

Міністерство освіти і науки України
Вінницький національний технічний університет

**Методичні вказівки до виконання
лабораторних робіт із дисципліни
«МІКРОБІОЛОГІЯ ТА ОСНОВИ
ВІРУСОЛОГІЇ»**

Вінниця
ВНТУ
2018

Рекомендовано Методичною радою Вінницького національного технічного університету Міністерства освіти і науки України як електронне видання (протокол № 10 від 14.06.2018 р.)

Рецензенти:

О. А. Шевчук, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології Вінницького державного педагогічного університету імені Михайла Коцюбинського

В. А. Іщенко, кандидат технічних наук, доцент кафедри екології та екологічної безпеки Вінницького національного технічного університету

Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт із дисципліни «Мікробіологія та основи вірусології» / Уклад. О. О. Ткачук. – Вінниця : ВНТУ, 2018. – 39 с.

Методичні вказівки призначені для студентів спеціальності 101 «Екологія» та містять рекомендації щодо виконання лабораторних робіт із дисципліни «Мікробіологія та основи вірусології».

Навчальне самостійне електронне мережне видання

Методичні вказівки
до виконання лабораторних робіт
з дисципліни
«Мікробіологія та основи вірусології»

Укладач: Ткачук Олеся Олександрівна

Електронний ресурс PDF.

Підписано до видання 02.07.2018 р. Зам. № P2018-001

Видавець та виготовлювач - Вінницький національний технічний університет,

Інформаційний редакційно-видавничий центр. ВНТУ, ГНК, к.114,

Хмельницьке шосе, 95, м. Вінниця, 21021,

тел. (0432) 65-18-06.

press.vntu.edu.ua;

Email: irvc.vntu@gmail.com.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи серія ДК № 3516 від 01.07.2009 р.

ЗМІСТ

Вступ.....	4
Будова мікроскопа та правила роботи з ним.....	5
Мікробіологічні препарати.....	8
Лабораторна робота № 1. Мікроскопічне вивчення основних форм бактерій.....	11
Лабораторна робота № 2. Дослідження дріжджеподібних грибів.....	12
Лабораторна робота № 3. Дослідження міцелярних грибів.....	14
Лабораторна робота № 4. Спиртове бродіння.....	15
Лабораторна робота № 5. Молочнокисле бродіння.....	17
Лабораторна робота № 6. Маслянокисле бродіння.....	19
Лабораторна робота № 7. Дослідження мікрофлори повітря.....	20
Лабораторна робота № 8. Дослідження мікрофлори води.....	22
Лабораторна робота № 9. Дослідження мікрофлори ґрунту.....	24
Лабораторна робота № 10. Дослідження мікрофлори тіла людини.....	26
Лабораторна робота № 11. Дослідження мікрофлори ротової порожнини.....	28
Лабораторна робота № 12. Вивчення бульбочкових бактерій.....	29
Лабораторна робота № 13. Захворювання пов'язані із забрудненням їжі мікробами.....	31
Лабораторна робота № 14. Мікробіологія харчових продуктів.....	32
Лабораторна робота № 15. Основні захворювання бактеріального походження...	34
Лабораторна робота № 16. Віруси. Вірусні захворювання.....	37
Рекомендована література.....	39

ВСТУП

«Мікробіологія та основи вірусології» – дисципліна, що вивчає найдрібніші і найпоширеніші, невидимі для неозброєного ока живі організми, які за свої мікроскопічні розміри дістали назву мікроорганізмів. Різноманітні представники світу мікроорганізмів належить до різних таксонів. Серед них вирізняють бактерії, ціанобактерії, актиноміцети, рикетсії, деякі мікроскопічні гриби та найпростіші.

Майбутнім екологам необхідні глибокі знання про форму, будову, закономірності життєдіяльності, роль мікроорганізмів у колообігу речовин в природі, підтриманні екологічної безпеки у виникненні та розповсюдженні інфекційних хвороб серед людей, тварин і рослин.

Основне завдання дисципліни «Мікробіологія та основи вірусології» полягає в тому, щоб створити у студентів систему знань про морфологію, систематику, фізіологію і біохімію, генетику, екологію мікроорганізмів, їх роль та значення в природі, патології людини, тварин і рослин. Результати мікробіологічних досліджень допомагають забезпечити людство продуктами харчування, боротися з небезпечними захворюваннями, попередити виникнення харчових отруєнь та інфекцій, запобігти забрудненню навколишнього середовища. Саме тому мікробіологія має тісні зв'язки з багатьма фаховими дисциплінами (охорона природи, різні напрямки екології), що мають місце в підготовці майбутніх фахівців-екологів.

Лабораторний практикум є обов'язковою складовою навчальної дисципліни, без якого неможливе повноцінне засвоєння теоретичного матеріалу. Лабораторні роботи відіграють важливу роль у підготовці фахівців через самостійну виконавчу діяльність.

Підготовлені рекомендації дадуть змогу студентам систематизувати та закріпити навчальний матеріал при виконанні лабораторних робіт. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт містять теоретичні відомостями до кожної з них, зміст робіт та питання для самоконтролю. Методичні рекомендації відповідають змісту навчальної програми з дисципліни.

БУДОВА МІКРОСКОПА ТА ПРАВИЛА РОБОТИ З НИМ

Серед різноманітного обладнання, що використовується в практиці мікробіологічних досліджень, найважливіше місце належить мікроскопу. Це прилад з певним розташуванням лінз у ньому, за допомогою яких досліджуваній об'єкт збільшується в сотні й тисячі разів. Мікроскопи, які дають можливість вивчати різні прозорі об'єкти у світлі, що проходить через лінзи, називають світловими чи біологічними.

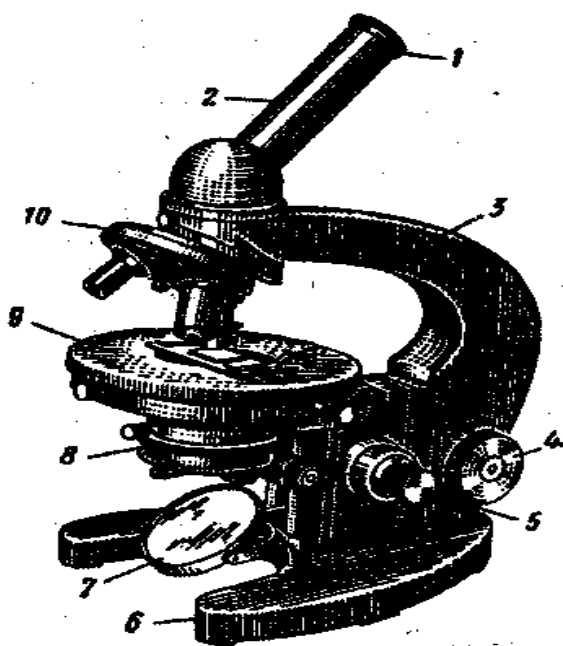


Рис. 1. Мікроскоп МБІ-1

- 1 – окуляр;
- 2 – тубус;
- 3 – тубусотримач;
- 4 – макрогвинт,
- 5 – мікрометричний гвинт;
- 6 – основа штативу;
- 7 – дзеркало;
- 8 – конденсор;
- 9 – столик;
- 10 – револьвер з об'єктивами.

Біологічний мікроскоп (МБІ-1, Біолам) – оптичний прилад, за допомогою якого можна одержати збільшене обернене зображення предмета, що дозволяє розглядати дрібні деталі його будови. В мікроскопі виділяють дві системи: оптичну й механічну.

До оптичної системи належать об'єктиви, окуляри і освітлювальний пристрій.

Об'єктив складається із металевого циліндра з вмонтованими у нього лінзами. В навчальних цілях використовують об'єктиви зі збільшенням $\times 8$ і $\times 40$. Робоча відстань від покривного скла до фронтальної лінзи при об'єктиві $\times 8$ дорівнює 13,8 мм, при об'єктиві $\times 40$ – 0,6 мм. Розрізняють сухі та імерсійні об'єктиви. У сухому об'єктиві між фронтальною лінзою і об'єктом міститься

повітря. Найчастіше користуються сухими об'єктивами при збільшенні об'єкта від 56 до 600 разів. Імерсійні (OI-90 або MI-90) – застосовують при вивченні дуже дрібних об'єктів (бактерій, грибів тощо). В них між фронтальною лінзою і досліджуванним об'єктом міститься крапля імерсійної олії, найчастіше кедрової. У цій однорідній системі промені світла не заломлюються, а потрапляють в об'єктив, не змінюючи свого напрямку, оскільки показники заломлення скла й кедрової олії майже однакові: 1,52 і 1,515 відповідно.

Окуляр складається із 2-3 лінз, вмонтованих у металевий циліндр. Збільшення окулярів позначено цифрами; x7, x10, x15. Для визначення збільшення мікроскопа перемножують збільшення об'єктива та окуляра.

Дзеркало служить для направлення світла через конденсор і отвір предметного столика на об'єкт.

Ірисова діафрагма розміщена між дзеркалом і конденсором. Служить для зміни діаметра світлового потоку, направленого дзеркалом через конденсор на об'єкт.

Кільце з матовим склом або світлофільтром зменшує освітлення об'єкту. Розміщене під діафрагмою і переміщується в горизонтальній площині.

До механічної системи мікроскопа належать: підставка – основа мікроскопа, предметний столик, тубус, тубусотримач, револьвер, макрогвинт, мікрогвинт.

Тубус – циліндр, в який зверху вкладають окуляр.

Тубусотримач має тубус і револьвер.

Револьвер призначений для швидкої зміни об'єктивів.

Предметний столик – призначений для розміщення на ньому препарату. В середині столика є круглий отвір, у який входить фронтальна лінза конденсора.

Макрогвинт використовують для значного переміщення тубусотримача, а відповідно і об'єктива з метою фокусування об'єкта при малому збільшенні.

Мікрометричний гвинт служить для незначного переміщення тубусотримача, а отже – і об'єктива, на відстані, що вимірюється мікрометрами. Для запобігання пошкоджень дозволяється крутити мікрометричний гвинт в один бік не більше, ніж на половину оберта.

ПРАВИЛА РОБОТИ З МІКРОСКОПОМ

1. Ставлять мікроскоп на край стола так, щоб окуляр знаходився навпроти лівого ока і під час роботи його не переміщують. Всі предмети, необхідні для роботи, розмішують праворуч від мікроскопа.

2. Відкривають цілком діафрагму, підіймають конденсор у крайнє верхнє положення, щоб його фронтальна лінза була на рівні з предметним столиком.

3. Ставлять об'єтив $\times 8$ у робоче положення – на відстані 1 см від предметного столика. Роботу з мікроскопом завжди розпочинають з малого збільшення.

4. Дивлячись лівим оком в окуляр і користуючись вгнутих дзеркалом, направляють світло від вікна в об'єтив та максимально й рівномірно освітлюють поле зору. Праве око залишають відкритим, щоб не викликати перевтому очних м'язів.

5. Розміщують препарат на предметному столику і, дивлячись збоку, опускають об'єтив за допомогою макрогвинта так, щоб між фронтальною лінзою об'єктива і препаратом була відстань 4-5 мм.

6. Дивлячись лівим оком в окуляр, прокрутивши макрогвинт на себе, повільно підіймають об'єтив до положення, при якому добре видно зображення об'єкта.

7. Досягають великої чіткості зображення, приводячи у відповідність діаметри пучка світла, що потрапляє в об'єтив, і фронтальної лінзи об'єктива. Для цього виймають окуляр і, дивлячись в тубус, повільно закривають отвір діафрагми до тих пір, поки її краї з'являться на межі вихідної зіниці об'єктива.

8. Для вивчення будь-якої ділянки об'єкта при великому збільшенні ставлять цю ділянку в центр поля зору, пересуваючи препарат рукою. Після

цього повертають револьвер так, щоб об'єктив х40 зайняв робоче положення. За допомогою мікрометричного гвинта досягають чіткого зображення об'єкту.

9. Переміщують препарат при великому збільшенні лише за допомогою пересування столика.

10. Після закінчення роботи з великим збільшенням повертають револьвер, установлюють мале збільшення і знімають препарат.

11. Працюють з мікроскопом завжди сидячи.

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ

Для вивчення мікроорганізмів за допомогою світлового мікроскопа виготовляють мікропрепарат з досліджуваного матеріалу (суспензіях мікробних культур, культури, вирощені на твердих живильних середовищах та інші). Готують мікропрепарати на предметних скельцях розмірами 76x26 мм, завтовшки 1,2-1,4 мм. Для приготування препаратів живих мікробів необхідні й накривні скельця (розмірами 14x14 або 18x18 мм).

Предметні та накривні скельця повинні бути старанно очищені й знежирені так, щоб крапля води рівномірно розтікалася по їхній поверхні. Найкраще знежирювати скельця хромовою сумішшю (біхромат калію – 50г; сірчана кислота – 100г; вода –1000 мл), після чого їх промивають водою, кип'ятять у 1-2 %-му розчині соди протягом 15 хв, знову промивають дистильованою водою, висушують і зберігають у суміші спирту з ефіром у банках з притертими корками. Перед виготовленням препарату предметне скельце старанно протирають марлею або стерилізують його на полум'ї спиртівки і після охолодження наносять краплину суспензії мікробної культури або виготовляють мазок

Виготовлення мазка. На предметне скельце наносять мікробіологічною петлею невеличку кількість досліджуваного матеріалу і розмазують його по склу тоненьким шаром. Скельце з виготовленим мазком розміщують на спеціальному штативі зі скляних трубочок і висушують при кімнатній температурі.

Фіксація мазка – наступна операція, що проводиться з метою вбити мікроби, прикріпити їх до скла і зробити чутливішими до фарби. Найзручніше робити фіксацію мазка на полум'ї спиртівки. Для цього предметне скло тримають між великим і вказівним пальцями мазком догори і 3–4 рази проводять через полум'я. Якщо рука при дотиканні до скла відчуває легкий опік, це свідчить, що мазок зафіксований.

Фіксувати препарати можна фіксуючими рідинами. У цьому випадку на мазок наливають фіксатор або препарат цілком занурюють у посудину з фіксуючою рідиною і витримують певний час. Наприклад, фіксацію мазка етиловим спиртом чи сумішшю Никифорова проводять протягом 10–15 хв. Усі рідкі фіксатори треба зберігати у банках з притертими корками. Їх можна використовувати багато разів.

Фарбування мазка. Зафіксований препарат відмивають, якщо фіксатором була рідина, і фарбують. Для цього препарат розміщують на штативі і на мазок наносять кілька крапель розчину фарби, наприклад, метиленову синьку, еозин, фуксин (простий спосіб фарбування) та інші. Тривалість фарбування становить від однієї до п'яти хвилин. Після цього препарат промивають дистильованою водою, висушують і вивчають під мікроскопом. Крім простих існують і складні диференціальні методи фарбування (за Грамом тощо).

Фарбування за Грамом. На зафіксований мазок досліджуваної культури кладуть клаптик фільтрувального паперу і наносять на нього 2-3 краплі карболового генціанвіолету. Витримують фарбу протягом 1-2 хвилин. Потім знімають папірець, на препарат діють 2-3 краплинами розчину Люголя протягом 1-2 хвилин. Зливають розчин Люголя і обробляють мазок етиловим спиртом протягом 30 сек. Після цього препарат старанно промивають дистильованою водою, дофарбовують фуксином (1 хв), знову промивають водою і висушують. Виготовлений препарат вивчають під мікроскопом за допомогою імерсійної системи.

Виготовлення препаратів живих мікроорганізмів. Найчастіше мікроби в живому стані вивчають на таких препаратах: «роздавлена крапля», «висяча крапля» та препаратах «відбитків».

Для виготовлення препарату «роздавлена крапля» на середину стерильного предметного скла наносять бактеріологічною петлею краплю суспензії досліджуваної мікробної культури. Якщо мікроби ростуть на твердому поживному середовищі, то перед тим предметне скло змочують краплиною стерильної води, а тоді вже вносять бактеріальну масу. Краплю накривають накривним скельцем і вивчають під мікроскопом.

Фарбування живих мікроорганізмів. Застосовуючи низькі концентрації фарб, можна також фарбувати різні мікроорганізми і на живих препаратах, що дає змогу краще визначати їхню справжню форму і розміри. Техніка приготування: на предметному склі за допомогою петлі поміщають краплю мікробної культури з краплиною розчину фарби, накривають накривним скельцем і вивчають під мікроскопом.

Препарат «**висяча крапля**» виготовляють на спеціальному предметному скельці з луночкою. Краї луночки обмазують вазеліном. На середину накривного скельця наносять невеличку краплю досліджуваного матеріалу, скельце швидко перевертають крапелькою вниз і накривають ним лунку так, щоб крапля була в центрі заглиблення і не торкалася його дна.

Препарат «**відбитків**» найчастіше виготовляють з мікроорганізмів, які ростуть на агарових пластинках у чашках Петрі. Скальпелем вирізують шматочок агарової пластинки з колонією досліджуваних мікробів і вмішують його на предметне скло колонією догори. Зверху скляною паличкою або петлею легенько притискають чисте накривне скельце. Потім скельце обережно знімають і вмішують відбитком униз у краплину води на другому предметному склі. Виготовлений у такий спосіб препарат вивчають під мікроскопом у сухій та імерсійній системах.

Лабораторна робота № 1

Мікроскопічне вивчення основних форм бактерій

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця, мікробіологічні петлі, спиртівки, пінцети, крапельниця з водою, водні розчини барвників (фуксин, метиленовий синій, карболовий генціанвіолет), кристалізатор із скляним містком для препаратів, смужки фільтрувального паперу, настої різних природних матеріалів (м'яса, риби, борошна, овочів, перегною та ін.), спиртівки, промивалка з дистильованою водою, розчин Люголя, кедрова олія, спирт, досліджувані культури.

Основні відомості

Бактерії відзначаються надзвичайно великим морфологічним і, особливо, фізіологічним різноманіттям. В основі морфологічного різноманіття лежать відміни у розмірах і формі окремих бактеріальних клітин, способах їх ділення, природі та наборі цитоплазматичних включень, будові клітинної стінки, а також структур, що локалізовані ззовні від неї, наявність і форми джгутикування, тип диференціювання форм, що утворюються в процесі їх життєвого циклу.

Форму клітин у бактерій визначає ригідна (жорстка) клітинна стінка. Саме вона надає клітині певну, спадково закріплену зовнішню форму, тому, морфологія клітин є відносно сталою ознакою бактерій.

За формою бактерії традиційно поділяють на кулясті, паличкоподібні або звивисті. Між основними формами існують також і перехідні форми, наприклад, кокобацили та ін.

Хід роботи

Для вивчення морфології бактерій слід приготувати настої з різних природних матеріалів: м'яса, риби, білка яйця, сіна, борошна, овочів, фруктів та ін. Невелику кількість матеріалу подрібнюють, вміщують у склянку, на кінчику

ножа додають трохи крейди і заливають водопровідною водою на 2/3 об'єму склянки. Склянку з настоем витримують в термостаті при t 25–28° С або в теплому приміщенні в темноті 3–5 днів. За цей час в середовищі накопичується велика кількість різних бактерій.

1. З рідкого настою приготувати два препарати: один – прижиттєвий (роздавлена крапля), другий – постійний (мазок).

2. Розглянути препарати під мікроскопом та зарисувати зображення в альбоми.

3. Приготувати фарбовані препарати (просте та складне фарбування).

3.1. На живий мазок нанести краплину фуксину, накрити покривним скельцем, розглянути під мікроскопом.

3.2. Зафіксований попередньо мазок у полум'ї спиртівки профарбувати за Грамом (див методику). Зображення зарисувати.

Контрольні запитання

1. Які ви знаєте основні методи приготування мікробіологічних препаратів?

2. У чому суть фарбування за Грамом?

3. Опишіть основні форми круглих бактерій.

4. Опишіть основні форми паличкоподібних бактерій.

5. Які ви знаєте різноманітні форми звивистих бактерій?

Лабораторна робота № 2

Дослідження дріжджеподібних грибів

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та накривні скельця, спиртівки, чашки Петрі, бактеріологічні петлі, промивалки, чисті культури дріжджів.

Основні відомості

Дріжджі, на відміну від інших грибів, є одноклітинними організмами, які не утворюють справжнього міцелію. За структурною організацією, дріжджові клітини суттєво не відрізняються від клітин інших еукаріотичних організмів. У типовому мікроскопі добре розрізняються клітинна стінка, цитоплазма, вакуолі й диференційоване ядро, а при спеціальних методах фарбування – різні включення.

Розмножуються дріжджі нестатевим і статевим шляхом. Найпоширенішим способом нестатевого розмноження є брунькування, яке можна спостерігати під мікроскопом при застосуванні сухої системи. До найпоширеніших у природі видів дріжджів належать *Saccharomyces cerevisiae* і *Saccharomyces vini*. Останні можна виділити із плодово-ягідних соків, які перебувають у стані бродіння.

Хід роботи

Для вивчення морфології дріжджеподібних грибів найкраще використовувати чисті культури дріжджів, які можна одержати на місцевому дріжджовому або спиртовому заводі. Їх також можна виростити в лабораторії на рідкому 6-7 %-му суслі або сусло-агарі. Із цих культур (найкраще, якщо це будуть 2-3-добові культури) виготовляють живі препарати «роздавлена крапля» або «висяча крапля». Найчастіше використовуються звичайні хлібопекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*.

1. Невеличкий шматочок (3-5г) дріжджової маси помістити у теплу підцукрену воду і через 10-15 хв, коли розчин стане мутним, нанести краплину на предметне скло, накрити скельцем і вивчити під мікроскопом.

На цих препаратах можна вивчати морфологію і будову клітини, характер вегетативного розмноження брунькування.

2. Зарисувати зображення в альбоми.

Контрольні запитання

1. Яку будову мають дріжджі?
2. Як відбувається розмноження дріжджів?
3. Опишіть практичне значення дріжджів.

Лабораторна робота № 3

Тема: Дослідження міцеліальних грибів

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та накривні скельця, спиртівки, чашки Петрі, бактеріологічні петлі, культури грибів, зацвілі продукти.

Основні відомості

Цвілеві гриби аспергіл і пеніцил не мають сумчастої стадії спороношення, тому їх відносять до недосконалих грибів. Вони викликають псування харчових продуктів, а деякі з них використовуються у мікробіологічній промисловості для виробництва лимонної кислоти (*Aspergillus niger*) і антибіотиків (*Penicilium chrysogenum*).

Серед інших видів мікроскопічних грибів у навчальних лабораторіях найчастіше вивчаються мукор, ризопус, ботритіс і молочну цвіль, оскільки вони легко ідентифікуються як візуально (за морфологічними культуральними властивостями), так і під мікроскопом.

Хід роботи

1. Культуральні властивості грибів вивчають візуально, розглядаючи за допомогою лупи колонії, вирощені заздалегідь на поживних середовищах у чашках Петрі. Особливу увагу слід звернути на характер повітряного міцелію (щільний, пухнастий, висота, забарвлення тощо). При культивуванні цих грибів на поживних середовищах у них зазвичай відзначається радіальне розростання грибниці та утворення круглястих колоній. У деяких видів грибів спостерігається характерне забарвлення міцелію, завдяки відкладанню в ньому

пігментів, наприклад, у пеніцилу – зелене, аспергілу – чорне, фузаріума – рожеве. Міцелій різопуса забарвлений у темно-бурий колір, ботритіс – у сірий, молочна цвіль – біле забарвлення.

2. Виготовити препарат „роздавлена крапля”. На предметне скло нанести краплю суміші спирту з гліцерином (1:1) і за допомогою бактеріологічної петлі (розігнутої у вигляді гачка) відібрати невелику кількість міцелію і помістити його в краплю суміші. За допомогою двох препарувальних голок обережно розправити у краплі тоненьким шаром і накрити накривним скельцем.

3. Виготовлений препарат вивчити під мікроскопом при малому і великому збільшенні.

4. Зарисувати специфічні особливості цвілевих грибів

Контрольні питання

1. Що собою являють міцелі альні гриби?
2. Вкажіть спільні та відмінні ознаки клітин грибів і з рослинними та тваринними клітинами.
3. Які ви знаєте цвілеві гриби залежно від їх пігментного складу?
4. Яке значення цвілевих грибів?

Лабораторна робота № 4

Спиртове бродіння

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та накривні скельця, електроплитка, прилад для спиртового бродіння, колби (250 мл), терези з важками, спиртівки, пробірки, 10%-й розчин цукру, 0,1%-й розчин КОН, баритова вода, кристалічний йод, H_2SO_4 , дріжджі.

Основні відомості

Спиртове бродіння спричинюється дріжджами, а також деякими видами бактерій *Sarcina ventriculi* і мукових грибів. Найбільш поширеними

збудниками цього процесу є дріжджові гриби – сахароміцети (*Saccharomices*). Це одноклітинні організми округлої або овальної форми, факультативні анаероби, розмножуються нестатевим і статевим шляхом.

Дріжджі поширені у природі: вони зустрічаються на листках, квітках, плодах, на харчових продуктах, у повітрі, ґрунті тощо.

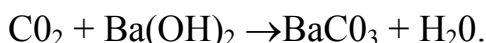
Найхарактернішою ознакою всіх видів дріжджів цього роду є їхня здатність до активного зброджування моно- і дисахаридів з утворенням етилового спирту і CO_2 за такою схемою:



Оптимальна температура для спиртового бродіння дорівнює $28-35^\circ \text{C}$. Серед дріжджів, які застосовуються у виробництві, розрізняють – верхові (хлібопекарські, спиртові, винні) та низові (пивні). На діяльності дріжджів основані такі виробництва: винокуріння, виноробство, пивоваріння, випікання хліба тощо.

Хід роботи

1. За 20-25 хв. до початку занять розвести пресовані дріжджі в 10%-му розчині сахарози ($t 29^\circ \text{C}$). У колбу об'ємом 250 мл налити 50-100 мл 15%-го розчину сахарози і додати 10 мл розведених або 3-5 г свіжих пресованих дріжджів. Колбу закрити гумовою пробкою з газовідвідною трубкою. Нижній кінець цієї трубки занурюють у посудину з водою. Для прискорення бродіння колбу поставити на водяну баню з $t 30-35^\circ \text{C}$. В результаті життєдіяльності дріжджів через 10-20 хв з колби починає виділятися CO_2 . Його збирають у пробірку і визначають за допомогою баритової або вапняної води. Для цього у пробірку з газом додати 5-10 мл баритової води і збовтати.



2. Для якісного визначення спирту в бродильному субстраті по закінченні бродіння в пробірку з 5-10 мл бродильної рідини додати таку саму кількість 20%-го розчину Mn_2CO_3 і 0,1 г порошку кристалічного йоду. Суміш збовтати і нагріти до повного розчинення йоду. Після цього пробірку охолодити. За

наявності спирту в ній утворюється осад з дрібненьких світло-жовтих кристаликів з характерним різким запахом йодоформу.

Контрольні питання

1. Які збудники викликають спиртове бродіння?
2. Опишіть хімізм спиртового бродіння.
3. Яке значення спиртового бродіння?
4. Доведіть, що в процесі спиртового бродіння виділяється вуглекислий газ.

Лабораторна робота № 5

Молочнокисле бродіння

Матеріали та обладнання: молочнокислі продукти, огірковий розсіл, фільтрувальний папір, мікроскопи, предметні та покривні скельця, скляні трубочки.

Основні відомості

Перетворення цукру молочнокислими бактеріями до (переважно) молочної кислоти називається молочнокисле бродіння. Збудники цього процесу – молочнокислі бактерії – дуже поширені в природі. Їх можна знайти скрізь: у повітрі, воді, ґрунті, на поверхні овочів, фруктів і насамперед, у молоці, кишечнику людини і тварин тощо.

Молочнокислі бактерії мають кулясту і паличкоподібну форми, не утворюють спор, нерухливі, грампозитивні.

За характером бродіння їх поділяють на дві групи: гомоферментативні, що утворюють при зброджуванні як основний продукт молочну кислоту, і гетероферментативні, які, крім молочної кислоти утворюють низку інших продуктів: оцтову і янтарну кислоти, спирт, CO₂ тощо.

Молочнокисле бродіння є основою таких важливих виробництв, як переробка молока на кисломолочні продукти, сир і масло, випікання кислого

чорного хліба, квашення овочів, силосування кормів, виготовлення деяких сортів ковбас тощо.

У кип'яченому молоці бродіння не відбувається, тому що внаслідок кип'ятіння молочнокислі бактерії вбиті, а залишилися тільки спори маслянокислих бактерій, що витримали температуру кипіння. За час інкубації ці спори проростають, відбувається маслянокисле бродіння і утворюється масляна кислота. Остання також реагує з казеїном кальцію, в результаті чого випадає казеїнова кислота, що піддається процесу пептонізації з утворенням неприємного запаху масляної кислоти.

Хід роботи

1. Для мікроскопічного вивчення молочнокислих бактерій виготовити препарати з кислого молока.

На стерильне предметне скло бактеріологічною петлею в краплину дистильованої води нанести молочну сироватку. Виготовлений мазок висушити й зафіксувати сумішшю спирту з ефіром (1:1). Цю суміш доцільно наносити кілька разів і витримувати протягом 1 хв. При такій фіксації не тільки вбиваються і прикріплюються до скла бактерії, але й водночас видаляється жир, який заважає мікроскопуванню бактерій.

2. Препарат зафарбувати метиленовим синім або карболовим синім, або карболовим фуксином протягом 2-3 хв, промити дистильованою водою, висушити і вивчити під мікроскопом.

На препаратах добре виявляються молочні стрептококи *Streptococcus lactis*, довгі паличкоподібні бактерії *Lactobacillus bulgaricus*, *L. Acidophilus*. На препарат виготовлених з плівки, що утворилася на поверхні молока або огіркового розсолу добре видно великі клітини молочної цвілі *Oidium lactis*.

Контрольні питання

1. Що таке молочнокисле бродіння?
2. Які збудники викликають даний процес?

3. Опишіть молочнокислі бактерії.
4. Чим відрізняється гомо-та гетероферментне молочнокисле бродіння?
5. Яке значення молочнокислого бродіння?

Лабораторна робота № 6

Маслянокисле бродіння

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця, скляні палички, великі пробірки з гумовими пробками до них, бульби картоплі, пінцети, крейда, водяна баня, розчин Люголя, 5%-ний розчин FeCl₃.

Основні відомості.

Маслянокисле бродіння – складний процес перетворення вуглеводів в масляну кислоту та інші продукти, який здійснюється групою анаеробних спороносних бактерій. Хімізм процесу складний і недостатньо вивчений. Схематично процес можна зобразити так:



Процесу маслянокислого бродіння піддаються і більш складні вуглеводи. Бактерії мають різні ферменти, здатні розщеплювати складні вуглеводи. Утворена масляна кислота в невисоких концентраціях здатна стимулювати ріст вищих рослин.

Хід роботи

Неочищену картоплю нарізати шматочками, які можуть легко ввійти в пробірку. Заповнити ними пробірку на 1/3 об'єму, додати трохи порошку крейди і заповнити водою майже до верху. Пробірки поставити на водяну баню при $t = 80^\circ \text{ C}$ на 10-15 хв. Потім пробірки закрити пробками і перенести в термостат з температурою 25 C. В цих умовах уже через 2-3 дні в рідині виявляються бактерії маслянокислого бродіння.

Культура маслянокислих бактерій являється при цьому елективною, т.я. для неї створені анаеробні умови, безспоріві форми убиті нагріванням, крейда нейтралізує кислоти.

1. На наступному занятті рідину розглянути під мікроскопом, приготувавши препарат, виявити рухливі палички із закругленими кінцями, поодинокі і парні. В старих культурах на одному з кінців можна побачити спору.

2. Зафарбувати препарат розчином Люголя. Виявити гранульозу, яка міститься в клітинах бактерій і забарвлюється в синій колір.

3. З культуральною рідиною провести якісну реакцію на масляну кислоту. До 5мл рідини додати 2 мл 5 % FeCl_3 , нагріти, спостерігати утворення маслянокислого заліза коричневого кольору.

Контрольні запитання

1. Опишіть процес маслянокислого бродіння.
2. Що собою являють збудники маслянокислого бродіння?
3. Яке значення маслянокислого бродіння?

Лабораторна робота № 7

Тема Дослідження мікрофлори повітря

Матеріали та обладнання: термостат, мікроскопи, предметні та накривні скельця, стерильні чашки Петрі, спиртівки, бактеріологічні петлі, пробірки, сухий поживний агар, стерильна вода.

Основні відомості

Найкращим природним середовищем для життя мікробів є ґрунт, а найменш сприятливим повітря. Відсутність поживних речовин, вологи, дія сонячної радіації – всі ці умови негативно впливають на мікроорганізми. В повітря потрапляють мікроби із ґрунту разом з пилом, а також з дрібними

крапельками води, які здуваються з водної поверхні, та іншими шляхами. Чим більше забруднюється повітря пилом, димом, кіптявою, тим більше в ньому мікроорганізмів. Кількість мікробів у повітрі менша там, де є зелені насадження, оскільки рослини не тільки виділяють фітонциди, а й своїми листками затримують пил.

Найчастіше в повітрі трапляються із неспороносних бактерій: *Micrococcus aurantiacus*, *M. albus*, *M. roseus*, *Streptococcus lactis*, *Sarcina flava*, *S. Urea* та інші; із спороносних – *Bacillus subtilis*, *B. mesenteriale*, *B. cereus*, *B. megaterium*. З групи цвільових грибів у повітрі є *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rizopus*, а також дріжджові гриби – *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* тощо. Можуть потрапляти в повітря також різні патогенні мікроорганізми.

Усі методи (кількісні та якісні) дослідження мікрофлори в повітрі та інших природних середовищах об'єднують у дві групи:

1. Методи, які ґрунтуються на безпосередньому аналізі та підрахунку мікроорганізмів під мікроскопом.
2. Методи, зв'язані з вирощуванням мікробів на поживних середовищах та наступним аналізом їх колоній, які утворилися з клітин або спор.

Згідно з метою досліджень, застосовують різні методи кількісного і якісного вивчення мікрофлори повітря. В приміщеннях використовують аспіраційний метод (за допомогою приладу Ю.А. Кротова) і метод осаджування, запропонований Р. Кохом.

Хід роботи

1. Дослідження мікрофлори повітря седиментаційним (лат. осідання) методом (за Р. Кохом). Цей метод є найпростішим і найдоступнішим (його можна використовувати і в шкільних умовах), але він дає тільки приблизні дані про кількість мікробів та їхніх спор у повітрі.

У приміщенні, де визначатимуть мікрофлору повітря, поставити у різних місцях чашки Петрі із стерильним поживним середовищем і відкрити їх на 5-10 хв. Пилінки з мікробами осідають на поверхню поживного агару.

2. По закінченні експозиції чашки закривити, зробити позначки олівцем по склу (де і коли проводився дослід), і поставити їх у термостат при температурі 28-30° С на дві доби.

3. Вивчити культуральні ознаки найхарактерніших колоній, зробити з них мікропрепарати, дослідити їх під мікроскопом.

Контрольні питання

1. Які мікроорганізми населяють повітря?
2. Якими методами можна вивчати мікрофлору повітря?
3. У чому суть седиментаційного методу?
4. Опишіть, якими заходами можна зменшити кількість мікроорганізмів в повітрі.
5. Що таке фітонциди і яке їх значення?

Лабораторна робота № 8

Тема Дослідження мікрофлори води

Матеріали та обладнання: термостат, мікроскопи і предметні та накривні скельця, електроплитка, спиртівки, стерильні чашки Петрі та пробірки, конічні колби (300 мл), сухий поживний агар, питна та забруднена вода.

Основні відомості

У воді відкритих водойм міститься велика кількість мікроорганізмів: бактерії, гриби, водорості, найпростіші, а також віруси тощо. Їхній склад насамперед залежить від джерела, з якого було взято пробу для дослідження, місця і пори року. Якщо вода забруднена, то в ній найчастіше виявляються такі гнильні бактерії: *Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *Proteus vulgaris*, *Ps.*

Fluorescens та інші. Глибинні води і води артезіанських джерел містять мало мікробів. Водопровідна вода вважається чистою, якщо загальна кількість мікроорганізмів у 1 мл становить не більше 100. Наявність у воді представників кишкової мікрофлори людини (*Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Clostridium perfringens* тощо) свідчить про фекальне забруднення, а також про можливість забруднення цієї води патогенними мікробами, а саме сальмонелами, шигелами, холерними вібрионами, збудниками бруцельозу, туляремії, чуми, а також вірусами – епідемічного гепатиту, поліомієліту тощо. При стандартному санітарно-бактеріологічному аналізі води проводять два основних визначення: загальної кількості бактерій у воді та кількості бактерій групи кишкової палички. Ступінь забруднення води мікробами групи кишкової палички оцінюють за колі-титром або колі-індексом. Найменша кількість мілілітрів води, в якій виявляється хоча б одна клітина *E.coli*, називається **колі-титром**. Кількість клітин *E.coli*, виявлених у 1 л води, дістала назву **колі-індексу**.

Хід роботи

1. Визначення загальної кількості бактерій у воді. Відібрати у чисті стерильні пробірки проби води. Водопровідну воду можна не розбавляти, а забруднену потрібно обов'язково розбавляти стерильною водою у співвідношеннях: 1:10, 1:100, 1:1000 (чим більшою є забрудненість, тим більше розведення). За допомогою стерильних піпеток відібрати по 1 мл досліджуваних проб і внести у стерильні чашки Петрі. Потім залити у чашку розплавлене і охолоджене до 45°C стерильне поживне середовище (МПА) та нахилити і обертати чашки для перемішування суміші. Чашки позначити і розмістити у термостаті (після застигання середовища) при температурі 37°C; витримати протягом доби.

2. Розглянуті колонії, що видно при збільшенні в 2-5р. Підрахувати кількість колоній звичайним способом. Якщо посів проводився без попереднього розведення, то кількість колоній, які одержано в чашці, дорівнюватиме вмісту бактерій в 1 мл води. В разі розведення треба помножити

кількість колоній на відповідне розведення і тоді одержимо кількість мікробів у 1 мл досліджуваної води.

Цей метод не дозволяє визначити всі бактерії у воді, а тільки ті, які розвиваються в умовах аналізу. Тому таке визначення не є абсолютним і дає відносну бактеріологічну характеристику води. Для більш ґрунтового дослідження мікрофлори води в мікробіологічних лабораторіях використовують метод мембранних фільтрів.

Контрольні питання

1. Які бактерії населяють водне середовище?
2. Якими методами досліджують мікрофлору води?
3. Дайте визначення колі-титру.
4. Дайте визначення колі-індексу.
5. Що таке сапробність?

Лабораторна робота № 9

Дослідження мікрофлори ґрунту

Матеріали та обладнання: мікроскоп, предметні та накривні скельця, досліджуваний ґрунт, стерильні чашки Петрі з агаром.

Основні відомості

У процесах ґрунтоутворення мікроорганізмам належить надзвичайно важлива роль. Адже під впливом біологічного чинника виникає основна властивість ґрунту, яка відрізняє його від материнської породи – родючість.

Оскільки ґрунт є найкращим середовищем для життя переважної більшості мікроорганізмів, мікрофлора ґрунту дуже різноманітна. У її складі: азотфіксуючі, нітрифікуючі та денітрифікуючі бактерії, целюлозорозкладачі, різні пігментні мікроорганізми, сірко- і залізобактерії, мікоплазми, актиноміцети, гриби, водорості, найпростіші тощо. В ґрунті живуть аеробні,

анаеробні, автотрофні, гетеротрофні, психрофільні, термофільні, галофільні та інші мікроорганізми.

З огляду на різноманітність мікрофлори ґрунту її досліджують різними методами. Серед них: бактеріоскопічний, розроблений С. М. Виноградським, метод пластинок обростання за М. Г. Холодним. Кількісний облік мікроорганізмів методом підрахунку на твердих поживних середовищах, кількісно-якісний облік мікрофлори ґрунту за Д. М. Новогрудським, метод капілярів Б. В. Перфільєва і Д. Р. Габе, облік кількості бактерій у ґрунті за допомогою люмінесцентної мікроскопії за Д. Г. Зв'ягінцевим, облік бактерій в ризосфері за М. О. Красильниковим, облік ризосферної і кореневої мікрофлори методом К. З. Теппер та інші.

Хід роботи.

1. Із зразка досліджуваного ґрунту відважити 1 г і зробити серію розведень у стерильній воді для одержання ґрунтової витяжки. Розведення готують так: у стерильну мірну колбу об'ємом 100 мл вносять 1 г ґрунту, додають 99 мл стерильної води і збовтують впродовж 3 хв. Потім відстоюють 1,5 хв і роблять наступне розведення .

Для виготовлення кожного наступного розведення брати окрему стерильну піпетку. У стерильні чашки Петрі стерильною піпеткою внести 1 мл ґрунтової суспензії (наприклад, 1:100 000) і розподілити рівномірно по дну. Розплавлене стерильне середовище із пробірки виливають у чашку і, обережно похитуючи її, перемішують поживне середовище з ґрунтовою суспензією. З одного розведення готують 4-5 таких чашок.

3. Після застигання середовища для видалення крапель води з кришок чашки Петрі підсушити, позначити і поставити у термостат при температурі 28–30 °С на 3–5 діб.

4. Підрахувати (без відкривання кришки чашки) кількість колоній, що виростили на агарових пластинках. Найкращі результати отримують при утворенні на чашках 20–50 колоній бактерій і 20–30 колоній грибів. Для

підрахунку кількості колоній зручно користуватися спеціальними приладами для підрахунку колоній.

По закінченні підрахунків колоній визначити середнє з 4–5 чашок і помножити на розведення, взате для аналізу. У такий спосіб одержують кількість аеробних мікробів у 1 г сирого ґрунту. Для точних дослідів кількість мікроорганізмів визначається в 1 г повітряно-сухого, а найточніших – абсолютно сухого ґрунту. Для таких розрахунків треба водночас визначати вологість ґрунтової проби.

Кількість мікроорганізмів на 1 г повітряно-сухого фунту розраховують за такою формулою:

$$A = \frac{B \cdot V \cdot G}{D}$$

A – кількість клітин мікробів у 1 г повітряно-сухого ґрунту;

B – середнє число колоній мікроорганізмів у чашці Петрі;

V – відповідне розведення ґрунтової витяжки

G -- кількість крапель у 1 мл рідини в піпетці;

D – наважка ґрунту, взата для аналізу.

Контрольні питання

1. Які бактерії населяють ґрунт?
2. Якими методами досліджують мікрофлору ґрунту?
3. Що таке біогенність ґрунту?
4. Яка роль бактерій в утворенні ґрунту?
5. Яке значення бактерій-целюлозорозкладачів?

Лабораторна робота № 10

Дослідження мікрофлори тіла людини

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та накривні скельця, стерильні чашки Петрі, спиртівки, пінцети, бактеріологічні петлі, пробірки зі

стерильним поживним середовищем, стерильна вата, 0,85%-ний розчин NaCl, фуксин.

Основні відомості

Нормальна мікрофлора тіла здорової людини (еумікробіоз) – сукупність мікробіоценозів усіх її біотопів. Вона сформувалась у процесі еволюції.

Найбільш чисельні мікробіоценози утворились на шкірі, в ротовій і носовій порожнинах, товстому кишечнику. Але внутрішнє середовище макроорганізму (кров, лімфа, тканини) не містить мікробів. Порівняно мало їх у бронхах, легенях, жовчних і сечовивідних шляхах, на слизовій ока.

Кількість і видовий склад мікрофлори залежить від віку, статі, клімату, режиму харчування, мікробіоценозів навколишнього середовища, індивідуальних санітарно-гігієнічних навичок тощо.

До складу мікрофлори тіла людини належать такі найпоширеніші представники мікросвіту: *Sarcina*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* (шкіра) *Neisseria Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Spirillum*, *Spirochaeta* (ротова порожнина), *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* (дихальні шляхи), *Sarcina*, *ST.faecalis*, *Bacteroides*, *Escherichia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*, *Candida* (шлунково-кишковий тракт) та багато інших.

Ознайомлення з мікрофлорою тіла людини має важливе значення, оскільки порушення санітарно-гігієнічного режиму є причиною різних важких захворювань, особливо шлунково-кишкових (дифтерія, холера та інші). Мікрофлору тіла людини можна визначити різними методами. Для цього роблять посіви з пальців рук, зіву, випорожнень тощо.

Хід роботи

1. Метод відбитків. На поживне середовище у стерильних чашках Петрі здійснити посів доторканням пальців до поверхні поживного середовища (утворення так званих „відбитків“).

2. Посів на поверхню середовища за допомогою змиву рук. Пінцетом взяти стерильний ватний тампон, змочити його у 0,85%-му розчині NaCl і протерти шкіру між пальцями, нігті тощо. Після цього тампон покласти у пробірку зі стерильним глюкозо-пептонним середовищем і перемішати деякий час, обережно обертаючи пробірку між долонями.

Засіяні чашки Петрі й пробірки розмістити у термостаті при температурі 37°C на 24 год. Вийняти чашки і витримати їх протягом 2-3 днів при кімнатній температурі. За цей час утворюються колонії сарцин, стафілококів, різних пігментних бактерій, цвілевих і дріжджових грибів тощо.

3. Розглянути колонії за допомогою лупи та під мікроскопом.

Контрольні питання

1. Що таке еумікробіоз?
2. Які мікроорганізми можуть бути присутні на тілі людини.
3. Назвіть методи, якими досліджують мікрофлору тіла людини?

Лабораторна робота № 11

Дослідження мікрофлори ротової порожнини

Матеріали та обладнання: мікроскопи, предметні та накривні скельця, спиртівки, пінцети, зубочистки, стерильна вода, реактив Люголя, фуксин, карболовий генціанвіолет, спирт.

Основні відомості

У ротовій порожнині людини можна виявити чимало різних видів мікроорганізмів, оскільки умови є сприятливими для їхнього розвитку. Тут є достатня кількість поживних речовин, оптимальна температура і слабколужна реакція. Чимало мікроорганізмів заноситься в ротову порожнину ззовні разом з їжею, водою і повітрям. Особливо велику кількість бактерій можна виявити у порожнині рота біля шийок зубів і в проміжках між ними. Наявність каріозних

зубів є причиною дуже великої кількості бактерій у ротовій порожнині. Ці мікроби вважаються нешкідливими. Однак при пошкодженні слизових оболонок багато які з них можуть проникати в тканини тіла і спричиняти різні захворювання.

Серед мікроорганізмів ротової порожнини переважають стрептококи, лактобактерії, коринебактерії, спірили і спірохети, найпростіші, гриби.

Хід роботи

1. На стерильне предметне скло нанести краплину дистильованої води. За допомогою зубочистки відібрати трохи зубного нальоту, змішати з водою і виготовити фіксований мікропрепарат: мазок висушити, зафіксувати на полум'ї спиртівки і зафарбувати двома способами: фуксином та за Грамом. Потім препарат промити дистильованою водою і знову висушити. Виготовлений мікропрепарат вивчити під мікроскопом, описати і зарисувати.

Контрольні питання

1. Які основні мікроорганізми присутні у ротовій порожнині?
2. Якими методами можна дослідити мікрофлору тіла людини?
3. Яке значення мікрофлори тіла людини?

Лабораторна робота №12

Вивчення бульбочкових бактерій

Матеріали та обладнання: мікроскопи , предметні та накривні скельця, спиртівки, бритви, скальпелі, препарувальні голки, фіксовані у формаліні або свіжі корені з бульбочками різних бобових рослин, розчин фуксину.

Основні відомості

Бульбочкові бактерії, які живуть у симбіозі з бобовими рослинами, належать до роду *Rhizobium*. У молодих бульбочках вони мають форму рухливих паличок з перитрихальним розміщенням джгутиків. З розвитком

бульбочки бактерії втрачають джгутики, стають нерухомими, розростаються і перетворюються на розгалужені форми – так звані бактеріоди. Дослідження показують, що саме в цій стадії відбувається найінтенсивніше зв'язування бактеріями молекулярного азоту.

Бульбочкові бактерії характеризуються вірулентністю, специфічністю і активністю. Вірулентність – здатність бактерій проникати в тканину кореня, розмножуватись там і спричиняти утворення бульбочок. Бульбочкові бактерії можуть заражати лише певну групу бобових рослин. Вибіркова здатність їх відносно рослин дістала назву специфічності, а здатність у симбіозі з рослинами асимілювати молекулярний азот – активності.

Хід роботи

1. З бульбочок коренів люпину, гороху або квасолі зробити лезом тонкі поперечні та поздовжні зрізи. Приготувати препарати „роздавлена крапля" і вивчають під мікроскопом при сухій та імерсійній системах.

2. Виготовити фіксовані препарати, зріз бульбочки або малу бульбочку роздавити на предметному склі та з вичавленої маси зробити мазок. Висушений мазок зафіксувати на полум'ї спиртівки і зафарбувати фуксином, карболовим еритрозином або генціанвіолетом.

Гарні результати одержують при фарбуванні препаратів сумішшю рівних частин метиленового синього і фуксину, розчинених у 1%-му розчині CH_3COOH . Для цього витримати препарат у суміші фарб протягом 3-5 хв. Тканина бульбочки фарбується в синій колір, а бактерії – в червоний. Препарати вивчають і зарисовують.

Контрольні питання

1. Опишіть взаємозв'язки мікроорганізмів та вищих організмів.
2. Дайте визначення терміну «бактеріориза».
3. Наведіть приклади мікориз.

Лабораторна робота № 13

Захворювання пов'язані із забрудненням їжі мікробами

Обладнання: презентації.

Основні відомості

Значна кількість інфекційних захворювань людини пов'язана із забрудненням їжі мікробами. В першу чергу такі захворювання слід диференціювати від харчових отруєнь, викликаних миш'яком, солями важких металів, рослинними та тваринними отрутами.

Отруєння їжею інфекційного характеру має ряд характерних особливостей:

- 1) Захворювання протікає гостро;
- 2) Обов'язково обумовлене прийомом їжі, яка містить патогенні мікроорганізми або отруйні продукти їх життєдіяльності;
- 3) Захворювання виникає несподівано;
- 4) Захворювання носить масовий характер.

Такі захворювання можна підрозділити на наступні категорії:

1. Інфекції харчового походження:

- а) типові (звичайного протікання).
- б) атипові (токсоінфекційного характеру).

2. Харчові токсикоінфекції:

а) обумовлені умовнопатогенними для людини представниками бактерій із роду *Salmonella*.

- б) токсикоінфекції колібацилярного походження;
- в) інші токсикоінфекції.

3. Харчові інтоксикації (токсикози):

- а) бактеріальної природи (отруєння стафілококовим токсином, ботулізм);
- б) грибкової природи.

Хід роботи

1. Розглянути основні захворювання пов'язані із забрудненням їжі.
2. Дати характеристику основним збудникам хвороб, пов'язаних із харчовими продуктами.
3. Розглянути на презентації зовнішній вигляд збудників.

Контрольні питання

1. Інфекції харчового походження.
2. Харчові токсикоінфекції та їх різновиди.
3. Харчові інтоксикації.

Лабораторна робота № 14

Мікробіологія харчових продуктів (Бактеріологічний аналіз молока)

Матеріали та обладнання: пробірки, циліндри, стерильні піпетки Мора (1 мл), редуцтазник з нагрітою до 40 °С водою, розплавлений МПА, насичений розчин метиленового синього, стерильне та свіже молоко.

Основні відомості

Молоко є найпоширенішим продуктом харчування людини. В ньому містяться білки, амінокислоти, вуглеводи, молочний жир, вітаміни А, С, Д, групи В, Е, РР та збалансований склад мінеральних речовин тощо.

Молоко являє собою дуже сприятливе середовище для розмноження та зберігання різних видів мікроорганізмів. Кількість їх у 1 мл молока може сягати кількох мільйонів. Засівання молока мікробами відбувається переважно під час доїння і зберігання. Найчастіше в молоці переважають мікрококи, молочнокислі бактерії та інші. У забрудненому молоці міститься значна кількість представників групи кишкової палички, а також маслянокислі та гнильні бактерії. За певних умов у молоко потрапляють патогенні мікроби, що може спричинитися до виникнення епідемій серед населення.

У навчальних лабораторіях найчастіше визначають загальну кількість мікроорганізмів у молоці (мікробне число), колі-титр і пробу на редуктазу. Визначення в молоці патогенних мікробів здійснюється в спеціальних мікробіологічних лабораторіях.

Хід роботи

Об'єм проби молока повинен бути не меншим за 50 мл. Посуд, в який відбирають пробу, має бути стерильним. Пробу необхідно досліджувати одразу після її взяття. У лабораторії молоко зберігати при температурі 4–6 °С.

Існує шкала оцінки якості молока за кількістю мікробів у 1 мл. До першого класу належить молоко, в 1 мл якого налічується до 500 000 мікробів, до другого – від 500 000 до 4 000 000, до третього – від 4 000 000 до 20 000 000 і до четвертого – понад 20 мільйонів. Якість молока першого класу вважається доброю, другого – задовільною, третього – сумнівною, четвертого – незадовільною.

Для оцінки засіяності молока мікробами часто використовують такий орієнтовний метод, як проба на редуктазу. Мікроорганізми молока в процесі життєдіяльності виробляють ферменти типу редуктаз, які каталізують відновні процеси в молоці. Час, необхідний для відновлення фарби-індикатора, обернено пропорціональний кількості мікробів у молоці. Основна різниця між визначенням кількості мікроорганізмів на чашках Петрі і редуктазною пробєю полягає в тому, що в першому випадку визначають кількість колоній, а в другому – біохімічну активність мікрофлори молока.

Проба на редуктазу проводиться за такою методикою. У стерильні пробірки з гумовими корками вливають по 20 мл сирого молока, підігрітого до 40 °С і по 1 мл 2,5 %-го розчину метиленового синього. Пробірки закорковують і тричі перемішують, обережно повертаючи. Після цього пробірки ставлять на водяну баню або в термостат при температурі 38–40 °С. Спостереження за забарвленням молока проводять через 20 хв, 2 год і 5,5 год. Дослідження закінчують після повного знебарвлення метиленового синього. Верхній шар

молока в пробірках інколи залишається синім, але це не береться до уваги. Залежно від часу знебарвлення, проби відносять до одного із чотирьох класів молока.

Якісні характеристики молока

Показник	Клас			
	1	2	3	4
Час затрачений на знебарвлення, год	1/2	1/2	1/3	1/3
Кількість мікробів у 1 мл молока, млн	~ 0,5	0,5-4	4-20	> 20
Якість молока	Добра	Задовільна	Сумнівна	Незадовільна

Контрольні питання

1. Опишіть мікробіологічні особливості молока і молочних продуктів.
2. Опишіть мікробіологічні особливості м'яса.
3. Які захворювання можуть бути спричинені мікробіологічними чинниками яєць?
4. Яка мікробіологія рибопродуктів.

Лабораторна робота № 15

Основні захворювання бактеріального походження

Обладнання: презентації

Основні відомості

Бактеріальні хвороби належать до інфекційних. Інфекційні хвороби – розлади життєдіяльності людей і тварин, що викликаються живими збудниками (вірусами, бактеріями, рикетсіями), продуктами їх життєдіяльності (токсинами), патогенними білками (пріонами), передаються від заражених осіб здоровим і можуть масово поширюватися.

Основні шляхи передачі інфекцій

Контактний	Прямий контакт хворої людини зі здоровою
Контактно-побутовий	Передавання інфекції через предмети домашнього вжитку (білизна, посуд), забрудненні виділеннями хворого
Повітряно-капельний	Через повітря
Через воду	При використанні забрудненої води для пиття, побутових та господарських потреб
Через харчові продукти	При використанні забруднених й заражених харчових продуктів

Бактеріальні хвороби

Стрептококова інфекція. Стрептококи проникають через ушкоджену шкіру, слизові оболонки, протоки сальних та потових залоз, волосяні мішечки шкіри. В цих місцях виникають абсцеси і флегмони. Проникаючи по лімфатичних шляхах в глибину тканин й органів, стрептококи викликають запалення: ангіни, цистити і пієліти (сечових шляхів), перитоніти, холецистити (жовчного міхура), суглобів (артрити), враження клапанів серця (ендокардити). Проникаючи в кров, вони можуть викликати сепсис (наприклад, після родів). Передається інфекція при прямому контакті з хворою людиною, повітряно-крапельним шляхом і через харчові продукти, зокрема, молоко.

Холера – це гостре інфекційне захворювання, яке викликається вібріоном Коха. Захворювання починається через 2-3 дні після проникнення збудника в кишечник. Смертність – 40-50%. Зараження – відбувається контактним шляхом через брудні руки, харчові продукти і воду.

Дифтерія. Збудник – паличкоподібний мікроб, який виділяє екзотоксин. В горлі у хворих утворюються плівки, які містять велику кількість мікробів. Токсин, який виділяється ними, викликає запалення слизових оболонок і шкіри, вражає нервові клітини, наднирники, серце, ЦНС. Джерелом інфекції служить хвора людина і бактеріоносії. Передається хвороба повітряно-крапельним шляхом, через книги, іграшки, предмети побуту, через харчові продукти, зокрема, молоко.

Туберкульоз. Збудник – паличка Коха, яка попадає в організм через дихальні шляхи, найчастіше спостерігається туберкульоз легень. Хронічне захворювання, яке характеризується підвищенням температури до 39-40⁰С, ознобом і потом, порушенням діяльності ЦНС, судинної системи. Зараження – повітряно–крапельним та повітряно-пиловим шляхом, через молочні продукти.

Лептоспіроз – викликається вигнутими формами бактерій – лептоспірами, які являються патогенними для багатьох видів тварин – морських свинок, крис, мишей, кролів, собак та ін. Захворювання у людини починається через 6-8 днів з високої t⁰, головного болю, безсонням, біль в м'язах, запалення очей і обличчя, носових кровотеч, може з'явитись жовтуха. Продовжується хвороба 2-3 тижні. Лептоспіри вражають в першу чергу гризунів. Людина заражається при контакті з водою (пиття, купання, робота в воді), інфікованою гризунами).

Хід роботи

1. Розглянути за допомогою презентацій на конкретних прикладах шляхи передачі інфекцій.
2. За допомогою презентацій, рисунків розглянути та вивчити основних збудників бактеріальних захворювань людини, тварин.
3. Заповнити таблицю.

Захворювання	Збудник	Симптоми
Стрептококова інфекція		
Дифтерія		
Туберкульоз		
Колієнтерит		

4. Розглянути основні заходи профілактики бактеріальних захворювань

Контрольні питання

1. Що таке інфекція?
2. Які шляхи передачі інфекції вам відомі?
3. Опишіть бактеріальні хвороби.

Лабораторна робота № 16

Віруси. Вірусні захворювання

Обладнання: презентації, схеми. Таблиці зі зображеннями основних форм вірусів.

Основні відомості

За К. С. Суховим, віруси характеризуються такими основними ознаками:

- 1) дуже малими розмірами тіла (вимірюються нанометрами);
- 2) відсутністю клітинної будови;
- 3) відносно простим хімічним складом (найпростіші віруси складаються з білка і нуклеїнової кислоти);
- 4) нездатністю до культивування на штучних синтетичних середовищах;
- 5) особливим циклом розвитку в організмі сприятливого хазяїна або частиною цього циклу в безклітинному середовищі, яке включає деякі органоїди клітини і речовини, необхідні для синтезу нуклеїнових кислот і білків;
- б) здатністю деяких із них кристалізуватися за певних умов довкілля.

Суттєвими ознаками, що відрізняють віруси від усіх інших відомих організмів, є **відсутність власних систем білка** (це визначає характер паразитизму вірусів – паразитизм на генетичному рівні) і те, що віруси є **неклітинними формами життя**.

Віруси можуть уражати рослини, тварини, людину.

Хід роботи

1. Розглянути (на таблицях, схемах, презентаціях) основні типи вірусів (за розмірами, формою, типом симетрії, вмістом нуклеїнової кислоти).
2. За допомогою схем розглянути способи розмноження вірусів та шляхи передачі інфекції.
3. Вивчити особливості будови бактеріофагів.

4. Розглянути основні види вірусних хвороб рослин – мозаїки та жовтяниці.

5. Вивчити основні збудники вірусних хвороб людини.

6. Ознайомитися із вірусними хворобами тварин.

7. Заповнити таблицю.

Захворювання	Збудник	Симптоми
Тютюнова мозаїка		
Мозаїка картоплі		
Жовтяниця цукрових буряків		
Грип		
Герпес		
Синдром набутого імунодефіциту (СНІД)		
Кіру		
Ящур		
Сказ		

Контрольні питання

1. Вкажіть основні ознаки вірусів.
2. Наведіть різноманітні класифікації вірусів.
3. Як відбувається розмноження вірусів?
4. Опишіть вірусні хвороби рослин та заходи їх профілактики.
5. Які ви знаєте вірусні захворювання людини та тварин?

Рекомендована література

Базова

1. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології / Векірчик К. М. – К. : Либідь, 2001. – 312с.
2. Дикий И. Л. Мікробіологія / Дикий И. Л. – К. : Видавничий дім “Професіонал”, 2007. – 624с.
3. Ситник І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія / І. О. Ситник, С. І. Климнюк., М. С. Творко. – Тернопіль : ТДМУ, 2009. – 392 с.
4. Каплін, М. М. Практикум до практичних занять з мікробіології, вірусології та імунології / Ч.1 : Загальна бактеріологія та імунологія / М. М. Каплін, В. М. Голубнича, Т. В. Івахнюк. – Суми : СумДУ, 2013. – 157 с. – 79-85.
5. Ткачук О. О. Основи мікробіології та інфекційних хвороб / О. О Ткачук, О. Л. Завальнюк. – Вінниця. – 2013. – 152с.

Додаткова література

1. Білоруська Й. С. Основи мікробіології, санітарії та гігієни / Й.С. Білоруська– К. : Техніка, 2003.– 128с.
2. Бойчук Ю. Д. Екологічні проблеми харчування людини / Ю. Д. Бойчук, Е. М. Солошенко, В. І. Смоляр. – Черкаси, 2002. – 92с.
3. Векірчик К. М. Практикум з мікробіології / К. М. Векірчик – К. : Либідь, 2001. – 144с.
4. Громов Б. В. Екологія бактерій / Б. В. Громов, Г. В. Павленко. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1989.– 248с.
5. Люта В. А. Практикум з мікробіології: навчальний посібник / В. А. Люта, О. В. Кононов. – К. : Медицина, 2008. – 184 с.
6. Словник по мікробіології, вірусології, імунології та інфекційних хвороб / [Під ред. Палія Т. К.]. – Вінниця: Б.в. 1995. – 109с.