

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

СОДЕРЖАНИЕ:

- Химический состав бактериальной клетки;
- Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий;
- Питательные среды, их назначение, применение, классификация. Условия культивирования бактерий. Термостат, правила эксплуатации;
- Выделение чистой культуры бактерий. Культуральные и биохимические свойства бактерий, их значение для дифференциации бактерий;
- Способ посевов микроорганизмов;
- Методы культивирования;
- Методы выделения чистых культур микроорганизмов;
- Ферментативная активность;
- Особенности культивирования риккетсий и хламидий. Культивирование анаэробов.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ.

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

- ⦿ **Вода** составляет 80% сухой массы клетки;
- ⦿ **Белки** составляют 40-80% сухой массы бактерий. Участвуют в процессах метаболизма, обладают ферментативной активностью;
- ⦿ **Нуклеиновые кислоты** составляют 10-30% сухой массы. Участвуют в биосинтезе белка;
- ⦿ **Углеводы** составляют 12-18% сухой массы.
- ⦿ **Липиды** представлены фосфолипидами, жирными кислотами и глицерином;
- ⦿ **Минеральные вещества** составляют 2-14% сухой массы. Фосфор, калий, натрий, сера, железо, кальций, магний, а также микроэлементы- цинк, медь, кобальт, барий, марганец. Они участвуют в регуляции осмотического давления, окислительно-восстановительных реакциях, активируют ферменты и входят в состав витаминов.

ФЕРМЕНТЫ БАКТЕРИЙ. ПИТАНИЕ, ДЫХАНИЕ, РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ.

Ферменты- биологические катализаторы в настоящее время известно около двух тысяч ферментов.

Ферменты классифицируются на:

- **Оксидоредуктазы**- это ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. К ним относятся дегидрогеназы, цитохромы, ферменты, участвующие в переносе водорода, электронов и кислорода;
- **Трансферазы**- катализируют перенос отдельных радикалов, частей молекул или целых атомных группировок. К ним относятся аминотрансферазы, фосфорилазы;
- **Гидролазы**- катализируют реакции расщепления и синтеза сложных соединений таких как , белки, жиры и углеводы с участием воды(липазы, фосфатазы);
- **Лиазы** включают в себя ферменты, катализирующие отщепление от субстратов определенных химических групп с образование двойных связей или присоединение отдельных групп или радикалов к двойным связям;
- **Изомеразы** осуществляют превращение органических соединений в их изомеры(тризофосфатизомераза, глюкозофосфатизомера);
- **Лигаза**- катализируют синтез сложных органических соединений из простых(карбоксилазы).

По способу питания бактерии можно разделить на :

- **Аутоотрофы**- бактерии, использующие для построения своих клеток углекислый газ;
- **Гетеротрофы**- питающиеся готовыми органическими соединениями;
- **Сапрофиты**- гетеротрофы, утилизирующие органические остатки отмерших организмов;
- **Паразиты**- бактерии, существующие за счет органических веществ живых клеток и тканей, вызывающие заболевания человека или животных;
- **Фототрофы**- фотосинтезирующие бактерии;
- **Хемотрофы**- бактерии, синтезирующие химическую энергию.

По способу дыхания бактерии делят на:

- **Облигатные(строгие) аэробы** могут расти только при наличии кислорода;
- **Облигатные анаэробы** растут в среде без кислорода, который для них токсичен;
- **Факультативные анаэробы** могут расти как при наличии кислорода , так и без него, поскольку они способны переключаться с дыхания на брожение.

Рост- формирование структурно-функциональных компонентов клетки и увеличение самой бактериальной клетки.

Размножение- самовоспроизведение, приводящее к увеличению количества бактериальных клеток в популяции. Бактерии размножаются бинарным делением, реже- почкованием.

Фазы роста:

- Исходная стационарная фаза начинается после введения бактерий в питательную среду;
- Лаг-фаза характеризуется началом интенсивного роста клеток, но скорость их деления низкая;
- Лог- фаза характеризуется высокой скоростью размножения и увеличения их количества;
- Фаза отрицательного ускорения характеризуется меньшей активностью бактериальных клеток;
- Стационарная фаза характеризуется равновесие между количеством погибших, вновь образующихся и находящихся в состоянии покоя;
- Фаза гибели бактерий.



ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ, ИХ НАЗНАЧЕНИЕ, ПРИМЕНЕНИЕ, КЛАССИФИКАЦИЯ. УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ. ТЕРМОСТАТ, ПРАВИЛА ЭКСПЛУАТАЦИИ.

Микроорганизмы культивируют на искусственных питательных средах.

Различают среды:

- По консистенции- жидкие, полужидкие и плотные;
- По составу- простые, сложные;
- По источнику- естественные и синтетические;

Естественные готовят из продуктов животного и растительного происхождения.

Синтетические готовят из определенных органических и неорганических соединений.

- По назначению- основные, универсальные, специальные, элективные, дифференциально-диагностические, транспортные, обогащенные, индикаторные.



Термостат – прибор для поддержания постоянной температуры

Термостаты можно классифицировать по рабочему телу (теплоносителю):

- Воздушные;
- Жидкостные;
- Твердотельные.



Твердотельный термостат



Воздушный термостат



Жидкий термостат

ВЫДЕЛЕНИЕ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ. КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ, ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ БАКТЕРИЙ.

Чистая культура бактерий- это культура микроорганизмов, состоящая из клеток одного вида.

Чистую культуру можно получить из единичной клетки или отдельной колонии. Другим способом является изготовление серии препаратов «висячая капля» из сильно разведенной суспензии.



Фото К.Лавров lavrov.ko@gmail.com

Этапы выделения чистой культуры бактерий

I этап (нативный материал)
Посев на плотные питательные среды.

II этап (изолированные колонии)
Посев на скошенный питательный агар для выделения чистой культуры.

III этап (чистая культура)
Определение культуральных, морфологических, свойств для идентификации культуры бактерий



СПОСОБ ПОСЕВОВ МИКРООРГАНИЗМОВ.

Все методы имеют цель- оградить посев от посторонних микробов.

Работать следует быстро, без резких движений, во время посева нельзя разговаривать.

Методы посевов:

- **Посев из пробирки в пробирку.** В правой руке держат бактериальную петлю и стерилизуют ее над пламенем горелки. В левой руке держат пробирку с посевным материалом и пробирку со средой, держат слегка наклонно. Края пробирок обжигают над пламенем горелок. Прокаленную петлю вводят через пламя горелки в пробирку с посевным материалом, охлаждают и, набрав немного материала, переносят в пробирку со средой.
- **Посев на пробирки с чашки Петри.** Чашку с посевным материалом ставят перед собой крышкой вверх.левой рукой прикрывают крышку и вводят под нее обожженную петлю. Остудив петлю, набирают посевной материал с отмеченного участка. Вынимают петлю, закрывают чашку и в левую руку берут пробирку со средой. После посева чашку переворачивают вверх дном.

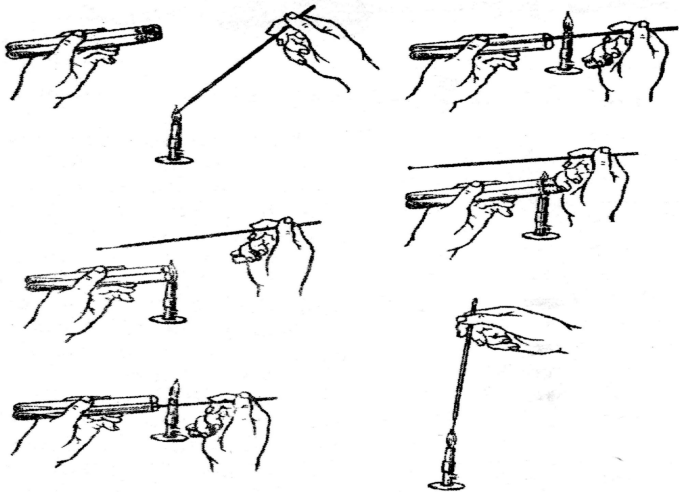


Рис. 40. Посев микроорганизмов на чашку Петри

МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.

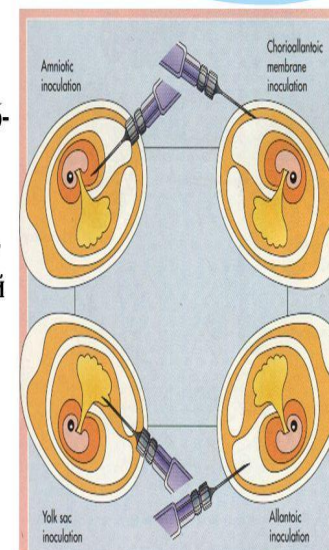
Для успешного культивирования необходимы оптимальные условия:

- Температура- создают в термостате 37° С;
- Влажность- питательные вещества проникают в клетку только в растворенном виде;
- Сроки культивирования- большинство патогенных микробов культивируют в течении 18-24 часов, но есть виды, растущие медленно(до 4-6 недель);
- Аэрация- потребность микробов в свободном кислороде.
- Пассивная аэрация- культивирование на плотных и жидких питательных средах в сосудах.
- Активная аэрация- ее применяют при глубинном культивировании микробов, когда их выращивают в больших объемах.

Культивирование анаэробов сложнее, так как их надо лишить кислорода. Культивирование актиномицетов, грибов, микоплазм, спирохет и простейших сходно с культивированием бактерий. Культивирование риккетсий и вирусных культивируют в культурах тканей, организме экспериментальных животных, развивающихся куриных эмбрионах.

Культивирование вирусов

Куриные эмбрионы 6-12 дневного возраста.
Способы заражения - открытый, закрытый

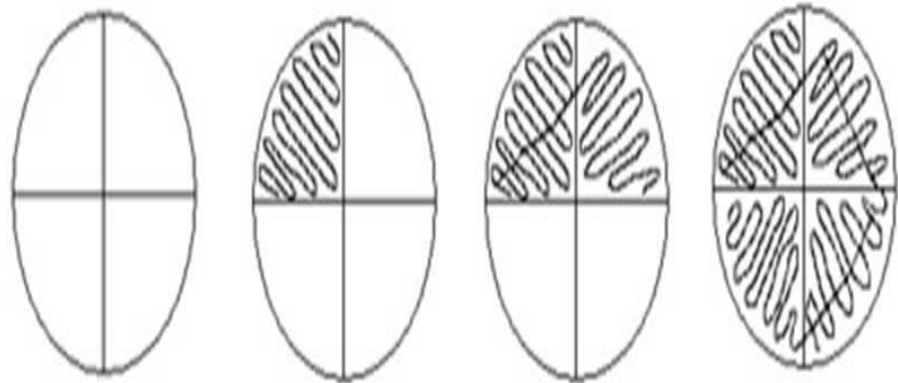


МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ.

Обычно чистые культуры получают из изолированных колоний-обособленные скопления микробов на плотной среде.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов делят на две группы:

- **Рассев петлей (посев штрихами).** Берут одну чашку Петри с питательным агаром и делят ее на 4 сектора, проводя разграниченные линии на внешней стороне дна чашки. Исследуемый материал петлей вносят в первый сектор и проводят параллельные линии по всему сектору на расстоянии около 5мм одна от другой;
- **Бактериостатический метод** основан на различном действии некоторых химических веществ и антибиотиков на микроорганизмы. Определенные вещества угнетают рост одних микроорганизмов и не оказывают влияние на другие.



ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ.

По ферментативной активности можно установить видовую и типовую принадлежность, определить его варианты. Расщепление углеводов изучают на средах Гисса, которые содержат тот или иной углевод и индикатор, изменяющий окраску среды. Эти среды называются «пестрый ряд».

- **Протеолитические свойства** (способность расщеплять белки, полипептиды) изучают на средах с желатинов, 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.

Протеолитические свойства микроорганизмов

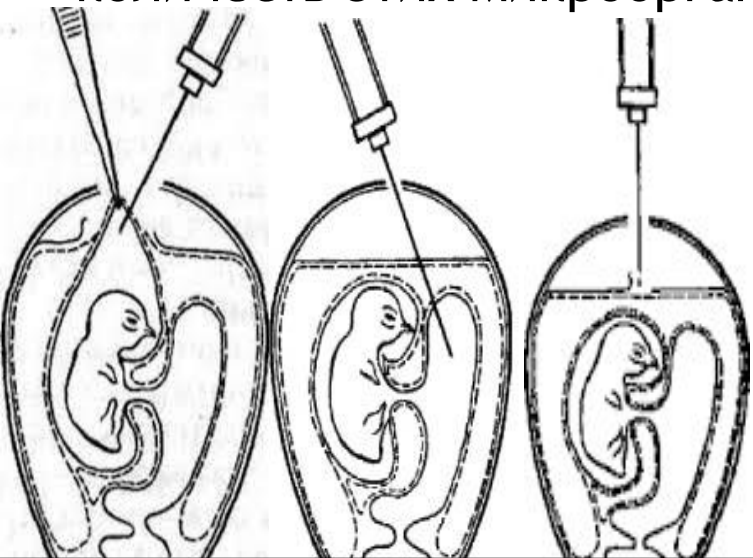


I - формы разжижения желатина; II - определение сероводорода; III - определение индола: 1 - отрицательный результат; 2 - положительный результат

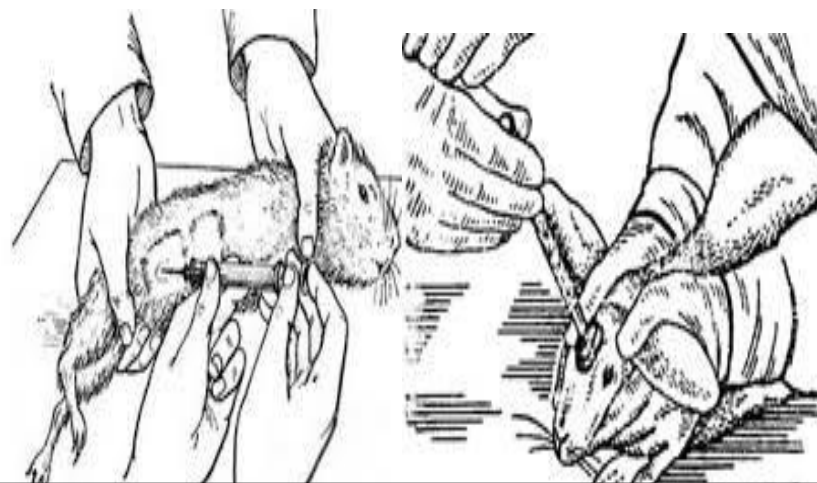
ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РИККЕТСИЙ И ХЛАМИДИЙ. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АНАЭРОБОВ.

Для культивирования риккетсий и вирусов используют 3 метода:

- **Культура ткани**- кусочек органа или отдельные клетки различных тканей, которые живут и размножаются вне организма в питательной среде. Ткани культивируют в стеклянной химически чистой стерильной посуде из нейтрального стекла.
- **Развивающийся куриный эмбрион**;
- **Заражение восприимчивых животных**. Экспериментальные животные используются для выделения риккетсий и вирусов из исследуемого материала, а также для получения больших количеств этих микроорганизмов.



Развивающийся куриный эмбрион



Заражение восприимчивых животных

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

- Камышева К.С. «основы микробиологии и иммунологии» 2015г;
- <https://www.google.ru> .