

29.09.23.

25 група

Основи мікробіології.

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 – продукт 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, 1 л 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 відфільтрованого 10% 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.

Д\З Опрацювати тему, зробити конспект.