

ГБПОУ СК Ставропольский базовый
медицинский колледж

Питательные среды

для студентов специальности

31.02.03 1курс 1 семестр

Преподаватель: Ховасова Н. И.

Ставрополь 2017 г.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ



ДИЗАЙН И ГРАФИКА
WWW.OLIK.RU

Питательные среды являются основой микробиологической работы, и их качество нередко определяет результаты всего исследования.



- Питательные среды предназначены для накопления, выделения, изучения и сохранения микроорганизмов.
- По своей сущности питательные среды являются искусственной средой обитания микробов

Требования к питательным средам:

- 1) быть **питательными**, т. е. содержать в легко усвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей микроорганизмов;
- 2) иметь **оптимальную** концентрацию водородных ионов — рН, так как только при оптимальной реакции среды, влияющей на проницаемость оболочки, микроорганизмы могут усваивать питательные вещества. Для большинства патогенных бактерий оптимальна слабощелочная среда (рН 7,2—7,4);

Требования к питательным средам:

3) быть **изотоничными** для микробной клетки; т. е. осмотическое давление в среде должно быть таким же, как внутри клетки.

Для большинства микроорганизмов оптимальна среда, соответствующая 0,5% раствору натрия хлорида;

4) быть **стерильными**, так как посторонние микробы препятствуют росту изучаемого микроба, определению его свойств и изменяют свойства среды (состав, рН и др.);

Требования к питательным средам

- 5) плотные среды должны быть влажными и иметь оптимальную для микроорганизмов консистенцию;
 - 6) обладать определенным окислительно-восстановительным потенциалом;
 - 7) быть по возможности унифицированным, т. е. содержать постоянные количества отдельных ингредиентов;
- Желательно, чтобы среды были прозрачными — удобнее следить за ростом культур, легче заметить загрязнение среды посторонними микроорганизмами.

Классификация сред

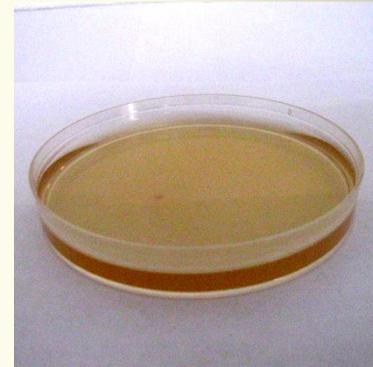
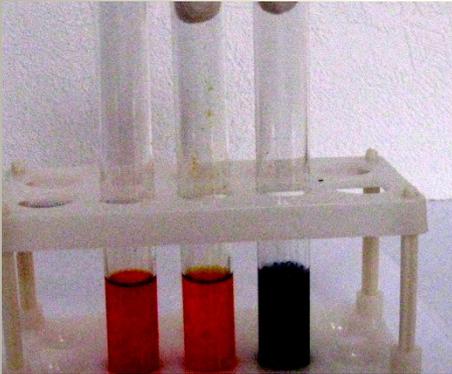
- В основу классификации которых положены следующие признаки.
 1. **Исходные компоненты.** По исходным компонентам различают натуральные и синтетические среды.
 2. **Консистенция (степень плотности).** Среды бывают жидкие, плотные и полужидкие

- **по консистенции**

Бульонные

Полужидкие

Плотные



Классификация сред

3. **Состав.** Среды делят на простые и сложные. К простым относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду. Сложные среды готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма.

Классификация сред

4. Назначение:

а) основные (общеупотребительные) среды служат для культивирования большинства патогенных микробов (МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода;)

б) специальные среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах.

- в) селективные (избирательные) среды служат для выделения определенного вида микробов. Жидкие селективные среды называют средами накопления.

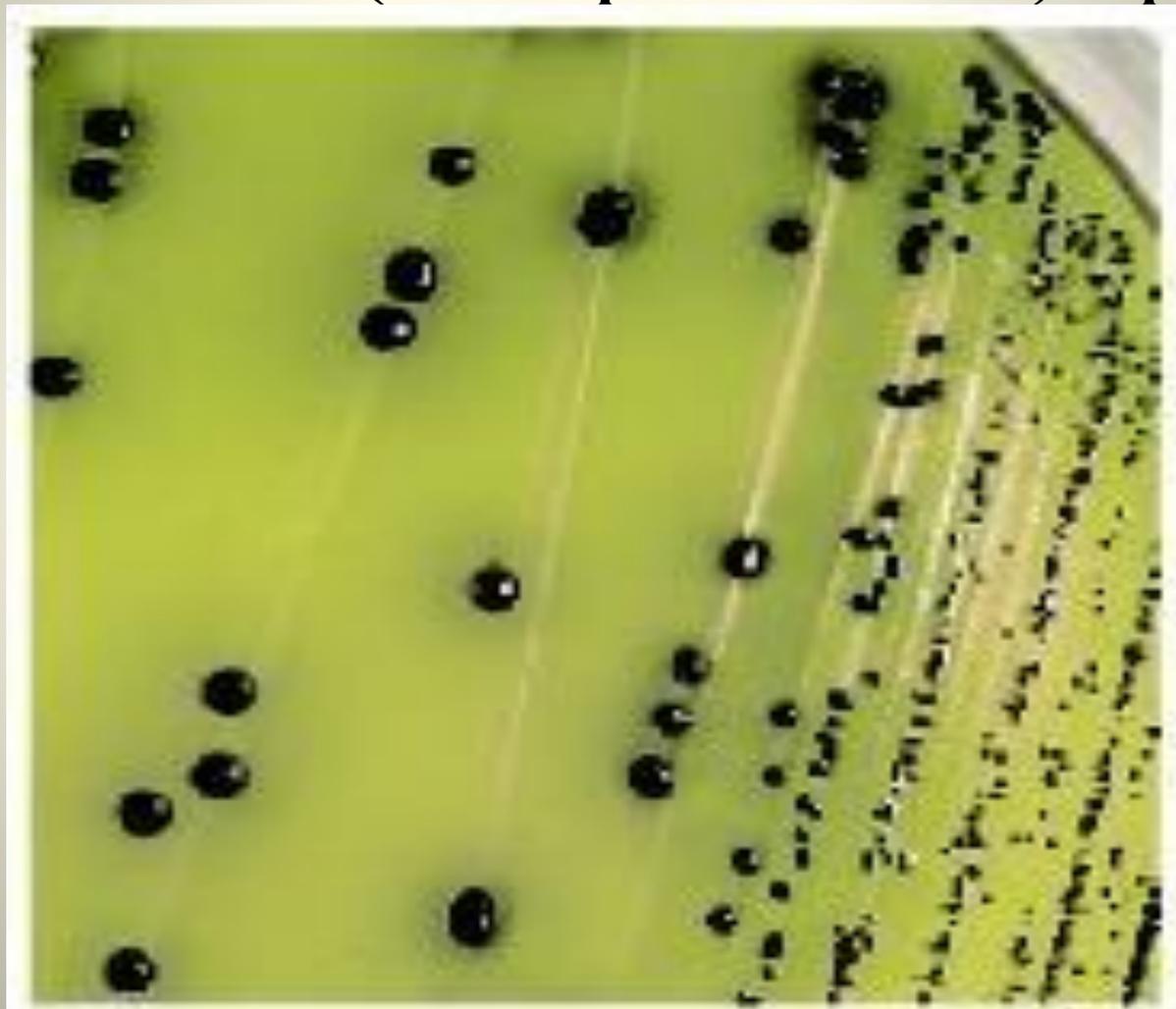
Селенитовый бульон



Классификация питательных сред по назначению



Висмут-сульфитный агар: элективная (избирательная) среда



Элективная (избирательная) среда Эндо для кишечной палочки



Классификация сред

г) дифференциально-диагностические среды позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности.

Определение сахаролитических свойств микробов

- Среды Гисса



**Среда Олькеницкого для дифференциации
энтеробактерий по способности сбразживать углеводы**



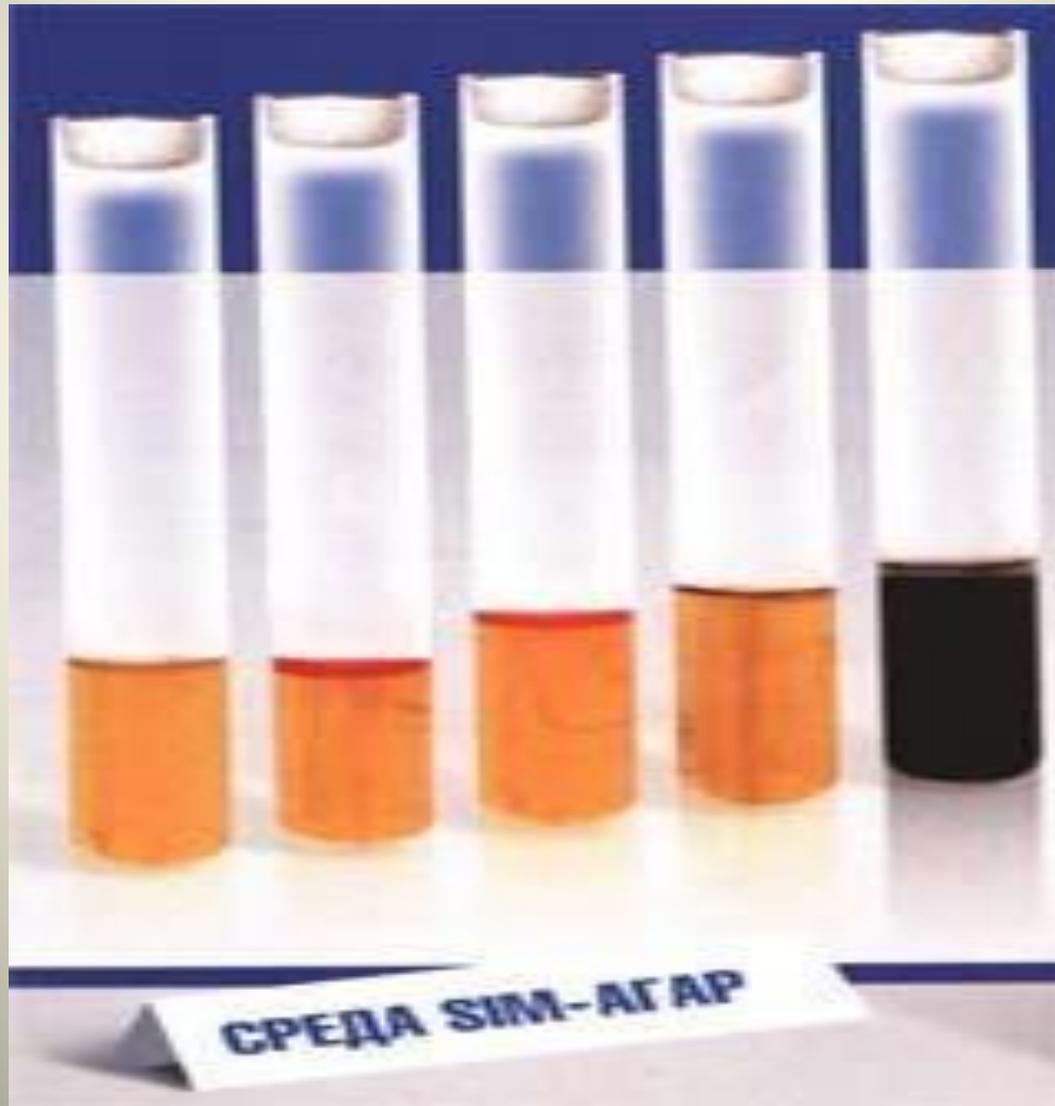
Определение протеолитических свойств микробов

- Способность МКО расщеплять белки – изучают на средах с желатином (разжижение среды), молоком, сывороткой, пептоном. В процессе ферментации образуются индол, сероводород, аммиак.

Сухая питательная среда для определения протеолитических свойств бактерий



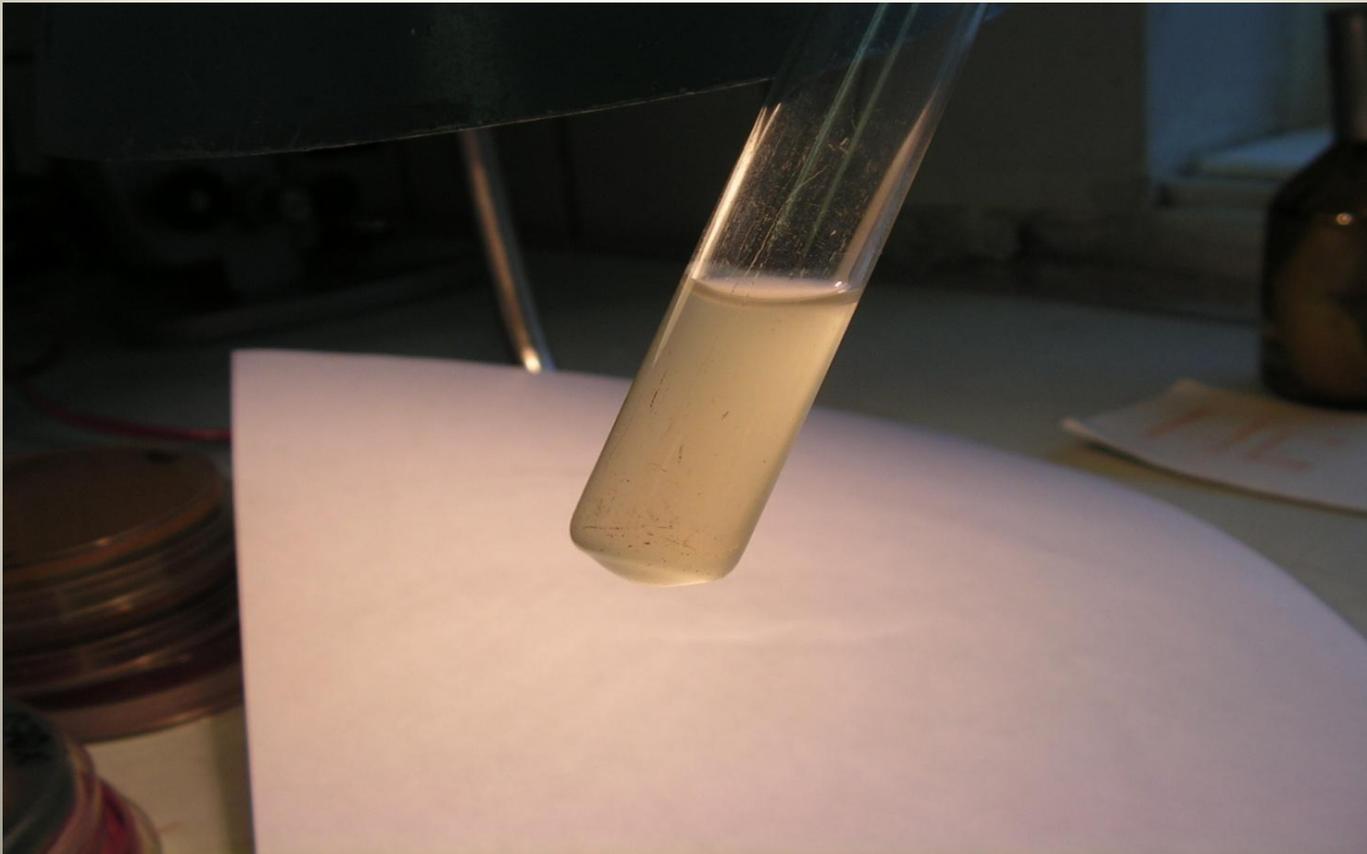
Сухая питательная среда типа SIM предназначена для идентификации энтеробактерий по способности образования индола и сероводорода



- д) консервирующие среды предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание патогенных микроорганизмов и подавляется развитие сапрофитов

Транспортные среды

Транспортная среда для холерного вибриона
– 1% пептонная вода с теллуридом калия



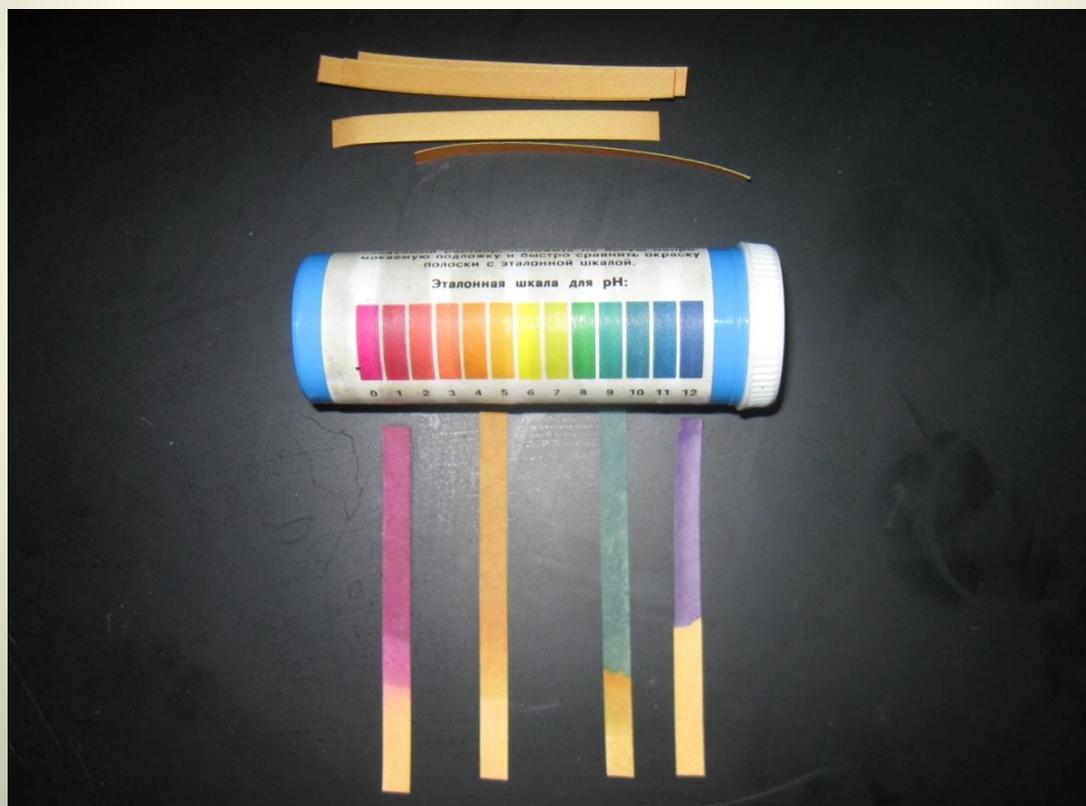
Этапы приготовления сред:

- Этапы приготовления сред:
 - 1) варка. Варят среды на открытом огне, водяной бане, в автоклаве или варочных котлах, подогреваемых паром.
 - 2) установление оптимальной величины рН.
- с помощью индикаторных бумажек
- потенциометром или .компаратором (аппарат Михаэлиса).
- При стерилизации рН сред снижается на 0,2, поэтому сначала устанавливают рН на 0,2 больше.

Индикаторные бумаги для определения рН



Ориентировочное определения рН с помощью индикаторных бумаг
Бумаги смочены слева направо: 20% раствором соляной кислоты, буферным раствором с рН 4,01, буферным раствором с рН 9,18, 20% раствором гидроокиси натрия



рН-метр с комбинированным электродом



Стандарт – титры для приготовления образцовых буферных растворов



Этапы приготовления сред:

3) осветление. Осветление сред производят, если при варке они мутнеют или темнеют. Для осветления в среду, подогретую до 50°C, вливают белок куриного яйца, взбитый с двойным количеством воды, перемешивают и кипятят. Свертываясь, белок увлекает в осадок взвешенные в среде частицы. Таким же способом можно вместо яичного белка использовать сыворотку крови (20—30 мл на 1 л среды).

Этапы приготовления сред:

4) фильтрация. Фильтрацию жидких и расплавленных желатиновых сред производят через фильтры из фильтровальной бумаги. Фильтрацию агаровых сред проводят через ватно-марлевый фильтр. Фильтрацию агаровых сред можно заменить отстаиванием

Этапы приготовления сред:

5) разлив. Разливают среды в чистую, сухую посуду. В пробирки по 5-10 мл, флаконы, колбы, матрацы и бутылки не более чем на $\frac{2}{3}$ емкости, в чашки Петри по 15-20мл (высота слоя 0,25-0,3см). Для разлива пользуются воронкой или бюреткой. При разливке во флаконы можно пользоваться мерными цилиндрами или стаканами.



ДИЗАЙН И ГРАФИКА
WWW.OLIK.RU

Этапы приготовления сред:

- 6) стерилизация (в автоклаве). Среды, которые стерилизуют при температуре выше 100°C , разливают в чистую сухую посуду. Среды, стерилизуемые при более низкой температуре, обязательно разливают в стерильную посуду. Посуду со средой обычно закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх которых надевают бумажные колпачки.
- 7) контроль

Стерилизация в автоклаве



Контроль сред:

- контроль стерильности
- химический контроль
- биологический контроль

- для контроля стерильности среды ставят в термостат на 2 суток, после чего просматривают. Если на средах не появятся признаки роста, их считают стерильными и передают для химического контроля по несколько образцов каждой серии;

- б) химический контроль: окончательно устанавливают рН, содержание общего и аминного азота, пептона. Химический контроль сред производят в химической лаборатории;

- в) для биологического контроля несколько образцов среды засевают специально подобранными культурами микроорганизмов, и по их росту судят о питательных (ростовых) свойствах среды

Биологические показатели

- чувствительность;
- дифференцирующие свойства;
- ингибирующие свойства (показатель ингибиции) ;
- эффективность (для бульонных сред) ;
- прорастания; (для агаровых сред) ;
- стабильность основных биологических свойств микроорганизмов;
- некоторые другие для специализированных сред (нейтрализующие свойства, чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам, жизнеспособность и сохранение основных биологических свойств микроорганизмов в транспортных средах).

НЕКОТОРЫЕ ПРИЧИНЫ ОТСУТСТВИЯ РОСТА МИКРООРГАНИЗМОВ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

- повышенное содержание жирных кислот присутствующих почти во всех материалах, используемых в микробиологии – в пептоне, агаре, казеине, вате и т.д. Для удаления жирных кислот в среду добавляют, какое либо вещество, связывающее жирные кислоты – 0,5% активированного угля или 0,15% растворимого крахмала, или 10% (объемных) сыворотки;
- присутствие перекисей, в зависимости, от концентрации которых в одних случаях может наблюдаться ингибирование только штаммов, не содержащих каталазу, тогда как в других не растут даже штаммы, продуцирующие ее. Ингибиторное действие можно частично снять добавив к питательной среде восстановители, сыворотку крови, активированный уголь;
- появление ингибиторных субстанций, образующихся в результате нагревания глюкозы при щелочной реакции среды в присутствии фосфатов или переход азотсодержащих соединений питательной среды в неусвояемую форму;
- несоответствие окислительно-восстановительного потенциала среды.

Физико-химические показатели

- ❖ внешний вид,
- ❖ растворимость (для сухих препаратов),
- ❖ прозрачность и цветность,
- ❖ рН,
- ❖ содержание аминного азота,
- ❖ содержание хлоридов,
- ❖ потеря в массе при высушивании (для сухих препаратов),
- ❖ сухой остаток (для сред готовых к применению),
- ❖ прочность студня, температура плавления, температура застудневания, продолжительность плавления студня среды (для агаровых сред).

The image shows several petri dishes containing bacterial cultures. The cultures exhibit various colors and patterns, including yellow, red, and orange. The text "Спасибо за внимание!" is overlaid in the center in a yellow, italicized font. The background is a dark, perforated surface.

Спасибо за внимание!