

27.01.23.

05 група

Методи мікробіологічних досліджень.

Тема: Основні види поживних середовищ

I. Рідкі м'ясні поживні середовища.

Найбільш розповсюдженими простими поживними середовищами є м'ясна вода, м'ясопептонний бульйон (МПБ), пептонна вода.

а) М'ясна вода є основою для приготування МПБ, МПА, МПЖ. Її готують так: м'ясо відокремлюють від кісток, зв'язок і жиру, подрібнюють у фарш, заливають подвійною кількістю води, варять протягом 1-1,5 годин або настоюють у холоді протягом однієї доби. Потім фільтрують крізь паперовий фільтр, розливають по колбах або пробірках, стерилізують протягом 15-20хв при тиску 0,1 мПа.

б) Пептонна вода: до 1мл водопровідної води додають 10г (1%) пептону і 5г (0,5%) хімічно чистої кухонної солі (NaCl). Встановлюють рН (7,4-7,5), додаючи 10 % NaOH, кип'ятять, фільтрують, розливають по колбах або пробірках і стерилізують аналогічно м'ясній воді .

в) М'ясо-пептонний бульйон (МПБ): до м'ясної води додають 1% пептону і 0,5 % NaCl, встановлюють РН (7,4-7,5), кип'ятять, фільтрують, розливають і стерилізують.

II. Густі м'ясні поживні середовища – м'ясопептонний агар (МПА).

Його готують з МПБ, додаючи 2-3% агару, стерилізують аналогічно.

Агар – пр.одукт переробки морських водорослей, він не має поживних властивостей, але при застиганні (біля 40-43 °С) утворює рослинний студень.

Спеціальні поживні середовища

I. Рідкі молочні поживні середовища (незбиране, збиране, гідролізоване молоко).

а) Гідролізоване молоко. Збиране молоко кип'ятять, охолоджують до температури 45°C, встановлюють рН 7,6-7,8, додають до 1 л молока 0,5-1 г порошку панкреатину, (попередньо його розводять водою) або 2-3 г підшлункової залози, яку ретельно подрібнюють. Додають до суміші 5 мл хлороформу. Колбу закривають, витримують при 40 °С 18-24 год. Потім фільтрують крізь паперовий фільтр, розводять в 2-3 рази водою, встановлюють РН 7,0-7,2 і стерилізують 15 хв при 121 °С.

II. Густі молочні середовища (агар з гідролізованим молоком, агар з гідролізованим молоком та крейдою, молочний агар).

а) Молочний агар. Готують внесенням 20-30 % гарячого стерильного збираного молока у стерильний розплавлений 2% водний розчин агару і ретельно перемішують. Застосовують для визначення протеолітичних (гнильних), і пептонізуючих бактерій (мікрококи, маммококи).

III. Середовище для визначення дріжджів та плісняви (сусло-агар, Сабуро).

а) Середовище сусло-агар. До сусла додають 2-3% агару, плавлять агар протягом 10 хв при тиску 0,1 мПа, фільтрують крізь ватний фільтр, розливають по колбах або пробірках стерилізують протягом 15 хв при тиску 0,1мПа .

б) Середовище Сабуро. До складу входить мальтоза або глюкоза (4г), пептон (1г), агар (2г), вода (100 мл). Стерилізують при температурі 115 °С протягом 15 хв.

IV. Середовище для визначення кишкових паличок .

а) Глюкозо-пептонне середовище – буває нормальне або концентроване. *Концентроване*: 100 г пептону, 50 г NaCl, 50 г глюкози, 1л води.

Після розчинення компонентів додають індикатор (20 мл 1,6% спиртового розчин бромтимолового синього або 100 мл індикатора Андреде), встановлюють РН 7,4-7,6, розливають по 10 мл у пробірки з поплавками або шматочками вати, стерилізують при 112 °С і тиску 0,5 мПа.

Нормальне: усі компоненти беруть в 10 раз менше або концентроване розбавляють 10 раз водою, а потім стерилізують.

б) Рідке середовище Кеслер: до 1 л води додають 10 г пептону, 50 мл жовчі (бичої або інших свійських тварин), кип'ятять суміш протягом 20-30 хв. у водяній бані, фільтрують крізь вату. У отриманому фільтраті розчиняють 2,5 г глюкози, доводять об'єм суміші водою до 1 л, встановлюють рН 7,4-7,6, після чого додають 2 мл 1% водного розчину кристалічного фіолетового, розливають по пробірках по 5 мл або колби з поплавком і стерилізують протягом 10 хв при 121 °С. Готове середовище має фіолетовий колір. Жовч і кристалічний фіолетовий є інгібіторами молочнокислих бактерій, пригнічують їх розвиток, полегшуючі виявлення кишкових паличок.

в) Тверде середовище Кеслер. До рідкого середовища Кеслер додають 0,8% агару, встановлюють по фенолфталеїну рН 7,6, розливають по 7-8 мл у пробірки , стерилізують при температурі 112 °С протягом 15 хв.

V. Диференційовно-діагностичні середовища.

Середовища для ідентифікації бактерій групи кишкових паличок:

+*Ендо*: до 100 мл розплавленого 3%МПА (рН 7,6-7,3) дотримуючись асептики додають 1 г лактози (яку попередньо розчиняють у 5 мл стерильної води). У окрему пробірку наливають 0,5мл відфільтрованого10% спиртового розчину основного: фуксину, до якого додають свіжоприготовлений 10% водний розчин серністокислового натрію ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) до отримання блідо-рожевого забарвлення. Отриману, таким чином, суміш додають у розплавлений лактозний агар і розливають у чашки Петрі. Середовище Ендо випускають у вигляді сухого порошку (спосіб приготування на етикетці) на середовище Ендо БГКП, що зброджує лактозу (непатогенні) утворюють колонії від темно-червоного до рожевого кольору, а патогенні (що не зброджують лактозу) безбарвні колонії.