

В. Л. Омелянский

Практическое руководство по микробиологии

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 57
ББК 28
В11

В11 **В. Л. Омелянский**
Практическое руководство по микробиологии / В. Л. Омелянский – М.: Книга
по Требованию, 2015. – 434 с.

ISBN 978-5-458-59198-0

Всесоюзным Комитетом по делам высшей школы при СНК СССР допуще-
но в качестве учебного пособия для биофаков университетов.

ISBN 978-5-458-59198-0

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2015

© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2015

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.



Серия Книжный Ренессанс

www.samizday.ru/reprint

стесняет пользующихся книгой лиц рамками какого-либо одного курса, предоставляя каждому свободу в выборе наиболее подходящего для него распределения занятий в соответствии с количеством отводимых для этого часов, техническим снаряжением лаборатории, характером теоретического курса, дополнением к которому служат эти занятия, и т. д. При планировке занятий экономия времени проще всего достигается комбинированием быстро выполняемых бактериологических работ с более длительными бактериологическими исследованиями и культурой микробов на искусственных средах.

Для лиц, интересующихся специальными отделами микробиологии — медицинской, технической, сельскохозяйственной, руководство это может служить первоначальным справочником — своего рода введением к более специальному курсу. Методы медицинской бактериологии — опыты на животных, реакции иммунитета и пр. — в книге не упоминаются вовсе; они подробно изложены в многочисленных практических руководствах по медицинской бактериологии, имеющихся и на русском языке (см. справочник в конце книги). Равным образом почти не затронуты методы исследования простейших (Protozoa).

Видное место в книге отведено весьма поучительному и целесообразному методу элективных культур, введенному в науку Виноградским и получившему дальнейшую разработку в трудах Бейеринка (Beijerinck).

В особых главах приводятся методы исследования энзимов, а в приложении — наиболее употребительные приемы химического анализа продуктов выделения микробов. Последнее сделано для облегчения изучения биохимизма микробов. Книжке вообще придан характер руководства, обильно снабженного необходимыми сведениями для контролирования химической работы микробов. Чтобы не слишком нарушать цельность изложения, пришлось более сложные приемы анализа вынести в особое «Приложение» в конце книги.

Описание различных приемов бактериологического исследования сделано с надлежащей обстоятельностью, так, чтобы начинающий мог проделать их, по возможности, самостоятельно.

Практические работы по микробиологии требуют большой осмотрительности, порядка и точного выполнения указаний методики, подчас довольно стеснительных. В особенности это важно при работах с патогенным материалом, когда несоблюдение необходимых мер предосторожности связано с угрозой заражения. А так как никогда не исключена возможность случайного нахождения патогенных микробов в исследуемом материале, то для ограждения себя и окружающих от опасности заражения необходимо во всех случаях, даже при работах с сапрофитными микробами, соблюдать надлежащую осмотрительность, точно придерживаясь установленных правил

Рекомендуется начинающему вести подробный дневник занятий. Запись облегчает усвоение пройденного, заставляя внимательнее относиться к каждой проделанной операции. Полезно это и как школа дисциплины для будущей самостоятельной работы, так как приучает, не полагаясь на память, тщательно заносить в дневник все проделанное за день.

В случае неизбежных неудач работающий должен, не сваливая вину на метод, найти источник ошибки и устранить его в будущем. Здесь широкое поле для проявления самостоятельности и разумной настойчивости занимающегося с целью доведения предпринятой работы до конца. Для руководителя практические занятия дают в руки прекрасное средство разобраться в индивидуальности работающего и распознать будущего полезного деятеля в области науки.

Быть может, предлагаемый труд окажется не бесполезным и для более опытных бактериологов, как сводка методических приемов, не всегда удерживающихся в памяти. Но, главным образом, автор имел в виду молодых, начинающих микробиологов, которым и посвящает эту книгу.

Если она послужит вящему насаждению бактериологического знания в России и нарастанию кадров русских микробиологов, автор сочтет свой труд производительно затраченным.

За указаний на недосмотры, неясности, ошибки и прочее, совершенно неизбежные в первом издании, автор заранее приносит свою глубокую благодарность.

Автор

УСТРОЙСТВО ЛАБОРАТОРИИ. ОПИСАНИЕ МИКРОСКОПА

1. УСТРОЙСТВО ЛАБОРАТОРИИ

Благоустроенная лаборатория для бактериологических занятий должна удовлетворять ряду требований как по расположению комнат, так и по их оборудованию. Сообразно с целями преподавания или с характером выполняемых работ, и планировка лабораторных помещений может быть различной, но все же здесь можно дать несколько общих указаний относительно условий, которым должно удовлетворять подобное помещение.

Бактериологическая лаборатория обыкновенно состоит из следующих помещений: 1) комната для заведующего, 2) комната(ы) для помощника (ов), 3) зал для практикантов, 4) комната (ы) для специалистов, 5) химическая лаборатория, 6) библиотека и весовая комната (здесь же могут помещаться аппараты для объемного химического анализа), 7) микрофотографическая комната, термостатная, стерилизационная и служительская.

К этому надо добавить вспомогательные помещения: переднюю, коридор и пр.

Комнаты для микроскопических занятий должны быть обращены окнами на север — на свободное, незастроенное и не заросшее деревьями пространство. Если постройки и деревья находятся в некотором отдалении, они не мешают. Если окна обращены на юг, то в солнечные дни их закрывают белыми шторами для защиты от ярких солнечных лучей, утомляющих глаз при микроскопировании, губительно действующих на микробов и не безопасных для самого микроскопа, так как под их влиянием может расплавиться клей, связывающий линзы в системах. Окна делаются с большими просветами, «зеркальные» или с переплетом лишь в верхней части. Нижняя часть оконных рам не должна открываться внутрь, чтобы не препятствовать ставить предметы у окна и не уменьшать полезной площади рабочего стола (рис. 1). Микроскоп помещается на устойчивом столе, так как сотрясение мешает точным микроскопическим исследованиям. Расстояние микроскопа от окна должно быть около 1 м.

Пол в лаборатории можно выстлать линолеумом по бетону или каменными плитками. Последние менее приятны для ног.

но зато такой пол не боится ни кислот ни пятен от анилиновых красок (смывают крепкими кислотами). Стены и потолки в лабораторных помещениях должны быть гладкими, без карнизов и украшений, во избежание оседания на них пыли. По той же причине лабораторную мебель лучше делать с закругленными краями, без узорных закраин. Нижняя часть помещения окрашивается светлой масляной краской, лучше всего желтоватого цвета, а верхняя часть и потолок белятся известью или окрашиваются известковой краской, впитывающей влажность.

Комнаты должны хорошо вентилироваться. Для усиления тяги у отверстия вытяжных труб должны быть газовые рожки или электрические вентиляторы.

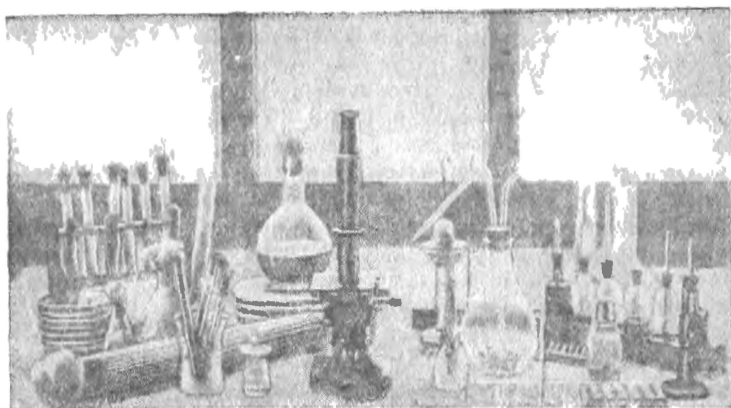


Рис. 1. Стол для бактериологических работ.

Столы для микроскопирования располагаются перед окнами. Их высота — около 80 см. Если пол тряский, то столы удобнее укреплять на кронштейнах вдоль стен (рис. 1).

Поверхность столов хорошо покрывать линолеумом с деревянной закраиной, которая не должна выдаваться над уровнем самого линолеума. Столы нередко покрываются стеклянными досками или белой полированной лавой.

Для окраски деревянных лабораторных столов Вортман (Wortmann) предложил следующий способ. Готовят два раствора:

1) CuSO_4	100 г	2) Солянокислого анилина	100 г
KClO_4	50	NH_4Cl	40
Воды	615	Воды	615

Обе жидкости трижды попеременно наносятся на окрашиваемую поверхность стола, после высыхания предыдущей краски. Затем поверхность стола смывают теплой водой и, когда высохнет, протирают кипяченым льняным маслом. Наконец, моют мыль-

ной водой. Поверхность стола приобретает черный цвет, устойчивый к щелочам и кислотам.

Клёкер (Klöcker) предлагает для этой же цели следующий рецепт, который он считает лучшим. Приготавливаются два раствора:

1) Солянокислого анилина в 4 л	
Воды	600 г
2) Хлорной меди	86
Хлорнокислого калия	67
Хлористого аммония	33
Воды	1000

Непосредственно перед употреблением смешиваются 4 объема первого раствора с 1 объемом второго и этой смесью 4 или 5 раз натирается поверхность стола (с промежутками каждый раз в 1 сутки). Затем стол протирается тряпкой, смоченной льняным маслом. При этом способе черный цвет достигается быстрее.

Воздух в лабораторном помещении должен быть по возможности свободен от пыли и зародышей, в особенности плесневых спор, систематически загрязняющих культуры. В лаборатории, поэтому, полезно время от времени производить основательную дезинфекцию.

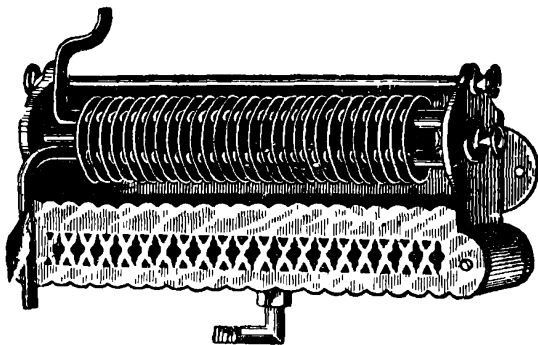


Рис. 2. Аппарат Флетчера для быстрого нагревания воды газовой горелкой.

Сказанное обязывает к соблюдению в лабораторном помещении педантической чистоты и порядка. Столы после работы должны быть убраны, и ничего лишнего на них не должно оставаться. Только при этом условии их можно содержать в чистоте и свободными от пыли. Все культуры и аппараты, по окончании работы, должны быть помещены в шкафы. Нельзя бросать на пол окурки, обгоревшие спички, обломки стекла, ватные пробки и т. п. Для мусора в каждой комнате находится эмалированное ведро или стеклянная банка с дезинфицирующим раствором. Ежедневно эти вместилища очищаются.

В служительской комнате, если она достаточно вместительна, могут находиться стерилизационные аппараты (см. гл. II). Здесь же производится мойка посуды. Если нет кранов с горячей водой, то для быстрого согревания воды там, где есть газ, можно с удобством пользоваться аппаратом Флетчера (Fletscher) (рис. 2). Вымытая посуда высушивается на особых досках (рис. 3, стр. 10).

2. МИКРОСКОП, УЛЬТРАМИКРОСКОП И МИКРОФОТОГРАФИЯ

Микроскоп представляет собой важнейшее орудие бактериологического исследования. Знакомство с ним обязательно для всякого, приступающего к бактериологическим занятиям.

Это тем более необходимо, что применяемый в бактериологии микроскоп имеет целый ряд конструктивных особенностей и требует специального знакомства с его устройством.

Микроскопы бывают простые — с одним увеличительным стеклом и сложные — с окуляром и объективом. Простые микроскопы называются лупами.

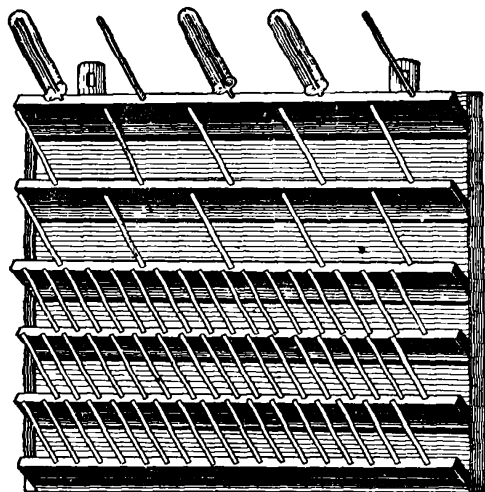


Рис. 3. Доска с колышками для сушки стеклянной посуды.

Сложный микроскоп состоит из штатива и оптической части (рис. 4).

Штатив микроскопа готовится из меди или чугуна, должен быть устойчив и с хорошо пригнанными частями. Он обладает боковым шарниром, допускающим наклонение трубы под любым углом (откидной штатив).

Штатив снабжен следующими частями:

1) Труба микроскопа (тубус), несущая сверху окуляр и внизу объектив. Она может передвигаться вверх и вниз с помощью

двух систем. Для грубого передвижения служит кремальера, или зубчатка, приводимая в движение двумя боковыми винтами; ею пользуются при слабых увеличениях, а также для первоначальной грубой установки препарата при сильных системах. Для более точной установки служит микрометрический винт, каждый полный поворот которого при помощи верхней головки (старая система с призматическим винтом) или двух боковых (современная система с боковым винтом) передвигает трубу микроскопа на 0.1 мм.

В современных конструкциях больших исследовательских микроскопов микрометрический винт, а иногда также и кремальера перемещены ближе к ножке штатива, что позволяет во время работы держать руку не на весу, а в менее напряженном положении, на столе.

Микрометрический винт является одной из наиболее нежных частей микроскопа, и обращение с ним требует особой осторожности.

Его движения должны быть совершенно свободны в обе стороны. Если винт не вращается в одну сторону, это указывает, что ход его пройден до конца и надо его вывинтить в обратную сторону.

У штативов с боковым микрометрическим винтом обычно имеются с правой стороны две черточки, указывающие крайние положения микрометрического винта.

Иногда винт работает плохо, так как труба и прилегающие части с трудом движутся вследствие загустения масла. В этом случае их полезно смазать жидким вазелином.

Труба микроскопа состоит из двух частей, входящих одна в другую и могущих раздвигаться. При пользовании масляной иммерзией наилучшее изображение получается при определенной длине трубы. В микроскопах Цейсса длина трубы, считая от верхнего края тубуса до верхнего края оправы объектива, т. е. длина трубы включительно с соединением между тубусом и объективом, должна быть равна 160 мм, в микроскопах Лейтца — 170 мм, а в больших английских микроскопах — 250 мм.

Если объектив непосредственно навинчен на трубу, то деления на выдвижной части тубуса показывают длину его; следовательно, в микроскопах Цейсса эту трубу нужно выдвинуть до 160.

Если же объектив насаживается на трубу при помощи револьвера или салазок, то тубус надо вдвинуть на длину этих частей так, чтобы длина осталась прежней — 160 мм.

Советские микроскопы (рис. 5), снабженные прекрасной оптикой, построены по типу лучших биологических микроскопов Цейсса.

К большим современным штативам обычно прилагается косая монокулярная или бинокулярная насадка для тубуса, исключая необходимость наклонения штатива под углом. Некоторые

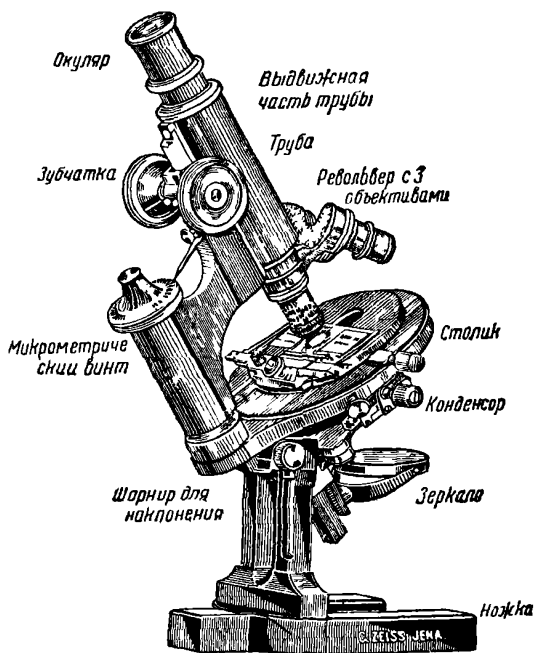


Рис 4 Большой микроскоп с круглым подвижным столиком

фирмы (Цейсс, Рейхерт) изготовляют штативы с косым бинокулярным тубусом (рис. 6).

Хотя большим выдвижением трубы и можно достигнуть большего увеличения, но при этом значительно страдает ясность изображения, особенно при пользовании иммерсионной системой. Не надо забывать, что детали изображения раскрывает только объектив, а не окуляр. Последний лишь усиливает увеличение, ничего нового не прибавляя к изображению в смысле выяснения подробностей. Напротив, изображение теряет в ясности вследствие ослабления освещения.

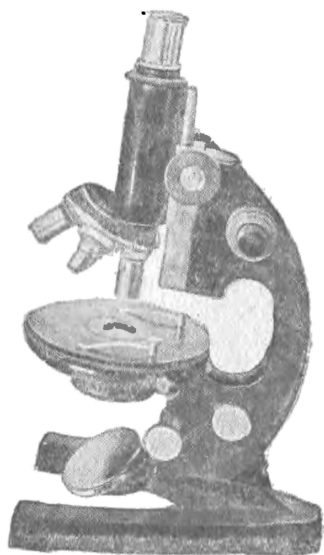


Рис. 5. Микроскоп советского изготовления.

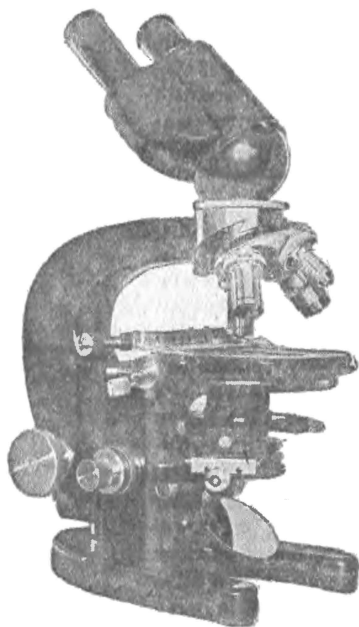


Рис. 6. Штатив с косым бинокулярным тубусом.

2) Столик микроскопа. На нем двумя зажимами укрепляется предметное стекло. В лучших моделях микроскопов имеется центрируемый, вращающийся идвигающийся по двум взаимно перпендикулярным направлениям подвижной стол, так называемый вращающийся крестообразный стол. В более простых моделях имеется лишь крестообразный стол (невращающийся). Нередко пользуются привинченным к столику микроскопа «подвижным столиком», позволяющим передвигать препарат в разные стороны с помощью системы винтов и отмечать места препарата по делениям двух взаимно перпендикулярных нониусов. Через отверстие в средней части столика микроскопа проходит линза отсчетителя Аббе, верхняя плоская сторона которой находится на одном уровне с поверхностью столика

микроскопа. В случае надобности осветитель может быть слегка опущен.

3) **К о н д е н с о р** (осветитель) Аббе, находящийся под столиком микроскопа, представляет собой систему сильных линз, посылающих широкий конус лучей света, сходящихся в плоскости препарата. При освещении рассеянным дневным светом, т. е. параллельными лучами, конденсор нужно поднять как можно выше — так, чтобы плоская поверхность верхней линзы пришлась на уровне поверхности столика. В этом случае фокус лучей, проходящих через конденсор, находится в плоскости препарата. Напротив, при искусственном освещении, когда источник света находится недалеко от микроскопа, посылая к зеркалу расходящийся пучок лучей, осветитель Аббе должен быть опущен до тех пор,

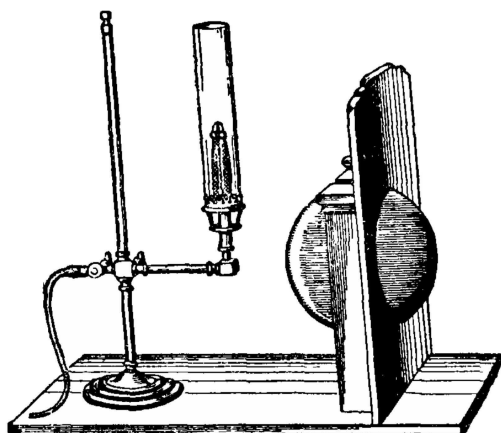


Рис. 7. Гавокалильная лампа с шаром, наполненным раствором сернокислой меди.

пока изображение источника света не будет в плоскости препарата. Если это изображение слишком резко (накаленные нити электрической лампы), то слегка понижают конденсор Аббе или освещают препарат вогнутой стороной зеркала. Конденсор Аббе снабжен диафрагмой, суживающейся и расширяющейся, как зрачок нашего глаза (*Iris diaphragma*).

При суженной диафрагме все краевые лучи задерживаются, и к препарату пропускаются лишь одни центральные лучи. Сдвинув диафрагму несколько в сторону от оптической оси, получаем косое освещение, дающее более резкие контрасты света и тени. Окрашенные препараты рассматриваются при полном освещении Аббе, неокрашенные — при суженной диафрагме или при опущенном конденсоре. Если неокрашенные препараты рассматриваются при слабом увеличении, то конденсор лучше всего убрать или сдвинуть в сторону.

Если при работе желательно использовать полностью возможность конденсора (его апертуру), то между конденсором и нижней поверхностью предметного стекла необходимо поместить каплю иммерсионного (кедрового) масла.

4) Внизу микроскопа находится подвижное плосковыгнутое зеркало, служащее для отражения света внутрь микроскопа.

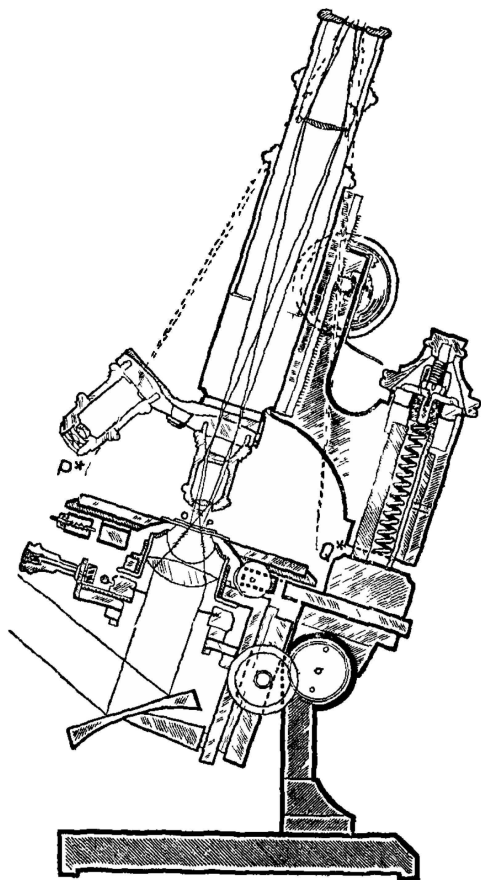


Рис. 8 Сложный микроскоп с изображением хода лучей в нем

Лучше всего пользоваться дневным светом, отраженным от белого предмета, например от светлого облака или от белой стены противоположного дома. Не так хорош свет, отраженный от голубого неба. Резкость прямых солнечных лучей смягчают матовым светом вставленным в ирис-диафрагму конденсора Аббе. Желтый свет от электрической лампы или от газовой горелки смягчают голубым стеклом или пропускают его через шар, наполненный слабым раствором медного купороса или аммиачным раствором окиси меди (готовится прибавлением аммиака к раствору медного купороса, рис. 7) При искусственном освещении удобнее производить тонкие микроскопические исследования, особенно неокрашенных и живых объектов.

5) Оптическая часть сложного микроскопа состоит, кроме конденсора Аббе, из объектива и окуляра. Увеличение, даваемое микроскопом, равняется произведению увеличений его объектива и окуляра. Ход лучей в микроскопе изображен на рис. 8.

Наиболее важную и ценную часть микроскопа составляют объективы. Микроскоп должен быть снабжен по крайней мере двумя сухими системами (с собственным увеличением в 10—20 и