

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:  
ФИО: Куижева Саида Казбековна  
Должность: Ректор  
Дата подписания: 06.07.2023 11:04:49  
Уникальный программный ключ:  
71183e1134ef9c0812061480271b7cda975e5f

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**  
**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение**  
**высшего образования**  
**«Майкопский государственный технологический университет»**  
**Политехнический колледж**


**УТВЕРЖДАЮ**  
Зам. директора по учебной работе  
  
В.М. Куприенко  
« 27 » 08 2019г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**  
**ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ**  
Специальность 36.02.01 Ветеринария  
дисциплина ОП 03 Основы микробиологии

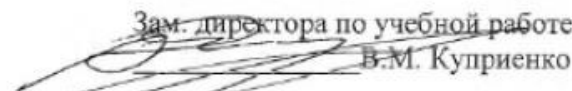
Одобрено предметной (цикловой комиссией) сельского и лесного хозяйства

Составлено на основе ФГОС СПО и учебного плана МГТУ по специальности 36.02.01 Ветеринария

Председатель цикловой комиссии

 С.З. Ашинова

Зам. директора по учебной работе

  
В.М. Куприенко

Протокол № 1 от 27.08 2019 г.

«14» 08 2019г

Разработчики:

Ашинова С.З.



- преподаватель первой категории  
политехнического колледжа МГТУ

## СОДЕРЖАНИЕ

1. Пояснительная записка
2. Перечень лабораторных работ
3. Инструктивно-методические указания по выполнению лабораторных работ
  - Лабораторная работа №1
  - Лабораторная работа №2
  - Лабораторная работа №3
  - Лабораторная работа №4
  - Лабораторная работа №5
  - Лабораторная работа №6
  - Лабораторная работа №7
  - Лабораторная работа №8
  - Лабораторная работа №9
  - Лабораторная работа №10
  - Лабораторная работа №11
  - Лабораторная работа №12

Используемая литература

## 1. Пояснительная записка

Методические рекомендации предназначены в качестве методического пособия при проведении лабораторных работ по дисциплине «Основы микробиологии» для специальности СПО 36.02.01 «Ветеринария»

Лабораторные работы проводятся после изучения соответствующих разделов и тем учебной дисциплины. Выполнение обучающимися лабораторных работ позволяет им понять, где и когда изучаемые теоретические положения и практические умения могут быть использованы в будущей практической деятельности.

Целью лабораторных работ является закрепление теоретических знаний и приобретение практических умений и навыков.

Описания лабораторных работ содержат:

- наименование работы;
- цель работы;
- перечень используемого оборудования;
- перечень информационного обеспечения;
- краткие теоретические сведения;
- порядок проведения работы (инструкция), контрольные вопросы по данной работе;
- форма выполнения отчета;
- критерии оценки.

В результате выполнения лабораторных работ, предусмотренных программой по дисциплине «Основы микробиологии», обучающийся должен:

уметь:

- обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами;
- проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам;
- пользоваться микроскопической оптической техникой.

знать:

- основные группы микроорганизмов, их классификацию;
- значение микроорганизмов в природе, жизни человека и животных;
- микроскопические, культуральные и биохимические методы исследования;
- правила отбора, доставки и хранения биоматериала;
- методы стерилизации и дезинфекции;
- понятия патогенности и вирулентности;
- чувствительность микроорганизмов к антибиотикам;
- формы воздействия патогенных микроорганизмов на животных.

Критерии оценки лабораторной работы:

Если лабораторная работа выполнена в полном объеме и правильно оформлена, то ставится оценка «5».

Если лабораторная работа выполнена более чем на 75%, ставится оценка «4».

Если лабораторная работа выполнена более чем на 60%, ставится оценка «3».

В противном случае работа не засчитывается.

Методические рекомендации могут быть использованы для самостоятельной работы обучающихся.

## 2. Перечень лабораторных работ

№ п/п	Наименование работы	Количество часов
Лабораторная работа №1	Основные правила работы с микроскопом.	2
Лабораторная работа №2	Изучение требований безопасности при работе с инфицированным материалом и больными животными.	2
Лабораторная работа №3	Микроскопирование готовых мазков –отпечатков из органов трупа.	2
Лабораторная работа №4	Изготовление, окрашивание мазков по Граму.	2
Лабораторная работа №5	Приготовление простых питательных сред.	4
Лабораторная работа №6	Изучение лабораторной аппаратуры и правила пользования ею.	4
Лабораторная работа №7	Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам.	4
Лабораторная работа №8	Техника посева бактерий и их исследования.	2
Лабораторная работа №9	Вскрытие и исследование лабораторных животных	4
Лабораторная работа №10	Методы стерилизации и дезинфекции	2
Лабораторная работа №11	Культивирование вирусов в куриных эмбрионах.	2
Лабораторная работа №12	Культивирование вирусов в культуре клеток куриных фибробластов.	2

## 3. Инструктивно-методические указания по выполнению лабораторных работ

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

**ТЕМА :** Основы классификации и морфология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Основные правила работы с микроскопом.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Научить студентов правилам работы с микроскопом.

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** пользоваться микроскопической оптической техникой.

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** микроскопы, предметные стекла, методические рекомендации для выполнения лабораторных работ.

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Что называют микроскопом?
2. Какие части микроскопа входят в его механическую, оптическую и осветительную часть?
3. Правила работы с микроскопом

### Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

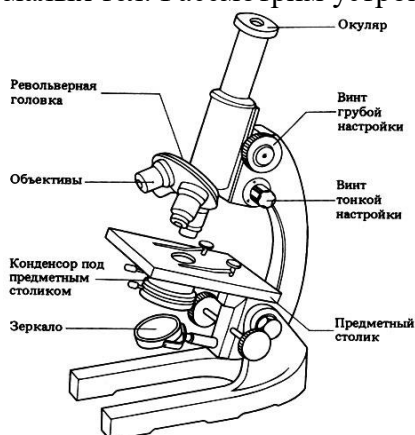
### Ход работы:

1. Ознакомление с устройством микроскопа.
2. Ознакомление с правилами работы с микроскопом
3. Ознакомление с правилами ухода за микроскопом
4. Написать отчет о проделанной работе

### Порядок выполнения работы:

1. Ознакомление с устройством микроскопа.

**Микроскоп** — это оптический прибор для получения увеличенных изображений очень малых тел. Рассмотрим устройство на примере микроскопа серии «Биолам».



Микроскоп состоит из оптической системы и механической части. Оптическая система предназначена для увеличения изображения предмета. Она включает увеличительную (объектив и окуляр) и осветительную системы (зеркало и конденсор с ирисовой диафрагмой и откидной линзой).

Объектив представляет собой систему линз, заключенных в трубку. В микроскопах серии «Биолам» используются объективы с увеличением  $\times 3$ ;  $\times 5$ ;  $\times 9$ ;  $\times 10$ ;  $\times 20$ ;  $\times 40$ ;  $\times 60$ ;  $\times 85$ ;  $\times 90$ . Объективы малого увеличения ( $\times 3$ ;  $\times 5$ ;  $\times 8$ ;  $\times 9$ ) применяют для предварительного осмотра препарата; объективы среднего увеличения ( $\times 20$ ;  $\times 40$ ;  $\times 60$ )—для изучения крупных клеток микроорганизмов; объективы большого увеличения ( $\times 85$ ;  $\times 90$ )—иммерсионные — для изучения внутренних структур клеток. Окуляр служит для увеличения изображения, полученного от объектива. Окуляры обычно имеют увеличение  $\times 7$ ,  $\times 10$  и  $\times 15$ . Увеличение объектива и окуляра указано на их оправе. Общее увеличение микроскопа равно произведению увеличений окуляра и объектива.

Осветительное устройство состоит из зеркала и конденсора. Зеркало имеет плоскую и вогнутую отражающие поверхности. Обычно при работе зеркало повернуто к свету плоской стороной. Конденсор состоит из двух линз. Конденсор укреплен на кронштейне и может передвигаться вверх и вниз с помощью рукоятки. На нижней части конденсора имеется ирисовая диафрагма, с помощью которой регулируют интенсивность освещения препарата. Объектив дает увеличенное изображение препарата в плоскости окуляра.

Механическая часть микроскопа состоит из основания и тубусодержателя, на котором укреплены предметный столик, кронштейн конденсора и зеркало. В верхней части находятся головка для насадки с окуляром и револьвер с объективами. Предметный столик служит для закрепления на нем исследуемого препарата. Фокусировка осуществляется при перемещении тубуса с помощью механизма, приводимого в движение двумя винтами — макрометрическим (грубая фокусировка) и микрометрическими (тонкая фокусировка).

## 2. Ознакомление с правилами работы с микроскопом.

Сначала ставят объектив с малым увеличением ( $\times 8$ ) и при этом увеличении устанавливают наилучшее освещение. Наилучшее освещение достигается при регулировке положения зеркала, конденсора и диафрагмы. При просмотре неокрашенных препаратов применяют суженную диафрагму и опущенный конденсор, при наблюдении окрашенных препаратов — открытую диафрагму и поднятый конденсор.

Затем помещают препарат на предметный столик микроскопа, под объектив и укрепляют зажимами. Опускают объектив (8) при помощи макрометрического винта почти до соприкосновения с предметным стеклом на расстояние около 0,5 см от предметного столика. Медленно вращают макровинт против часовой стрелки до появления четкого изображения препарата, после чего наводят на резкость микрометрическим винтом, который вращают в пределах одного оборота макровинта. Повернув револьвер, устанавливают объектив со средним увеличением ( $\times 20$ ;  $\times 40$  или  $\times 60$ ).

## 3. Ознакомление с правилами ухода за микроскопом.

Микроскоп является сложным оптическим инструментом и требует осторожного обращения и тщательного ухода. Он должен постоянно храниться в футляре или ящике, предохраняющем его от толчков и прямых солнечных лучей. Перед работой механические и оптические части микроскопа надо очистить кисточкой или мягкой сухой тканью. Оптические части касаться пальцами не следует. При необходимости линзы очищают тканью, смоченной в бензине. Объективы очищают только с наружной стороны, категорически запрещается развинчивать их и разбирать.

## 4. Написать отчет о проделанной работе.

### Контрольные вопросы:

1. Каков порядок просмотра препарата в биологическом микроскопе?

2. Как проводится подготовка предметных и покровных стекол к работе?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

**ТЕМА :** Основы классификации и морфология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Изучение требований безопасности при работе с инфицированным материалом и больными животными

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** пройти первичный инструктаж о мерах личной профилактики при работе с больными животными и заразным материалом

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** методические рекомендации для выполнения лабораторных работ, рабочая тетрадь

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Какие заболевания называются зооантропонозами?
2. Как может произойти заражение человека зооантропонозами?

### Методические указания

Изучите правила безопасности при работе с инфекционно-больными животными и патологическим материалом. Выделите основные из них и запишите в рабочую тетрадь.

### Ход работы:

1. Общие правила безопасности при работе с животными.
2. Правила работы с инфекционно-больными животными и патологическим материалом.

### Порядок выполнения работы:

1. При клиническом обследовании животных, проведении диагностических или лечебно-профилактических мероприятий необходимо соблюдать правила, благодаря которым исключается вероятность травмирования людей, выполняющих соответствующую работу, а именно:

1. Обращение с животными должно быть спокойным, ласковым и одновременно уверенным. Нужно работать так, чтобы животное видело и чувствовало движения врача.
2. Не допускаются грубые окрики, громкий разговор или смех, резкие движения и побои животных, курение рядом с зафиксированным животным.
3. Во время работы с животными вблизи не должно быть посторонних лиц.
4. К животному не следует подходить незаметно, так как это их пугает и вызывает защитную реакцию. Необходимо ласково окликнуть, голосом и рукой успокоить животное, похлопав или почесав его.
5. Не рекомендуется приседать и опускаться на колени около животного, осматривать ротовую полость без зевника или фиксирующей повязки.
6. При работе с животными нужно учитывать их нрав и характер.

2. Существует целый ряд инфекционных болезней, общих для животных и человека. Такие болезни называются **зооантропонозами**. При зооантропонозах источником



возбудителя болезни для человека является больное животное. Заражение человека зооантропонозами может произойти при:

- клиническом обследовании животных;
- проведении диагностических и лечебно-профилактических мероприятий;
- вскрытии трупов или вынужденном убое и отборе патологического материала для лабораторного исследования;
- лабораторных исследованиях патологического материала или культуры возбудителя;
- контакте с необезвреженным сырьем животного происхождения;
- употреблении в пищу инфицированных продуктов животного происхождения.
- Чаще всего это происходит в тех случаях, когда ветеринарный врач пренебрегает правилами работы с животными и, в частности, с заразно-больными животными.
- Заражение человека может произойти следующими путями:
- через поврежденную кожу (контактный путь);
- через слизистые оболочки глаз (конъюнктивальный путь);
- через пищеварительный тракт (алиментарный путь);
- через органы дыхания (аэрогенный путь);
- через кровососущих насекомых и клещей (трансмиссивный путь).

При работе с инфекционно-больными животными и инфицированным материалом внимание ветеринарных специалистов должно быть сосредоточено на двух основных моментах:

1. Не допустить распространение возбудителя инфекционного заболевания;
2. Исключить заражение людей зооантропонозами.

Больных и подозреваемых по заболеванию животных надежно изолируют от остального поголовья в специальном помещении – изоляторе. Обслуживание больного поголовья поручают отдельному персоналу. Место работы с больными животными обязательно дезинфицируют.

Чтобы не допустить собственного заражения инфекционными болезнями необходимо соблюдать следующие меры предосторожности:

1. Все работы с инфекционно-больными животными, трупами и другим инфекционным материалом выполняют только в защитной спецодежде (халатах, колпаках или косынках, фартуках), в защитных очках, ватно-марлевой повязке, резиновых перчатках (перчатки, прежде чем одеть проверяют на целостность) и резиновых сапогах;
2. Спецодежду, спецобувь и средства защиты используют только во время работы, а затем снимают, подвергают санитарной обработке и хранят отдельно от личной одежды;
3. Выход из производственного помещения в спецодежде и обуви категорически запрещен;
4. Перед началом работы с особо опасным заразным материалом ветеринарный врач обязан проинструктировать работающих лиц о сущности предстоящей работы, проверить готовность их к работе (надеты ли защитная одежда, обувь и резиновые перчатки);
5. Во время работы с заразно-больными животными и патологическим материалом не разрешается курить, касаться руками лица, поправлять волосы, отвлекаться от работы;
6. Особую осторожность следует соблюдать при взятии патматериала (носового или влагалищного истечения, крови, мочи, кала) для бактериологического и других исследований. Необходимо следить, чтобы заразный материал не попал на окружающие предметы, халат, руки, лицо;
7. Руки после работы погружают в сосуд с дезжидкостью (0,5% раствор хлорамина или 0,5-1% раствор формалина) на 1-2 минуты, затем ополаскивают и тщательно моют мылом. Можно использовать современные кожные антисептики, такие как октисепт, октинедерм, октинисепт;
8. После работы инструментарий должен быть продезинфицирован:

- использованные пипетки, предметные и покровные стекла, куски ваты сразу помещают в сосуд с дезинфицирующим раствором (5% карболовой кислоты или лизола, 2–3% раствор хлорамина, едкого натра, формалина);
- металлические предметы, бывшие в употреблении с заразным материалом, немедленно обеззараживают прокаливанием над пламенем;
- инструменты многоразового использования (шприцы, иглы, скальпели, пинцеты) после употребления промывают в дезрастворе и кипятят в стерилизаторе;
- резиновые перчатки обеззараживают дезжидкостью (2% раствором карболовой кислоты или хлорамином);

9. Место работы, где проводились диагностические исследования, профилактические прививки или лечение больных животных обязательно дезинфицируют 2-4% едкого натра или 4% формалина, 5% раствором хлорной извести.

В тех случаях, когда при работе с больными животными или патологическим материалом, контаминированным возбудителем, биоматериал попадает в организм нужно принимать следующие меры:

1. При ранениях инфицированным инструментом или при укусе больным животным не следует торопиться с остановкой кровотечения. Через некоторое время рану необходимо прижечь настойкой йода и наложить спиртовую повязку, использовав при этом 40-60% раствор этилового спирта.
2. При попадании инфекционного материала в рот его немедленно выплевывают в чашку с дезраствором, а рот прополаскивают слабым раствором йода (3–5 капель на стакан воды) или раствором марганца (1:3000) в течение нескольких минут.
3. При попадании инфекционного материала в глаза, их нельзя тереть, а следует промыть слабым раствором йода или марганца.

### **Контрольные вопросы:**

1. Какие требования безопасности необходимо соблюдать при клиническом обследовании животных, чтобы избежать травмирования?
2. Что необходимо предпринять при попадании инфекционного материала на слизистые оболочки?
3. Что необходимо предпринять при ранениях инфицированным инструментом или при укусе больным животным?

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3**

**ТЕМА :** Основы классификации и морфология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Микроскопирование готовых мазков –отпечатков из органов трупа

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** приобретение навыков микроскопирования готовых мазков –отпечатков из органов трупа

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам; пользоваться микроскопической оптической техникой.

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** микроскоп, готовые мазки-отпечатки из органов трупа

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### **Контрольные вопросы при допуске к занятию**

1. Что такое микроскоп?
2. Каковы основные правила работы с микроскопом?
3. Какие виды стекол используют для микроскопирования?

### **Методические указания**

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы. По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений. Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью. По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### **Ход работы:**

1. Изучение этапов приготовления мазков-отпечатков
2. Микроскопирование мазков-отпечатков

### **Порядок выполнения работы:**

1. Исследуемый материал распределяют тонким слоем по поверхности предметного хорошо обезжиренного стекла.

Мазки готовят из культур микробов, патологического материала (мокрота, гной, моча, кровь и др.) и из органов трупов.

Приготовление препарата для микроскопии складывается из следующих этапов:

1. Приготовление мазка на обезжиренном предметном стекле.
2. Высушивание препарата.
3. Фиксация мазка.
4. Окраска мазка.

В правильно приготовленном препарате микробные клетки должны быть расположены в один слой.

Техника приготовления мазков определяется характером исследуемого материала.

#### **Приготовление мазков из органов и тканей**

Поверхность органа с целью обеззараживания прижигают накаленными браншами пинцета, делают по этому месту надрез и из глубины остроконечными ножницами вырезают небольшой кусочек ткани, который помещают между двумя предметными стеклами. Далее поступают так же, как при приготовлении мазка из гноя и мокроты. Если ткань органа плотная, то из глубины разреза делают скальпелем соскоб. Полученный при соскабливании материал распределяют тонким слоем по поверхности стекла скальпелем или бактериальной петлей. Для изучения взаимного расположения элементов ткани и находящихся в ней микроорганизмов делают мазки-отпечатки. Для этого вырезанный из середины органа небольшой кусочек ткани захватывают пинцетом и прикладывают поверхностью среза к предметному стеклу несколько раз последовательно, получая, таким образом, ряд мазков-отпечатков.

Приготовленный на предметном стекле мазок высушивают и после высыхания фиксируют. При фиксации мазок закрепляется на поверхности предметного стекла, и поэтому при последующей окраске препарата микробные клетки не смываются. Кроме того, убитые микробные клетки окрашиваются лучше, чем живые. Различают физический способ фиксации, в основу которого положено воздействие высокой температуры на микробную клетку, и химические способы, предусматривающие применение средств, вызывающих коагуляцию белков

**Физический способ фиксации.** Предметное стекло с препаратом берут пинцетом или I и II пальцами правой руки за ребра мазком кверху и плавным движением проводят 2-3

раза над верхней частью пламени горелки. Весь процесс фиксации должен занимать не более 2 с. Надежность фиксации проверяют следующим простым приемом: свободную от мазка поверхность предметного стекла прикладывают к тыльной поверхности левой кисти. При правильном фиксировании мазка стекло должно быть горячим, но не вызывать ощущения ожога.

**Химический способ фиксации.** Для фиксации мазков применяют химические вещества такие как безводный метиловый спирт, этиловый (винный) спирт 96%, жидкость Никифорова (смесь спирта и наркозного эфира в соотношении 1:1), жидкость Карнуа (спирта 96% 60 мл, хлороформа 30 мл, уксусной кислоты ледяной 10 мл)

Предметное стекло с высушенным мазком погружают в склянку с фиксирующим веществом и затем высушивают на воздухе.

2. Рассмотрите мазки-отпечатки из органов трупа под микроскопом сначала с увеличением 8х, затем перейдите к большему увеличению. Оформите отчет по работе.

### **Контрольные вопросы:**

1. Из каких этапов состоит приготовление препарата для микроскопии?
2. Как осуществляется фиксация мазка?
3. При каком увеличении микроскопируют мазки-отпечатки?

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4**

**ТЕМА :** Основы классификации и морфология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Изготовление, окрашивание мазков по Граму.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Ознакомиться с техникой окраски бактерий по Граму.

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам; пользоваться микроскопической оптической техникой.

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** Микроскоп, предметные стекла, бактериологическая петля, спиртовка, чистые предметные стекла, столик для окрашивания препаратов, промывалка с водой, 1%-ный раствор генцианвиолета, раствор Люголя, 96%-ный этанол, 0,1%-ный раствор фуксина, чистые культуры контрольных (с известным типом окраски) грамположительных и грамотрицательных бактерий и исследуемые микроорганизмы, иммерсионное масло для микроскопии.

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### **Контрольные вопросы при допуске к занятию**

1. Что изучают морфологические признаки бактерий?
2. Каково строение бактериальной клетки?
3. Какие основные формы бактерий существуют?
4. Перечислите порядок приготовления фиксированных препаратов.
5. Спорообразование у бактерий.

### **Методические указания**

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

1. Приготовление фиксированных окрашенных препаратов для изучения м/о.
2. Окраска препарата по Граму.

### Порядок выполнения работы:

1. Приготовление препарата состоит из следующих операций:
  - 1.1. Приготовление мазка. На обезжиренное предметное стекло наносят простерилизованной и охлажденной петлей каплю исследуемой культуры микроорганизмов и равномерно распределяют ее на поверхности стекла тонким слоем. С твердой питательной средой культуру микробов вносят капельку воды. Получается мазок.
  - 1.2. Высушивание. Проводится при комнатной температуре /на воздухе/
  - 1.3. Фиксация. Высушенный мазок фиксируется. Фиксация имеет целью:
    - а) убить микробов;
    - б) обеспечить их лучшее прилипание к стеклу и тем самым предохранить от смывания;
    - в) сделать мазок более восприимчивым к краске, так как мертвые клетки лучше окрашиваются.Существует несколько способов фиксации. Простейшим из них является фиксация на пламени. С этой целью предметное стекло проводят 3-4 раза через верхнюю часть пламени горелки. Фиксация при изучении бактериальной клетки проводится с помощью химических препаратов-фиксаторов:
    - а) фиксация этиловым спиртом в течение 10 мин.
    - б) фиксация ацетоном в течение 5 мин.
2. Окраска мазка по Граму. Фиксированный мазок помещают на стеклянный мостик над ванночкой и окрашивают насыщенным раствором генцианвиолета, промывают водой и обрабатывают раствором Люголя. Затем снова промывают водой и дополнительно окрашивают фуксином в течение 0,5 мин., ополаскивают препарат по ребру стекла водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют.
3. Зарисуйте каждый препарат в рабочей тетради.

### Контрольные вопросы:

1. Как готовят препараты?
2. Какова цель фиксации мазка?
3. Какие способы фиксации существуют?

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

**ТЕМА** : Физиология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ** : Приготовление простых питательных сред.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**: Освоить основные методики приготовления искусственных питательных сред, наиболее широко применяемых в лабораториях

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ** : проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам; пользоваться микроскопической оптической техникой

**НОРМА ВРЕМЕНИ** : 4 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА** : Компоненты для приготовления питательных сред: агар-агар, желатина, пептон, х.ч. NaCl, колбы с мясной водой, раствор 8-10%-ный КОН, воронки, гигроскопическая вата, марля, фильтровальная бумага,

градуированные пипетки различной емкости, дистиллированная вода, стерильные пробирки с ватными пробками, компаратор, электроплитки. Готовые сухие среды.  
**ЛИТЕРАТУРА:**Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### **Контрольные вопросы при допуске к занятию**

1. Что такое чистые культуры?
2. Какие микроорганизмы называют культурными, посторонними, дикими?
3. Какие способы посева и пересева культур существуют?

### **Методические указания**

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы. По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений. Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью. По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### **Ход работы:**

1. Освоение основных методик приготовления питательных сред.

### **Порядок выполнения работы:**

1. По составу питательные среды делят на естественные и синтетические. Основой естественных питательных сред может быть сусло, меласса, дрожжевой или мясной бульон и т.д. Искусственные среды готовят из химических соединений. По консистенции среды бывают твердые, полужидкие и жидкие. В микробиологической практике широко применяют твердые среды-агары. Твердые среды готовят из жидких питательных сред при добавлении к ним агара или желатины.

В качестве исходных компонентов для приготовления основных сред используют наиболее часто мясную воду, перевар Хоттингера, растительные гидролизаты.

**Мясная вода:** говядину освобождают от костей, жира, сухожилий, пропускают через мясорубку. Мясной фарш заливают водопроводной водой в соотношении 1:2, кипятят 1 ч. После кипячения мясную воду охлаждают, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, затем доливают водопроводной водой до первоначального объема, разливают по емкостям, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют при 120°C 20 мин.

**Перевар Хоттингера** готовят из мясных отходов путем их триптического гидролиза. Жир, фасции, сухожилия мелко нарезают, заливают кипящей водой в соотношении 1:2, кипятят, охлаждают до 45°C и добавляют панкреатин, подщелачивают раствором карбоната натрия до рН 7,8...8,0, встряхивают и добавляют хлороформ (10 мл/л), плотно закрывают, выдерживают в теплом месте 10 дней, получают продукт гидролиза (перевар).

**Мясо-пептонный бульон (МПБ).** К 1 л мясной воды добавляют 1% пептона и 0,5% хлорида натрия, устанавливают необходимый рН дробным добавлением 10%-го раствора гидроксида натрия или гидроксида калия. Фильтруют через бумажный фильтр, разливают по колбам, пробиркам и стерилизуют при 120°C 15...20 мин.

**Мясо-пептонный агар (МПА):** к МПБ добавляют 2...3% промытого мелко нарезанного агар-агар, нагревают до расплавления агара, доводят до кипения, в горячем виде проверяют рН, затем, если необходимо, доводят его до нужного значения (7,2...7,6), фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Профильтрованный горячий агар разливают по пробиркам и колбам, стерилизуют автоклавированием при 1 атм. 20...30 мин. Чтобы получить скошенную поверхность агара, удобную для посева, после стерилизации

пробирки с расплавленным МПА оставляют при комнатной температуре до уплотнения в наклонном положении (конец с пробкой приподнят).

**Мясо-пептонная желатина (МПЖ):** к МПБ добавляют 10...20% измельченной желатины, нагревают до расплавления уплотнителя, устанавливают рН 7,2...7,4, кипятят, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают по пробиркам и стерилизуют дробно в аппарате Коха три дня по 20 мин или однократно в автоклаве при 112°C при 15 мин.

**Бульон Хоттингера:** основной перевар Хоттингера разводят водопроводной водой в соотношении 1:5 (1:8) до содержания аминного азота 120 мг%, добавляют 1,5% хлорида натрия, 0,1 г гидрофосфата калия, устанавливают рН 7,4...7,6, кипятят 15...20 мин, фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр, разливают по емкостям и стерилизуют при 120°C 20...30 мин.

**Агар Хоттингера** готовят, добавляя к бульону Хоттингера 2% агар-агара.

Предприятия биологической промышленности выпускают готовые питательные бульоны и агар в виде сухого порошка.

Питательный бульон содержит (г/л): триптический гидролизат кильки – 10,05, хлорид натрия- 4,95. Навеску порошка массой 15 г растворяют в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин., фильтруют через бумажный фильтр, разливают по емкостям и стерилизуют в автоклаве при 120°C 20 мин (рН 7,3).

**Питательный агар** содержит (г/л): ферментативный гидролизат кормовых дрожжей – 12,0; агар-12,5; хлорид натрия – 5,5. Навеску порошка массой 36 г растворяют в 1 л дистиллированной воды, кипятят 3 мин, фильтруют через ватный фильтр, стерилизуют при температуре 120°C 20 мин (рН 7,3).

### Контрольные вопросы:

- 1 Что такое питательные среды?
- 2 Какие бывают питательные среды?
- 3 Как готовят питательные среды?
- 4 Какие требования предъявляют к питательным средам?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

**ТЕМА :** Физиология микроорганизмов.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Изучение лабораторной аппаратуры и правила пользования ею.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** изучить оснащение микробиологической лаборатории и правила работы в ней

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** пользоваться микроскопической оптической техникой.

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 4 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** биологический микроскоп, рН-метр, весы технические и аналитические, лабораторная посуда (чашки Петри, пробирки, колбы), микробиологические инструменты (петли, иглы, шпатели), термостат, сушильный шкаф,

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Какие инструменты используют при микроскопировании?
2. Для чего предназначен термостат?
3. Для чего применяются чашки Петри?

## Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы. По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений. Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью. По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

1. Изучить оснащение микробиологической лаборатории
2. Изучить правила работы в лаборатории

### Порядок выполнения работы:

1. Микробиологические лаборатории обычно снабжены следующим оборудованием:
  1. Биологическими иммерсионными микроскопами с дополнительными приспособлениями и наборами необходимых красителей.
  2. рН-метрами, дистилляторами, центрифугами, техническими и аналитическими весами, аппаратурой для фильтрации и др.
  3. Набором инструментов: бактериологическими петлями, микробиологическими шпателями, пинцетами, спиртовками и др.
  4. Лабораторной посудой: пробирками, чашками Петри, флаконами, пипетками и др.
  5. Приборами для стерилизации оборудования, питательных сред и реактивов.
  6. Необходимыми средствами пожарной и химической безопасности (огнетушителями, дезинфицирующими растворами и т. д.).
2. Основное правило работы в микробиологической лаборатории – правильная организация работы. При этом следует придерживаться следующего:
  1. К работе в лаборатории допускаются лица после прохождения инструктажа по технике безопасности.
  2. Все должны работать в медицинских халатах. Вход без халата воспрещен.
  3. В лаборатории запрещается курить и принимать пищу.
  4. Рабочее место должно содержаться в образцовом порядке, а личные вещи храниться в специально отведенных местах.
  5. При случайном попадании биологического материала на стол и т. д. это место необходимо тщательно вытереть дезинфицирующим раствором.
  6. Результаты работы следует заносить в рабочий журнал.
  7. После окончания работы следует вымыть руки.

### Контрольные вопросы:

1. Какое оборудование должно быть в микробиологической лаборатории?
2. Каковы правила работы в микробиологической лаборатории?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7

**ТЕМА :** Экология микроорганизмов. Влияние внешних условий на микроорганизмы

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Освоить методику определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам



**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ** :обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами; проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам; пользоваться микроскопической оптической техникой.

**НОРМА ВРЕМЕНИ** :4 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА** :чистая культура бактерий в пробирках или чашках Петри с МПА, бактериологические петли, спиртовки, стерильные пробирки, предметные стекла, чашки Петри с МПА, бумажные диски, пропитанные антибиотиками, стерильный физиологический раствор, термостат с температурой 37 ° С

**ЛИТЕРАТУРА:**Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### **Контрольные вопросы при допуске к занятию**

1. Какие факторы влияют на жизнедеятельность микроорганизмов?
2. Какие вещества называются антисептиками?
3. Какие вещества называются антибиотиками?

### **Методические указания**

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### **Ход работы:**

1. Изучить методику определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

### **Порядок выполнения работы:**

1. Смойте стерильным физраствором агаровую культуру. Для этого в пробирку или чашку Петри стерильно внесите 2 - 3 мл физраствора. Бактериологической петлей осторожно снимите культуру с поверхности агара и тщательно размешайте в физрастворе.

2. Из полученной взвеси клеток приготовьте бактериальную суспензию с концентрацией 500 млн микробных клеток по стандарту мутности и внесите в чашку Петри с подсушенным стерильным МПА. Равномерно распределите суспензию на поверхности агара и оставьте при комнатной температуре на 30 мин для адсорбции клеток.

3. Через 30 мин стерильной пипеткой отберите излишек суспензии и поместите на поверхность засеянной бактериями среды на равном расстоянии (2,5 - 3,0 см) друг от друга и на расстоянии 1,5 - 2,0 см от края чашки бумажные диски, пропитанные антибиотиками.

4. Инкубируйте посеvy при температуре 37 0С в течение 24 ч.

5. Через 24 ч измерьте диаметр зоны задержки роста культуры вокруг каждого диска с антибиотиком и определите степень чувствительности культуры по следующим критериям:

- а) диаметр зоны задержки роста более 25 мм - культура высокочувствительная,
- б) от 15 до 25 - чувствительная;
- в) от 10 до 14 - малочувствительная;
- г) менее 10 мм и полное отсутствие - устойчивая.

6. Результаты оформите в виде табл. 7.

Таблица 7 Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

антибио тик	Наименование или номер исследуемой культуры			
	1		2	
	Диаметр р зоны задерж ки роста, мм	Степень чувствите льности	Диаметр зоны задержки роста, мм	Степень чувствитель ности

### Контрольные вопросы:

1. Как определить чувствительность микроорганизмов к антибиотикам методом бумажных дисков?
2. Как влияют антибиотики на жизнедеятельность микроорганизмов?
3. Как влияют химические вещества на жизнедеятельность микроорганизмов?

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8

**ТЕМА :** Экология микроорганизмов. Влияние внешних условий на микроорганизмы

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Техника посева бактерий и их исследования.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Освоение методики посева и пересева бактерий на питательных средах

**ПРИОБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :**

**НОРМА ВРЕМЕНИ :**

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** микробиологические петли или пипетки Пастера, скальпель, спиртовка, пробирки с МПА и МПБ, пробирки с ватными пробками

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Что такое чистая культура?
2. Какие микроорганизмы называются посторонними?
3. Что такое культивирование?

### Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

1. Техника посева бактерий на питательных средах.
2. Техника пересевов.

### Порядок выполнения работы:

Техника посева бактерий на питательных средах.

Для выделения культур бактерий из патологического материала небольшую часть его с помощью бактериологической петли или пастеровской пипетки вносят на какую-либо питательную среду. Это называется посевом. Сначала бактериологическую петлю или пастеровскую пипетку прожигают над пламенем горелки (тонкий конец пипетки при этом сгибают под прямым углом). Участок органа, из которого будет производиться посев, прижигают нагретым металлическим шпателем или разрезают стерильным скальпелем (при посеве бактериологической петлей).

Берут две пробирки с питательными средами: МПБ и МПА, удерживают их в наклонном положении. Обламывают кончик пастеровской пипетки, быстро проводят пипетку через пламя, прокалывают орган в прижженном месте и насасывают в капилляр небольшое количество материала. В целях безопасности при производстве посевов и пересевов нужно пользоваться резиновой трубкой, один конец которой надевают на пипетку, а на другой — резиновую грушу.

После этого открывают сразу обе пробирки (ватные пробки удерживают мизинцем и ладонью правой руки), обжигают края пробирок на пламени, вносят пипетку с материалом в пробирку с бульоном, быстро насасывают небольшое количество бульона в капилляр и переносят в пробирку со скошенным МПА. Края пробирок прожигают над пламенем и закрывают пробками, также проведенными через пламя. Использованную пипетку немедленно помещают в сосуд с дезинфицирующей жидкостью, а бактериологическую петлю прожигают над пламенем и ставят в штатив. На пробирках специальным карандашом отмечают наименование органа, откуда был взят патологический материал, номер экспертизы и дату посева.

#### **Техника пересевов.**

Берут две пробирки (с культурой бактерий и со свежей средой), удерживая их в наклонном положении. МПА должен быть обращен скосом вверх. Пересев делают бактериологической петлей или пастеровской пипеткой. Петлю прожигают над пламенем, пастеровскую пипетку проводят через пламя, капилляр сгибают под прямым углом и обламывают конец его непосредственно перед пересевом. Над пламенем горелки открывают сразу обе пробирки; проведенной через пламя петлей или пипеткой захватывают небольшое количество материала (петлю надо остудить внутри пробирки) и быстро переносят в пробирку со свежей средой. Посевы на МПА проводят зигзагообразным растиранием материала по поверхности среды. Затем обжигают края пробирок, закрывают их пробками, проведенными через пламя. Петлю прожигают и ставят в штатив; пипетку — в сосуд с дезраствором. Пробирку со средой, на которую был проведен пересев, тотчас подписывают.

При бактериологическом исследовании бактерии изучают в чистых культурах, т.е. без примеси других видов микробов. Для получения чистых культур применяют метод дробного посева микробной суспензии на поверхность твердых питательных сред или метод последовательного разбавления исследуемого материала в жидких или плотных расплавленных средах, а также биологический метод — заражение лабораторных животных. Выросшие на чашках Петри колонии изучают, делают пересевы, получают чистую культуру и приступают к ее исследованию. Оно начинается с описания характера роста бактерии на жидких и твердых средах. Оценка роста на жидких средах сводится к определению степени и характера помутнения, осадка и пристеночного кольца; на твердых средах — характера, величины, формы, цвета и прозрачности колоний. Затем проводят микроскопию культуры, для чего изготавливают мазки и окрашивают их по Граму или другими методами. Следующим этапом исследуется культура на подвижность методом *висячей* или *раздавленной капли*. Для этого используют культуру не старше суточного возраста.

#### **Контрольные вопросы:**

1. Какие существуют способы посева на питательную среду?
2. Как осуществляется пересев микроорганизмов в пробирки?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 9

**ТЕМА :** Экология микроорганизмов. Влияние внешних условий на микроорганизмы

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Вскрытие и исследование лабораторных животных.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Знакомство с принципами работы с лабораторными животными

**ПРИБОРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами; проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 4 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** скальпели, ножницы, пинцеты, предметные стекла, спиртовка, пробирки с МПА, микробиологические иглы, петли, 3%-ный раствор фенола или 96%-ный этиловый спирт

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. С какой целью выявляют факторы патогенности микроорганизмов?
2. Какие факторы патогенности можно выявить, используя микроскопические методы?
3. На чем основаны биохимические методы оценки патогенности микроорганизмов?

### Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

1. Методика выполнения вскрытия и исследования лабораторных животных

### Порядок выполнения работы:

Вскрытие и исследование трупов лабораторных животных проводят с целью патологоанатомического и микробиологического исследования. Вскрывать труп следует сразу после смерти животного. Делают это на столах, обитых оцинкованным железом, или в металлических ванночках, укрепляя трупы на деревянной или пробковой доске булавками. Удобно залить ванночку воском и на нем после застывания фиксировать труп булавками. После вскрытия воск обеззараживают перетапливанием.

Перед вскрытием готовят инструменты (скальпели, ножницы, пинцеты), а также все необходимое для посевов и изготовления мазков. Вскрытие начинают разрезом по белой линии живота от лобка до шеи. Кожу препарируют на две стороны. Грудную полость вскрывают ножницами, разрезая сначала диафрагму, затем ребра с обеих сторон по месту прикрепления их к грудной кости, последнюю отделяют от трупа. Для лучшего осмотра органов брюшной полости разрезают брюшную стенку перпендикулярно к первому разрезу в обе стороны до поясничных позвонков. При необходимости вскрывают черепно-мозговую полость и исследуют головной мозг.

После беглого осмотра органов делают посевы из внутренних органов и крови сердца, изготавливают мазки-отпечатки и после этого проводят тщательное патологоанатомическое исследование. Результаты вносят в бланк лабораторной экспертизы.

Инструменты после работы стерилизуют кипячением; труп животного сжигают или автоклавируют. Стол и ванночки заливают 3%-ным раствором фенола или 5%-ным раствором лизола на 2 ч. Столы можно увлажнить спиртом и затем прожечь.

### **Контрольные вопросы:**

1. Какие принципы нужно соблюдать при вскрытии лабораторных животных?
2. В какой последовательности проводят вскрытие трупов лабораторных животных и посев патологического материала?

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 10**

**ТЕМА :** Экология микроорганизмов. Влияние внешних условий на микроорганизмы

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Методы стерилизации и дезинфекции.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Изучить методы стерилизации

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами; проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** пробирки, колбы, электроплитка, термометр на 100° С, аппарат Коха( автоклав ), спиртовка, термостат, агар, чашки Петри.

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### **Контрольные вопросы при допуске к занятию**

1. Основные виды стерилизации.
2. Что такое пастеризация?
3. Что такое чистые культуры?

### **Методические указания**

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### **Ход работы:**

1. Освоение методов стерилизации

### **Порядок выполнения работы:**

1. Освоение методов стерилизации

*Стерилизация нагреванием.*

Существует ряд методов стерилизации, основанных на уничтожении микроорганизмов термической обработкой. Для стерилизации на пламени стерилизуемый объект проводят

несколько раз через пламя спиртовки. Таким образом, можно стерилизовать металлические и стеклянные предметы: шпатели, петли, предметные и покровные стекла.

*Стерилизация кипячением* применяется для обработки шприцев, игл, хирургических инструментов. Кипятят 15 мин., но споры м\о при этом не погибают. Для усиления стерилизующего действия кипячения к воде прибавляют 1% соды.

*Стерилизация сухим жаром (горячим воздухом)* проводится в сушильном шкафу или печи Пастера. Стерилизация продолжается 2 часа при  $t=160^{\circ}\text{C}$  или 1 ч. при  $170^{\circ}\text{C}$ . Таким способом можно стерилизовать пробирки, колбы, чашки Петри и др. посуду. Стерилизацию ваты, бумаги лучше проводить при  $160^{\circ}\text{C}$ . Действие сухого жара в отсутствие влаги заключается в обугливание всех м\о и их спор.

*Стерилизация паром под давлением* является очень эффективной и при однократной обработке приводит к уничтожению вегетативных и споровых форм. Обычно стерилизацию в автоклаве проводят при избыточном давлении 100 кПа в течение 30 мин. Когда стерилизуют посуду или среды, не содержащие углеводы и белки, продолжительность стерилизации увеличивают до 1-1,5 ч. Среды, содержащие до 10% сахаров и желатину стерилизуют при давлении 50 кПа-20 мин.

*Стерилизация текучим паром* применяется в том случае, если стерилизуемый объект (молоко, среды, содержащие сахар, картофель и др.) при  $t$  свыше  $100^{\circ}\text{C}$  может уменьшиться. В аппарате Коха проводят стерилизацию текучим паром в течение 30-60 мин. Обычно стерилизуют 3 раза по 30 мин. с перерывом в одни сутки между стерилизацией.

*Пастеризацией* называется уничтожение беспоровых форм при нагревании объекта в течение 15 мин. при  $60-70^{\circ}\text{C}$ . Эту обработку проводят для увеличения стойкости отдельных продуктов: вина, пива, молока и др. При пастеризации погибают многие патогенные м\о.

### Контрольные вопросы:

1. Как проводится стерилизация текучим паром?
2. Как проводится пастеризация?
3. Как проводится стерилизация сухим жаром?

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 11

**ТЕМА** : Основы учения о вирусах.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ** : Культивирование вирусов в куриных эмбрионах

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**: научиться методике культивирования вирусов в куриных эмбрионах

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ** : обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами; проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам.

**НОРМА ВРЕМЕНИ** : 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА** : подставка для яйца, пузырьки со спиртом и йодом, пробирка со стерильным парафином, покровные стёкла, пакетики стерильной ваты и марли, стерильная посуда, стерильные шприцы, иглы, пинцеты, препаровальные иглы, термостат.

**ЛИТЕРАТУРА**: Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Что такое вирусы?
2. Какими морфологическими свойствами обладают вирусы?

## Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы. По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений. Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью. По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

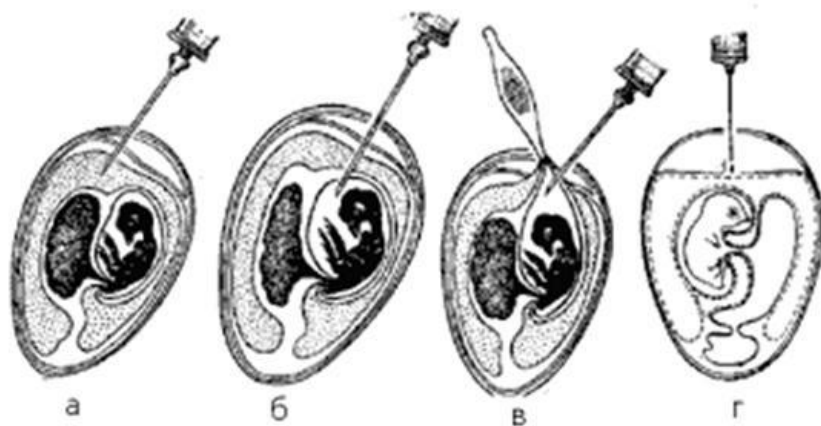
#### 1. Изучение методики культивирования вирусов в куриных эмбрионах

##### Порядок выполнения работы:

Инструменты помещают в стаканчик со спиртом, где они находятся в течение всей работы, перед каждой манипуляцией их дополнительно стерилизуют обжиганием в пламени горелки. Руки перед работой тщательно моют, рекомендуется надеть маску из марли.

Рассмотрим один из способов культивирования вирусов в куриных эмбрионах.

**Заражение в желточный мешок.** С этой целью используют эмбрионы 5 - 10-дневного возраста. Наиболее употребительны два метода заражения. По первому материал вводится через воздушное пространство. В центре яйца делают отверстие, помещают его на подставку тупым концом вправо и через отверстие в вертикальном направлении вводят иглу, надетую на шприц, игла проходит через хорионаллантоисную оболочку, аллантоисную полость в желток. В желточный мешок можно ввести от 0,1 до 0,5 мл вируссодержащего материала. После заражения отверстие в скорлупе заливают парафином, и эмбрион помещают в термостат. По второму методу на границе воздушного пространства с той стороны, где лежит желток (стороны, противоположной от эмбриона), делают прокол скорлупы, через который вводят инфекционный материал. Направление иглы должно быть к центру яйца.



Куриный эмбрион, инфицированный вирусным материалом, ставят в инкубатор на 2-3 дня, в зависимости от характера внесенного вируса. Для развития вирусов из проб куриный эмбрион представляет хорошую среду. По типу изменений, например, в тканях хорионаллантоисной оболочки, можно непосредственно определить, тип вируса.

### Контрольные вопросы:

1. Как влияют физические и химические факторы на жизнедеятельность вирусов?
2. Патогенные свойства вирусов.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 12

**ТЕМА :** Основы учения о вирусах.

**НАИМЕНОВАНИЕ РАБОТЫ :** Культивирование вирусов в культуре клеток куриных фибробластов.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** Изучить методику культивирования вирусов на клетках куриных фибропластов

**ПРИБРЕТАЕМЫЕ НАВЫКИ И УМЕНИЯ :** обеспечивать антисептические условия работы с биоматериалами; проводить микробиологические исследования и давать оценку полученным результатам.

**НОРМА ВРЕМЕНИ :** 2 часа

**ОСНАЩЕНИЕ РАБОЧЕГО МЕСТА :** пробирки с клеточным монослоем, пробирки с культурой вируса, термостат, 7,5%-ный раствор бикарбоната натрия, раствор Хенкса.

**ЛИТЕРАТУРА:** Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией»

### Контрольные вопросы при допуске к занятию

1. Что такое капсиды?
2. Что такое патогенный процесс?

### Методические указания

Перед началом работы следует ознакомиться с содержанием лабораторной работы.

По ходу работы необходимо вносить в рабочую тетрадь записи и зарисовки наблюдений.

Все использованные инструменты (иглы, петли, пипетки ит.д.), а также предметные и покровные стекла должны опускаться в сосуд с дезинфицирующей жидкостью.

По окончании работы необходимо привести в порядок рабочее место.

### Ход работы:

1. Заражение клеток.
2. Культивирование вируса.

### Порядок выполнения работы:

**1.Заражение клеток.**Для этого отбирают пробирки (или матрасы) со сплошным клеточным монослоем, просматривая их под малым увеличением микроскопа. Ростовую питательную среду сливают, клетки 1--2 раза промывают раствором Хенкса, чтобы удалить сывороточные антитела и ингибиторы. В каждую пробирку вносят по 0,1--0,2 мл вирусосодержащего материала и покачиванием распределяют его равномерно по слою клеток. В таком виде пробирки (матрасы) оставляют от 1 до 2 ч при 22 или 37 °С для адсорбции вируса на поверхности клеток. Затем вирусосодержащий материал удаляют из пробирок (матрасов) и наливают поддерживающую среду (в пробирку 1--2 мл, в матрасы около 10% его объема).

**2.Культивирование вируса.**Пробирки (матрасы) закрывают герметически резиновыми пробками и ставят на инкубацию в термостат при 37 °С. Наиболее широко применяют стационарное инкубирование. При этом матрасы кладут в горизонтальном положении, пробирки -- под углом 5° так, чтобы монослой клеток оказался под питательной средой



(чертой вверх). Для каждой пробы материала обычно используют не менее 4--10 пробирок с культурой клеток. Для контроля оставляют 4--6 пробирок с незараженной культурой клеток, в которых заменяют ростовую среду на поддерживающую.

В культурах клеток, зараженных вирусом, питательную среду можно не менять в течение 7 дней, а рН среды (6,9--7,4) поддерживать с помощью 7,5%-ного раствора бикарбоната натрия. При более длительном культивировании инфицированных клеток среду меняют. Все пробирки (матрасы) после заражения клеток ежедневно исследуют под малым увеличением микроскопа, сравнивая культуры клеток, зараженные вирусом, с контрольными.

#### **Контрольные вопросы:**

1. Как проводится заражение клеток вирусом?
2. При какой температуре происходит культивирование вируса на куриных фибропластах?

## Используемая литература

### *Основная:*

Горохова С.С. Основы микробиологии, производственной санитарии и гигиены: учеб.пособие/С.С. Горохова и др. – М.:ИЦ «Академия», 2013г.

Бакулов А.И. «Эпизоотология с микробиологией» М. Колос, 2015г

### *Дополнительная:*

Прозоркина Н.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: учеб.пособие /Н.В. Прозоркина, Л.А. рубашкина. – Ростов н/Д: Феникс, 2013

Сидоров М.А., Корнелаева Р.П. Микробиология мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 2014

Кисленко В.Н., Колычев Н.М., Суворина О.С. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 3-Частная микробиология.-М.КолосС, 2016-215 с.

Эпизоотология с микробиологией [Электронный ресурс]: учебник / А.С. Алиев [и др.]; под ред. В.А. Кузьмина, А.В. Святковского. - Санкт-Петербург: Лань, 2019. - 432 с. - ЭБС «Лань» - Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/112071>

Кисленко, В.Н. Микробиология [Электронный ресурс]: учебник / В.Н. Кисленко, М.Ш. Азаев - М.: ИНФРА-М, 2015. - 272 с. - ЭБС «Znanium.com» - Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/478874>

Киркимбаева, Ж. С. Частная микробиология [Электронный ресурс]: учебное пособие / Ж. С. Киркимбаева. - Алматы: Нур-Принт, 2014. - 274 с. - ЭБС «IPRbooks» - Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/67175.html>

Госманов, Р.Г. Микробиология и иммунология [Электронный ресурс]: учебное пособие / Р.Г. Госманов, А.И. Ибрагимова, А.К. Галиуллин. - Санкт-Петербург: Лань, 2013. - 240 с. - ЭБС «Лань» - Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/12976>