

Идентификация бактерий по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. выделение и идентификация чистой культуры бактерий: характеристика роста бактерий на питательных средах, микроскопия материала, пересев на скошенный агар, проведение дополнительных методов идентификации (биохимических и серологических).

Цель: научиться идентифицировать микроорганизмы с целью определения их видовой принадлежности.

Задачи:

Личностные УУД:

1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.
2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.
3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях, нести за них ответственность.
4. Осуществлять поиск, и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.
5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

Коммуникативные УУД:

Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

Регулятивные УУД:

1. Целеполагание;
2. Планирование;
3. Прогнозирование;
4. Контроль;
5. Коррекция;
6. Оценка;
7. Волевая саморегуляция.

Воспитательные УУД:

1. Воспитание в студентах ответственность за свою жизнь и жизнь окружающих;
2. Профилактика вредных привычек и правонарушений.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА «ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»

Цель работы: знакомство с основными принципами определения микроорганизмов. В процессе выполнения лабораторной работы каждый студент изучает свойства бактерий, необходимые для описания бактериального штамма и идентификации его до уровня рода.

Время выполнения работы – 12 часов.

Задания

1. Определить чистоту идентифицируемой бактерии и изучить морфологию ее клеток.
2. Описать культуральные свойства.
3. Заполнить таблицу и подвести итоги.

Ход работы:

Пересев колоний:

1. Стерилизуем петлю.
2. Соприкасаемся со изотированной колонии.
3. Зигзагообразными движениями помещаем в скошенный агар.
4. Петлю стерелизуем.

Микроскопируем культуру с использованием препаратов «раздавленная капля» и препарата фиксированных, окрашенных фуксином клеток.

Выделение и идентификация чистой культуры бактерий:

1. Стерилизация петли
2. Берем в руку одновременно 2 пробирки со средой Гиса и посев бактерий.
3. Петлей берем посев бактерий и вносим петлю в пробирку с рядом Гиса и делаем прокол до дна.
4. Петлю стерилизуют.

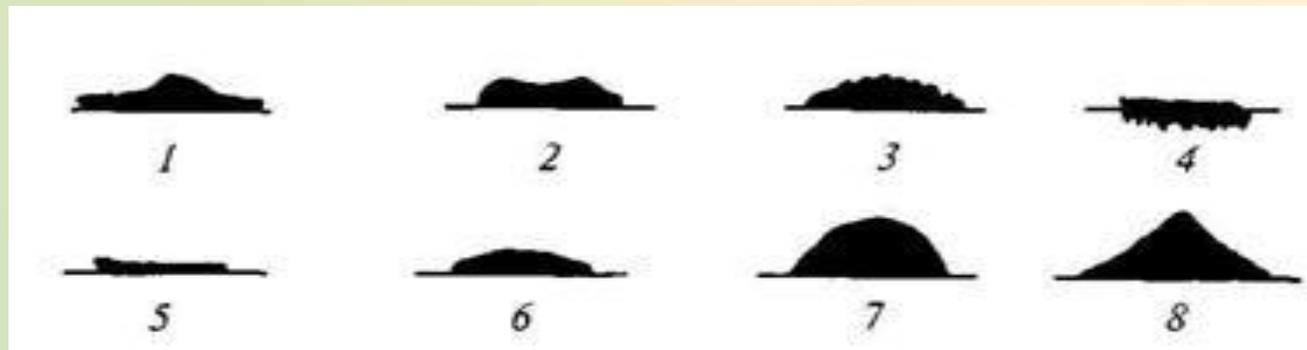
Аналогично делаем так же со всем рядом Гиса.

5. Затем эти пробирки мы помещаем в термостат при 30⁰ на 24 часа, предварительно подписав.

2 день:

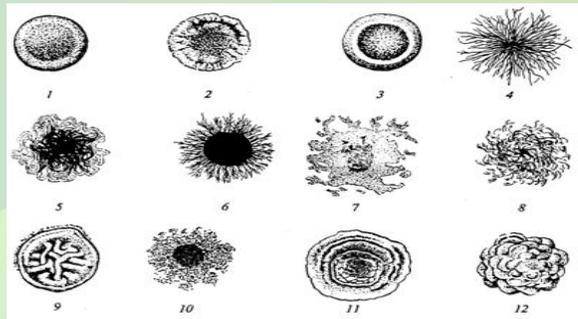
Микроскопируют культуру с использованием препаратов «раздавленная капля» и препарата фиксированных, окрашенных фуксином клеток. Результаты вносят в таблицу, составленную по форме таблицы 2.

- *профиль* – плоский, выпуклый, кратерообразный, конусовидный и т. д. (рисунок 1);
- *форму* – округлая, амебовидная, неправильная, ризоидная и т. д. (рисунок 2);
- *размер (диаметр)* – измеряют в миллиметрах; если размеры колонии не превышают 1 мм, то их называют точечными;
- *поверхность* – гладкая, шероховатая, бороздчатая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами или радиально исчерченная;
- *блеск и прозрачность* – колония блестящая, матовая, тусклая, мучнистая, прозрачная;
- *цвет* – бесцветная (грязно-белые колонии относят к бесцветным) или пигментированная – белая, желтая, золотистая, оранжевая, сиреневая, красная, черная и т. д.; особо отмечают выделение в субстрат пигмента; при описании колоний актиномицетов отмечают пигментацию воздушного и субстратного мицелия, а также выделение пигментов в среду;
- *край* – ровный, волнистый, зубчатый, бахромчатый и т. д. (рисунок 3);
- *структуру* – однородная, мелко - или крупнозернистая, струйчатая и т. д. (рисунок 4); край и структуру колонии определяют с помощью лупы или при малом увеличении микроскопа. Для этого чашку Петри помещают на столик микроскопа крышкой вниз;
- *консистенцию* определяют, прикасаясь к поверхности колонии петлей. Колония может легко сниматься с агара, быть плотной, мягкой или врастающей в агар, слизистой (прилипает к петле), тягучей, иметь вид пленки (снимается целиком), быть хрупкой (легко ломается при прикосновении петлей).



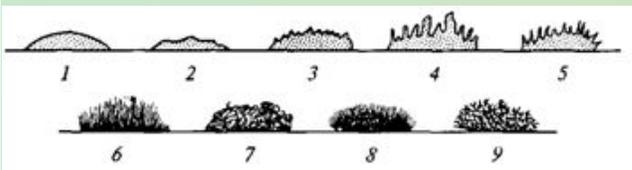
1 – изогнутый; 2 – кратерообразный; 3 – бугристый;
 4 – врастающий в субстрат; 5 – плоский; 6 – выпуклый;
 7 – каплевидный; 8 – конусовидный
 Рисунок 1 – Профиль колонии

Размеры и многие другие особенности колонии могут изменяться с возрастом и зависят от состава среды. Поэтому при их описании указывают возраст культуры, состав среды и температуру культивирования.



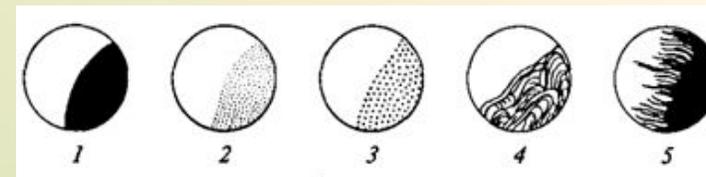
1 – круглая; 2 – круглая с фестончатым краем; 3 – круглая с валиком по краю; 4, 5 – ризоидные; 6 – с ризоидным краем; 7 – амёбовидная; 8 – нитевидная; 9 – складчатая; 10 – неправильная; 11 – концентрическая; 12 – сложная

Рисунок 2 – Форма колонии



1 – гладкий; 2 – волнистый; 3 – зубчатый; 4 – лопастной; 5 – неправильный; 6 – реснитчатый; 7 – нитчатый; 8 – ворсинчатый; 9 – ветвистый

Рисунок 3 – Край колонии



1 – однородная; 2 – мелкозернистая; 3 – крупнозернистая; 4 – струйчатая; 5 – волокнистая

Рисунок 4 – Структура колонии

Таблица 1 – Минимальный перечень данных, необходимых для описания новых штаммов бактерий (по Н. Truper, К. Schleifer, 1992)

Свойства	Основные признаки	Дополнительные признаки
1	2	3
Морфология клеток	Форма; размер; подвижность; внутри - и внеклеточные структуры; взаимное расположение клеток; клеточная дифференцировка; тип клеточного деления; ультраструктура клетки	Цвет; характер жгутикования; споры; капсулы; чехлы; выросты; жизненный цикл; гетероцисты; ультраструктура жгутиков, оболочки и клеточной стенки

1	2	3
Характер роста	Особенности роста на плотных и в жидких питательных средах; морфология колоний	Цвет колоний, суспензии
Окраска	По Граму	Кислотоустойчивость; окраска спор, жгутиков
Состав клетки	Состав ДНК; запасные вещества	Гомология нуклеиновых кислот; клеточные пигменты; состав клеточной стенки; типичные ферменты
Физиология	Отношение к температуре; к рН среды; тип метаболизма (фототроф, хемотроф, литотроф, органотроф); отношение к молекулярному кислороду; акцепторы электронов; источники углерода; источники азота; источники серы	Потребность в солях или осмотических факторах; потребность в факторах роста; типичные продукты метаболизма (кислоты, пигменты, антибиотики, токсины); устойчивость к антибиотикам
Экология	Условия обитания	Патогенность; круг хозяев; образование антигенов; серология; восприимчивость к фагам; симбиоз

Таблица 2 – Свойства идентифицируемой бактерии

Свойства	Признаки	Результаты
Культуральные свойства	Форма	
	Размер, мм	
	Цвет	
	Край	
	Блеск	
	Поверхность	
	Профиль	
	Структура	
	Консистенция	
	Рисунок	
Морфология клеток и цитология	Форма и расположение клеток	
Подвижность		
Наличие эндоспор		
Окраска по Граму		
Окраска на кислотоустойчивость		

Физиолого-биохимические свойства	Отношение к молекулярному кислороду	
Рост на среде с глюкозой		
Рост на среде с желатиной		
Рост на среде с молоком		
Рост на среде с крахмалом		
Тест на каталазу		
Чувствительность к антибиотикам		

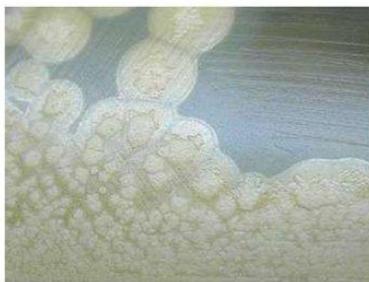
Результаты исследований

Идентификация микроорганизмов

Культуральные свойства



C. perfringens (КА)



C. botulinum (ЖА)



C. tetani (КА)

Биохимические свойства

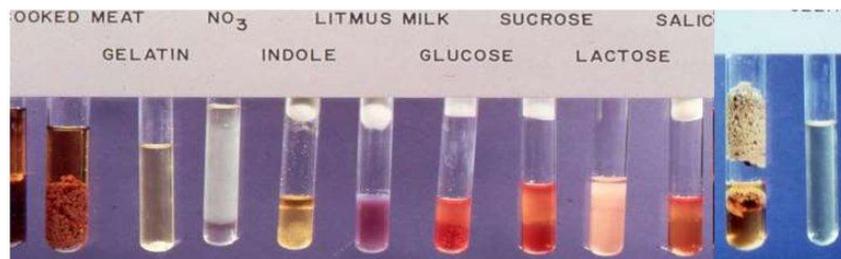


Figure 2-6. A variety of bacterial forms as seen with an optical microscope. (Source: OpenStax, *Microbiology*, 11th ed., 2019.)



Figure 2-7. A variety of bacterial forms as seen with an optical microscope. (Source: OpenStax, *Microbiology*, 11th ed., 2019.)

- Морфологические свойства

- Тинкториальные свойства

Домашнее задание для практического занятия № 6: «Дифференциация микроорганизмов по морфологическим свойствам: нормальная микрофлора тела человека»:

1. Знать лекцию.
2. Взять простые и цветные карандаши.
3. Ответить на вопросы:
 1. Понятие «биоценоз». Понятие «факультативные и облигатные микроорганизмы».
 2. Формирование микрофлоры человека, возрастные особенности.
 3. Различные виды симбиотических взаимоотношений.
 4. Микрофлора кожи и слизистых оболочек.
 5. Микрофлора желудочно-кишечного тракта.
 6. Микрофлора мочеполовой системы.
 7. Значение нормальной микрофлоры.
 8. Понятие «дисбактериоз». Условия его развития и профилактика.

4.



Задание №2: Заполните таблицу «методы создания анаэробноза»

39

№ п/п	Способ культивирования	Сущность способа	Используемые		
			приборы	методы	среды
1	Физический				
2	Химический				
3	Биологический				



Спасибо за внимание!