

Зертханалық сабақтар мазмұны:

№1 зертханалық сабақ

Тақырып: Микробиология зертханасында жұмыс істеу ережелері. Микробиологиялық препараттар дайындау.

Тәжірибелік жұмыстың *мақсаты* – Микробиология зертханасында жұмыс істеу ережелерін, микроскоптаудың және микробиологиялық препараттар негізгі тәсілдерін зерттеу.

Міндеттері: - Микробиология зертханасында жұмыс істеу ережелерімен, микробиологиялық зертханадағы қауіпсіздік ережелерімен танысу.

- Микроскоптау тәсілдерімен танысу. Микроскоптың құрылысын, микроскоптаудың негізгі тәсілдерін игеру.

1. Микробиологиялық практикум кезінде жұмыс істеу ережелері. Микробиологиялық зертханадағы қауіпсіздік ережелері.

1. Микробиологиялық зертханада жұмыс істеу кезінде белгілі бір ережелер сақталуы қажет. Сабақ техникалық қауіпсіздік ережелерімен таныстырудан басталады. Зертханаға сыртқы киіммен, бас киіммен кіруге болмайды және бөгде заттарды кіргізуге тыйым салынады. Зертханалық сабаққа халат киіп қана кіру қажет. Бір орында жұмыс жасау қажет және бекінген құрал-жабдықтарды ғана қолдану керек.

Жұмыс істеу кезінде бактериологиялық ине және тұзақ от жалынында микроорганизмдермен жұмыс істеудің алдында және соңында қыздырылады.

Зертханада тамақ жеуге мүлдем болмайды. Сабақ аяқталған соң жұмыс орны дезинфекцияланады, қолданылған материалдар және басқа заттар лаборантқа тапсырылады, қолды сабынмен жуады, бөлмені желдетеді (30 мин), УК-шамдармен сәулелендіреді. Зерттеу қорытындылары жазба түрінде жазылынып алынады.

2. Микроскоп. Микроскоптаудың негізгі ережелері. Микроорганизмдерді микроскоптаудың негізі әдістері.

Микроорганизм клеткаларының морфологиясы және құрылысын зерттеу кезінде клеткаларының мөлшері микрометр (1 мкм = 0,001 мм), нанометр (1 нм = 0,001 мкм), ангстреммен (1 А° = 0,1 нм) өлшенетін клеткаларды өлшеу тек микроскоптың көмегімен ғана жүзеге асады. Микроскоп зерттелетін нысандарды жүздеген (жарық микроскопы) және ондаған мың (электронды микроскоп) есе үлкейтуді қамтамасыз етеді. Жарық микроскопында кескін нысан мен оның құрылым элементтерінің әр түрлі толқын ұзындықты жарықты таңдамалы жұтуының немесе нысан арқылы жарықтың өтуі кезінде жарық толқынының фазаларының өзгеруі нәтижелерінде айқындалады.

Микроскоп механикалық және оптикалық бөлімнен тұрады. Механикалық бөлім заттық стөлі бар штативтен, тубустан, макро- және микрометриялық бұрандалардан тұрады.

Оптикалық бөлім жарықтандырғыш аппараттан, объективтен және окулярдан құралады. Объектив микроскоптың маңызды бөлімі болып табылады. Ол зерттелетін нысанның нақты үлкейтілген және қайтымды кескінін береді. Объектив бірнеше линзалардан тұрады. Ең маңыздысы - сыртқы (фронталды) линза, оның фокусты арақашықтығына объективтің үлкейту күші тәуелді болып келеді. Фронталды линзаның қисықтығы жоғары болған сайын, фокусты арақашықтық қысқа болады да, ал объективтің үлкейтілуі жоғары болады. Объективтің үлкейту күші оның оправасында көрсетіледі.

3. Микробиологиялық препараттар дайындау.

Препараттарды заттық шыныларда дайындайды. Ең алдымен заттық шынының бетін дайындап алу керек. Шынының беті тазаланған немесе майсызданған болуы керек. Майсыздандырудың ең тиімді жолы - шыныларды хром қоспасымен өңдеп, су және

спиртпен шаю. Ал күнделікті жұмыста құрғақ шыныны сабынмен жуып, таза сүрткішпен сүрту жеткілікті.

Тірі клеткалардың препараттары. *«Жаншылған тамшы» препараты.* «Жаншылған тамшы» препараты микроорганизм клеткаларының пішінін, олардың мөлшерін және орналасуын, спора түзулерін, қозғалғыштықтарын зерттеу үшін қолданылады.

Препаратты дайындау үшін заттық шыныға бір тамшы су тамызып, оған тұзақпен зерттеу материалын енгізіп, араластырады да, жабынды шынымен жауып, микроскоп арқылы зерттейді.

«Ілінген тамшы» препараты. Бұл препарат микроорганизмдердің көбеюін бақылауда, споралардың түзілуін және дамуын зерттеуде, сонымен қатар қозғалғыштықты бақылауда қолданылады. Бұл препаратты дайындау үшін арнайы ойығы бар шыны қолданылады. Жабынды шынының бетіне вазелин жағады, ал ортасына бактериялы дақылдың тамшысын енгізеді. Одан кейін тамшы ойықтың ортасында тұратындай етіп заттық шыны үстіне жабынды шыныны жабады. Тамшы ойықтың үстінде, ойықтың түбіне де, шетіне де тимей ілініп тұруы қажет.

«Таңбалы» препарат. Препарат микроорганизмдердің колонияларында клеткалардың табиғи орналасуын зерттеуде, ал кейде спора формаларын бақылауға қолданылады.

Микроорганизмдер бөлек колониялар немесе газон түрінде өскен агарланған ортадан скальпель арқылы бөлшек кесіп алып, заттық шыныға көшіреді. Бұнда бөлшектегі микроорганизмдер жоғары қарап тұруы қажет. Одан соң газон немесе колонияға таза жабынды шыныны жауып, үстінен тұзақ не қысқышпен аздап басады. Алынған препаратты заттық шыныдағы су немесе метилен көктің тамшысына таңбамен қаратып енгізеді. Таңбаны колония немесе газон бетіне заттық шыныны тигізу арқылы да алуға болады.

Бекітілген боялған клеткалардың препараттары. Бекітілген немесе фиксирленген препараттар микроорганизмдердің бірқатар морфологиялық ерекшеліктерін зерттеуде, клеткаларды санауда және дақыл тазалығын тексеруде қолданылады.

Майсызданған заттық шыныға тамшы су тамызып, тұзақпен зерттеу материалын енгізеді. Алынған суспензияны біркелкі, жұқа жұғынды алу үшін тұзақ арқылы жаяды. Жұғындыны бөлме температурасында ауада кептіреді. Егер жұғындының кебуі жай болса, онда жұғындыны от жалынының үстінде жылы ауада ұстайды.

Препараттарды бірнеше мақсатпен бекітеді: микроорганизмдердің тіршілігін тоқтату; клеткалардың шыныға жабысуын қамтамасыз ету; жұғындыны бояуға сезімтал ету, себебі тіршілігін жойған клеткалар тірі клеткаға қарағанда жақсы боялады. Бекітудің кең тараған әдісі жылумен өңдеу болып табылады. Ол үшін препаратты жұғындыны жоғары қаратып, оттың жалынының ең ыстық бөлігінен бірнеше рет өткізеді.

Микроорганизм клеткаларын бояу үшін, көбінесе фуксин, геницианды көгілдір, метиленді көк бояулары пайдаланылады. Жұғындыға бояуды тамызып, 1-3 минут ұстайды. Бояу аяқталғаннан кейін препараттарды ағып жатқан су түссізденгенше шаяды. Одан кейін препаратты кептіріп, микроскоп арқылы бақылайды.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ

1. Микробиология зертханасында жұмыс істейтін студенттер үшін қауіпсіздік ережелерімен танысу және зертханада жұмыс істеу ережелерімен танысу.
2. Микробиологиялық зертхана құрал-жабдықтарымен танысу.
3. Биологиялық микроскоп құрылысымен және онымен жұмыс істеу жолдарымен танысу.
4. «Жаншылған тамшы» және фиксирленген боялған препараттар дайындау.

3-4 апталар

№2 зертханалық сабақ

Тақырып: Микроорганизмдердің әртүрлілігі

Жұмыстың *мақсаты* - бактериялардың, актиномицеттер және саңырауқұлақтардың морфологиясымен танысу.

Зертханалық жұмыстың *міндеті*- бактериялар, актиномицеттер және саңырауқұлақтармен жұмыс істеу жолдарын игеру.

Бактериялар морфологиясы.

Бактериялар - бір клеткалы организмдер, пішіндері бойынша 3 негізгі топқа бөлінеді: *дөңгелек, таяқша тәрізді және иілген таяқшалар*.

Дөңгелек бактериялар немесе коктар орналасуына байланысты микрококстар, диплококстар, стрептококстар, тетракокстар, сарциналар және стафилококстар болып бөлінеді.

Таяқша тәрізді микроорганизмдер клеткалар мөлшері, олардың орналасуы және спора түзу қабілеттіліктері бойынша ажыратылады. Олар бөлек клеткалар немесе тізбек түрінде орналасуы мүмкін.

Спора түзетін таяқшалар **бациллалар** деп аталады. Иректелген бір клеткалы бактериялар клетканың формасы және ирек санына байланысты 3 топқа бөлінеді: *вибриондар, спириллалар, спирохеталар*.

Негізгі пішіндерімен қатар табиғатта микроорганизмдердің басқа да формалары кездеседі.

Клеткалардың пішінін «жаншылған тамшы» препаратымен, ал майда бактерия клеткаларының пішіндерін бекітілген боялған препараттарымен анықтайды.

Актиномицеттер – грамон микроорганизмдердің үлкен тобы, олардың клеткалары тармақталуға қабілетті. Көптеген актиномицеттер коректік ортаға еніп өсетін субстратты мицелий түзеді. Ауалы мицелийдің гифтерінің ұшында споралар немесе споралар бар спорангийлер қалыптасады. Актиномицеттер спора арқылы, клеткалардың бөлінуі немесе тармақталуы арқылы көбейеді.

Спора түрін, спора формасын зерттеу үшін актиномицеттердің колониясынан таңбалы препарат дайындайды. Таңбаны ауада кептіріп, жалында бекітеді де, фуксинмен бояп, сумен жуады. Микроскоп арқылы препаратта мицелийдің бөліктері, спора түзу түрі, споралардың формалары көрінеді.

Саңырауқұлақтар эукариотты организмдерге жатады, мицелиалды құрылымға ие. Олар жынысты және жыныссыз жолмен көбейеді. Саңырауқұлақтарды зерттеу кезінде «жаншылған тамшы» препараты қолданылады. Заттық шыныдағы су тамшысына сірке қышқылын тамызып, оны араластырады. Сірке қышқылын саңырауқұлақтардың конидийлері сумен нашар суланатындықтан қосады. Бактериологиялық иненің көмегімен колониялардың агарсыз аймағын алады да, тамшыға салып, мицелийлерін ақырын жаяды, жабынды шынымен жауып, 8х, 40х объективтерімен, микроскоппен қарайды. Колонияларды микроскоптау кезінде мицелийдің бөлінуіне, спорангийлердің құрылысына, спора пішініне назар аударады және мицелий диаметрін анықтайды.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ

1. Ашытқылар үшін «жаншылған тамшы», бактериялар үшін фиксирленген боялған препарат дайындау. Клеткалардың пішінін және орналасуын анықтау. Суретін салып алу.

2. Актиномицеттер немесе зең саңырауқұлақтарының Петри табақшаларындағы қатты коректік ортаның бетінде өскен колонияларын зерттеу. Суреттерін салу және сипаттау.

5-8 апталар

№3 Зертханалық сабақ. Бактериялық клетка құрылысы

Жұмыстың *мақсаты* - лекциялық сабақтар кезінде алынған спора түзілу, талшықтардың орналасуы, клетка қабықшасының құрылысы туралы білімдерін ұштастыру.

Зертханалық жұмыстың *міндеті*- спора түзудің сипаты, талшықтың орналасуына байланысты клетка қозғалысын және Грам әдісі бойынша микроорганизмдердің қай топқа жататыныны анықтау.

1. «Ілінген тамшы» препаратының көмегімен бактериялардың қозғалысын сипаттау. *«Ілінген тамшы» препараты.* Бұл препарат микроорганизмдердің көбеюін бақылауда, споралардың түзілуін және дамуын зерттеуде, сонымен қатар қозғалғыштықты бақылауда қолданылады. Бұл препаратты дайындау үшін арнайы ойығы бар шыны қолданылады. Жабынды шынының бетіне вазелин жағады, ал ортасына бактериалды дақылдың тамшысын енгізеді. Одан кейін тамшы ойықтың ортасында тұратындай етіп заттық шыны үстіне жабынды шыныны жабады. Тамшы ойықтың үстінде, ойықтың түбіне де, шетіне де тимей ілініп тұруы қажет.

2. Ожешко әдісімен бактериялардың спора түзу қабілетін, спораның орналасуын, типін анықтау. Бактериялардың споралары вегетативті клеткаларға қарағанда қоршаған ортаның жағымсыз факторларына жоғары төзімділік көрсетеді. Олар дөңгелек, сопақ немесе эллипс тәрізді түзінділер. Егер спора диаметрі спора түзетін клетка диаметрінен аспаса, ондай клетканы **бациллярлы** деп, ал клетка диаметрінен асатын болса, спора клетканың ортасында немесе шетінде орналасуына байланысты **кlostридиалды** немесе **плектридиалды** деп атайды.

Тірі спора түзетін клеткаларды бақылау кезінде олардың спораларын жарық сәулесінің шағылысуынан байқауға болады. Споралар қышқылға төзімді және бояулармен қиын боялады. Бұл олардың клетка қабығының қалыңдығымен, бос су концентрациясының төмендігімен және споралардағы липидтің құрамының жоғары болуымен түсіндіріледі.

Бекітілмеген, бірақ кептірілген препаратқа 0,5% *хром қышқылын* құйып, 5-10 мин кейін оны шайып тастайды. Препаратты фильтр қағазымен жауып, *Цильдің карболды фуксинімен* суландырады. Жалынның үстіне қойып, бу пайда болғанша қыздырады. Содан кейін тағы да бояу құяды. Осылайша 7 мин жасайды. Бояғыш буланып, ал қағаз кеппеуі керек. Суыған соң қағазды алып тастап, препаратты сумен шаяды, фильтр қағазымен жақсылап сусыздандырып алады. Осылай өңдеудің нәтижесінде споралар клеткамен бірдей боялады. Одан кейін цитоплазманы түссіздендіру қажет, ол үшін 1% *HCl* немесе 1% *H₂SO₄* 15-30 с өңдейді. Түссізденген препаратты сумен шайып, қосымша метилен көгімен 2 мин аралығында бояйды. Препаратты тағы да сумен шайып, сусыздандырады. Егер препарат дұрыс дайындалған болса, спора ашық қызыл түске боялады да, цитоплазма көк аймақта айқын байқалады.

3. Грам әдісімен бактериялардың клетка қабықшасының боялу сипатын анықтау. *Грам әдісімен бояу.* Дат микробиологы *Грам* (1884 ж.) бактерияларды бояу әдісін ұсынған, бұл әдіс бойынша барлық бактериялар 2 топқа бөлінеді: *грамоң және грамтеріс*. Грамоң бактериялар препаратты спиртпен өңдеу кезінде генициан көгілдірдің йодпен қосылысын ұстап қалады да, көгілдір түске боялады. Грамтеріс бактериялар бұндай қабілетке ие емес, сондықтан спиртпен түссізденеді. Одан кейін фуксинмен өңдеу кезінде олар ашық қызыл түске боялады.

Грам әдісі бойынша бояу тәртібі:

1. Бекітілген жұғындыны *кристалды көгілдірмен* бояп, 1-2 мин ұстайды да, бояуды төгіп тастайды.

2. *Люгольдің ерітіндісін* тамызып, 1-2 мин кейін ерітіндіні төгеді.

3. Көгілдір судың ағуы тоқтағанша 30-60 с аралығында препаратты *этил спиртімен* түссіздендіреді.

4. Препаратты сумен шаяды.

5. *Сулы фуксинмен* 1 минут бояйды. Грамоң бактериялар қою көгілдір түске, ал грамтеріс бактериялардың клеткалары ашық қызыл түске боялады.

Грам әдісімен бояу нәтижесі дақылдың жасына байланысты болады: ересек дақылдардағы өлі клеткалар грамтеріс боялады. Сондықтан жас тәуліктік дақылдарды қолданған жөн.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ

1. «Ілінген тамшы» препаратын дайындап, бактериялардың қозғаласын анықтау. Спора түзу сипатын, түрін сипаттау. Дәптерге суретін салу.
2. Фиксирленген препарат дайындап, Грам әдісімен бояу. Қосымша 3 % КОН экспресс-талдау жүргізу. Зерттеу нәтижесін жазып алу.

9-10 апталар

№4 Зертханалық сабақ. Микроорганизмдерді сандық анықтау

Жұмыстың мақсаты - қоректік орталарға егу әдісі бойынша микроорганизмдерді сандық анықтау.

Зертханалық жұмыстың *міндеті*- микроорганизмдерді қатты қоректік орталарға отырғызу әдістерін игеріп, үйрену.

Табиғи субстраттардағы немесе қоректік орталардағы микроорганизмдердің өсуін клеткаларының санының немесе көлем бірлігіндегі биомассаның өзгеруі арқылы айтуға болады. Бұл көрсеткіштерді анықтау әдістері тікелей (микроскоппен клеткаларды санау, өлшеу) немесе жанама болуы мүмкін. Жанама әдістер микроорганизмдер биомассасына немесе санына тәуелді болатын параметрлерін өлшеуге негізделеді. Әдісті таңдау зерттеу мақсатына, қоректік орта немесе субстраттың қасиетіне, сонымен қатар микроорганизмдердің морфологиясына және өсу ерекшеліктеріне байланысты болады. Себебі, бір клеткалы микроорганизмдердің санын анықтау үшін қолданылатын әдістер көп клеткалылар үшін қолданылмайды.

Микроорганизмдер клеткаларының санын анықтау. Әр түрлі субстраттардағы микроорганизмдердің жалпы санын, микроорганизмдер түрлері мен жеке топтарының өкілдерінің санын анықтау үшін түрлі әдістер қолданылады. Бұл әдістерге: *микроскоп арқылы клеткаларды тікелей санау* (санақ камераларында, бекітілген, боялған жұғындыда, мембраналық фильтрлерде), *қатты қоректік орталарға егу арқылы санау және бөліп алу* (Кох әдісі) және *сұйық орталарға отырғызу* (шекті сұйылту әдісі) сияқты әдістер жатады. Қатты және сұйық орталарға егу әдісімен тіршілік етуге қабілетті микроорганизм клеткалары ғана есепке алынады.

Микроскоп астында клеткаларды тікелей санау әдісі арқылы субстраттағы микроорганизмдердің толық санын есептеуге болады. Алайда бұл әдіспен тірі және тіршілігін жойған клеткалар анықталатындықтан санау нәтижелері дәл болмауы мүмкін.

Санақ камерасында клеткаларды санау. Бұл әдіс ірі нысандар - ашытқыларды, бірклеткалы балдырларды, кейбір ірі бактерияларды санау үшін ұсынылады. Мысал ретінде *Горяев-Томның санақ камерасын* алуға болады (25-сурет). Сырт қарағанда торша қалың заттық шыны тәрізді. Шынының ортасы 0,1 мм тереңдікті ойықтан тұрады, оның түбіне торша орнатылған. Камера тереңдігі (0,1 мм), үлкен және кіші торша квадраттарының ауданы (сәйкесінше $1/25$ және $1/400$ мм²) заттық шыныда көрсетілген. *Камераны толтыру және клеткаларды санау.* Камерамен жұмыс істеу кезінде оны толтырудың ережелерін сақтау қажет. Торшамен тереңдеген жерді арнайы жабынды шынымен жабады, сәл жабыстырады да, интерференция суреті (Ньютон сақинасы) пайда болғанша жабынды шыныны қарама-қарсы жаққа қозғалтады. Алдын ала камераны зерттелетін микроорганизм суспензиясымен толтырады. Толтырылған камераны микроскоптың үстеліне орналастырады.

Клеткаларды санауды камераны толтырғаннан кейін 2-3 минуттан кейін бастайды. Себебі клеткалардың тұнуы және микроскоптау кезінде бір жазықтықта орналасуы керек. Қозғалғыш клеткаларды алдын ала қыздыру арқылы өлтіріп алады.

Фиксирленіп боялған жұғындыдағы клеткаларды санау әдісі (Виноградский-Брид әдісі). Бұл әдіс әр түрлі табиғи субстраттар топырақтағы, ластанған сулардағы, оптикалық лайлы орталардағы микроорганизмдердің санын анықтау үшін кеңінен қолданылады. Әдістің артықшылығы фиксирленген препараттар ұзақ сақталады, сондықтан санауды зерттеушіге қолайлы уақытта жүргізуге болады.

Препарат дайындау. Зерттелетін суспензияның белгілі көлемін (0,02 мл) микропипеткамен миллиметрлі қағаздың көмегімен 6 немесе 4 см² аудан көлемі белгіленіп алынған майсызданған, құрғақ заттық шыныға тамызады. Шыныдағы суспензияға агардың 0,03-0,1% сулы ерітіндісін қосу ұсынылады. Суспензияны шыныдағы белгіленген ауданға біркелкі етіп жаяды. Жұғындыны ауада кептіріп, 20-30 мин 96% спиртпен бекітеді де, метилен көгімен, фуксинмен немесе басқа бояумен бояйды. Препаратты сумен шайып, ауада кептіреді. Бұл күйінде препараттар жақсы сақталады.

Санау барысы. Препаратты иммерсиялық объективпен микроскоптайды. Окулярдың жинақтағыш және көздік линзаларының ортасына орталастыратын окулярлы торшаның (сетка) квадраттарындағы клеткалардың санын санайды. Торша болмаған жағдайда микроскоптың көру аймағындағы клеткаларды санайды. Нәтиже дәлді болу үшін 50-100 көру аймағындағы клеткалар санын санайды.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ:

1. Микроорганизм клеткаларынан суспензия дайындау.
2. Екі түрлі тәсілмен микроорганизм клеткаларын сандық анықтау.
3. Зерттеу нәтижелерін өңдеп, қортындылау.

11-12 апталар

Микроорганизмдерге физико-химиялық факторлардың әсері

Жұмыстың мақсаты - ультра күлгін сәулелердің және антибиотиктердің микроорганизмдерге әсерін зерттеу.

Зертханалық жұмыстың міндеті- ультра күлгін сәулелердің микроорганизмдерге әсерін зерттеу және антибиотиктердің әсеріне микробтардың сезімталдылықтарын зерттеу әдістерімен танысу.

1. Ультра күлгін сәулелердің микроорганизмдерге әсері.

Электромагнитті толқындар түрінде кеңістікте таралатын энергия сәулелік энергия деп аталады. Оның спектрлері микробтарға түрліше әсер етеді. Активті түрде әсер ететін сәуле микробтарға леталды немесе мутагенді әсер береді. Ол микробтың табиғатына және сәулелену дозасына байланысты болады.

Зертханалық жағдайда микроорганизмдерге УК сәулелердің әсері төмендегі жолмен зерттеледі. ЕПА ортасы бар Петри табақшасына бактерия суспензиясын тамызып, орта бетіне біркелкі етіп, Дригальский шпателімен жаяды, газонның ортасына стерилді трафарет қойып, Петри табақшасының бетін ашып, 20-30 мин кварцты шамның астына қояды. Трафаретті алып тастап, табақшаны жабады да, 28⁰ С термостатқа қойып, инкубациялайды. Тәжірибенің нәтижесін 5-7 тәуліктен соң алады. Микроорганизмдердің өсуі трафарет қойылған жерде ғана байқалып, қалған аймақтар таза болып келеді. Яғни ультра күлгін сәуле микробтарға кері әсерін тигізеді.

2. Антибиотиктердің микроорганизмдерге әсері.

Көптеген микроорганизмдер өздерінің тіршілігінің нәтижесінде басқа микроорганизмдерге немесе вирустарға қатысында, олардың өсуін тежейтін немесе оларды өлтіретін жоғары физиологиялық белсенділікке ие арнайы өнімдер бөледі. Олар **антибиотиктер** деп аталады. Жалпы биологиялық уларға қарағанда антибиотиктер белгілі бір топ немесе түр микроорганизмдеріне ғана өздерінің әсерін тигізе алады. Микроорганизмдердің антибиотикалық қасиеттерін анықтайтын әдістер әр түрлі. Олардың көбісі агарланған ортаға антибиотиктердің сіңуі және тест-организм өспейтін ортада ашық

аймақтар түзе алу қасиеттеріне негізделген. Антибиотикалық белсенділікті перпендикулярлы сызықтар және агарлы блоктар әдістерімен анықтайды.

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 28-30⁰C 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; KNO₃ - 5,5; MgSO₄ - 0,5; NaCl - 1,0; K₂HPO₄ - 0,4; ZnSO₄ - 0,002; FeSO₄ - 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, шпателдің көмегімен қоректік ортаның бетіне тұтастай жайып, 28-30⁰C 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. Антибиотикалық заттардың қоректік ортаға жақсы шығуы үшін тест-организм егілген агарлы пластинканы алдын ала тескіштермен тесіп қойып, сол жерлерге актиномицеттер өсірілген агарлы пластинкадан алынған блоктарды орналастыруға болады. Тест-организмі бар бір Петри табақшасына осылайша бірнеше өндірушілерді отырғызуға болады. Табақшаларды бір сағаттай бөлме температурасында ұстайды да, сосын тест-организмнің дамуы үшін қолайлы температурада термостатқа бірнеше тәулікке орналастырады. Егер тест- организм өндірушінің антибиотикалық затына сезімтал болса, дақылданғаннан кейін агарлы блоктың айналасында оның өсу аймақтары байқалмайды. Антибиотик көп бөлінген сайын және ол белсенді болған сайын, тест-организмнің өсуі байқалмайтын аймақтардың диаметрі соғұрлым үлкен болады. Осы антибиотикалық затқа сезімтал емес тест-организм ортаның бүкіл бетінде және өндірушінің блоктарының жанынан да өсе береді.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ

1. УК сәулеленуге ұшыраған Петри табақшаларын зерттеу.
2. Микроорганизмдерге антибиотиктердің әсерін анықтау, микробтардың тежелу аймақтарын өлшеп, нәтижелерін кестелерге енгізу. Қорытынды жасау.

13-15 апталар

№6 зертханалық сабақ. Микроорганизмдердің табиғатта таралуы

Жұмыстың мақсаты - ауа және адамның ауыз қуысының микрофлорасымен танысу.

Зертханалық жұмыстың міндеті- ауаның және адамның микрофлорасын зерттеу әдістерімен танысу.

1. Ауа микрофлорасын зерттеу.

Су және топырақ сияқты ауа микроорганизмдер тіршілік ететін орта болып саналады. Бактериялар көп мөлшерде ауаға шаң-тозаңмен түседі, олардың сандық және сапалық құрамы топырақ микрофлорасымен тығыз байланысты болып келеді. Микроорганизмдер ауада тіршілік еткенімен, ауа олардың көбею ортасы бола алмайды, яғни олар күн

сәулесінің әсерінен тіршілігін жояды. Ауа микрофлорасы негізінен климаттық жағдайларға, жыл және тәулік мезгіліне, тұрғылықты жерлерге байланысты өзгеріп отырады. Жаңбырлы күнде микробтар шаңмен қоса топырақтың бетіне шөгіп, ауа тазарады. Ауаның жоғары қабаты микробтардан едеуір таза болып келеді. Адамдар көп жерлерде, ластанған аймақтардың ауасында микроорганизмдер көп мөлшерде кездеседі. Зерттеу міндеттеріне байланысты ауа микрофлорасын зерттеу кезінде түрлі тәсілдер қолданылады. Бөлмелердегі ауа ластануына баға беру үшін Кох тәсілі кең қолданылады. Ол үшін зерттелетін бөлмеге қатты қоректік орта құйылған Петри табақшаларын 5 минутқа ашық қалдырып, уақыт аяқталған соң табақшаның бетін жауып, термостатқа при 28 ° С орналастырады. 2-3 тәуліктік инкубациядан соң ауа микрофлорасына сандық есептеу жүргізеді. Бөлме ауаларында көбінесе бактериялардың кок тәрізді формалары, оның ішінде *Sarcina flava*, споралы таяқшалар, зең саңырауқұлақтары кездеседі.

2. Адам микрофлорасын зерттеу (ауыз қуысының микрофлорасы).

Әр студент өзінің тіс жиегінен жұғынды дайындап, фиксациялайды да, Грам әдісі бойынша бояп қарайды. Ауыз қуысында көбінесе коктар, таяқшалар, актиномицеттердің кейбір түрлері кездеседі.

ЖҰМЫСТЫҢ БАРЫСЫ

1. Әр түрлі бөлмелерге қойылған Петри табақшаларындағы микроорганизмдердің 1 м³ аудағы санын анықтап, салыстырмалы түрде талдау жасау, колонияларды сипаттап, препараттар дайындап, ауа микрофлорасымен танысу, суреттерді салып, түсініктеме беру.
2. Тіс жиегінен жұғынды дайындап, Грам әдісімен бояп, бактериялардың шоғырлануын сипаттау, суреттерін салу.

ОҚУ-ӘДІСТЕМЕЛІК ҚАМТАМАСЫЗ ЕТУ

1. Практикум по микробиологии. / Под ред. Н.С. Егорова. М.: Изд-во МГУ, 2000.
2. Уалиева П.С. Микробиологиядан практикалық сабақтар. Қазақ Универ-ті, 2007 ж.
3. Игнатова Л.В. Основы микробиологии. Қазақ Универ-ті, 2009 ж.
4. Практикум по микробиологии / Под ред. А.Н.Нетрусова. - М.: Academia . 2005. 597 с