



***МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВЫХ
ПРОИЗВОДСТВ
КАФЕДРА "ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА"
УЧЕБНЫЙ КУРС "МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ"***

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

По теме "Микробиологическая лаборатория. Техника безопасности в микробиологической лаборатории. Световой микроскоп и техника микроскопирования. Основные формы бактерий. Определение размеров микроорганизмов."

Подготовила Нестерова Н.М. 21-ОЗВС-2

- **Цель занятия:** Ознакомиться с назначением микробиологической лаборатории, техникой безопасности при работе с патогенными микроорганизмами; с приемами микроскопического исследования бактериальных препаратов; основными формами бактерий и методами определения размеров бактериальных клеток.
- **Оборудование и материалы:** Термостаты; анаэроостаты; холодильники; сушильные шкафы; автоклавы; центрифуги; вакуумные насосы; дистиллятор; водяные бани; потенциометр; фильтры; фазово-контрастное устройство; окуляр- и объект-микрометры; окрашенные препараты бактерий; иммерсионное масло.
- **Вопросы для обсуждения:** 1. Техника безопасности при работе в диагностических микробиологических лабораториях. 2. Ход световых лучей в иммерсионной системе микроскопа, фазово-контрастном устройстве, темно-польном конденсоре, люминесцентном микроскопе. 3. Основные формы бактерий. 4. Методы определения размеров бактерий?



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С МИКРООРГАНИЗМАМИ.



Ветеринарные врачи и ветеринарно-санитарные эксперты востребованы в микробиологических лабораториях, которые являются составной частью государственных ветеринарных станций по борьбе с болезнями животных, или входят в структуру предприятий по производству пищевых продуктов.

Например, районная ветеринарная лаборатория проводит в плановом порядке с целью диагностики заболеваний животных (в том числе птиц, пушных зверей, пчел и рыб) бактериологические, микроскопические, серологические и другие лабораторные исследования материалов, поступающих из животноводческих хозяйств или от физических лиц; исследует корма и воду - с целью определения их безвредности для животных.

Крупные ветеринарные лаборатории имеют отделы ветеринарно-санитарной экспертизы, которые проводят микробиологические исследования пищевых продуктов с целью сертификации (по направлению органов по сертификации), контроля за производством мясо- и рыба-перерабатывающих предприятий, молочных цехов, а также за производством другой продукции, согласно области аккредитации.

В микробиологических лабораториях на мясоперерабатывающих предприятиях проводят выборочный микробиологический контроль поступающего мясного сырья и вспомогательных материалов; мяса и других продуктов; колбасных изделий; натуральных и рубленых полуфабрикатов, кулинарных изделий и быстрозамороженных блюд; консервов.

В производственных микробиологических лабораториях на предприятиях молочной промышленности осуществляют контроль молока и сливок, поступающих на завод; контроль производства молока и сливок пастеризованных; контроль производства стерилизованного молока и сливок; контроль производства и качества заквасок, кисломолочной продукции; контроль производства масла, сгущенных и сухих молочных консервов; контроль санитарно-гигиенического состояния производства и рук работников; контроль воды и воздуха.

Работа в лабораториях по диагностике инфекционных болезней сопряжена с опасностью заражения персонала и микробного загрязнения окружающей среды патогенными биологическими агентами (ПБА). К ПБА относят микроорганизмы различных групп: бактерии, вирусы, микроскопические грибы, гельминты, а также любые материалы, где возможно их присутствие. В Российской Федерации принята классификация ПБА по степени опасности для человека на четыре группы:

I группа — возбудители особо опасных инфекций (возбудитель зооантропонозной чумы);

II группа — возбудители высококонтагиозных (заразных) инфекционных болезней человека (бактерии - возбудители сибирской язвы, бруцеллеза, туляремии, сапа, холеры, возбудители некоторых риккетсиозов, хламидиозов; микроскопические грибы — возбудители бластомикоза, гистоплазмоза, кокцидиоидомикоза);

III группа — возбудители инфекционных болезней, выделяемых в самостоятельные нозологические единицы (бактерии - возбудители кампилобактериоза, ботулизма, столбняка, лептоспироза, листериоза, туберкулеза, проказы, эризипелоида, нокардиоза, пастереллеза, сальмонеллеза, легионеллеза, псевдотуберкулеза, возбудители некоторых риккетсиозов и хламидиозов; микроскопические грибы - возбудители аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза);

IV группа - обширная группа условно-патогенных микроорганизмов, обитающих в макроорганизме и способных при снижении его общей устойчивости вызывать различную патологию.

В приведенном материале не представлены возбудители вирусных инфекционных болезней.



По указанным выше причинам микробиологические лаборатории, работающие с ПБА, размещают в зданиях либо секциях с отдельным входом.

Помещения лаборатории разделяют на «грязную» и «чистую» зоны, в первой работают с ПБА, во второй — нет. Между «чистой» и «грязной» зонами располагается санпропускник.

В «чистой зоне» находятся:

- гардероб;
- комната отдыха;
- подсобные помещения;
- моечная;
- препаратная;
- помещения для приготовления, контроля и хранения в холодильных камерах питательных сред и диагностических биопрепаратов;
- комната заведующего лабораторией.

В «грязной» зоне располагаются:

- помещения для приема и регистрации материала, поступающего для исследования;
- комнаты для бактериологических, серологических, гельминтологических исследований;
- термостатная комната;
- автоклавная.

Окна и двери всех помещений должны герметично закрываться. Приточно-вытяжную вентиляцию «грязной» зоны оборудуют фильтрами тонкой очистки выбрасываемого воздуха.

Помещения для проведения работ с живыми ПБА должны быть оборудованы бактерицидными лампами.

Обязательна маркировка автоклавов, столов, стеллажей для чистого и инфицированного материала.

Покрытие лабораторной мебели, поверхности пола, стен и потолка должны быть гладкими и устойчивыми к действию моющих и дезинфицирующих средств.

В соответствии с техникой безопасности при работе с ПБА выполняются следующие требования:

1. сотрудники допускаются к работе с патогенным биологическим материалом (ПБМ) после инструктажа по технике безопасности, который проводится не реже одного раза в год;
2. персонал должен быть обеспечен средствами индивидуальной защиты (халаты, шапочки, сменная обувь);
3. персонал должен работать в резиновых перчатках и масках;
4. перед стиркой одежда должна быть обезврежена;
5. емкости с ПБМ помещают на лотки с салфетками, смоченными дезинфицирующим раствором;
6. перед работой следует проверить качество посуды, пипеток, шприцев и другого оборудования;
7. при работе с пипетками необходимо пользоваться только резиновыми грушами или автоматическими устройствами;
8. строго запрещено переливать материал через край сосуда (пробирки, колбы), а также оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любых работ с ПБМ;
9. в грязной зоне запрещается курить, пить воду, хранить верхнюю одежду, головные уборы, обувь, пищевые продукты;;
10. после окончания работы все объекты, содержащие ПБМ, должны быть убраны в хранилища (холодильники, термостаты, шкафы);
11. использованные пипетки полностью (вертикально) погружают в дезинфицирующий раствор, избегая образования пузырьков в каналах;
12. категорически запрещено сливать отходы с ПБМ в канализацию без предварительного обеззараживания;
13. остатки ПБМ, использованную посуду и оборудование собирают в закрывающиеся ёмкости и передают в автоклавную;
14. после окончания работы с ПБМ проводится дезинфекция рабочих поверхностей столов.

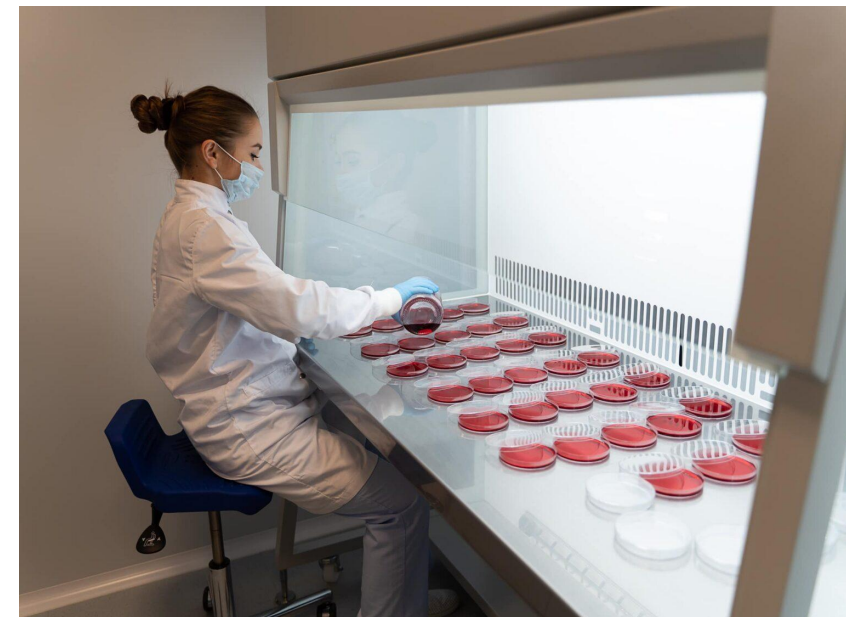
Каждая лаборатория, независимо от ее принадлежности, получает право на деятельность только при условии наличия санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения в ней работ с ПБА (выдается сроком на пять лет).

Работу с ПБА III-IV групп разрешают главные государственные санитарные врачи субъектов РФ, I – II групп — Главный государственный санитарный врач РФ.

Сотрудники лаборатории должны иметь высшее или среднее специальное образование и ежегодно проходить инструктаж по технике безопасности работ с ПБА.

В **учебных** микробиологических аудиториях ВУЗов студенты обязаны соблюдать следующие минимальные требования по **технике безопасности**:

- входить в помещение лаборатории и работать в ней разрешается только в специальной одежде – халате и головном уборе (шапочка, косынка);
- исследуемый материал должен рассматриваться как потенциально содержащий ПБА;
- не разрешается вносить посторонние предметы; личные вещи (портфели, сумки) оставляют в отведенных для этой цели местах;
- категорически запрещается принимать пищу;
- не разрешается зажигать одну горелку от другой во избежание взрыва;
- нельзя находиться в помещениях при работающих бактерицидных лампах;
- в случае попадания материала или культур микроорганизмов на пол, стол, эти поверхности обрабатывают дезинфицирующим раствором;
- после окончания работы использованный материал (патологический материал, бактериальные, грибные культуры, инструменты и др.) студенты передают преподавателю или лаборанту для обеззараживания, рабочее место тщательно убирают и дезинфицируют; моют и дезинфицируют руки; халаты и головные уборы складывают в полиэтиленовые пакеты.
- после ознакомления с правилами техники безопасности на кафедре микробиологии студенты расписываются в соответствующем журнале.



ОСНОВНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ.



Лаборатории в обязательном порядке оснащают следующим **оборудованием**:

1. **Термостаты**. Используют для культивирования микроорганизмов. Это шкаф с двойными стенками, пространство между которыми заполнено водой или воздухом; снабжен устройством для поддержания постоянной температуры в диапазоне 28-43°C (стабильную температуру лучше поддерживают водяные термостаты).

2. **Микроанаэростаты**. Необходимы для культивирования микроорганизмов в анаэробных условиях; представляют собой герметические емкости, в которые помещают пробирки, чашки Петри с посевами и затем с помощью насоса удаляют из них воздух или при помощи реактивов нейтрализуют кислород.

3. **Печь Пастера и автоклав**. Служат для стерилизации инструментов, лабораторной посуды, питательных сред, спецодежды и т.д. Их устройство и принцип работы подробно изложены в теме 6.

4. **Холодильники бытовые** с температурой 4-6°C и низкотемпературные (_ 20°C и ниже). Используют для хранения питательных сред, культур микроорганизмов, вакцин, сывороток, поступившего для бактериологического исследования материала.

5. **Центрифуги** настольные, рефрижераторные (для разделения компонентов в условиях низких температур), микроцентрифуги предназначены для осаждения микроорганизмов, отделения форменных элементов от плазмы крови и др.

6. **Микроскопы** предназначены для обнаружения микроорганизмов в исследуемом материале и изучения морфологических характеристик клеток выделенных культур микроорганизмов.

Помимо перечисленного оборудования в лаборатории необходимы: **горелки, вакуумные насосы, дистилляторы, технические и аналитические весы, водяные бани, потенциометр, стерилизующие фильтры, гомогенизаторы, аппараты для изготовления ватно-марлевых пробок, лабораторная посуда – чашки Петри, бактериологические и серологические пробирки, пластиковые планшеты для культуральных работ и микротитрования, колбы, мерные цилиндры, матрацы, градуированные и пастеровские пипетки, специальные инструменты – бактериологические петли, иглы, шприцы, пинцеты, шпатели, ножницы; счетчик колоний; оборудование для компьютеризации и автоматизации бактериологических и серологических исследований.**

Световой микроскоп и техника микроскопирования.

Микроскопы, дающие увеличение в сотни (световой) или тысячи раз (электронный), используют для изучения морфологии и строения микроорганизмов.

Бактериологические лаборатории снабжены микроскопами различных типов: МБР-1, МБИ-1, МБИ-2, МБИ-3, МБИ-6, «Биолам» и др.

К **механическим частям** микроскопа относят штатив, состоящий из основания и держателя тубуса. К держателю тубуса прикреплены: тубус, револьвер – вращающийся диск с гнездами для объективов и предметный столик с клеммами, фиксирующими предметное стекло с изучаемым объектом. Тубус передвигают вверх-вниз при помощи макро- и микрометрического винтов.



Оптическая часть микроскопа состоит из осветительного аппарата, зеркала, апертурной диафрагмы, конденсора, объективов и окуляров.

Зеркало подвижно закреплено под конденсором, одна его поверхность плоская, другая – вогнутая. При работе с конденсором используют плоскую, без конденсора – вогнутую поверхность зеркала.

Конденсор применяют для концентрирования отраженных зеркалом лучей света, фокус которых должен находиться в плоскости препарата. Верхняя линза конденсора плоско-выпуклая, нижняя – двояковыпуклая. Под конденсором помещена апертурная (ирисовая) диафрагма. Изменяя диаметр отверстия диафрагмы, через которое проходит пучок света, регулируют интенсивность освещения поля зрения.

Объективы состоят из нескольких линз, заключенных в металлическую оправу. Только одна линза (фронтальная) выполняет функцию увеличения, остальные предназначены для коррекции изображения. Под рабочим расстоянием объектива понимают расстояние от плоскости фронтальной линзы до изучаемого объекта при нахождении последнего в фокусе. Чем больше увеличение объектива, тем меньше рабочее расстояние и поле зрения. На корпусе объектива обозначены его увеличивающая способность (x8, x20, x40, x90) и числовая апертура, которая показывает количество света, попадающего в линзу.

Окуляр содержит глазную и собирательную линзы, которые увеличивают изображение, полученное при помощи объектива. На окулярах указано их увеличение (x5, x7, x10, x15).

Общее увеличение микроскопа равно произведению мощности окуляра и объектива: например, окуляр x10 и объектив x90 увеличивают объект в 900 раз.



Иммерсионная система микроскопа. Важно получить не только увеличенное, но и четкое изображение исследуемого объекта. Четкость изображения зависит от разрешающей способности микроскопа, которую понимают как минимальное расстояние между двумя точками, при котором они видны раздельно. Повысить разрешающую способность микроскопа можно за счет применения более коротких лучей света или, что более доступно, за счет приближения показателя преломления среды, граничащей с линзой, к аналогичному показателю стекла. С этой целью прослойку воздуха между линзой объектива и предметным стеклом замещают специальной жидкостью с показателем преломления, близким к показателю преломления стекла. Особенно это необходимо при использовании объективов большого увеличения ($\times 90$ и более) с фронтальными линзами малой площади. Показатель преломления стекла и воздуха составляет, соответственно, 1,52 и 1,0. Поэтому в качестве иммерсионных жидкостей, создающих оптически однородную среду между предметным стеклом и линзой объектива, применяют чаще всего кедровое масло ($n = 1,5$), глицерин ($n = 1,4$), воду ($n = 1,3$). Ход лучей света при использовании обычного (сухого) и иммерсионного объективов показан на рисунке 2. Объективы для масляной иммерсии обозначают «МИ», водной — «ВИ».

Последовательность **операций при микроскопическом исследовании** объектов следующая:

1. проверяют состояние конденсора: он должен быть поднят до уровня предметного столика, диафрагма открыта;
2. приподняв тубус микроскопа, вводят в рабочее положение объектив с наименьшим увеличением ($\times 8$, $\times 10$);
3. глядя в окуляр, при помощи зеркала добиваются полного освещения поля зрения;
4. на исследуемый препарат наносят каплю кедрового масла (или его заменителя);
5. помещают препарат на предметный столик, поворотом револьвера устанавливают иммерсионный объектив (чтобы избежать соприкосновения объектива со столиком, тубус следует держать приподнятым);
6. под контролем глаза (смотреть сбоку) фронтальную линзу объектива легким поворотом макрометрического винта погружают в каплю иммерсионного масла и, наблюдая в окуляр, осторожно поднимают тубус до видимости препарата;
7. легкими поворотами микрометрического винта (вперед-назад) регулируют четкость изображения;
8. в конце работы тубус приподнимают макровинтом, револьвер переводят в нейтральное положение, масло с линзы осторожно снимают мягкой хлопчатобумажной тканью;
9. микроскоп убирают в футляр или накрывают колпаком для защиты от света.

Чтобы исследовать под микроскопом живые, неокрашенные микроорганизмы, используют особые оптические системы: фазово-контрастное устройство или темнопольный конденсор.

Фазово-контрастное устройство включает в себя:

1. фазовую пластинку — расположенный в задней фокальной плоскости объектива прозрачный диск, на поверхность которого напылено кольцо из металлов (фазовое кольцо);
2. кольцевую диафрагму — помещенную под конденсором светонепроницаемую пластину с прозрачным кольцевидным участком.

Световая волна при прохождении через живую клетку отстает по фазе приблизительно на четверть длины волны и дополнительно сдвигается еще на четверть после прохождения через фазовую пластинку.

После прохождения через фазовую пластинку лучи либо совпадают и складываются с прямыми лучами, идущими мимо объекта, либо оказываются в противофазе. В первом случае исследуемый объект виден как светлый на темном фоне, а во втором — как темный на светлом фоне. В микробиологии широко применяют фазово-контрастное устройство КФ-4, при использовании которого объект виден темным на светлом фоне.

Последовательность перехода к работе с фазово-контрастным устройством:

1. обычный конденсор заменяют фазово-контрастным, объектив х40 – на аналогичный фазовый объектив;
2. диск револьвера конденсора поворачивают до появления в окошечке цифры «0»;
3. диафрагму конденсора полностью открывают;
4. используя объектив х 8, устанавливают оптимальное освещение;
5. обычный окуляр заменяют вспомогательным и с помощью тубуса добиваются четкого изображения фазовой пластинки в виде темного кольца;
6. устанавливают кольцевую диафрагму, соответствующую объективу х40. В этом случае наряду с темным кольцом фазовой пластинки можно видеть светлое кольцо диафрагмы, при помощи центрировочных винтов совмещают фазовое кольцо и кольцо диафрагмы; Вспомогательный окуляр заменяют обычным и микроскопируют препарат.



Темнопольный конденсор. При темнопольной микроскопии используют специальный конденсор с затемненной центральной частью, поэтому в плоскость изучаемого объекта идут только боковые лучи, отраженные от внутренних зеркальных поверхностей конденсора. Лучи света направлены под таким углом, что не попадают в линзу объектива, и поэтому поле зрения выглядит темным. Часть лучей, которые попадают на объект, отражается в линзу объектива, благодаря чему на темном фоне видно светлое изображение объекта.

Чтобы перейти к методу темнопольной микроскопии, поступают следующим образом:

1. вынимают окуляр, светлопольный конденсор и вывинчивают один из объективов (x8);
2. прикрывают диафрагму осветителя и фокусируют нить накала лампы на листе белой бумаги, помещенном на зеркале;
3. раскрывают диафрагму осветителя, закрывают матовым стеклом конец тубуса и с помощью зеркала добиваются равномерного освещения поля зрения;
4. ставят на место окуляр, объектив x8, темнопольный конденсор, положение зеркала при этом не меняют;
5. на линзу конденсора наносят каплю дистиллированной воды, на столик помещают препарат «раздавленная капля» таким образом, чтобы вода на линзе конденсора контактировала с нижней поверхностью предметного стекла;
6. глядя в окуляр, при помощи центрировочных винтов переводят в центр поля зрения светлое кольцо с темным пятном в центре. Далее регулируют видимость объекта в поле зрения.



Люминесцентный микроскоп (lumen – свет, escennt – слабое действие).

Микробиологические лаборатории имеют отечественные и зарубежные люминесцентные микроскопы.

Атомы некоторых веществ, называемых флуорохромами, поглощая энергию, переходят на более высокий энергетический уровень (возбуждаются). Возбужденное состояние слабоустойчивое, атомы возвращаются на стабильный низкоэнергетический уровень, отдавая избыток энергии в виде свечения – люминесценции.

Свет люминесценции отличается от света возбуждения большей длиной волны, поэтому при освещении объекта невидимыми ультрафиолетовыми или короткими сине-фиолетовыми лучами получают длинноволновые свечения объектов, хорошо видимые простым глазом. В микробиологии, изучаемые препараты обрабатывают флуорохромами (флюоресцеинизотиоцинат, лиссамин-родамин и др.), придающими изучаемым объектам способность к интенсивной люминесценции.

В люминесцентных микроскопах источником возбуждения люминесценции служит ртутно-кварцевая лампа. Чтобы провести люминесцентную микроскопию из светового потока, идущего от ртутно-кварцевой лампы, с помощью специальных светофильтров выделяют коротковолновую (сине-фиолетовую) часть спектра для возбуждения свечения изучаемого объекта и отсекают лучи той же длины, что и лучи люминесценции (в противном случае все поле зрения будет интенсивно светиться). Для этого между источником света и исследуемым объектом ставят светофильтры типов УФС-3, ФС-1, СС-4 и др., которые называют «возбуждающими» светофильтрами. Кроме того, из светового потока, идущего от изучаемого объекта, в окуляр пропускают длинноволновое свечение (люминесценцию) и одновременно защищают глаз наблюдателя от коротковолновых (возбуждающих) лучей. С этой целью между объектом и глазом наблюдателя помещают окулярные (запирающие) светофильтры типов ЖС-3, ЖС-18, Т-1Н и Т-2Н.



Сочетанное применение в оптической системе люминесцентного микроскопа возбуждающих и запирающих фильтров, называется принципом скрещенных фильтров. Оптимально подобранные светофильтры обеспечивают четкую флуоресценцию объектов на темном фоне поля зрения. Лучи от лампы попадают на светоделительную пластинку, расположенную между объективом и окуляром. Ненужные длинноволновые лучи проходят через светоделительную пластинку и гаснут в кожухе микроскопа. Возбуждающие коротковолновые лучи пластинка отражает на изучаемый объект. Часть возбуждающих лучей трансформируется на объекте в длинноволновые лучи люминесценции, которые проходят через объектив, светоделительную пластинку, запирающие фильтры и попадают в глаз наблюдателя. Другую часть возбуждающих лучей, не претерпевших изменений, светоделительная пластинка отражает в сторону источника света — лампы. Такое дифференцирующее свойство светоделительной пластинки обусловлено тем, что она покрыта несколькими слоями диэлектриков и расположена под углом 45° по отношению к падающим на нее лучам.

При люминесцентной микроскопии в качестве иммерсионной жидкости используют специальное нефлуоресцирующее масло (обычное иммерсионное масло для этих целей непригодно из-за собственной люминесценции).

Электронный микроскоп.

Длина волн видимой области спектра лежит в пределах 0,4-0,7 мкм. Следовательно, максимальное разрешение (половина длины волны), которое можно получить при помощи светового микроскопа, – около 0,2 мкм (200 нм). Волновые свойства также присущи электронам. При напряжениях 50 000-100 000 вольт длина волны электрона составит 0,0055- 0,0039 нм. По чисто техническим причинам получить теоретически максимальное разрешение, равное 0,002 нм, невозможно, и на практике оно не превышает 1-2 нм.

Основная часть электронного микроскопа включает в себя ряд магнитных линз, люминесцентный экран и фотографическую пластинку. Электрический ток проходит через вольфрамовую нить и вызывает эмиссию электронов. К нити приложено высокое отрицательное напряжение, что обеспечивает большую разницу потенциалов между нитью и заземленной пластиной анода. В этом поле электроны движутся к аноду, часть из них проходит через отверстие в центре анода (центральная апертура) и формирует электронный луч, который фокусируется первой магнитной линзой (конденсорной) и освещает объект. Большая часть электронов проходит через объект без отклонения, часть электронов после столкновения с тяжелыми атомами выбивается из общего электронного луча. В итоге образуется такая структура электронного луча, которая при дополнительной фокусировке дает изображение объекта. Электроны, прошедшие через объект, фокусируются объективной магнитной линзой, которая дает увеличенное изображение; третья магнитная линза (проекционная), в свою очередь, также увеличивает изображение, которое и попадает на экран. Если люминесцентный экран убрать, то луч попадает на фотопластинку.

Электронный микроскоп, создающий изображение при прохождении электронов через тонкопленочный образец, называют трансмиссионным или просвечивающим.

В сканирующем электронном микроскопе первичный электронный луч, попадая на поверхность фиксированного, высушенного и покрытого тонким слоем металла объекта, вызывает различные вторичные излучения, интенсивность которых зависит от характеристик рельефа, электропроводности и химического состава. С помощью сканирующей электронной микроскопии получают трехмерное изображение объекта. Полезное увеличение сканирующей электронной микроскопии обычно не превышает $\times 50\,000$. 18:01



Основные формы бактерий.

Клетки каждого вида бактерий имеют достаточно стабильную форму, которую обязательно определяют при идентификации (установление видовой принадлежности) микроорганизма. По форме бактерии подразделяют на следующие основные морфологические группы (Рис. 10).

Кокки (лат. *coccus* – зерно) – это шаровидные бактерии, они могут иметь правильную сферическую, эллипсоидную или бобовидную форму. В зависимости от взаимного расположения клеток различают: - **микрোকки** — отдельно лежащие кокки;

- **диплококки** (*diplos* - двойной) — парно расположенные кокки;

- **стрептококки** — цепочки кокков, образующиеся при делении клеток в одной плоскости;

- **стафилококки** - образуют при делении клетки скопления кокков неправильной конфигурации;

- **тетракокки** — структуры из четырех кокков;

- **сарцины** — многослойные структуры из 8-6 кокков.

Палочковидные бактерии. Клетки бактерий этой группы имеют цилиндрическую форму, среди них различают следующие морфологические варианты:

1. **одиночные палочковидные бактерии**;

2. **диплобактерии** — клетки располагаются парами;

3. **стрептобактерии** — клетки располагаются цепочками.

Палочковидные бактерии, образующие в неблагоприятных условиях специфическую форму существования — спору, диаметр которой не превышает диаметр клетки, называют **бациллами**. Если диаметр споры в клетке существенно превышает ее поперечный диаметр, то такие спорообразующие бактерии называют **кlostридиями**.

Извитые (спиралевидные) бактерии. К ним относят:

- **вибрионы** — клетки в форме слегка изогнутых палочек;

- **спириллы** — бактерии, образующие до 6 завитков;

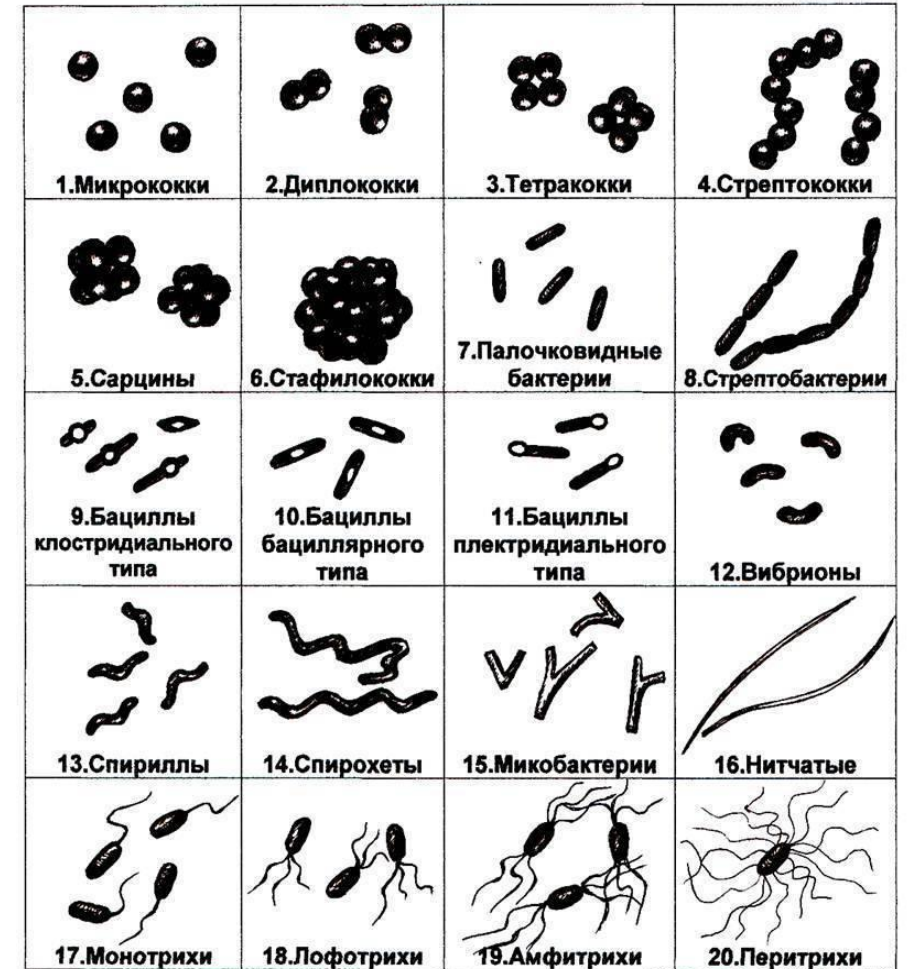
- **спирохеты** — бактерии с множеством (свыше 6) мелких завитков и, в отличие от спирилл, без жгутиков.

Ветвящиеся бактерии. Выраженная способность к ветвлению отмечена у прокариот из группы актиномицет; тенденцию к ветвлению на отдельных стадиях развития проявляют и другие бактерии, например, микобактерии.

Бактерии, не имеющие постоянной формы. Микоплазмы лишены клеточной стенки, поэтому их форма легко изменяется.

У большинства бактериальных клеток нет дифференциации на передний и задний концы, нижнюю и верхнюю стороны, то есть функционально они равноценны, хотя есть исключения.

Многие виды бактерий обладают способностью на различных стадиях роста образовывать формы, отличающиеся от типичной. Данное явление называют полиморфизмом бактерий.



Определение размеров микроорганизмов.

Размеры бактерий варьируются в широких пределах — от 0,2 мкм (микоплазмы) до 125 мкм.

Размеры большинства патогенных бактерий составляют от нескольких десятых микрометра до нескольких микрометров. При характеристике размеров бактерий обычно указывают длину и ширину клетки в микрометрах (10-3мм). В качестве инструментов измерения используют окуляр- и объект-микрометры.

Окуляр-микрометр — это стеклянная пластинка, на которой линия в 5 мм разделена на 10 или 20 делений (размещают в окуляре).

Объект-микрометр представляет собой предметное стекло с линией длиной 0,5 или 1,0 мм, разделенной на сотые доли. Определение размеров микробной клетки проводят следующим образом. Объект-микрометр помещают на предметный столик и, глядя в окуляр с окуляр-микрометром, совмещают начальную черту в объект- и окуляр-микрометрах. Определяют цену деления окуляр-микрометра при данном окуляре и объективе.

Например, шкала объект-микрометра составляет 1 мм и одно ее деление равно 10-2мм, то есть 10 мкм. При совмещении шкалы объект-микрометра три его деления (30 мкм) соответствуют 14 делениям окуляр-микрометра, следовательно, одно деление окуляр-микрометра составляет $30:14=2,14$ мкм.

После того как определена цена одного деления окуляр-микрометра, вместо объект-микрометра помещают на предметный столик препарат с исследуемым объектом и определяют его размеры.

Например, палочковидный микроб по длине занимает 3, а по ширине – 0,5 деления окуляр-микрометра. Если одно деление окуляр-микрометра составляет 2 мкм, то длина бактериальной клетки будет $3 \times 2 = 6$ мкм, а ширина – $0,5 \times 2 = 1$ мкм.

Используемая литература

1. Скородумовы Д.И., Родионова В.Б., Костенко Т.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. М.: 2008. 224 с.

2. Фото из яндекс: <https://vestavta.ru/userfiles/Images/%D1%812.jpg>

https://ulpressa.ru/wp-content/uploads/old/2020/12/131218318_687486208621220_5195276668917879199_o-1536x1119.jpg

http://4glaza24.ru/image/data/73984_levenhuk-binocular-microscope-med-10b_00.jpg

<https://vospalenia.ru/wp-content/uploads/img6.jpg>

https://100-krat.ru/image/catalog/aksessuary/ru-images-products-large-0-73374_levenhuk-fazovo-kontrastnoye-ustroystvo-med-1600-temnoe-pole_00.jpg

<https://scopica.ru/wp-content/uploads/2017/06/kondensor-temnogo-polya-oi-13-scopica-ru-10-1024x678.jpg>

<https://y9s5q4c4.stackpathcdn.com/wp-content/uploads/2021/11/Trinocular-Mercury-Lamp-Fluorescence-Microscope.png>

<https://blotos.ru/wp-content/uploads/3/1/a/31ad80b20f87a6d53a86af261fa80a92.jpg>

<https://arstek.ru/upload/iblock/7be/7be06293959d7846a439e3da1669e52a.jpg>

http://4glaza24.ru/image/data/73984_levenhuk-binocular-microscope-med-10b_00.jpg

- Задания для самостоятельной работы студентов:

1. ознакомиться с микробиологической лабораторией, ее основным оборудованием, правилами техники безопасности.
2. Изучить устройство светового микроскопа, принципы фазово-контрастной, темнопольной, люминесцентной и электронной микроскопии.
3. Освоить приемы работы с иммерсионной системой микроскопа.
4. Провести микроскопию окрашенных препаратов бактерий различной формы.
5. Определить размер бактериальных клеток.

*СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!*

