

Презентация на тему:  
«Культивирование бактерий. Изучение  
культуральных свойств.»



2015г. Ростов-на-Дону

# Содержание



1. Химический состав бактериальной клетки.
2. Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий.
3. Питательные среды, их назначение, применение, классификация. Условия культивирования бактерий. Термостат, правила эксплуатации.
4. Выделение чистой культуры бактерий. Культуральные и биохимические свойства бактерий, их значение для дифференциации бактерий.
5. Особенности культивирования риккетсий и хламидий. Культивирование анаэробов.
6. Список использованной литературы.

# Химический состав бактериальной клетки.



В состав бактерий входят белки, жиры, НК, углеводы, липиды, минеральные вещества.

- Вода составляет 80% массы клетки.
- Белки – 40-80% сухой массы бактерий (участвуют в процессах метаболизма, обладают ферментативной активностью).

Белки обладают антигенными и иммуногенными свойствами, вирулентностью и видовой принадлежностью.

- НК (нуклеиновые кислоты) – 10-30% сухой массы.

ДНК определяет наследственность.

РНК – информационная, матричная, транспортная, рибосомальная.

# Химический состав бактериальной клетки.




- Углеводы – моно- и дисахариды составляют 12-18% сухой массы.

Крахмал и гликоген являются запасными питательными веществами.

- Липиды входят в состав цитоплазматической мембраны и её производных. В цитоплазме откладываются на запас. Липиды представлены фосфолипидами, жирными кислотами и глицерином.

- Минеральные вещества – 2-14% сухой массы. Фосфор, калий, натрий, сера, железо, кальций, магний, а также микроэлементы – цинк, медь, кобальт, барий, марганец.

# Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий.



- Ферменты – биологические катализаторы. Они катализируют тысячи химических реакций, из которых складывается метаболизм микроорганизма.

Ферменты представляют собой белки с молекулярной массой от 10000 до нескольких миллионов. Ферменты синтезируются самой микробной клеткой и имеют сложное строение.

# Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий.

Таблица 4.5. Международная классификация ферментов

№	Класс	Тип катализируемой реакции
1	Оксидоредуктазы	Перенос электронов и протонов
2	Трансферазы	Перенос групп атомов, отличных от атомов водорода
3	Гидролазы	Гидролиз различных связей (с участием молекулы воды)
4	Лиазы	Образование двойных связей за счет удаления групп или добавление групп за счет разрыва двойных связей
5	Изомеразы	Внутримолекулярный перенос групп с образованием изомерных форм
6	Лигаза (синтетаза)	Соединение двух молекул и образование связей C—C, C—O, C—S и C—N, сопряженных с разрывом пирофосфатной связи АТФ

# Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий.

---

## По способу питания:

1. Аутотрофы – бактерии, использующие для построения своих клеток углекислый газ.
2. Гетеротрофы – питаются готовыми органическими соединениями.
3. Сапрофиты – гетеротрофы, утилизирующие органические остатки отмерших организмов.
4. Паразиты – бактерии, существующие за счет органических веществ живых клеток и тканей, вызывающие заболевания у человека или животных.
5. Фототрофы - фотосинтезирующие бактерии.
6. Хемотрофы – бактерии, синтезирующие химическую энергию.

# Дыхание бактерий.



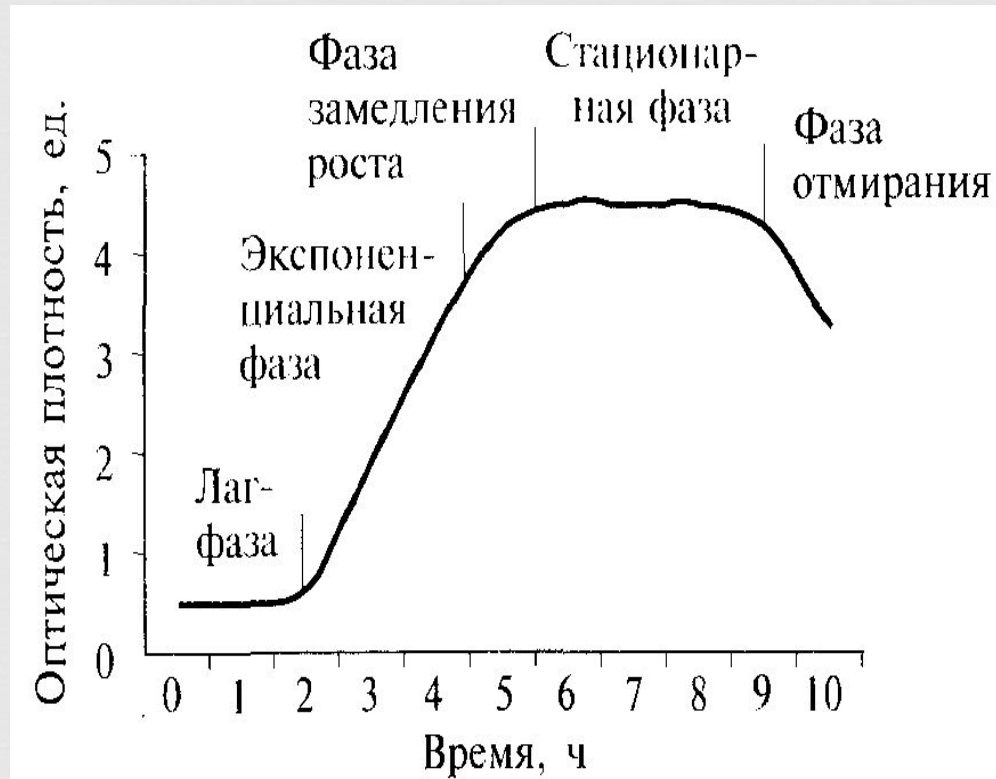
- По типу дыхания бактерии делят:
  - **1. облигатные (строгие) аэробы** развиваются при наличии 20% кислорода в атмосфере.
  - **2. микроаэрофилы**- бактерии, нуждающиеся в меньшем количестве кислорода (бруцеллы, лептоспиры). Большое количество кислорода будет задерживать их рост.
  - **3. облигатные анаэробы** – бактерии (кlostридии столбняка, ботулизма, бациллы газовой гангрены), растущие только в бескислородной среде.
  - **4. факультативные анаэробы** - бактерии, способные расти как в присутствии, так и в отсутствии кислорода (большинство патогенных и сапрофитных бактерий - возбудители брюшного тифа, кишечная палочка).



# Рост и размножение.

- Рост – формирование структурно-функциональных компонентов клетки и увеличение самой бактериальной клетки.
- Размножение – самовоспроизведение, приводящее к увеличению количества бактериальных клеток и популяции.

Бактерии размножаются бинарным делением пополам, реже – почкованием.



# Питательные среды, их назначение, применение, классификация. Условия культивирования бактерий. Термостат, правила эксплуатации.

---

□ Различают среды:

- 1) по консистенции – жидкие, полужидкие и плотные.
- 2) по составу – простые, сложные.
- 3) по источнику – естественные и синтетические (искусственные).
- 4) по назначению – основные, универсальные, специальные, селективные, транспортные, дифференциально-диагностические, обогащенные, индикаторные.

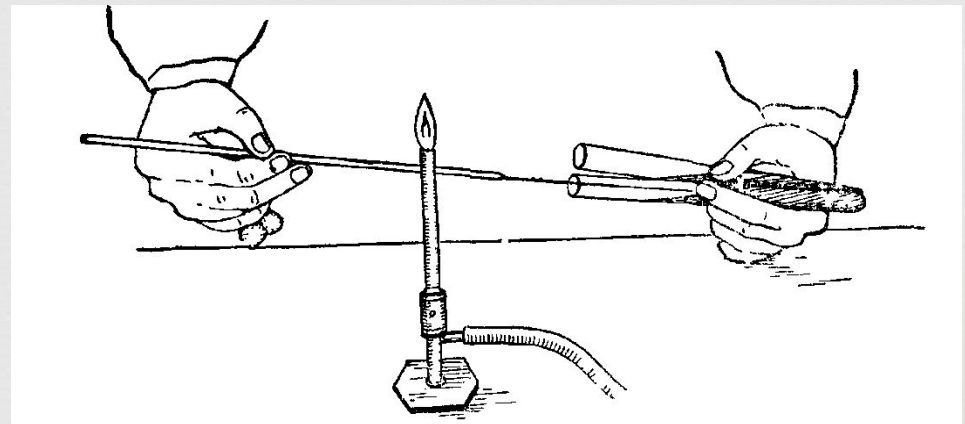
# Выделение чистой культуры бактерий. Культуральные и биохимические свойства бактерий, их значение для дифференциации бактерий.

## Способы посева микроорганизмов

### Посев из пробирки в пробирку:

Обе пробирки держат в левой руке слегка наклонно, причем пробирку с посевным материалом держат ближе к себе. В правой руке, как писчее перо держат бактериальную петлю и прокалывают ее вертикально в пламени горелки. Мизинцем и краем ладони правой руки вынимают одновременно пробки из обеих пробирок - края пробирок обжигают в пламени горелки. Прокаленной петлей набирают немного посевного материала и вносят в пробирку с жидкой средой. Необходимо следить за тем, чтобы среда не вылилась и не касалась пробки. После посева петлю извлекают из

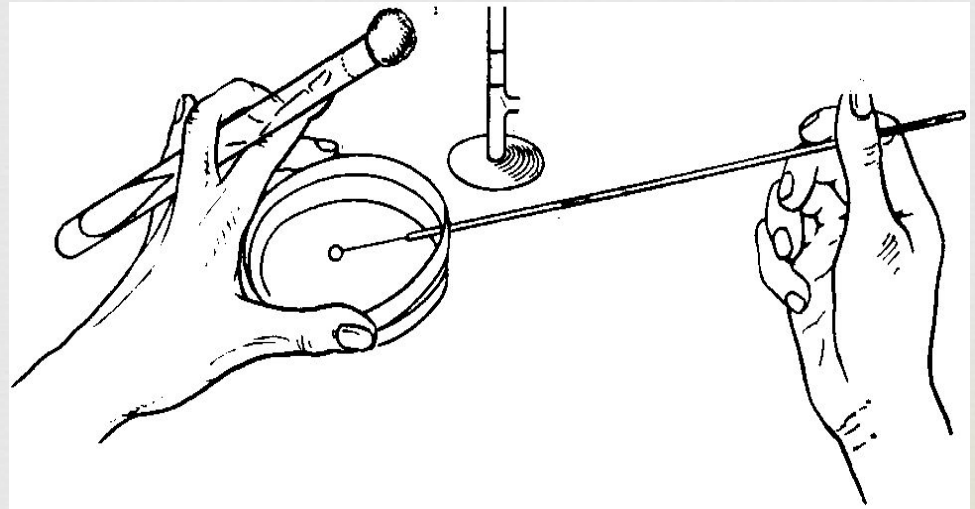
пробирки, края пробирки обжигают и, проведя пробку через пламя горелки, закрывают пробирку, после чего прокалывают петлю. Посев жидкого материала можно производить стерильными пастеровскими или градуированными пипетками. Пробирки с засеянной культурой этикируют и помещают в термостат



# Способы посева микроорганизмов.

## Посев в чашку Петри шпателем

Левой рукой приоткрывают крышку. Материал набирают петлей или в пипетку, наносят на поверхность МПА и втирают шпателем по всей поверхности агара. При посеве материала, обильно обсемененного микрофлорой, используют 2-3 чашки для последовательного посева.



# Способы посева микроорганизмов.

## Посев в пробирку петлей

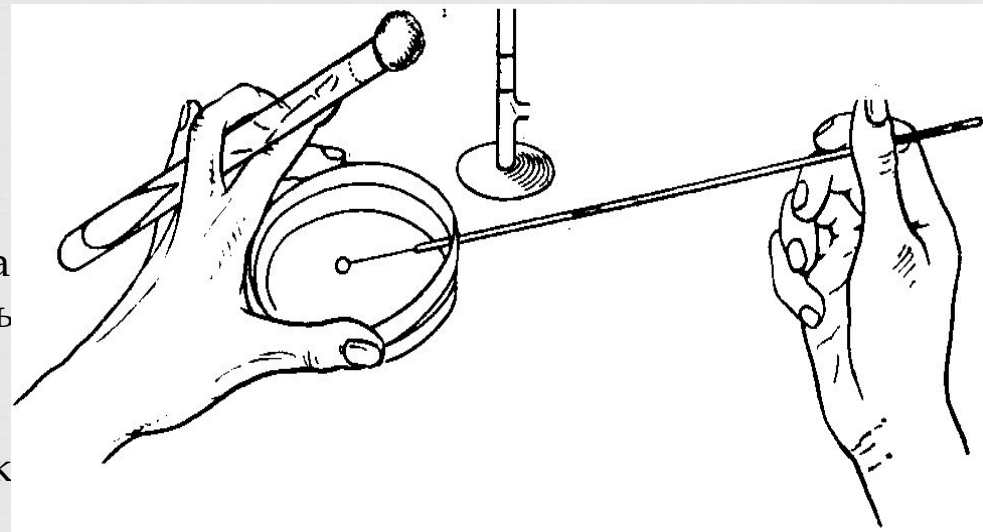
Полученные изолированные колонии служат для выделения чистой культуры микроба.

Осторожно приподняв крышку чашки, захватывают прокаленной и остуженной петлей одну отдельно расположенную колонию и вносят в пробирку с плотной питательной средой. Пробирку держат в наклонном положении в левой руке между большим и указательным пальцами. Правой рукой держат петлю с посевным материалом. Мизинцем, мякотью ладонью правой руки вынимают пробку из пробирки, обжигают в пламени горелки ее край и вносят в нее петлю, посев производят:

а) штрихами на поверхности агара;

б) уколом в столбик агара.

При посевах и пересевах внимание работающего должно быть обращено на соблюдение правил стерильности: чтобы с одной стороны не загрязнить свои посеы посторонней микрофлорой, а с другой — не явиться источником инфекции для окружающих.



# Методы культивирования.



- 1. Температура
- 2. Влажность
- 3. Аэрация – потребность микробов в свободном кислороде.
- 4. Пассивная аэрация – культивирование на плотных и жидких средах в сосудах, закрытых ватным тампоном, или в чашках Петри.
- 5. Активная аэрация (выращивают в больших объёмах.

Сроки культивирования – 18-24 часа, но есть виды, растущие медленно ( до 4-6 недель).

# Методы выделений чистых культур микроорганизмов.

**Чистой культурой называют скопление микробов одного вида на плотной или в жидкой питательной среде.**

Существует ряд методов выделения чистой культуры в зависимости от свойств изучаемого материала и цели исследования. Обычно чистые культуры получают из изолированных колоний - обособленных скоплений микробов на плотной среде.

## **Этапы выделения чистой культуры:**

1-й день - получение изолированных колоний. Каплю исследуемого материала петлей, пипеткой или стеклянной палочкой наносят на поверхность агара в чашке Петри. Шпателем втирают материал в поверхность среды; не прожигая и не перевертывая шпателя, производят посев на 2-й, а затем на 3-й чашке. При таком посеве на 1-ю чашку приходится много материала и соответственно много микробов, на 2-ю меньше и на 3-ю еще меньше.

2-й день - изучают рост микробов на чашках. В 1-й чашке обычно бывает сплошной рост - выделить изолированную колонию не удастся. На поверхности агара во 2-й и 3-й чашке вырастают изолированные колонии. Их изучают невооруженным глазом, с помощью лупы, при малом увеличении микроскопа и иногда в стереоскопическом микроскопе (см. главу 31). Нужную колонию отмечают со стороны дна чашки и пересевают на скошенный агар. Посевы ставят в термостат

# Методы выделений чистых культур микроорганизмов.

- 3-й день - изучают характер роста на скошенном агаре. Делают мазок, окрашивают его и, убедившись в том, что культура чистая, приступают к ее изучению. На этом выделение чистой культуры заканчивается. Выделенная из определенного источника и изученная культура, называется штаммом.
- При выделении чистой культуры из крови (гемокультуры) ее предварительно "подращивают" в жидкой среде: 10-15 мл стерильно взятой крови засевают в 100-150 мл жидкой среды. Так поступают потому, что в крови обычно мало микробов. Соотношение засеваемой крови и питательной среды 1:10 не случайно - так достигается разведение крови (неразведенная кровь губительно действует на микроорганизмы). Колбы с посевом ставят в термостат. Через сутки (иногда через большее время в зависимости от выделяемой культуры) из содержимого колб делают высевы на чашки для получения изолированных колоний. При необходимости повторяют высевы с интервалами 2-3 дня.
- В ряде методов для получения чистых культур используют биологические особенности выделяемого микроба. Например, при выделении спорообразующих бактерий посеvy прогревают при 80° С 10 мин, убивая этим вегетативные формы; при выделении возбудителя туберкулеза, устойчивого к кислотам и щелочам, с помощью этих веществ посевной материал освобождают от сопутствующей флоры; для выделения пневмококка и палочки чумы исследуемый материал вводят белым мышам - в их организме, высокочувствительном к данным возбудителям, эти микробы размножаются быстрее других.
- В научно-исследовательской работе, особенно при генетических исследованиях, необходимо получать культуры заведомо из одной клетки. Такая культура называется клон. Для ее получения чаще всего пользуются микроманипулятором - прибором, снабженным инструментами (иглами, пипетками) микроскопических размеров. С помощью держателя под контролем микроскопа их вводят в препарат "висячая капля", извлекают нужную клетку (одну) и переносят ее в питательную



# Ферментативная активность



- Ферментативная активность микроорганизмов богата и разнообразна. По ней можно установить не только видовую и типовую принадлежность микроба, но и определить его варианты (биовары).
- Протеолитические свойства (способность расщеплять белки, полипептиды) изучают на средах с желатином, молоком, сывороткой, пептоном. При росте на желатиновой среде микробов, ферментирующих желатин, среда разжижается.
- Гемолитические свойства (способность разрушать эритроциты) изучают на средах с кровью. Жидкие среды становятся прозрачными, а на плотных средах вокруг колонии появляется прозрачная зона.

# Сохранение культур.



- Высушивание проводят в специальных аппаратах. Хранят культуры при  $4^{\circ}\text{C}$ , лучше при  $-30 \dots +70^{\circ}\text{C}$ .
- Длительно сохранять культуры можно также в жидком азоте ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) в специальных приборах.

Методы непродолжительного сохранения:

- Субкультивирование;
- Сохранение по слою масла;
- Хранение при  $-20 \dots +70^{\circ}\text{C}$ ;
- Хранение в запаянных пробирках.

# Особенности культивирования риккетсий и хламидий. Культивирование анаэробов.

---

□ **Культивирование анаэробов** сложнее, чем аэробов, так как их необходимо лишить доступа свободного кислорода воздуха. Для этого удаляют воздух из питательной среды различными способами.

□ **Культивирование актиномицетов, грибов, микоплазм, L-форм, спирохет и простейших.**

Культивирование этих микроорганизмов принципиально сходно с культивированием бактерий. Для них разработаны специальные среды и подобраны режимы, соответствующие их потребностям.

□ **Культивирование риккетсий и вирусов.**

Риккетсии и вирусы являются облигатными паразитами, т. е. могут развиваться только в живых клетках. Их культивируют в культурах тканей, организме экспериментальных животных, развивающихся куриных эмбрионах.

# Список использованной литературы.

---

1. Основы микробиологии и иммунологии: Камышева К.С. 2015г. Ростов-на-Дону
2. <http://meduniver.com/Medical/Microbiology/68.html>
3. <http://bsmy.ru/3692>
4. <http://biologylib.ru/books/item/f00/s00/z0000015/st010.shtml>