

ЛЕКЦИЯ 2-3.

ЖИНАҚТАУШЫ ДАҚЫЛ АЛУ. ТАЗА ДАҚЫЛДАРДЫ БӨЛІП АЛУ. БӨЛІНІП АЛҒАН ДАҚЫЛДАРДЫҢ ТАЗАЛЫҒЫН АНЫҚТАУ.

1. Микроорганизмдердің таза культураларын бөліп алу әдістері.
2. Жинақтаушы культураларды алу.
3. Таза культураларды жеке колониялардан және бір клеткадан бөліп алу.
4. Бөліп алған культуралардың тазалығын тексеру.

Микроорганизмдердің таза культуралары деп бактерия популяцияларының бір клеткадан таралған ұрпақтарын айтады. Таза культураларды бөліп алу бірнеше кезеңдерден тұрады:

- Жинақтаушы культура бөліп алу;
- Таза культура бөліп алу;
- Бөліп алынған культураның тазалығын тексеру.

Жинақтаушы культуралар - микроорганизмдердің бір топтағы түрлерінің клеткаларынан тұрады. Жинақтаушы культураларды алу үшін сұйық жинақтаушы қоректік орталар, аралас микробтарды түрлі өңдеу әдістері пайдаланылады, сонымен қатар, микроорганизмдердің бөлініп алған нысандарына байланысты ерекшеліктері есептелінеді.

Микроорганизмдердің жинақтаушы және таза культураларын бөліп алу үшін **егу** және **қайта егу** әдістері қолданылады.

Егу деп зерттелінетін материалдың белгілі бір бөлігін залалсыздандырылған ортаға егу. Қайта егу – петри табақшасындағы тығыз қоректік ортада өскен микроорганизм культурасын басқа жаңа қоректік ортаға қайтадан егуді айтады.

ЖИНАҚТАУШЫ КУЛЬТУРА АЛУ.

- Егерде популяцияларда белгілі бір микроорганизм жоғары мөлшерде болса таза культураларды алудың жетістігі жоғары болады.
- Жинақтаушы таза культураларды бөліп алуды қамтамасыз ететін үдерістің негізгі бір кезеңі болып табылады.
- Жинақтау әдістері қажетті микроорганизмнің мөлшерін көбейту үшін популяциялардың басқа мүшесінен бөліп алу үшін қолайлы жағдай жасауды қамтамасыз етеді.
- микроорганизмдердің аралас популяцияларына қоршаған ортаның түрлі факторларының әсерін бағалауға мүмкіндік береді.
- Жинақтау әдістерінің арқасында ерекше субстраттарды падалануға қабілетті немесе ерекше жағдайларда өсуге қабілетті клеткаларды сұрыптауға болады.

Микроорганизмдердің жинақтаушы культураларын арнайы элективті жағдай жасап бөліп алады.

Жинақтаушы культура дегеніміз бір топтағы немесе бір түрлі микроорганизмдердің өкілдері басым болған ортада бөлініп алған культураларды жиынтығын айтады.

Элективті жағдай дегеніміз микроорганизмнің белгілі бір тобы немесе бір түрі басым дамитын жағдайды айтады.

Элективті жағдайда көбінесе микроорганизмдердің метаболизм және физиологиялық ерекшеліктері есептелінеді: қорек көзіне байланысты сұранысы, аэрация, температура, эндоспора түзуіне және т.б. көбінесе элективті жағдай тиісті қоректік орта ортаны таңдау жолымен жасалынады.

МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ ТАЗА КУЛЬТУРАЛАРЫН БӨЛІП АЛУДЫҢ СЫЗБА НҰСҚАСЫ



МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ ЖИНАҚТАУШЫ КУЛЬТУРАЛАРЫН БӨЛІП АЛУ ӘДІСТЕРІ.

Жинақтаушы культураларын
бөліп алу әдістері

```
graph TD; A[Жинақтаушы культураларын бөліп алу әдістері] --> B[Физикалық әдістер]; A --> C[Химиялық әдістер]; A --> D[Биологиялық әдістер];
```

Физикалық әдістер

Химиялық әдістер

Биологиялық
әдістер

ФИЗИКАЛЫҚ ӘДІСТЕР

Жинақтаушы культураларды алуда қолданылатын **физикалық әдістерге** өсуді температурамен реттеу, жылулық және ультрадыбыстық өңдеу, ультракүлгін сәулелерімен сәулелендіру және т.б. жатады.

Сонымен қатар, микроорганизмдердің басқада кейбір физикалық қасиеттерің ерекшеліктерінде қолдануға болады. Мысалы, популяцияның басқа мүшелерінен ерекшелінетін оның көлемі, қозғалғыштығын айтуға болады.

Мысал ретінде жылжып қозғалатын бактериялардың жинақтаушы культураларын, цианобактериялардың культураларын алу үшін жарықты қолдануды, психрофилді бактерияларды бөліп алу үшін төменгі температурада өсіруді айтуға болады

ХИМИЯЛЫҚ ӘДІСТЕР

Химиялық әдістерді қолдануда бөліп алатын микроорганизмге әсер етпейтін, бірақ популяцияның басқа мүшелерінің өсуін тежейтін немесе тоқтататын уытты заттарды қолданады.

Химиялық әдістерді қолдануға мысал ретінде лактобациллалардың культураларын бөліп алу үшін қышқылды ортада өсіру жағдайлары (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* үшін ацетатты буфер жүйесінде рН 5,3 болатын ортаға егу, аталған ортада *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* өседі де басқа сүтқышқылды бактериялар өспейді),

Микоплазмалардың культураларын алу үшін өсуді пеницилинмен өңдеу (микоплазмалардың клетка қабырғасы болмағандықтан басқа бактериялардың өсуін тежейтін пеницилиннің жоғарғы мөлшеріне төзімді),

Цитофагтардың жинақтаушы культураларын алу үшін целлюлоза субстрат ретінде пайдаланылады,

Миксобактериялар үшін кейбір бактерия клеткаларын субстрат ретінде пайдаланады (кейбір миксобактериялардың түрлері литикалық ферменттердің көмегімен басқа бактериялардың клеткаларын лизиске ұшыратады да босап шыққан клетка заттарын өздерінің өсуінде субстрат ретінде пайдаланады).

БИОЛОГИЯЛЫҚ ӘДІСТЕР

Биологиялық әдістер бөлініп алатын микроорганизмге арнайы йеге (ие) пайдалануды және кейбір патогенді микроорганизмдердің ерекшеліктерін айтуға болады (патогенді микроорганизмдерді).

Топырақтан өсімдіктермен селбесіп тірішілік ететін азотфиксациялаушы бактериялардың жинақтаушы культураларын бөліп алу.

Байыту әдістері. Микроорганизмдердің таза культураларын (мысалы, ішек таяқшасы тобына жататын бактерияларды (ІТТБ), салмонеллаларды және т.б.) бөліп алуда жиі қолданылады. Бөлініп алынатын микроорганизм түрлерінің санын көбейту үшін алдымен құрамында олардың өсуін қарқындататын және басқа микрофлораның өсуін тоқтататын заты бар жинақтаушы қоректік ортаға егу жүргізеді. Мысалы, салмонеллаларды бөліп алу үшін Кауфман, Мюллер және т.б. орталарға егу жүргізсе, ішек таяқшасы тобына жататын бактерияларды (ІТТБ) – Кесслер ортасына өсіреді. Ал, сүт қышқылды бактерияларды топырақтан, шикі сүттен немесе өсімдіктерден бөліп алу үшін майсыздандырылған, шіріту бактерияларының өсіуін тежеу үшін құрамында 5 % этил спирті бар сүтте егу жүргізіледі.

Қайнату әдісі. Спора түзуші бактериялардың (бациллалар мен клостридиумдарды) таза культураларын бөліп алу үшін қайнату әдісін пайдаланады. Бұл жағдайда зерттелінетін материалды су моншасында 75 – 85 °С температурада 10-30 минут қайнатады. Вегетативті түрлері қайнаған кезде өліп қалады да, спора түзуші микробтар тірі қалады да келесі тығыз қоректік ортаға өсірген кезде колония түзіп өсіп шығады.

ТАЗА КУЛЬТУРАЛАРДЫ БӨЛІП АЛУ

Пастердің әдісі

Кох әдісі

Шукевич әдісі

Дригальский әдісі

Вейнберг әдісі

Хангейт әдісі

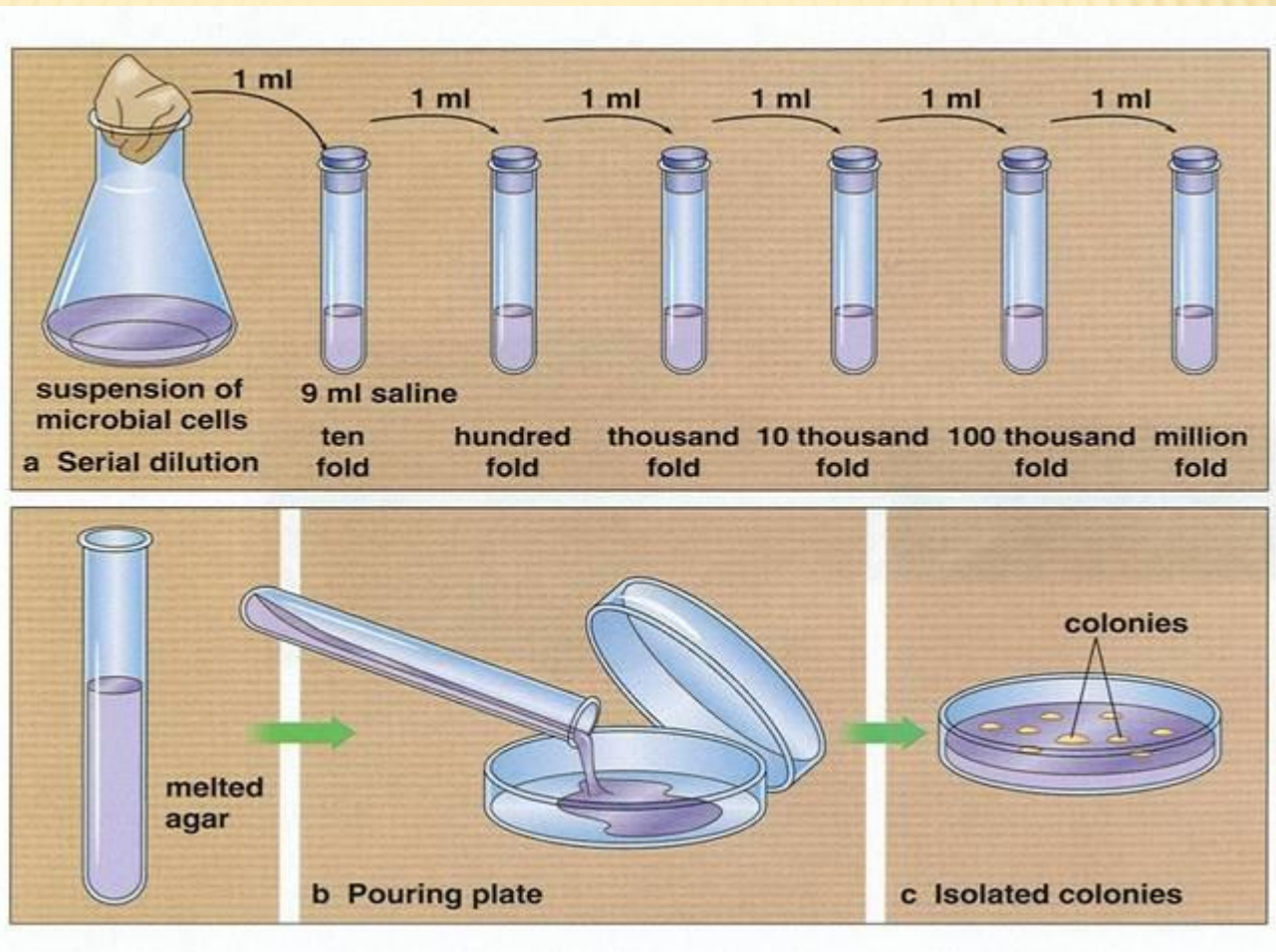
Микроманипулятор көмегімен жеке
клеткаларды бөліп алу

Пастердің әдісі – зерттелінетін материалды сұйық қоректік ортада бір клеткалы концентрацияға дейін бірізділікпен сұйылту;

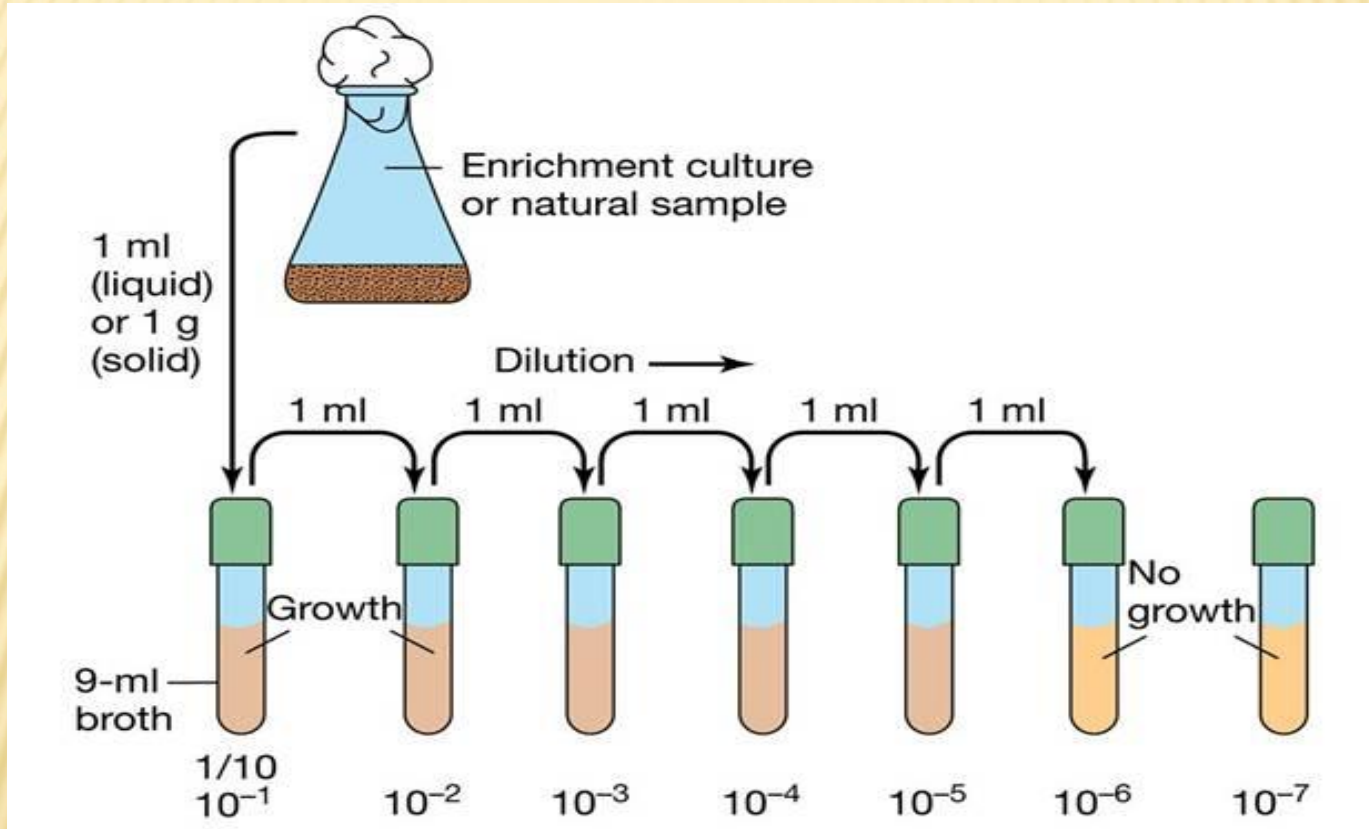
Кох әдісі – зерттелінетін материалды біртіндеп сұйылту арқылы еріген агар құйылған (48-50 ° C) Петри табақшасына құя отырып егу. Егуді бір клеткадан пайда болған жеке колония өсіп шығу үшін соңғы 3-4 сұйылтудан егеді. Ары қарай жеке колониядан бөлініп алған таза культураны жаңа тығыз қоректік ортаға қайта егеді.

Шукевич әдісі – протей және басқада «жылжып» өсетін микроорганизмдердің таза культураларын бөліп алуда қолданылады. Зерттелетін материалды қиғаш агардың конденсацияланған суына егеді. Микроорганизмдердің қозғалғыш түрлері көбею кезінде конденсацияланған судан агардың бетіне жылжып, тарап өседі, ал қозғалмайтын түрлері егілген жерде қалып қояды. Ортаның жоғарғы бетіндегі культураларды қайта егу арқылы таза культура алуға болады.

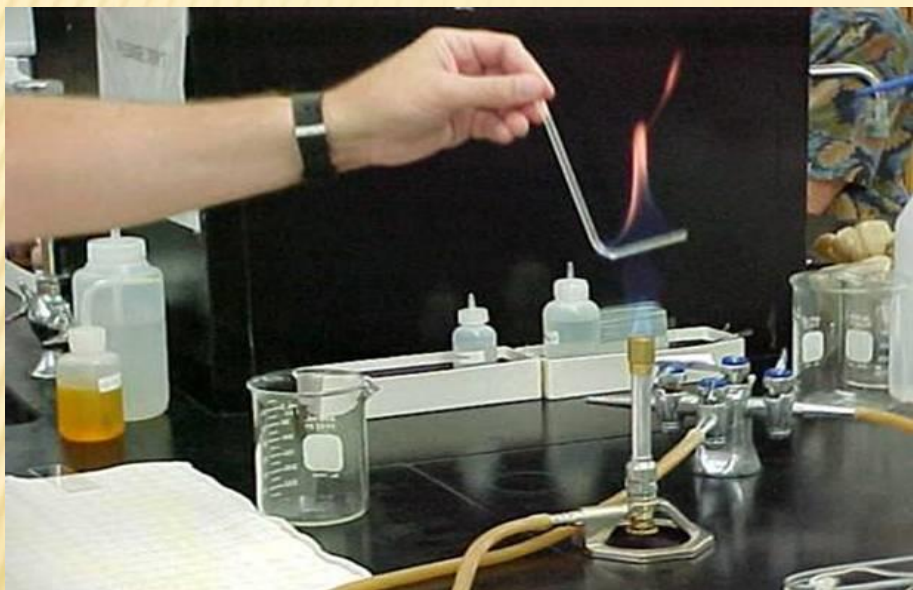
ПАСТЕРДИҢ ӘДІСІ



ΚΟΧ ΘΔΙΣΙ



ДРИГАЛЬСКИЙ ЭДИСІ



ХАНГЕЙТ ӘДІСІ

Оттегіне өте сезімтал (қатаң анаэробтар) бактериялардың колонияларын алу үшін Хангейттің айналмалы пробирка әдісін қолданады. Ол үшін оттегінің қоспаларынан тазартылған инертті газды тұрақты электр тоғын жібере отырып, пробиркадағы ерітілген агарлы ортаға егеді. Сосын пробирканы резіңке тығынмен жауады да айналып тұратын пробирканы көлденеңінен қысқышқа орналастырады. Бұның ерекшелігі ерітілген қоректік орта айналып тұрған пробирканың қабырғасына толығымен жаймаланып жұқа қабат болып қатады. Газдардың қоспаларымен толтырылған пробиркадағы агардың жұқа қабатын қолдану көзбен жақсы көрінетін жеке колонияларды алуды қамтамасыз етеді.

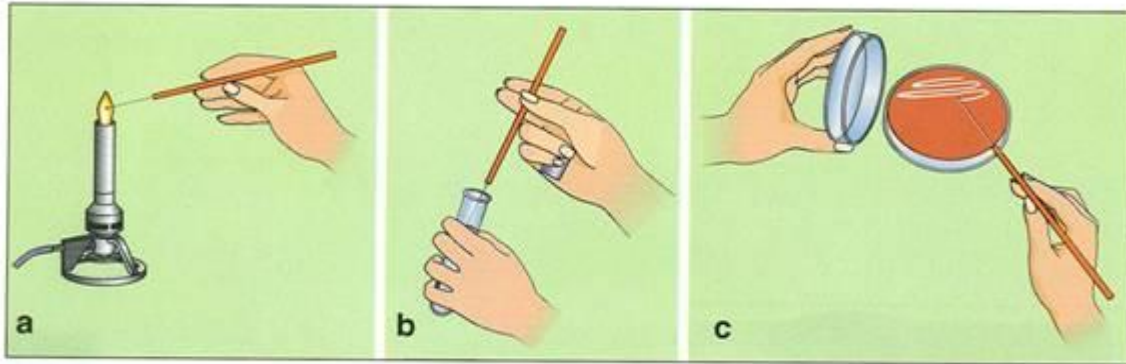
ВЕЙНБЕРГ ӘДІСІ

Көбінесе облигатты анаэробтардың таза культураларын бөліп алуда ерекше қиындықтар туады. Егерде микроорганизмдерге молекулалық оттегі бірден әсер етпесе онда егуді Дригальский әдісімен жүргізіп бірден анаэроостатқа орналастырады. Бірақта көптеген жағдайларда сұйылту әдісін жиі қолданады. Себебі, зерттелінетін материалды сұйылтуды ерітіліп, салқындатылған (45-50 ° С) агарлы ортада жүргізеді. 6-10 сұйылту жасап алған соң ортаны жылдам қатырып ауа кіріп кетпес үшін қоректік ортаның үстінен парафин және вазелин майының қоспасымен толтырады. Кейбір жағдайларда қоректік орталарға егу жүргізген соң ұштарын бекітілген стерилді Бурридің түтікшелеріне немесе Пастердің капиллярлы пипеткаларына ауыстырады. Егерде сұйылту дұрыс жасалса Бурри түтікшесі мен Пастер пипеткасында анаэробтардың жеке колониялары өсіп шығады. Жеке колониялар жақсы көріну үшін қоректік орта мөлдір таза болуы керек. Анаэробтардың жеке колонияларын бөліп алу үшін пробиркаларды от жалынында айналдыра отырып аздап қыздырып, қоректік агарды пробиркадан босатып алып, стерилді Петри табақшасына ауыстырады. Агарлы ортаны стерилді пинцетпен кесіп ортасындағы микроорганизм колониясын тұзақпен алады да бөліп алатын микроорганизм үшін қолайлы сұйық қоректік ортаға (мысалы, Китта-Тароши) егеді.

МИКРОМАНИПУЛЯТОР КӨМЕГІМЕН ЖЕКЕ КЛЕТКАЛАРДЫ БӨЛІП АЛУ.

Микроманипулятор – арнайы микропипетканың немесе микротұзақтың көмегімен суспензиядан бір клетканы бөліп алуға қолданылатын қондырғы. Бұл операцияны микроскоп арқылы бақылап отырады. Микроскоптың заттық үстелшесіне «ілінген тамшы» препаратын қоятын ылғалды камераны орналастырады. Микроскоптың көру аймағында болатын винттер мен серіппе жүйесі арқасында микрондық дәлділікпен қозғалатын микропипеткаларды (микротұзақтарды) штативтердің ұстағыштарына бекітеді. Зерттеуші микроскопқа қарай отырып клеткалардың жеке клонын алу үшін жеке клеткаларды микропипеткалармен бөліп алып стерилді сұйық орта құйылған пробиркаға ауыстырып егеді.

КУЛЬТУРАЛАРДЫҢ ТАЗАЛЫҒЫН АНЫҚТАУ



initial inoculum



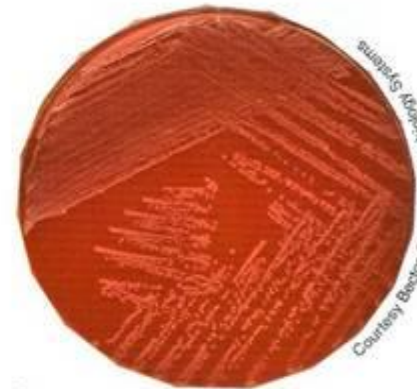
second set of streaks



third set of streaks

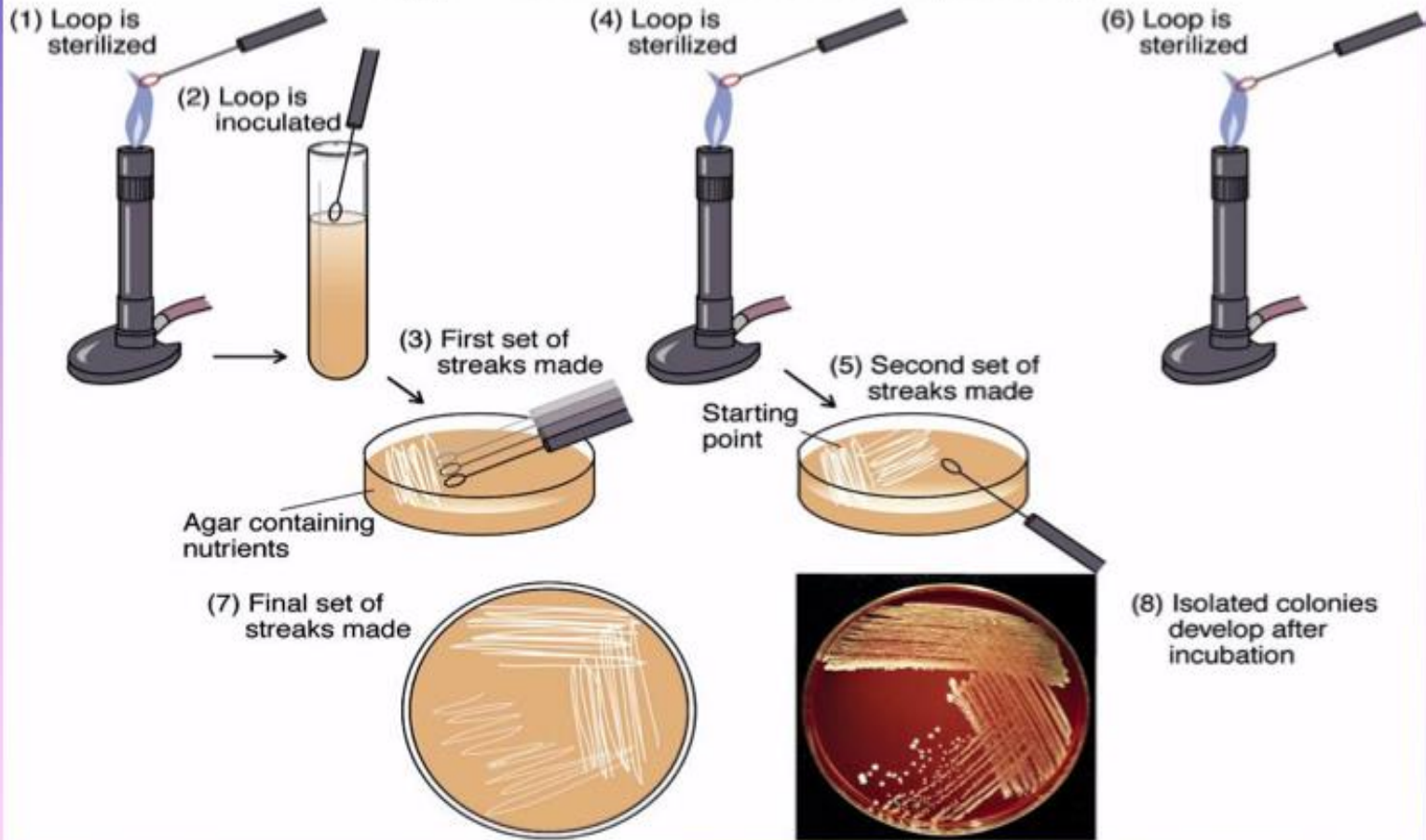


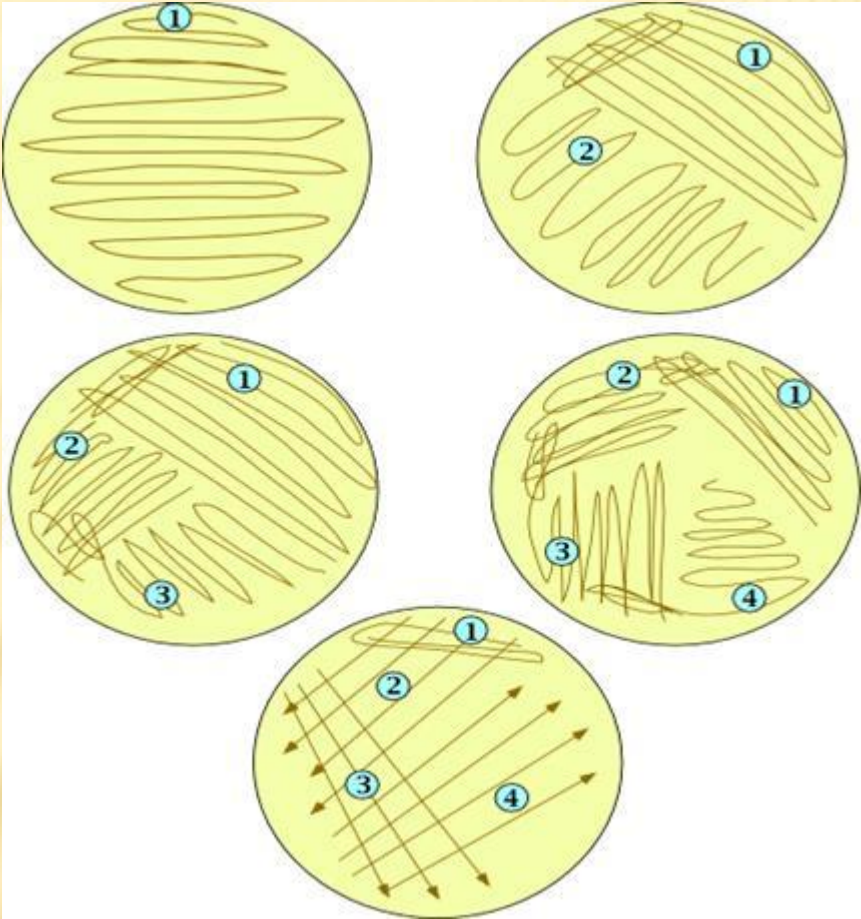
fourth set of streaks



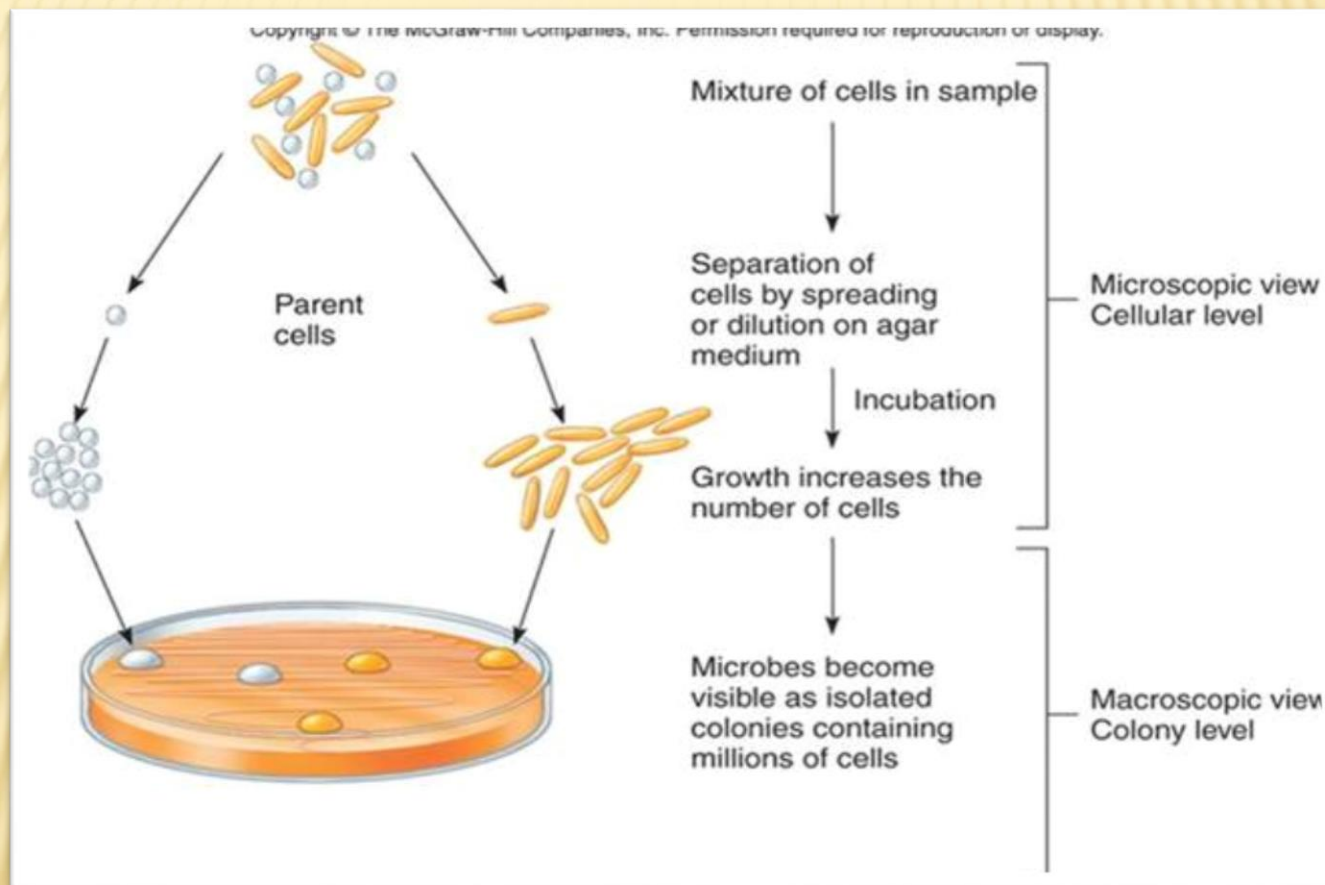
Courtesy Becton Dickinson Microbiology Systems

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

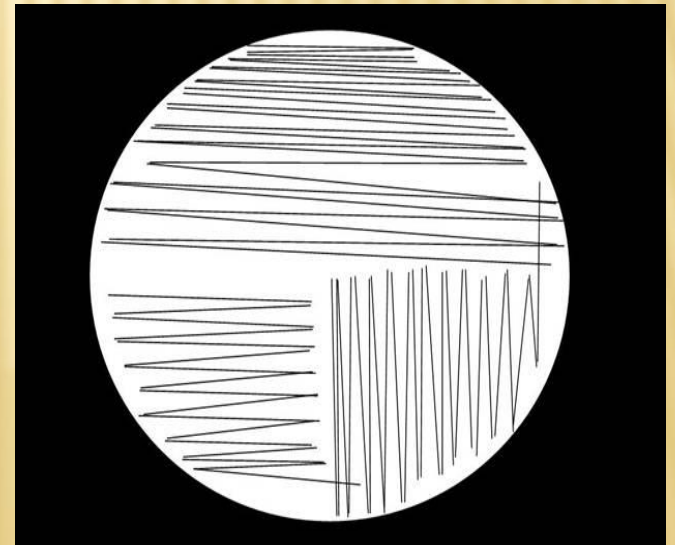
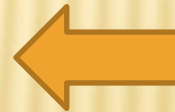
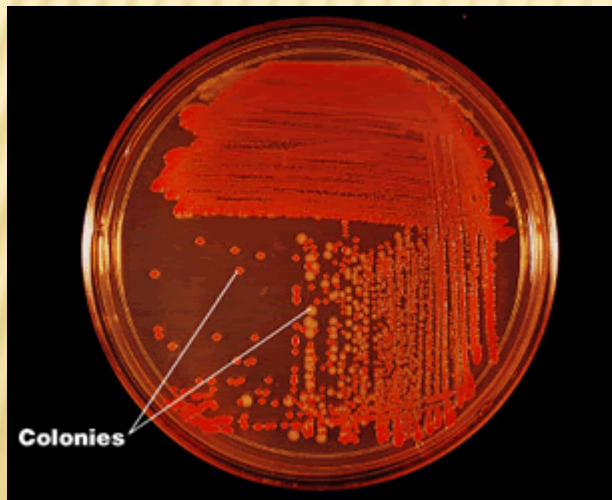
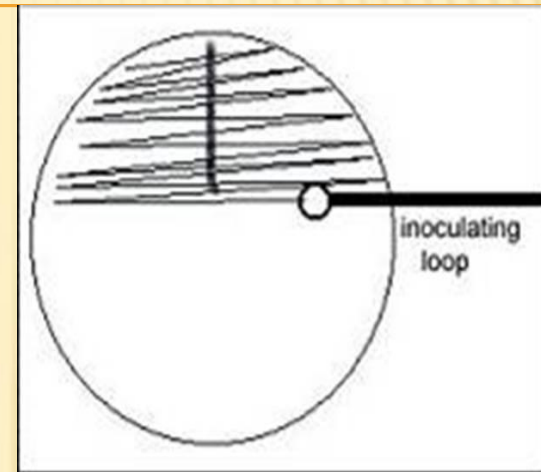
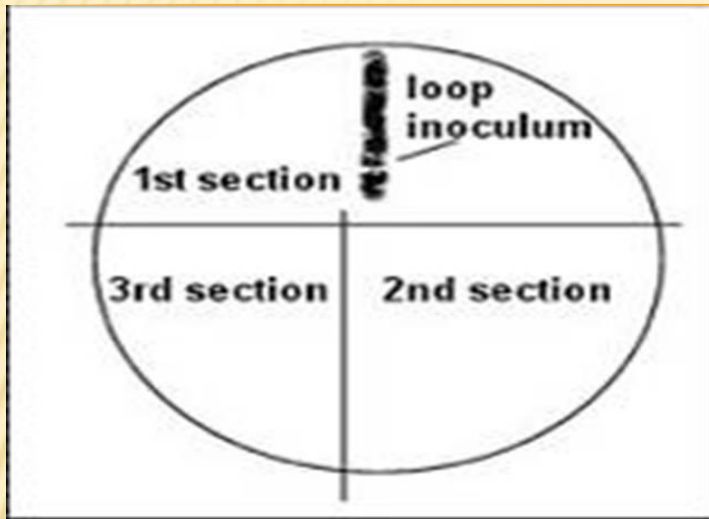




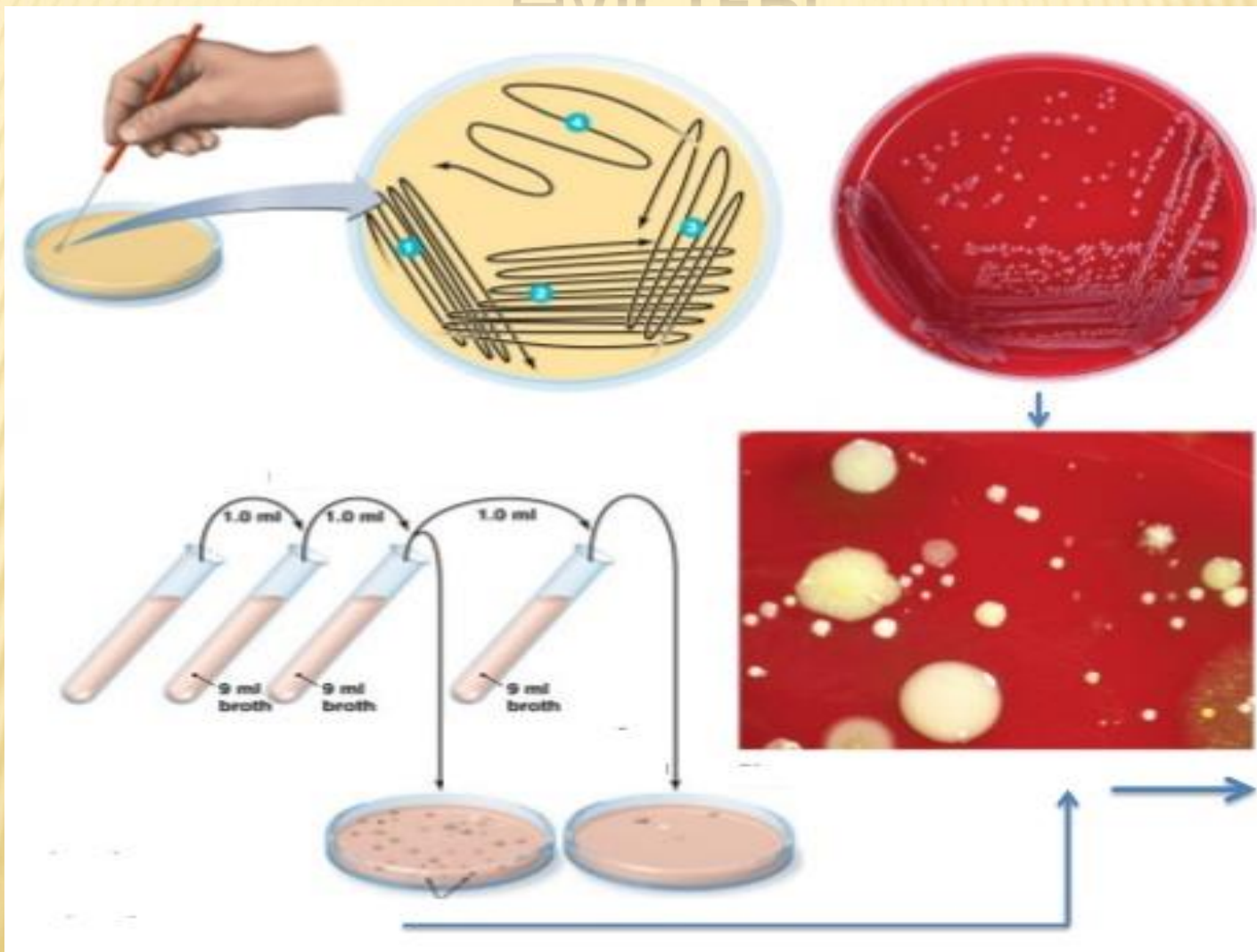
КУЛЬТУРАЛАРДЫҢ ТАЗАЛЫҒЫН МИКРОСКОПТАН ҚАРАУ АРҚЫЛЫ ТЕКСЕРУ

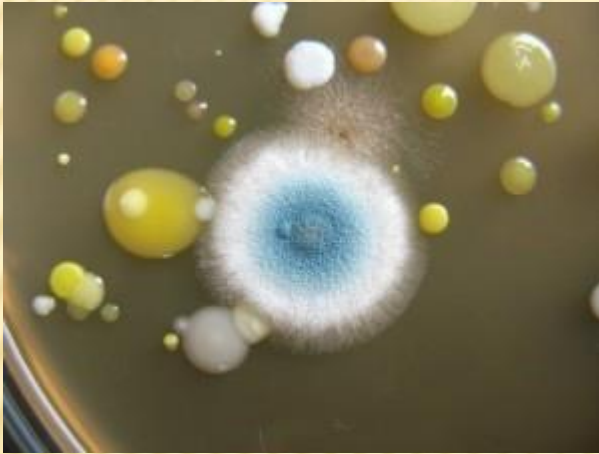


СЕКТОРЛАРҒА БӨЛУ АРҚЫЛЫ ТЕКСЕРУ



ШТРИХ ӘДІСІ МЕН ОН ЕСЕЛІК СҰЙЫЛТУ ӘДІСТЕРІ

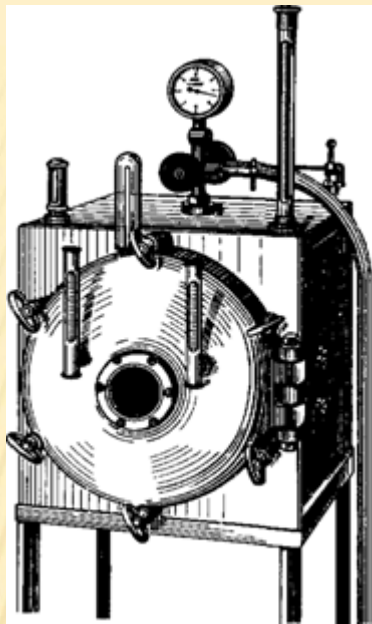




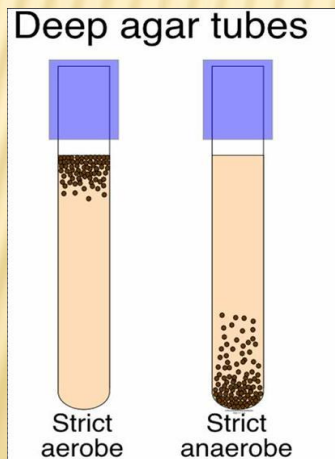
АНАЭРОБТЫ МИКРООРГАНИЗМДЕРДІ БӨЛІП АЛУ ӘДІСТЕРІ.

Микроорганизмдерді оттегінің аз мөлшерінде немесе оттексіз ортада өсіруге негізделген:

- зерттелетін материалды оңай тотығатын және редуцияланатын затты бар (антиоксиданттар) ортаға егеді. Аталған заттар ретінде көбінесе натрий тиогликоляты, тұз қышқылды цистеин, жануар және өсімдік ұлпасының бөлігі қолданылады;
- зерттелінетін материалды тығыз қоректік ортаның түбіне егеді. Егу уколмен, препараталды инемен тығыз қоректік ортаның немесе жартылай сұйық орта тігінен құйылған пробиркаға араластыра отырып егу жүргізеді;
- анаэробты микроорганизмдерді өсіруде қолданылған ыдыстардан ауаны механикалық түрде сорып шығарады (вакум жасайды);
- анаэробты микроорганизмдерді майдың астында сұйық қоректік ортаға өсіреді;
- анаэробты микроорганизмдерді ирнертті газ, көміртегінің диоксидінде, азот атмосферасында өсіреді.



Анаэроустат



Аэробты және анаэробты
микроорганизмдердің өсу
көрінісі