მ. სიდამონ-ერისთავი, ლ. თოფურია,
თ. ბუაჩიძე

მიკრობიოლოგია

მეთოდური მითითებები
ლაბორატორიული სამუშაოების შესასრულებლად

„ტექნიკური უნივერსიტეტი"

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

მ. სიდამონ-ერისთავი, ლ. თოფურია,
თ. ბუაჩიძე

მიკრობიოლოგია

მეთოდური მითითებები
ლაბორატორიული სამუშაოების შესასრულებლად

რეგისტრირებულია სტუ-ს
სარედაქციო-საგამომცემლო საბჭოს
მიერ. 02.07.2009, ოქმი №6

თბილისი
2009

მეთოდურ მითითებებს საფუძვლად უდევს რეკომენდაციები ლაბორატორიული სამუშაოების ჩასატარებლად მიკრობიოლოგიაში. ავტორები სთავაზობენ სტუდენტებს გაეცნონ მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიას, მასში შემავალ ხელსაწყო-დანადგარებს, კერძოდ, მიკროსკოპს და მასთან მუშაობის წესებს, მიკროორგანიზმების საკვები არეების დაზადებას, მიკრობიოლოგიური პრეპარატების დამზადების ხერხებს, სუფთა კულტურის მიღებას, სტერილიზაციის მეთოდებს უსაფრთხოების ტექნიკას.

წარმოდგენილი მეთოდური მითითებები რეკომენდირებულია ბიოტექნოლოგიის სპეციალობის სტუდენტებისათვის. ამ მეთოდური მითითებებით შეუძლიათ აგრეთვე ისარგებლონ კვების ტექნოლოგიისა და ფარმაციის სპეციალობის სტუდენტებმაც.

რეცენზენტი სრ. პროფ. ე. კვესიტაძე

© საგამომცემლო სახლი „ტექნიკური უნივერსიტეტი'', 2009
ISBN 978-9941-14-701-2
http://www.gtu.ge/publishinghouse/

ყველა უფლება დაცულია. ამ წიგნის არც ერთი ნაწილი (იქნება ეს ტექსტი, ფოტო, ილუსტრაცია თუ სხვა) არანაირი ფორმით და საშუალებით (იქნება ეს ელექტრონული თუ მექანიკური), არ შეიძლება გამოყენებულ იქნას გამომცემლის წერილობითი ნებართვის გარეშე.

საავტორო უფლებების დარღვევა ისჯება კანონით.

მიკრობიოლოგიური ლაბორატორია და ლაბორatორიაში მუშაობის წესები

მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში ატარებენ კვლევის შემდეგ მეთოდებს: მიკროსკოპირებას, სუფთა კულტურების გამოყოფას, მათი მორფოლოგიური, კულტურალური, ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური და მოლეკულურ-გენეტიკური თვისებების შესწავლას.

მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში უნდა არსებობდეს შემდეგი აუცილებელი მოწყობილობა და აპარატურა: ლაბორატორიული მაგიდები დაფარული მასალით (ლინოლიუმი ან პლასტიკატი), რომელიც კარგად იწმინდება სადეზინფექციო ხსნარებით (0,5%-იანი ქლორამინის ან 3-5%-იანი ფენოლის წყალხსნარი), კარადები ჭურჭლის, საკვები არეებისა და რეაქტივების შესანახად.

ძირითადი და დამხმარე სათავსოები: ბაქტერიოლოგიური ოთახი ანუ ბოქსი, სამზარეულო საკვები არეების მოსამზადებლად, საავტოკლავო ანუ სასტერილიზაციო – ჭურჭლის და საკვები არეების გასასტერილებლად და ნამუშევარი მასალების გასანადგურებლად, სამრეცხაო, გარდერობი და საწყობი – რეაქტივების, ჭურჭლისა და აპარატურის შესანახად.

მიკროორგანიზმებთან მუშაობისას სტერილურობის დასაცავად მიკრობიოლოგიურ სამუშაოებს ატარებენ სპეციალური მინის ან ნახევრად მინის კამერა-ბოქსებში.

ბოქსი აღჭურვილია ულტრაიისფერი განათებით, რომელიც ანადგურებს მიკროორგანიზმებს ჰაერში და საგნების ზედაპირზე.

მიკრობიოლოგიური ლაბორატორიის მაგიდაზე განთავსებული უნდა იყოს: ნათურა დამატებითი განათებისათვის, სპირტქურა, ბამბა, ქილა მარყუჟებით, შტატივი სინჯარებისათვის, სადეზინფექციო ხსნარის ჭურჭელი, სპირტი, ფილტრის ქაღალდი.

მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში მუშაობის წესები:

1. მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში მუშაობა აუცილებელია ხალათით და თავსაბურავით;
2. ინფიცირებულ მასალებთან მუშაობა დასაშვებია მხოლოდ უსაფრთხოების წესების დაცვით და სპეციალური ინსტრუმენტებით (პინცეტი, მარყუჟი და ა.შ.). რათა თავიდან ავიცილოთ ხელებისა და გარემოს დაბინძურება პათოლოგიური მიკრობებით;

3. ინფიცირებულ მასალებთან მუშაობის დამთავრების შემდეგ აუცილებელია ჭურჭლისა და ინსტრუმენტების სტერილიზაცია ან სადეზინფექციო ხსნარებით დამუშავება;
4. ყველა სინჯარაზე და თასზე უნდა იყოს წარწერა მიკროორგანიზმის დასახელებით და ჩათესვის თარიღით;
5. მუშაობის დამთავრების და სამუშაო ადგილის წესრიგში მოყვანის შემდეგ საჭიროა ხელების გაწმენდა სადეზინფექციო ნივთიერებებით და შემდეგ საპნით დაბანა;
6. ლაბორატორიაში აკრძალულია საკვების მიღება;
7. სტუდენტს სპეციალურ რვეულში უნდა ჰქონდეს ჩაწერილი ყველა ჩატარებული გამოკვლევის შედეგი.

ოპტიკური მოწყობილობა და მისი გამოყენების წესები

მიკრობიოლოგიური გამოკვლევის ჩასატარებლად საჭიროა ვიცოდეთ მიკრობის მორფოლოგიური ნიშანთვისებები. ვინაიდან მიკრობები თვალით უხილავი ორგანიზმებია, ვიყენებთ მიკროსკოპს. საჭიროა მიკროსკოპის აგებულების და გამოყენების ცოდნა. მიკროსკოპი შედგება შტატივისა და ოპტიკური ნაწილისაგან. მიკროსკოპის შტატივი შედგება: შტატივი ფეხი, სასაგნე მაგიდა და ტუბუსი, რომელშიც მოთავსებულია ლინზები. ოპტიკურ ნაწილში შედის: 1. ობიექტივები, 2.ოკულარები 3. გამანათებელი – სარკე, დიაფრაგმა, კონდენსორი.

ობიექტივები შეიცავს ლინზების სისტემას, რომელიც ჩასმულია ლითონის ბუდეში. ბაქტერიოლოგიური კვლევებისათვის მიკროსკოპს უნდა ჰქონდეს არანაკლებ სამი ობიექტივისა. შტატივი მზადდება მძიმე ლითონისაგან. შტატივს აქვს სახსარი, რომლის საშუალებითაც შეიძლება მიკროსკოპის ზედა ნაწილის დახრა, რაც აადვილებს მიკროსკოპზე მუშაობას.

სასაგნე მაგიდა მიკროსკოპის ზოგ სისტემაში უძრავია, ზოგში მოძრავი. მაგიდას აქვს გვერდითი ხრახნები, რომლის მეშვეობით სასაგნე მაგიდასთან მოძრაობაში მოდის პრეპარატი. მაგიდას აქვს მომჭერი სასაგნე მინის დასამაგრებლად. ტუბუსი მოძრაობს მაკრო– და მიკროხრახნებით. მიკროსკოპის ოპტიკური ნაწილი შედგება გამაშუქებული აპარატისგან, ობიექტივისა და ოკულარისგან. სარკის დანიშნულებაა აირეკლოს სხივები ობიექტივის მიმართულებით. ობიექტივი წარმოადგენს მიკროსკოპის მნიშვნელოვან ნაწილს.

თითოეული ობიექტივი შეიცავს ლინზების სისტემას. ობიექტივი არის მშრალი სისტემის ,ან ჩაძირული ანუ იმერსიული სისტემის.

მიკროსკოპი როგორც რთული ოპტიკური იარაღი საჭიროებს ყურადღებით მოპყრობას. ის უნდა ინახებოდეს დახურულ ხუფში, ან თავის ბუდეში.

მიკრობების რაოდენობის განსაზღვრა

მიკრობების სიგრძის საზომ ერთეულად გამოიყენება მიკრონი (0,001 მმ). .მიკრობთა სიგრძის გასაზომად იხმარება ოკულარისა და ობიექტივის მიკრომეტრული ფირფიტა (მიკრომეტრი)

ოკულარული მიკრომეტრი წარმოადგენს მინის ფირფიტას, რომლის ცენტრში მოთავსებულია თანაბრად დაყოფილი სახაზავი. ოკულარული მიკრომეტრი თავსდება ოკულარის დიაფრაგმაზე, თვალსა და შემკრებ ლინზას შორის, სწორედ იქ,სადაც მდებარეობს ობიექტის ნამდვილი გამოსახულება,რის გამოყენებითაც ვაღწევთ პრეპარატებისა და ოკულარის დანაყოფების გარკვეულ ხილვადობას. ოკულარ-მიკრომეტრის დანაყოფების გასაზომად გამოიყენება ობიექტივ-მაკრომეტრი.

სასაგნე და საფარი მინები

სასაგნე მინები უნდა იყოს დამზადებული მაღალი ხარისხის მინისგან 75×26 სმ2 ფართობის. სისქე არ უნდა აღემატებოდეს 2 მმ-ს. საფარი მინები კვადრატული ფორმისაა, მისი ფართობია 18×18 სმ2,სისქე 0,15-0,17 მმ.

ზოგჯერ საჭიროა მიკრობთა ცოცხალ მდგომარეობაში გამოკვლევა. ეს გულისხმობს მიკრობების ფორმების, მათი მოძრაობის, გამრავლების, მდგრადობის უნარის განსაზღვრას და სხვა. ცოცხალ მდგომარეობაში მიკრობებს სწავლობენ „ჩაკიდულ“ და „გაჭყლეტილ“ წვეთში.

ჩაკიდული წვეთის მეთოდის პრაქტიკული გამოყენება ეკუთვნის რობერტ კოხს.

აღნიშნული მეთოდით სწავლობენ მიკრობებს ცოცხალ მდგომარეობაში, მიკრობების განვითარების დინამიურობის გაცნობას, სწავლობენ მოძრაობას და გაყოფას, სპორების წარმოშობას და განვითარებას, მიკრობების დამოკიდებულებას ქიმიურ გამღიზიანებლებთან.

გაჭყლეტილი წვეთის დროს სუფთა სასაგნე მინაზე აწვეთებენ წყლის წვეთს. მარყუჟის საშუალებით უმატებენ მიკრობების მცირე რაოდენობას, ურევენ და მიღებულ სუსპენზიას ზემოდან აფარებენ სუფთა საფარ მინას.

მიკრობების გამოკვლევა შეღებილ მდგომარეობაში

მიკრობების ცოცხალ მდგომარეობაში შეღებვა (ვიტალური შეღებვა) ეწოდება ისეთ შეღებვას, როდესაც მიკრობების უჯრედებს ღებავენ ცოცხალ მდგომარეობაში, მიკრობები ცოცხლები რჩებიან შედარებით ხანგრძლივად და არ კარგავენ გამრავლებისა და მოძრაობის უნარს.

ცოცხალი მიკრობების შესაღებად იხმარება ნაკლებადშხამიანი საღებავები, როგორიცაა მეთილენის ლილა, ვეზუვინი, ნეიტრალროტი (0,001-0,0001%). ცნობილი მეთოდებია ნაკანიშის და რუჟიჩკას მეთოდები. მიკრობების ცოცხალ მდგომარეობაში შეღებვის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ თავიდან არის აცილებული ხელოვნური პროდუქტების წარმოშობა (რასაც ადგილი აქვს ფიქსირებულ პრეპარატებში).

შეღებილი პრეპარატების მომზადებაში შედის შემდეგი ეტაპები. 1) ნაცხის მომზადება, 2) ნაცხის გაშრობა, 3) ფიქსაცია, 4) შეღებვა.

1. ნაცხის მომზადება. ნაცხი მზადდება საფარ ან სასაგნე მინაზე. ნაცხი უნდა იყოს თანაბრად განაწილებული, უნდა ჰქონდეს განსაზღვრული ფორმა და სიდიდე. პლატინის მარყუჟით, ან პასტერის პიპეტით იღებენ ერთ წვეთ ბაქტერიების შემცველ სითხეს და თანაბრად ანაწილებენ სასაგნე მინაზე.
2. გამოშრობა – ჩვეულებრივ, პრეპარატი უნდა გაშრეს ოთახის ტემპერატურაზე. შეიძლება ფრთხილად ცეცხლის ალზე გატარებაც. თუ დიდი რაოდენობის პრეპარატებთან გვაქვს საქმე, მათ აშრობენ თერმოსტატში.
3. ფიქსაცია. ფიქსაციის მიზანია: 1) დახოცოს მიკრობები და გახადოს უვნებელი დამუშავებისთვის. 2) დაამაგროს ნაცხი სასაგნე მინაზე, რათა პრეპარატი გარეცხვისას არ ჩაირეცხოს. 3) გახადოს მიკრობები საღებავების უფრო შემთვისებელი. ფიქსირებას მიმართავენ ქიმიური საშუალებით.
4. პრეპარატების შეღებვა წარმოებს მარტივი და რთული წესით. მარტივი წესით შეღებვა მასიურად გამოიყენება ლაბორატორიებში. ამ დროს იყენებენ მხოლოდ ერთ საღებავს (უფრო ხშირად ლეფლერის ლილას და ფაიფურის ფუქსინის ხსნარს). რთული შეღებვისას კი იყენებენ რამდენიმე საღებავს და დამხმარე ხსნარებს. სხვადასხვა მიკრობი სხვადასხვანაირ დამოკიდებულებაშია ერთსა და

5. იმავე საღებავთან. მიკრობთა შესაღებად უმთავრესად გამოიყენება ანილინის საღებავები, ნაკლებად გამოიყენება ერთფუძიანი მჟავა საღებავები. უჯრედის შემადგენლობის შესასწავლად საჭიროა საღებავების სუსტი ხსნარები და შეღებვის მეტი დრო. მიკროფოტოგრაფირებისთვის რეკომენდირებულია პრეპარატების ძლიერი შეღებვა.

ჩვეულებრივად, პრეპარატებს ღებავენ ოთახის ტემპერატურაზე რამდენიმე წუთის განმავლობაში. პრეპარატს შეღებვის შემდეგ აცილებენ საღებავს და რეცხავენ წყლით. შეღებილი პრეპარატის ხანგრძლივად შენახვისათვის ჯერ პრეპარატს აცხელებენ,შემდეგ ასხამენ კანალის ბალზამს და ზემოდან აფარებენ საფარ მინას. ზედმეტ ბალზამს აცილებენ ქაღალდის ფილტრით. სასაგნე მინაზე ათავსებენ და სპეციალური საჭერით ამაგრებენ პრეპარატს, ფოკუსს აყენებენ მაკრომეტრული ხრახნით მიკროსკოპში. შეღებვის შემოწმების შემდეგ ნაცხზე ათავსებენ ერთ წვეთ კედარის ზეთს და მშრალი სისტემის ობიექტივს ცვლიან იმერსიულით.

საღებავები და მათი დამზადების ხერხები

1. მეთილენის ლილა

ა) სპირტოვანი ნაჯერი ხსნარი. 100 მლ ეთილის სპირტს უმატებენ 3 გ მეთილენის ლილის ფხვნილს და აჩერებენ 2-3 დღეს, დროგამოშვებით ურევენ, შემდეგ ატარებენ ქაღალდის ფილტრში. პრეპარატის შესაღებად გაფილტრულ ნაჯერ ხსნარს ანზავებენ 5-10 –ჯერ დისტილირებული წყლით.

ბ) წყლიანი ნაჯერი ხსნარის მისაღებად 2 გრამ საღებავის ფხვნილს ხსნიან 100 მლ გამოხდილ წყალში. ანჯღრევენ 2 დღის განმავლობაში.

გ) კოხის ლილის ტუტე ხსნარი. 100 მლ გამოხდილ წყალს უმატებენ 0,5 მლ მეთილენის ლილის სპირტოვან ნაჯერ ხსნარს და 1 მლ 1%-იან კალიუმის ტუტის ხსნარს.

2. ფუძიანი ფუქსინი (მარილმჟავა, ძმარმჟავა ან გოგირდმჟავა როზანილინი). სპირტოვანი ნაჯერი ხსნარისათვის 10 გ ფუქსინის ფხვნილს ხსნიან 100 მლ 96% ეთილის სპირტში, შემდეგ ფილტრავენ და ფილტრატს ანზავებენ. 10-20 მლ სპირტოვან ნაჯერ ხსნარს უმატებენ 100 მლ წყალს.

ფუქსინი 1 გ. კრისტალური ფენოლი 5 გ, სპირტი 96%-იანი 10 მლ, გლიცერინი რამდენიმე წვეთი, გამოხდილი წყალი 100 მლ.

3. გენციანვიოლეტი: 1 გ სადებავს ხსნიან 10 მლ 96% - სპირტში. მიღებულ ხსნარს უმატებენ, 100 მლ 5%-იან გასუფთავებულ ფენოლის ხსნარს.

4. ლუგოლის ხსნარი. 2 გ კალიუმიოდის ფხვნილს ხსნიან 5 მლ გამოხდილ წყალში უმატებენ 1 გ კრისტალურ იოდს. ანზავებენ წყლით 300 მლ-მდე.

5. მეთილვიოლეტი წარმოადგენს: ჰექსამეთილპარარიზანილინის ნარევს იხსნება წყალში, სპირტში და ქლოროფორმში.

6. ნეიტრალროტი წარმოადგენს ამინო-დიმეთილ-ამინო-ტოლუფენ-აზონიუმის ქლორიდს. იხსნება წყალში და სპირტში.

7. ანილინის წყალი. 4 მლ ანილინს ანზავებენ 100 მლ გამოხდილ წყალში ანჯღრევენ, ფილტრავენ. ის მალე ფუჭდება, ამიტომ ამზადებენ საჭიროების დროს.

შეღებვის სპეციალური მეთოდები

შეღებვა გრამის მეთოდით.

გრამის მეთოდი შეღებვა წარმოადგენს უნივერსალურ და რთულ მეთოდს. ამ მეთოდთან დაკავშირებით ყველა ბაქტერია იყოფა ორ ჯგუფად: ბაქტერიები, რომლებიც გრამის მეთოდით (გრამდადებითი) და ბაქტერიები, რომლებიც არ იღებებიან გრამის მეთოდით – გრამუარყოფითები.

აღნიშნული მეთოდი უაღრესად დიაგნოსტიკური მნიშვნელობისაა და გამოიყენება ბაქტერიების განსაზღვრის დროს ერთერთ ძირითად ნიშანთვისებად. ბაქტერიები შეღებილი ლურჯ-იისფრად არიან გრამდადებითი. გრამუარყოფითი ბაქტერიები იღებებიან მოწითალო ვარდისფრად.

კოკების უმრავლესობა იღებება გრამდადებითად, ხვეული ფორმების უმეტესობა უარყოფითად. ჩხირის ფორმის ბაქტერიებში ვხვდებით ორივე შემთხვევას.

ნიადაგის მიკრობებიდან დადებითად იღებება თითქმის ყველა აერობული სპოროვანები. ზოგიერთი არასპოროვანი ჩხირები, აგრეთვე აქტინომიცეტები, საფუარები.

ბაქტერიებიდან უარყოფითად იღებება Bact. coli და ა.შ.

მიკრობთა მორფოლოგია

მიკროსკოპული კვლების დაწყებისას სავალდებულოა ვიცნობდეთ მიკრობთა მორფოლოგიას. განსაკუთრებით ბაქტერიების მორფოლოგიას, რადგან ბაქტერიები ბუნებაში ფართოდაა გავრცელებული და მიკრობიოლოგიური პროცესების ძირითად აგენტებს წარმოადგენენ.

ბაქტერიები ერთუჯრედიანი ორგანიზმებია (პროკარიოტებია), რომლებიც განსხვავდებიან ცხოველური და მცენარეული წარმოშობის ორგანიზმებისგან (ეუკარიოტებისგან).

ბაქტერიები ფორმის მიხედვით იყოფა სამ ძირითად ჯგუფად: მრგვალი – ბურთის ფორმის (კოკები), ჩხირის ფორმის (ბაქტერიები და ბაცილები) და ხვეული ფორმის (ვიბრიონები,სპირილები და სპიროქეტები).

ბურთის ფორმის ბაქტერიებს, ანუ კოკებს აქვთ ძირითადად მრგვალი ფორმა, ზოგიერთ მათგანს უჯრედები აქვს ერთმხრივ შეზნექილი რამდენადმე წაგრძელებული ან მახვილი. განლაგების მიხედვით კოკები მორფოლოგიურად იძლევიან შემდეგ ქვეგანაყოფებს:

1. დიპლოკოკები ანუ წყვილი კოკები, რომლებიც განლაგებულია წყვილ უჯრედებად. უჯრედების ასეთი განლაგება განპირობებულია კოკების გაყოფით ერთ სიბრტყეში.

2. ტეტრაკოკები – ოთხი შვილეული უჯრედისგან შემდგარი კოკები, რომლებიც წარმოშობენ კვადრატის ფორმას. ასეთი ფორმის წარმოშობა შეუძლია იმ კოკებს, რომლებიც იყოფიან ორ ურთიერთ პერპენდიკულარულ სიბრტყეში.

3. სტრეპტოკოკები, ანუ ჯაჭვისებურად განლაგებული კოკები, რომლებიც მძივს გვაგონებს, ისე როგორც დიპლოკოკები, სტრეპტოკოკებიც იყოფიან ერთი განსაზღვრული სიბრტყის მიმართულებით და ინარჩუნებენ ურთიერთშორის კავშირს.

4. სტაფილოკოკები, ანუ მტევნისებურად განლაგებული კოკები – მიკრობული უჯრედები განლაგებულია განუსაზღვრელი სისტემით და წააგავს ყურძნის მტევანს.

5. სარცინები, ანუ პაკეტის ფორმის კოკები - ბაქტერიული უჯრედები განლაგებულია სართულებად, რომელიც შეიცავს 8-16 და მეტ უჯრედს.სარცინები უმოძრაოები არიან და არ წარმოქმნიან სპორებს.

ჩხირისებრი ფორმის ბაქტერიები – სახეობათა მიხედვით არიან ცილინდრული, თითისტარისებრი და სხვა. გაყოფისა და ურთიერთგანლაგების მიხედვით ჩხირისებრი ფორმის ბაქტერიები შეიძლება დაიყოს შემდეგ ჯგუფებად:

1. ჩხირისებრი ფორმის, რომლებიც განლაგებულია უსისტემოდ.

2. დიპლობაცილები – წყვილად განლაგებული ჩხირის ფორმის ბაქტერიები.

3. სტრეპტობაცილები – ჩხირები, რომლებიც წარმოშობენ ჯაჭვის ფორმას.

სპირალურად დახვეული ფორმის ბაქტერიები აერთიანებენ სამ ჯგუფს:

1. ვიბრიონები – რომელთაც მძიმის (სასვენი ნიშნის) მსგავსი ფორმა აქვთ.

2. სპირილები – სპირალურად დახვეული ფორმის ბაქტერიები, რომელთაც გააჩნია რამდენიმე მსხვილი სწორი ხვეული. მათი სიგრძე მერყეობს 5-30 μ ფარგლებში, სისქე 0,25-1μ ფარგლებში. სპირალური ფორმის ბაქტერია მოძრავია და სპორებს არ წარმოშობს.

3. სპიროქეტები – ს

მიკროსკოპული სოკოების მორფოლოგია

სოკოების ჯგუფს აკუთვნებენ ბუნებაში ფართოდ გავრცელებულ ერთ ან მრავალუჯრედოვან უქლოროფილო ორგანიზმებს. სოკოების ჰიფები წარმოადგენენ ძაფებს,რომლებიც ქმნიან მიცელიუმს. სოკოები მრავლდებიან სპორებით.

სოკოები იყოფა: სხივურ, ძაფისებრ და საფუარა სოკოებად.

სხივოსანი სოკოები, ანუ აქტინომიცეტები გარდამავალი ფორმებია ბაქტერიებსა და სოკოებს შორის. ძაფისებრ სოკოებს აქვთ სხვადასხვა სისქის და სიგრძის ძაფები, რომლებიც გამოყოფილია ტიხრით ცალკეულ უჯრედებად. საფუარა სოკოები მრავლდებიან დაკვირტვით. წარმოშობენ ენდოსპორებს. სპორების წარმომშობ უჯრედებს ასკები, ანუ ჩანთები ეწოდებათ. საფუარები იწვევენ სპირტულ დუღილს.

საფუარები იზრდებიან ნახშირწყლების შემცველ საკვებ ხსნარებში.

საფუარებში სპორების წარმოშობას მრავალი მკვლევარი სწავლობდა .მათგან ცნობილია:

ა) სპორების მიღება ჰანზენის წესით;

ბ) გოროდკოვას მიხედვით სპორების წარმოშობა ახალგაზრდა აქტიურ საფუარებში;

გ) ბეიერინკის მეთოდით სპორების გამოყოფა.

მიკრობული უჯრედის შიგთავსის შეღებვა და გამოკვლევა

ზუსტი ციტოლოგიური კვლევისთვის საჭიროა გამოყენებულ იქნეს სრულყოფილი ოპტიკური მიკროსკოპი აპოქრომატიული ობიექტივით. ვოლუტინი წარმოადგენს უჯრედის აზოტოვან სამარაგო ნივთიერებას. ის ბაქტერიის უჯრედში სხვადასხვა ზომისა და ფორმისაა. ნახევრად თხევადი ფიქსირებულ პრეპარატს ღებავენ კეფლერის ხსნარით. რეცხავენ და აშრობენ,შემდეგ აწვეთებენ 0,25%-იან გოგირდმჟავას, ვოლუტინის მარცვლები ლურჯად იღებება. გლიკოგენის შესაღებად ხმარობენ ძლიერი კონცენტრაციის იოდის ხსნარს (7 გ იოდი + 20 გ კალიუმიოდი + 100 მლ წყალი). ბაქტერიის უჯრედში შეიძლება იყოს გრანულები. მის

აღმოსაჩენად იყენებენ იოდის ხსნარს (1 გ იოდი – 2 გ კალიუმოდი + 100 მლ წყალი). გრანულები იღებება მუქ ლურჯ ფერად.

უჯრედებში ცხიმის წვეთების შესაღებად იყენებენ პრეპარატს ფიქსირებულს 40%-იანი ფორმალინით,ან ღებავენ ცოცხალ მდგომარეობაში შემდეგნაირად: 0,4 გ დიმეთილამიდოაზობენზოლს ხსნიან 100 მლ 96% -იან ეთილის სპირტში. ციტოპლაზმა რჩება უფერული,ხოლო ცხიმის წვეთი ნარინჯისფრად იღებება.

პექტინოვანი ნივთიერების შესაღებად იყენებენ საფრანინისა და ძმარმჟავას ხსნარს რისთვისაც 0,5% -იან საფრანინის ხსნარს უმატებენ 0,6%-იან ძმარმჟავას. მიღებული ნაერთით პექტინი იღებება ნარინჯისფრად.

ცელულოზა იღებება შემდეგი რეაქტივით: ქლორთუთიაიოდი (20გ ქლორიანი თუთია + 6,5 გ კალიუმიოდი + 1,3 გ კრისტალური იოდი + 10 მლ წყალი) ცელულოზა იღებება იისფრად ან მოწითალო იისფრად.

საკვები არეები

შედგენილობის მიხედვით საკვები არეები იყოფა 2 ჯგუფად:

1) ბუნებრივი საკვები არეები.

2) ხელოვნური საკვები არეები, რომლის დასამზადებლად იყენებენ როგორც ორგანულ, ისე არაორგანულ ნივთიერებებს.

კონსტინტეციის (აგრეგატული მდგომარეობის) მიხედვით საკვები არეები შემდეგი სახისაა: თხევადი საკვები არეები – ამ საკვებ არეზე მიკრობები არ წარმოშობენ განსაზღვრული ფორმის კოლონიებს და მკვრივი საკვები არეები, რომლებზეც მიკრობები წარმოშობენ განსაზღვრული ფორმის, ფერის და სტრუქტურის კოლონიებს.

თხევადი საკვები არიდან მკვრივის დასამზადებლად მას უმატებენ ისეთ ნივთიერებებს, რომელიც გადაიყვანს გელის ფორმაში (აგარ-აგარი, ჟელატინი). აგარ-აგარი მზადდება წყალმცენარეებისგან და არის ქიმიურად გამძლე. აგარი მგრძნობიარეა მჟავიანობის მიმართ; pH აგარიან არეში არ უნდა იყოს 5-ზე ნაკლები. უფრო მაღალი მჟავიანობის პირობებში სტერილიზაციის დროს განიცდის ჰიდროლიზს და კარგავს გამკვრივების უნარს.

ჟელატინი ცილოვანი ნივთიერებაა. იგი მიკრობების მიერ ადვილად შეითვისება, რომელთაც გადაჰყავთ იგი ხსნად პეპტინის ფორმაში ე.ი. იწვევენ ჰიდროლიზს. ჟელატინის მიმატება საკვებ არეში იწვევს რეაქციის შეცვლას მჟავიანობისკენ, რის გამოც საჭიროა საკვები არეს ტუტით განეიტრალება.

ძირითადი საკვების არეების მომზადება

ა. ხორცის წყლხსნარის დამზადება.

500 გ ხორცი + 1 ლ წყალი, ინახავენ 24 სთ-ის განმავლობაში, ფილტრავენ და აცივებენ.

ბ. ხორცპეპტონიანი ბულიონის მომზადება: 1 ლ წყალი + 10 გ პეპტონი + 5 გ NaCl. უმატებენ 10%–იან ნატრიუმის ტუტეს, ადუღებენ 30-40 წუთი, ფილტრავენ, ასტერილებენ.

გ. ხორც-პეპტონიანი აგარი.

ხორც-პეპტონიან ბულიონს და 2-2,5%–იან აგარ-აგარს ერთად ალღობენ ავტოკლავში, ფილტრავენ და აცივებენ. ხორც-პეპტონიანი აგარი მზადდება სინჯარებში.

დ. ხორც-პეპტონიანი ჟელატინი

ხორც-პეპტონიან ბულიონს უმატებენ 10%-იან ჟელატინს, ალღობენ ავტოკლავში 20-30 წუთი, ფილტრავენ ორმაგ ფილტრში, ჩამოასხავენ სინჯარებში.

ე. მასენის საკვები არე ხბოს, ან ღორის ტვინიდან.

ტვინს ატარებენ ხორცის მანქანაში უმატებენ 2 მოცულობა წყალს აცხელებენ კოხის მადუღარაში 1,5 საათს. მასას ფილტრავენ. ხსნარს უმატებენ 1,8%-იან აგარს, 2%-იან პეპტონს და აცხელებენ. ფილტრავენ გამდინარე ორთქლით.

ვ. ალაოდან დამზადებული საკვები არეები.

ალაოდან დამზადებული საკვები არეები გამოიყენება საფუარების, რძემჟავა ბაქტერიების, ერბომჟავა ბაქტერიების და ძმარმჟავა ბაქტერიების კულტივირებისათვის.

ზ. რძე და რძიანი საკვები არეები. რძის მაღალი კვებითი ღირებულება გამოიხატება იმაში, რომ ის შეიცავს კვებისთვის საჭირო ელემენტებს: წყალს 87,5%, რძის შაქარს 4,5%, ცხიმს 3,5%, კაზეინს 3,5%, მინერალურ ნივთიერებებს 1%.

თერმოსტატი. სტერილიზაციის მეთოდები

მიკროორგანიზმების განვითარებისა და გამრავლებისათვის აუცილებელია შესაფერისი ტემპერატურის პირობები.

თერმოფილებისათვის ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 45-55 მინიმალური 50-40°C, ხოლო მაქსიმალური 60-70°C;

ფსიხროფილებისათვის – ოპტიმალურია 15-20°C, მინიმალური 0°; მაქსიმალური 30°C;

მეზოფილებისათვის ოპტიმალურია 28-37°C; მინიმალური 9-10 °C, მაქსიმალური 37-45°C;

მიკრობების განსაზღვრულ მუდმივ ტენპერატურაზე კულტივირებისათვის გამოიყენება თერმოსტატი, რომელშიც თერმორეგულატორით შეიძლება ვიქონიოთ განსაზღვრული ტემპერატურა.

გარემოში მიკრობთა შესასწავლად საჭიროა ვიცოდეთ მათი მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური ნიშანთვისებები, რომელთაც შევისწავლით მიკრობთა სტერილურ საკვებ არეებში განვითარების საშუალებით. ამიტომ საჭიროა, როგორც საკვები არეები, ისე ჭურჭელი და დამხმარე იარაღები იყოს სტერილური, ე.ი. არ შეიცავდეს გარეშე მიკრობებს. სტერილიზაციის მეთოდებია:

ა. სტერილიზაცია ადუღებით. ეს მდგომარეობს ხელსაწყო იარაღების გამოხარშვაში.

ბ. გახურება ცეცხლის ალზე (გაზის ან სპირტქურის ალი).

გ. სტერილიზაცია გახურებული ჰაერით. მიმდინარეობს პასტერის ღუმელში, ძირითადად გამოიყენება ჭურჭლისა და სხვა დამხმარე ხელსაწყო იარაღების გასასტერილებლად.

დ. სტერილიზაცია გახურებული ორთქლის გამოყენებით. გახურებული წყლის ორთქლის წნევის ქვეშ სტერილიზაცია წარმოადგენს ეფექტურ მეთოდს, ვინაიდან შედარებით მოკლე დროში ხდება მიკრობებისა და მათი სპორების მთლიანი განადგურება.

ე. სტერილიზაცია გამდინარე ორთქლით. სტერილიზაცია ტარდება შედარებით დაბალ ტემპერატურაზე კოხის მადუღარაში.

ვ. ტინდალიზაცია. ეს მეთოდი წარმოადგენს სტერილიზაციას უფრო დაბალ ტემპერატურაზე, ვიდრე კოხის მადუღარაში,რამოდენიმეჯერ გამეორებით.

ზ. პასტერიზაცია. მეთოდის არსი მდგომარეობს იმაში, რომ 50-60°C-ზე 15-30 წუთის,ან 70-80°C-ზე 5-10 წუთის განმავლობაში იხოცებიან ბაქტერიების უმრავლესობის არასპოროვანი (ვეგეტატური) ფორმები. რაც შეეხება სპორებს, ისინი რჩებიან ცოცხლები.

კ. სტერილიზაცია ბაქტერიული ფილტრებით. სტერილიზაციის მექანიკური მეთოდი (გაფილტვრა) მიკრობებისგან გასათავისუფლებლად გამოიყენება იმ შემთხვევაში, როცა თხევადი საკვები არ შეიძლება გასტერილდეს გახურებით

(ლუდი, ღვინო, სამკურნალო შრატი) მცირეფოროვანი ფილტრები, რომლებიც მიკრობებს არ ატარებენ მზადდება ინფუზორული მიწისაგან, ფაიფურისაგან და აზბესტისგან.

მიკრობთა სუფთა კულტურის მიღების ხერხები

მიკრობების მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური თვისებების შესასწავლად საჭიროა საკვლევი მიკრობული კულტურები გვქონდეს სუფთა კულტურის სახით. არსებობს სუფთა კულტურის მიღების რამდენიმე მეთოდი:

1. განზავების მეთოდი. პასტერის მიერ დამუშავებული.

2. სუფთა კულტურების იზოლირება მკვრივ საკვებ არეებზე.

აღნიშნულ მეთოდს გააჩნია უარყოფითი მხარეც, რადგან ძნელია საკვები არეს სიღრმიდან კოლონიების განთესვა.

3. ჩამოსხმის მეთოდი. ამ მეთოდის გამოყენების დროს ყველა მანიპულაცია არის როგორც განზავების მეთოდის დროს, ოღონდ აგარი ცივდება არა სინჯარებში, არამედ პეტრის ჯამებში.

4. ჯამში მიმოთესვის მეთოდი. რამდენიმე სტერილურ პეტრის ჯამში ასხავენ სტერილურ აგარს გაცივებულს 45°C-მდე. ჯამებს ათავსებენ თერმოსტატში 28-30°C-ზე.

5. ლინდნერის წვეთური მეთოდი.

საფუარა სოკოების სუსპენზიას ანზავებენ ლუდის ტკბილში ისე, რომ მისი თითოეული წვეთი შეიცავდეს თითო საფუარა უჯრედს. ამ მეთოდს პრაქტიკული გამოყენება აქვს მხოლოდ საფუარა სოკოებში.

6. მიკრომანიპულატორი. ეს ხელსაწყო საშუალებას იძლევა მის მხედველობის არეში სპეციალური მიკროსკოპული პიპეტის საშუალებით დავიჭიროთ ერთი მიკრობული უჯრედი.

7. ანაერობების გამოყოფის მეთოდები და მათთვის საჭირო სპეციალური საკვები არეები.

ანაერობების სუფთა კულტურების გამოყოფისათვის იყენებენ შემდეგ მეთოდებს:

ა. ჰაერის მექანიკური გამოქაჩვა (გამოტუმბვა). ჭურჭელს ათავსებენ ექსიკატორში, რომლიდანაც ქაჩავენ ჰაერს ტუმბოს საშუალებით.

ბ. ქიმიური მეთოდი. ბუხნერის სინჯარაში ათავსებენ რომელიმე ჟანგბადის მშთანთქავ ნივთიერებას და ათავსებენ თერმოსტატში.

გ. ბიოლოგიური მეთოდი. ბიოლოგიური მეთოდის გამოყენებისას ანაერობებს ზრდიან ჟანგბადის ძლიერ მომთხოვნ აერობებთან ერთად.

მიკრობთა დათვლა კულტივირების მეთოდით:

არსებობს კულტივირების მეთოდით დათვლის რამდენიმე ვარიანტი:

თესვა პეტრის ჯამებში, სინჯარებში (აფრობული თესვა), ბურის მილში (ანაერობებისათვის); თესვა მკაცრ ანაერობულ პირობებში; ზღვრული განზავების მეთოდის და სხვა. ჯამის მეთოდი: აღნიშნული მეთოდი მდგომარეობს, რომ პეტრის ჯამში მკვრივ საკვებ არეზე ითესება საკვლევი მასალის განსაზღვრული რაოდენობა, რომელზედაც შემდეგ ითვლიან განვითარებულ კოლონიებს.

თუ საანალიზო მასალა შეიცავს მიკრობთა დიდ რაოდენობას აწარმოებენ მის წინასწარ განზავებას, სამუშაო შეიძლება დაიყოს 3 ნაწილად: 1) ნაზავის დამზადება, 2) ჩათესვა ჯამებში; 3) განვითარებული კოლონიების დათვლა.

ნაზავის დამზადების შემდეგ ნაზავს თესავენ ჯამებში, შემდეგ ჯამებს ათავსებენ ჰორიზონტალურ მდგომარეობაშო და აცივებენ. ინახავენ თერმოსტატში 28°C-ზე.

დათვლას აწარმოებენ სხვადასხვა ხელსაწყოს საშუალებით: ვოლფუგელის კამერით, ლაფარის ფირფიტით და სხვა.

მიკრობების უშუალო დათვლის მეთოდი მიკროსკოპში

არსებობს მიკრობთა დათვლის მეთოდის სხვადასხვა ვარიანტი.

ა) უჯრედების დათვლა ტომა-ცეისის კამერით.

შესაძლებელია მხოლოდ მიკროსკოპის მცირე გადიდების და დიდი ფოკუსის მანძილის პირობებში. ამიტომ მასში ითვლიან შედარებით დიდი ზომის მიკრობულ უჯრედებს.

ბ) დრეიერ-კოროლიოვის მეთოდი. გამოიყენება რომელიმე დახოცილი მიკრობის სტანდარტული სუსპენზია. საკვლევ მასალაში მიკრობთა რაოდენობის დასადგენად საკვლევი მასალის მიკროფლორის ჯამს ყოფენ სუსპენციის საფუარების ჯამზე და მიღებულ რიცხვს ამრავლებენ სუსპენზიის ტიტრზე.

Bact coli rogenes ჯგუფის განსაზღვრის მეთოდი

წყლის, რძის, რძემჟავა პროდუქტების და საერთოდ საკვები პროდუქტების სანიტარული შეფასებისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს B. coli-ae" rogenes ტიტრის დადგენას. აღნიშნული ჯგუფის მიკრობები აგროვებენ გაზებს და იწვევენ მრავალფეროვან გარდაქმნებს. ამიტომ მათ წარმომადგენელ მიკრობთა რაოდენობა პროდუქტში განსაზღვრავს პროდუქტის ხარისხს და შენახვის ხანგრძლიობას. E.coli ტიტრის განსაზღვრის მიზანია განისაზღვროს პათოგენური მიკრობებით დაბინძურების საშიშროება. ჩვეულებრივ, ტიტრს უწოდებენ გამოსაკვლევი მასალის იმ უმცირეს რაოდენობას, რომელიც შეიცავს ერთ უჯრედს. E. coli ტიტრის განსაზღვრის მეთოდი ემყარება ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიების რეაქტიულ მოქმედებას განსაზღვრული შემადგენლობას საკვებ არეებზე.

მიკრობთა რაოდენობის განსაზღვრა
წყალში

წყლის გამოკვლევა. წყლის ბაქტერიოლოგიური ანალიზის მიზანია:
1) გამომჟღავნებულ იქნეს საერთო ბაქტერიოლოგიური დაბინძურება; 2) შეიცავს თუ არა პათოგენურ მიკრობებს 3) რა რაოდენობით არსებობს მასში ნაწლავების ჯგუფის მიკრობები, რაც მაჩვენებელია წყლის დაბინძურებისა ადამიანის და ცხოველის გამონაყოფით. წყალი ითვლება დაბინძურებულად თუ ტიტრი უდრის 300 მლ-ზე ნაკლებს. რამდენადაც მცირეა წყლის კოლი-ტიტრი (რიცხობრივი გამოსახულებით) იმდენად ის უვარგისია.

2. ჰაერის გამოკვლევა. ჰაერის მიკრობთა უმრავლესობა საპროფიტებს ეკუთვნის, მაგრამ დახურულ სივრცეებში არის პათოგენური სახეობებიც. ჰაერში მიკრობთა განსაზღვრის მარტივ მეთოდს კოხის დაცემის მეთოდი წარმოადგენს.

3. ნიადაგის გამოკვლევა

ნიადაგის მიკროფლორის რაოდენობითი ანალიზი ტარდება ნიმუშის აღებისთანავე,რადგან ხანგრძლივად შენახვისას მიკრობები შეიძლება გამრავლდნენ, ან შემცირდნენ. აღებული ნიმუში უნდა ინახებოდეს მაცივარში 0°-ზე. მიკრობთა რაოდენობითი ანალიზისათვის იყენებენ ჯამის, ანუ ფირფიტისებურ მეთოდს.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. მეგრელაძე გ. “მიკრობიოლოგიის პრაქტიკული სახელმძღვანელოს მოკლე კურსი”, თბილისი, გამომცემლობა “მეცნიერება” 1980 წ.
2. ბერმანი ვ. “მიკრობიოლოგიის სახელმძღვანელო”, თბილისი, 1982 წ.
3. Синюшина М.Н., Самсонова М.Н. “Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии” М. “Медицина “ 1981 г.
4. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования под редакцией М.Биргера, М. “Медицина” 1982 г.

ს ა რ ჩ ე ვ ი

1. მიკრობიოლოგიური ლაბორატორია და ლაბორატორიაში მუშაობის წესები———1

2. ოპტიკური მოწყობილობა და მისი გამოყენების წესები ——————————— 2

3. მიკრობების რაოდენობის განსაზღვრა———————————————3

4. სასაგნე და საფარი მინები———————————————————3

5. მიკრობების გამოკვლევა შეღებილ მდგომარეობაში———————————4

6. საღებავები და მათი დამზადების წესები———————————————5

7. შეღებვის სპეციალური მეთოდები———————————————6

8. მიკრობთა მორფოლოგია———————————————————6

9. მიკროსკოპული სოკოების მორფოლოგია———————————————8

10. მიკრობული უჯრედის შიგთავსის შეღებვა და გამოკვლევა——————————8

11. საკვები არეები———————————————————9

12. ძირითადი საკვები არეების მომზადება———————————————10

13 . თერმოსტატი. სტერილიზაციის მეთოდები———————————————10

14. მიკრობთა სუფთა კულტურების მიღების მეთოდები———————————12

15. მიკრობთა დათვლა კულტივირების მეთოდით———————————————13

16. მიკრობების უშუალო დათვლის მეთოდი მიკროსკოპში——————————13

17. Bact.coli rogenes ჯგუფის განსაზღვრის მეთოდი———————————————13

18. მიკრობთა რაოდენობის განსაზღვრა წყალში———————————————14

იბეჭდება ავტორთა მიერ წარმოდგენილი სახით

გადაეცა წარმოებას 03.07.2009. ხელმოწერილია დასაბეჭდად 10.07.2009. ქაღალდის ზომა 60X84 1/16. პირობითი ნაბეჭდი თაბახი 1. ტირაჟი 100 ეგზ.

საგამომცემლო სახლი „ტექნიკური უნივერსიტეტი“, თბილისი, კოსტავას 77

Verba volant, scripta manent