

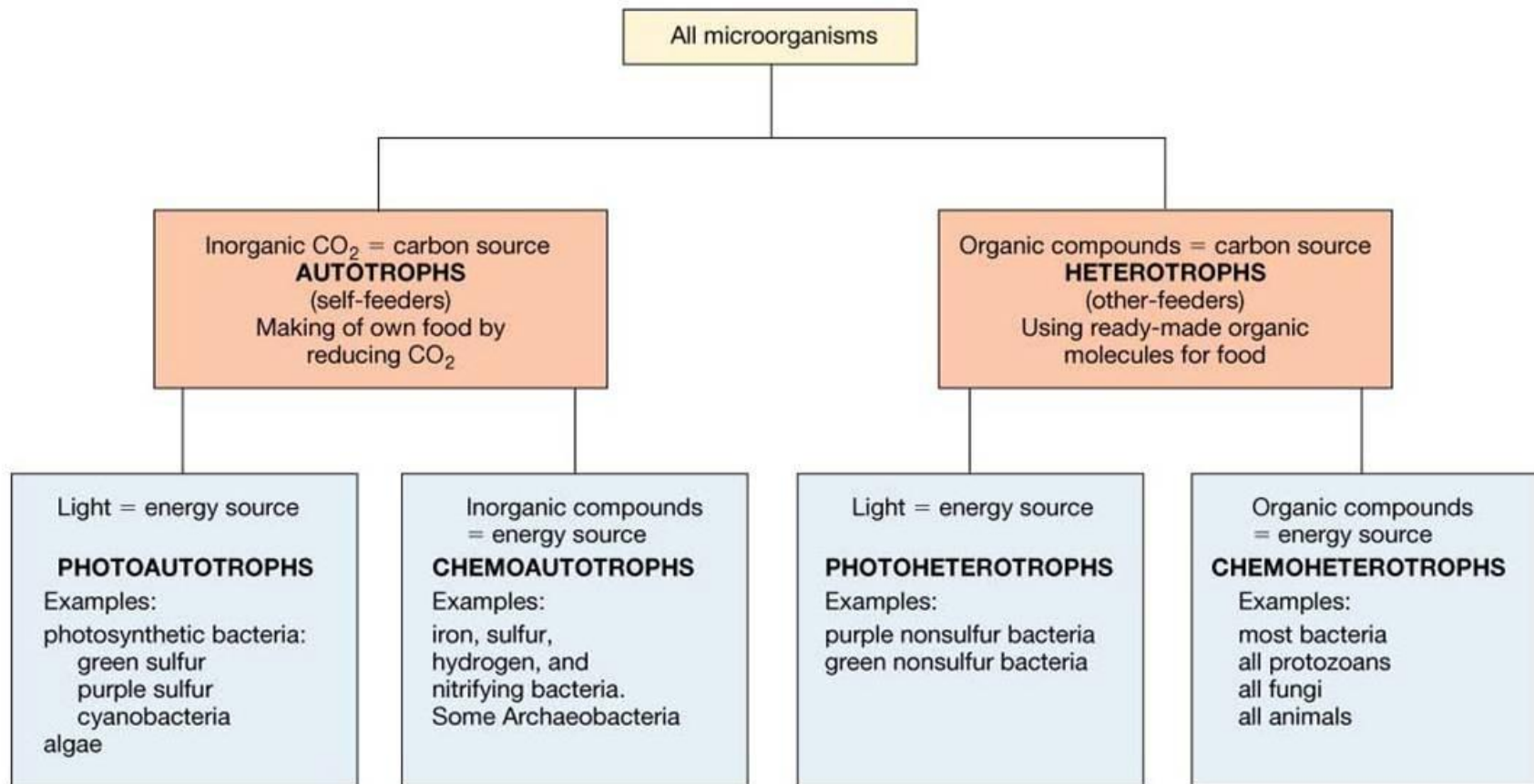
Тема: Питание микроорганизмов.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов.

Методы определения количества бактерий.

Методы стерилизации и дезинфекции.

Классификация микроорганизмов по источнику углерода



Способы существования прокариотных микроорганизмов
(по Заварзину, 1974; Е. Н. Кондратьевой, 1975)

Источник энергии	Доноры электронов	Конечные акцепторы электронов	Источник углерода для построения вещества тела	Способ существования	Представители	
Окислительно-восстановительные реакции	неорганические соединения (H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , Fe ²⁺ и др.)	молекулярный кислород	CO ₂	хемолитоаэроавтотрофия	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии	
			органические соединения	хемолитоаэрогетеротрофия	некоторые водородные и железобактерии	
		CO ₂ , SO ₄ ²⁻	CO ₂	хемолитоанаэроавтотрофия	метанобразующие бактерии	
			органические соединения	хемолитоанаэрогетеротрофия	сульфатвосстанавливающие бактерии	
	органические соединения	молекулярный кислород	CO ₂	хемоорганонаэроавтотрофия	окисление муравьиной кислоты бактериями	
			органические соединения	хемоорганонаэрогетеротрофия	большинство бактерий*	
		органические соединения	CO ₂	хемоорганонаэроавтотрофия	метанобразующие бактерии	
			органические соединения	хемоорганонаэрогетеротрофия	молочнокислые, маслянокислые и другие бактерии, осуществляющие брожение	
	Свет	неорганические соединения (H ₂ O, H ₂ S, S и др.)	—	CO ₂	фотолитоавтотрофия	цианобактерии, большинство пурпурных и зеленых серобактерий, некоторые несерные пурпурные бактерии**
				органические соединения	фотолитогетеротрофия	некоторые цианобактерии, большинство пурпурных и зеленых серобактерий
органические соединения		—	CO ₂	фотоорганонавтотрофия	некоторые пурпурные бактерии	
			органические соединения	фотоорганогетеротрофия	все несерные пурпурные бактерии, некоторые пурпурные и зеленые серобактерии, галобактерии	

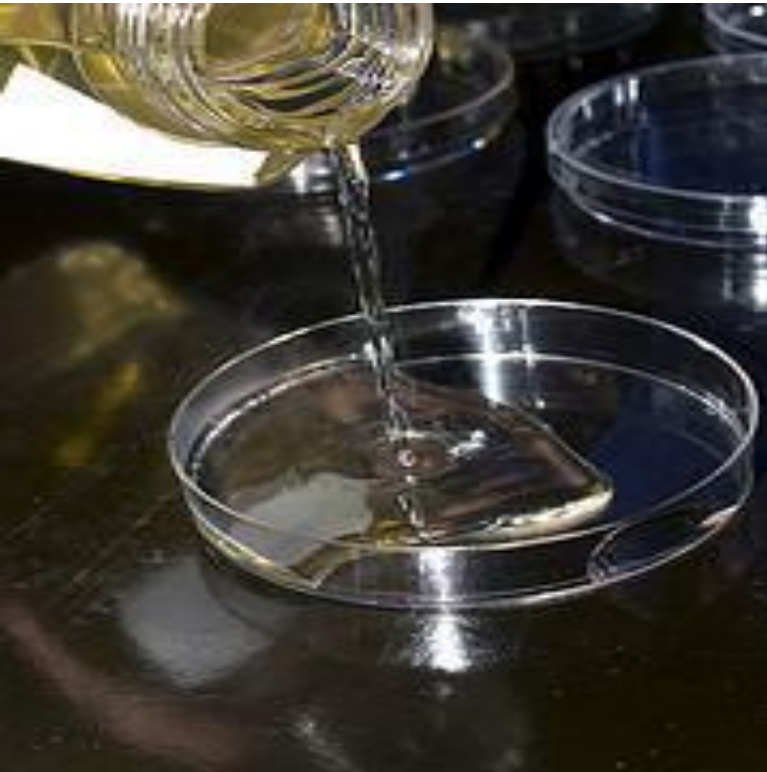
* Все животные, грибы.

Классификация питательных сред

Питательные среды делят *по консистенции, составу, назначению.*

- В зависимости от *консистенции* различают жидкие (мясопептонный бульон, сахарный бульон), плотные (1-2% мясопептонный агар, свернутая сыворотка), полужидкие (0, 2-0, 5% мясопептонный агар) питательные среды. Для получения П. с. плотной консистенции к жидкой среде добавляют обычно агар-агар - полисахарид, добываемый из морских водорослей, или желатин - вещество белковой природы животного происхождения.
- *По составу среды* могут быть простыми и сложными
- В зависимости от *назначения* выделяют элективные, среды обогащения, дифференциально-диагностические.

Простые(универсальные, основные) питательные среды



- мясо-пептонный бульон (**МПБ**) — жидкая среда
- мясо-пептонный агар (**МПА**) — плотная среда
- ❖ Обеспечивают рост большинства бактерий
- ❖ Служат основой для приготовления сложных сред

Сложные среды с повышенной питательной ценностью



- Обогащенные углеводами (сахарный бульон/агар)
- Обогащенные белками (кровяной, сывороточный, асцит бульон/агар)

- Рост гноеродного стрептококка на кровяном агаре (вокруг колоний видны зоны гемолиза)

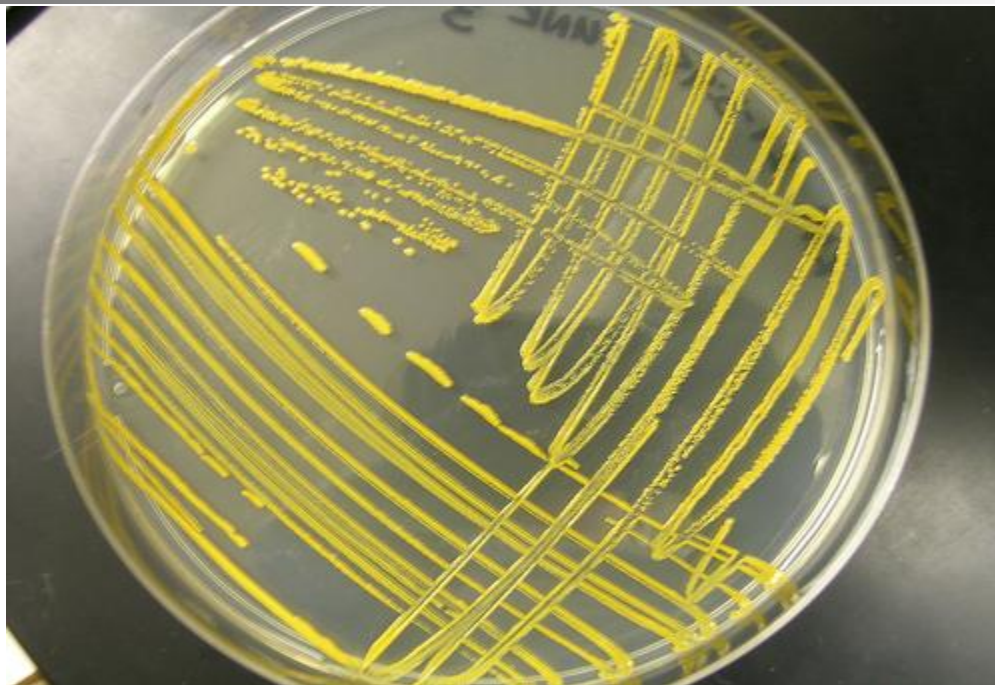
Элективныe (избирательные) питательные среды

- Обеспечивают преимущественный рост определенной группы бактерий



- *Среда Леффлера*
(свернутая сыворотка крови с сахарным бульоном) - эффективна для дифтерийной палочки

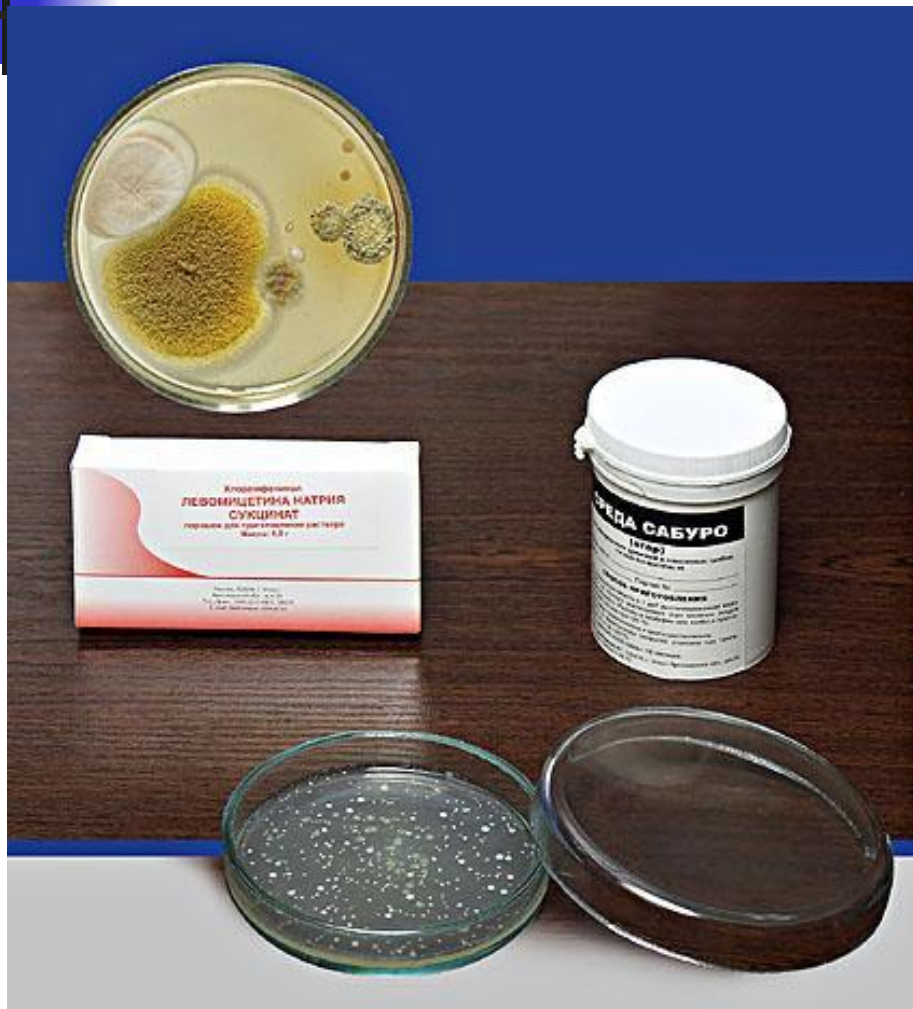
Элективные (избирательные) питательные среды (продолжение)



- *Щелочной агар*
для холерного
вибриона

- *Желточно-солевой агар*
для *S. aureus*

Элективные (избирательные) питательные среды (продолжение)



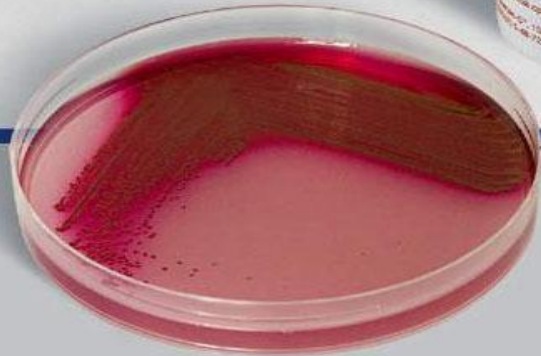
Агар Сабуро
для обнаружения
дрожжей и
плесневых грибов

Дифференциально-диагностические среды



- Позволяют дифференцировать группы или виды бактерий по ферментативной активности
- *Среды Эндо, Левина, Плоскирева* – используются для выделения чистой культуры энтеробактерий на 1 этапе; позволяют дифференцировать бактерии, способные и неспособные ферментировать лактозу
- *Среды Гисса* – используются на 3 этапе выделения чистой культуры для определения спектра сахаролитической активности.

Среда Эндо



E. coli

ферментирует
лактозу



Salmonella* и *Shigella

не способны
ферментировать
лактозу

- ❖ **Состав:** мясопептонный агар, лактоза, фуксин, сульфит натрия (Na_2SO_3),
- ❖ Принцип действия: фуксин обесцвечивается сульфитом натрия (образуется бесцветная фуксинсернистая кислота);
- ❖ Энтеробактерии, сбраживающие лактозу, в процессе брожения выделяют муравьиную кислоту, которая даёт цветную реакцию с реактивами на альдегиды, в том числе и с фуксинсернистой кислотой с образованием свободного фуксина, в результате чего их колонии окрашиваются в малиново-красный цвет с металлическим блеском или без него.
- ❖ Колонии бактерий, не сбраживающих лактозу, имеют белый или слабо-розовый цвет (цвет питательной среды).

Среда Плоскирева



- ❖ селективная среда для выделения шигелл и сальмонелл.
- ❖ В состав среды Плоскирева входят ингибирующие вещества (желчные соли, бриллиантовый зеленый, йод), вследствие чего она должна полностью подавлять рост грамположительной флоры, значительно задерживать (первые 24 ч) рост эшерихий и другой сопутствующей микрофлоры, подавлять роение протей.
- ❖ Дифференцирующие свойства агара Плоскирева основаны на изменении рН в кислую сторону при росте лактозоферментирующих бактерий, которые образуют колонии брусничного цвета (индикатор нейтральный красный).
- ❖ Лактозоотрицательные бактерии вырастают в виде бесцветных или слабоокрашенных колоний.

Среды Гисса :

- Состав: МПА, набор углеводов, индикатор
- Принцип действия: при ферментации углевода образующиеся кислые продукты меняют рН, при этом изменяется окраска индикатора



Среда Клиггера:

Содержит 1% лактозу, 0.1% глюкозу, тиосульфат натрия и сульфат железа, индикатор фенол рот. Посев по поверхности и уколом в столбик агара. При ферментации только глюкозы – желтый столбик, скошенная часть не меняет окраску. При ферментации и глюкозы, и лактозы (E.coli) – весь агар желтый. При образовании сероводорода (сальмонеллы, протей) – агар чернеет

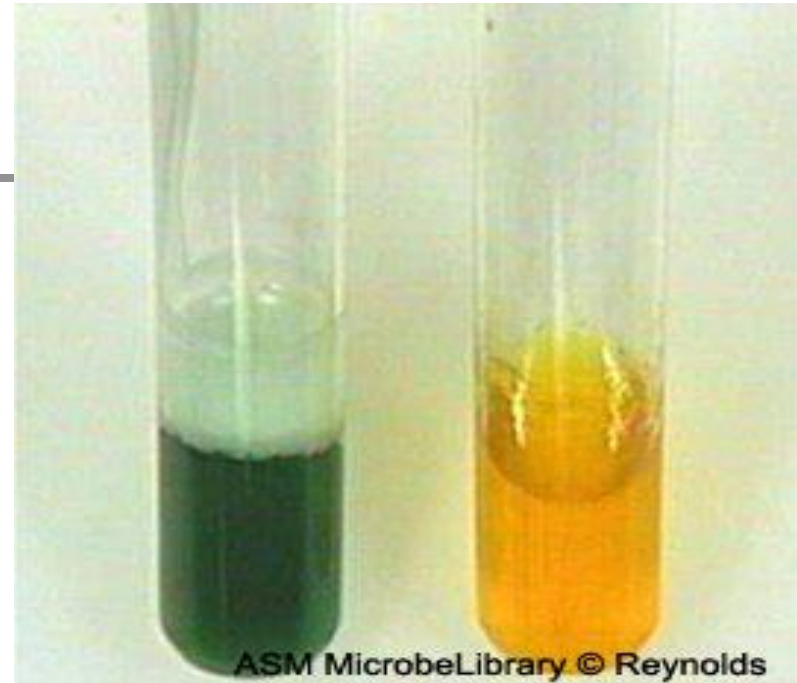


ASM MicrobeLibrary.org©Chamberlain

Дифференциально-диагностические среды (продолжение)



Среда Симмонса для определения способности микроорганизмов утилизировать цитраты



Окислительно-ферментативные среды для определения типа дыхания бактерий

- 
- Выделение отдельных видов бактерий из исследуемого материала, содержащего, как правило, смесь различных микроорганизмов, является одним из этапов любого бактериологического исследования, проводимого с различными целями: диагностики заболеваний, определения микробной обсемененности окружающей среды и т.д.
 - Для выделения чистой культуры применяют методы, основанные на:
 - ❖ 1) механическом разобщении бактериальных клеток (см. метод Дригальского);
 - ❖ 2) предварительной обработке исследуемого материала с помощью физических или химических факторов, оказывающих избирательное антибактериальное действие;
 - ❖ 3) избирательном подавлении размножения сопутствующей микрофлоры физическими или химическими факторами во время инкубации посевов;
 - ❖ 4) способности некоторых бактерий быстро размножаться в организме чувствительных к ним лабораторных животных (биопробы)



Определение числа бактерий

- *Общее число клеток* определяется а) путем подсчета клеток под микроскопом в окрашенном мазке б) по бактериальному стандарту (набор эталонов для определения концентрации бактериальных клеток в микробной взвеси по ее мутности; представляет собой запаянные пробирки, содержащие водную взвесь мелких частиц стекла пирекс).
- *Число живых клеток* определяется по числу колоний, образуемых жизнеспособными клетками