

1.10.24

25 група

Методи мікробіологічних досліджень

.Чисті культури мікроорганізмів. Методи виділення чистих культур аеробних бактерій та принципи їх ідентифікації.

Чистої культурою називається популяція бактерій одного виду або одного різновиду, вирощена на живильному середовищі. Багато видів бактерій підрозділяють за однією ознакою на біологічні варіанти - біовари. Біовари, що розрізняються за біохімічними властивостями, називають хемоварамі, за антигенними властивостями - сероварами, по чутливості до фагу - фаговаров. Культури мікроорганізмів одного і того ж виду, або биовара, виділені з різних джерел або в різний час з одного і того ж джерела, називають штамми, які зазвичай позначаються номерами або будь-якими символами. Чисті культури бактерій в діагностичних бактеріологічних лабораторіях отримують з ізольованих колоній, пересіваючи їх петлею в пробірки з твердими або, рідше, рідкими живильними середовищами.

Колонія являє собою видиме ізольоване скупчення особин одного виду мікроорганізмів, що утворюється в результаті розмноження однієї бактеріальної клітини на щільному живильному середовищі (на поверхні або в глибині її). Колонії бактерій різних видів відрізняються один від одного по своїй морфології, кольором та іншими ознаками.

Чисту культуру бактерій отримують для проведення діагностичних досліджень - ідентифікації, яка досягається шляхом визначення морфологічних, культуральних, біохімічних та інших ознак мікроорганізму.

Морфологічні та тинкторіальні ознаки бактерій вивчають при мікроскопічному дослідженні мазків, забарвлених різними методами, і нативних препаратів.

Культуральні властивості характеризуються поживними потребами, умовами і типом росту бактерій на щільних і рідких поживних середовищах. Вони встановлюються по морфології колоній і особливостям зростання культури.

Біохімічні ознаки бактерій визначаються набором конститутивних і індукцибельних ферментів, властивих певного роду, виду, варіанту. В бактеріологічній практиці таксономическое значення мають найчастіше сахаролитические і протеолітичні ферменти бактерій, які визначають на диференційно-діагностичних середовищах.

При ідентифікації бактерій до роду та виду звертають увагу на пігменти, що забарвлюють колонії і культуральне середовище в різноманітні кольори. Наприклад, червоний пігмент утворюють *Serratia marcescens*, золотистий пігмент - *Staphylococcus aureus* (золотистий стафілокок), синьо-зелений пігмент - *Pseudomonas aeruginosa*.

Для встановлення биовара (хемовара, серовар, фаготип) проводять додаткові дослідження по виявленні відповідного маркера - визначення ферменту, антигену, чутливості до Фанам.

Методи виділення чистих культур бактерій.

Універсальним інструментом для виробництва посівів є бактеріальна петля. Крім неї, для посіву уколом застосовують спеціальну бактеріальну голку, а для посівів на чашках Петрі - металеві або скляні шпателі. Для посівів рідких матеріалів поряд з петлею використовують пастерівські і градуйовані піпетки. Перші попередньо виготовляють з стерильних легкоплавких скляних трубочок, які витягають на полум'я у вигляді капілярів. Кінець капіляра відразу ж запаюють для збереження стерильності. У пастерівських і градувальних піпеток широкий кінець закривають ватою, після чого їх поміщають в спеціальні пенали або обгортають папером і стерилізують.

При пересеве бактеріальної культури беруть пробірку в ліву руку, а правою, обхопивши ватяну пробку IV і V пальцями, виймають її, проносячи над полум'ям пальника. Утримуючи іншими пальцями тієї ж руки петлю, набирають нею посівний матеріал, після чого закривають пробірку пробкою. Потім в пробірку зі скошеним агаром вносять петлю з посівним матеріалом, опускаючи її до конденсату в нижній частині середовища, і зигзагоподібним рухом розподіляють матеріал по скошеній поверхні агару. Вийнявши петлю, обпалюють край пробірки і закривають її корком. Петлю стерилізують в полум'ї пальника і ставлять в штатив. Пробірки з посівами надг підписується, вказуючи дату посіву і характер посівного матеріалу (номер дослідження або назва культури).

+Посіви «газоном» виробляють шпателем на поживний агар в чашці Петрі. Для цього, відкривши лівою рукою кришку, петлею або піпеткою наносять посівний матеріал на поверхню поживного агару. Потім проводять шпатель через полум'я пальника, остуджують його про внутрішню сторону кришки і розтирають матеріал по всій поверхні середовища. Після інкубації посіву з'являється рівномірний суцільний ріст бактерій.

Д\3 Опрацювати тему.