

Н.Н.Смирнова

ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

**Лабораторный практикум для студентов по направлению 20.03.01
«Техносферная безопасность»**

Набережные Челны

2016

УДК 614.7

Основы микробиологии и биотехнологии. Лабораторный практикум для студентов по направлению 20.03.01 «Техносферная безопасность».

/Составитель: Н.Н.Смирнова. Набережные Челны: НЧИ К(П)ФУ, 2016, с

Издание предназначено для бакалавров, обучающихся по направлению 20.03.01 «Техносферная безопасность». В лабораторном практикуме представлены указания по выполнению лабораторных работ, целью которых является изучение микрофлоры окружающей среды и их участие в биотехнологических процессах. Каждая работа сопровождается теоретическим материалом, заданием, контрольными вопросами или тестовыми заданиями. Данное издание может быть полезно для магистрантов и выпускников, изучающих методы биотехнологии в техносферной защите окружающей среды.

Табл.5, рис. 32 , библиограф.4 назв.

Рецензент: Кандидат биологических наук, доцент Шарафутдинов Р.Н.

Печатается по решению учебно-методического совета К(П)ФУ

Набережночелнинский институт (филиал) К(П)ФУ, 2016 года

Содержание

1.Лабораторная работа №1. Микробиологическая лаборатория _____	4
1.1. Предмет и задачи микробиологии _____	4
1.2.Правила по технике безопасности при работе в микробиологической лаборатории _____	6
1.3.Посуда и инструменты, применяемые в микробиологической лаборатории _____	9
1.4.Подготовка посуды к микробиологическим исследованиям _____	10
2.Лабораторная работа №2. Тема: Морфология микроорганизмов _____	11
2.1.Общая характеристика микроорганизмов _____	12
2.2.Морфология бактерий _____	18
2.3.Методы изучения морфологии микроорганизмов _____	22
2.3.1.Приготовление мазков из культур с плотной питательной среды и окраска их простым методом _____	22
2.3.2.Приготовление мазков из микробных культур с жидкой питательной средой _____	23
2.3.3.Простые способы окрашивания бактерий _____	24
2.3.4.Окрашивание микроорганизмов по методу Грамма _____	26.
2.3.5. Устройство светового микроскопа и техника микроскопирования _____	27
3. Лабораторная работа № 3. Тема: Физиология микроорганизмов _____	33
3.1.Питательные среды _____	38
3.2.Определение количества клеток высевом на плотные питательные среды (чашечный метод Коха) _____	40
4. Лабораторная работа № 4. Тема: Микрофлора воздуха _____	49
4.1.Санитарно – показательные микроорганизмы _____	53
4.2.Влияние физических и химических факторов окружающей среды на рост микроорганизмов _____	54
5.Лабораторная работа № 5. Микрофлора почвы _____	56
6.Лабораторная работа № 6. Количественный учет бактерий в пробах воды. Определение коли - титра и коли- индекса кишечной палочки _____	58
7.Лабораторная работа № 7. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы _____	67
8.ПРОВЕРОЧНЫЕ ТЕСТЫ _____	70
9.Литература _____	100

1.Лабораторная работа №1. Микробиологическая лаборатория

Цель работы:

1. Обобщить теоретический материал по теме «Предмет и задачи микробиологии».
- 2.Изучить правила безопасной работы в учебной микробиологической лаборатории.
3. Ознакомиться с посудой и оборудованием для исследований.
4. Подготовить посуду к микробиологическим исследованиям.
- 5.Ответить на контрольные вопросы.

1.1.Предмет и задачи микробиологии

Микробиология – наука о мельчайших невидимых невооружённым глазом организмах, которые называются микроорганизмами (micros- малый). Она изучает биологические признаки, систематику, экологию микроорганизмов, их взаимоотношения с другими организмами. Микроорганизмы – наиболее древняя форма организации жизни на Земле. По количеству они представляют собой самую значительную и самую разнообразную часть организмов, населяющих биосферу.

К микроорганизмам относят: бактерии, вирусы, микроскопические грибы (плесневые, дрожжеподобные, дрожжи), простейшие, микроводоросли.

В последнее время объектом исследований микробиологов являются патогенные агенты – прионы. **Прионы (от англ. proteinaceous infectious particles — белковые заразные частицы) — особый класс инфекционных агентов, чисто белковых, не содержащих нуклеиновых кислот, вызывающих тяжёлые заболевания центральной нервной системы у человека и ряда высших животных (так называемые «медленные инфекции»).**

Общий признак микроорганизмов – микроскопические размеры. Отличаются они строением, происхождением, физиологией.

Бактерии – одноклеточные микроорганизмы растительного происхождения, лишенные хлорофилла и не имеющие ядра.

Грибы – одноклеточные и многоклеточные микроорганизмы растительного происхождения, лишенные хлорофилла, но имеющие черты животной клетки.

Вирусы – это уникальные микроорганизмы, не имеющие клеточной структурной организации. Свойства живого они проявляют только попав в живую клетку.

Основные разделы микробиологии: общая, техническая, сельскохозяйственная, ветеринарная, медицинская, санитарная.

Общая микробиология изучает наиболее общие закономерности, свойственные каждой группе перечисленных микроорганизмов: структуру, метаболизм, генетику, экологию микроорганизмов.

Основной задачей технической микробиологии является разработка биотехнологии синтеза микроорганизмами биологически активных веществ: белков, ферментов, витаминов, спиртов, органических веществ, антибиотиков. Сельскохозяйственная микробиология занимается изучением микроорганизмов, которые участвуют в круговороте веществ, используются для приготовления удобрений, вызывают заболевания растений и др.

Ветеринарная микробиология изучает возбудителей заболеваний животных, разрабатывает методы их биологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения, направленного на уничтожение микробов-возбудителей в организме больного животного.

Предметом изучения медицинской микробиологии являются болезнетворные (патогенные) и условно-патогенные для человека микроорганизмы, а также разработка методов микробиологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения вызываемых ими инфекционных заболеваний.

Предметом изучения санитарной микробиологии являются санитарно-микробиологическое состояние объектов окружающей среды и пищевых продуктов, разработка санитарных нормативов.

Перспективным направлением в микробиологии является *биотехнология - дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии.*

1.2. Правила по технике безопасности при работе в микробиологической лаборатории

Микробиологическая лаборатория – это территория чистоты, безупречного порядка и строгого выполнения правил работы в ней, так как на лабораторных занятиях студенты работают с живыми культурами микроорганизмов.

Студенты, выполняя задания, должны соблюдать следующие правила:

1. Каждый студент в микробиологической лаборатории работает на постоянном месте, выполняя задания индивидуально.

2. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов. Личные вещи студентов следует хранить в специально отведенном месте.

3. Студент должен работать только в чистом халате, шапочке или косынке.

4. Запрещается выходить за пределы лаборатории в халатах или надевать верхнюю одежду на халат.

5. В лаборатории категорически запрещается прием пищи, хранение продуктов питания.

6. Не допускаются лишние хождения, резкие движения, посторонние разговоры (особенно во время посева микроорганизмов).

7. Перед началом работы обязательно проверяют наличие и исправность приборов, посуды, горелок и др. О замеченных недостатках, неисправностях сообщают преподавателю.

8. Особую осторожность следует соблюдать при работе со спиртовкой:

- после того как сняли крышку спиртовки, необходимо спрессованный фитиль слегка разрыхлить незажженной спичкой или препаровальной иглой, после чего зажечь спичку и поджечь фитиль;

- работать рядом с горящей спиртовкой нужно очень аккуратно, чтобы избежать воспламенения волос головы;

- нельзя зажигать одну спиртовку от другой;

- после работы пламя спиртовки следует загасить крышкой, затем крышку плотно завернуть.

9. При работе с электроприборами не отключать прибор мокрыми руками. В случае неисправности прибора (нагревание, искрение, замыкание) его необходимо тотчас же обесточить и сообщить о случившемся преподавателю.

10. Запрещается работать с неисправным оборудованием, уходить с рабочего места при проведении исследования, оставлять зажженные спиртовки без присмотра.

11. При расплавлении агаризованных питательных сред необходимо пользоваться водяной баней, предварительно ослабив пробки в колбах. Кипячение растворов на электроплитке производите на асбестовых прокладках в термостойких колбах.

12. При работе с культурами микроорганизмов необходимо соблюдать все правила микробиологической техники: на пробирках, колбах, чашках Петри должна быть сделана надпись, содержащая дату посева, фамилию студента и номер группы.

13. Микробную культуру из пробирки или чашки Петри следует отбирать с соблюдением правил асептики.

14. Все манипуляции при посеве следует проводить около пламени спиртовки (но не в пламени). Нельзя делать резкие движения и ходить около лица, работающего с чистой культурой, так как движение воздуха увеличивает вероятность случайного ее загрязнения.

15. Не оставлять открытыми чашки Петри, пробирки, колбы с культурами плесневых грибов.

16. Строго соблюдать правила обращения с химическими реактивами и красителями;

17. Нельзя дуть на загоревшуюся пробку, так как это только усилит горение, ее нужно быстро ввести в пробирку, где вата сама потухнет.

18. Если в момент пересева ватная пробка упадет на пол или на стол, то не следует снова вставлять ее в пробирку.

19. Все предметы, использованные при работе с живыми культурами, должны быть обеззаражены. Для этого их обжигают в пламени спиртовки (петли, иглы), или погружают в дезинфицирующий раствор (предметные и покровные стекла, пипетки, шпатели).

20. Все засеянные пробирки, чашки помещаются в термостат или сдаются дежурному, отработанный материал (пробирки, чашки Петри) также помещается в определенные ёмкости по указанию преподавателя для их дальнейшего обеззараживания.

21. Категорически запрещается выносить микробные культуры за пределы лаборатории.

22. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место, тщательно вымыть руки с трехкратным намыливанием.

23. Каждый студент должен вести тетрадь лабораторных работ, являющуюся документом, позволяющим контролировать правильность полученных результатов. Записи проводятся в определенной последовательности и должны содержать следующее:

- а) номер работы, ее название, цель работы, дату постановки и окончания опыта;
- б) краткие теоретические сведения;
- в) условия проведения опыта, включая описание методов исследования;
- г) полученные результаты и выводы из них.

1.3. Посуда и инструменты, применяемые в микробиологической лаборатории

В лаборатории микроорганизмы выращивают на плотных и жидких питательных средах, которые разливают в пробирки, колбы и чашки Петри. В пробирках микроорганизмы культивируют как в жидких, так и на плотных средах. Жидкой средой для аэробных культур заполняют обычно 1/3 пробирки, для анаэробных – 2/3. При выращивании микроорганизмов в колбах используют только жидкие питательные среды. Для культивирования аэробных микроорганизмов среду наливают тонким слоем (например, 30 мл в колбы Эрленмейера на 100 мл), для выращивания анаэробных микроорганизмов колбу заполняют на 2/3. Пробирки и колбы также используют для хранения питательных сред. Чашки Петри (рис.1) применяют для выращивания культур микроорганизмов на плотных питательных средах. Они имеют высоту около 1,5 см и диаметр около 8–10 см (диаметр крышки несколько больше, чем диаметр нижней чашки).



Рис.1. Чашка Петри



Рис.2. Бактериологические петли Генле.

Для посева штрихом используют бактериологические петли (рис.2). Их изготавливают из платиновой проволоки, которую закрепляют в специальных металлических держателях или впаивают в стеклянные палочки. Толщина игл и петель не должна превышать 0,5 мм, шпателя – 1,5 мм и более. При посевах (и пересевах) культур микроорганизмов из колоний, выросших на плотных средах, применяются иглы или шпатели. Шпатели также используют для взятия клеток микроорганизмов из колоний, растающих в субстрат, и для размазывания жидких культур на поверхности плотной питательной среды. Суспензии микроорганизмов берут петлей. При приготовлении препаратов

микроорганизмов предметные стекла удерживают на весу пинцетами или специальными держателями. Сушить препараты целесообразно на верхнем ярусе сушильного металлического столика Коха. Промывать их удобно на приспособлениях – перекладинах или на так называемых препаратодержателях – параллельно расположенных стеклянных палочках, соединенных резиновыми трубками (длина палочек от 20 до 30 см, трубок от 15 до 20 см). Палочки устанавливают над кристаллизаторами или фарфоровыми чашками.

1.4. Подготовка посуды к микробиологическим исследованиям.

Стерилизация стеклянной посуды. Основным способом стерилизации стеклянной посуды является обработка ее сухим горячим воздухом при температуре не выше 180 ° в течение 1 - 3 ч (табл. 1). При этом погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов. Стерилизацию осуществляют в специальных суховоздушных (сухожаровых) стерилизаторах и сушильных шкафах, приспособленных для стерилизации и обеспечивающих автоматическое поддержание необходимой температуры.

Таблица 1.

Время, необходимое для стерилизации стеклянной посуды сухим жаром

Температура °С	Время, мин
140	180
150	150
160	120
170	60

--	--

Посуда перед стерилизацией должна быть тщательно вымыта и завернута в бумагу для сохранения стерильности после прогревания. После этого её загружают в стерилизатор (или в сушильный шкаф) не слишком плотно, чтобы обеспечить циркуляцию воздуха и равномерный надежный прогрев стерилизуемого материала. По окончании стерилизации шкаф не открывают до тех пор, пока температура в нем не упадет до 80°C, так как при резком охлаждении иногда нарушается стерильность материала, а сильно нагретое стекло может растрескаться.

Контрольные вопросы

1. Микробиология: определение.
2. Микроорганизмы: определение, особенности.
3. Разделы дисциплины и объекты их исследования.
4. Правила работы и поведения в учебной лаборатории.
5. Подготовка посуды к микробиологическим исследованиям.

2. Лабораторная работа №2. Тема: Морфология микроорганизмов

Цель занятия:

- Обобщить теоретический материал по теме.
- Изучить методы приготовления мазков и окрашенных препаратов из исследуемого материала.
- Изучить устройство микроскопа и технику микроскопирования.
- Приготовить окрашенный препарат, промикроскопировать, определить микроорганизмы по форме клетки, зарисовать их или сфотографировать.

Оборудование: предметные стёкла, пипетки, петли Генле, спиртовки, красители, промывалка, столик для окрашивания, спиртовки, фильтровальная бумага, микроскоп, иммерсионное масло, дезраствор, исследуемый материал.

2.1.Общая характеристика микроорганизмов

Микроорганизмы — это мельчайшие живые существа, размеры которых в большинстве случаев не превышают 1 — 2 мкм, что делает их невидимыми для человеческого глаза без увеличения. Мир микробов, населяющих нашу планету, велик и разнообразен. Они различаются между собой морфологически, а также физиологическими и биохимическими свойствами. По принципу клеточной организации все микроорганизмы могут быть разделены на два типа — прокариоты и эукариоты. У прокариот ядерный аппарат, называемый часто нуклеотидом, представлен кольцевой молекулой ДНК, соответствующей одной хромосоме. У эукариот ядро содержит набор хромосом и отделено от цитоплазмы мембраной. Различия в организации ядерного аппарата коррелируют с рядом других особенностей эукариот и прокариот (табл. 1.1). Первоначально к микроорганизмам относили и вирусы, однако в настоящее время их чаще рассматривают как особые формы жизни, в связи с тем, что они не имеют клеточного строения и в отличие от про- и эукариот содержат лишь один тип нуклеиновых кислот (ДНК или РНК).

Прокариоты

Среди прокариот различают бактерии и археи. Основанием для выделения этих групп, рассматриваемых некоторыми исследователями как отдельные царства или даже империи, послужили результаты сравнения олигонуклеотидных последовательностей 16S рибосомных РНК, а также выявления различий в составах клеточных стенок, липидов и ряда других особенностей.

Большинство известных прокариот составляют различные группы бактерий. Известные археи включают метаногенов, отдельных

сульфатредукторов, экстремальных галофилов, термоплазм, лишенных клеточной стенки, а также экстремально термофильных бактерий, окисляющих и восстанавливающих молекулярную серу. За последние годы обнаружено значительное число новых представителей архей.

Размеры и форма клеток. Большинство прокариот — одноклеточные формы. Величина клеток многих прокариот находится в пределах 0,2— 10,0 мкм, однако среди них есть «карлики» (около 0,05 мкм — трепонемы, микоплазмы) и «гиганты» (длиной до 100 мкм — *Acetivibrio*, *Mycobacterium*). Самой крупной из до сих пор выделенных прокариот является клетка *Euryarchaeum* *pyrum* — до 600 мкм в длину. Формы клеток бактерий не отличаются большим разнообразием. Это чаще всего палочки разной длины, сферические клетки (кокки), а также извитые формы — вибрионы, спириллы и спирохеты. Обнаружены виды с треугольными, квадратными, звездообразными и плоскими (тарелкообразными) клетками, некоторые имеют отростки-простеки (рис. 1.1 — 1.7).

Тип группирования клеток иногда помогает определить систематическую принадлежность бактерий. Они могут быть одиночными, образовывать пары, короткие и длинные цепочки правильной (стрептококки) и неправильной (стафилококки) формы, формировать пакеты из 4, 8 и более клеток (сардины), розетки и сети. Значительное число бактерий из актиномицетной группы образуют мицелий. Известны также многоклеточные прокариоты, образующие трихомы, прямые и ветвящиеся (рис. 1.8—1.13).

имеет ригидную клеточную стенку, под которой расположена цитоплазматическая мембрана. Состав и строение клеточной стенки — важный систематический признак, по которому прокариоты подразделяют на следующие группы: грамположительные, грамотрицательные и не имеющие клеточной стенки. Своеобразным строением и составом клеточной стенки характеризуются археи. Грам-положительные бактерии отличаются от грамотрицательных большим (до 40 раз) содержанием муреина

(пептидогликана) в клеточной стенке и отсутствием внешней мембраны. Археи пептидогликана не синтезируют, но некоторые образуют псевдо-муреин.

У многих бактерий на поверхности находят ворсинки (фимбрии, пили), а подвижные формы часто имеют жгутики. На поверхности клеточных стенок многих прокариот можно обнаружить слизистые капсулы различной толщины. Они чаще всего полисахаридной, но бывают и гликопротеидной или полипептидной природы. Обнаружены также 8-слои (от англ. *zig/ace* — поверхность), выстилающие наружную поверхность клеточной оболочки равномерно упакованными белковыми структурами правильной формы.

Прокариоты характеризуются сравнительно простой внутриклеточной организацией и не содержат автономных органелл, хотя многие бактерии имеют включения. Среди них в первую очередь следует отметить различного рода внутриклеточные мембранные пузырьки, образованные в результате инвагинации цитоплазматической мембраны. Развитая цепь внутрицитоплазматических мембран характерна для фототрофных прокариот (хроматофоры, тилакоиды), нитрифицирующих и метанооксиляющих бактерий. Некоторые клетки образуют газовые вакуоли (аэросомы), окруженные белковой мембраной, выполняющие у водных организмов роль регуляторов плавучей плотности. Многие бактерии откладывают внутриклеточно запасные вещества (полисахариды, поли-р-ок-сипутират, полифосфаты, серу). Отдельные виды спорообразующих бактерий иногда имеют параспоральные тельца белковой природы.

Движение клеток. Среди прокариот есть подвижные и неподвижные виды. Движение клеток чаще всего осуществляется за счет вращения жгутиков (рис. 1.14). Еще одним способом движения является скольжение клеток, механизм которого изучен недостаточно. Описано «прыгающее» движение, природа которого не выяснена. Подвижные бактерии способны осуществлять реакции таксиса: аэро- и фототаксис, хемо- и магнитотаксис.

Размножение и развитие прокариот. Большинство бактерий размножаются в результате бинарного деления, реже — почкованием, а некоторые

(например, актиномицеты) — с помощью экзоспор или обрывков мицелия (рис. 1.15—1.18). Известен также способ множественного деления (образование бaeоцитов у ряда цианобактерий).

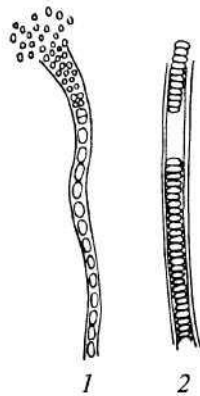


Рис. 1.16. Гонидии (1) и гормогонии (2) нитчатых бактерий

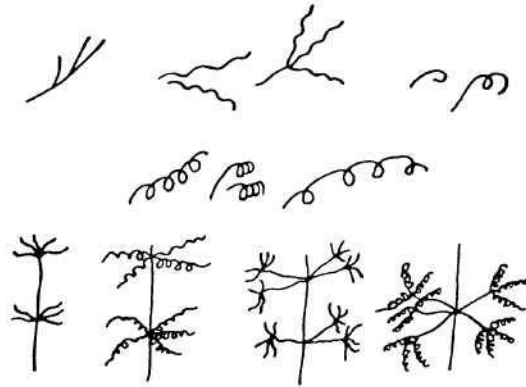


Рис. 1.17. Формы воздушных спороносцев у актиномицетов

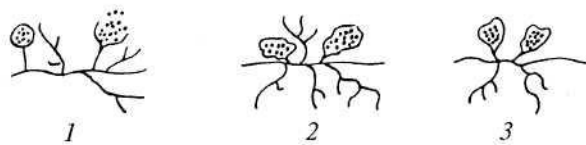


Рис. 1.18. Спорангии актиномицетов:
1— *Actinoplanes*; 2— *Amorphosporangium*; 3— *Spirillospora*

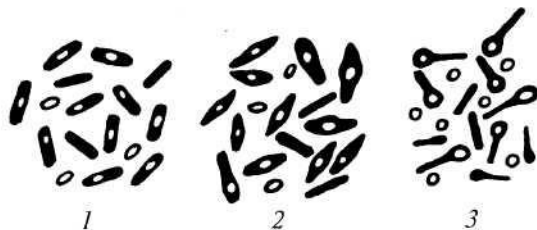


Рис. 1.19. Типы образования эндоспор у бактерий:
1 — бациллярный; 2 — кластридальный; 3 — плек-тридальный

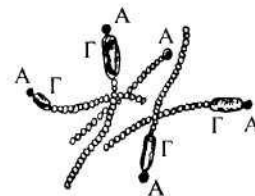


Рис. 1.20. Акинеты (А) и гетероцисты (Г) нитчатой цианобактерии *Cylandrospermum*

Многоклеточные прокариоты могут размножаться отделением от трихома одной или нескольких клеток. У ряда бактерий обнаружена конъюгация, однако, как правило, она не обеспечивает полной передачи генетического материала из одной клетки в другую.

Некоторые прокариоты характеризуются сложным циклом развития, в процессе которого может меняться морфология клеток и образуются покоящиеся формы: цисты, эндоспоры, акинеты (рис. 1.19—1.20). Известны бактерии, образующие плодовые тела, часто причудливых конфигураций и расцветок.

Бактерии отличаются способностью к быстрому размножению. «Чемпионами» в этом отношении являются фотобактерии: время их генерации около 8 мин. Для *E. coli* (время удвоения — 20 мин) подсчитано, что потомство одной клетки в случае неограниченного роста бактерий уже через 48 ч могло бы дать биомассу, в 150 раз превышающую массу Земли.

Эукариоты

К эукариотам в отличие от прокариот относятся как микро-, так и макроорганизмы. Эукариотные микроорганизмы представлены грибами, водорослями и простейшими.

Грибы

Грибы — обширная группа гетеротрофных микроорганизмов, широко распространенных в природе. Большинство из них сапрофиты, однако есть и паразитические виды. Грибы подразделяют на два отдела: Eumycota и Oomycota. Характерной особенностью большинства грибов является образование мицелия. Мицелиальные грибы, предмет изучения микробиологов, объединяют представителей в основном трех классов: Zygomycetes, Ascomycetes и Deuteromycetes (все — из отдела Eumycota).

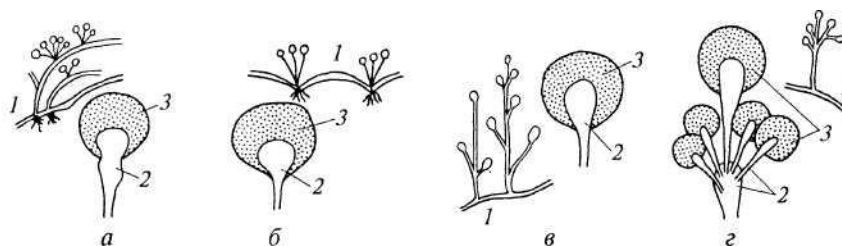


Рис. 1.21. Спорангии и спорангиеносцы некоторых зигомицетов:
a — *Absidia*; *б* — *Rhizopus*; *в* — *Mucor*; *г* — *Actinomyces*; 1 — плодоносящий мицелий; 2 — спорангиеносцы; 3 — спорангий со спорами

Зигомицеты имеют не разделенный на отдельные клетки многоядерный мицелий (ценоцитный). Они характеризуются особым типом полового размножения, которое включает стадию образования зигоспоры из двух родительских гиф (рис. 1.21). К числу зигомицетов относятся мукоровые грибы *Rhizopus*, *Phycomyces*, *Absidia* и др.

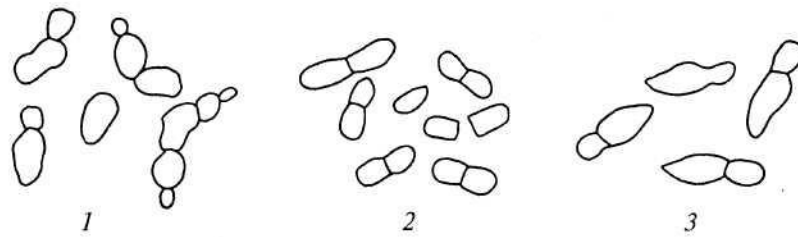


Рис. 1.22. Способы вегетативного размножения дрожжей:
1 — почкование; 2 — деление; 3 — почкующееся деление

Простейшие

Простейшие составляют большую группу одноклеточных гетеротрофных микроорганизмов, широко распространенных в природе. Они лишены клеточной стенки (хотя некоторые имеют панцирь) и поглощают питательные вещества абсорбцией через клеточную мембрану или путем эндоцитоза. Размножение этих микроорганизмов осуществляется половым и бесполом путями, иногда оба способа воспроизводства составляют стадии единого жизненного цикла организма. Простейших, представляющих интерес для микробиологов, находят в 4 классах: амёб, жгутиконосцев, реснитчатых и споровиков. По некоторым классификационным схемам к простейшим относят и слизевиков (*Mycetozoa*), которых раньше относили к грибам.

Амебы обитают преимущественно в воде. Они подвижны благодаря псевдоподиям, которые также способствуют захвату пищи с последующим фагоцитозом. Жизненный цикл амеб относительно прост. Одной из его характерных стадий является фаза инцистирования — образование покоящихся цист из активно питающихся клеток, трофозоитов. Как правило, амебы — свободноживущие организмы, однако некоторые виды являются паразитами и вызывают различные заболевания человека, например кариес зубов и амебную дизентерию.

Жгутиконосцы — организмы, включающие паразитирующие и свободноживущие формы. Некоторые их представители вызывают тяжелые болезни человека и животных.

Реснитчатые — в основном свободноживущие виды, играющие активную роль в разложении органических загрязнений при очистке воды. Некоторые реснитчатые образуют симбиозы и растут в рубце жвачных животных.

Споровики — класс простейших, образующих споры на определенных стадиях развития. Эти паразитирующие формы простейших имеют сложный жизненный цикл, который включает половую и бесполоую стадии размножения. Среди споровиков много возбудителей заболеваний человека и животных.

2.2. Морфология бактерий

По форме выделяют следующие основные группы микроорганизмов.

1. Шаровидные или кокки (с греч.- зерно).
2. Палочковидные.
3. Извитые.
4. Нитевидные.



Кокковидные бактерии (кокки) по характеру взаиморасположения после деления подразделяются на ряд вариантов.

1. **Микрококки.** Клетки расположены в одиночку. Входят в состав нормальной микрофлоры, находятся во внешней среде. Заболеваний у людей не вызывают.
2. **Диплококки.** Деление этих микроорганизмов происходит в одной плоскости, образуются пары клеток. Среди диплококков много патогенных микроорганизмов - гонококк, менингококк, пневмококк.

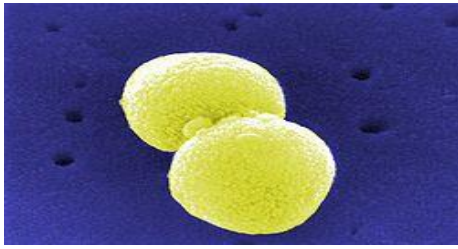


Рис. 2.1. Пневмококк

3.Стрептококки.

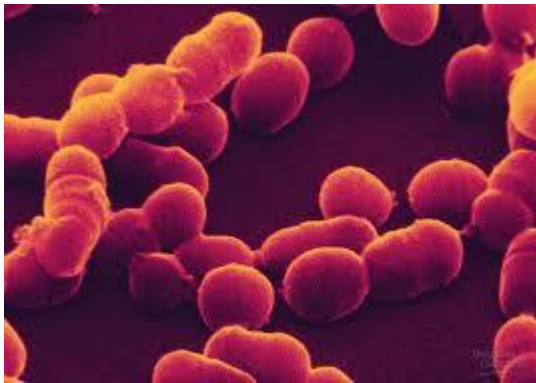


Рис.2.2.Стрептококк

Деление осуществляется в одной плоскости, размножающиеся клетки сохраняют связь (не расходятся), образуя цепочки. Много патогенных микроорганизмов- возбудители ангин, скарлатины, гнойных воспалительных процессов.

4.**Тетракокки**. Деление в двух взаимоперпендикулярных плоскостях с образованием тетрад (по четыре клетки). Медицинского значения не имеют.

5.**Сарцины** . Деление в трех взаимоперпендикулярных плоскостях, образуя тьюки (пакеты) из 8, 16 и большего количества клеток. Часто обнаруживают в воздухе.

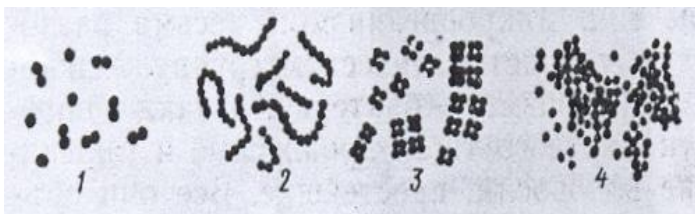


Рис.3.3.3. Сарцины

6.**Стафилококки** (от лат.- гроздь винограда). Делятся беспорядочно в различных плоскостях, образуя скопления, напоминающие грозди винограда.

Вызывают многочисленные болезни, прежде всего гнойно- воспалительные. Наиболее опасен стафилококк золотистый – *St. aureus*.

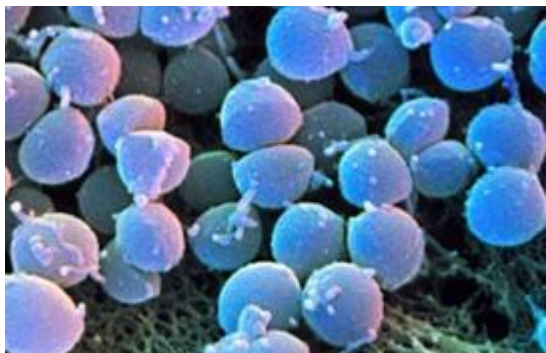


Рис.3.4. Стафилококк

Делятся беспорядочно в различных плоскостях, образуя скопления, напоминающие грозди винограда. Вызывают многочисленные болезни, прежде всего гнойно- воспалительные. Наиболее опасен стафилококк золотистый – *St. aureus*.

7. Палочковидные формы микроорганизмов.

7.1. Бактерии - палочковидные бактерии, не образующие спор.



Рис.3.5. Бактерии.

7.2. Бациллы - аэробные спорообразующие микробы палочковидной формы.

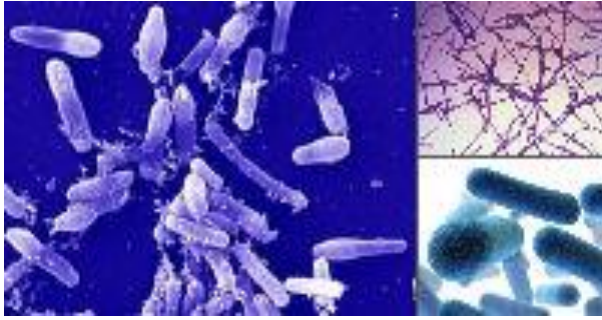


Рис.3.6. Бациллы

3.Клостридии - анаэробные спорообразующие микробы. Диаметр споры больше поперечника (диаметра) вегетативной клетки, в связи с чем клетка напоминает веретено или теннисную ракетку.

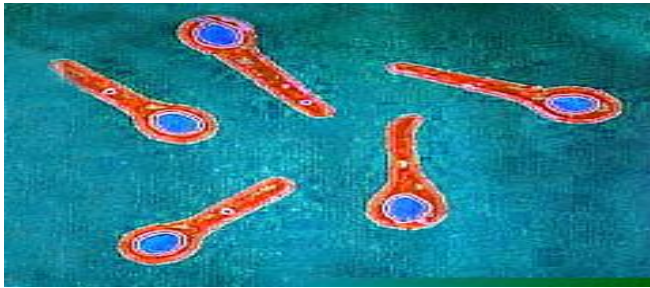


Рис.3.7. Cl. tetani

Необходимо иметь в виду, что термин “бактерия” часто используют для обозначения всех микробов - прокариот. В более узком (морфологическом) значении бактерии - палочковидные формы прокариот, не имеющие спор.

8.Извитые формы микроорганизмов.

8.1.Вибрионы и кампилобактерии- имеют один изгиб, могут быть в форме запятой, короткого завитка.

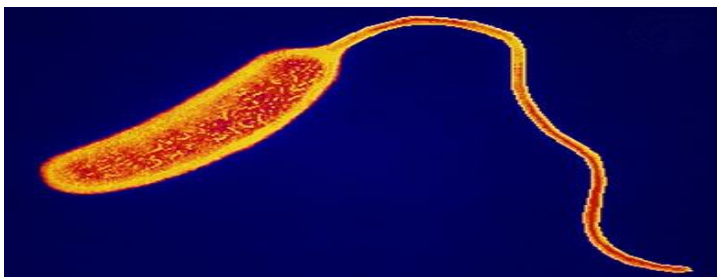


Рис.3.8. Холерный вибрион

8.2.Спирохеты - имеют различное число завитков, аксостиль- совокупность фибрилл, специфический

для различных представителей характер движения и особенности строения (особенно концевых участков). Из большого числа спирохет наибольшее медицинское значение имеют представители трех родов- *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira*.



Рис. 3.9.Спирохеты

9.Спириллы – имеют 2-3 завитка.

2.3.Методы изучения морфологии микроорганизмов.

2.3.1.Приготовление мазков из культур с плотной питательной среды и окраска их простым методом.

Приготовление окрашенного мазка

Материалы и оборудование. Культуры микроорганизмов в пробирках или чашках Петри, бактериологические петли, пипетки, пинцеты, штативы, предметные стекла, газовая горелка, изотонический раствор хлорида натрия, растворы красителей, лотки с рейками для окрашивания мазков, промывалка с водой, фильтровальная бумага, банка с дезраствором для обеззараживания использованных препаратов и пипеток. Целесообразно в лаборатории оборудовать отдельный столик для окраски мазков. Для изучения микроорганизмов в окрашенном виде на предметном стекле делают мазок, высушивают, фиксируют его и после этого окрашивают. Исследуемый материал распределяют тонким слоем по поверхности хорошо обезжиренного предметного стекла. Техника приготовления мазков определяется характером исследуемого материала.

2.3.2. Приготовление мазков из микробных культур с жидкой питательной средой

Маленькую каплю исследуемой жидкости наносят бактериальной петлей на предметное стекло и круговыми движениями петли распределяют равномерным слоем в виде кружка диаметром в 10 - копеечную монету. Мазки *из культуры* бактерий, выращенной на плотной питательной среде, готовят с помощью бактериологической петли. Правило: бактериологическая петля стерилизуется до и после любой работы с ней и может находиться только в штативе или в руке.

Этапы приготовления мазка:

1. Предметное стекло обезжирить мылом.
2. Петлей взять каплю стерильного физиологического раствора и нанести ее на середину предметного стекла.
3. Плоскостью стерильной петли осторожно снять культуру с агара в пробирке или чашке Петри и внести ее в каплю на стекле.
4. Круговыми движениями петли культуру растереть в капле, чтобы получился равномерный мазок диаметром около 2 см.
5. Мазок высушить до полного исчезновения влаги.
6. Зафиксировать над пламенем спиртовки, при этом стекло должно быть горячим, но не обжигающим.
7. Окрасить и снова высушить.

2.3.3. Простые способы окрашивания бактерий

Простой метод окрашивания дает возможность исследовать общую морфологию микробов, их размеры, форму, количество, локализацию, взаимное расположение клеток, но с его помощью невозможно изучать внутреннюю структуру бактерий и их разное отношение к нескольким красителям.

Простым окрашиванием называют такое, при котором применяют лишь один краситель. Чаще всего используют основной разведенный фуксин Пфейфера и щелочную метиленовую синьку Леффлера. Фуксином красят 1-2 мин, а синькой 3-5 мин. Препараты, которые содержат, кроме бактерий, тканевые и клеточные элементы макроорганизма, лучше окрашивать метиленовой синькой, которая красит фон препарата сравнительно слабо, а бактерии значительно интенсивнее.

Методика изготовления и окраски мазков.

Мазок перед окрашиванием высушивают на воздухе или над пламенем горелки и фиксируют после полного высыхания. Фиксацию проводят в пламени горелки, трижды пронося стекло через пламя стороной, на которой нет мазка. Необходимо следить, чтобы общее время пребывания препарата в пламени не превышало 5-6 секунд. Достаточность фиксации можно проверить, коснувшись тыльной стороной стекла кожи кисти: стекло должно быть горячим, но не создавать ощущения ожога. Фиксации проводят для того, чтобы убить микроорганизмы и прикрепить их к стеклу. Убитые бактерии лучше воспринимают красители.

Зафиксированный препарат кладут на специальную подставку над лотком, наносят одну-две капли красителя. Красить мазок фуксином Пфейфера необходимо 1-2 мин, а щелочным метиленовым синим - 3-5 мин. После окрашивания препарат промывают водопроводной водой к исчезновению ручейков красителя, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют.

В повседневной микробиологической практике чаще всего используются основные красители: фуксин основной, нейтральный красный, конго красный (дают красную окраску), метиленовый и толуидиновый синий (голубое, синее),

генцианвиолет, метиленовый фиолетовый (фиолетовое), хризоидин, везувин (желто-коричневое), брильянтовый зеленый, малахитовый зеленый (зеленое).

Изготовление красителей для простого окрашивания

1. **Фуксин основной** готовят в виде концентрированного фенолового фуксина Циля. Он очень стойкий, может сохраняться в течение нескольких месяцев. В концентрированном виде употребляется лишь для окраски спор и кислостойких бактерий. Для окраски по методу Грама его разводят дистиллированной водой 1:10, получая так называемый разведенный, или водный фуксин Пфейфера. Этот раствор очень неустойчивый и его готовят непосредственно перед употреблением.

	<i>Феноловый фуксин Циля</i>
<i>Основной фуксин</i>	<i>1 г</i>
<i>Этанол 96°</i>	<i>10 мл</i>
<i>Фенол кристаллический</i>	<i>5 г</i>
<i>Глицерин</i>	<i>несколько капель</i>
<i>Вода дистиллирована</i>	<i>100 мл</i>

Сначала фуксин с кристаллами фенола и глицерином растирают в ступке к однородной массе, понемногу добавляя спирт, потом, все время перемешивая, доливают дистиллированную воду. Раствор выдерживают при комнатной температуре на протяжении 48 час и фильтруют. Из него потом изготавливают водный фуксин.

	Фуксин Пфейфера
<i>Фуксин Циля</i>	<i>1 мл</i>
<i>Вода дистиллирована</i>	<i>9 мл</i>

2. Метиленовая синька.

Сначала готовят насыщенный спиртной раствор метиленовой синьки, который очень стойкий. При хранении его красящие свойства, а также способность давать метахроматическую расцветку нуклеиновых соединений

(напр. Волютиновых зерен) значительно повышается за счет образования азуров.

Насыщенный спиртовой раствор метиленовой синьки

<i>Метиленовой синьки</i>	<i>10 г</i>
<i>Этанол 96°</i>	<i>100 мл</i>

Из данного раствора готовят щелочную метиленовую синьку по Лефлеру, которую очень широко используют для простого метода окрашивания.

Метиленовая синька по Лефлеру

<i>Спиртовой раствор метиленовой синьки</i>	<i>30 мл</i>
<i>Гидроксид натрия, или калия 1 %</i>	<i>1 мл</i>
<i>Дистиллированная вода</i>	<i>100 мл</i>

Водно-спиртовой раствор метиленовой синьки

<i>Спиртовой раствор метиленовой синьки</i>	<i>10 мл</i>
<i>Дистиллированная вода</i>	<i>100 мл</i>

2.3.4. Окрашивание микроорганизмов по методу Грама.

Метод Грама является важнейшим методом окраски микробов и выявления их тинкториальных свойств. Он позволяет разделить микроорганизмы на две группы: грамположительные и грамотрицательные.

Метод был разработан Кристианом Грамом в 1884 г. Однако до настоящего времени окончательно не выяснены механизмы разной окраски микроорганизмов. Считают, что такая способность связана с отличиями в строении пептидогликана в клеточной стенке грамположительных бактерий, наличием тейхоевых кислот, более высоким, сравнительно с грамотрицательными, концентрацией комплекса протеин-рибонуклеинат магния в клетке, соотношением РНК:ДНК в цитоплазме (у грамположительных 8:1, а грамотрицательных 1:1), а также более кислым значением рН в изоэлектрической точке цитоплазмы.

Принцип метода заключается в том, что клетки **грамположительных** бактерий способны образовывать крепкое соединение с генцианвиолетом и

иодом, которое не вымывается из бактерий спиртом, следовательно, они **окрашиваются в темно-фиолетовый цвет. У грамотрицательных бактерий** этот комплекс вымывается спиртом, поэтому они потом окрашиваются **фуксином в красный цвет.**

2.3.5. Методика окрашивания по Граму

1. На фиксированный препарат накладывают кусочек фильтровальной бумаги, на которую наливают карболовый раствор генцианвиолета на 1-2 мин (в модификации Синьова используют сухую полоску фильтровальной бумаги, предварительно пропитанную 1 % спиртным раствором кристалвиолета и высушенную, на которую наливают 2-3 капли воды).

2. Краситель сливают и, не промывая препарат водой, наливают раствор Люголя на 1 мин.

3. Сливают раствор Люголя и обесцвечивают препарат спиртом к исчезновению фиолетовых ручейков красителя.

4. Промывают его водой и дополнительно окрашивают на протяжении 1-2 мин водным раствором фуксина Пфейффера.

5. Краситель сливают, препарат промывают водой, высушивают и микроскопируют с помощью светового микроскопа.

2.3.6. Устройство светового микроскопа и техника микроскопирования

Устройство светового микроскопа

Для исследования дрожжей, бактерий и плесневых грибов применяют микроскопы, предназначенные для рассмотрения прозрачных препаратов в проходящем свете.

Оптическая часть микроскопа. Основной частью оптической системы микроскопа является объектив, увеличивающий изображение предмета. Он состоит из ряда линз, склеенных канадским бальзамом и заключенных в металлическую трубку; на трубке

имеется резьба, при помощи которой объектив ввинчивается в специальное гнездо револьвера.

Изображение, даваемое объективом, рассматривают с помощью окуляра, находящегося в верхней части тубуса микроскопа. Биологические микроскопы снабжаются тремя сменными окулярами. На верхней оправе линзы окуляра указано его увеличение. Обычно окуляры дают увеличение в 7, 10 и 15 раз. Общее увеличение объекта микроскопом равно произведению увеличения окуляра на увеличение объектива $[10 \text{ (окуляр)} \times 90 \text{ (объектив)}] = 900 \text{ раз}$.

Осветительное устройство располагается под столиком микроскопа и состоит из конденсора с ирис-диафрагмой и зеркала.

Механическая часть микроскопа. Эта часть состоит из штатива, тубусодержателя с револьвером, винтов для передвижения тубуса (макрометрического и микрометрического), осветительного аппарата и предметного столика микроскопа. Основными частями штатива являются нижняя подставка (ножка), придающая микроскопу устойчивость, и тубусодержатель микроскопа.

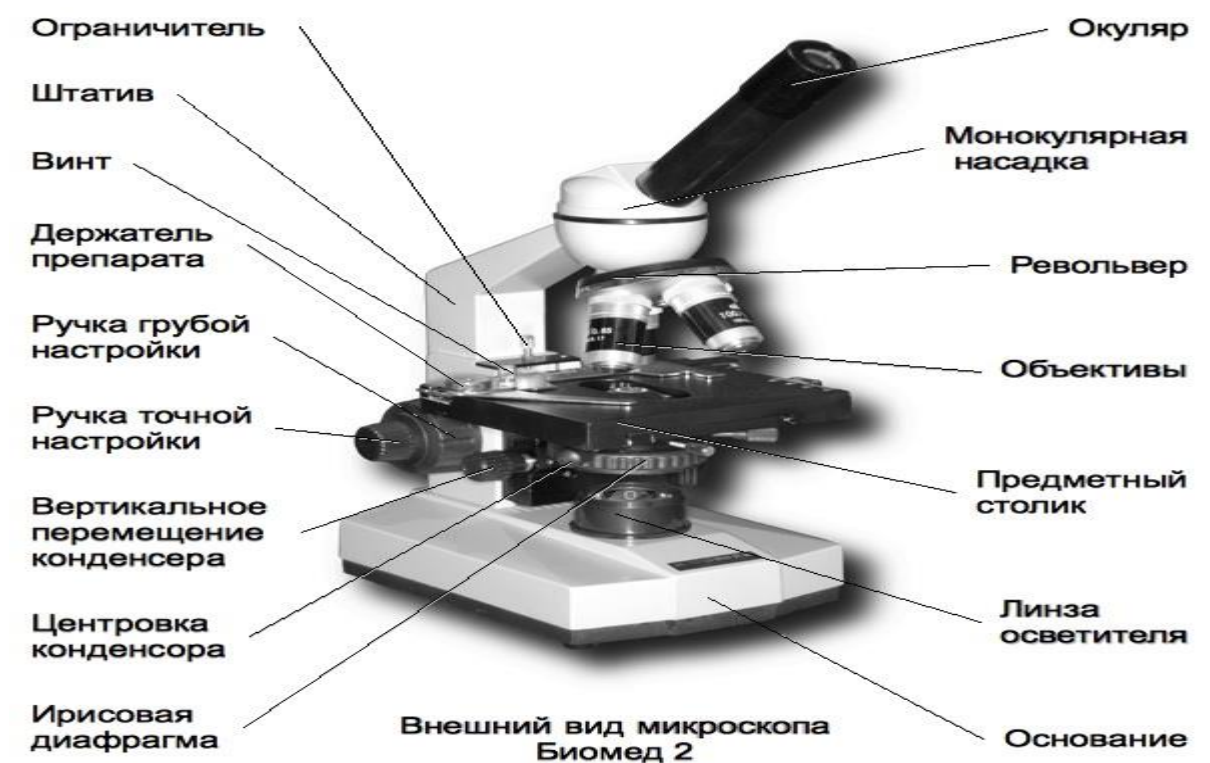


Рис. 3.10. Устройство светового микроскопа

Техника микроскопирования

Для бактериоскопического исследования микроорганизмов наиболее часто применяют иммерсионные объективы. В отличие от сухих объективов, при работе с которыми между препаратом и линзой объектива находится воздух, при использовании иммерсионных объективов между линзой объектива и препаратом помещают жидкость, имеющую показатель преломления, близкий показателю преломления стекла. Роль такой жидкости выполняет иммерсионное масло, чаще всего - кедровое масло. Лучи света, проходя через однородную оптическую среду (стекло и масло), не меняют своего направления. Это позволяет существенно повысить четкость изображения. Иммерсионные объективы отличаются от сухих объективов по своему устройству (подвижная фронтальная линза) и по внешнему виду: на их оправе имеется черная круговая нарезка и выгравировано обозначение МИ (масляная иммерсия).

Для микроскопии с иммерсионным объективом требуется хорошее освещение объекта. Для этого используется дополнительная система линз, расположенная под предметным столиком – конденсор. При подготовке микроскопа к работе конденсор с помощью специального винта перемещают вверх до упора. На окрашенный мазок наносят каплю иммерсионного масла и помещают стекло на предметный столик. Под визуальным контролем сбоку опускают объектив до соприкосновения с каплей. После погружения объектива в каплю масла вращением макрометрического винта определяют контуры объекта, а затем с помощью микрометрического винта устанавливают четкое изображение объекта.

После окончания микроскопии иммерсионный объектив поднимают, препарат убирают, а фронтальную линзу объектива протирают от остатков масла мягкой салфеткой.

Контрольные вопросы по теме занятия:

1. Предмет и задачи микробиологии.
2. Правила работы в микробиологической лаборатории.
3. Принципы классификации микроорганизмов.
4. Формы бактериальных клеток.
5. Приготовление и окраска мазков из культур микроорганизмов.
6. Устройство светового микроскопа
7. Техника микроскопирования с иммерсионной системой.

Тестовые задания по теме: «Морфология микроорганизмов»

1. Стрептококи обладают следующей формой:
 - а) шаровидные
 - б) палочковидные
 - в) извитые
 - г) трубчатые
2. К прокариотам относятся:
 - а) водоросли
 - б) спирохеты
 - в) простейшие
 - г) бактерии
3. Наука о мельчайших невидимых невооруженным глазом организмов называется:
 - а) биотехнология
 - б) биология
 - в) микробиология
 - г) нанотехнология
4. Выберите один из специфических признаков микроорганизма:
 - а) большие размеры
 - б) сложное строение тела

- в) малые темпы размножения
- г) высокая интенсивность метаболических процессов

5. Специфические белки, которые появляются в организме животного после мутации определенного гена называются:

- а) вирусом
- б) прионом
- в) бактерии
- г) спирохеты

6. Кишечная палочка имеет форму:

- а) палочковидную
- б) шаровидную
- в) извитую
- г) трубчатую

7. Стафилококк золотистый показатель чистоты:

- а) почвы
- б) воды
- в) воздуха жилых помещений
- г) пола в аудитории

8. По каким бактериям определяют чистоту почвы:

- а) палочковидные
- б) шаровидные
- в) извитые
- г) трубчатые

9. Количество кишечных палочек, обнаруживаемое на 1 л жидкости, 1 кг твердого вещества и в 1г почвы называется:

- а) коли-индекс
- б) коли- титр
- в) коли-литр
- г) коли-метр

10. Наименьшее количество жидкости или твердого вещества в котором обнаруживаются кишечные палочки называется:

- а) коли-индекс
- б) коли- титр
- в) коли-литр
- г) коли-метр

11. Какие бактерии являются возбудителями газовой гонгрены:

- а) шаровидные

- б) палочковидные
- в) извитые
- г) трубчатые

12. К эукариотам относятся:

- а) водоросли
- б) спирохеты
- в) хламидии
- г) бактерии

13. К доклеточным формам относятся:

- а) прионы
- б) грибы
- в) водоросли
- г) бактерии

14. Наука, изучающая микроорганизмы с помощью которого можно получать продукты необходимые человеку называют:

- а) биотехнология
- б) биология
- в) микробиология
- г) нанотехнология

15. Совокупность особей изолированных из какого-либо биотопа и хранящихся в лабораторных условиях называется:

- а) чистая культура
- б) штамм
- в) вариант
- г) вирус

3. Лабораторная работа № 3. Тема: Физиология микроорганизмов

Цель работы: Обобщить теоретический материал по теме, ознакомиться с ингредиентами, используемыми для питательных сред, ростом микроорганизмов на питательных средах (основных, дифференциально-диагностических, синтетических), сухими питательными средами, освоить методы посева и выращивания бактерий в жидкой и плотной питательной среде.

Материалы и оборудование. Сухие питательные среды, жидкие (МПБ, пептонная вода), плотные (МПА, среда Эндо), полужидкие среды, специальные (среда Чапека для грибов), элективные (среда Китта-Тароцци для анаэробов),

дифференциально-диагностические (среды Гисса с углеводами, среда Плоскирева или среда Левина), исследуемый материал, чашки Петри, пробирки, пипетки, бактериологические петли, спиртовки термостат с температурой 37 °С.

Физиология микроорганизмов.

Под питанием понимают процессы поступления в клетку и выведения питательных веществ из клетки. Питание в первую очередь обеспечивает размножение и метаболизм клетки.

Среди необходимых питательных веществ выделяют органогены – это восемь химических элементов, концентрация которых в бактериальной клетке превосходит 10—4 моль. К ним относят углерод, кислород, водород, азот, фосфор, калий, магний, кальций.

Кроме органогенов, необходимы микроэлементы. Они обеспечивают активность ферментов. Это цинк, марганец, молибден, кобальт, медь, никель, вольфрам, натрий, хлор.

Для бактерий характерно многообразие источников получения питательных веществ.

В зависимости от источника получения углерода бактерии делят на:

- 1) ауотрофы (используют неорганические вещества – CO₂);
- 2) гетеротрофы;
- 3) метатрофы (используют органические вещества неживой природы);
- 4) паратрофы (используют органические вещества живой природы).

Процессы питания должны обеспечивать энергетические потребности бактериальной клетки.

По источникам энергии микроорганизмы делят на:

1. Фототрофы (способны использовать солнечную энергию).
2. Хемотрофы (получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций).
3. Хемолитотрофы (используют неорганические соединения).
4. Хемоорганотрофы (используют органические вещества).

Факторами роста бактерий являются витамины, аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, присутствие которых ускоряет рост.

Среди бактерий выделяют:

1. Прототрофы (способны сами синтезировать необходимые вещества из низкоорганизованных);

2. Ауксотрофы (являются мутантами прототрофов, потерявшими гены; ответственны за синтез некоторых веществ – витаминов, аминокислот, поэтому нуждаются в этих веществах в готовом виде).

Микроорганизмы ассимилируют питательные вещества в виде небольших молекул, поэтому белки, полисахариды и другие биополимеры могут служить источниками питания только после расщепления их экзоферментами до более простых соединений.

Метаболиты и ионы поступают в микробную клетку различными путями.

Пути поступления метаболитов и ионов в микробную клетку.

1. Пассивный транспорт (без энергетических затрат):

- простая диффузия;
- облегченная диффузия (по градиенту концентрации, с помощью белков-переносчиков).

2. Активный транспорт (с затратой энергии, против градиента концентрации; при этом происходит взаимодействие субстрата с белком-переносчиком на поверхности цитоплазматической мембраны).

Встречаются модифицированные варианты активного транспорта – перенос химических групп. В роли белков-переносчиков выступают фосфорилированные ферменты, поэтому субстрат переносится в фосфорилированной форме. Такой перенос химической группы называется транслокацией.

Особенности метаболизма у бактерий:

- а) многообразие используемых субстратов;
- б) интенсивность процессов метаболизма;
- в) направленность всех процессов метаболизма на обеспечение процессов

размножения;

- г) преобладание процессов распада над процессами синтеза;
- д) наличие экзо- и эндоферментов метаболизма.

В процессе метаболизма выделяют два вида обмена:

1. Пластический (конструктивный):
 - а) анаболизм (с затратами энергии);
 - б) катаболизм (с выделением энергии);
2. Энергетический обмен (протекает в дыхательных мезосомах):
 - а) дыхание;
 - б) брожение.

В зависимости от акцептора протонов и электронов среди бактерий различают аэробы, факультативные анаэробы и облигатные анаэробы. Для аэробов акцептором является кислород. Факультативные анаэробы в кислородных условиях используют процесс дыхания, в бескислородных – брожение. Для облигатных анаэробов характерно только брожение, в кислородных условиях наступает гибель микроорганизма из-за образования перекисей, идет отравление клетки.

В микробной клетке **ферменты** являются биологическими катализаторами. По строению выделяют: **простые ферменты (белки), сложные; состоят из белковой (активного центра) и небелковой частей, необходимы для активизации ферментов.**

Различают также:

- **конститутивные ферменты (синтезируются постоянно независимо от наличия субстрата);**
- **индуцибельные ферменты (синтезируются только в присутствии субстрата).**

Набор ферментов в клетке строго индивидуален для вида. Способность микроорганизма утилизировать субстраты за счет своего набора ферментов определяет его биохимические свойства.

По месту действия выделяют:

1. **Экзоферменты** (действуют вне клетки; принимают участие в процессе распада крупных молекул, которые не могут проникнуть внутрь бактериальной клетки; характерны для грамположительных бактерий).

2. **Эндоферменты** (действуют в самой клетке, обеспечивают синтез и распад различных веществ).

В зависимости от катализируемых химических реакций все ферменты делят на шесть классов.

Оксидоредуктазы (катализируют окислительно-восстановительные реакции между двумя субстратами).

Трансферазы (осуществляют межмолекулярный перенос химических групп).

Гидролазы (осуществляют гидролитическое расщепление внутримолекулярных связей).

Лиазы (присоединяют химические группы по двум связям, а также осуществляют обратные реакции).

Изомеразы (осуществляют процессы изомеризации, обеспечивают внутреннюю конверсию с образованием различных изомеров).

Лигазы, или синтетазы (соединяют две молекулы, вследствие чего происходит расщепление пирофосфатных связей в молекуле).

По отношению к молекулярному кислороду микроорганизмы делятся на облигатных аэробов и анаэробов (факультативных, аэротолерантных и строгих или облигатных). Подавляющая часть известных микроорганизмов относится к аэробам, способным расти только в присутствии молекулярного кислорода, но некоторых угнетает его обычная концентрация в воздухе, и они могут расти лишь при незначительном его содержании в газовой фазе (до 1,0 — 5,0 %). Последних называют микроаэрофилами. Факультативные анаэробы могут расти как в присутствии, так и в отсутствие молекулярного кислорода, переключая свой метаболизм, например, с дыхания на брожение (некоторые дрожжи). Рост аэротолерантных анаэробов не угнетается из-за небольшого содержания молекулярного кислорода, однако эти микроорганизмы кислород не используют (например, молочнокислые бактерии). Строгие же анаэробы не

выдерживают даже следов молекулярного кислорода в среде, где они растут: он является для них ядом (метаногены, ацетогены, большинство сульфатредукторов, некоторые грибы, а также отдельные виды простейших).

Ход работы

1. Ознакомьтесь с питательными средами. Составьте таблицу классификации питательных сред по их составу, консистенции и назначению.
2. Внимательно рассмотрите характер роста различных бактерий на жидких, полужидких и плотных питательных средах, используя готовые демонстрационные посеvy.
3. Изучите методы посевов на жидкие и твёрдые питательные среды.
4. Сделайте посев бактерий на жидкую и плотную питательную среды.
5. Определите общее количество микроорганизмов, выросших после посева (КОЕ).
6. Изучите морфологию выделенных микроорганизмов.

3.1. Питательные среды.

Для культивирования бактерий используют питательные среды, к которым предъявляется ряд требований.

1. Питательность. Бактерии должны содержать все необходимые питательные вещества.
2. Изотоничность. Бактерии должны содержать набор солей для поддержания осмотического давления, определенную концентрацию хлорида натрия.
3. Оптимальный pH (кислотность) среды. Кислотность среды обеспечивает функционирование ферментов бактерий; для большинства бактерий составляет 7,2–7,6.
4. Оптимальный электронный потенциал, свидетельствующий о содержании в среде растворенного кислорода. Он должен быть высоким для аэробов и низким для анаэробов.
5. Прозрачность (чтобы был виден рост бактерий, особенно для жидких сред).
6. Стерильность (чтобы не было других бактерий).

Классификация питательных сред

1. По происхождению:

а) естественные (молоко, желатин, картофель и др.);

б) искусственные – среды, приготовленные из специально подготовленных природных компонентов (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта и т. п.);

в) синтетические – среды известного состава, приготовленные из химически чистых неорганических и органических соединений (солей, аминокислот, углеводов и т. д.).

2. По составу:

а) простые – мясопептонный агар, мясопептонный бульон, агар Хоттингера и др.,

б) сложные – это простые с добавлением дополнительного питательного компонента (кровяного, шоколадного агара): сахарный бульон, желчный бульон, сывороточный агар, желточно-солевой агар, среда Китта—Тароцци, среда Вильсона—Блера и др.

3. По консистенции:

а) твердые (содержат 3–5 % агар-агара),

б) полужидкие (0,15—0,7 % агар-агара),

в) жидкие (не содержат агар-агара).

4. По назначению:

1. Общего назначения – для культивирования большинства бактерий (мясопептонный агар, мясопептонный бульон, кровяной агар).

2. Специального назначения:

а) элективные – среды, на которых растут бактерии только одного вида (рода), а род других подавляется (щелочной бульон, 1 %-ная пептонная вода, желточно-солевой агар, казеиново-угольный агар и др.);

б) дифференциально-диагностические – среды, на которых рост одних видов бактерий отличается от роста других видов по тем или иным свойствам, чаще биохимическим (среда Эндо, Левина, Гиса, Плоскирева),

в) среды обогащения – среды, в которых происходит размножение и накопление бактерий-возбудителей какого-либо рода или вида, обогащение ими исследуемого материала (селенитовый бульон).

Режим стерилизации сред.

Режим стерилизации зависит от состава среды, который указан в её рецепте. Схема режима стерилизации сред приведена в **табл.2**.

Таблица 2. Режим стерилизации питательных сред.

Среды	Режим стерилизации		
	аппарат	температура, давление	время
Простые	Автоклав	120°C (1 атм)	20 мин
Сложные: с углеводами ¹ , молоком, желатином	Автоклав с незакрытой крышкой или аппарат Коха	100°C (текучий пар)	30 – 60 мин 3 дня подряд (дробная стерилизация)
белковые (сывороточные или яичные) с уплотнением	Свертыватель Коха (возможны два режима)	80 – 85 °C	1 ч 3 дня подряд
		95 °C	1 ч однократно
Белковые жидкие	Водяная баня или инактиватор	58 °C	1 ч 3 – 4 дня подряд

3.2.Определение количества клеток высевом на плотные питательные среды (чашечный метод Коха)

В основе метода лежит принцип Коха, согласно которому каждая колония является потомством одной клетки. Это позволяет на основании числа колоний, выросших после посева на плотную питательную среду определенного объема исследуемой суспензии, судить об исходном содержании в ней клеток микроорганизмов. Результаты количественного учета микроорганизмов, проведенного методом Коха, часто выражают не в числе клеток, а в условных

единицах - так называемых колониобразующих единицах (КОЕ). Определение числа микроорганизмов этим методом включает три этапа:

приготовление разведений, посев на плотную среду в чашки Петри и подсчет выросших колоний.

Методы посевов

Важным этапом бактериологического исследования является посев. В зависимости от цели исследования, характера посевного материала и среды используют разные методы посева. Все они включают обязательную цель: оградить посев от посторонних микробов. Поэтому работать следует быстро, но без резких движений, усиливающих колебания воздуха. Во время посевов нельзя разговаривать. Посевы лучше делать в боксе.

Внимание! Не забывайте выполнять правила личной безопасности при работе с заразным материалом.

Посев из пробирки в пробирку. Пробирку с посевным материалом и пробирку со средой держат слегка наклонно в левой руке между большим и указательным пальцами так, чтобы края пробирок были на одном уровне, а их основания находились поверх кисти. Обычно пробирку с посевным материалом держат ближе к себе. В правой руке, как писчее перо, держат бактериальную петлю, и стерилизуют ее, держа вертикально в пламени горелки. Мизинцем и краем ладони правой руки вынимают обе пробирки одновременно. Извлекают пробирки не рывком, а плавно – легкими винтовыми движениями. Вынув пробки, края пробирок обжигают в пламени горелки. прокаленную петлю вводят через пламя горелки в пробирку с посевным материалом, охлаждают и, набрав немного материала, осторожно переносят в пробирку со средой.

При посеве в жидкую среду посевной материал растирают на стенке пробирки над жидкостью и смывают средой.

При посеве на жидкие среды тампоном его погружают в среду и 3 – 5 с. ополаскивают в ней. При посеве на плотную среду материал втирают в ее поверхность, вращая тампон, после чего тампон обеззараживают (помещают в пробирку, в которой он был доставлен в лабораторию, и автоклавируют).

Внимание! Следите, чтобы среда не вылилась и не смочила пробку.

При посеве на скошенный агар материал обычно растирают на поверхности среды зигзагообразными движениями снизу вверх, начиная от границы конденсата.

При посеве на плотные среды, разлитые в пробирки столбиком, петлей с посевным материалом прокалывают столбик, производя так называемый посев «уколом».

После посева петлю извлекают из пробирки, края пробирок обжигают и, проведя пробирки через пламя горелки, закрывают пробирки, после сего прокалывают петлю.

Посев жидкого материала можно производить стерильными пипетками (пастеровскими и градуированными). После посева пипетки погружают в дезинфицирующую жидкость.

Посевы во флаконы, матрацы и бутылки производят примерно так, как в пробирки, только сначала набирают материал (петлей или в пипетку), а потом открывают сосуд со средой.

Сосуды с засеянной культурой надписывают и ставят в термостат.

Посев на пробирки с чашки Петри. Изучив характер роста культуры на чашке, со стороны дна отмечают восковым карандашом нужный для посева участок. Чашку с посевным материалом ставят перед собой крышкой вверх.левой рукой приоткрывают крышку и вводят под нее обожженную петлю. Остудив петлю, набирают посевной материал с отмеченного участка. Вынимают петлю, закрывают чашку и в левую руку берут пробирку со средой. Посев производят так же, как с пробирки в пробирку. После посева чашку поворачивают вверх дном.

Посев на агар в чашки Петри. Посев шпателем. Шпатель – это стеклянная или металлическая трубочка, конец которой загнут в виде треугольника. Шпатель можно сделать из пастеровской пипетки, согнув под углом ее тонкий конец, предварительно разогретый в пламени горелки.

Левой рукой слегка приоткрывают крышку, держа ее большим и указательным пальцем. Петлей, пипеткой или стеклянной палочкой наносят на поверхность среды посевной материал, после чего тщательно втирают его круговыми движениями шпателя до тех пор, пока шпатель не перестанет свободно скользить по поверхности среды, левой рукой при этом придерживают крышку и одновременно вращают чашку. По окончании посева шпатель вынимают из чашки и закрывают крышку. Стеклянный шпатель помещают в дезинфицирующий раствор, а металлический прокалывают в пламени горелки.

Посев петлей. Небольшое количество посевного материала (иногда его предварительно эмульгируют в стерильном изотоническом растворе или бульоне) втирают петлей в поверхность среды у края чашки, несколько раз проводя петлей из стороны в сторону. Затем у того места, где закончились штрихи, агар прокалывают петлей, снимая избыток посевного материала. Оставшийся на петле посевной материал зигзагообразными движениями распределяют по всей поверхности среды. По окончании посева закрывают чашку и прожигают петлю.

Посев петлей на секторы. Чашку со стороны дна расчерчивают на секторы. Посев производят зигзагообразными движениями от края чашки к центру. Необходимо следить, чтобы штрихи не заходили на соседний сектор.

Посев в толщу агара. Культуру, выращенную на жидкой среде, или эмульгированный материал вносят в сосуд с расплавленным и остуженным до 45 °С агаром, перемешивают и выливают в стерильную чашку Петри. Можно внести посевной материал в пустую чашку и залить 15 – 20 мл. остуженного до 45 °С агара. Для перемешивания содержимого чашки ее слегка покачивают и вращают. Чашки оставляют на столе до застывания среды.

Засеянные чашки подписывают со стороны дна и помещают в термостат дном вверх.

Подсчет выросших колоний.

Колонии микроорганизмов в зависимости от скорости роста подсчитывают через 2-1,5 сут инкубации. Подсчет, как правило, проводят, не открывая чашек Петри. Для удобства каждую просчитанную колонию отмечают точкой на наружной стороне дна чашки. При большом количестве колоний дно чашки Петри делят на секторы, просчитывают колонии в каждом секторе и суммируют результаты. Результаты учитывают на тех чашках Петри, на которых вырастает от 30 - 50 до 100 - 150 колоний. Если число выросших колоний оказалось меньше 10, то эти результаты для расчета количества клеток в исходном материале не используют. Количество клеток в 1 мл исследуемого субстрата вычисляют по формуле:

$$M = a : V \times 10^n$$

где M - количество клеток в 1 мл; a - среднее число колоний на чашке Петри; V — объем суспензии, взятый для посева, мл; 10^n - коэффициент разведения. Необходимо помнить, что статистическая обработка результатов возможна только при минимальной технической ошибке.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

Чистой культурой называют скопление микробов одного вида на плотной или в жидкой питательной среде.

Существует ряд методов выделения чистой культуры в зависимости от свойств изучаемого материала и цели исследования. Обычно чистые культуры получают из изолированных колоний – обособленных скоплений микробов на плотной среде. Считают, что чаще всего колония развивается из одной микробной клетки, т.е. является чистой культурой этого микроорганизма.

Этапы выделения чистой культуры:

1-й день – получение изолированных колоний. Каплю исследуемого материала петлей, пипеткой или стеклянной палочкой наносят на поверхность агара в чашке Петри. Шпателем втирают материал в поверхность среды; не прожигая и не перевертывая шпателя, производят посев на 2-й, а затем на 3-й

чашке. При таком посеве на 1-ю чашку приходится много материала и соответственно много микробов, на 2-ю меньше и на 3-ю еще меньше.

Модно получить изолированные колонии при посеве петлей. Для этого исследуемый материал эмульгируют в бульоне или изотоническом растворе натрия хлорида.

2-й день – изучают рост микробов на чашках. В 1-й чашке обычно бывает сплошной рост – выделить изолированную колонию не удастся. На поверхности агара во 2-й и 3-й чашке вырастают изолированные колонии. Их изучают невооруженным глазом, с помощью лупы, при малом увеличении микроскопа и иногда в стереоскопическом микроскопе. Нужную колонию отмечают со стороны дна чашки и пересевают на скошенный агар. Посевы ставят в термостат.

Внимание! Пересевать можно только изолированные колонии.

3-й день – изучают характер роста на скошенном агаре. Делают мазок, окрашивают его и, убедившись в том, что культура чистая, приступают к ее изучению. На этом выделение чистой культуры заканчивается. Выделенная из определенного источника и изученная культура, называется штаммом.

При выделении чистой культуры из крови (гемокультуры) ее предварительно «подращивают» в жидкой среде: 10 – 15 мл стерильно взятой крови засевают в 100 – 150 мл жидкой среды. Так поступают потому, что в крови обычно мало микробов. Соотношение засеваемой крови и питательной среды 1:10 не случайно – так достигается разведение крови (неразведенная кровь губительно действует на микроорганизмы). Колбы с посевом ставят в термостат. Через сутки (иногда через большее время в зависимости от выделяемой культуры) из содержимого колб делают высевы на чашки для получения изолированных колоний. При необходимости повторяют высевы с интервалами 2 – 3 дня.

При выделении чистой культуры из мочи, промывных вод желудка и других жидкостей их предварительно центрифугируют в асептических

условиях и засевают осадок. Дальнейшее выделение чистой культуры производят обычным способом.

Для выделения чистой культуры широко применяют элективные среды.

В ряде методов для получения чистых культур используют биологические особенности выделяемого микроба. Например, при выделении спорообразующих бактерий посеvy прогревают при 80 °С 10 мин, убивая этим вегетативные формы; при выделении возбудителя туберкулеза, устойчивого к кислотам и щелочам, с помощью этих веществ посевной материал освобождают от сопутствующей флоры; для выделения пневмококка и палочки чумы исследуемый материал вводят былым мышам – в их организме, высокочувствительном к данным возбудителям, эти микробы размножаются быстрее других.

В научно-исследовательской работе, особенно при генетических исследованиях, необходимо получать культуры заведомо из одной клетки. Такая культура называется клон. Для ее получения чаще всего пользуются микроманипулятором – прибором, снабженным инструментами (иглами, пипетками) микроскопических размеров. С помощью держателя под контролем микроскопа их вводят в препарат «висячая капля», извлекают нужную клетку (одну) и переносят ее в питательную среду.

Тест по теме: «Физиология микроорганизмов»

1. Превращение веществ в клетке, это:

- А. катаболизм
- Б. метаболизм
- В. анаболизм
- Г. нет верного варианта .

2. Мембраны клетки обладают ферментативными свойствами и помогают осуществлять транспорт веществ в клетку. Назовите фермент.

- А. анаболизм
- Б. метаболизм
- В. катаболизм
- Г. пермеазы

3.Количество звеньев метаболизма .

- А. 1
- Б. 2
- В. 3
- Г. 6

4.Какой вариант ответа не относится к метаболизму:

- А. прототрофы
- Б.анаболизм
- В.активный транспорт
- Г.катаболизм

5. По физическому свойству питательные среды могут быть :

- А.твердые
- Б.жидкими
- В.сыпучие
- Г.газообразные

6.Концентрация агара для полужидких сред составляет

- А. 0,1-0,3%
- Б. 1%
- В. 0,5 -0,7%
- Г. 0,7 %

7.Укажите, при какой температуре начинается плавиться агар :

- А. 45 °С
- Б. 60 °С
- В. 78. °С
- Г. 100 °С

8..Термофилы растут при температуре

- А. 50-65 °С.
- Б. 70 °С.
- В. 45-90 °С.
- Г. 30-45 °С.

8.Мезофиллы растут при температуре:

- А. 25-37 °С.

- Б. 30-37 °С
- В. 15-20 °С.
- Г. 50-55 °С.

9. Психрофилы растут при температуре

- А. 25-45 °С.
- Б. 10-27 °С
- В. 5-10 °С.
- Г. 2 -5 °С.

10. Функции белков (исключить один не верный ответ)

- А) строительная
- Б) защитная
- В) прогрессирующая
- Г) двигательная

11. Процесс разложения и окисления питательных веществ с выделением энергии для жизни микроорганизма :

- А) адаптация
- Б) анаболизм
- В) диссимиляция
- Г) ассимиляция

12. По источникам энергии микроорганизмы делят на :

- А) фототрофы
- Б) хемотрофы
- В) автотрофы
- Г) хемоорганизмы

13. По типам питания микроорганизмы делятся на :

- А) автотрофы
- Б) гетеротрофы
- В) паратрофы
- Г) хемотрофы

14. Виды брожения (исключить неверное):

- А) спиртовое
- Б) молочнокислое
- В) бутилденгликогелевое

Г) органическое

17. Спиртовое брожение могут проводить :

- А) клостридии
- Б) стрептококки
- В) сарцины
- Г) грибы

18. Масляно-кислое брожение проводят.:

- А) клостридии
- Б) стрептококки
- В) сарцины
- Г) грибы

19. Рост бактерий включает три фазы (убрать лишний ответ)

- А) фаза медленного роста
- Б) стационарная фаза
- В) фаза быстрого роста
- Г) фаза экспоненциального роста

20. Как называют внеклеточную форму вирусной частицы:

- А) вирус
- Б) вириона
- В) капсидом
- Г) нет верного ответа.

4. Лабораторная работа № 4. Тема: Микрофлора воздуха

Цель работы:

1. Изучить микрофлору окружающей среды, санитарно-показательные микроорганизмы.
2. Изучить влияние факторов окружающей среды на микроорганизмы.
3. Исследовать микрофлору воздуха в выбранных аудиториях седиментационным методом, определить КОЕ, морфологию микроорганизмов.

Микрофлора окружающей среды

Микроорганизмы широко распространены в природе и обнаруживаются во всех природных средах. Обнаружение и количественный учет микроорганизмов в объектах окружающей среды необходимы при санитарно-гигиенических и экологических исследованиях для моделирования природных систем и разработки основ управления природными процессами.

Микрофлора воздуха

Состав микрофлоры воздуха разнообразен и значительно изменяется в зависимости от условий. **Микроорганизмы в воздухе могут находиться только временно**, так как в нем отсутствует необходимая питательная среда. Загрязнение воздуха микробами происходит из почвы, от животных, людей и растений. В воздухе могут находиться споры бактерий, грибов, дрожжи, различные микрококки и др. Воздух верхних слоев атмосферы, а также горный и морской воздух содержит очень мало микроорганизмов. В населенных местах их значительно больше, особенно в летнее время.

Количество микроорганизмов в жилых помещениях зависит от их санитарно-гигиенического состояния, воздух считается чистым при содержании в 1 м^3 не более 1500 бактерий и 16 стрептококков. Наиболее загрязняется воздух в помещениях при скоплении людей и плохой работе вентиляции.

Воздух может служить фактором передачи респираторных вирусных заболеваний (ОРВИ), гриппа, туберкулеза, дифтерии, стафилококковой инфекции и др. Патогенные микроорганизмы выделяются больными людьми или бактерионосителями при кашле, чихании и т. п.

В воздухе цехов предприятий питания патогенные микроорганизмы должны отсутствовать, общее количество микробов в 1 м^3 не должно превышать 100-500 бактерий. Микробная обсемененность воздуха значительно снижается при хорошей работе вентиляции, наличии бактерицидных фильтров для

подаваемого воздуха, регулярной влажной уборке помещений. В холодных и кондитерских цехах рекомендуется использование бактерицидных ламп.

Воздух как среда обитания неблагоприятна для развития микроорганизмов из-за отсутствия питательных веществ. Микроорганизмы попадают в воздух с пылью, уносимой с поверхности земли. Попадая в воздух, они быстро отмирают или вновь оседают на поверхность земли и различных предметов. Чем чище воздух, тем он беднее микроорганизмами. Над снежными равнинами, над океанами и на высоких горных вершинах воздух почти не содержит микроорганизмов. Микробы, находящиеся в воздухе, в основном принадлежат к безвредным видам. Среди них встречаются возбудители различных брожений, пигментные микробы, мицелиальные и дрожжевые грибы. Воздушная микрофлора подвергается ряду неблагоприятных воздействий – высушиванию и действию солнечных лучей. В зависимости от погоды воздушная микрофлора значительно меняется. В воздухе теплых стран содержится больше микроорганизмов, чем в воздухе холодных стран. В воздухе над долинами их больше, чем над горами. Над плодородной почвой воздух богаче микробами, чем над пустыней или снежным полем. Наибольшее количество микробов содержится в воздухе летом, а наименьшее – зимой. Насыщенность воздуха микроорганизмами тем больше, чем ниже он над населенными

В пыльных помещениях количество микробов повышается до десятков тысяч в 1 куб.м воздуха. В нежилых помещениях, подвалах и погребах в воздухе содержится меньше микробов, чем в открытых местах. В 1 г комнатной или уличной пыли содержится 1 млн. микробов и среди них часто встречаются патогенные. Значительное содержание микробов в воздухе свидетельствует о низком санитарном состоянии помещения. При наличии до 500 микробных клеток в 1 куб.м воздуха жилых или производственных помещений воздух считают чистым. При исследовании бактериальной загрязненности воздуха учитывается общее количество микробов, содержащихся в определенном объеме воздуха, и качественный состав микрофлоры воздуха.

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха проводится двумя путями: седиментационным и аспирационным.

Седиментационный метод (по Коху) – оседание микробов под действием силы тяжести – является простым способом изучения микрофлоры воздуха. Он заключается в том, что чашки Петри со средой остаются открытыми на определенное время (5-10 минут на общую обсемененность и не менее 40 мин. на кокковую микрофлору), затем их закрывают и выдерживают 24 часа при комнатной температуре. Количество выросших колоний соответствует степени загрязненности воздуха: по приблизительному подсчету на площадь 100 см² в течение 5 мин. оседает столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха.

Аспирационный метод может быть осуществлен с помощью аппарата Кротова, который дает возможность исследовать определенный объем воздуха. Аппарат смонтирован в портативном ящике и состоит из узла для отбора проб воздуха, макроманометра и электромотора. Исследуемый воздух просасывается через клиновидную щель прозрачного диска из плексигласа, установленного на центробежном вентиляторе. Засасываемый воздух распределяется по поверхности питательной среды чашки Петри, помещенной на 50 вращающемся устройстве. Чашка со средой должна вращаться со скоростью 60 оборотов в минуту, что гарантирует равномерное распределение микроорганизмов на поверхности питательной среды. Скорость просасывания при отборе проб должна быть 25 л в минуту с экспозицией 4-5 мин для определения общего количества микробов (т.е. не менее 100 л воздуха) и с экспозицией 10-15 мин. для обнаружения кокков (не менее 250-300 л воздуха).

При определении общей бактериальной загрязненности воздуха посев делают на две чашки Петри с мясо-пептонным агаром. Выращивают 48 часов (24 часа в термостате и 24 часа при комнатной температуре). Затем подсчитывают количество выросших колоний и полученные данные пересчитывают на 1 куб. м исследуемого воздуха.

4.1. Санитарно – показательные микроорганизмы.

Санитарно-показательные микроорганизмы являются постоянными обитателями поверхностей и полостей человеческого или животного организма. Обнаружение и в объектах внешней среды свидетельствует о загрязнение выделениями человека или животного. Чем обильнее такое загрязнение, тем больше возможность попадания в объект патогенных микробов. Санитарно-показательными микроорганизмами могут быть только те, которые постоянно и в больших количествах содержатся в выделениях человека или животного, они должны сохранять жизнеспособность во внешней среде в течении сроков, близких к срокам выживания патогенных микробов, выделяемых теми же путями, но не размножаться интенсивно во внешней среде. Они должны также легко обнаруживаться современными и довольно простыми методами исследования. Основными санитарно-показательными микроорганизмами в отношении кишечных инфекций, указывающими на фекальное загрязнение внешней среды (вода, почва), считают бактерии группы кишечных палочек (БГКП). В качестве дополнительных показателей при оценке некоторых объектов определяют наличие фекальных стрептококков (энтерококков) и клостридий.

К БГКП относятся не только эшерехии, но и представители родов цитробактер, энтеробактер, клебсиеллы. Для них характерны следующие признаки: короткие, грамотрицательные, неспорообразующие палочки, на среде Эндо они растут в виде темно-красных колоний с металлическим блеском или без него, либо в виде розовых колоний с темным центром, сбраживают лактозу и глюкозу при 37°C в теч. 24ч с образованием кислоты и газа. Все БГКП попадают во внешнюю среду только из кишечника человека и животных. Наибольшее санитарно-показательное значение в этой группе имеет *E.coli*, присутствие которой, например, в питьевой воде, рассматривается как признак свежего хозяйственно-бытового загрязнения.

Присутствие энтерококков считают дополнительным показателем фекального загрязнения воды и других объектов. Однако их выделение требует сред более сложных при приготовлении и растут они медленнее. Энтерококки являются нормальными обитателями кишечника, но выделяются во внешнюю среду в меньших количествах, чем кишечные палочки.

К санитарно-показательным клостридиям относят группу грам+, спорообразующих анаэробных палочек, редуцирующих сульфит на сульфит-неомицинполимиксиновой среде (СПН) при инкубации в условиях 45°C в теч.12-24ч. Эта группа в основном представлена *Cl.perfringens*. Определение санитарно-показательных клостридий рекомендуют проводить в почве и воде, используемой на предприятиях пищевой промышленности, а также при выборе новых источников водоснабжения.

Санитарно-показательными микробами загрязнения воздуха закрытых помещений являются стафилококки, гемолитические стрептококки. Чем больше количество стрептококков обнаруживают в воздушной среде, тем вероятнее возможность заражения человека воздушно-капельными инфекциями. Нарастание обсемененности воздуха *Staph.aureus* и частое его обнаружение свидетельствует о санитарно-эпидемиологическом неблагополучии.

4.2.Влияние физических и химических факторов окружающей среды на рост микроорганизмов.

Среди физических факторов, определяющих рост микроорганизмов, следует прежде всего выделить температуру. Оптимальная температура для мезофильных форм составляет 25 — 40 °С. Среди обитателей глубин океанов, почв и болот тундры находят психрофилов, которые растут при более низкой температуре (оптимумы роста при 5—15 °С). С поверхности снегов Антарктики выделены водоросли, которые растут при -36 °С. Известны экстремальные термофилы, способные расти при 100— 113 °С. Споры отдельных

микроорганизмов могут выдерживать кратковременное нагревание до 160—180 °С и длительное охлаждение до -196 °С и ниже.

Некоторые виды микроорганизмов хорошо переносят гидростатическое давление до 1000 атм. Выделены облигатные барофилы, которые не способны расти при давлении ниже 500 атм. Но есть виды, в основном образующие газовые вакуоли, не выдерживающие даже незначительного превышения давления над атмосферным. Отдельные представители микроорганизмов чрезвычайно устойчивы к ионизирующей радиации и способны расти даже в воде охлаждающих контуров атомных реакторов (*Deinococcus radiodurans*, некоторые дрожжи).

Важным фактором, от которого зависит рост микроорганизмов, является осмотическое давление. В то время как большинство организмов не размножаются при концентрации соли (NaCl) в среде более 0,5 М, экстремальные галофилы нуждаются в содержании в среде от 2,5М NaCl и выше до насыщенного раствора (5,2 М).

Микроорганизмы чувствительны к кислотности окружающей среды. Экстремальные ацидофилы могут расти при pH 0,1 — 0,5, алкалофилы — при pH до 13,0, однако большинство микроорганизмов растут в средах с pH, близким 7,0.

Ход работы

1. Провести посев микроорганизмов в чашку Петри на питательную среду седиментационным методом. Продолжительность экспозиции составляет 20 минут.

2. После посева чашки Петри подписать (фамилия студента, группа, аудитория или место посева) и поставить на выращивание при комнатной температуре.

3. Подсчитать общее количество выросших колоний микроорганизмов на питательной среде в чашке Петри.

4. Провести пересчет количества колоний в 1 куб. м воздуха.

5. Сделать вывод о санитарном состоянии помещения.

5.Лабораторная работа № 5. Микрофлора почвы

Цель работы. Освоить метод посева проб почвы на питательные среды, метод определения количества микроорганизмов в почве и выделения чистых культур бактерий из проб почвы.

Материалы и оборудование. Весы, ступка, резиновые перчатки, колба со стерильной дистиллированной водой, пипетки на 10 мл и 1 мл, стерильные пробирки, колба вместимостью 250 мл, чашки Петри с МПА, средой Эшби, средой Чапека.

Микрофлора почвы

Почва — естественная среда микроорганизмов, принимающих участие в круговороте веществ в природе. Микробы из почвы попадают в воздух и воду.

В 1 г почвы находится несколько миллиардов самых разнообразных микроорганизмов: гнилостные аэробные и анаэробные бактерии, азотфиксирующие, нитрофицирующие и другие бактерии, актиномицеты, грибы, простейшие. Особенно длительно в почве находятся споры бактерий и грибов. Наибольшее количество микробов содержится на глубине 5-10 см. Почвенные микроорганизмы осуществляют процесс минерализации органических отходов с образованием гумуса, обеспечивающего плодородие почвы.

Болезнетворные микроорганизмы попадают в почву с выделениями больных людей и животных, с отбросами, с трупами крыс и других животных. Возбудители кишечных инфекций могут находиться в почве от нескольких дней до месяца, иногда дольше. Споры сибирской язвы, ботулизма, столбняка и газовой гангрены могут сохраняться в почве десятки лет. Загрязнение продуктов болезнетворными микробами из почвы представляет большую опасность заболевания людей.

Ход работы

1. Приготовьте суспензию почвы. Для этого отвесьте 10 г почвы и перенесите навеску в стерильную ступку, добавьте 2 - 3 мл стерильной воды и разотрите до пастообразного состояния.
2. Полученную пробу почвы (10 г) перенесите в стерильную колбу, содержащую 90 мл стерильной воды, размешайте в течение 5 мин и дайте отстояться 30 мин. Это первое разведение исследуемой пробы почвы.
3. Приготовьте ряд последующих 10-кратных разведений этой пробы в пробирках в зависимости от предполагаемой численности микроорганизмов в пробе. Для приготовления каждого последующего разведения используйте новую пипетку.
4. Полученные разведения в объеме 0,1 мл посейте (на каждое разведение по 2 - 3 чашки): а) на МПА для определения общего числа бактерий; б) на среду Чапека для учета и выделения актиномицетов; в) на среду Эшби для учета и выделения азотобактера.
5. Равномерно распределите каплю инокулята на поверхности агара, покачивая чашку, и оставьте на 30 мин для адсорбции при комнатной температуре.
6. Засеянные чашки Петри через 30 минут переверните вверх дном и поместите в термостат при температуре 28 - 37 °С для выращивания мезофильной микрофлоры. Количество бактерий на МПА учитывайте через 1 - 5 сут, актиномицетов и азотобактера - через 5 - 7 сут.
7. Учитывайте количество колоний следующим образом: дно чашки Петри маркером разделите на равные сектора, учтенные колонии отмечай те точками на стекле. Подсчитайте среднее число колоний на чашке и далее пересчитайте количество микроорганизмов на 1 г воздушно-сухой почвы.

6. Лабораторная работа № 6. Количественный учет бактерий в пробах воды. Определение коли - титра и коли- индекса кишечной палочки

Цель работы. Освоить методы отбора проб воды, их посева и определения бактериальной загрязненности воды.

Материалы и оборудование. Микроскоп, предметные стекла, бактериологические петли, спиртовка, стерильные чашки Петри с МПА и средой Эндо, исследуемые пробы воды, столик для окрашивания препаратов, промывалка с водой, красители для окраски по Граму, установка вакуумной фильтрации «Владисарт», мембранные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм, системы индикаторные бумажные (СИБ), для идентификации эн-теробактерий, стерильный физиологический раствор; термостат с температурой 37 °С.

Микрофлора воды

В воде количество микроорганизмов значительно выше, чем в воздухе, так как многие из них способны жить и развиваться в воде. В 1 мл (см³) воды поверхностных источников может находиться до миллиона микробов. В артезианской воде микробов очень мало.

Поверхностные воды рек, озер, водохранилищ загрязняются сточными водами населенных пунктов, промышленных предприятий и животноводческих ферм. Микробное загрязнение воды возрастает также после обильных дождей и весеннего половодья. Проточные водоемы (реки, каналы) обладают способностью к самоочищению, количество микробов ниже места загрязнения реки может существенно не изменяться, а через некоторое время чистота воды в реке восстанавливается.

Вода служит фактором передачи кишечных инфекций (дизентерии, холеры, брюшного тифа и др.), возбудители которых попадают в нее со сточными водами. Многие патогенные микроорганизмы (холерный вибрион, возбудитель туберкулеза и др.) могут сохраняться в воде до нескольких месяцев.

На предприятиях питания должна использоваться вода только питьевого качества, прошедшая очистку и обезвреживание.

Ход работы

1. Отберите пробы воды в стерильные флаконы или колбы в объеме 50 или 100 мл непосредственно перед началом занятия: а) пробу водопроводной воды; б)

пробу из открытого водоема (ручей, ключ, пруд). До начала занятия (посева) пробы можно хранить не более 3 ч при температуре не выше 4 °С.

2. Приготовьте ряд последующих 10-кратных разведений отобранных проб в пробирках, в зависимости от предполагаемой численности микроорганизмов в пробе. Для приготовления каждого последующего разведения используйте новую пипетку.

3. Полученные разведения в объеме 0,1 мл посейте (на каждое разведение по 2 - 3 чашки): а) на МПА для определения общего числа бактерий; б) на среду Эндо для учета БГКП (бактерии группы кишечной палочки или энтеробактерии).

4. В чашки Петри с МПА и средой Эндо внесите по 0,1 мл послед него и предпоследнего разведений, равномерно распределите каплю инокулята на поверхности агара, покачивая чашку, и оставьте на 30 мин для адсорбции при комнатной температуре.

5. Засеянные чашки Петри через 30 мин переверните вверх дном и поместите в термостат при температуре 28 - 37°С для выращивания мезофильной микрофлоры. Количество бактерий учитывайте через 1-2 суток.

6. Водопроводную воду исследуйте также методом мембранных фильтров, которые простерилизуйте кипячением в течение 30 мин. Фильтровальную установку «Владисарт» подготовьте к работе вместе с преподавателем.

7. Профильтруйте пробу водопроводной воды в объеме 100 мл. Стерильным пинцетом фильтр аккуратно перенесите в чашку Петри с МПА (для определения общего числа бактерий) и средой Эндо и поместите в термостат с температурой 37°С.

8. Учитывайте количество колоний следующим образом: дно чашки Петри маркером разделите на равные секторы, учтенные колонии отмечай те точками на стекле. Для определения титра подсчитайте среднее число колоний на чашке и умножьте на разведение.

9. Для подтверждения принадлежности к БГКП из колоний, выросших на среде Эндо, приготовьте фиксированные мазки, окрасьте их по Граму,

промикроскопируйте. Грамотрицательные бактерии протестируйте по биохимическим свойствам с системой индикаторной бумажной (СИБ) для идентификации энтеробактерий.

10. Подсчитайте количество колоний кишечной палочки на 1 мл воды.

11. Результаты запишите в табл. 4.

Таблица 4. Количественный учет бактерий в пробах воды

Номер пробы	Общее число бактерий в 1 мл воды	Коли-титр

7. Лабораторная работа № 7. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы.

Цель работы. Освоить метод получения накопительной культуры микроорганизмов, разрушающих целлюлозу.

Материалы и оборудование. Микроскоп, предметные стекла, покровные стекла, стерильная фильтровальная бумага, стерильные стеклянные палочки, бактериологические петли, спиртовка, пинцет, скальпель, стерильные чашки Петри, компоненты для среды Гетчинсона или готовая среда, почва.

Бактерии, разрушающие целлюлозу.

Целлюлоза - полисахарид, являющийся главным компонентом клеточных стенок высших растений и водорослей. Ее синтез по своим масштабам превосходит синтез всех остальных природных соединений, так что (наряду с крахмалом) целлюлоза - самое распространенное на Земле органическое соединение.

В то же время химическое строение целлюлозы таково, что делает ее материалом, инертным ко многим воздействиям. Целлюлоза - полимер, состоящий из цепочек молекул бета-D-глюкозы, соединенных бета-1,4-гликозидными связями. Цепочки, в свою очередь, объединены в пучки (волокна). Волокна организованы таким образом, что гидрофильные группы целлюлозных цепочек защищены от внешних воздействий. Волокна, кроме того, окружены оболочкой, в состав которой входят воск и пектин. Все это придает целлюлозным волокнам механическую прочность, делает их нерастворимыми в воде и устойчивыми к различным химическим воздействиям.

Разлагать целлюлозу в анаэробных и аэробных условиях способны эубактерии, относящиеся к разным таксономическим группам: отдельные представители рода Clostridium, ряд актиномицетов, миксобактерии, некоторые бактерии рода Pseudomonas, из коринеформных бактерий представители рода Cellulomonas, постоянные обитатели желудка жвачных животных, относящиеся к родам Ruminicoccus, Bacteroides, Butyrivibrio и др. Единственное, что объединяет эти организмы, - способность синтезировать ферменты, расщепляющие целлюлозу.

Ферментативное разложение целлюлозы осуществляется с помощью целлюлазного комплекса и состоит из нескольких этапов. Сначала эндо- бета-1,4-глюканаза разрывает гликозидные связи внутри целлюлозной цепочки, что приводит к образованию довольно крупных фрагментов со свободными концами. Затем экзо-бета-1,4-глюканаза катализирует отщепление от конца цепочки дисахарида целлобиозы. И, наконец, последняя гидролизует до глюкозы с помощью бета-глюкозидазы.

Ферменты, входящие в состав целлюлазного комплекса, могут выделяться в окружающую среду или оставаться связанными с клеточной поверхностью. В первом случае целлюлоза с помощью экзогенных глюканаз может расщепляться до целлобиозы. Во втором случае никаких внеклеточных целлюлаз и промежуточных продуктов расщепления целлюлозы в окружающей среде не обнаруживается. На поверхности бактериальной клетки найдены сферические частицы - центры целлюлолитической активности, получившие название целлюлосом, состоящие из полипептидных субъединиц (комплекс целлюлазных ферментов) и углеводных фибрилл.

Разложение целлюлозы в аэробных условиях приводит к последующему метаболизированию глюкозы в системе катаболических процессов (гликолиз переходит в ЦТК) с поступлением водорода (электронов) в дыхательную цепь и переносу их на O_2 .

Бактериям, использующим целлюлозу, принадлежит огромная роль в природе, так как именно им мы обязаны разложением клетчатки, составляющей основную массу всех синтезируемых природных соединений.

Ход работы

1. Приготовьте среду Гетчинсона следующего состава, г/л: KH_2PO_4 - 0,1; $NaCl$ - 0,1; $CaCl_2$ - 0,1; $TcCl_3$ - 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,3; $NaNO_3$ - 2,5; агар-агар - 20 г (2 %).
2. Среду разлейте в чашки Петри и на поверхность положите стерильную фильтровальную бумагу, вырезанную по размеру диаметра чашки.

3. Комочки почвы разложите на поверхность фильтра стерильной стек лянной палочкой параллельными рядами на расстоянии 1 см друг от друга.
4. Поместите чашки в термостат при 30-37 0С и инкубируйте в течение 10-14 сут.
5. После инкубации просмотрите посеы, определите образование колоний целлюлозоразлагающих бактерий, вокруг них бумага становится прозрачной, ослизняется, видны желтые, зеленые, оранжевые и коричневые пятна.
6. Подсчитайте процент колоний целлюлозоразлагающих бактерий в вашей пробе почвы (общее количество комочков почвы - 100 %, целлюлозобразующих бактерий - x %).
7. Приготовьте препарат «раздавленная капля» из зон разрушения клетчатки. Опишите и зарисуйте морфологию клеток целлюлозоразлагающих бактерий.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ на тему «Бактерии разрушающие клетчатку»

1. Выберите верное определение. Целлюлоза - это...
 - а) ... полисахарид, являющийся главным компонентом клеточных стенок высших растений и водорослей;
 - б) ... полимер, состоящий из цепочек молекул [бета-D-глюкозы](#) , соединенных бета-1,4-гликозидными связями. Цепочки, в свою очередь, объединены в пучки (волокна);
 - в) ... главная составная часть клеточных стенок растений, обуславливающая механическую прочность и эластичность растительных тканей;
 - г) ... белый под микроскопом зернистый порошок, в горячей воде набухает, в воде и добавлении кислоты (H_2SO_4 , разбавленная) как катализатора, распадается до глюкозы.
2. Разлагать целлюлозу в анаэробных и аэробных условиях способны:
 - а) Эубактерии;
 - б) Прокариоты;
 - в) Протобактерии;

г) Глюкоза.

3.Общее свойство отдельных представителей рода Clostridium, ряда актиномицетов, миксобактерий, некоторых бактерий р.Pseudomonas, из коринеформных бактерий представителей Cellulomonas:

- а) Способность быстро усваиваться организмом;
- б) Способность синтезировать ферменты, расщепляющие целлюлозу;
- в) Способность загущать многие пищевые продукты;
- г) Они не дают реакции серебряного зеркала.

4.Ферментативное разложение целлюлозы осуществляется с помощью целлюлазного комплекса и состоит из нескольких этапов. Какого этапа из перечисленных не существует?

- а) Эндо-бета-1,4-глюканаза разрывает гликозидные связи внутри целлюлозной цепочки, что приводит к образованию довольно крупных фрагментов со свободными концами;
- б) Крупные фрагменты со свободными концами под влиянием сильных окислителей распадаются на дисахариды;
- в) Экзо-бета-1,4-глюканаза катализирует отщепление от конца цепочки дисахарида целлобиозы ;
- г) последняя гидролизуется до глюкозы с помощью бета-глюкозидазы.

5.Что происходит с глюкозой в аэробных условиях?

- а) Она окисляется микроорганизмами до оксикислот, а затем до конечных продуктов – углекислого газа и воды;
- б) Под влиянием сильных окислителей происходит распад макромолекулы;
- в) Она набухает;
- г) Происходит процесс осахаривания.

6. Процесс, протекающий с глюкозой в аэробных условиях, сопровождается:

- а) Ничем не сопровождается;
- б) Выделением большого количества энергии;
- в) Потреблением большого количества энергии;
- г) Взрывом.

7. Что происходит с глюкозой в анаэробных условиях?

- а) Сбраживание по типу маслянокислого брожения;
- б) Она окисляется микроорганизмами до оксикислот, а затем до конечных продуктов – углекислого газа и воды;
- в) Происходит процесс осахаривания;
- г) Образование глюкозной патоки.

8. В анаэробных условиях в разложении целлюлозы ведущая роль принадлежит микроорганизмам из рода:

- а) *Pseudomonas*;
- б) *Clostridium*;
- в) *Ruminococcus*;
- г) *Cytophaga*.

9. В аэробных условиях в разложении целлюлозы ведущая роль принадлежит грибам из рода:

- а) *Pseudomonas*;
- б) *Cytophaga*;
- в) *Trichoderma*;
- г) *Azotomonas*.

10. Все клостридии являются...

- а) Анаэробами;
- б) Аэробами;
- в) Оба варианта приемлемы для них.

11. Целлюлозоразрушающих бактерий относят к...

- а) Фототрофам;

- б) Хемотрофам;
- в) Гетеротрофам;
- г) Хемиотрофам.

12. Наиболее благоприятная температура для целлюлозоразрушающих бактерий?

- а) 4-100°C;
- б) 5-220°C;
- в) 100-220°C;
- г) -25- 5°C.

13. В болотах с богатым минеральным питанием численность целлюлозоразрушающих бактерий...

- а) Не изменяется;
- б) Увеличивается;
- в) Уменьшается.

14. Более активно разрушают целлюлозу:

- а) Термофильные бактерии
- б) Мезофиллы
- в) Одинаково быстро
- г) Одинаково медленно.

15. Как иначе называют целлюлозоразрушающие бактерии?

- а) Хемосинтезирующие бактерии;
- б) Цианобактерии;
- в) Клеточные бактерии;
- г) Клетчатковые бактерии.

16. В каком органе обитают целлюлозоразрушающие бактерии у жвачных животных?

- а) Почки;
- б) Легкие;

- в) Кишечник;
- г) Ротовая полость.

8. ПРОВЕРОЧНЫЕ ТЕСТЫ

8.1. Тестовые задания по теме «Микробиологические исследования»

1. Какую популяцию микроорганизмов называют чистой?
 - а) состоящую из микроорганизмов одинаковой морфологии;
 - б) состоящую из микроорганизмов одного вида;
 - в) состоящую из микроорганизмов с одинаковыми биохимическими свойствами;
 - г) состоящую из микроорганизмов с одинаковыми культуральными свойствами.
2. Какую популяцию микроорганизмов называют смешанной?
 - а) состоящую из микроорганизмов разной морфологии;
 - б) состоящую из микроорганизмов с разными биохимическими свойствами;
 - в) состоящую из микроорганизмов разных видов;
 - г) состоящую из микроорганизмов по-разному окрашивающихся по Граму.
3. Что такое инокуляция микроорганизмами?
 - а) внесение микроорганизмов в нестерильную среду;
 - б) внесение микроорганизмов в жидкую питательную среду;
 - в) внесение микроорганизмов в стерильную среду;
 - г) внесение микроорганизмов в плотную питательную среду.
4. Что такое стерилизация?
 - а) очищение;
 - б) обеспложивание;
 - в) обеззараживание;
 - г) дезинфекция.
5. Что означает термин «дезинфекция»?
 - а) очищение;
 - б) обеспложивание;
 - в) обеззараживание;

г) стерилизация.

6. Автоклавирование - это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) стерилизация паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) стерилизация газообразными средствами.

7. Тиндализация - это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) дробная стерилизация текучим паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) стерилизация газообразными средствами.

8. Питательные среды, содержащие в своем составе углеводы стерилизуют:

- а) кипячением;
- б) тиндализацией;
- в) автоклавированием;
- г) пастеризацией.

9. Пастеризация-это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) дробная стерилизация текучим паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) однократный прогрев при температуре ниже 100 0С.

10. Стерилизацию фильтрованием применяют:

- а) для питательных сред, которые содержат жиры;
- б) питательных сред, которые содержат легко разрушающиеся компоненты;
- в) питательных сред, которые содержат белки;
- г) питательных сред, которые содержат неорганические соединения.

11. Все бактериальные клетки имеют основные структуры и дополни- тельные.

Какая из перечисленных ниже структур является основной?

- а) капсула;
- б) жгутики;

в) цитоплазма;

г) пили.

12. Все бактерии делятся на две группы по способности окрашиваться по Граму: грамположительные и грамотрицательные. В какой цвет окрашиваются грамотрицательные бактерии?

а) розово-красный;

б) зеленый;

в) сине-фиолетовый;

г) коричнево-желтый.

13. В составе клеточной стенки содержится определенное количество полисахаридов, липидов, белков и пептидогликана, количество которых различно у грамположительных и грамотрицательных бактерий. Какое количество пептидогликана содержится в клеточной стенке грамположительных бактерий, %?

а) 5-10;

б) 10-20;

в) 40 - 90;

г) 10-30.

14. Бациллами называют бактерии, которые:

а) не образуют спор;

б) образуют споры;

в) образуют споры и размер их не превышает диаметра клетки;

г) образуют споры и размер их превышает диаметр клетки.

15. По форме бактерии бывают шаровидные, палочковидные, извитые и ветвящиеся. Бактерии, которые имеют извитую форму, называются:

а) кокками;

б) спирохетами;

в) актиномицетами;

г) палочками.

16. Жизнедеятельность бактерий, протекающая в присутствии свободного кислорода, называется:

- а) брожением;
- б) окислением;
- в) аэриозом;
- г) восстановлением.

17. Рост периодической культуры бактерий, выращиваемой в жидкой питательной среде, подразделяют на несколько фаз или периодов. Период между посевом бактерий и началом размножения называется:

- а) фазой экспоненциального или логарифмического роста;
- б) фазой гибели;
- в) лаг-фазой;
- г) фазой стационарного роста.

18. Питательные среды, в состав которых входят лишь соединения определенного химического состава, взятые в точно указанных количествах, называются:

- а) натуральными;
- б) дифференциально-диагностическими;
- в) полу синтетическими;
- г) синтетическими.

19. Питательные среды, которые дают возможность быстро отличить одни виды бактерий от других, называются:

- а) натуральными;
- б) дифференциально-диагностическими;
- в) полу синтетическими;
- г) синтетическими

20. Микроорганизмы участвуют в минерализации органических соединений растительного и животного происхождения до неорганических. В круговороте углерода принимают участие:

- а) сальмонеллы;
- б) цианобактерии;
- в) кишечные палочки;

г) актиномицеты.

21. В естественных условиях бактерии развиваются при определенных диапазонах температур. Бактерии называют мезофилами, если они растут при температуре, °С:

- а) от 10 до 47;
- б) от 40 и выше;
- в) от 37 до 45;
- г) от -50 до 10

8.2. Тестовые задания. Темы: «Морфология и физиология микроорганизмов»

Выберите один или несколько вариантов правильных ответов:

Задание 1

Сущность открытия Д.И. Ивановского:

1. создание первого микроскопа
2. открытие вирусов
3. открытие явления фагоцитоза
4. получение антирабической вакцины
5. открытие явления трансформации

Задание 2

С именем Луи Пастера связаны следующие научные открытия:

- а) разработка метода аттенуации микроорганизмов;
- б) открытие явления фагоцитоза;
- в) создание антирабической вакцины;
- г) открытие и изучение процессов брожения у микроорганизмов;
- д) введение в практику микробиологии метода выделения чистых культур бактерий на плотных питательных средах.

Задание 3

Световая микроскопия включает в себя следующие разновидности: а) фазово-контрастную микроскопию; б) электронную микроскопию; в) темнопольную микроскопию; г) микроскопию в затемненном поле; д) иммерсионную микроскопию. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г, д
2. а, б, г, д
3. б, в, г, д
4. б, в, г
5. в, г, д

Задание 4

Темнопольная микроскопия применяется для изучения:

1. кишечной палочки
2. риккетсий
3. стафилококка
4. хламидий
5. бледной трепонемы

Задание 5

Для какого типа микроскопической техники готовят нативные неокрашенные препараты:

1. для световой микроскопии
2. для темнопольной микроскопии.
3. для люминесцентной микроскопии
4. для фазово-контрастной микроскопии
5. для электронной микроскопии
6. для поляризационной микроскопии

Задание 6

Структурными компонентами, характерными только для прокариотических клеток, являются:

1. обособленное ядро
2. нуклеоид
3. мезосомы
4. рибосомы
5. клеточная стенка, содержащая пептидогликан

Задание 7

К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относят: а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты.

Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в
2. б, в, г, д
3. в, г, д
4. а, в, г, д
5. б, г, д

Задание 8

Какие структуры обязательны для обычных бактериальных клеток:

1. жгутики
2. капсула
3. микроворсинки (фимбрии)
4. клеточная стенка
5. ЦПМ
6. мезосомы
7. генофор (нуклеоид)

8. рибосомы

Задание 9

Какие структуры обязательны для L-форм бактерий:

1. капсула
2. ЦПМ
3. цитоплазма
4. генофор (нуклеоид)
5. клеточная стенка
6. волютиновые зёрна

Задание 10

Какие морфологические структуры бактерий и особенности их строения обуславливают положительную или отрицательную окраску по Граму:

1. клеточная стенка
2. ЦПМ
3. цитоплазма
4. генофор (нуклеоид)
5. капсула

Задание 11

Для структуры клеточной стенки бактерий характерны все нижеуказанные свойства, кроме:

1. включает сложный полимер пептидогликан
2. строение обуславливает способность воспринимать окраску по Граму
3. представляет уникальную гибкую и пластичную структуру
4. содержит D-изомеры аминокислот
5. клеточная стенка грамотрицательных бактерий более чувствительна к действию лизоцима, чем грамположительных бактерий

Задание 12

Какие компоненты образуют клеточную стенку грамотрицательных бактерий:

1. пептидогликан
2. липиды
3. тейхоевые кислоты
4. белок А
5. ЛПС
- 6.

Задание 13

Укажите локализацию наследственной информации в бактериальной клетке:

1. ЦПМ
2. генофор (нуклеоид)
3. митохондрии

4. мезосомы
5. плазмиды

Задание 14

Укажите свойства плазмид:

1. продуцируют различные БАВ
2. несут определённую генетическую информацию
3. постоянно присутствуют в бактериальной клетке
4. являются фактором патогенности
5. способны встраиваться в генетический аппарат бактериальной клетки

Задание 15

Какие структуры бактерий определяют способность прикрепляться к поверхности клеток:

1. капсулы
2. жгутики
3. микроворсинки (пили)
4. мезосомы
5. пермеазы

Задание 16

Какие функции выполняют запасные гранулы у бактерий:

1. депо метаболитов
2. депо воды
3. депо питательных веществ
4. депо ферментов
5. депо экзотоксинов

Задание 17

Спорообразование является механизмом:

1. биосинтеза белка
2. размножения бактерий
3. защиты от фагоцитоза
4. сохранения вида
5. прикрепления бактерий

Задание 18

К спорообразующим бактериям относят

1. стрептококки
2. клостридии
3. нейссерии
4. сальмонеллы
5. коринебактерии
6. бациллы

Задание 19

Форма бактерий зависит от генетически запрограммированного строения:

1. тейхоевых кислот
2. липополисахаридов
3. фосфолипидов
4. пептидогликана
5. белка флагеллина

Задание 20

К грамотрицательным относятся: а) энтеробактерии; б) клостридии; в) псевдомонады; г) бактероиды; д) нейссерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г, д
2. а, б, в, г
3. б, в, г, д
4. в, г, д
5. б, г, д

Задание 21

Стафилококки – это грамположительные кокки, формирующие:

1. цепочки
2. группы в виде «виноградной грозди»
3. группы в виде объемных пакетов, кубиков
4. группы их четырех кокков
5. группы из двух кокков

Задание 22

К кокковым формам микроорганизмов относятся: а) *Neisseria meningitidis*; б) *Klebsiella pneumoniae*; в) *Streptococcus pneumoniae*; г) *Bacteroides fragilis*; д) *Staphylococcus aureus*. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в
2. а, в, д
3. б, в, д
4. б, г, д
5. в, г, д

Задание 23

Риккетсии отличаются от большинства бактерий:

1. отсутствием клеточной стенки
2. отсутствием мембраны, окружающей нуклеоид

3. наличием мезосом
4. способностью размножаться только в живых клетках
5. отсутствием ядра

Задание 24

Микоплазмы отличаются от большинства бактерий:

1. отсутствием клеточной стенки
2. отсутствием мембраны, окружающей нуклеоид
3. наличием мезосом
4. способностью размножаться только в живых клетках
5. отсутствием ядра

Задание 25

Бациллы – это:

1. грамотрицательные веретенообразные палочки
2. грамположительные спорообразующие кокки
3. грамположительные спорообразующие палочки
4. грамотрицательные извитые формы
5. грамположительные аспорогенные палочки

Задание 26

Клостридии – это:

1. кокки, образующие споры
2. палочки, не образующие спор
3. аэробные палочки, образующие споры
4. анаэробные палочки, образующие споры
5. извитые формы

Задание 27

К бактериям, образующим эндоспоры, относятся: а) бациллы; б) бифидобактерии; в) клостридии; г) стафилококки; д) лактобактерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. г, д
2. б, в
3. а, в
4. б, г
5. а, б

Задание 28

К облигатным анаэробам относятся: а) коринебактерии; б) бациллы; в) бактериоиды; г) клостридии; д) бифидобактерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в
2. в, г, д

3. б, г, д
4. а, в, д
5. б, в, д

Задание 29

Какой из факторов влияет на рост бактерий:

1. давление кислорода
2. содержание в окружающей среде неорганических ионов
3. парциальное давление двуокиси углерода
4. содержание в окружающей среде органических соединений
5. наличие ростовых факторов
6. все перечисленные

Задание 30

По источникам углерода для питания бактерии подразделяют на:

1. фототрофы
2. аутотрофы
3. гетеротрофы
4. хемотрофы
5. ауксотрофы

Задание 31

По источникам энергии для клетки бактерии подразделяются на:

1. аутотрофы
2. фототрофы
3. хемотрофы
4. гетеротрофы
5. ауксотрофы

Задание 32

Колония микроорганизмов – это:

1. видимое скопление особей нескольких видов микроорганизмов
2. 1 микробная клетка
3. видимое скопление особей одного вида микроорганизмов
4. смесь неоднородных микроорганизмов, выделенных из естественных субстратов

Задание 33

Какие правила взятия материала обеспечивают адекватность результатов бактериологического исследования:

1. материал забирают из очагов поражения и прилежащих тканей
2. материал следует забирать до начала антимикробной терапии
3. материал следует немедленно направлять в лабораторию

4. взятие материала проводят многократно на фоне антимикробной терапии
5. материал забирают в ограниченном количестве для предотвращения травматизации очага поражения

Задание 34

Какие среды наиболее часто применяют для выделения неприхотливых бактерий:

1. КА (кровяной агар)
2. среда Эндо
3. среда Плоскирева
4. среда Борде-Жангу
5. КУА
6. МПА

Задание 35

Основные цели применения дифференциально-диагностических сред:

1. изучение биохимической активности микробов
2. изучение культуральных свойств микробов
3. определения чувствительности к антибиотикам
4. дифференциация различных видов микробов
5. транспортировка материала в лабораторию

Задание 36

Для чего применяют элективные (селективные) питательные среды:

1. для предупреждения отмирания патогенных бактерий и подавления роста сапрофитов
2. для накопления определённой группы бактерий
3. для первичного посева материала или для пересева с консервирующих сред или сред обогащения
4. для изучения и идентификации отдельных типов, видов и групп бактерий
5. для изучения биохимических свойств бактерий
6. для изучения патогенных свойств бактерий

Задание 37

Для культивирования анаэробов без анаэролата используется среда:

1. кровяной агар
2. желточно-солевой агар
3. Эндо
4. тиогликолевая
5. Клауберга

Задание 38

Наличие ферментов бактерий выявляют по разложению:

1. углеводов
2. минеральных солей
3. индикатора
4. агар-агара
5. пептона

Задание 39

Бактериологический метод диагностики применяется для:

1. выделения и идентификации вирусов – возбудителей заболеваний
2. выделения антигена в исследуемом материале
3. выделения и идентификации бактерий – возбудителей заболеваний
4. обнаружения антител в сыворотке больного

8.3. Тестовые задания по теме : Генетика микроорганизмов.

1. Генетика это:

- a) Свойство живых организмов передавать в следующие поколения признаки характерные для данного вида
- b) Свойство живых организмов существовать в пределах вида в разных вариантах
- c) Наука о наследственности и изменчивости живых организмов
- d) Внешние признаки, контролируемые генами.

2. Наименьший участок молекулы ДНК, отвечающий за синтез строго определенного белка это :

- a) Ген
- b) РНК
- c) Нуклеотид
- d) Плазмид

3. Как называется генетический материал бактерий?

- a) Ген
- b) Нуклеоид
- c) Плазмид
- d) Ядро

4. Выберите лишний ответ: Функциональными единицами генома бактерий, кроме хромосомных генов являются...

- a) Транспозоны
- b) IS-последовательность
- c) Плазмиды
- d) Нуклеотиды

5. Короткие фрагменты ДНК, не несущие структурных генов, отвечающие за транспозицию называются:
- a) Транспозоны
 - b) IS-последовательность
 - c) Плазмиды
 - d) Нуклеотиды
6. Функциональная единица генома бактерий, содержащая структурные гены контролирующие синтез определенного белка это –
- a) Транспозоны
 - b) IS-последовательность
 - c) Плазмиды
 - d) Нуклеотиды
7. Внехромосомные ДНК, представляющие собой кольцевую двунитевую молекулу ДНК, гены которой кодируют дополнительные свойства, придавая селективные преимущества клетке.
- a) Транспозоны
 - b) IS-последовательность
 - c) Плазмиды
 - d) Нуклеотиды
8. Самая распространенная форма изменчивости, возникающая при длительном приспособлении организмов к условиям внешней среды.
- a) Адаптация
 - b) Фенотипическая изменчивость
 - c) Мутация
 - d) Трансформация
9. Форма наследственной изменчивости организмов, характеризующаяся внезапным появлением несвойственных данному виду микробов новых свойств.
- a) Трансдукция
 - b) Трансформация
 - c) Конъюгация
 - d) Мутация
10. Изменение генотипа, сохраняющееся в ряду поколений и сопровождающееся изменением фенотипа, носит название
- a) Фенотипическая изменчивость
 - b) Адаптация
 - c) Мутация
 - d) Наследственность

11. Мутации, которые приводят к появлению в полипептиде иной аминокислоты, называются:
- Молчащие мутации
 - Миссенс-мутации
 - Нонсенс-мутации
 - Химический мутагенез
12. Антисмысловые мутации, приводят к образованию кодонов-терминаторов, вызывающих преждевременное окончание синтеза полипептидной цепи, называются
- Молчащие мутации
 - Миссенс-мутации
 - Нонсенс-мутации
 - Химический мутагенез
13. Химические вещества значительно повышают частоту мутирования от одной мутантной клетки до 10^3 - 10^4 клеток.
- Мутагены
 - Рекомбинации
 - Транспозоны
 - Плазмиды
14. Как называется обмен генетическим материалом между 2 особями с появлением особей с измененным генотипом?
- Рекомбинация
 - Трансдукция
 - Мутация
 - Конъюгация
15. Как называется обмен генетической информацией при непосредственном контакте донора и реципиента?
- Конъюгация
 - Трансформация
 - Трансдукция
 - Рекомбинации
16. Передача генетической информацией в виде изолированных фрагментов ДНК при нахождении реципиентной клетки в среде содержащей ДНК донора. Носит название:
- Трансдукция
 - Трансформация
 - Конъюгация

d) Рекомбинации

17. Перенос генов из одной бактериальной клетки в другую при помощи бактериофага называется:

- a) Рекомбинация
- b) Конъюгация
- c) Трансформация
- d) Трансдукция

18. Что такое бактериофаг?

- a) Вирус, избирательно поражающий бактериальные клетки.
- b) Вирус, служащий для переноса генетической информации из одной бактериальной клетки в другую.
- c) Вирусы, контролирующие численность микробных популяций.
- d) Все ответы верны.

8.4. Тестовые задания по теме: Биотехнология

1. Что такое биоремедиация?

- a) Искусственное использование микроскопических почвенных обитателей для биологической утилизации органических отходов.
- b) Конверсия сельскохозяйственных отходов на получение биогаза.
- c) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и пр?
- d) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы

2. Что такое биотехнология?

- a) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии.
- b) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- c) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- d) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

3. Что такое биоинженерия?

- a) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.
- b) Дисциплина, направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- c) Раздел медицины, изучающий с теоретических позиций организм человека, его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния, методы их диагностики, коррекции и лечения.
- d) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

4. Что такое биомедицина?

- a) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.
- b) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- c) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- d) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

5. Дайте определение термину « бионика».

- a) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.
- b) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.

- c) Раздел медицины, изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
 - d) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.
6. Совокупность методов и подходов, включающие математические, методы компьютерного анализа в сравнительной геномике, разработка алгоритмов и программ для предсказания пространственной структуры белков, это:
- a) Биоматематика
 - b) Биотехнология
 - c) Биоинформатика
 - d) Бионика
7. Комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием биологических объектов, растений, грибов, насекомых, червей и др.:
- a) Биоинженерия
 - b) Биомедицина
 - c) Биоремедиация
 - d) Бионика
8. Совокупность приемов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделение генов из клеток или организмов, осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы это
- a) Биоинженерия
 - b) Генная инженерия
 - c) Экологическая биотехнология
 - d) Биомедицина

8.4. Тестовые задания по темам: «Экология микроорганизмов. Влияние на микроорганизмы факторов окружающей среды»

Выберите один или несколько вариантов правильных ответов:

Задание 1

Какой из перечисленных ниже способов сосуществования микроорганизмов взаимовыгоден:

1. Комменсализм
2. Мутуализм
3. Эндосимбиоз
4. Эктосимбиоз
5. Антагонистический симбиоз

Задание 2

Укажите основные характеристики микроорганизмов, относящихся к нормальной микрофлоре человека:

1. Доминируют в исследуемых образцах
2. Представлены сапрофитическими видами
3. Представлены патогенными видами с пониженной вирулентностью
4. Представлены условно-патогенными микроорганизмами
5. Микроорганизмы более или менее часто выделяют из организма здорового человека
6. Микроорганизмы сравнительно редко выделяют из организма здорового человека.

Задание 3

Укажите характерные особенности заселения бактериями организма человека:

1. Колонизируют все органы
2. Колонизируют отдельные области
3. Состав микробных сообществ одинаков в каждом отдельном органе
4. Состав микробных сообществ в каждом отдельном органе различен
5. Различия в составе микробных сообществ индивидуальны
6. Состав микробных сообществ остаётся стабильным на протяжении всей жизни

Задание 4

Микрофлора разных отделов пищеварительного тракта:

1. Одинакова
2. Качественный и количественный состав неодинаков
3. Наиболее колонизирован тонкий кишечник
4. Наиболее колонизирован толстый кишечник

Задание 5

Укажите микроорганизмы, доминирующие в дистальных отделах кишечника человека:

1. Виды *Bacteroides*
2. Виды *Clostridium*
3. Виды *Streptococcus*
4. Виды *Lactobacillus*
5. Виды *Enterobacter*
6. Виды *Candida*

Задание 6

Представителями нормальной микрофлоры влагалища являются: а) **лактобактерии**; б) бифидобактерии; в) стрептококки; г) клостридии; д) **бактероиды**. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в, д
2. а, в, г, д
3. б, в, г, д
4. б, г, д
5. а, г, д

Задание 7

Стерильные ткани и органы здорового человека:

1. Желудочно-кишечный тракт
2. Кровь
3. Лимфа
4. Кожа
5. Почки и мочеточники
6. Верхние дыхательные пути

Задание 8

Какие бактерии, входящие в состав нормальной микробной флоры, способны вызвать заболевания:

1. Патогенные виды
2. Сапрофиты
3. Условно-патогенные
4. Любые
5. Термофилы
6. Никакие

Задание 9

Дисбактериоз:

1. изменение качественного состава нормальной микрофлоры
2. изменение количественного соотношения микроорганизмов
3. не оказывает влияния на резистентность организма
4. развивается при нерациональной антибиотикотерапии

Задание 10

Последствия дисбактериоза:

1. ослабление иммунологической резистентности организма
2. возрастание иммунологической резистентности организма
3. нарушение ферментативной функции микрофлоры
4. снижение числа антибиотикорезистентных бактерий

Задание 11

В состав биотерапевтических препаратов, применяемых для коррекции микрофлоры кишечника, входят: а) бифидобактерии; б) лактобактерии; в) стафилококки; г) сальмонеллы; д) эшерихии. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в
2. б, г, д
3. б, в, г
4. а, б, д
5. в, г, д

Задание 12

Санитарно-бактериологическое исследование смывов с поверхности кожи проводят:

1. На наличие кишечной палочки
2. На наличие протей
3. Посевом на среду Эндо
4. Посевом на среду Сабуро

Задание 13

Санитарный надзор предметов окружающей среды осуществляют:

1. Взятием смывов с рук персонала
2. Взятием смывов с рабочих поверхностей
3. Взятием соскобов с рабочих поверхностей

Задание 14

Загрязнение воды оценивают по:

1. ОМЧ
2. Коли-титру
3. Наличию различных видов условно-патогенных и патогенных бактерий
4. Индексу бактерий группы кишечной палочки
5. Перфрингенс-титру

Задание 16

Микробное число воздуха определяют:

1. по методу Коха (седиментация)
2. на среде Эндо
3. дозированным посевом на МПА в аппарате Кротова
4. при посеве на желточно-солевой агар
5. методом мембранных фильтров

Задание 17

Санитарно-показательным микробом для оценки воздуха в операционных является:

1. золотистый стафилококк
2. менингококк
3. протей
4. кишечная палочка
5. дифтерийная палочка

Задание 18

Под термином «стерилизация» понимают:

1. освобождение объекта только от вегетативных форм
2. освобождение только от аэробных микробов
3. освобождение от спор и вегетативных форм
4. уничтожение только анаэробных форм бактерий
5. уничтожение только патогенных микробов

Задание 19

Под термином «дезинфекция» понимают:

1. освобождение объекта только от вегетативных форм
2. освобождение только от аэробных микробов
3. освобождение от спор и вегетативных форм
4. уничтожение только анаэробных форм бактерий
5. уничтожение только патогенных микробов

Задание 20

Пастеризация - это:

1. частичное удаление микроорганизмов
2. полное удаление микроорганизмов
3. подавление размножения микробов

Задание 21

К методам «холодной» стерилизации относятся: а) стерилизация текучим паром; б) стерилизация УФ-излучением; в) стерилизация при помощи бактериальных фильтров; г) стерилизация паром под давлением; д) сухожаровая стерилизация. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б
2. а, г
3. а, д
4. б, в
5. б, д

Задание 23

Укажите способы полной стерилизации материалов, используемых в микробиологических исследованиях

1. обработка влажным паром
2. фильтрация
3. облучение
4. пастеризация
5. прокаливание
6. обработка антисептиками

Задание 24

Какие способы стерилизации используются в отношении убитых вакцин:

1. фильтрование
2. ультразвук
3. паровая стерилизация
4. γ -излучение
5. плазменная стерилизация

8.ПРОВЕРОЧНЫЕ ТЕСТЫ

1. Какую популяцию микроорганизмов называют чистой?

- а) состоящую из микроорганизмов одинаковой морфологии;
- б) состоящую из микроорганизмов одного вида;
- в) состоящую из микроорганизмов с одинаковыми биохимическими свойствами;
- г) состоящую из микроорганизмов с одинаковыми культуральными свойствами.

2. Какую популяцию микроорганизмов называют смешанной?

- а) состоящую из микроорганизмов разной морфологии;
- б) состоящую из микроорганизмов с разными биохимическими свойствами;
- в) состоящую из микроорганизмов разных видов;
- г) состоящую из микроорганизмов по-разному окрашивающихся по Граму.

3. Что такое инокуляция микроорганизмов?

- а) внесение микроорганизмов в нестерильную среду;
- б) внесение микроорганизмов в жидкую питательную среду;
- в) внесение микроорганизмов в стерильную среду;
- г) внесение микроорганизмов в плотную питательную среду.

4. Что такое стерилизация?

- а) очищение;
- б) обеспложивание;
- в) обеззараживание;
- г) дезинфекция.

5. Что означает термин «дезинфекция»?

- а) очищение;
- б) обеспложивание;
- в) обеззараживание;
- г) стерилизация.

6. Автоклавирование - это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) стерилизация паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) стерилизация газообразными средствами.

7. Тиндализация - это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) дробная стерилизация текучим паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) стерилизация газообразными средствами.

8. Питательные среды, содержащие в своем составе углеводы стерилизуют:

- а) кипячением;
- б) тиндализацией;
- в) автоклавированием;
- г) пастеризацией.

9. Пастеризация-это:

- а) стерилизация кипячением;
- б) дробная стерилизация текучим паром;
- в) стерилизация насыщенным паром под давлением;
- г) однократный прогрев при температуре ниже 100 0С.

10. Стерилизацию фильтрованием применяют:

- а) для питательных сред, которые содержат жиры;
- б) питательных сред, которые содержат легко разрушающиеся компоненты;
- в) питательных сред, которые содержат белки;
- г) питательных сред, которые содержат неорганические соединения.

11. Все бактериальные клетки имеют основные структуры и дополнительные.

Какая из перечисленных ниже структур является основной?

- а) капсула;
- б) жгутики;
- в) цитоплазма;
- г) пили.

12. Все бактерии делятся на две группы по способности окрашиваться по Граму: грамположительные и грамотрицательные. В какой цвет окрашиваются грамотрицательные бактерии?

- а) розово-красный;
- б) зеленый;
- в) сине-фиолетовый;
- г) коричнево-желтый.

13. В составе клеточной стенки содержится определенное количество полисахаридов, липидов, белков и пептидогликана, количество которого различно у грамположительных и грамотрицательных бактерий. Какое количество

пептидогликана содержится в клеточной стенке грамположительных бактерий, %?

- а) 5-10;
- б) 10-20;
- в) 40 - 90;
- г) 10-30.

14. Бациллами называют бактерии, которые:

- а) не образуют спор;
- б) образуют споры;
- в) образуют споры и размер их не превышает диаметра клетки;
- г) образуют споры и размер их превышает диаметр клетки.

15. По форме бактерии бывают шаровидные, палочковидные, извитые и ветвящиеся. Бактерии, которые имеют извитую форму, называются:

- а) кокками;
- б) спирохетами;
- в) актиномицетами;
- г) палочками.

16. Жизнедеятельность бактерий, протекающая в присутствии свободного кислорода, называется:

- а) брожением;
- б) окислением;
- в) аэробнозом;
- г) восстановлением.

17. Рост периодической культуры бактерий, выращиваемой в жидкой питательной среде, подразделяют на несколько фаз или периодов. Период между посевом бактерий и началом размножения называется:

- а) фазой экспоненциального, или логарифмического, роста;
- б) фазой гибели;
- в) лаг-фазой;
- г) фазой стационарного роста.

18. Питательные среды, в состав которых входят лишь соединения определенного химического состава, взятые в точно указанных количествах, называются:

- а) натуральными;
- б) дифференциально-диагностическими;
- в) полу синтетическими;
- г) синтетическими.

19. Питательные среды, которые дают возможность быстро отличить одни виды бактерий от других, называются:

- а) натуральными;
- б) дифференциально-диагностическими;
- в) полу синтетическими;
- г) синтетическими

20. Микроорганизмы участвуют в минерализации органических соединений растительного и животного происхождения до неорганических. В круговороте углерода принимают участие:

- а) сальмонеллы;
- б) цианобактерии;
- в) кишечные палочки;
- г) актиномицеты.

21. В естественных условиях бактерии развиваются при определенных диапазонах температур. Бактерии называют мезофилами, если они растут при температуре, °С:

- а) от 10 до 47;
- б) от 40 и выше;
- в) от 37 до 45;
- г) от -50 до 10

Тестовые задания
Темы: «Морфология и физиология микроорганизмов»

Выберите один или несколько вариантов правильных ответов:

Задание 1

Сущность открытия Д.И. Ивановского:

6. создание первого микроскопа
7. открытие вирусов
8. открытие явления фагоцитоза
9. получение антирабической вакцины
10. открытие явления трансформации

Задание 2

С именем Луи Пастера связаны следующие научные открытия: а) разработка метода аттенуации микроорганизмов; б) открытие явления фагоцитоза; в) создание антирабической вакцины; г) открытие и изучение процессов брожения у микроорганизмов; д) введение в практику микробиологии метода выделения чистых культур бактерий на плотных питательных средах. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г
2. б, в, г
3. а, г, д
4. в, г, д
5. б, г, д

Задание 3

Световая микроскопия включает в себя следующие разновидности: а) фазово-контрастную микроскопию; б) электронную микроскопию; в) темнопольную микроскопию; г) микроскопию в затемненном поле; д) иммерсионную микроскопию. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, в, г, д
7. а, б, г, д
8. б, в, г, д
9. б, в, г
10. в, г, д

Задание 4

Темнопольная микроскопия применяется для изучения:

6. кишечной палочки
7. риккетсий
8. стафилококка
9. хламидий
10. бледной трепонемы

Задание 5

Для какого типа микроскопической техники готовят нативные неокрашенные препараты:

7. для световой микроскопии
8. для темнопольной микроскопии.
9. для люминесцентной микроскопии
10. для фазово-контрастной микроскопии
11. для электронной микроскопии
12. для поляризационной микроскопии

Задание 6

Структурными компонентами, характерными только для прокариотических клеток, являются:

6. обособленное ядро
7. нуклеоид
8. мезосомы
9. рибосомы
10. клеточная стенка, содержащая пептидогликан

Задание 7

К микроорганизмам с прокариотным типом организации клетки относят: а) плесневые грибы; б) спирохеты; в) хламидии; г) микоплазмы; д) актиномицеты. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, б, в
7. б, в, г, д
8. в, г, д
9. а, в, г, д
10. б, г, д

Задание 8

Какие структуры обязательны для обычных бактериальных клеток:

9. жгутики
10. капсула
11. микроворсинки (фимбрии)
12. клеточная стенка
13. ЦПМ

14. мезосомы
15. генофор (нуклеоид)
16. рибосомы

Задание 9

Какие структуры обязательны для L-форм бактерий:

7. капсула
8. ЦПМ
9. цитоплазма
10. генофор (нуклеоид)
11. клеточная стенка
12. волютиновые зёрна

Задание 10

Какие морфологические структуры бактерий и особенности их строения обуславливают положительную или отрицательную окраску по Граму:

6. клеточная стенка
7. ЦПМ
8. цитоплазма
9. генофор (нуклеоид)
10. капсула
11. жгутики

Задание 11

Для структуры клеточной стенки бактерий характерны все нижеуказанные свойства, кроме:

6. включает сложный полимер пептидогликан
7. строение обуславливает способность воспринимать окраску по Граму
8. представляет уникальную гибкую и пластичную структуру
9. содержит D-изомеры аминокислот
10. клеточная стенка грамотрицательных бактерий более чувствительна к действию лизоцима, чем грамположительных бактерий
11. имеет поры.

Задание 12

Какие компоненты образуют клеточную стенку грамотрицательных бактерий:

7. пептидогликан
8. липиды
9. тейхоевые кислоты
10. белок А

- 11.ЛПС
- 12.флагеллин

Задание 13

Укажите локализацию наследственной информации в бактериальной клетке:

- 6. ЦПМ
- 7. генофор (нуклеоид)
- 8. митохондрии
- 9. мезосомы
- 10.плазмиды
- 11.шероховатая эндоплазматическая сеть

Задание 14

Укажите свойства плазмид:

- 6. продуцируют различные БАВ
- 7. несут определённую генетическую информацию
- 8. постоянно присутствуют в бактериальной клетке
- 9. являются фактором патогенности
- 10.способны встраиваться в генетический аппарат бактериальной клетки
- 11.определяют образование жгутиков

Задание 15

Какие структуры бактерий определяет способность прикрепляться к поверхности клеток:

- 6. капсулы
- 7. жгутики
- 8. микроворсинки (пили)
- 9. мезосомы
- 10.пермеазы
- 11.никакие из указанных выше.

Задание 16

Какие функции выполняют запасные гранулы у бактерий:

- 6. депо метаболитов
- 7. депо воды
- 8. депо питательных веществ
- 9. депо ферментов
- 10.депо экзотоксинов
- 11.образованы плазмидами

Задание 17

Спорообразование является механизмом:

6. биосинтеза белка
7. размножения бактерий
8. защиты от фагоцитоза
9. сохранения вида
10. прикрепления бактерий

Задание 18

К спорообразующим бактериям относят

7. стрептококки
8. клостридии
9. нейссерии
10. сальмонеллы
11. коринебактерии
12. бациллы

Задание 19

Форма бактерий зависит от генетически запрограммированного строения:

6. тейхоевых кислот
7. липополисахаридов
8. фосфолипидов
9. пептидогликана
10. белка флагеллина

Задание 20

К грамотрицательным относятся: а) энтеробактерии; б) клостридии; в) псевдомонады; г) бактериоиды; д) нейссерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, в, г, д
7. а, б, в, г
8. б, в, г, д
9. в, г, д
10. б, г, д

Задание 21

Стафилококки – это грамположительные кокки, формирующие:

6. цепочки
7. группы в виде «виноградной грозди»
8. группы в виде объемных пакетов, кубиков
9. группы их четырех кокков
10. группы из двух кокков

Задание 22

К кокковым формам микроорганизмов относятся: а) *Neisseria meningitides*; б) *Klebsiella pneumoniae*; в) *Streptococcus pneumoniae*; г) *Bacteroides fragilis*; д) *Staphylococcus aureus*. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, б, в
7. а, в, д
8. б, в, д
9. б, г, д
10. в, г, д

Задание 23

Риккетсии отличаются от большинства бактерий:

6. отсутствием клеточной стенки
7. отсутствием мембраны, окружающей нуклеоид
8. наличием мезосом
9. способностью размножаться только в живых клетках
10. отсутствием ядра

Задание 24

Микоплазмы отличаются от большинства бактерий:

6. отсутствием клеточной стенки
7. отсутствием мембраны, окружающей нуклеоид
8. наличием мезосом
9. способностью размножаться только в живых клетках
10. отсутствием ядра

Задание 25

Бациллы – это:

6. грамотрицательные веретенообразные палочки
7. грамположительные спорообразующие кокки
8. грамположительные спорообразующие палочки
9. грамотрицательные извитые формы
10. грамположительные аспорогенные палочки

Задание 26

Клостридии – это:

6. кокки, образующие споры
7. палочки, не образующие спор
8. аэробные палочки, образующие споры
9. анаэробные палочки, образующие споры
10. извитые формы

Задание 27

К бактериям, образующим эндоспоры относятся: а) бациллы; б) бифидобактерии; в) клостридии; г) стафилококки; д) лактобактерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

- 6. г, д
- 7. б, в
- 8. а, в
- 9. б, г
- 10. а, б

Задание 28

К облигатным анаэробам относятся: а) коринебактерии; б) бациллы; в) бактероиды; г) клостридии; д) бифидобактерии. Выберите правильную комбинацию ответов:

- 6. а, б, в
- 7. в, г, д
- 8. б, г, д
- 9. а, в, д
- 10. б, в, д

Задание 29

Какой из факторов влияет на рост бактерий:

- 7. давление кислорода
- 8. содержание в окружающей среде неорганических ионов
- 9. парциальное давление двуокиси углерода
- 10. содержание в окружающей среде органических соединений
- 11. наличие ростовых факторов
- 12. все перечисленные

Задание 30

По источникам углерода для питания бактерии подразделяют на:

- 6. фототрофы
- 7. аутоотрофы
- 8. гетеротрофы
- 9. хемотрофы
- 10. ауксотрофы

Задание 31

По источникам энергии для клетки бактерии подразделяются на:

- 6. аутоотрофы
- 7. фототрофы
- 8. хемотрофы
- 9. гетеротрофы
- 10. ауксотрофы

Задание 32

Колония микроорганизмов – это:

5. видимое скопление особей нескольких видов микроорганизмов
6. 1 микробная клетка
7. видимое скопление особей одного вида микроорганизмов
8. смесь неоднородных микроорганизмов, выделенных из естественных субстратов

Задание 33

Какие правила взятия материала обеспечивают адекватность результатов бактериологического исследования:

6. материал забирают из очагов поражения и прилежащих тканей
7. материал следует забирать до начала антимикробной терапии
8. материал следует немедленно направлять в лабораторию
9. взятие материала проводят многократно на фоне антимикробной терапии
10. материал забирают в ограниченном количестве для предотвращения травматизации очага поражения

Задание 34

Какие среды наиболее часто применяют для выделения неприхотливых бактерий:

7. КА (кровяной агар)
8. среда Эндо
9. среда Плоскирева
10. среда Борде-Жангу
11. КУА
12. МПА

Задание 35

Основные цели применения дифференциально-диагностических сред:

6. изучение биохимической активности микробов
7. изучение культуральных свойств микробов
8. определения чувствительности к антибиотикам
9. дифференциация различных видов микробов
10. транспортировка материала в лабораторию

Задание 36

Для чего применяют элективные (селективные) питательные среды:

7. для предупреждения отмирания патогенных бактерий и подавления роста сапрофитов
8. для накопления определённой группы бактерий

9. для первичного посева материала или для пересева с консервирующих сред или сред обогащения
10. для изучения и идентификации отдельных типов, видов и групп бактерий
11. для изучения биохимических свойств бактерий
12. для изучения патогенных свойств бактерий

Задание 37

Для культивирования анаэробов без анаэролата используется среда:

6. кровяной агар
7. желточно-солевой агар
8. Эндо
9. тиогликолевая
10. Клауберга

Задание 38

Наличие ферментов бактерий выявляют по разложению:

6. углеводов
7. минеральных солей
8. индикатора
9. агар-агара
10. пептона

Задание 39

Бактериологический метод диагностики применяется для:

5. выделения и идентификации вирусов – возбудителей заболеваний
6. выделения антигена в исследуемом материале
7. выделения и идентификации бактерий – возбудителей заболеваний
8. обнаружения антител в сыворотке больного

Тест по теме : Генетика микроорганизмов

1. Генетика это:

- e) Свойство живых организмов передавать в следующие поколения признаки характерные для данного вида
- f) Свойство живых организмов существовать в пределах вида в разных вариантах
- g) Наука о наследственности и изменчивости живых организмов
- h) Внешние признаки, контролируемые генами.

2. Наименьший участок молекулы ДНК, отвечающий за синтез строго определенного белка это :

- e) Ген
- f) РНК
- g) Нуклеотид

- h) Плазмид
3. Как называется генетический материал бактерий?
- e) Ген
 - f) Нуклеоид
 - g) Плазмид
 - h) Ядро
4. Выберите лишний ответ: Функциональными единицами генома бактерий, кроме хромосомных генов являются...
- e) Транспозоны
 - f) IS-последовательность
 - g) Плазмиды
 - h) Нуклеотиды
5. Короткие фрагменты ДНК, не несущие структурных генов, отвечающие за транспозицию называются:
- e) Транспозоны
 - f) IS-последовательность
 - g) Плазмиды
 - h) Нуклеотиды
6. Функциональная единица генома бактерий, содержащая структурные гены контролирующие синтез определенного белка это –
- e) Транспозоны
 - f) IS-последовательность
 - g) Плазмиды
 - h) Нуклеотиды
7. Внехромосомные ДНК, представляющие собой кольцевую двунитевую молекулу ДНК, гены которой кодируют дополнительные свойства, придавая селективные преимущества клетке.
- e) Транспозоны
 - f) IS-последовательность
 - g) Плазмиды
 - h) Нуклеотиды
8. Самая распространенная форма изменчивости, возникающая при длительном приспособлении организмов к условиям внешней среды.
- e) Адаптация
 - f) Фенотипическая изменчивость
 - g) Мутация
 - h) Трансформация

9. Форма наследственной изменчивости организмов, характеризующаяся внезапным появлением несвойственных данному виду микробов новых свойств.

- e) Трансдукция
- f) Трансформация
- g) Конъюгация
- h) Мутация

10. Изменение генотипа, сохраняющееся в ряду поколений и сопровождающееся изменением фенотипа, носит название

- e) Фенотипическая изменчивость
- f) Адаптация
- g) Мутация
- h) Наследственность

11. Мутации, которые приводят к появлению в полипептиде иной аминокислоты, называются:

- e) Молчащие мутации
- f) Миссенс-мутации
- g) Нонсенс-мутации
- h) Химический мутагенез

12. Антисмысловые мутации, приводят к образованию кодонов-терминаторов, вызывающих преждевременное окончание синтеза полипептидной цепи, называются

- e) Молчащие мутации
- f) Миссенс-мутации
- g) Нонсенс-мутации
- h) Химический мутагенез

13. Химические вещества значительно повышают частоту мутирования от одной мутантной клетки до 10^3 - 10^4 клеток.

- e) Мутагены
- f) Рекомбинации
- g) Транспозоны
- h) Плазмиды

14. Как называется обмен генетическим материалом между 2 особями с появлением особей с измененным генотипом?

- e) Рекомбинация
- f) Трансдукция
- g) Мутация
- h) Конъюгация

15. Как называется обмен генетической информацией при непосредственном контакте донора и реципиента?

- e) Конъюгация
- f) Трансформация
- g) Трансдукция
- h) Рекомбинации

16. Передача генетической информацией в виде изолированных фрагментов ДНК при нахождении реципиентной клетки в среде содержащей ДНК донора. Носит название:

- e) Трансдукция
- f) Трансформация
- g) Конъюгация
- h) Рекомбинации

17. Перенос генов из одной бактериальной клетки в другую при помощи бактериофага.

- e) Рекомбинации
- f) Конъюгация
- g) Трансформация
- h) Трансдукция

18. Что такое бактериофаг?

- e) вирус, избирательно поражающий бактериальные клетки.
- f) Вирус, служащий для переноса генетической информации из одной бактериальной клетки в другую.
- g) Вирусы, контролирующие численность микробных популяций.
- h) Все ответы верны.

Тест по теме : Биотехнология

1. Что такое биоремедиация?

- e) Искусственное использование микроскопических почвенных обитателей для биологической утилизации органических отходов.
- f) Конверсия сельскохозяйственных отходов на получение биогаза.
- g) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и пр?
- h) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы

2. Что такое биотехнология?

- e) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения

технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.

- f) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- g) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- h) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

3. Что такое биоинженерия?

- e) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.
- f) Дисциплина, направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- g) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- h) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

4. Что такое Биомедицина?

- e) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом геной инженерии.
- f) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе

инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.

- g) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- h) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

5. Дайте определение термину Бионика.

- e) Дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач а так же возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии.
- f) Дисциплина направленная на углубление знаний в области биологии, переработки отходов, медицины и укрепление здоровья человека за счет междисциплинарных разработок, которые объединяют в себе инженерные подходы с достижениями биомедицинской науки и клинической практики.
- g) Раздел медицины изучающий с теоретических позиций организм человека его строение и функцию в норме и патологии, патологические состояния , методы их диагностики, коррекции и лечения.
- h) Прикладная наука о применении в технических устройствах и системах принципов организации живой природы. Соединение биологии и техники.

6. Совокупность методов и подходов включающие математические, методы компьютерного анализа в сравнительной геномике, разработка алгоритмов и программ для предсказания пространственной структуры белков, это

- e) Биоматематика
- f) Биотехнология
- g) Биоинформатика
- h) Бионика

7. Комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием биологических объектов, растений, грибов, насекомых, червей и др.

- e) Биоинженерия
- f) Биомедицина
- g) Биоремедиация
- h) Бионика

8. Совокупность приемов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделение генов из клеток или организмов, осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы это

- е) Биоинженерия
- ф) Генная инженерия
- г) Экологическая биотехнология
- h) Биомедицина

Тест по теме: **Инфекция и иммунитет**

.Выберите один или несколько вариантов правильных ответов:

Задание 1

К антропонозным инфекциям относятся: а) кампилобактериоз; б) шигеллез; в) брюшной тиф; г) гонорея; д) легионеллез. Выберите правильную комбинацию ответов:

- 1. а, б, в
- 2. б, в, г
- 3. в, г, д
- 4. а, г, д
- 5. б, г, д

Задание 2

Воздушно-капельным путем передаются: а) сыпной тиф; б) дифтерия; в) корь; г) гепатит А; д) коклюш. Выберите правильную комбинацию ответов:

- 1. а, б, в
- 2. а, г, д
- 3. б, в, д
- 4. б, г, д
- 5. в, г, д

Задание 3

Формы инфекции:

- 1. микробоносительство
- 2. комменсализм
- 3. суперинфекция
- 4. реинфекция
- 5. мутуализм

Задание 4

Реинфекция:

- 1. повторное заражение бактериями другого вида
- 2. повторное заражение тем же возбудителем
- 3. возникает при заболеваниях со стойким иммунитетом
- 4. возможна за счет нормальной микрофлоры

5. заражение бактериями, выделяющими эндотоксины

Задание 5

Какие из перечисленных ниже свойств характерны для смешанных инфекций:

1. возникают на фоне существующего заболевания
2. формируются из первичного очага инфекции, подвергшегося неадекватному лечению антибиотиками
3. характеризуются антагонизмом между возбудителями
4. характеризуются синергизмом возбудителей
5. характеризуются удлинённым инкубационным периодом
6. ни одно из указанных определений
7. возникают при наличии нескольких возбудителей

Задание 6

Как называют инфекции, вызванные проведением медицинских процедур:

1. нозокомиальные
2. оппортунистические
3. антропонозы
4. суперинфекции
5. ятрогенные инфекции
6. хирургические инфекции

Задание 7

Какие факторы обеспечивают рост бактерий в тканях организма человека:

1. выработка антифагоцитарных факторов
2. адгезия к эпителиальным клеткам
3. конкуренция с клетками различных органов и тканей за источники питания
4. Инактивация лизосомальных ферментов
5. длительная циркуляция в кровотоке
6. образование эндотоксинов

Задание 8

Вирулентность микроорганизмов:

1. является видовым признаком
2. индивидуальная характеристика штамма
3. повышается при пассировании через иммунных животных
4. снижается при частых пассажах через восприимчивых животных
5. является фенотипическим проявлением патогенности

Задание 9

Свойствами, характерными для бактериальных экзотоксинов, являются: а) специфичность действия; б) термолабильность; в) возможность перехода в анатоксин; г) липополисахаридная химическая природа; д) избирательная фиксация на рецепторах клеток-мишеней. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г, д
2. а, б, в, д
3. а, б
4. а, б, г
5. а, б, д

Задание 10

Действие эндотоксина проявляется следующими биологическими эффектами: а) пирогенным; б) увеличением проницаемости сосудистой стенки; в) активацией системы комплемента; г) диареей; д) развитием параличей.

Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, д
2. а, г
3. а, б, в
4. а, б, в, д
5. а, в, г

Задание 11

Пирогены это:

1. экзотоксина грамположительных бактерий
2. эндотоксины грамотрицательных бактерий
3. ферменты
4. антибиотики
5. колицины

Задание 12

Пирогены – сложные по своей структуре вещества, которые содержат протеины, липиды, полисахариды и вызывают в комплекс изменений в макроорганизме:

1. понижение температуры
2. кашель
3. повышение температуры
4. расстройство стула
5. шок
6. вазомоторные расстройства

Задание 13

К факторам естественной резистентности организма относятся: а) специфические антитела; б) интерферон; в) естественные киллеры (NK); г)

макрофаги; д) система комплемента. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, г
2. а, в, д
3. а, в, г, д.
4. в, г, д
5. б, в, г, д

Задание 14

Укажите основные признаки конституциональных факторов защиты:

1. включают гуморальные и клеточные компоненты
2. проявляют неспецифический защитный эффект
3. специфически подавляют жизнедеятельность возбудителя
4. активацию факторов индуцирует проникновение патогенных микроорганизмов
5. постоянно пребывают в «активированном» состоянии
6. образованы комплексом специализированных клеток и тканей

Задание 15

К неспецифическим гуморальным факторам иммунитета относятся:

1. агглютинины
2. комплемент
3. пропердиновая система
4. бета-лизин
5. лизоцим
6. бактериолизины

Задание 16

Естественные клетки киллеры (NK) выполняют функцию: а) запуска апоптоза клеток мишеней; б) фагоцитоза; в) выработки антител; г) распознавание опухолевых клеток;

д) выработки цитокинов. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, г, д
2. а, в, г
3. б, в, д
4. в, г, д
5. б, в, г

Задание 17

Нейтрофильные лейкоциты участвуют в иммунных процессах и обладают функциями:

а) фагоцитоза; б) генерации активных форм кислорода; в) представления антигена;

г) антителообразования; д) миграции. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г
2. а, б, д
3. б, г, д
4. в, г, д
5. б, в, г

Задание 18

Фагоцитарную функцию выполняют: а) моноцитарно-макрофагальные клетки; б) гепатоциты; в) купферовские клетки; г) микроглия; д) Т-лимфоциты.

Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в, г
2. б, в, г
3. в, г, д
4. а, г, д
5. б, г, д

Задание 19

Незавершенный фагоцитоз включает в себя все стадии, кроме:

1. адгезии
2. хемотаксиса
3. поглощения
4. переваривания

Задание 20

Интерфероны: а) являются иммуноглобулиновыми молекулами; б) вырабатываются специализированными клетками; в) активируют фагоцитарные клетки; г) лизируют клетки-мишени; д) усиливают активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. б, в, д
2. а, б, в
3. а, г, д
4. в, г, д
5. б, г, д

Задание 21

Какое из перечисленных положений неверно применительно к ИФН:

1. α -ИФН продуцируют лейкоциты
2. γ -ИФН продуцируют стимулированные лимфоциты
3. β -ИФН продуцируют фибробласты
4. ИФН проявляет высокую специфичность к различным вирусам
5. ИФН действует на заражённые клетки

6. ИФН действует на вирусы

Задание 22

Свойства полноценных антигенов:

1. чужеродность
2. высокий молекулярный вес
3. низкий молекулярный вес
4. специфичность
5. отсутствие детерминантных групп

Задание 23

Какие морфологические структуры бактерий несут признаки антигенной чужеродности:

1. жгутики
2. капсула
3. клеточная стенка
4. ЦПМ
5. генофор (нуклеоид)
6. лизосомы

Задание 24

К бактериальным антигенам относят:

1. О-антиген
2. гемагглютинин
3. Н-антиген
4. изоантигены
5. К-антиген
6. токсины

Задание 25

Укажите основные характеристики О-Аг:

1. представлены белками
2. представлены углеводами
3. представлены ЛПС
4. термолабильны
5. термостабильны
6. являются гаптенами

Задание 26

Какая из следующих характеристик лучше всего определяет свойства гаптенных:

1. иммуногенны и реагируют с А Т
2. иммуногенны, но не реагируют с АТ
3. реагируют с АТ, но неиммуногенны

4. не реагируют с А Т и неиммуногенны
5. представлены сложными макромолекулярными веществами
6. представлены простым и низкомолекулярными веществами

Задание 27

В тимусе происходят: а) перегруппировка генов Т-клеточного рецептора; б) антителообразование; в) развитие CD4 и CD8 Т-клеток; г) развитие Т-лимфоцитов хелперов 1 (Th1) и 2 (Th2) типов; д) развитие тучных клеток. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в
2. а, б
3. б, в
4. в, г
5. г, д

Задание 28

В селезенке происходят: а) антителообразование; б) распознавание антигена, поступающего через слизистые оболочки; в) выработка цитокинов; г) функционирование Т-лимфоцитов хелперов; д) вторичный иммунный ответ. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, г
2. а, в, г, д
3. б, в, г, д
4. б, г, д
5. а, д

Задание 29

Образование антител происходит в: а) лимфатических узлах; б) пейеровых бляшках; в) тимусе; г) селезенке; д) коже. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, г
2. а, в, д
3. б, г, д
4. б, в, г
5. в, г, д

Задание 30

Клеточные элементы, участвующие в представлении антигена Т-лимфоцитам: а) дендритные клетки; б) плазматические клетки; в) макрофаги; г) тромбоциты; д) тучные клетки. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в
2. б, в
3. в, г
4. г, д
5. а, д

Задание 31

Для развития специфического иммунного ответа В-лимфоциты получают помощь от:

а) фолликулярных дендритных клеток; б) базофилов; в) Т-лимфоцитов; г) гепатоцитов;

д) эритроцитов. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б
2. б, в
3. а, в
4. б, г
5. г, д

Задание 32

Укажите основные свойства В-лимфоцитов и плазматических клеток:

1. плазматические клетки синтезируют и секретируют Ig
2. γ -ИФН подавляет активность плазматических клеток
3. В-клетки - предшественники плазматических клеток
4. долгоживущие В-клетки лизируют инфицированные, чужеродные и опухолевые клетки
5. короткоживущие В-клетки продуцируют γ -ИФН
6. В-лимфоциты проявляют антителозависимую цитотоксичность

Задание 33

Наибольшей активностью синтеза антител отличаются:

1. В-лимфоциты исходного клона
2. В-клетки “иммунной памяти”
3. плазматические клетки
4. незрелые В-лимфоциты

Задание 34

Т-лимфоциты распознают антиген, представляемый в ассоциации с молекулами:

а) HLA класса I; б) HLA класса II; в) иммуноглобулинов; г) белков острой фазы;

д) комплемента. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б

2. б, в
3. в, г
4. г, д
5. а, д

Задание 35

Главный комплекс гистосовместимости человека (HLA) ответственен за: а) распознавание антигена Т-лимфоцитами; б) исход аллотранспортиции; в) взаимодействие в системе мать-плод; г) фагоцитоз бактерий; д) генетический контроль иммунного ответа. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, г, д
2. а, б, в, д
3. б, в, г, д
4. г, д
5. б, в

Задание 36

Иммуноцитокнины – это: а) иммуноглобулины; б) полипептиды; в) продукты клеток иммунной системы; г) гормоны; д) белки острой фазы. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. б, в
2. в, г
3. а, б
4. г, д
5. а, д

Задание 37

Молекула иммуноглобулина относится к суперсемейству иммуноглобулиновых молекул и имеет в своем составе: а) домены; б) углеводы; в) активный центр; г) Fc-фрагмент; д) дисульфидные связи. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, в
2. б, г
3. г, д
4. а, д
5. все ответы правильные

Задание 38

Антитела связывают детерминанты антигена:

1. переменными участками тяжелой и легкой цепи
2. константным участком легкой цепи
3. Fc-фрагментом

Задание 39

Укажите основные свойства молекулы-димера IgA:

1. взаимодействует с Ag во внешней среде

2. секретируется эпителиальными клетками
3. входит в состав слёзной жидкости
4. проникает через плацентарный барьер
5. обуславливает антителозависимую цитотоксичность
6. синтезируется плазматическими клетками

Задание 40

Антитела класса IgE вырабатывают:

1. базофилы
2. плазматические клетки
3. Т-лимфоциты
4. тимоциты
5. тучные клетки

Задание 41

Антитела класса IgG обладают способностью: а) преципитировать антиген; б) переходить через плаценту от матери к плоду; в) активировать комплемент; г) образовывать иммунные комплексы; д) активно переходить в секреторные жидкости. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, в, г
2. б, в, г, д
3. а, г, д
4. б, в, г
5. в, г, д

Задание 42

Антитела класса IgA обладают способностью: а) участвовать в клеточном лизисе; б) приобретать секреторный компонент; в) опсонизировать фагоциты; г) переходить через плаценту от матери к плоду; д) фиксироваться на тучных клетках. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б
2. а, г
3. б, в
4. б, д
5. в, д

Задание 43

Антитела класса IgE способны: а) фиксировать комплемент; б) участвовать в клеточном лизисе; в) переходить в секреторные жидкости; г) фиксироваться на поверхности тучных клеток; д) образовывать иммунные комплексы. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. г, д

2. а, б
3. в, г
4. а, д
5. б, г

Задание 44

Клеточный иммунитет – это: а) количество Т-, В-лимфоцитов, естественных киллеров;

б) индукция цитотоксических CD8 Т-лимфоцитов; в) фагоцитарная реакция; г) антителообразование; д) отторжение чужеродного трансплантата. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б
2. б, в
3. б, д
4. в, г
5. а, д

Задание 45

Укажите условия, при которых Т-киллер убивает чужеродную клетку:

1. если её спектр Аг МНС отличается от спектра Аг МНС хозяина
2. после распознавания Аг МНС на её поверхности
3. путём формирования перфориновых пор в мембране клетки-мишени
4. после опсонизации
5. путём выделения цитотоксинов
6. при фиксировании на её поверхности компонентов комплемента

Задание 46

Т-киллеры вызывают:

1. реакцию отторжения трансплантата
2. реакцию отторжения вирус-пораженной клетки
3. активацию Т-эффекторов ГЗТ
4. активацию синтеза антител
5. реакцию отторжения опухоли

Задание 47

С целью оценки иммунного статуса человека определяют: а) абсолютное число лимфоцитов в периферической крови; б) концентрацию IgM в сыворотке; в) СОЭ;

г) фагоцитоз; д) антигены групп крови АВ0. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, д
2. а, б, г

3. б, в, г
4. в, г, д
5. б, г, д

Задание 48

К иммуносупрессивным препаратам относят: а) циклоспорин А; б) дексаметазон; в) продигиозан; г) интерлейкин-2; д) азатиоприн. Выберите правильную комбинацию ответов:

1. а, б, д
2. а, в, г
3. б, в, г
4. в, г, д
5. б, г, д

Темы: «Экология, генетика микроорганизмов. Влияние на микроорганизмы факторов окружающей среды»

Выберите один или несколько вариантов правильных ответов:

Задание 1

Какой из перечисленных ниже способов сосуществования микроорганизмов взаимовыгоден:

6. комменсализм
- 7. мутуализм**
8. эндосимбиоз
9. эктосимбиоз
10. антагонистический симбиоз

Задание 2

Укажите основные характеристики микроорганизмов, относящихся к нормальной микрофлоре человека:

7. доминируют в исследуемых образцах
8. представлены сапрофитическими видами
9. представлены патогенными видами с пониженной вирулентностью
10. представлены условно-патогенными микроорганизмами
11. микроорганизмы более или менее часто выделяют из организма здорового человека
12. микроорганизмы сравнительно редко выделяют из организма здорового человека.

Задание 3

Укажите характерные особенности заселения бактериями организма человека:

7. колонизируют все органы
8. колонизируют отдельные области

9. состав микробных сообществ одинаков в каждом отдельном органе
10. состав микробных сообществ в каждом отдельном органе различен
11. различия в составе микробных сообществ индивидуальны
12. состав микробных сообществ остаётся стабильным на протяжении всей жизни

Задание 4

Микрофлора разных отделов пищеварительного тракта:

5. одинакова
6. качественный и количественный состав неодинаков
7. наиболее колонизирован тонкий кишечник
8. наиболее колонизирован толстый кишечник

Задание 5

Укажите микроорганизмы, доминирующие в дистальных отделах кишечника человека:

7. виды *Bacteroides*
8. виды *Clostridium*
9. виды *Streptococcus*
10. виды *Lactobacillus*
11. виды *Enterobacter*
12. виды *Candida*

Задание 6

Представителями нормальной микрофлоры влагалища являются: а) **лактобактерии**; б) бифидобактерии; в) **стрептококки**; г) **клостридии**; д) **бактероиды**. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, б, в, д
7. а, в, г, д
8. б, в, г, д
9. б, г, д
10. а, г, д

Задание 7

Стерильные ткани и органы здорового человека:

7. желудочно-кишечный тракт
8. кровь
9. лимфа
10. кожа
11. почки и мочеточники
12. верхние дыхательные пути

Задание 8

Какие бактерии, входящие в состав нормальной микробной флоры, способны вызвать заболевания:

7. патогенные виды
8. сапрофиты
9. условно-патогенные
- 10.любые**
- 11.термофилы
- 12.никакие

Задание 9

Дисбактериоз:

5. изменение качественного состава нормальной микрофлоры
6. изменение количественного соотношения микроорганизмов
7. не оказывает влияния на резистентность организма
8. развивается при нерациональной антибиотикотерапии

Задание 10

Последствия дисбактериоза:

5. ослабление иммунологической резистентности организма
6. возрастание иммунологической резистентности организма
7. нарушение ферментативной функции микрофлоры
8. снижение числа антибиотикорезистентных бактерий

Задание 11

В состав биотерапевтических препаратов, применяемых для коррекции микрофлоры кишечника, входят: а) **бифидобактерии**; б) **лактобактерии**; в) стафилококки; г) сальмонеллы; д) **эшерихии**. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, б, в
7. б, г, д
8. б, в, г
9. а, б, д
- 10.в, г, д

Задание 12

Эубиотиками (пробиотиками) являются:

1. нистатин
2. бифидумбактерин
3. лактобактерин
4. эритромицин
5. бификол

Задание 13

Санитарно-бактериологическое исследование смывов с поверхности кожи проводят:

5. на наличие кишечной палочки
6. на наличие протей
7. посевом на среду Эндо
8. посевом на среду Сабуро

Задание 14

Санитарный надзор предметов окружающей среды осуществляют:

4. взятием смывов с рук персонала
5. взятием смывов с рабочих поверхностей
6. взятием соскобов с рабочих поверхностей

Задание 15

Загрязнение воды оценивают по:

6. ОМЧ
7. коли-титру
8. наличием различных видов условно-патогенных и патогенных бактерий
9. индексу бактерий группы кишечной палочки
10. перфрингенс-титру

Задание 16

Микробное число воздуха определяют:

6. по методу Коха (седиментация)
7. на среде Эндо
8. дозированным посевом на МПА в аппарате Кротова
9. при посеве на желточно-солевой агар
10. методом мембранных фильтров

Задание 17

Санитарно-показательным микробом для оценки воздуха в операционных является:

6. золотистый стафилококк
7. менингококк
8. протей
9. кишечная палочка
10. дифтерийная палочка

Задание 18

Под термином «стерилизация» понимают:

6. освобождение объекта только от вегетативных форм
7. освобождение только от аэробных микробов
8. освобождение от спор и вегетативных форм
9. уничтожение только анаэробных форм бактерий
10. уничтожение только патогенных микробов

Задание 19

Под термином «дезинфекция» понимают:

6. освобождение объекта только от вегетативных форм
7. освобождение только от аэробных микробов
8. освобождение от спор и вегетативных форм
9. уничтожение только анаэробных форм бактерий
10. уничтожение только патогенных микробов

Задание 20

Какой метод используют для стерилизации сыворотки крови:

1. стерилизация воздействием ионизирующей радиации
2. стерилизация паром под давлением
3. стерилизация сухим жаром
4. фильтрование с помощью мембранных фильтров
5. стерилизация УФ-излучением

Задание 21

Пастеризация:

4. частичное удаление микроорганизмов
5. полное удаление микроорганизмов
6. подавление размножения микробов

Задание 22

К методам «холодной» стерилизации относятся: а) стерилизация текучим паром; б) стерилизация УФ-излучением; в) стерилизация при помощи бактериальных фильтров; г) стерилизация паром под давлением; д) сухожаровая стерилизация. Выберите правильную комбинацию ответов:

6. а, б
7. а, г
8. а, д
9. б, в
10. б, д

Задание 23

Укажите способы полной стерилизации материалов, используемых в микробиологических исследованиях

7. обработка влажным паром

8. фильтрация
9. облучение
10. пастеризация
11. прокаливание
12. обработка антисептиками

Задание 24

Какие способы стерилизации используются в отношении убитых вакцин:

6. фильтрование
7. ультразвук
8. паровая стерилизация
9. γ -излучение
10. плазменная стерилизация

Литература

1. Г. Шлегель. Общая микробиология. – М., Мир, 1987. С. 403 – 408.
2. М.В. Гусев, Л.А. Минеева. Микробиология, 4-изд.- М.: "Академия", 2003. С. 403 – 404.
4. Смирнова Н.Н. Курс лекций.

ГЛОССАРИЙ

Автоклав – аппарат для проведения процессов стерилизации при нагреве и под давлением выше атмосферного.

Антисептика – (лат. anti – против, septicus – гниение) – система мероприятий, направленных на уничтожение микроорганизмов в ране, патологическом очаге, органах и тканях, а также в организме больного в целом, использующая механические и физические методы воздействия, активные химические вещества и биологические факторы.

Асептика – комплекс мероприятий, направленных на предупреждение попадания микроорганизмов в исследуемый объект.

Глубинный посев – один из стационарных методов культивирования микроорганизмов, при котором суспензию микроорганизмов вносят в расплавленные плотные питательные среды либо в жидкие питательные среды.

Дезинфекция – уничтожение возбудителей инфекционных болезней на объектах внешней среды.

Иммерсия в микроскопии – это введение между объективом микроскопа и рассматриваемым в нём предметом жидкости для усиления яркости и расширения пределов увеличения изображения.

Инкубация – культивирование при определенной температуре.

Ирисовая диафрагма – система серповидных пластин, позволяющих изменять количество проходящего через объектив света, что определяет соотношение яркости оптического изображения объекта к яркости самого объекта, а также устанавливать необходимую глубину резкости.

Колония – это видимое изолированное скопление представителей одного вида микроорганизмов, образующееся при размножении одной колониобразующей единицы (КОЕ) на плотной питательной среде (на поверхности или в глубине её). Колонии бактерий разных видов отличаются друг от друга по своей морфологии, цвету и другим культуральным признакам.

Конденсор – (от лат. condense – сгущаю, уплотняю), короткофокусная линза или система линз, используемая в оптическом приборе для освещения рассматриваемого или проецируемого предмета. Конденсор собирает и направляет на предмет лучи от источника света, в том числе и такие, которые в его отсутствие проходят мимо предмета; в результате такого «сгущения» светового потока резко возрастает освещённость предмета.

Культивирование – выращивание микроорганизмов на питательных средах.

Микробиология – наука о живых организмах, невидимых невооруженным глазом (микроорганизмах): бактериях, археобактериях, микроскопических грибов и водорослей, часто этот список продляют простейшими и вирусами.

Микроскоп – прибор, предназначенный для получения увеличенных изображений, а также измерения объектов или деталей структуры, невидимых невооружённым глазом. Представляет собой совокупность линз.

Накопительная культура – культура, в которой преобладают представители одной группы или даже одного вида микроорганизмов.

Объектив – оптическое устройство, проецирующее изображение на плоскость.

Окуляр – обращенная к глазу часть микроскопа, предназначенная для рассматривания с некоторым увеличением оптического изображения, даваемого объективом микроскопа.

Пастеризация – нагревание материала при температуре ниже 100 °С. Используется для обеспложивания питательных сред, содержащих компоненты, разлагающиеся при высоких температурах.

Поверхностный посев – осуществляется путем нанесения суспензии микроорганизмов на поверхность плотной питательной среды. Используется для культивирования аэробных культур.

Посев – внесение клеток микроорганизмов (посевого материала – инокулята) в стерильную питательную среду для получения чистой или накопительной культуры.

Разрешающая способность – это способность микроскопа выдавать чёткое отдельное изображение двух близко расположенных точек объекта.

Стерилизация – полное освобождение какого-либо предмета от всех видов микроорганизмов, включая бактерии и их споры, грибы, вирионы, а также от прионного белка, находящихся на поверхностях, оборудовании, в пищевых продуктах и лекарствах.

Осуществляется термическим, химическим, радиационным, фильтрационным методами.

Фламбирование – метод стерилизации мелких металлических инструментов путем прокаливания в пламени горелки непосредственно перед использованием.

Чистая культура – популяция микроорганизмов, представляющая собой потомство одной или нескольких клеток одного вида микроорганизмов

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре
Набережночелнинского института
Казанского (Приволжского) университета

Подписано в печать 01.11.2016 г.

Формат 60x84/16 Печать ризографическая

Бумага офсетная. Гарнитура «Times New Roman»

Усл.п. л. 7,44 Уч-изд.л.7,44

Тираж 50 экз. Заказ №765-146

423810, г. Набережные Челны, Новый город, проспект Мира, 68/19

Тел./факс (8552) 39-65-99 e-mail: ic-nchi-kpfu@mail.ru