

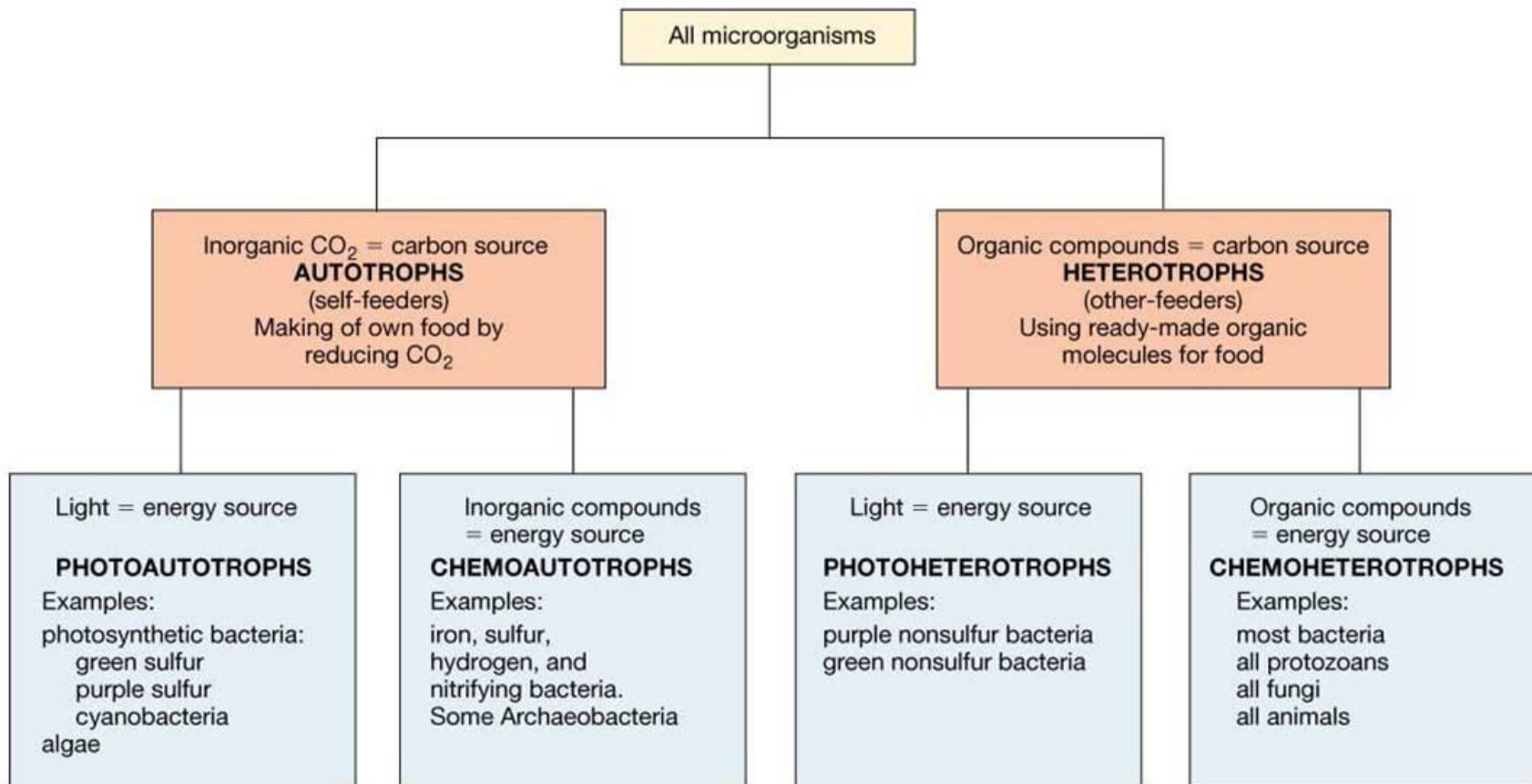
**Тема:** Питание микроорганизмов.

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 <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NH <sub>3</sub> , Fe <sup>2+</sup> и др.)	молекулярный кислород	CO <sub>2</sub>	хемолитоаэроавтотрофия	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии
			органические соединения	хемолитоаэрогетеротрофия	некоторые водородные и железобактерии
		CO <sub>2</sub> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>2</sub>	хемолитоанаэроавтотрофия	метанобразующие бактерии
			органические соединения	хемолитоанаэрогетеротрофия	сульфатвосстанавливающие бактерии
	органические соединения	молекулярный кислород	CO <sub>2</sub>	хемоорганонаэроавтотрофия	окисление муравьиной кислоты бактериями
			органические соединения	хемоорганонаэрогетеротрофия	большинство бактерий*
		органические соединения	CO <sub>2</sub>	хемоорганонаэроавтотрофия	метанобразующие бактерии
			органические соединения	хемоорганонаэрогетеротрофия	молочнокислые, маслянокислые и другие бактерии, осуществляющие брожение
Свет	неорганические соединения (H <sub>2</sub> O, H <sub>2</sub> S, S и др.)	—	CO <sub>2</sub>	фотолитоавтотрофия	цианобактерии, большинство пурпурных и зеленых серобактерий, некоторые несерные пурпурные бактерии**
			органические соединения	фотолитогетеротрофия	некоторые цианобактерии, большинство пурпурных и зеленых серобактерий
	органические соединения	—	CO <sub>2</sub>	фотоорганонавтотрофия	некоторые пурпурные бактерии
			органические соединения	фотоорганогетеротрофия	все несерные пурпурные бактерии, некоторые пурпурные и зеленые серобактерии, галобактерии

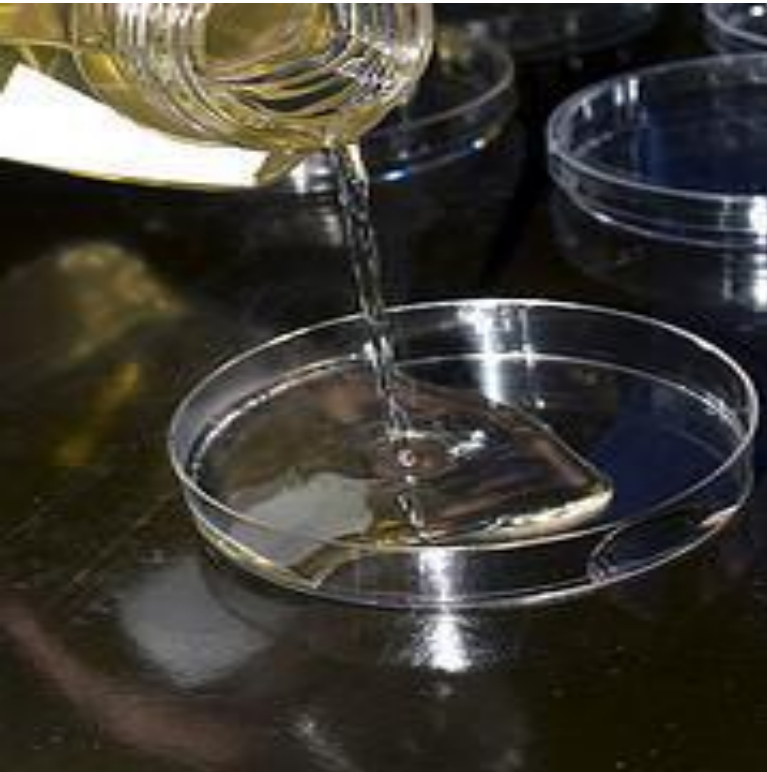
\* Все животные, грибы.

# 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)

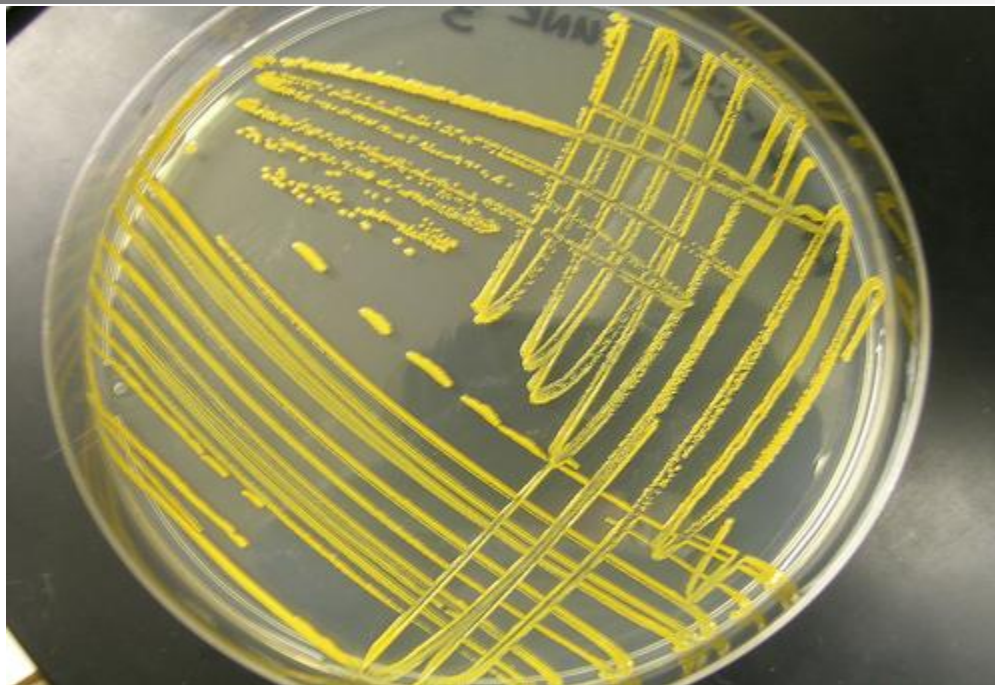
# Элективныe (избирательные) питательные среды

- Обеспечивают преимущественный рост определенной группы бактерий



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

## Элективные (избирательные) питательные среды (продолжение)

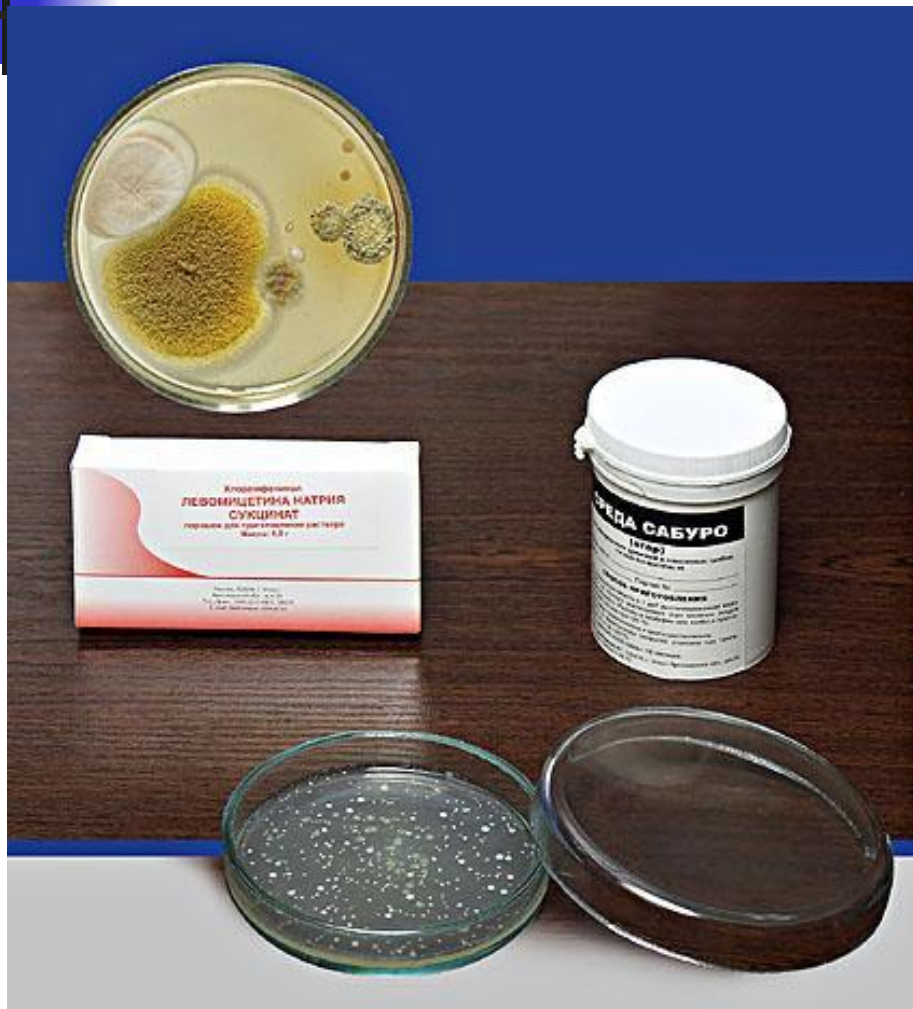


- *Щелочной агар*  
для холерного  
вибриона

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



# Элективныe (избирательные) питательные среды (продолжение)



*Агар Сабуро*  
для обнаружения  
дрожжей и  
плесневых грибов

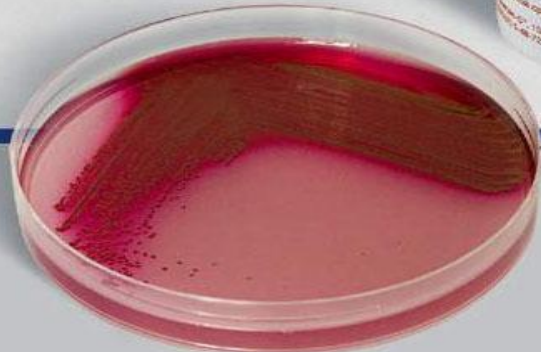
# Дифференциально-диагностические среды



---

- 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 ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ),
- ❖ 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

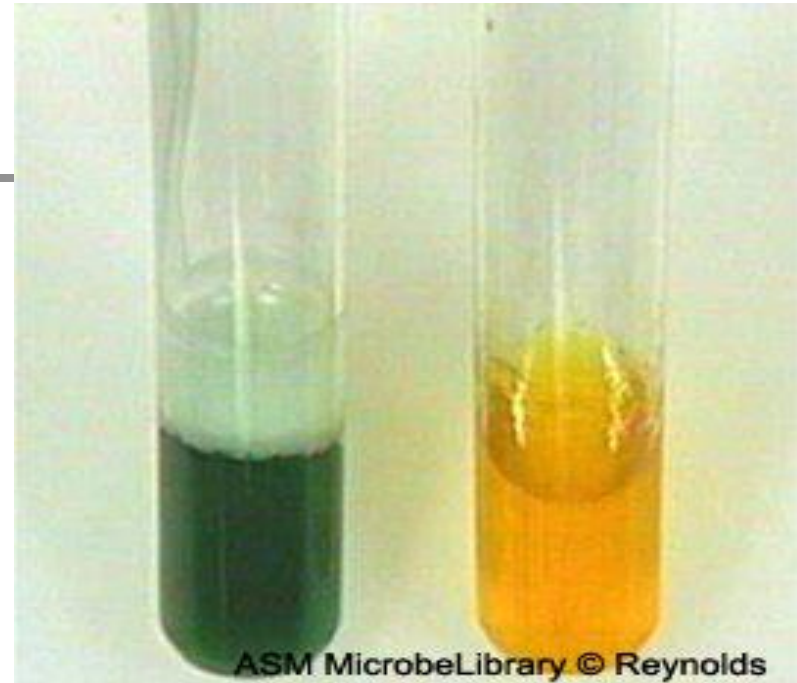


ASM MicrobeLibrary.org©Chamberlain

# 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