ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Т.Г. ШЕВЧЕНКО
Медицинский факультет
Кафедра биологии и физиологии человека

ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Рабочая тетрадь

Фамилия	
Имя	
Отчество	
АКП	

Рабочая тетрадь переплетается или подписывается каждый лист

Тирасполь
Издательство Приднестровского Университета
2024

УДК 579.22(075.8)
ББК Е473я73
Ф50

Составитель:
В.В. Власов, канд. биол. наук, доцент

Рецензенты:
Т.В. Пазяева, зав. кафедрой технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции АТФ ПГУ им. Т.Г. Шевченко, доц., канд. с.-х. наук
К.К. Вдовиченко, доц. кафедры биологии и физиологии человека ПГУ им. Т.Г. Шевченко; канд. биол. наук

Ф50 **Физиология микроорганизмов**: рабочая тетрадь [Электронный ресурс] / ГОУ «Приднестровский государственный университет им. Т.Г. Шевченко» ; Медицинский факультет ; Кафедра биологии и физиологии человека ; сост.: В.В. Власов. – Тирасполь: Изд-во Приднестр. ун-та, 2024. – 44 с.

Минимальные системные требования: CPU (Intel/AMD) 1,5 ГГц / ОЗУ 2 ГГб/HDD 450 Мб / 1024*768 / Windows 7 и старше / Internet Explorer 11 / Adobe Acrobat Reader 6 и старше.

Рабочая тетрадь предназначена для выполнения лабораторных работ по разделу «Физиология микроорганизмов», посвящена актуальной проблеме изучения биохимических свойств микроорганизмов.

Рабочая тетрадь предназначена для студентов 2 курса специальности 31.05.01 «Лечебное дело», изучающих учебный курс «Микробиология и вирусология», и должна использоваться как приложение к лабораторному практикуму «Физиология микроорганизмов».

УДК 579.22(075.8)
ББК Е473я73

Рекомендовано Научно-методическим советом ПГУ им. Т.Г. Шевченко

© Власов В.В., составление, 2024

Учебное издание

ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ
Рабочая тетрадь

Составление
Власов Вадим Вячеславович

Издается в авторской редакции
Компьютерная верстка *О.А. Штырова*

ИЛ № 06150. Сер. АЮ от 21.02.2002.
Формат 60×84/8. Усл. печ. л. 2,75. Заказ № 499.
Подписано в печать 23.12.24. Электронное издание.

Изд-во Приднестр. ун-та. 3300, г. Тирасполь, ул. Мира, 18.
Опубликовано на Образовательном портале ПГУ им. Т.Г. Шевченко *http://moodle@spsu.ru*

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ: как работать с тетрадью 4

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1. Питательные среды. Выделение чистых культур микроорганизмов. Методы стерилизации 5

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2. Получение чистой культуры бактерий. Культуральные свойства бактерий 12

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3. Схемы идентификации бактерий 15

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4. Определение потребности бактерий в кислороде. Определение цитохромоксидазы и каталазы у бактерий 19

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5. Обнаружение сахаролитических ферментов бактерий. «Пёстрый ряд» 24

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6. Определение протеолитических и липолитических свойств бактерий 34

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7. Дополнительные биохимические тесты для идентификации бактерий 39

Контрольные вопросы для подготовки к письменному опросу 42

ВВЕДЕНИЕ

Как работать с тетрадью

1. Перед тем, как приступить к выполнению практических заданий, представленных в данной тетради, изучите всю доступную информацию из учебника, лабораторного практикума, а также материал лекции, соответствующей данной теме

2. Соблюдайте последовательность заданий, представленных в данной тетради и практикуме

3. При заполнении полей, предназначенных для ответов, будьте краткими, избегайте слов и конструкций, без которых можно обойтись, например: «из этого следует», «можно сказать», «хотелось бы отметить» и тому подобных. Ответы должны отражать суть предмета обсуждения.

4. Результаты практической работы, выполненной студентами на занятии должны быть сфотографированы, распечатаны на цветном принтере и вклеены в соответствующие поля лабораторной работы. Допускается зарисовывать результаты экспериментов в соответствующем поле. В некоторых случаях на вклеенных фотографиях или рисунках необходимо сделать дополнительные надписи. Иллюстративный материал из практикума только зарисовывается.

5. По окончании работы сделайте выводы. Для составления выводов проанализируйте результат эксперимента и сверьтесь с теоретической частью.

6. В конце каждой работы представлены контрольные вопросы. Используйте теоретический материал для составления письменных ответов на них. К конце каждого занятия проводится письменный опрос по текущей теме.

7. Правильно заполненная рабочая тетрадь предоставляется на проверку преподавателю и является одним из условий для допуска к зачёту и экзамену.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

Питательные среды. Выделение чистых культур микроорганизмов. Методы стерилизации

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Типы питания бактерий. 2. Факторы роста. Ферменты. 3. Механизмы транспорта питательных веществ. Ионный обмен. 4. Методы и средства выделения чистой культуры бактерий.	Рис.: 1. Посев методом Дригальского, 2. Посев методом истощающего штриха Схема: Этапы выделения чистой культуры бактерий	Таблицы: 1. Типы питательных сред 2. Методы и режимы стерилизации

Что такое питательная среда?

Каким условиям должна соответствовать питательная среда?

Классифицируйте питательные среды по плотности:

Вид среды	Состав	Примеры использования
Плотная		
Полужидкая		
Жидкая		

Классифицируйте питательные среды по назначению:

Виды питательных сред	Назначение	Примеры
Универсальные (основные)		
Специальные		
Дифференциально-диагностические		
Элективные или избирательные (среды обогащения)		
Консервирующие (транспортные)		
Селективные		

Что такое посев микроорганизмов?

Зарисуйте шпатель Дригальского:

Запишите технику посева бактерий по Дригальскому:

1	
2	
3	
4	
5	

Зарисуйте или вклейте результаты посева по Дригальскому:

Сделайте вывод, из какой чашки можно сделать пересев для получения чистой культуры бактерии.

I чашка II чашка III чашка

Вывод:

Опишите технику посева микроорганизмов методом истощающего штриха:

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

Зарисуйте или вклейте фотографию результаты посева истощающим штрихом:

Сделайте вывод, из какого сектора можно сделать пересев для получения чистой культуры бактерии.

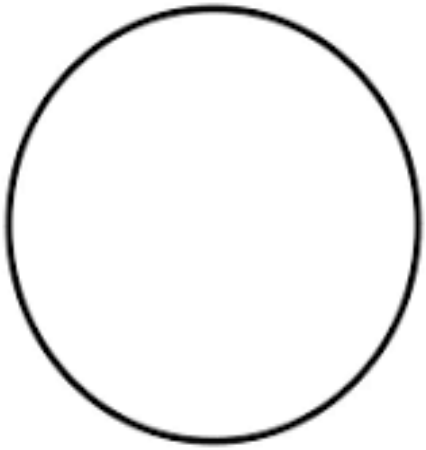


Схема посева бактерий методом истощающего штриха.	Результат посева бактерий истощающим штрихом.
Вывод:	

Что такое бактериостатическое и бактерицидное действие дезинфектантов?

Опишите представленные методы стерилизации:

Пастеризация		
Стерилизация		
Автоклавирование		+0,5 атм ºС +1,0 атм ºС +2,0 атм ºС
Сухим жаром		T = ºС
Тиндализация		T = ºС
Фламбирование		
Холодная стерилизация	Ультрафиолет... Фильтрование...	

Низкие температуры...

Устойчивость микроорганизмов к низким температурам? ...

Опишите действие различных групп химических веществ на микроорганизмы:

Бактерицидные вещества по их действию на микроорганизмы подразделяют на:

Поверхностно-активные вещества		
Соли тяжёлых металлов		
Окислители		
Органические кислоты		
Неорганические кислоты и щелочи		
Группа формальдегида		
Фенол и его производные		

Запишите ход работы по определению эффективности различных методов обеззараживания:

Опишите технику посева микроорганизмов методом истощающего штриха:

1	Культура 1: Культура 2:

2	
3	Пробирка №1... Пробирка №2... Пробирка №3... Пробирка №4...
4	
5	

Заполните таблицу по результатам опыта:

Вариант	*Escherichia coli*			*Bacillus subtilis*		
	Помутнение среды	Цвет индикатора	Эффективность метода	Помутнение среды	Цвет индикатора	Эффективность метода
Пробирка №1 контроль						
Пробирка №2 пастеризация при 80 °С 15 минут						
Пробирка №3 довести до кипения						
Пробирка №4 автоклавирование при 121 °С 15 минут						

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

Получение чистой культуры бактерий. Культуральные свойства бактерий

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Способы размножения бактерий 2. Принципы и условия культивирования бактерий. 3. Характер роста на плотных и жидких питательных средах. 4. Развитие бактериальной популяции. 5. Свечение, пигменто- и ароматообразование у бактерий.	Таблица: Характеристика морфологии и микроскопического состава выделенных колоний. Рис.: формы колоний	Таблицы: 1. Схема выделения чистой культуры аэробных бактерий. 2. Схема выделения чистой культуры анаэробных бактерий. 3. Классификация бактериальных культур

Что такое культура микроорганизма?

Какая культура называется чистой?

Для чего получают чистые культуры микроорганизмов?

Что такое колониеобразующая единица?

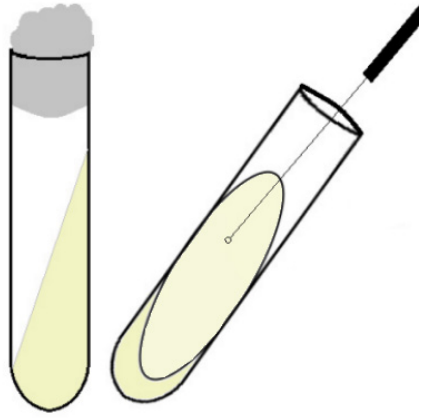
Рассмотрите посев по Дригальскому или посев методом истощающего штриха, которые Вы провели в предыдущей работе. Опишите морфологию каждого типа выросших колоний и заполните таблицу:

Признак	Описание выросших колоний		
	Колония 1 типа	Колония 2 типа	Колония 3 типа
Форма			
Край			
Профиль			
Размер			
Текстура			
Внешний вид			
Цвет			
Прозрачность			

Опишите этапы пересева бактериальной культуры на скошенный агар:

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	

Зарисуйте правильную схему посева бактериальной культуры на скошенный агар:

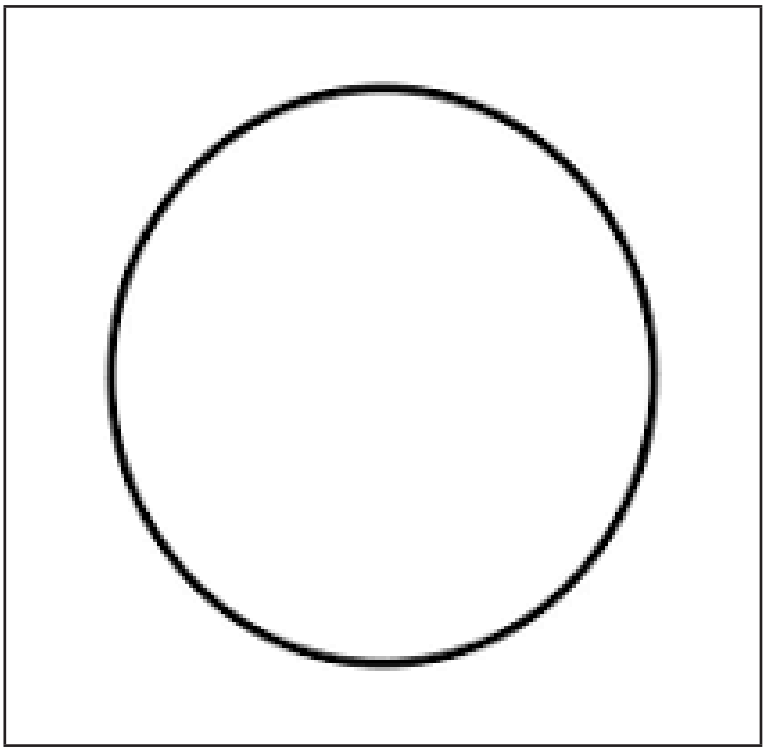


Приготовьте питательную среду Кинг Б и проведите посев выделенных штаммов на эту среду:

Ингредиент	Количество

Режим стерилизации: ...

Зарисуйте или вклейте фотографию просмотра засеянных чашек в ультрафиолете:



ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3

Схемы идентификации бактерий

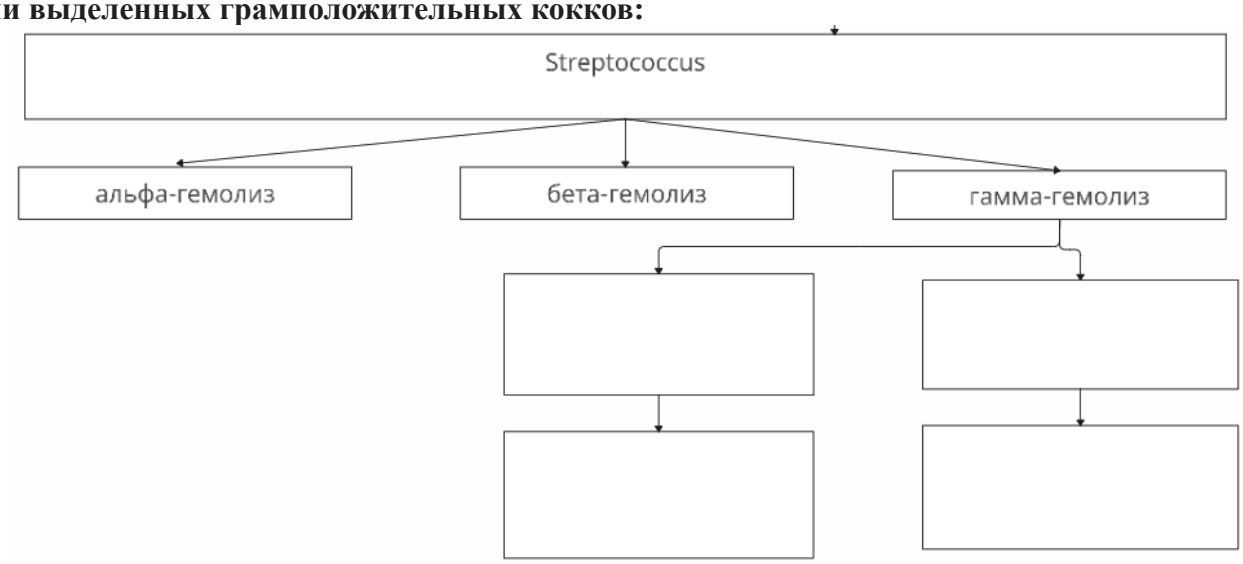
Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Общие подходы к идентификации 2. Выбор схемы идентификации бактериальной культуры 3. Первые этапы идентификации	Таблица: Характеристика свойств выбранного для идентификации штамма	1. Принципы идентификации бактериальной культуры 2. Результаты проведения тестов по первоначальной идентификации штамма

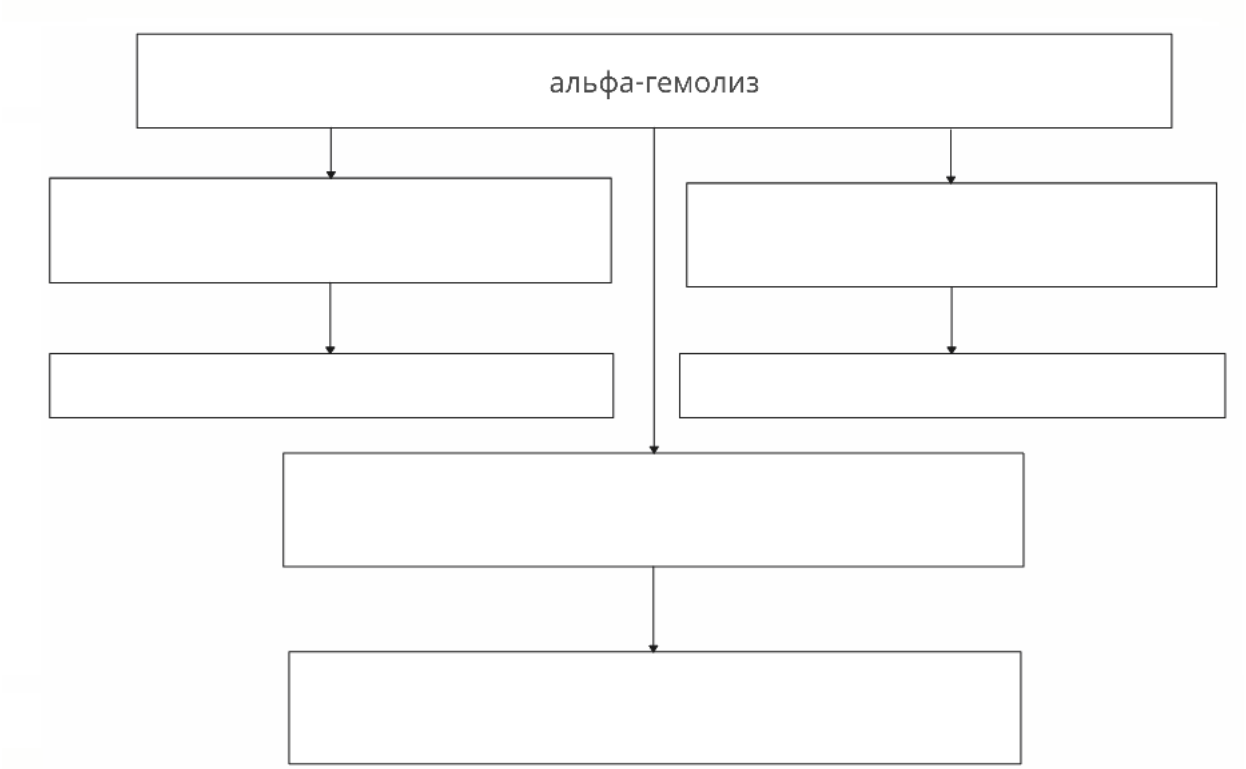
Что такое идентификация микроорганизмов? На чём она основывается?

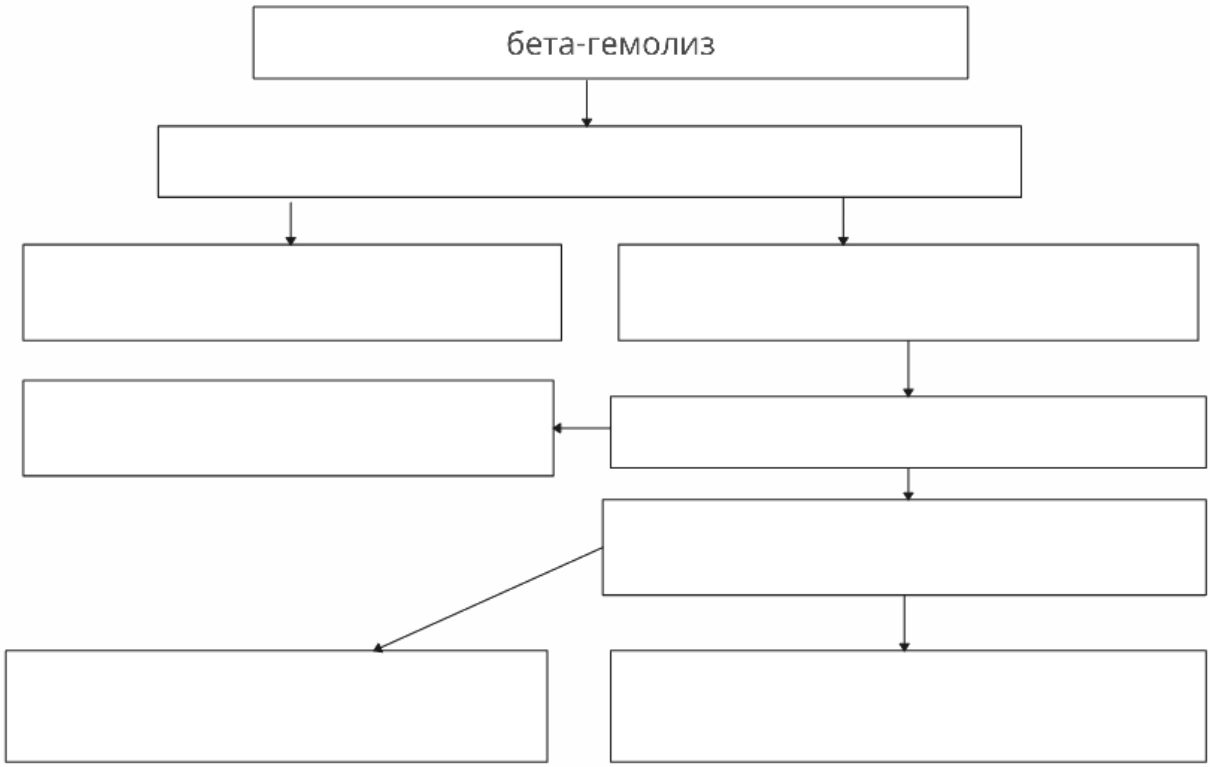
Запишите критерии для построения схемы идентификации бактерий:

1	
2	
3	
4	
5	

Используя Практикум по физиологии микроорганизмов составьте схему идентификации выделенных грамположительных кокков:



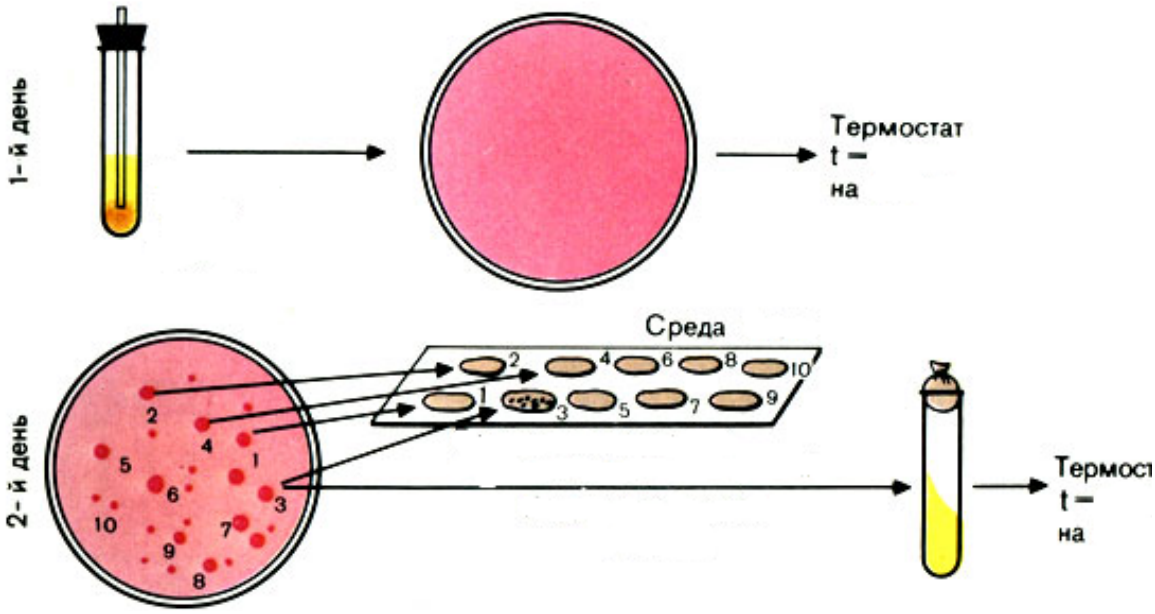

альфа-гемолиз

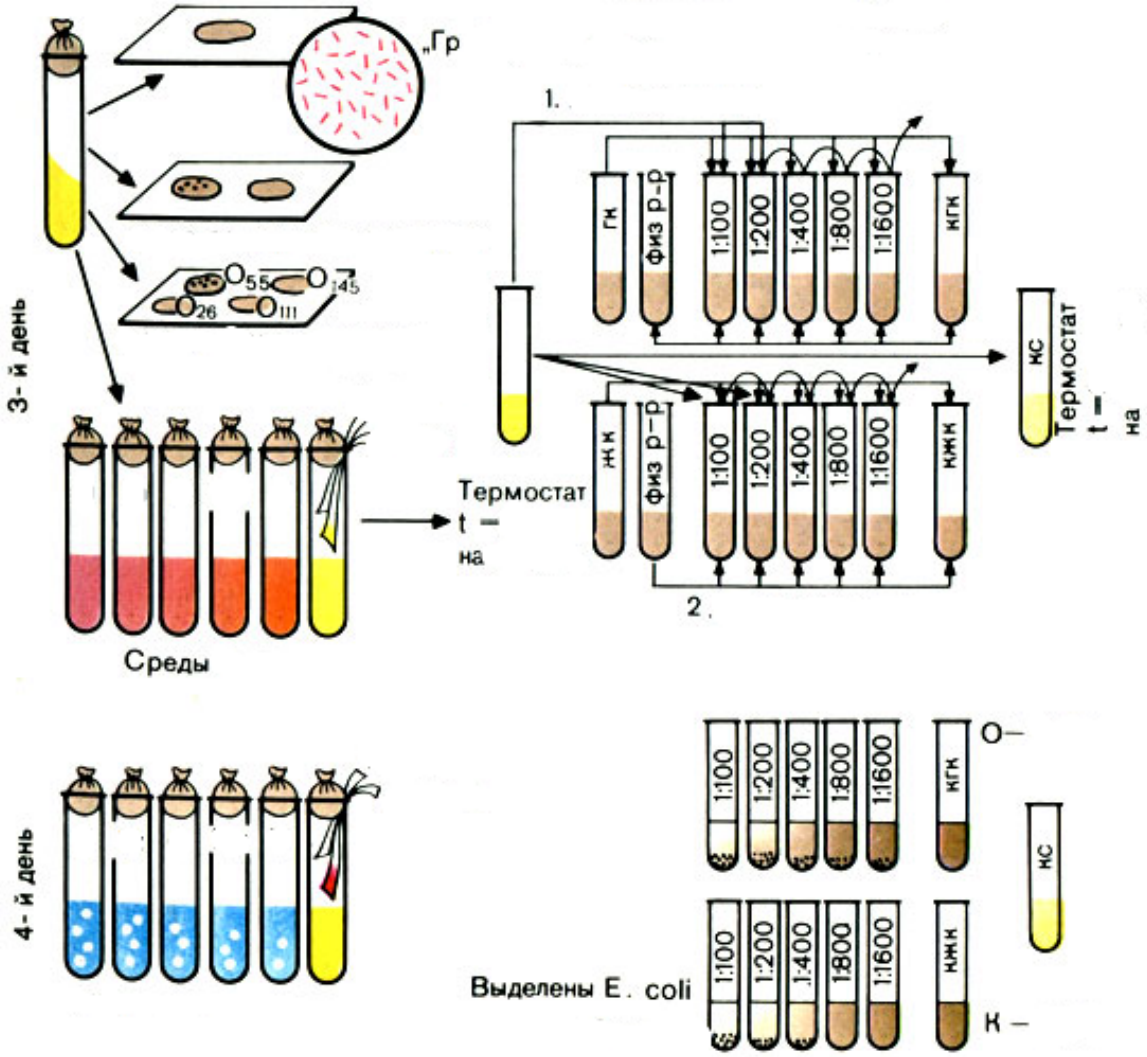

бета-гемолиз

Приготовьте кровяной агар по прописи, представленной в лабораторной работе №7 Практикума по физиологии микроорганизмов и проведите посев исследуемой культуры на эту среду. Сфотографируйте и вклейте результат посева. Запишите изменения среды при разных типах гемолиза.

Тип гемолиза: альфа	Тип гемолиза: бета
При этом типе гемолиза...	При этом типе гемолиза...

Заполните схему идентификации энтеропатогенных Escherichia coli:




„Гр
O55
O145
O26
O111
3- й день
Среды
Термостат
t –
на
1.
гк
физ р-р
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
кгк
кс
Термостат
t –
на
жгк
физ р-р
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
кжк
2.
4- й день
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
кгк
О–
кс
Выделены E. coli
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
кжк
К –

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4

Определение потребности бактерий в кислороде. Определение цитохромоксидазы и каталазы у бактерий

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Отношение бактерий к кислороду 2. Дыхательные ферменты бактерий 3. Роль свободного кислорода в жизнедеятельности бактерий	Таблица: Характеристика свойств выбранного для идентификации штамма	1. Результаты проведения теста на окисление-сбраживание 2. Результаты определения каталазы и оксидазы

Укажите различия между группами микроорганизмов по их отношению к кислороду:

Облигатные аэробы...
Факультативные анаэробы...
Облигатные анаэробы...
Почему для облигатных анаэробов кислород ядовит?

Для чего проводится проба Хью-Лейфсона (O-F – тест)?

В чём заключается принцип пробы Хью-Лейфсона?

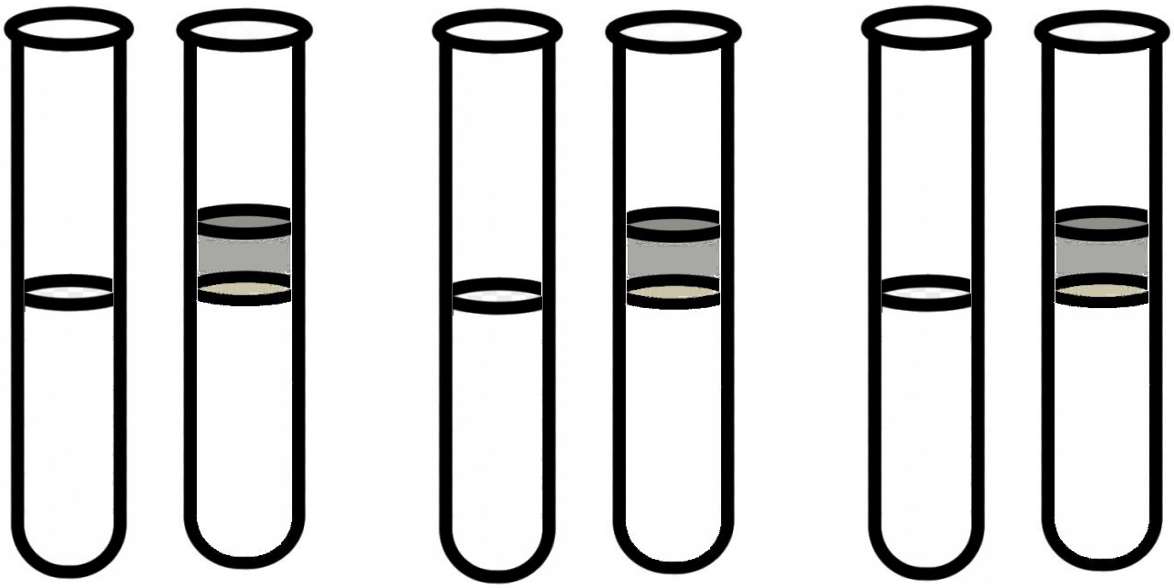
Приведите возможные результаты пробы Хью-Лейфсона:

Цвет индикатора в пробирке:		Тип метаболизма	Группа
без масла	с маслом		

Запишите последовательность проведения пробы Хью-Лейфсона:

1	
2	
3	
4	

Зарисуйте или вклейте результаты проведения пробы Хью-Лейфсона:



Цвет индикатора сразу после посева

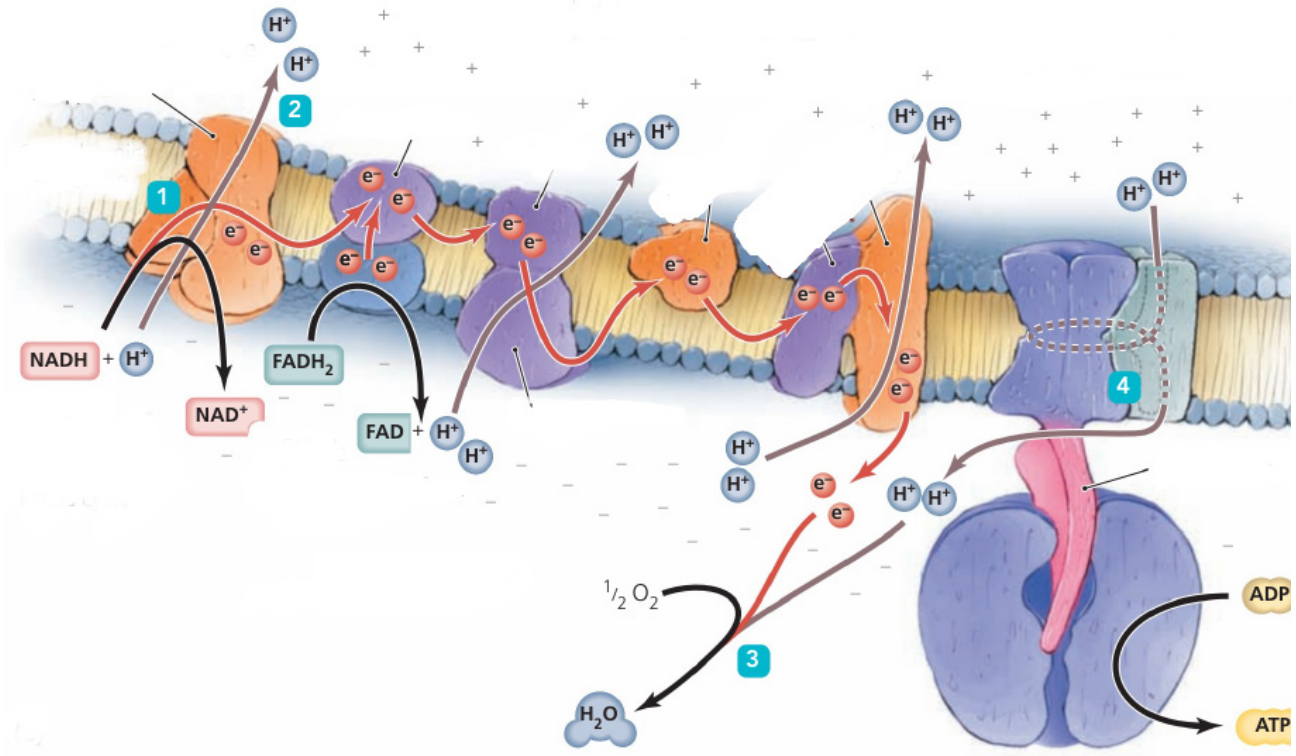
Строгий (облигатный) аэроб

Факультативный анаэроб

Опишите основные типы переносчиков электронов в электрон-транспортной цепи:

Флавопротеины...
Убихиноны...
Металлсодержащие белки...
Цитохромы...

Укажите на схеме основные элементы электрон-транспортной цепи:



Запишите порядок проведения теста на наличия цитохром С оксидазы методом Габи-Хадли:

1	
2	
3	

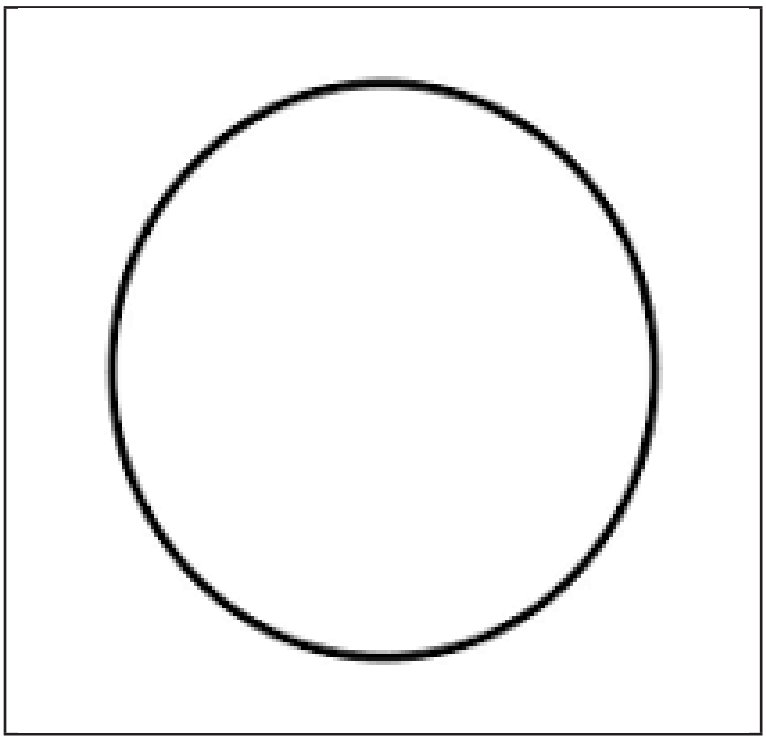
Зарисуйте или вклейте фотографию с результатами теста на определение оксидазы цитохрома С:

Какова биологическая роль каталазы?

Запишите последовательность проведения теста на наличие каталазы:

1	
2	
3	

Зарисуйте или вклейте фотографию с результатами теста на определение каталазы:



ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5

Обнаружение сахаролитических ферментов бактерий. «Пёстрый ряд»

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Сахаролитические ферменты бактерий, их роль в метаболизме 2. Навыки работы с «Определителем бактерий Берджи»	Посев в пробирки со средами Гисса	Таблицы: 1. Виды субстратного фосфорилирования у прокариот. 2. Виды брожения. 3. Список дифференциально-диагностических сред

На чём основаны биохимические методы дифференциации микроорганизмов? С чем это связано?

Опишите принцип действия дифференциально-диагностических сред Гисса:

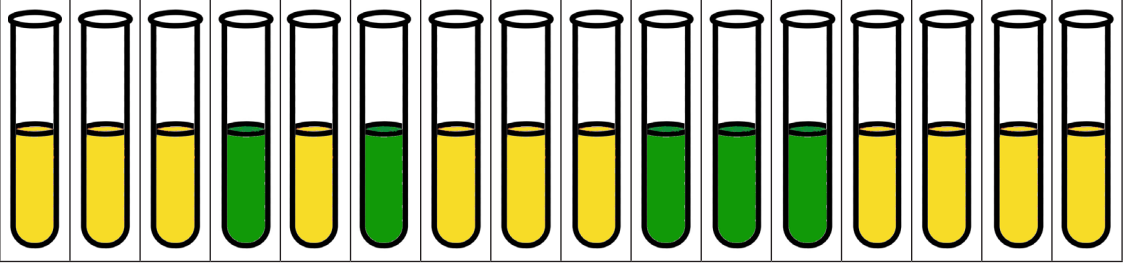
Как устанавливают усвоение того или иного углевода на средах Гисса?

Как устанавливают образование газообразных продуктов распада углеводов на средах Гисса?

Используя «Определитель бактерий Берджи» (см. ниже) установите видовую принадлежность следующих штаммов бактерий:

Характеристика штамма № 1

Форма клетки:	**палочки**	**Проба Хью-Лейфсона**	**F**
Тип клеточной стенки:	**грамотрицательные**	**Оксидаза цитохрома С**	**нет**
Подвижность (жгутики):	**подвижны**	**Проба с метиловым красным**	**положительная**
Капсула:	**нет**	**Образование H_2S**	**нет**
Образование эндоспор:	**нет**	**Образование индола**	**да**
Образование пигмента	**нет**	**Гидролиз желатины**	**нет**

Признак	Усвоение углеводов на средах Гисса с индикатором бромтимоловым синим:															
	Глюкоза	Арабиноза	Глицерол	Дульцитол	Ксилоза	Лактоза	Мальтоза	Маннитол	Маннoза	Рамноза	Рафиноза	Салицин	Сахароза	Сорбитол	Трегалоза	Целлобиоза
Тип реакции																

Заключение: изученным штамм относится к виду _____

_____

Характеристика штамма № 2

Форма клетки:	**палочки**	**Проба Хью-Лейфсона**	**F**
Тип клеточной стенки:	**грамотрицательные**	**Оксидаза цитохрома С**	**нет**
Подвижность (жгутики):	**нет**	**Проба с метиловым красным**	**положительная**
Капсула:	**нет**	**Образование H_2S**	**нет**
Образование эндоспор:	**нет**	**Образование индола**	**нет**
Образование пигмента	**нет**	**Гидролиз желатины**	**нет**

Признак	Усвоение углеводов на средах Гисса с индикатором бромтимоловым синим:															
	Глюкоза	Арабиноза	Глицерол	Дульцитол	Ксилоза	Лактоза	Мальтоза	Маннитол	Манноза	Рамноза	Рафиноза	Салицин	Сахароза	Сорбитол	Трегалоза	Целлобиоза
Тип реакции																

Заключение: изученным штамм относится к виду _____

_____

Характеристика штамма № 2

Форма клетки:	**палочки**	**Проба Хью-Лейфсона**	**F**
Тип клеточной стенки:	**грамотрицательные**	**Оксидаза цитохрома С**	**нет**
Подвижность (жгутики):	**нет**	**Проба с метиловым красным**	**положительная**
Капсула:	**нет**	**Образование H_2S**	**нет**
Образование эндоспор:	**нет**	**Образование индола**	**нет**
Образование пигмента	**нет**	**Гидролиз желатины**	**нет**

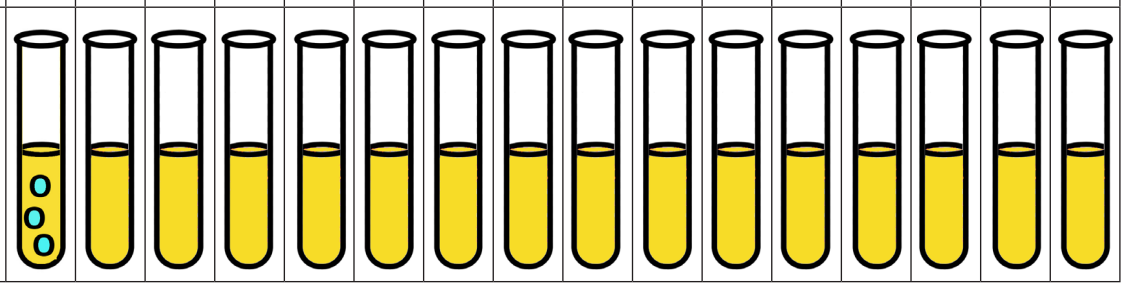
Признак	Усвоение углеводов на средах Гисса с индикатором бромтимоловым синим:															
	Глюкоза	Арабиноза	Глицерол	Дульцитол	Ксилоза	Лактоза	Мальтоза	Маннитол	Манноза	Рамноза	Рафиноза	Салицин	Сахароза	Сорбитол	Трегалоза	Целлобиоза
Тип реакции																

Заключение: изученным штамм относится к виду _____

_____

Характеристика штамма № 4

Форма клетки:	**палочки**	**Проба Хью-Лейфсона**	**F**
Тип клеточной стенки:	**грамотрицательные**	**Оксидаза цитохрома С**	**нет**
Подвижность (жгутики):	**нет**	**Проба с метиловым красным**	**отрицательная**
Капсула:	**да**	**Образование H_2S**	**нет**
Образование эндоспор:	**нет**	**Образование индола**	**нет**
Образование пигмента	**нет**	**Гидролиз желатины**	**нет**

Признак	Усвоение углеводов на средах Гисса с индикатором бромтимоловым синим:															
	Глюкоза	Арабиноза	Глицерол	Дульцитол	Ксилоза	Лактоза	Мальтоза	Маннитол	Манноза	Рамноза	Рафиноза	Салицин	Сахароза	Сорбитол	Трегалоза	Целлобиоза
Тип реакции																

Заключение: изученным штамм относится к виду _____

_____

Тест	*Klebsiella planticola*	*Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*	*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*	*Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhino-scleromatis*	*Klebsiella terrigena*	*Kluyvera ascorbata*
Окраска по Граму (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Оксидаза (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Образование индола	[–]	–	–	–	–	+
Проба с метиловым красным	+	+	[–]	+	d	+
Реакция Фогеса–Проскауэра	+	–	+	–	+	–
Цитрат (среда Симмонса)	+	d	+	–	d	+
Образование H_2S	–	–	–	–	–	–
Гидролиз мочевины	+	–	+	–	–	–
Фенилаланиндезаминаза (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Лизиндекарбоксилаза	+	d	+	–	+	+
Аргинин дигидролаза	–	–	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	–	–	–	–	[–]	+
Подвижность	–	–	–	–	–	+
Гидролиз желатины (22°C)	–	–	–	–	–	–
Рост в присутствии KCN	+	[+]	+	[+]	+	+
Использование малоната	+	–	+	+	+	+
Образование кислоты из D-глюкозы	+	+	+	+	+	+
Образование газа из D-глюкозы	+	d	+	–	[+]	+
Образование кислоты из						
D-адонитола	+	+	+	+	+	–
L-арабинозы	+	+	+	+	+	+
глицерола	+	d	+	d	+	d
дульцитола	[–]	–	d	–	[–]	[–]
мио-инозитола	+	d	+	+	[+]	–
D-ксилозы	+	+	+	+	+	+
лактозы	+	d	+	–	+	+
мальтозы	+	+	+	+	+	+
D-маннитола	+	+	+	+	+	+
D-маннозы	+	+	+	+	+	+
мелибиозы	+	+	+	+	+	+
α-метил-D-глюкозида	+	d	+	–	+	+
L-рамнозы	+	d	+	+	+	+
рафинозы	+	+	+	+	+	+
салицина	+	+	+	+	+	+
сахарозы	+	[–]	+	[+]	+	+
D-сорбитола	+	d	+	+	+	d
трегалозы	+	+	+	+	+	+
целлобиозы	+	+	+	+	+	+
муката	+	[–]	+	–	+	+
Тартрат (среда Джорданса)	+	d	+	d	+	d
Гидролиз эскулина	+	[+]	+	d	+	+
Использование ацетата	d	–	[+]	–	[–]	d
Восстановление нитрата	+	[+]	+	+	+	+
Дезоксирибонуклеаза (25°C)	–	–	–	–	–	–
Липаза	–	–	–	–	–	–
ОНПГ[4]	+	[+]	+	–	+	+
Пигмент[5]	–	–	–	–	–	–
Расположение жгутиков[6]	–	–	–	–	–	P
Образование каталазы (24 ч)	+	+	+	+	+	+
Окисление–брожение[7]	F	F	F	F	F	F

Тест	*Proteus penneri*	*Proteus vulgaris*	*Providencia alcalifaciens*	*Providencia heimbachae*	*Providencia rettgeri*	*Providencia rustigianii*
Окраска по Граму (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Оксидаза (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Образование индола	–	+	+	–	+	+
Проба с метиловым красным	+	+	+	[+]	+	d
Реакция Фогеса–Проскауэра	–	–	–	–	–	–
Цитрат (среда Симмонса)	–	[–]	+	–	+	[–]
Образование H_2S	d	+	–	–	–	–
Гидролиз мочевины	+	+	–	–	+	–
Фенилаланиндезаминаза (24 ч)	+	+	+	+	+	+
Лизиндекарбоксилаза	–	–	–	–	–	–
Аргининдигидролаза	–	–	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	–	–	–	–	–	–
Подвижность	[+]	+	+	d	+	d
Гидролиз желатины (22°C)	d	+	–	–	–	–
Рост в присутствии KCN	+	+	+	–	+	+
Использование малоната	–	–	–	–	–	–
Образование кислоты из D-глюкозы	+	+	+	+	+	+
Образование газа из D-глюкозы	d	[+]	[+]	–	–	d
Образование кислоты из						
D-адонитола	–	–	+	+	+	–
L-арабинозы	–	–	–	–	–	–
глицерола	d	d	[–]	–	d	–
дульцитола	–	–	–	–	–	–
мио-инозитола	–	–	–	d	+	–
D-ксилозы	+	+	–	–	–	–
лактозы	–	–	–	–	–	–
мальтозы	+	+	–	d	–	–
D-маннитола	–	–	–	–	+	–
D-маннозы	–	–	+	+	+	+
мелибиозы	–	–	–	–	–	–
α-метил-D-глюкозида	[+]	d	–	–	–	–
L-рамнозы	–	–	–	+	d	–
рафинозы	–	–	–	–	–	–
салицина	–	d	–	–	d	–
сахарозы	+	+	[–]	–	[–]	d
D-сорбитола	–	–	–	–	–	–
трегалозы	d	d	–	–	–	–
целлобиозы	–	–	–	–	–	–
муката	–	–	–	–	–	–
Тартрат (среда Джорданса)	[+]	[+]	+	d	+	d
Гидролиз эскулина	–	d	–	–	d	–
Использование ацетата	–	[–]	d	–	d	[–]
Восстановление нитрата	+	+	+	+	+	+
Дезоксирибонуклеаза (25°C)	d	[+]	–	–	–	–
Липаза	d	[+]	–	–	–	–
ОНПГ[4]	–	–	–	–	–	–
Пигмент[5]	–	–	–	–	–	–
Расположение жгутиков[6]	P	P	P		P	P
Образование каталазы (24 ч)	+	+	+	+	+	+
Окисление–брожение[7]	F	F	F	F	F	F

Тест	*Yersinia enterocolitica*	*Yersinia frederiksenii*	*Yersinia intermedia*	*Yersinia kristensenii*	*Yersinia mollaretii*
Окраска по Граму (24 ч)	–	–	–	–	–
Оксидаза (24 ч)	–	–	–	–	–
Образование индола	d	+	+	d	–
Проба с метиловым красным	+	+	+	+	+
Реакция Фогеса–Проскауэра	–	–	–	–	–
Цитрат (среда Симмонса)	–	[–]	–	–	–
Образование H_2S	–	–	–	–	–
Гидролиз мочевины	[+]	[+]	[+]	[+]	[–]
Фенилалгниндезаминаза (24 ч)	–	–	–	–	–
Лизиндекарбоксилаза	–	–	–	–	–
Аргининдигидролаза	–	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	+	+	+	+	[+]
Подвижность	–	–	–	–	–
Гидролиз желатины (22°C)	–	–	–	–	–
Рост в присутствии KCN	–	–	–	–	–
Использование малоната	–	–	–	–	–
Образование кислоты из D-глюкозы	+	+	+	+	+
Образование газа из D-глюкозы	–	d	[–]	[–]	–
Образование кислоты из					
D-адонитола	–	–	–	–	–
L-арабинозы	+	+	+	[+]	+
глицерола	+	[+]	d	d	[–]
дульцитола	–	–	–	–	–
мио-инозитола	d	[–]	[–]	[–]	–
D-ксилозы	d	+	+	[+]	d
лактозы	–	d	d	–	d
мальтозы	[+]	+	+	+	d
D-маннитола	+	+	+	+	+
D-маннозы	+	+	+	+	+
мелибиозы	–	–	[+]	–	–
α-метил-D-глюкозида	–	–	[+]	–	–
L-рамнозы	–	+	+	–	–
рафинозы	–	d	d	–	–
салицина	[–]	+	+	[–]	[–]
сахарозы	+	+	+	–	+
D-сорбитола	+	+	+	+	+
трегалозы	+	+	+	+	+
целлобиозы	[+]	+	+	+	+
муката	–	–	–	–	–
Тартрат (среда Джорданса)	[+]	d	[+]	d	+
Гидролиз эскулина	[–]	[+]	+	–	–
Использование ацетата	[–]	[–]	[–]	–	–
Восстановление нитрата	+	+	+	+	+
Дезоксирибонуклеаза (25°C)	–	–	–	–	–
Липаза	d	d	[–]	–	–
ОНПГ[4]	+	+	+	d	[–]
Пигмент[5]	–	–	–	–	–
Расположение жгутиков[6]	P	P	P	P	P
Образование каталазы (24 ч)	+	+	+	+	+
Окисление–брожение[7]	F	F	F	F	F

Тест	*Serratia proteamaculans*	*Serratia rubidaea*	*Shigella boydii, S. dysenteriae и S. flexneri*	*Shigella sonnei*	*Tatumella ptyseos*	*«Xenorhabdus beddingii»*
Окраска по Граму (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Оксидаза (24 ч)	–	–	–	–	–	–
Образование индола	–	–	d	–	–	–
Проба с метиловым красным	d	[–]	+	+	–	–
Реакция Фогеса–Проскауэра	[+]	+	–	–	–	–
Цитрат (среда Симмонса)	+	+	–	–	–	–
Образование H_2S	–	–	–	–	–	–
Гидролиз мочевины	–	–	–	–	–	–
Фенилаланиндезаминаза (24 ч)	–	–	–	–	+	–
Лизиндекарбоксилаза	+	d	–	–	–	–
Аргининдигидролаза	–	–	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	+	–	–	+	–	–
Подвижность	+	[+]	–	–	–	+
Гидролиз желатины (22°C)	+	+	–	–	–	+
Рост в присутствии KCN	+	[–]	–	–	–	+
Использование малоната	–	+	–	–	–	–
Образование кислоты из D-глюкозы	+	+	+	+	+	
Образование газа из D-глюкозы	+	d	–	–	–	
Образование кислоты из						
D-адонитола	–	+	–	–	–	
L-арабинозы	+	+	d	+	–	
глицерола		[–]	–	[–]	–	d
дульцитола	–	–	–	–	–	
мио-инозитола		[–]	–	–	–	
D-ксилозы	+	+	–	–	–	
лактозы	–	+	–	–	–	
мальтозы	+	+	d	+	–	+
D-маннитола	+	+	+	+	–	
D-маннозы	+	+	+	+	+	+
мелибиозы	+	+	d	[–]	d	
α-метил-D-глюкозида	–	–	–	–	–	
L-рамнозы	d	–	–	[+]	–	
рафинозы	+	+	d	–	[–]	
салицина	d	+	–	–	d	[+]
сахарозы	+	+	–	–	+	
D-сорбитола	[+]	–	d	–	–	
трегалозы	+	+	[+]	+	+	+
целлобиозы	–	+	–	–	–	
муката	–	–	–	–	–	
Тартрат (среда Джорданса)		d	d	+	–	
Гидролиз эскулина	d	+	–	–	–	+
Использование ацетата		[+]	–	–	–	
Восстановление нитрата	+	+	+	+	+	–
Дезоксирибонуклеаза (25°C)	+	+	–	–	–	+
Липаза	+	+	–	–	–	–
ОНПГ[4]	+	+	–	+	–	
Пигмент[5]	–	+R	–	–	–	+B
Расположение жгутиков[6]	P	P	–	–	L	P
Образование каталазы (24 ч)	+	+	+	+	+	–
Окисление–брожение[7]	F	F	F	F	F	F

Запишите как изменяется цвет основных индикаторов, добавляемых в дифференциально-диагностические среды:

Индикатор	Цвет в нейтральной среде	Цвет в кислой среде
водный розовый		
бромкрезоловый пурпурный		
бромтимоловый синий		

Проведите посев выделенного штамма на короткий пёстрый ряд:
Как выглядят среды до посева?

После инкубации в термостате?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6

Определение протеолитических и липолитических свойств бактерий

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
1. Белковый обмен у прокариот 2. Липиды бактерий и их роль	Посев в пробирки с желатином и пептонной водой до и после посева;	1. Результаты опытов по определению протеолитических свойств 2. Результаты опытов по определению липолитических свойств

Почему при росте бактерий на белковых питательных средах могут выделяться сероводород, аммиак, индол?

На каких средах определяют протеолитические свойства бактерий? Какие признаки указывают на протеолитическую активность бактерий?

Проведите посев выделенных штаммов на желатин. Зарисуйте или вклейте фотографию роста бактерий на желатине:

Проведите посев выделенных штаммов на молоко. Зарисуйте или вклейте фотографию микробных изменений молока:

Обозначьте как проявляется выделение сероводорода, индола и аммиака при росте бактерий на мясопептонном бульоне (МПБ). Укажите, чем пропитаны тест-полоски в каждом случае.

Отрицательный результат	Положительный результат	Отрицательный результат	Положительный результат	Отрицательный результат	Положительный результат
Выделение H_2S		Выделение индола		Выделение NH_3	

Укажите этапы расщепления липидов в микробной клетке:

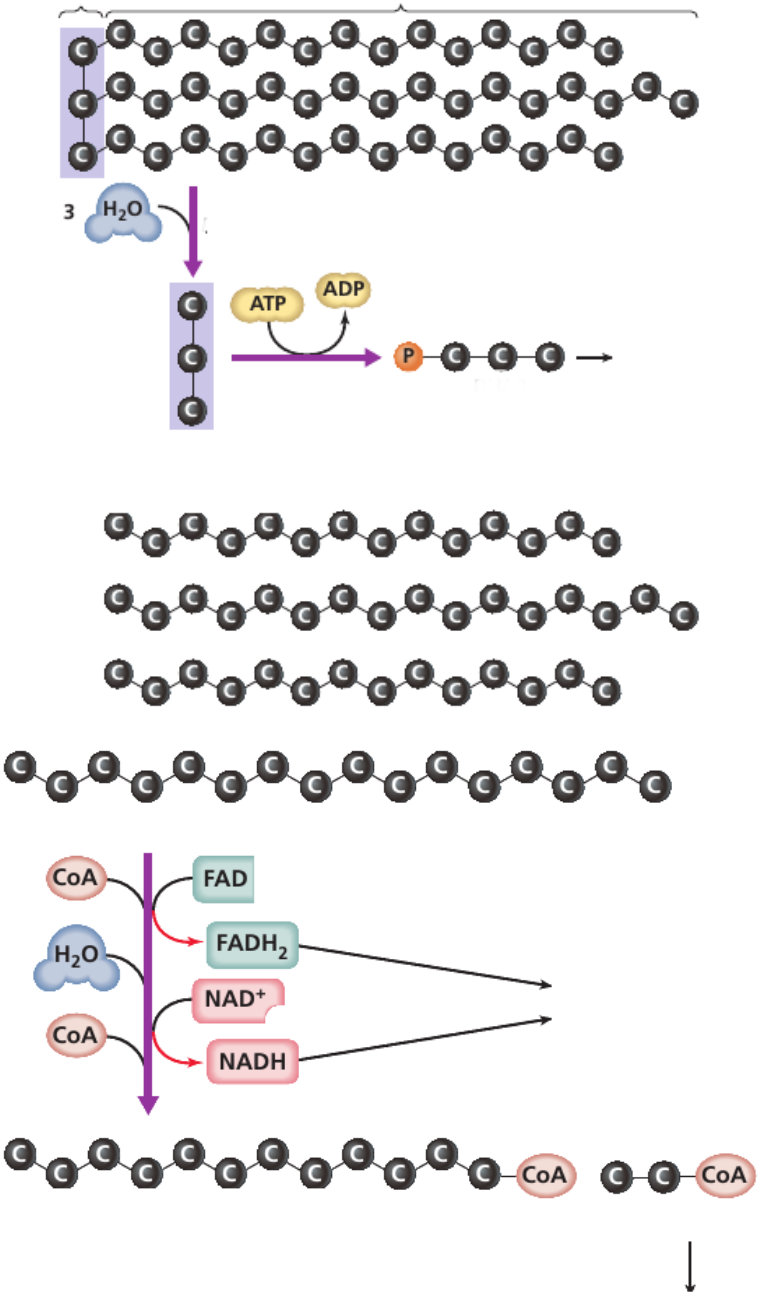
	липиды	
1.		**2.**

Опишите путь метаболизма глицерина:

Опишите путь метаболизма жирных кислот:

Опишите суть бета-окисления жирных кислот:

Дополните схему метаболизма липидов:



Приготовьте питательную среду для определения лецитиназной активности, следуя инструкции в практикуме. Проведите посев исследуемого штамма на поверхность среды.

Ингредиент	Количество

Что является источником лецитина в данной среде? _____

Зарисуйте или вклейте фотографию лецитиназной активности:

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7

Дополнительные биохимические тесты для идентификации бактерий

Программа занятия	Содержание протокола	Записи в рабочую тетрадь
Изучение дополнительных биохимических тестов для идентификации бактерий, их интерпретация		Результаты проведённых тестов

Опишите возможный путь полного восстановления нитратов бактериями:

NO_3^-

возможные продукты:

Если в процессе анализа изменения цвета реакционной смеси не произошло, это может свидетельствовать о следующем:

1.
2.

Что нужно сделать, чтобы убедиться, что восстановления нитрата действительно не произошло?

1.

Сфотографируйте и вклейте или зарисуйте результаты демонстрационного опыта по определению способности бактерий восстанавливать нитрат:

Запишите состав среды и индикаторы для проведения пробы с метиловым красным (MR) и пробы Фогеса-Проскауэра (VP)

Ингредиент	Количество

Индикатор для MR-теста:

Индикатор для VP-теста:

Возможные результаты (укажите, где положительный результат):

MR	VP

Запишите последовательность действий при проведении теста на наличие плазмокоагулазы:

1.
2.
3.
4.
5.

Зарисуйте или вклейте фотографию действия плазмокоагулазы на сыворотку крови:

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ПИСЬМЕННОМУ ОПРОСУ:

Блок 1.

1. Что такое питательная среда?
2. Каким требованиям должна отвечать питательная среда?
3. Какими по консистенции бывают питательные среды?
4. Что можно добавлять в среду, чтобы сделать её плотной?
5. Что такое агар-агар? Какова его концентрация в полужидкой среде? Плотной среде?
6. Как подразделяются среды по целевому назначению?
7. Что такое основные среды? Приведите примеры.
8. Что такое элективные питательные среды? Чем они отличаются от основных? В каких случаях целесообразно применять элективные среды? Приведите примеры таких сред.
9. Для каких целей служит щелочной агар?
10. Для каких целей служит желточно-солевой агар (ЖСА)?
11. Для каких целей служат среды Китта-Тароцци и Вильсона-Блера?
12. Для каких целей служат среды Сабуро и сусло-агар?
13. Что такое дифференциально-диагностические питательные среды? Для чего они применяются? Каков принцип их действия? Приведите примеры.
14. Для каких целей служат среды Гисса? Каков принцип их действия?
15. Для каких целей служит среда Эндо? Каков принцип её действия?
16. Для каких целей служит висмут-сульфит агар? Каков принцип его действия?
17. Опишите принцип выделения бактерий на питательную среду при использовании принципа механического разобщения?
18. В чём заключается разница между посевом по методу Дригальского и методом истощающего штриха?
19. Опишите основные методы стерилизации (схема в практикуме)
20. Опишите механизмы действия основных дезинфицирующих веществ (схема в практикуме).
21. Какова конечная цель биохимических реакций катаболизма?
22. В чем заключается разница между хемотрофами и фототрофами?
23. В чем заключается разница между хемолитотрофами и хемоорганотрофами?
24. В чем заключается разница между прототрофами и ауксотрофами?
25. Что такое ростовые факторы? Приведите примеры.
26. Назовите основные механизмы переноса веществ в бактериальную клетку.
27. Какие механизмы поступления веществ в клетку идут без затрат энергии? Какие вещества могут попасть в клетку таким образом?
28. Почему активный транспорт требует затрат энергии?
29. Опишите три механизма транспорта веществ из бактериальной клетки.
30. Чем определяется ассортимент ферментов, вырабатываемых тем или иным видом бактерий?
31. Как можно использовать разницу в ферментном составе разных видов бактерий?
32. Почему некоторые ферменты усиливают или даже определяют патогенные свойства некоторых бактерий?
33. Что такое экзоферменты? Эктоферменты? Эндоферменты?
34. В чем разница между конститутивными и индуцибельными ферментами?
35. Приведите примеры пигментообразования бактерий.
36. Почему некоторые микроорганизмы способны люминесцировать? Является ли свечение признаком порчи продукта?
37. Чем определяется характерный запах, издаваемый некоторыми микроорганизмами?

Блок 2.

1. Что такое колония микроорганизмов?
2. Для чего и как получают чистые культуры бактерий?
3. Что такое биовары? Серовары? Хемовары? Фаговар (фаготип)?
4. Что подразумевают под культуральными свойствами микроорганизма?
5. Что подразумевает термин «Биохимические признаки культуры»?
6. Какие инструменты используются для посева микроорганизмов на ИПС? Какой инструмент является основным?
7. Как проводится посев «газоном»?
8. Перечислите 4 метода выделения чистой культуры аэробных бактерий. Прочтите их описание (без записи)
9. Прочтите, как выделяют чистые культуры анаэробных бактерий. Какой этап обычно является первым?
10. Как выделить спорообразующие анаэробные бактерии в чистую культуру?
11. Укажите различия между понятиями «рост» и «размножение» бактерий.
12. Укажите основной способ размножения бактерий.
13. У каких бактерий при размножении образуется перегородка деления. а у каких - перетяжка?
14. Почему в некоторых случаях образуются цепочки бактерий?
15. Укажите особенности размножения хламидий.
16. Отличается ли размножение микоплазм от размножения остальных бактерий?
17. Почему на протяжении лаг-фазы развития популяции бактерий они размножаются медленно?
18. Что происходит на протяжении лог-фазы развития популяции бактерий?
19. Что происходит на протяжении стационарной фазы развития популяции бактерий?
20. Укажите две основные причины наступления фазы отмирания в развитии популяции бактерий ?
21. На чём основаны генотипические методы идентификации бактерий. такие как ПЦР, генетические зонды, сэндвич-гибридизация?
22. Что такое биоплёнки и каков биологический смысл их развития?
23. Как влияет образование бактериями биоплёнок на устойчивость популяции к факторам окружающей среды в том числе на на действие антибактериальных препаратов?
24. Что такое смешанные микробные сообщества?
25. На какие группы делятся бактерии по отношению к молекулярному кислороду?
26. В чем принципиальное отличие факультативных анаэробов от строгих анаэробов?
27. Что такое проба Хью-Лейфсона (окислительно-ферментативный (ОФ) тест, O-F test)? (ответ из практикума).
28. Как по результатам O-F-теста определить относится ли микроорганизм к строгим аэробам? факультативным анаэробам? строгим анаэробам? (ответ из практикума).

Блок 3.

1. Почему набор сред Гисса называют пёстрым (цветным) рядом?
2. Какие свойства бактерий определяют на средах Гисса?
3. Что такое короткий и длинный пёстрый ряды? Почему они так называются?
4. Перечислите углеводы, входящие в короткий цветной (пёстрый) ряд.
5. Как определить, усвоен ли бактерией данный углевод входящий в среду Гисса или Омелянского в пёстром ряду?
6. Зачем в пробирки со средами Гисса помещают «поплавки»?
7. На каких средах производят определение протеолитических свойств бактерий? Какие признаки указывают на протеолитическую активность?
8. Какие биохимические признаки бактерий определяют при посеве на пептонную воду?

9. Какие дополнительные биохимические признаки иногда необходимо изучить для идентификации бактерий?

10. Каким образом синтезируют глюкозу гетеротрофные прокариоты?

11. Назовите три предшественника, из которых прокариоты могут синтезировать аминокислоты.

12. Кроме собственно биосинтеза, как ещё прокариоты могут получить необходимые аминокислоты?

13. Откуда получают аминокислоты ауксотрофные по ним бактерии? Хламидии? Риккетсии?

14. Чем представлены липиды бактерий?

15. За счёт чего в клетках бактерий поддерживается высокое осмотическое давление?

16. Для какой основной цели клеткам бактерий необходим ион аммония?

17. Какую роль в метаболизме бактерий играют иона магния и железа?

18. Что такое сидерофоры и зачем они нужны?

19. Каким путём подавляющее большинство прокариот получает энергию?

20. Какие микроорганизмы получают АТФ путём окислительного фосфорилирования? Какие ферменты в этом участвуют?

21. Какие микроорганизмы получают АТФ путём субстратного фосфорилирования?

22. Какие микроорганизмы могут получать АТФ путём как окислительного, так и субстратного фосфорилирования? Какой путь даёт клетке больше АТФ?

23. В чём заключается суть субстратного фосфорилирования?

24. Перечислите основные виды брожения и их конечные продукты.

25. Какой путь расщепления глюкозы встречается только у микроорганизмов?