

28.09.23.

25 група

Основи мікробіології.

Тема: Типи поживних середовищ

Відомо дуже багато поживних середовищ для культивування мікроорганізмів (більше двох тисяч найменувань було класифіковано Левином і Шенлейна ще в 1930 р.), але число інгредієнтів, які є їх невід'ємними компонентами, відносно невелика. Проте якісний діапазон цих середовищ вельми широкий - від розчинів неорганічних солей, на яких можуть рости автотрофи, до складних поживних середовищ, що готується із м'ясних гідролізатів, збагачених кров'ю або сироваткою; ними звичайно користуються для виділення патогенних мікроорганізмів типу стрептококів, що відрізняються високою вимогливістю до складу живильної середовища. Розрізняють два основні типи поживних середовищ: так звані синтетичні середовища, головні складові частини яких точно відомі (наприклад, глюкозо-сольова живильна середовища), і емпірично підібрані живильні середовища природного походження, склад яких точно невідомий (до них відносяться пептони, що готуються з частково гідролізованого білка).

Вибір живильного середовища залежить значною мірою від мети експерименту. Герберт наполегливо висловлювався за повсюдне використання синтетичних поживних середовищ. Проте слід визнати, що вони мають ряд практичних незручностей. Мікроорганізми, вирощені на таких живильних середовищах, звичайно фенотипно відрізняються від вирощених на поживних середовищах природного походження типу бульйону (наприклад, за складом і за швидкістю поділу). Розмноження мікроорганізмів на таких середовищах зазвичай легше пригнічується надлишковою аерацією або токсичними катіонами; вони також більш чутливі до порушень балансу між деякими складовими частинами живильного середовища, особливо амінокислотами. Багато бактерій мають потребу у великій числі факторів зростання, і для деяких з них до цих пір не знайдені штучні середовища, на яких вони могли б розмножуватися. Можливо, що всі ці незручності з часом будуть подолані, але поки середовища невідомого складу типу бульйонів, приготованих з перевар, використовуються досить широко, хоча вони і вносять в експеримент неконтрольовані фактори.

До складу середовищ, що застосовуються для вирощування бактерій, входять необхідні для побудови білків цитоплазми елементи: азот, вуглець, водень, кисень, неорганічні сполуки, що містять фосфор, калій, сірку, натрій, магній, залізо, мікроелементи: кобальт, йод, марганець, бор, цинк, молібден, мідь та ін. Всі перераховані елементи повинні знаходитися в живильному середовищі в удобоусвояемому для даного мікроорганізму з'єднанні, причому вимоги різних мікробів в цьому відношенні неоднакові. Потреба в кисні і водні бактерії задовольняють головним чином за рахунок надходить у клітину води.

За характером засвоєння азоту патогенні мікроорганізми діляться наступним чином: одні з них витягують азот з простих амонійних сполук, інші потребують амінокислот, треті розщеплюють високомолекулярні речовини - пептони, що представляють собою продукти неповного ферментативного перетравлення білків. Строго паразитичні види бактерій розмножуються тільки в присутності нативного, тобто незміненого, білка.

Джерелом вуглецю для патогенних бактерій є, головним чином, різні вуглеводи: цукор, багатоатомні спирти, органічні кислоти і їх солі. Потреба бактерій в неорганічних елементах задовольняється додаємо до живильному середовищі солями: NaCl , KH_2PO_4 , K_2HPO_4 і т. д. Мікроелементи, що виконують роль каталізаторів хімічних процесів, необхідні в мізерно малих кількостях і надходять в живильне середовище з пептоном, неорганічними солями і водою.

Поряд з перерахованими органічними і неорганічними елементами бактерії потребують ростових факторах, які за своєю роллю відповідають вітамінам для тварин. Джерелом чинників зростання є додаються до живильному середовищі продукти рослинного і тваринного походження, що містять у своєму складі нікотинову, пантотенову, парабензойну кислоти, вітаміни А, В, С та ін

Живильні речовини можуть засвоюватися мікробами тільки при певній реакції живильного середовища, так як проникність оболонок мікробних клітин змінюється в залежності від рН

середовища. Потреба в поживних речовинах і фізичних умовах у різних видів мікробів неоднакова і цим виключається можливість створення універсальної живильного середовища.

За консистенцією розрізняють щільні й рідкі поживні середовища. Щільні живильні середовища готують з рідких допомогою додавання до них клейових речовин - агару або желатину. Агар-агар (по малайски - желе) - продукт рослинного походження, що видобувається з морських водоростей. У воді агар-агар розчиняється при температурі 80-86 ° С, замерзаючи при 36-40 ° С. Застосування агарових середовищ завдяки їх здатності зберігати щільність при температурі 37 ° С дало можливість вирощувати патогенні мікроби при оптимальній для більшості з них температурі на щільних середовищах. Желатин - речовина білкової природи тваринного походження. У теплій воді при температурі 32-34 ° С він набухає і розчиняється, а при більш низькій температурі перетворюється в холодець. Однак при рН нижче 6,3 і вище 7,0 щільність желатину зменшується, і він погано застигає.

Вихідні продукти для приготування поживних середовищ. Для приготування поживних середовищ використовують:

- Продукти тваринного походження (м'ясо, казеїн, молоко, яйця, кров і т. д.).
- Продукти рослинного походження (картопля та ін.)
- Органічні і неорганічні сполуки визначеного хімічного складу.

Живильні середовища, приготовані з продуктів рослинного і тваринного походження, незважаючи на те, що вони не можуть бути стандартні і не мають певного хімічного складу, знаходять широке застосування в практиці мікробіології. Синтетичні живильні середовища, складені з хімічних сполук, використовують переважно для вивчення обміну речовин мікробної клітини.

Вимоги, що пред'являються до живильних середовищ. Живильні середовища повинні:

- Утримувати необхідні для харчування мікроба поживні речовини.
- Мати реакцію рН, оптимальну для вирощуваного виду мікроба.
- Мати достатню вологість, так як мікроби харчуються за законами дифузії і осмосу.
- Володіти ізотонічність.
- Бути стерильними, забезпечуючи тим самим можливість вирощування чистих культур мікробів.

Живильні середовища поділяються на середовища загального призначення і спеціальні.

До першої групи відносяться м'ясо-пептонний: агар, бульйон, поживний желатин. Середовища загального призначення використовують для вирощування багатьох патогенних мікробів і застосовують як основу для приготування спеціальних середовищ, додаючи до них кров, цукор, молоко, сироватку і інші інгредієнти, необхідні для розмноження того чи іншого виду мікроба.

До спеціальних живильним середовищ відносяться елективні (виборчі) і диференційно-діагностичні.

Елективні (виборчі) середовища. Принцип створення елективних поживних середовищ заснований на задоволенні основних біохімічних і енергетичних потреб того виду мікроба, для культивування якого вони призначені. Певний склад і концентрація поживних мікроелементів, ростових факторів при строгому значенні рН забезпечують оптимальні умови для вирощування одного або декількох видів мікроорганізмів. При посіві на них матеріалу, що містить суміш різних мікроорганізмів, раніше всього буде проявлятися зростання того виду, для якого ця середовище буде елективним.

Диференційно-діагностичні живильні середовища.

Диференційно-діагностичні живильні середовища використовують для визначення видової приналежності досліджуваного мікроба, ґрунтуючись на особливостях його обміну речовин. За своїм призначенням диференційно-діагностичні живильні середовища поділяються таким чином:

- Середовища для виявлення протеолітичної і гемолітичної здатності мікробів, що містять у своєму складі білкові речовини: кров, молоко, желатин, згорнуту кров'яну сироватку і т. д.
- Середовища з індиферентними хімічними речовинами, які служать джерелом живлення для одних видів мікробів і не засвоюються іншими видами.
- Середовища з вуглеводами і багатоатомними спиртами для виявлення відповідних ферментів.
- Середовища для визначення редукуючої здатності мікробів.

До складу диференційно-діагностичних середовищ, призначених для виявлення сахаролітичних і окислювально-відновних ферментів, вводять індикатори: нейтральний червоний, метиленовий синій, лакмусовий настій, кислий фуксин, бромтимоловий синій, водний блакитний барвник і розоловую кислоту. Змінюючи своє забарвлення при різних значеннях рН, індикатор вказує на наявність або відсутність розщеплення, окислення або відновлення введеного в середу інгредієнта. Однак індикатор не є обов'язковою складовою частиною середовищ, призначених для виявлення ферментів. Так, наявність желатинази та інших протеолітичних ферментів в культурі визначають по розрідженню желатину, згорнутого яєчного або сироваткового білка.

Сухі поживні середовища.

Приготування поживних середовищ - один з найбільш відповідальних і важких ділянок роботи бактеріологічної лабораторії. У зв'язку з цим біопромишленності випускає стандартні, консервовані, сухі поживні середовища, різного призначення, для культивування мікроорганізмів.