

Зертханалық сабақ (ЗС) – 1-2.

*Тақырып:* Микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін зерттеу

*Жұмыс мақсаты:* *Bacillus subtilis* штаммының кейбір бактерияларға антогонистік қасиетін анықтау

Микроорганизмдердің антибиотиктерге сезімталдылығын анықтайтын әдістер әр түрлі. Олардың көбісі агарланған ортаға антибиотиктердің сінуі және тест-организм өспейтін ортада ашық аймақтар түзе алу қасиеттеріне негізделген. Өсу байқалмайтын аймақтардың мөлшері тест- дақылға қатысында, сол антибиотиктің белсенділік деңгейін көрсетеді және оның концентрациясына, тест- организмнің тығыздығына, дақылдау температурасына, сіңу ұзақтығына және басқа факторларға байланысты болады. Тест- организм ретінде микроорганизмдердің әр түрлі өкілдерін, ең алдымен *Escherichia coli* (грамтеріс бактериялар), *Staphylococcus aureus* (грамоң бактериялар), *Bacillus subtilis* немесе *Bacillus cereus* (спора түзетін бактериялар) қолданылады.

Антибиотикалық белсенділікті перпендикулярлы сызықтар және агарлы блоктар әдістерімен анықталады.

**Перпендикулярлы сызықтар әдісі.** Қоректік ортаға Петри табақшаларына антибиотикалық заттардың өндірушілерін сызықпен егеді. Сызықты Петри табақшасының диаметрі бойынша жүргізіп егеді. Өндіруші өсіп шыққан соң және агардың қалыңдығына өтетін антибиотикалық заттар түзілгеннен кейін оның сызығына перпендикулярлы тест- организмді Петри табақшасының жиегінен бастап егеді. Тест- организмді егу үшін стерилді құбыр суында дайындалған микроорганизмнің қою суспензиясын пайдаланады. Табақшаларды 28-30°C термостатқа тест- организмнің өсу жылдамдығына байланысты 2-8 тәулікке орналастырады. Егер антибиотик тест- организмге әсер ететін болса, онда тест- организмнің өсуі өндірушінің сызығынан алшақ байқалады. Бұл қашықтық неғұрлым үлкен болған сайын, зерттелетін өндіруші түзетін антибиотикалық затқа тест- организм соғұрлым сезімтал болады.

**Агарлы блоктар әдісі.** Антибиотик өндірушінің және тест- организмнің дамуы үшін әр түрлі қоректік орталар қолданылады. Актиномицеттердің антибиотикалық қасиеттерін анықтау үшін өндірушіні құрамы мынадай ортада өсіру ұсынылады (г/л): глюкоза- 30,0;  $KNO_3$ - 5,5;  $MgSO_4$ - 0,5;  $NaCl$ - 1,0;  $K_2HPO_4$  - 0,4;  $ZnSO_4$ - 0,002;  $FeSO_4$ - 0,002; агар- 25,0; дистилденген су; рН 7,1-7,2. Ортаны 0,5 атм залалсыздандырады және стерилді Петри табақшаларына құяды. Агар қатқаннан кейін антибиотикалық зат өндірушіні жаппай қоректік ортаның бетіне егеді. Ол үшін актиномицеттің спораларын тұзақпен агарлы пластинкаға салады да, шпательдің көмегімен қоректік ортаның бетіне тұтастай жайып, 28-30°C термостатқа 8-10 тәулікке орналастырады. Содан кейін стерилді тескіштің көмегімен актиномицеттер өскен агарлы пластинкаларды блоктарға бөліп, тест- организм егілген қоректік ортаға, мысалы, ЕПА ауыстырады. Агарлы блоктарды бір-бірінен бірдей 1,5-2,0 см қашықтықта орналастырып, агарлы пластинкаға тығыз етіп жабыстырады.

Тәжірибе соңында өсу аймақтарын, тежелу аймақтарын анықтап кесте түрінде қорытындылайды.

Кесте

Бактериялардың антибиотиктерге сезімталдылығын анықтау

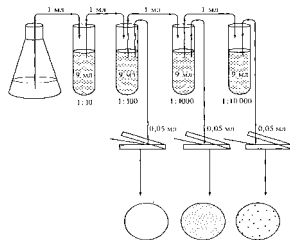
Өсудің тежелу аймағы, мм	Сезімталдылық деңгейі
10 мм (дисткыға жақын өсуі)	Төзімді штамм
15 мм дейін	Төзімділігі аз
15-25 мм	Сезімтал
25 мм жоғары	Сезімталдылығы жоғары

### Зертханалық сабақтар 3-4.

*Тақырып:* Шикі сүттегі микроорганизмдердің топтық сандық әдістерін меңгеру.

*Жұмыс мақсаты:* Шикі сүттегі жалпы микроорганизмдерді бөліп алу және олардың сандық көрсеткіштерін анықтау

*Сұйылтуларды дайындау* микроорганизмдердің жеке колонияларын алу үшін оларды сұйылту немесе титрлеу қажет. әдетте сұйылтуларды заласызданған құбыр суында белгілі сұйылту коэффициентін (10) пайдалана отырып жүргізеді. Ол үшін залалсызданған құбыр суын 9 мл ден заласызданған пробиркаларға құяды. Кейін залалсызданған пипеткамен 1 мл бастапқы езіндіні 9 мл заласызданған суы бар пробиркаларға құяды, бұл сұйылту бірінші, яғни 1:10 болып саналады. Бірінші сұйылту езіндісін жаңа залалсызданған пипетка арқылы жақсылап араластырып, 1мл альпекінші пробиркаға құяды, бұл сұйылтудың екінші, 1:100 болып саналады. Дәл осылай келесі сұйылтуларды да жүргізеді. (Сызба 1)



Сызба 1 микроорганизмдер езіндісінен сұйылтуды дайындау сызбасы.

*Петри табақшаларына егу.* Залалсызданған Петри табақшаларына ерітілген агарлы қоректік орталарды 20-30 мл құямыз. Қоректік орта қатқаннан кейін белгілі сұйылтулардан егу жүргізіледі. Заласызданған пипетка арқылы езіндінің белгілі көлемін (0,05; 0,1 немесе 0,2) қатты қоректік орта бетіне құяды. Заласызданған шпатель арқылы қоректік орта бетіне жақсылап жайады.

Егу  $1:10^3$ ,  $1:10^4$ ,  $1:10^5$ , сұйылтулардан жүргізіледі. Залалсызданған, ерітілген қоректік ортаны залалсызданған 9 Петри табақшаларына құяды. Әр Петри табақшаларына 0,1 мл егінді материалын егеді. Әр егу үш реттік қайталымда жүргізіледі. *Дақылдау жағдайы.* 28-30°C температурада 6-7 тәулік.

*Бактериялар колонияларын санау және сипаттама беру.* Әр Петри табақшаларында өсіп шыққан колонияларды санап, 1 мл клетка санын анықтайды. Петри табақшаларындағы белгілі сұйылтудан өсіп шыққан колонияларды санаймыз. Колониялардың орташа санын анықтап, 1 мл- дегі клетка санын келесі формуламен есептейміз.

$$M = \frac{a * 10^n}{v};$$

Мұндағы: М – 1мл – дегі микроорганизмдер клетка саны;  
а – Петри табақшасында өсіп шыққан колониялар саны;  
10 – сұйылту коэффициенті;  
n – егу жүргізілген сұйылтудың реттік нөмері;  
v – егуге арналған егінді мөлшері.

Колонияларды сипаттап, суретін салады. Зерттеу нәтижелерін келесі кестеге жазады. Зерттелген колониялардың басым түрін белгілейді.

### **Зертханалық сабақтар 5.**

*Тақырып:* Лиофильді лакто – бифидобактериялардың морфологиялық, дақылдық қасиеттерін анықтау

*Жұмыс мақсаты:* Лиофильді лакто – бифидобактериялардың тіршілікке икемділігін, олардың морфологиялық, дақылдық қасиеттерін зерттеу.

#### **ТАПСЫРАМАЛАРДЫ ОРЫНДАУ:**

1. Дақылдардың морфологиялық, культуральды және физиологиялық қасиеттерін бақылау ( қатты, сұйық орталарда өсу ерекшелігі бойынша анықтайды).
2. Морфологиялық қасиеттерін тірі және бекітілген препараттарды микроскоптау арқылы анықтайды. *Морфологиялық қасиеттеріне клетка формасы және мөлшері, түсі, қыры, құрлымы т.б.* Консистенциясы (жұмсақ шырышты) - тұзақпен жанау арқылы анықтайды.
3. Субстраттардың микроорганизмдерін сандық анықтау  
Қатты орталарда микроорганизмдердің санын Петри табақшаларында өсіп шыққан колониялар бойынша анықтайды.