, приобретают умение применять общие закономерности к конкретным случаям. В процессе решения задач вырабатываются навыки вычислений, работы со справочной литературой, таблицами. Решение задач не только способствует закреплению знаний и тренировке в применении изучаемых законов, но и формирует особый стиль умственной деятельности, особый метод подхода к биохимическим явлениям.

На занятиях используются:

- 1) задачи-упражнения, помогающие студентам приобрести твёрдые навыки расчёта и вычислений;
- 2) задачи для демонстрации практического применения тех или иных законов;
- 3) задачи для закрепления и контроля знаний;
- 4) познавательные задачи.

Несмотря на различие в видах задач, их решение можно проводить по следующему общему плану, который надо продиктовать студентам:

1. прочесть условие задачи; посмотреть, все ли термины в условиях задачи известны и понятны (если что-то неясно, следует обратиться к учебнику, просмотреть решения предыдущих задач, посоветоваться с преподавателем);
2. написать схему реакции, если это необходимо;
3. установить, какие законы и соотношения могут быть использованы при решении данной задачи;
4. составить уравнения, которые характеризуют рассматриваемые явления с количественной стороны;
5. решить эти уравнения относительно неизвестных величин, получить ответ.

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

Перечень основной литературы:

1. Микробиология : учебник / А. П. Дуктов, Н. А. Садовов, А. А. Бахарев [и др.]. — Тюмень : ГАУ Северного Зауралья, 2024. — 442 с. — ISBN 978-5-4266-0230-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/453389> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
2. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и микология : учебник для вузов / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. — 5-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 624 с. — ISBN 978-5-507-47654-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/401999> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

3. Маннапова, Р. Т. Микробиология, микология и основы иммунологии : учебник / Р. Т. Маннапова. — Москва : Проспект, 2023. — 616 с. — ISBN 978-5-392-37534-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/324092> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей

Перечень дополнительной литературы:

1. Кузнецова, Е. А. Микробиология. Часть 1 Электронный ресурс : Учебное пособие / Е. А. Кузнецова, А. А. Князев. - Микробиология. Часть 1, 2022-01-18. - Казань : Казанский национальный исследовательский технологический университет, 2017. - 88 с. - Книга находится в премиум-версии ЭБС IPR BOOKS. - ISBN 978-5-7882-2278-3
2. Левинсон, У. Медицинская микробиология и иммунология : учебное пособие / У. Левинсон ; перевод с английского под редакцией В. Б. Белобородова. — 2-е изд.(эл.). — Москва : Лаборатория знаний, 2020. — 1184 с. — ISBN 978-5-00101-711-0. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/266453> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
3. Маннапова, Р. Т. Микробиология, микология и основы иммунологии (самоконтроль знаний, тестирование студентов) : учебное пособие / Р. Т. Маннапова. — Москва : Проспект, 2022. — 359 с. — ISBN 978-5-392-36782-5. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/324089> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
4. Методические рекомендации к проведению практических занятий по дисциплине «Микробиология» для студентов педиатрического факультета : методические рекомендации / составитель В. И. Коноплева. — Рязань : РязГМУ, 2024. — 79 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/443441> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
5. Санитарная микробиология : учебное пособие для вузов / Р. Г. Госманов, А. Х. Волков, А. К. Галиуллин, А. И. Ибрагимова. — 4-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 252 с. — ISBN 978-5-507-49134-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/379331> (дата обращения: 01.02.2026). — Режим доступа: для авториз. пользователей.