

Лабораторная работа №6

Тема: Физиология микроорганизмов.

Наименование работы: Посев на питательные среды и выращивание микроорганизмов.

Цель: 1. Ознакомление со способами выделения чистых культур.

2. Приобретение навыков посева микроорганизмов на разные питательные среды.

Оборудование, приборы и материалы: Стерильные пробирки; стерильные чашки Петри; стерильные пробки; бактериологические петли, иглы; спиртовка, спички; стерильные шпатели Дригальского; стерильные пипетки на 1 мл; стерильное обезжиренное молоко; сырое молоко; физ. раствор; дезинфицирующий раствор; земля, настой сена, простокваша; среды: КМАФАнМ, СДА. чашки Петри с посевами; закваска термофильных стрептококков и болгарской палочки.

студент должен знать:

1. Методику выполнения посева по методу Дригальского на среду КМАФАнМ.
2. Методику проведения посева уколом, штрихом.
3. Методику посева на молочный агар.
4. Методику посева на среды ЭНДО, СДА.

студент должен уметь:

1. Выполнять посев по методу Дригальского.
2. Проводить посев уколом, штрихом.
3. Проводить посев на молочный агар.
4. Провести посев на среды ЭНДО, СДА.

Содержание и последовательность выполнения задания:

Задание 1. Произвести посевы.

1. Работать бригадой по 4 человека:
 - анализ по Дригальскому;
 - анализ уколом, штрихом;
 - посев на среду СДА;
 - посев на среду МА.
2. Подготовить среды: питательный агар КМАФАнМ разлить в 2 чашки Петри.
3. Заготовить 2 пробирки с КМАФАнМ
 - столбиком – 1-ая пробирка;
 - скошенный агар – 2-ая пробирка.
4. Заготовить пробирку для среды СДА,
5. Заготовить чашку Петри для молочного агара.
6. Заготовить чашку со средой ЭНДО.
7. Посев по методу Дригальского на чашки Петри со средой КМАФАнМ (почву, сенной настой, гнилой помидор, сырое молоко, простокваша самоквасная, молочнокислые палочки, молочнокислые стрептококки).
8. Посев на среду СДА (в пробирку почву, почву, сенной настой, гнилой помидор, сырое молоко).

9. Посев на среду КМАФАнМ (пробирка со столбиком) уколом взять колонии.
10. Посев штрихом на скошенный агар КМАФАнМ. Исследовать колонию
11. Посев на молочный агар.

Задание для отчета: записать дату проведения, №, наименование, содержание и выполнение работы.

Методы исследования

Посев микроорганизмов.

При посеве из пробирки в пробирку необходимо:

1. Зажечь спиртовку или горелку.
2. Взять в левую руку две пробирки: одна – из которых будет производиться посев, другая – со свежей питательной средой (ближе к себе).
3. Прокалить бактериологическую петлю в пламени горелки.
4. Открыть пробку, захватив одновременно обе пробки мизинцем правой руки.
5. Обжечь края обеих пробирок.
6. Внести петлю в пробирку с посевом микроорганизмов, захватив каплю жидкости (если микробы выращены в жидкой среде) или частицу микробного налета (с поверхности плотной среды), перенести ее, не касаясь стенок пробирки, в пробирку со свежей питательной средой. Если нужно произвести посев на каждую поверхность плотной питательной среды в пробирке, то проводят петлей по этой поверхности (посев штрихом), а когда сеют в жидкую питательную среду, то петлю споласкивают в ней. Если необходимо произвести посев уколом, то иглу с микроорганизмами вводят вглубь питательной среды до дна пробирок.
7. Обжечь в пламени обе пробки и края пробирок и одновременно закрыть обе пробирки.
8. Обжечь петлю в пламени горелки.

В некоторых случаях пользоваться петлей неудобно, например, необходимо произвести посев, пересев анаэробных бактерий, которые расположены в глубинных слоях жидкости, тогда пользуются пипеткой. Если необходимо произвести посев определенного количества жидкости, то пользуются градуированными пипетками. Набирают в пипетку жидкость и выпускают определенное количество, например 0,1 мл в свежую питательную среду. После посева использованные пипетки опускают в стакан с дезинфицирующим раствором.

Посев по Дригальскому.

Для получения отдельных колоний микроорганизмов на агаровых средах в чашки Петри производится посев по Дригальскому. Для этого на один из краев среды (после ее застывания на чашке Петри) наносят петлей или пипеткой каплю посевного материала и затем равномерно распределяют ее по поверхности среды, пользуясь предварительно простерилизованной изогнутой стеклянной палочкой – шпателем Дригальского. Шпатель, вынутый из бумаги, берут в правую руку.левой рукой слегка приподнимается крышка чашки Петри, шпатель вносится в чашку и касается капли посевного материала, затем движениями шпателя от одного до другого края чашки Петри капля размазывается по поверхности агаровой пластинки. Надавливать шпателем на пластинку не следует, так как можно повредить агар.

Посев на СДА

Цель посева: Определение наличия анаэробных мезофильных бактерий.

В пробирку на дно кладут посевной материал и заливают расплавленной средой СДА и оставляют до застывания и после этого заливают сверху водным агаром для создания анаэробных условий.

Температура культивирования 350С – 72 часа.

Обработка данных: наличие спор определяют по появлению разрывов агарового столбика, образующих при росте этих бактерий газами.

Посев на молочный агар. (молоко + водный агар)

Определение протелитических бактерий, то есть бактерии разлагающие белок.

В стерильную чашку Петри наливают 1 мл приготовленного разведения исследуемого объекта. Добавляют 2 мл стерильного молока и заливаем водным агаром, с соблюдением правил стерильности. Круговыми движениями руки размешивают и после застывания ставят на выращивание.

Температура культивирования 20 - 250С – 48 часов.

Учет: Подсчитываются только те колонии, вокруг которых имеется зона просветления.

Вопросы для самопроверки:

1. Техника микроскопирования.
2. Методика приготовления сложного окрашенного препарата
3. Техника посева по Дригальскому.
4. Техника посева на СДА.
5. Техника посева на молочный агар.