



АКАДЕМИЯ
ПОСТДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ФГБУ ФНКЦ ФМБА РОССИИ

Кафедра клинической лабораторной
диагностики и патологической анатомии с
курсом лабораторной микробиологии

Физиология микробов, рост и размножение, высевание колоний

Миронов Андрей Юрьевич, профессор, д.м.н., доцент

Версия 2024г.,
г.Москва

Метаболизм:

1. **Катаболизм** (энергетический метаболизм).
2. **Анаболизм** (пластический или конструктивный метаболизм).

Энергетический метаболизм (катаболизм)

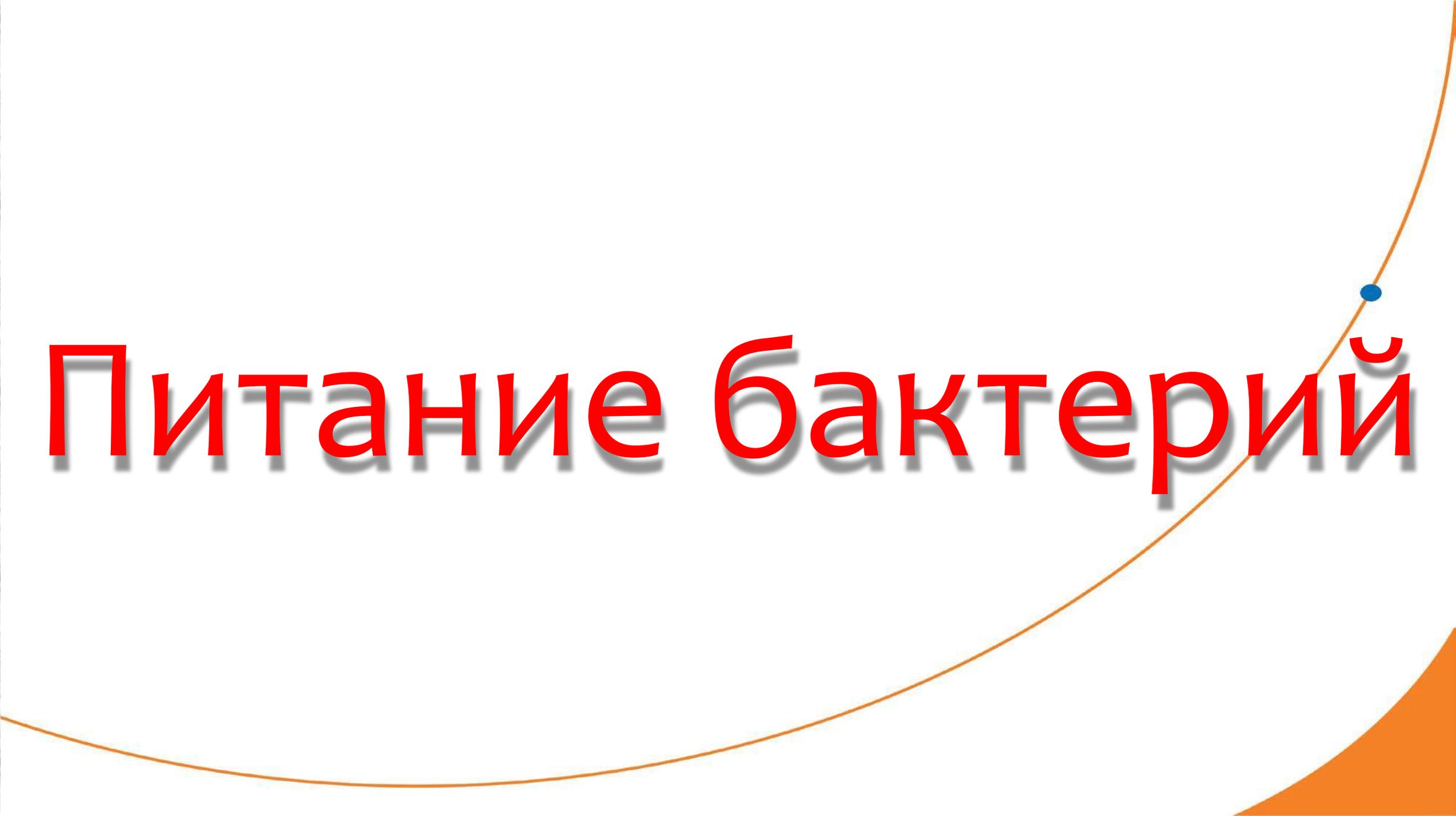
совокупность биохимических реакций, служащих источником энергии (АТФ) для жизнедеятельности клеток микроорганизмов, называемое **дыханием микробов**.

Конструктивный метаболизм (анаболизм) - биосинтез белков, углеводов, липидов в клетках микроорганизмов.

В результате конструктивного метаболизма наблюдается:

- прирост биомассы клетки;
- выделение продуктов обмена (ферменты, токсины, антибиотики, витамины);
- формирование запасных отложений (гликоген, жиры, полифосфаты).

Питание бактерий

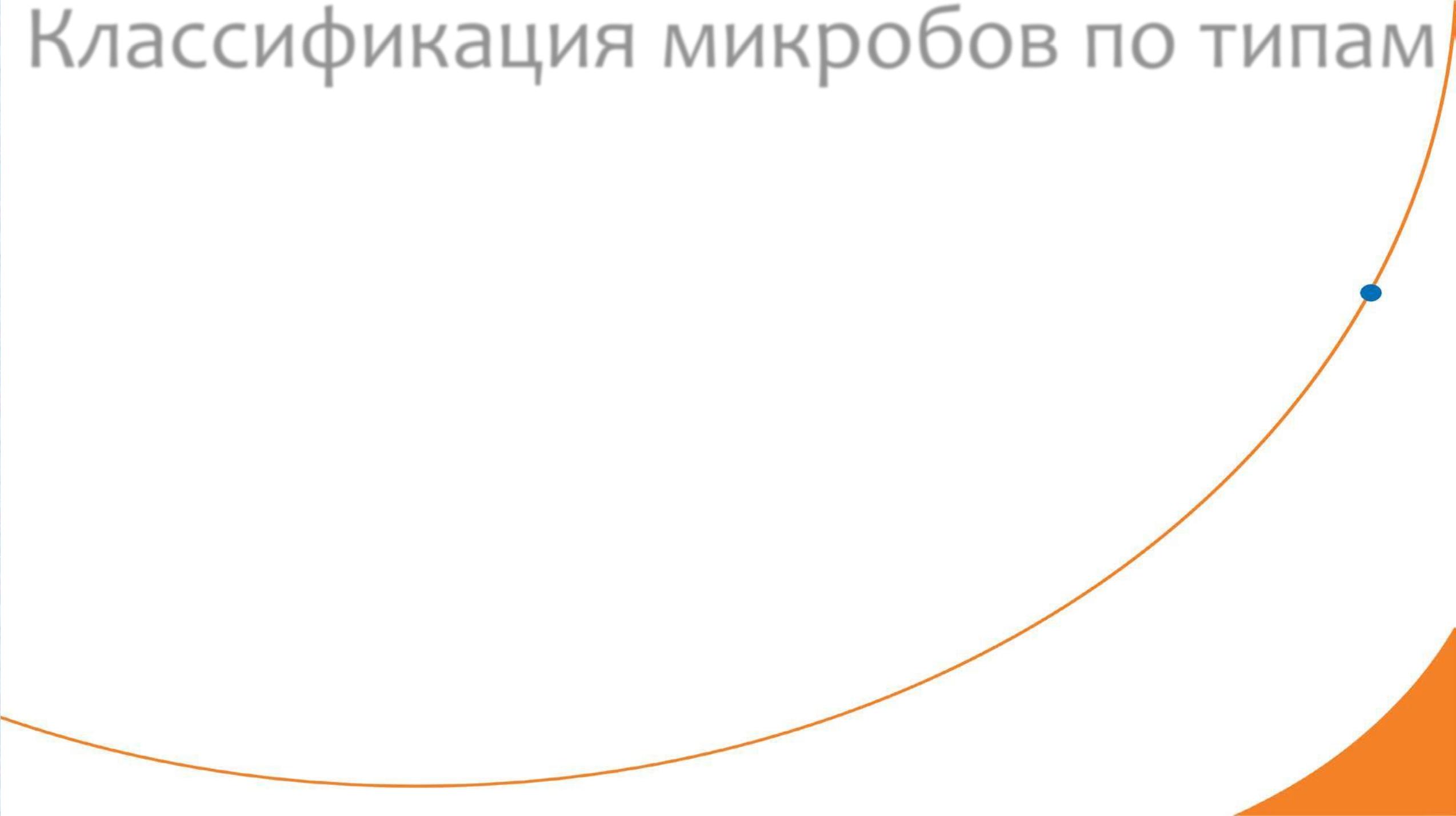
A decorative orange arc curves across the bottom of the slide, starting from the left edge and ending at the right edge. A small blue dot is positioned on the upper part of this arc, near the right side of the frame.

Химические элементы необходимые для существования клетки

1. Биогенные - C; O; N; H (95%);
2. Макроэлементы - P; S; Cl; K; Mg; Ca; Na (около 5%);
3. Микроэлементы - Fe; Cu; I; Co; Mo (доли %)

Вода - 70-90%

Классификация микробов по типам



Классификация микробов по типам питания:

По источнику азота:

- **аминоавтотрофы** (не нуждаются в готовых органических соединениях, в качестве источника азота используют аммиак, соли аммония, N_2)
- **аминогетеротрофы** (используют готовые органические соединения: аминокислоты, белки и др.)

По источнику энергии:

- **фототрофы** (в качестве энергии используют солнечный свет)
- **хемотрофы** (используют энергию, выделяющуюся при окислительно-восстановительных реакциях)

По источнику электронов и ионов водорода

Литотрофы

В качестве источника электронов используют неорганические соединения: аммоний, нитриты, сероводород, сульфиты, серу, железо и др.

Органотрофы

Используют органические соединения

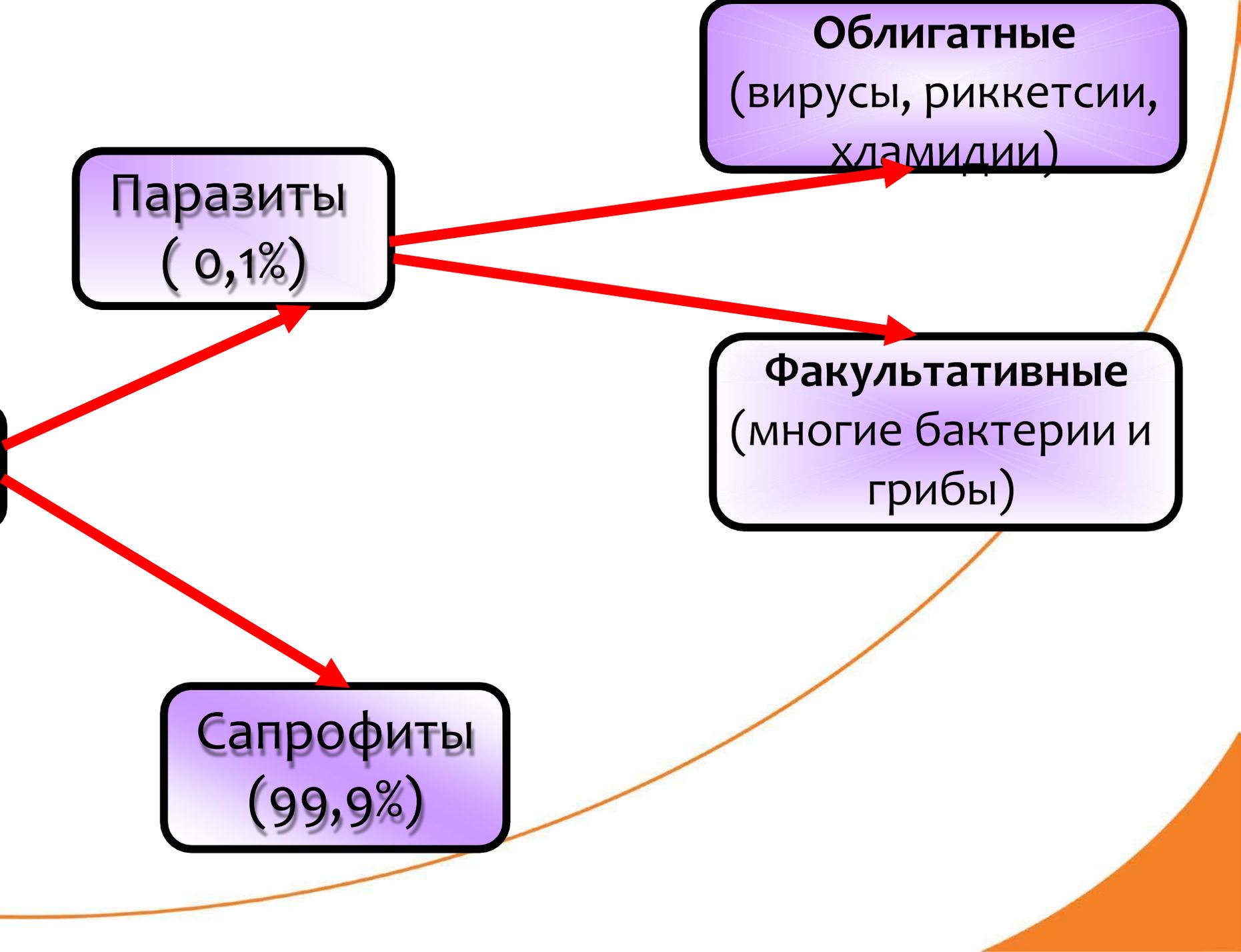
гетеротрофы

Паразиты
(0,1%)

Сапрофиты
(99,9%)

Облигатные
(вирусы, риккетсии,
хламидии)

Факультативные
(многие бактерии и
грибы)



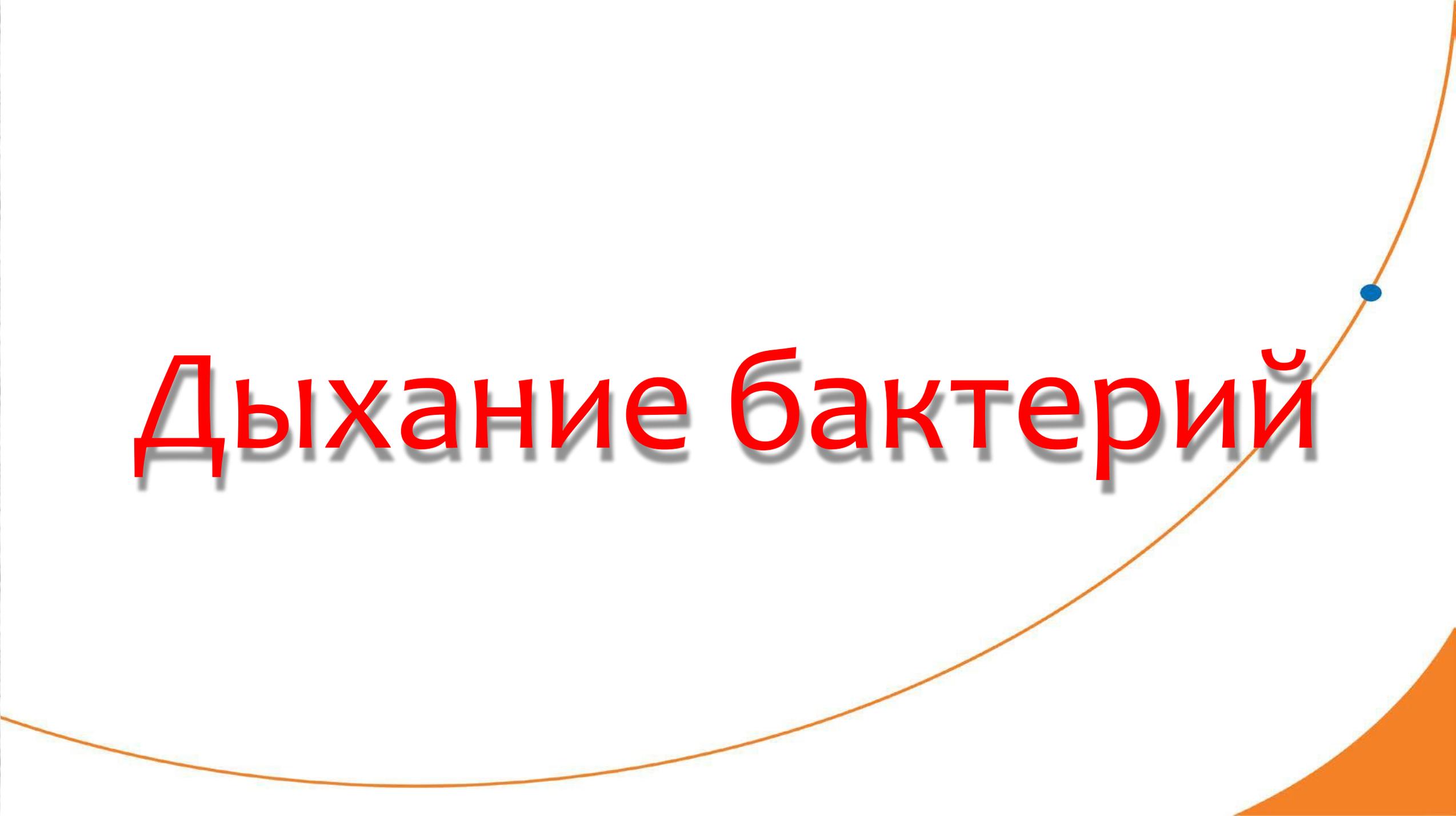
Микроорганизмы имеющие
медицинское значение относятся к

хемотротрофам

Механизмы питания

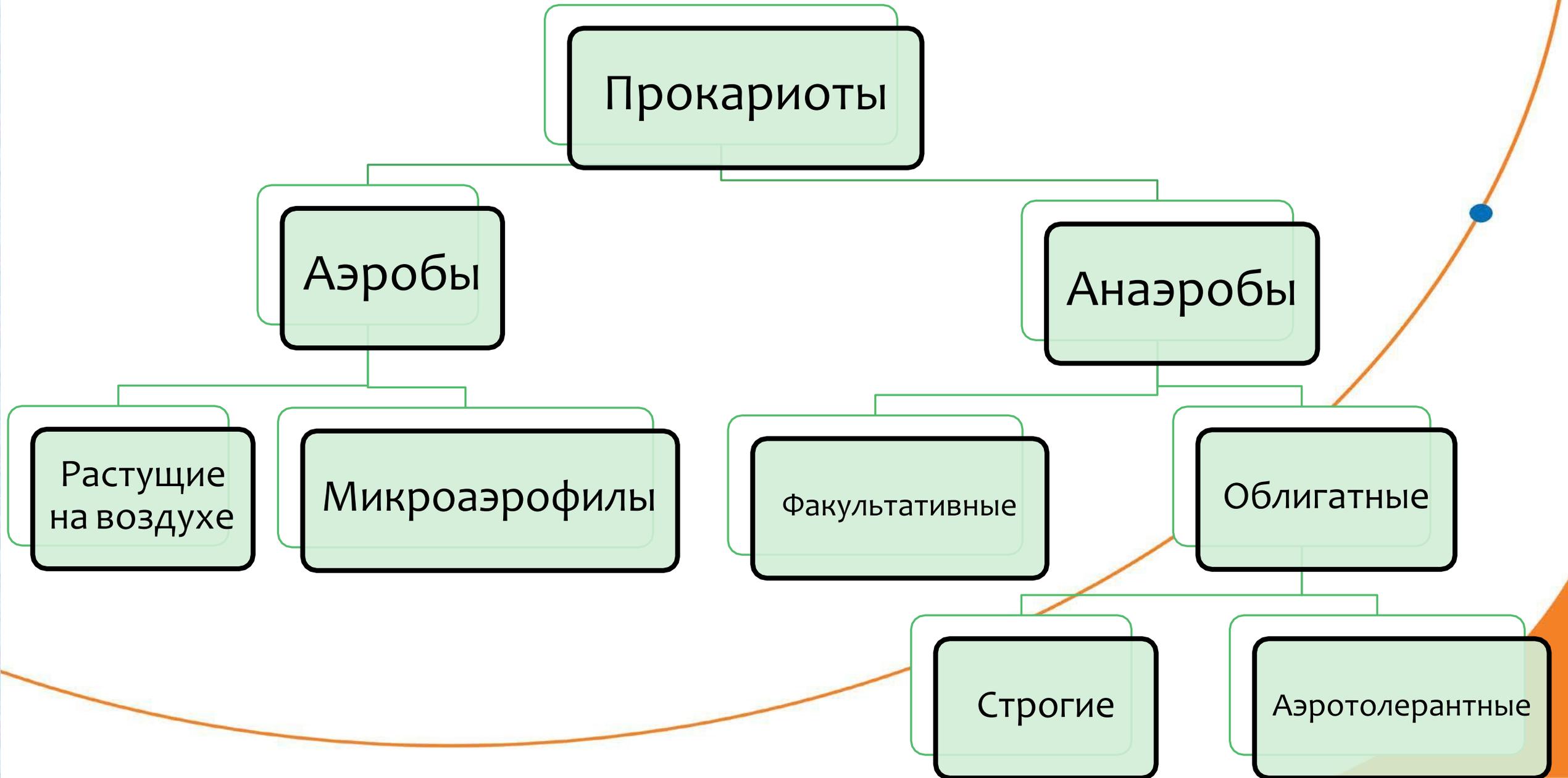
Вид транспорта		Механизм	Примеры
Пассивный перенос	Простая диффузия	Перенос вещества идет по градиенту концентраций, без затрат энергии, носит неспецифический характер, зависит от размеров молекул и их липофильности	Поступление перекиси водорода
	Облегчённая диффузия	Перенос вещества идёт по градиенту концентраций, без затрат энергии, но с участием специфических белков-переносчиков - пермеаз	Поступление глицерина в клетки энтеробактерий
Активный транспорт		Энергозависимый процесс, при котором перенос вещества идет против градиента концентрации, с участием специфических пермеаз	Поступление углеводов, ионов водорода
Транспорт с транслокацией химических групп		Энергозависимый процесс, при котором переносимое вещество претерпевает химическую модификацию	Поступление углеводов

Дыхание бактерий

A decorative orange arc curves across the bottom of the slide, starting from the left edge and ending at the top right. A small blue dot is positioned on the arc near the top right corner.

Дыхание - способ получения энергии в результате окисления органических субстратов (преимущественно углеводов), при котором **конечным** акцептором электронов и ионов водорода является кислород

Группы прокариот по отношению к кислороду



Дыхание микробов

Аэробное

необходим O_2
АТФ образуется при
[O]-фосфорилировании с
участием цитохромов
и цитохромоксидазы

Анаэробное

протекает без O_2
АТФ образуется при субстратном
фосфорилировании белков,
углеводов, липидов с участием
дегидрогеназ до ПВК

брожение

Масляно-кислое
(кlostридии)

молочно-кислое
(Lactobacillus,
Streptococcus
Bifidobacterium)

муравьино-кислое
(энтеробактерии)

пропионово-кислое
(пропионобактерии)

Культивирование анаэробов

Применяются специальные питательные среды (Кита-Тароцци, тиогликолевая среда - связывающие кислород). Перед посевом среды кипятят для удаления растворенного кислорода.

Применяются физические, химические и биологические методы создания анаэробии.

➤ **Физический метод** - удаляют из аппарата или эксикатора воздух. Для выращивания используют **анаэроостаты** - специальные ёмкости, в которых воздух заменяется смесью газов, не содержащих кислорода.

➤ **Химический метод** основан на применении химических поглотителей кислорода.

➤ **Биологический метод** - одновременный посев на одну половину чашки Петри аэробных и на другую - анаэробных бактерий. Аэробы, используя при росте кислород, создают условия для дальнейшего роста анаэробов.



Рассчитан на работу с газогенерирующими пакетами и газовыми смесями в баллонах



Классический анаэростат

Методы создания анаэробноза:

физические:

- эвакуационно-заместительный (откачивание воздуха из герметически замкнутой ёмкости, например, анаэроостата или анаэробного бокса, с последующей заменой на бескислородную газовую смесь);
- посеы специальными методами («уколом» в столбик агара, который затем заливают вазелиновым маслом; по методам Перетца, Бурри, Вейон-Виньялю и др.)

химические

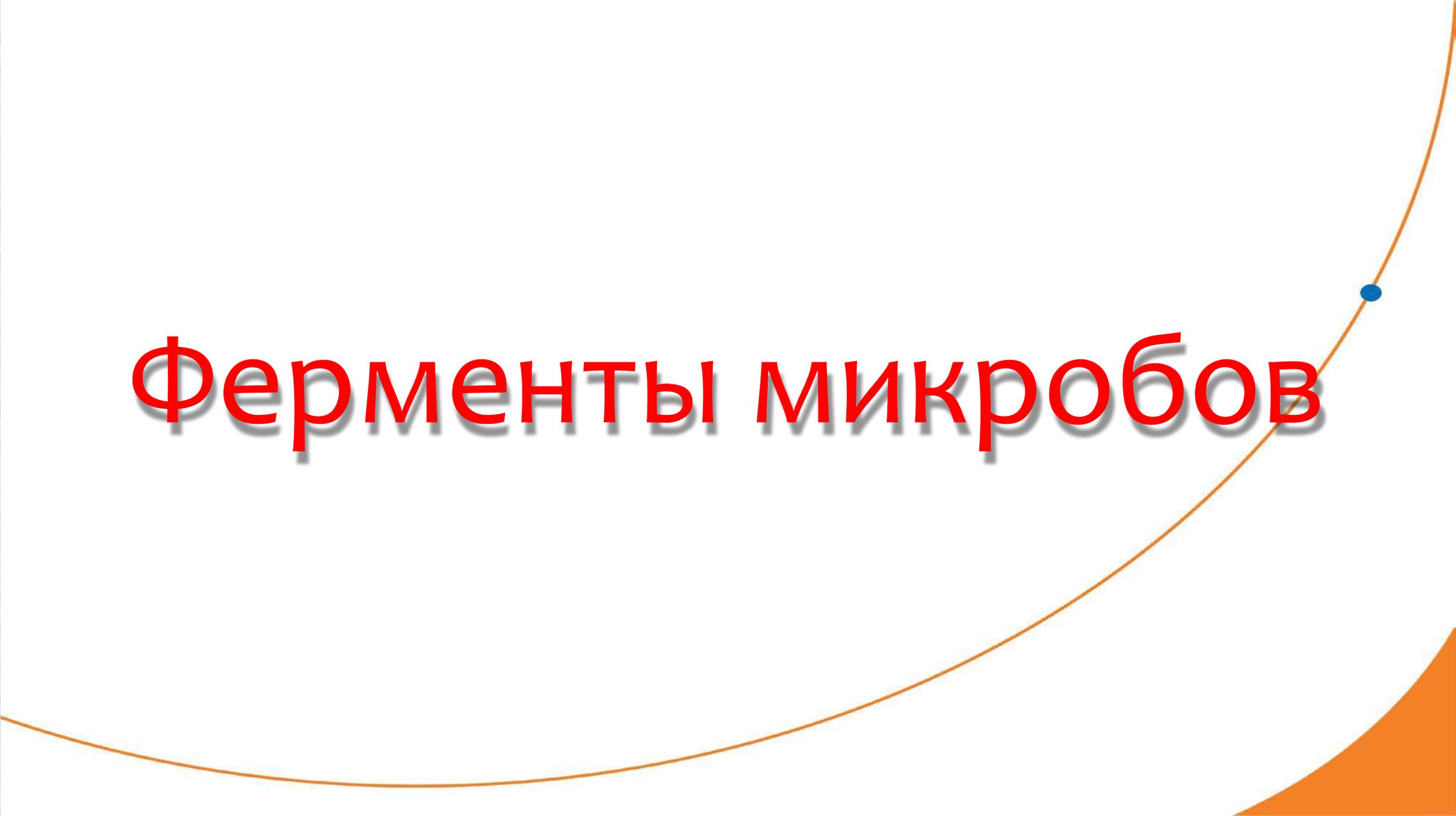
- помещение в герметически закрытые ёмкости (например, эксикаторы) химических веществ, поглощающих или редуцирующих кислород (щелочной раствор пирогаллола, гидросульфит натрия, тиогликолат натрия, цистеин и др.)
- использование автономных анаэроостатов

биологические:

- посев по методу Фортнера
- Заражение восприимчивых лабораторных животных (например, культивирование лептоспир в организме морских свинок).
- Использование питательных сред типа Китт-Тароцци

смешанные (использование одновременно нескольких методов)

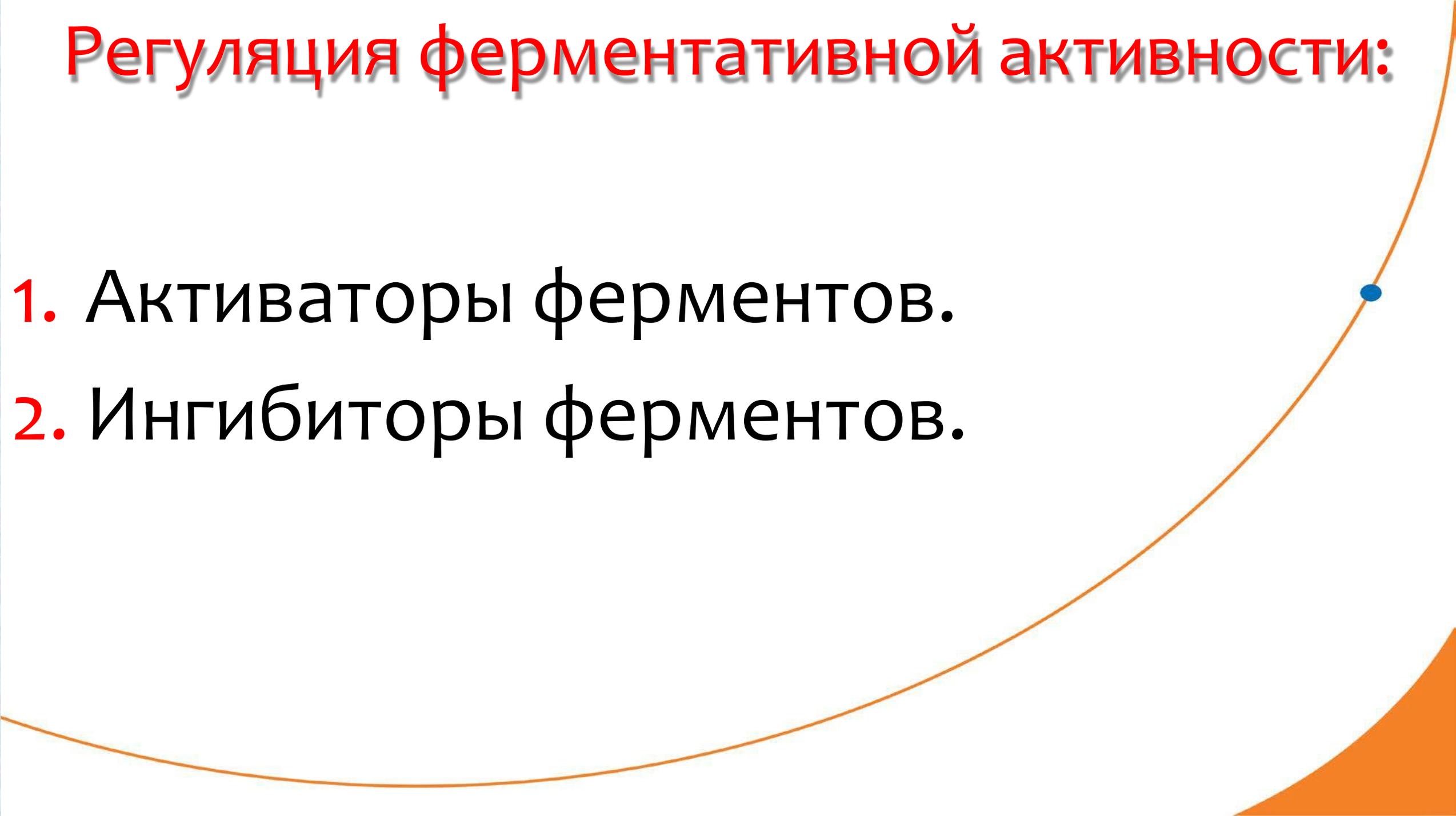
Ферменты микробов

A decorative orange curved line starts from the bottom left, curves upwards to the right, and then curves downwards to the right. A small blue dot is located on the upper part of this curve.

Ферменты

регуляторы метаболизма в клетке микроорганизмов, отличающиеся высокой приспособляемостью к изменяющимся условиям среды обитания за счёт регуляторных механизмов метаболизма бактерий.

Регуляция ферментативной активности:

1. Активаторы ферментов.
 2. Ингибиторы ферментов.
- 
- A decorative orange curved line starts from the bottom left, curves upwards to the right, and then curves downwards to the right. A small blue dot is located on the upper part of this curve.

Классификация ферментов

По биохимической активности:

- оксидоредуктазы
- трансферазы
- гидролазы
- лиазы
- лигазы
- изомеразы

Классификация ферментов

По постоянству синтеза:

- конститутивные
- индуцибельные

Классификация ферментов

По локализации:

- экзоферменты
- эндоферменты

Классификация ферментов

По субстрату:

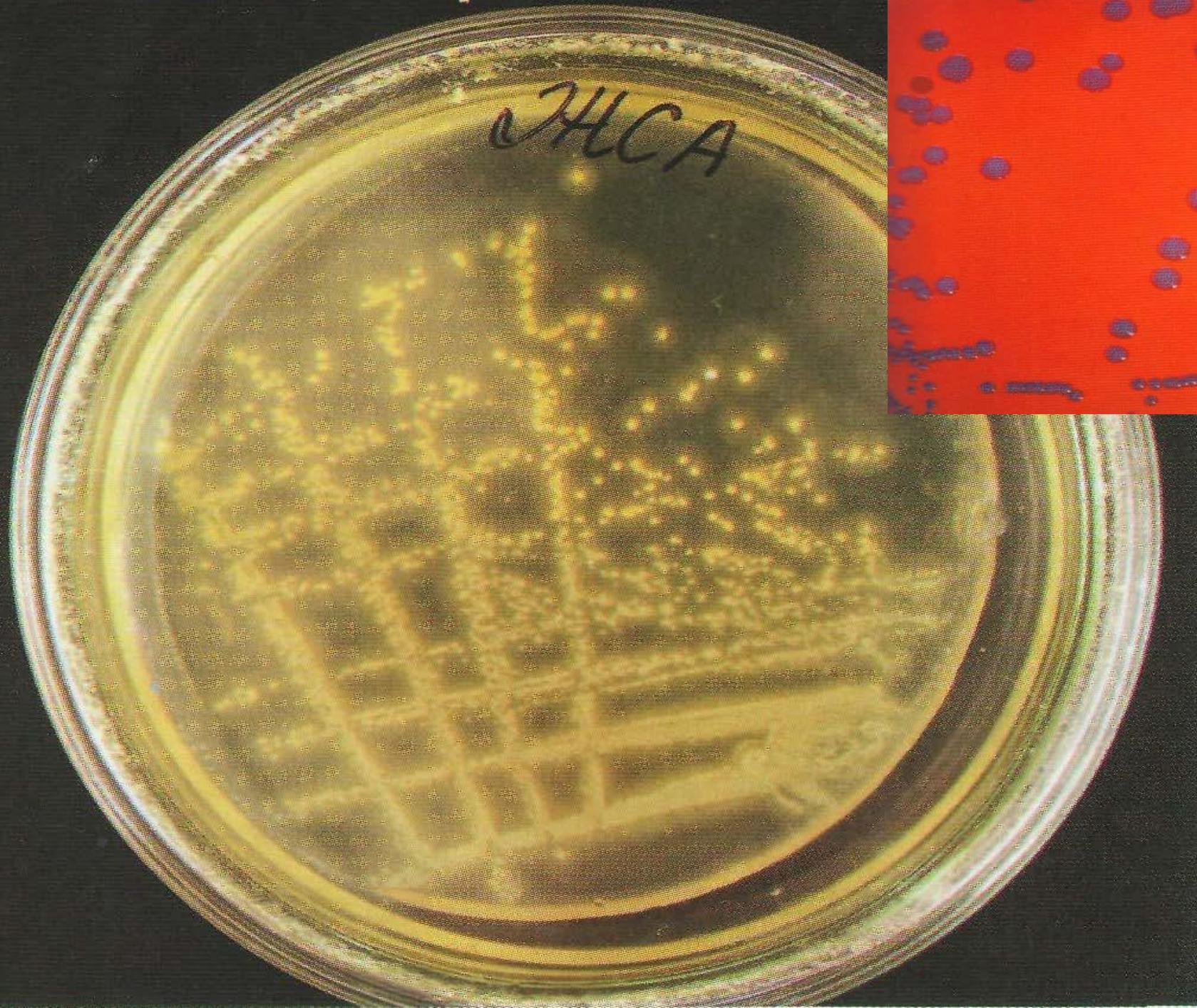
- сахаролитические
- протеолитические
- липолитические

Определяются на дифференциально-диагностических средах Гисса

Классификация ферментов

Ферменты агрессии (фактор патогенности):

- протеиназа
- протеаза
- ДНК-аза
- РНК-аза
- гиалуронидаза
- эластаза
- коллагеназа
- плазмокоагулаза
- нейраминидаза
- лецитиназа
- герариназа
- фибринолизин
- бета-лактамаза



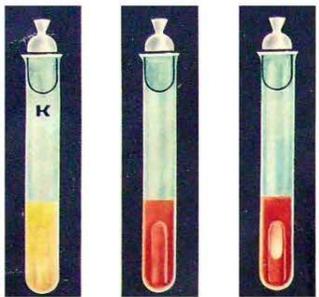
Гемолиз на
кровяном агаре

Лецитиназа у
стафилококка.
Желточно-солевой
агар

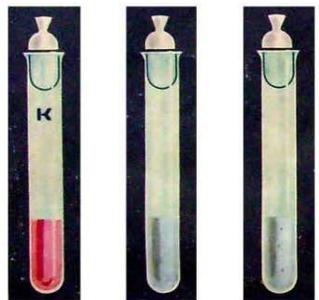


Плазмакоагулаза стафилококка

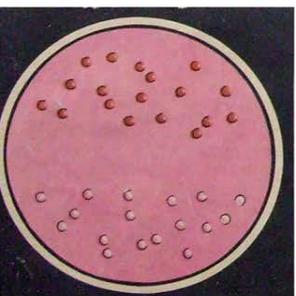
ОПРЕДЕЛЕНИЕ
САХАРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ



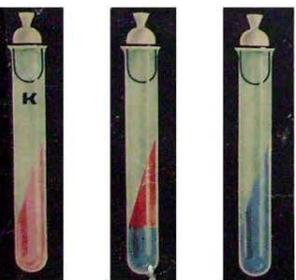
1- КИСЛОТА
2- КИСЛОТА,
ГАЗ



СРЕДЫ ГИССА

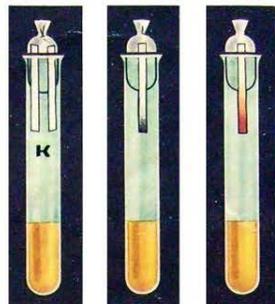


СРЕДА ЭНДО

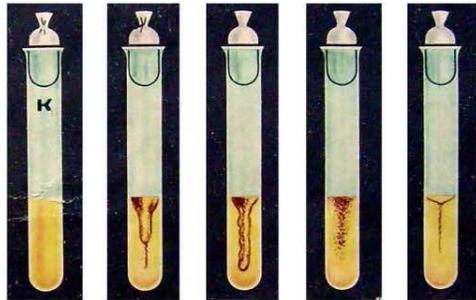


СРЕДА РЕССЕЛЯ

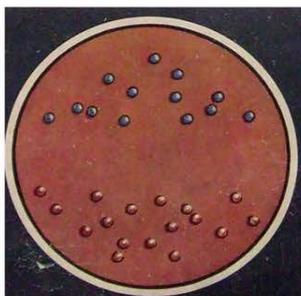
ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ



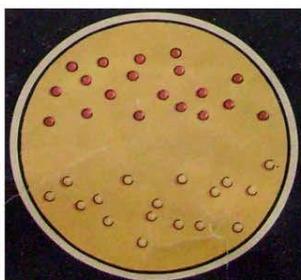
1- СЕРОВОДОРОД
2- ИНДОЛ
К- КОНТРОЛЬ



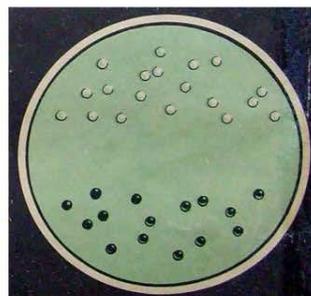
РАЗЖИЖЕНИЕ ЖЕЛАТИНА



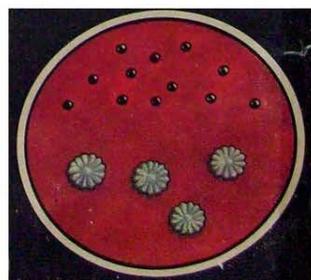
СРЕДА ЛЕВИНА



СРЕДА ПЛОСКИРЕВА



ВИСМУТ-СУЛЬФИТ АГАР



СРЕДА КЛАУБЕРГА

Биохимическая активность бактерий

Различия в ферментном составе используют для идентификации бактерий по их биохимическим свойствам:

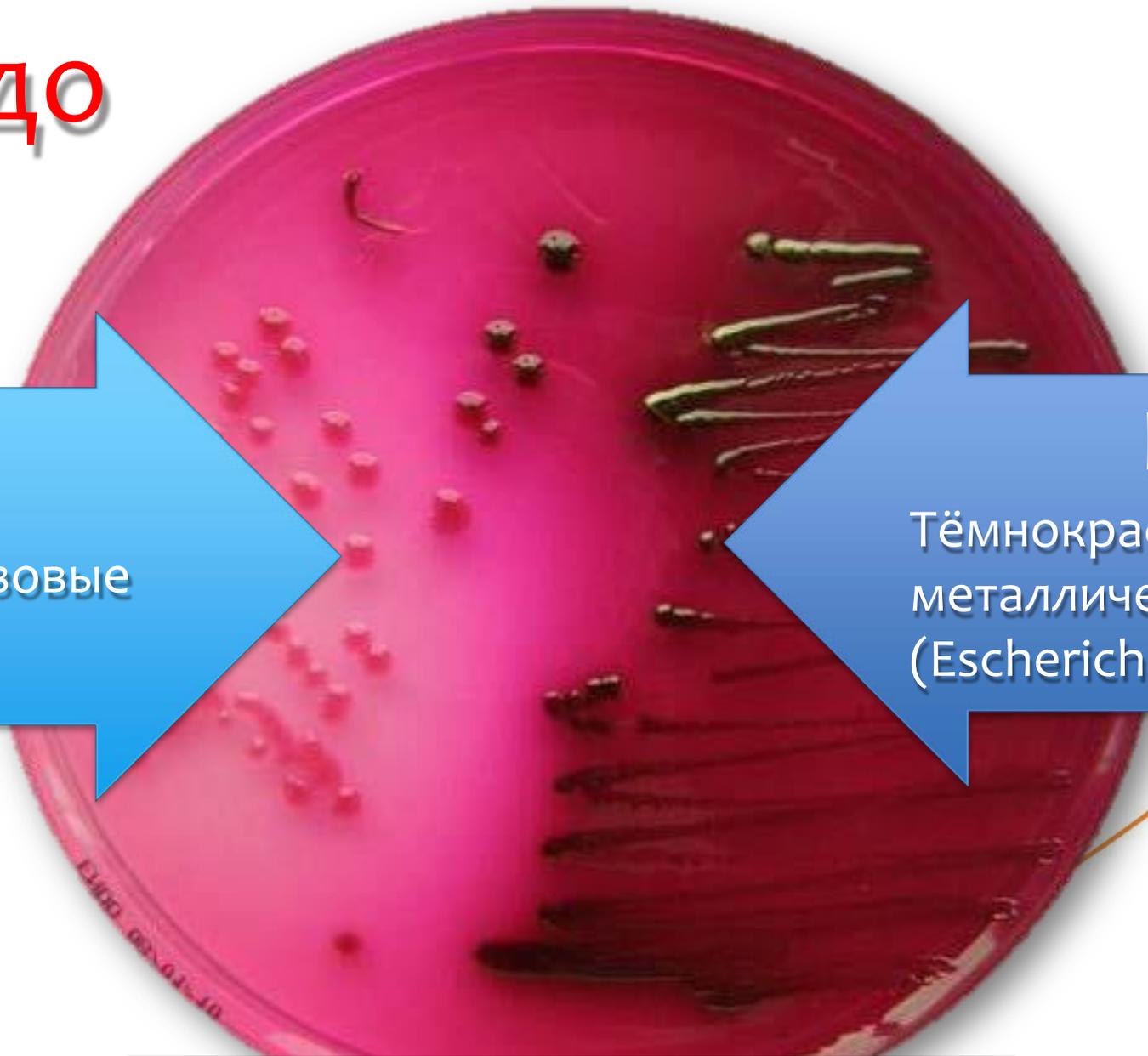
- сахаролитические (расщепление сахаров),
- протеолитические (разложение белков).

Сахаролитические свойства определяют на дифференциально-диагностических питательных средах **Гисса, Эндо, Левина, Плоскирева** по конечным продуктам расщепления: кислота, газ.

Протеолитические свойства определяют:

- по разжижению желатина;
- продуктам разложения белка в мясо-пептонном бульоне - индола, сероводорода, аммиака.

Агар Эндо



Lac⁻

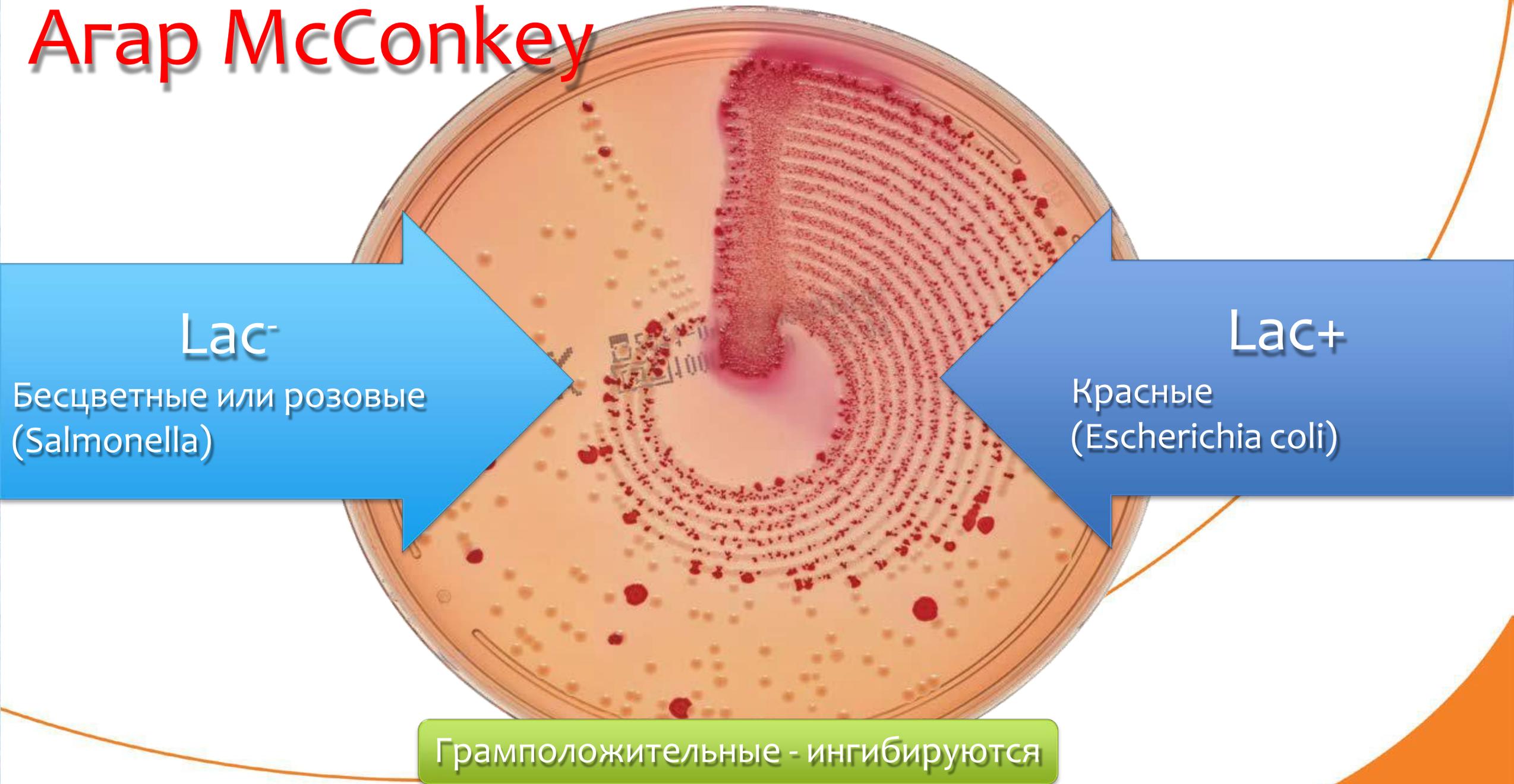
Бесцветные или розовые
(*Salmonella*)

Lac⁺

Тёмнокрасные, с
металлическим блеском
(*Escherichia coli*)

Грамположительные - ингибируются

Агар McConkey



Lac⁻

Бесцветные или розовые
(*Salmonella*)

Lac⁺

Красные
(*Escherichia coli*)

Грамположительные - ингибируются

Идентификация бактерий по биохимическим свойствам



API-20E – биохимическая панель для ручной идентификации энтеробактерий

Стандартная биохимическая панель коммерческого набора «Кристалл» ВД



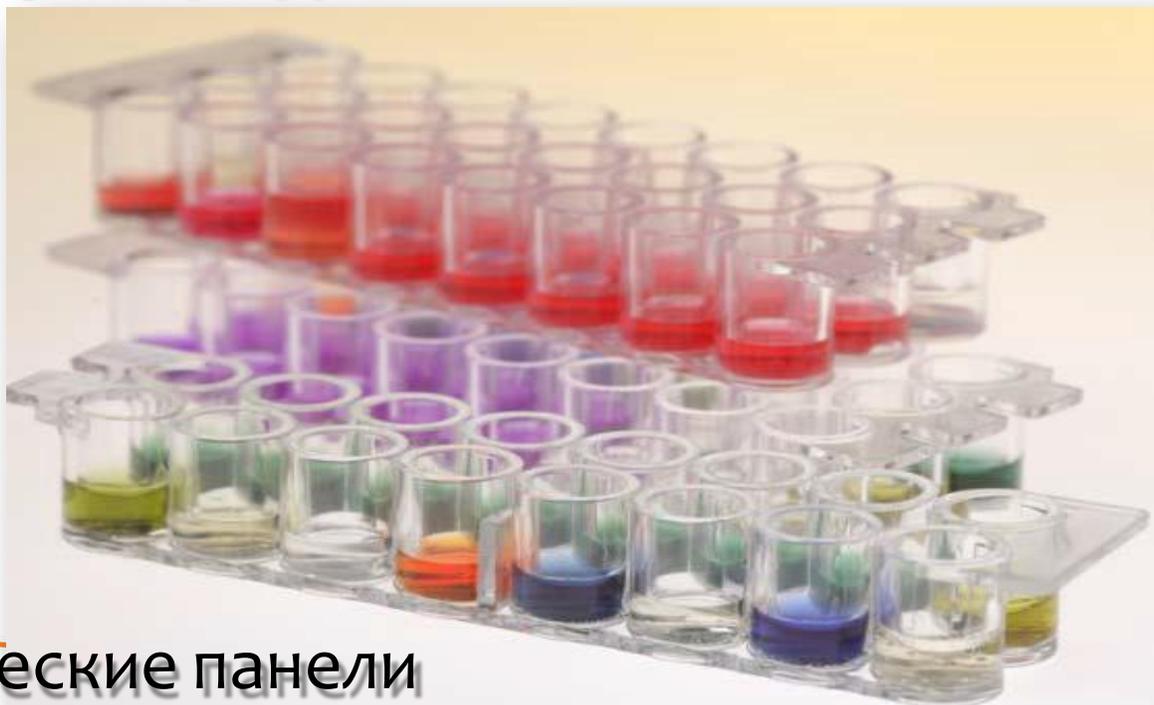
Биохимические свойства



Пробирочные тесты

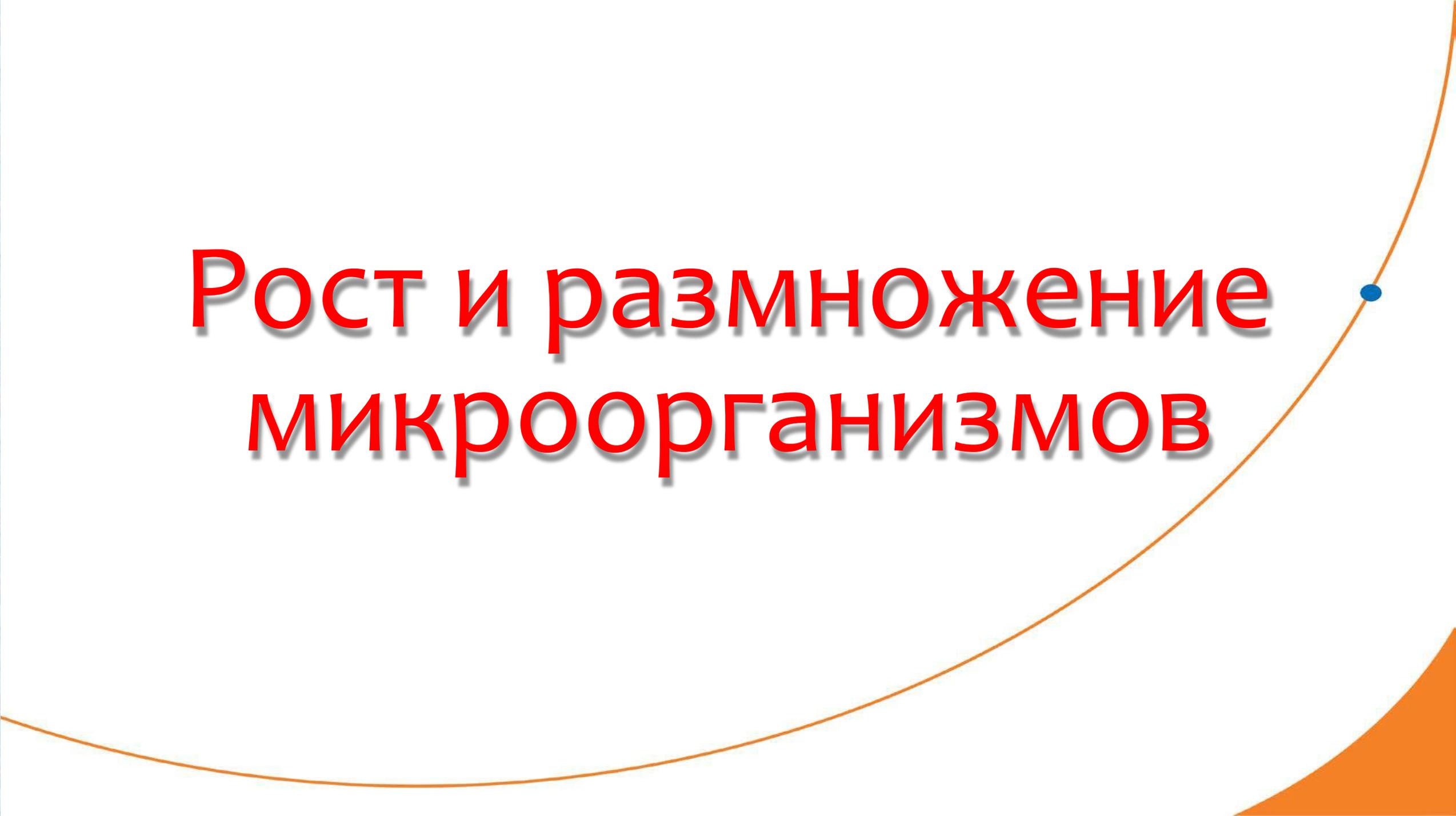


Автоматические анализаторы



Биохимические панели

Рост и размножение микроорганизмов

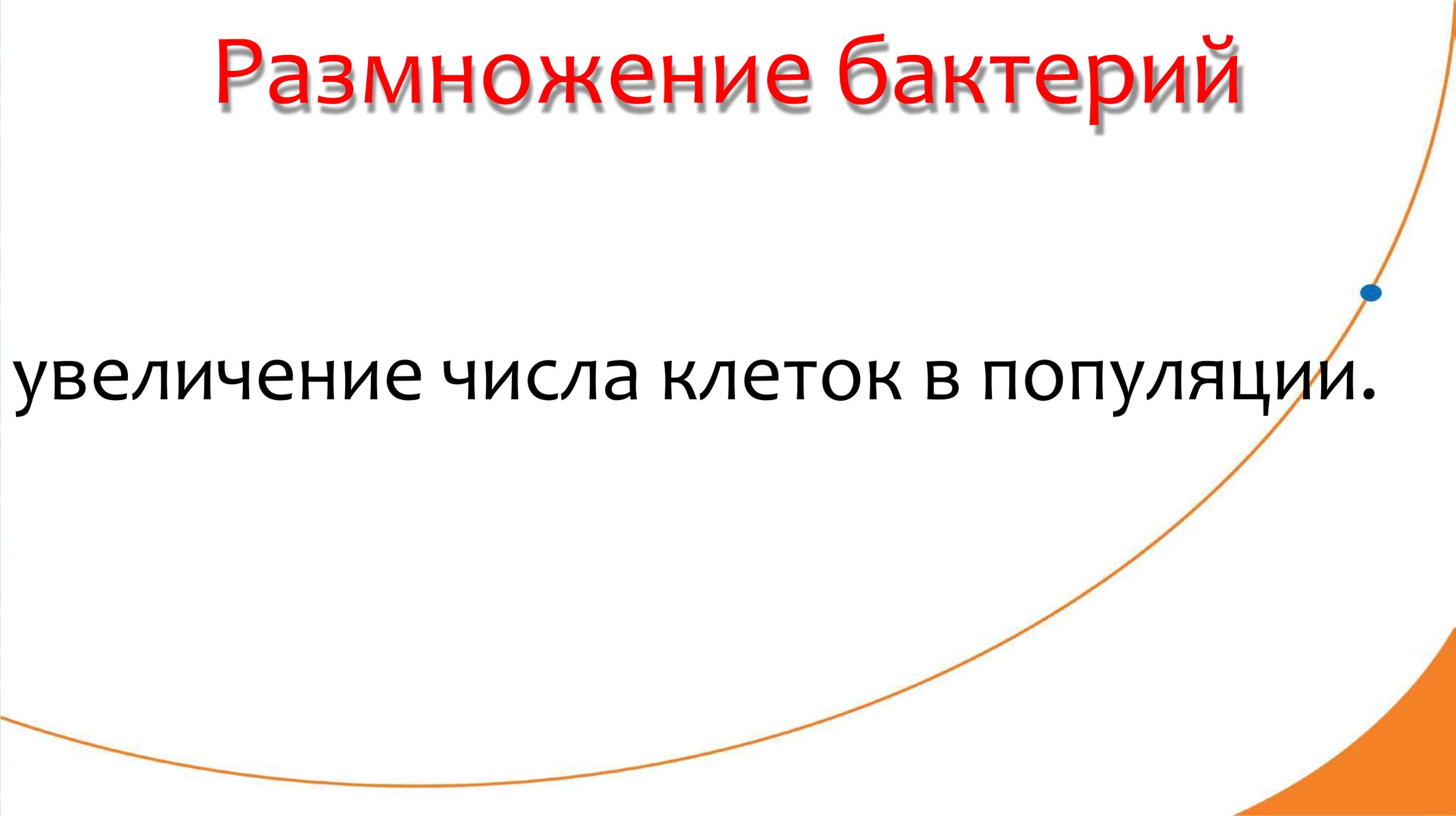
A decorative orange arc curves across the bottom of the slide, starting from the left edge and ending at the right edge. A small blue dot is positioned on the upper part of this arc, to the right of the main text.

Рост бактерий

координированное воспроизведение всех клеточных компонентов и структур, ведущее к увеличению массы клетки.

Размножение бактерий

увеличение числа клеток в популяции.

A decorative orange curve starts from the bottom left, curves upwards, and ends at the top right. A small blue dot is placed on the curve in the upper right quadrant.

Рост и размножение бактерий

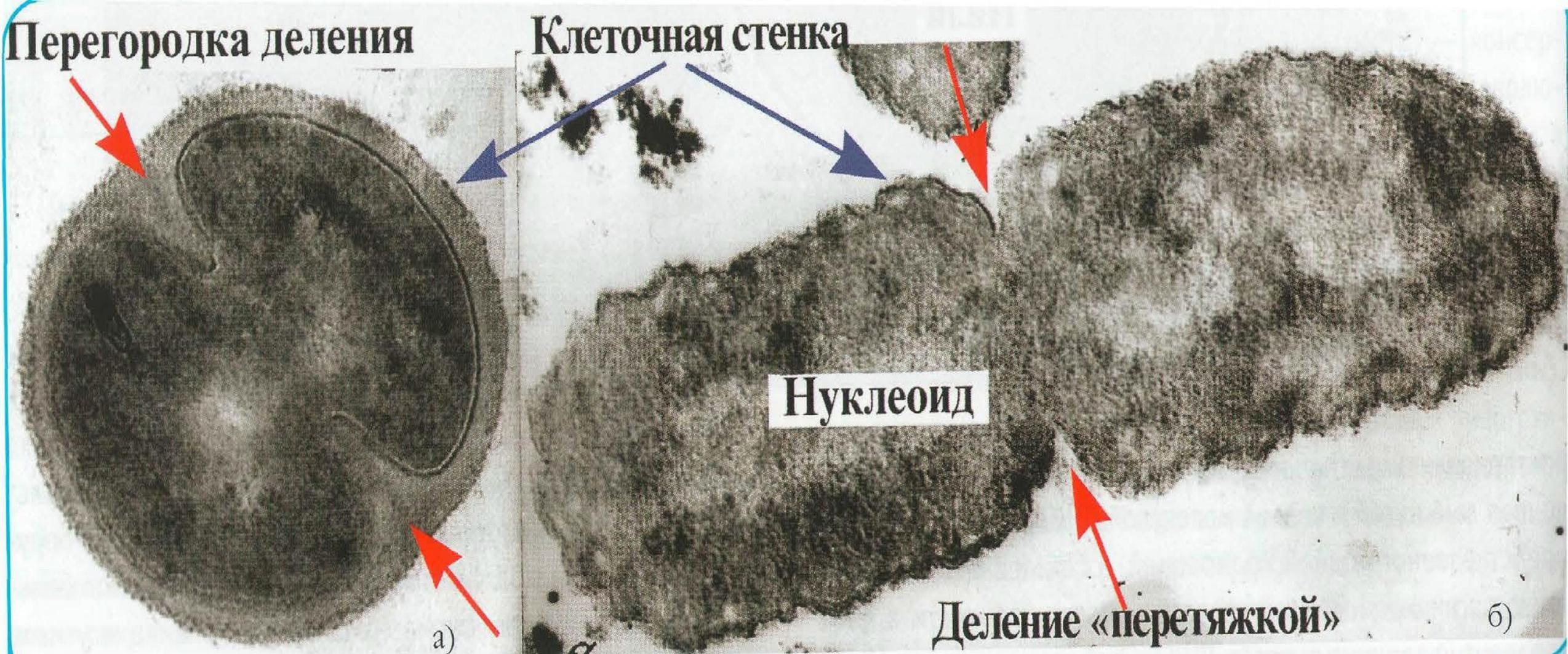
Рост - формирование структурно-функциональных компонентов бактериальной клетки с увеличением её размеров.

Размножение - самовоспроизведение, ведущее к увеличению количества бактериальных клеток в популяции.

Бактерии размножаются бинарным делением пополам, реже почкованием или другими способами.

Грамположительные бактерии делятся путём **врастания** синтезирующихся перегородок внутрь клетки, **грамотрицательные** бактерии - путём перетяжки и образования двух одинаковых клеток.

Делению клеток предшествует репликация бактериальной хромосомы по полуконсервативному типу: двунитевая цепь ДНК раскрывается и каждая нить достраивается комплементарной нитью. **Репликация ДНК** катализируется **ДНК-полимеразами**.



Электроннограмма ультратонких срезов стафилококка и кишечной палочки: а) деление стафилококка путём врастания перегородок деления; б) деление кишечной палочки «перетяжкой»

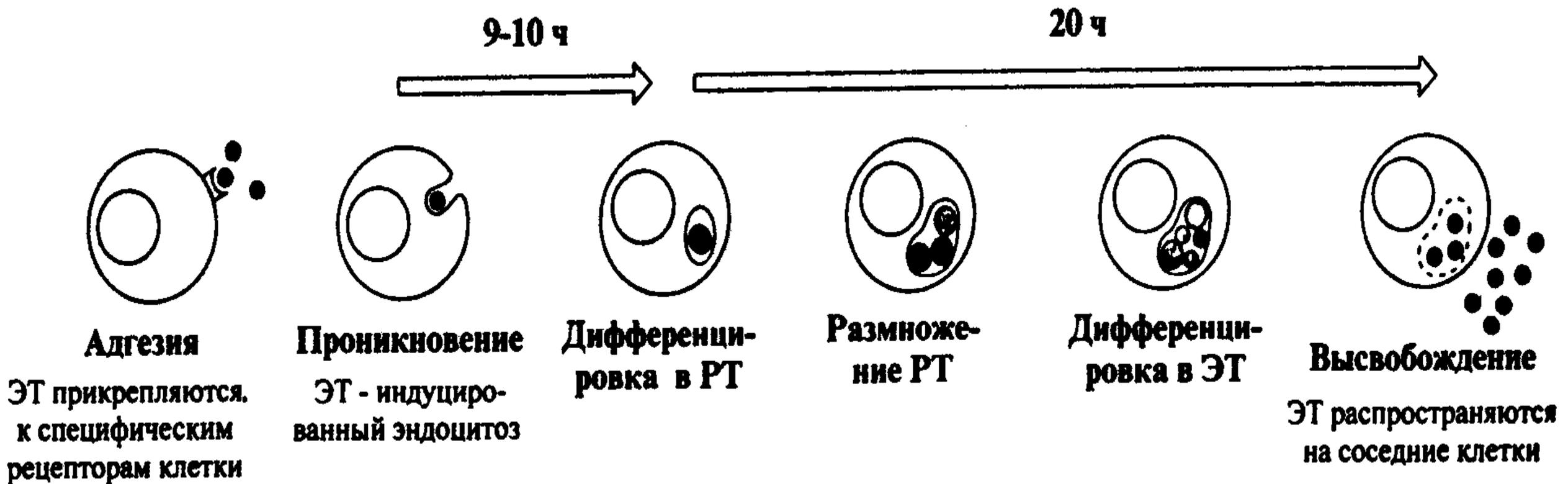
Рост и размножение бактерий

Кроме бинарного деления некоторые прокариоты имеют иные способы размножения:

- Актиномицеты - **фрагментацией гифов**;
- Стрептомицеты - **спорами**;
- Микоплазмы - бинарным делением и **почкованием**; при почковании основной морфологической репродуцирующейся единицей являются элементарные тельца сферической или овоидной формы, размножающиеся фрагментацией и почкованием;
- Хламидии проходят цикл развития, предусматривающий существование двух форм: внеклеточных инфекционных, малых размеров элементарных телец и внутриклеточных, метаболически активных, крупных размеров, ретикулярных телец;
- Некоторые спирохеты в неблагоприятных условиях способны **образовывать цисты**, которые **распадаясь на зёрна**, дают начало новым бактериальным клеткам.

Репликативный цикл хламидий.

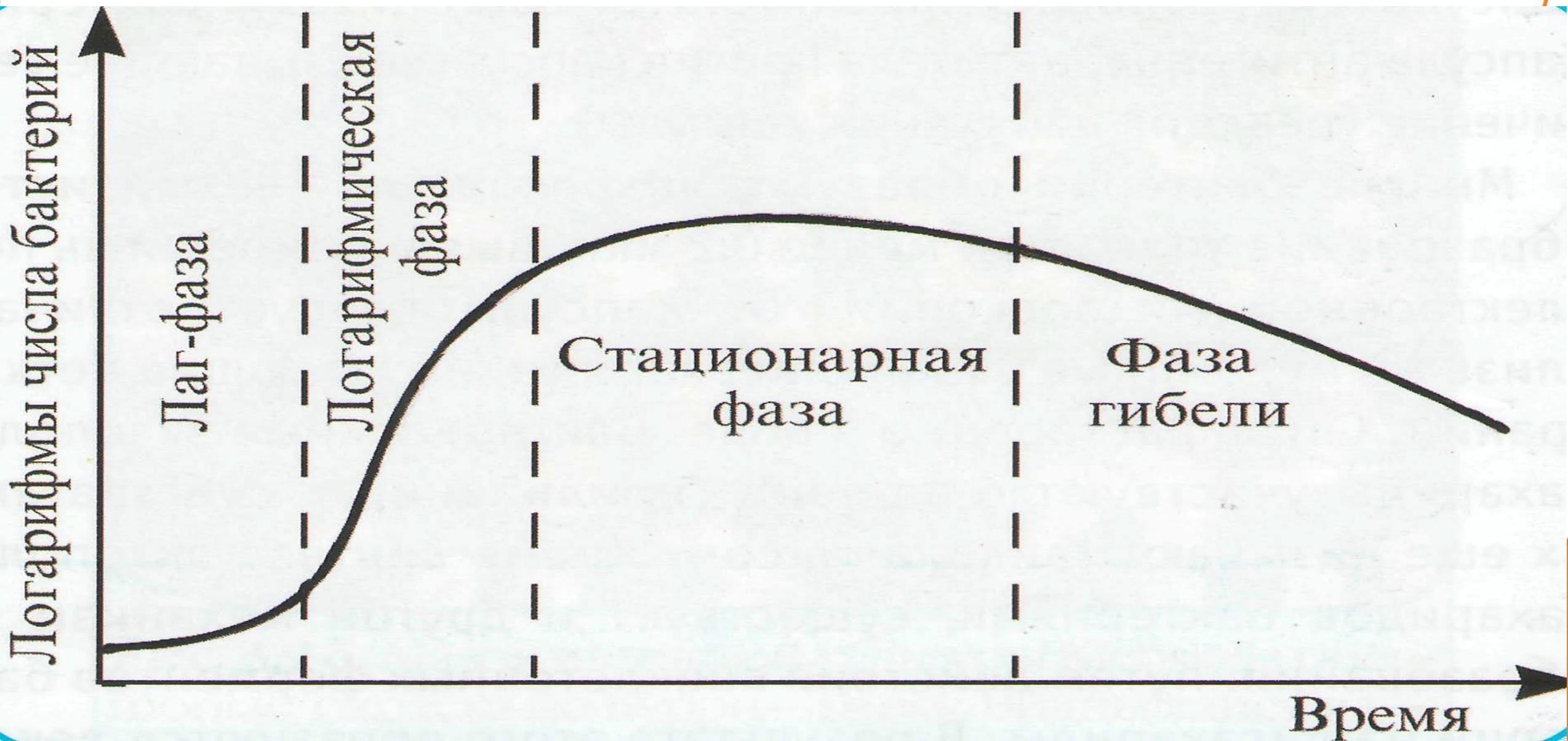
ЭГ - элементарные тельца, РТ – ретикулярные тельца



Некультивируемые формы бактерий

Некоторые неспорообразующие бактерии способны переживать неблагоприятные для размножения условия окружающей среды, переходя в некультивируемое состояние. В этом состоянии бактерии сохраняют свою метаболическую активность, но не способны к непрерывному клеточному делению, необходимому для роста на плотных и жидких питательных средах. При смене условий существования бактерии вновь приобретают способность к размножению и сохраняют свой патогенный потенциал. Переход в некультивируемое состояние обеспечивает сохранение патогенных бактерий в межэпидемические и межэпизоотические периоды. При переходе в некультивируемую форму бактерии уменьшаются в размерах, приобретают сферическую форму, меняют вязкость ЦПМ. У них сохраняется транспорт электронов по дыхательной цепи и невысокий уровень метаболизма. На переход в некультивируемое состояние влияет температура, свет, концентрация солей, парциальное давление O_2 , содержание питательных веществ и др.

Динамика развития бактериальной популяции



Динамика развития бактериальной популяции (кривая Бьюкенена):

- I. фаза - исходная стационарная
- II. фаза - задержки размножения (лаг-фаза)
- III. фаза - логарифмическая (экспоненциальная)
- IV. фаза - отрицательного ускорения
- V. фаза - максимальная стационарная
- VI. фаза - логарифмической гибели бактерий
- VII-VIII фаза - уменьшения скорости отмирания клеток

Размножение бактерий на плотных питательных средах

Бактерии на плотных питательных средах чаще образуют изолированные колонии округлой формы с ровными или неровными краями различной консистенции и цвета (пигмента).

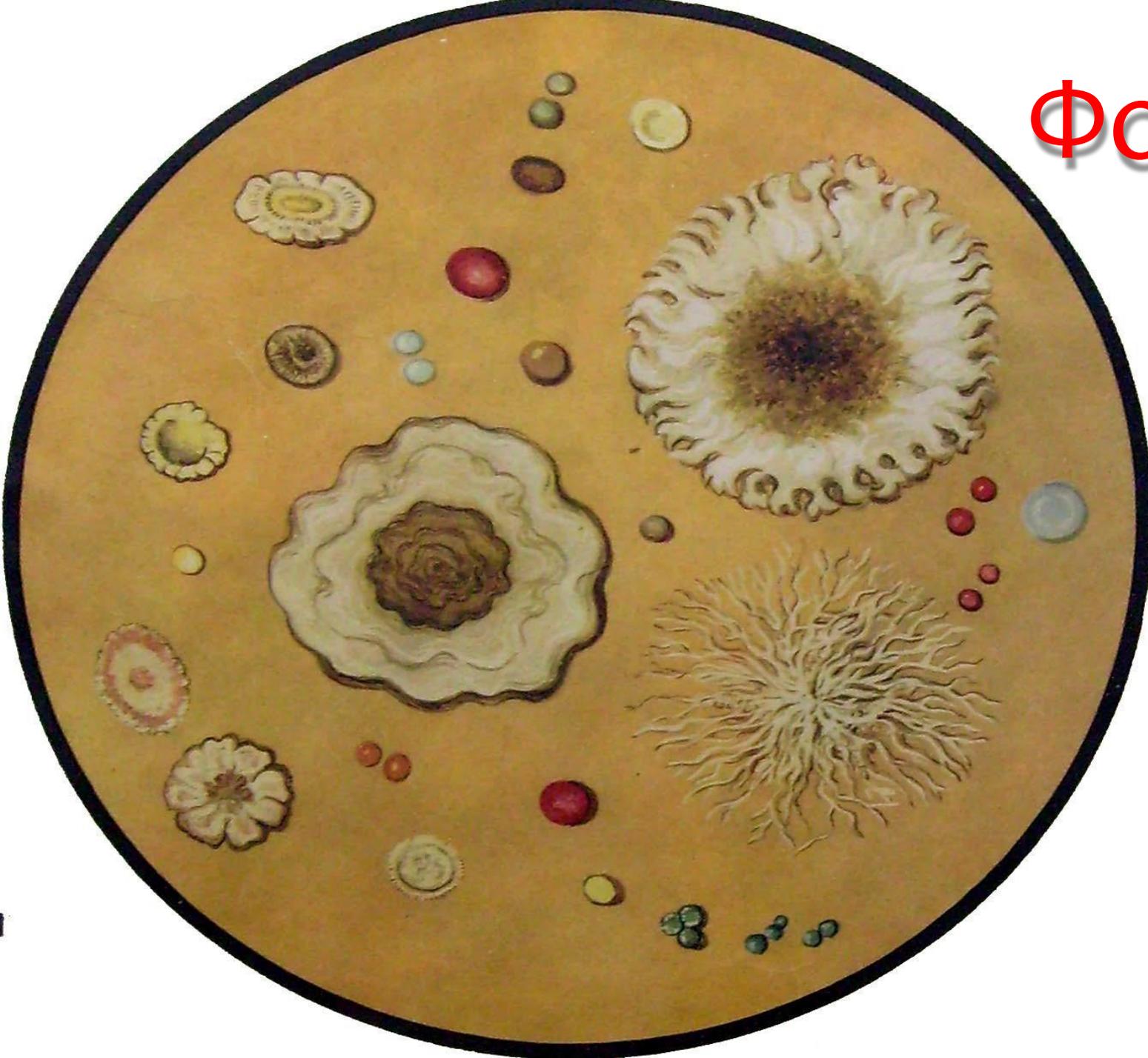
- Пигменты, растворимые в воде, диффундируют в питательную среду и окрашивают её.
- Пигменты, нерастворимые в воде, растворимы в органических растворителях.
- Пигменты, нерастворимые ни в воде, ни в органических соединениях.

Наиболее распространены пигменты: каротины, ксантофиллы, меланины.

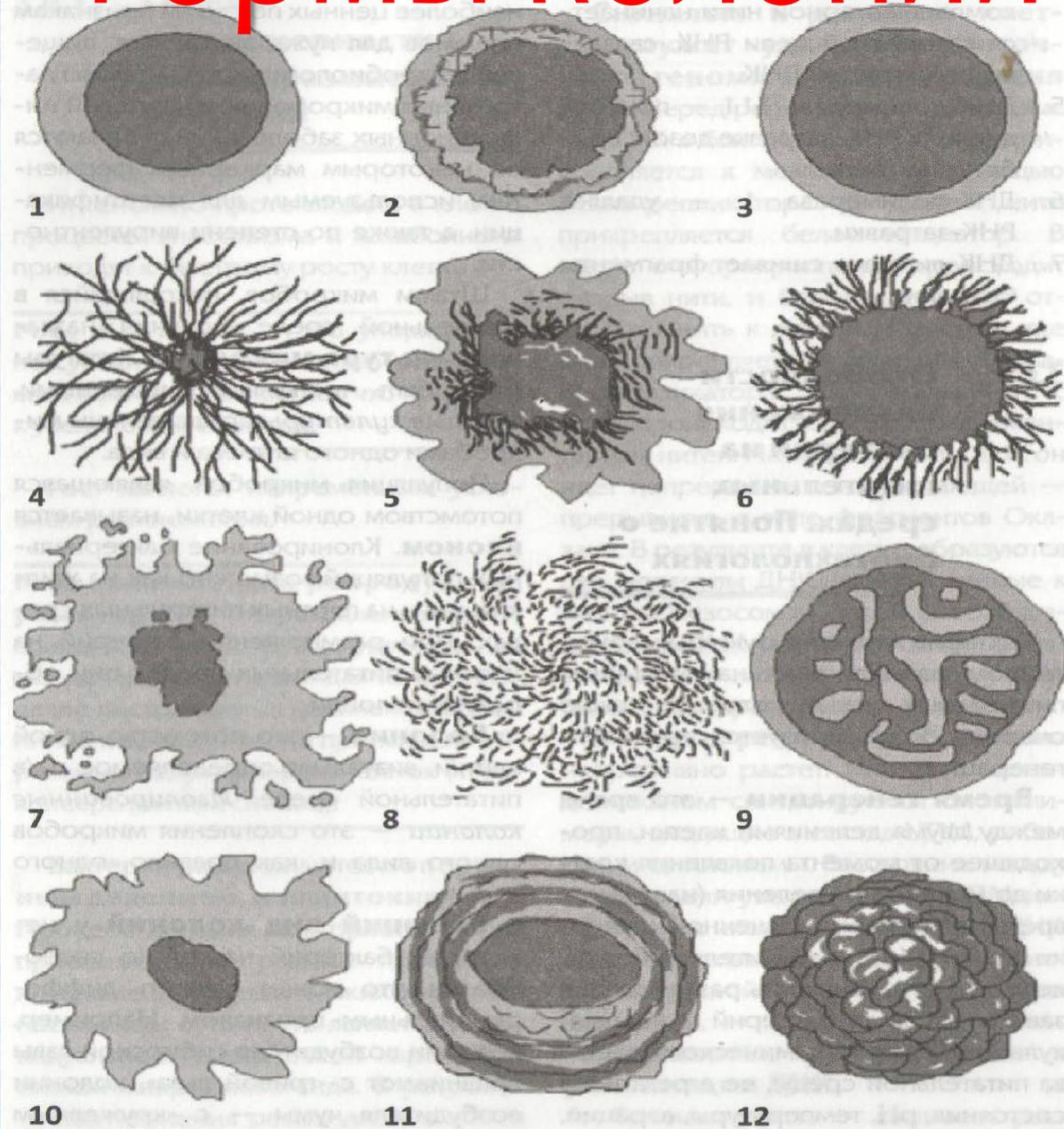
Пигменты защищают микробы от воздействия токсичных перекисных радикалов кислорода.

Многие пигменты обладают антимикробным, антибиотикоподобным действием (конкуренция).

ФОРМЫ КОЛОНИЙ



Формы колоний микроорганизмов



1. Круглые;

2. Круглые с фестончатым краем;

3. Круглые с валиком по краю;

4, 5. Ризоидные;

6. Круглые с ризоидным краем;

7. Амебоидная;

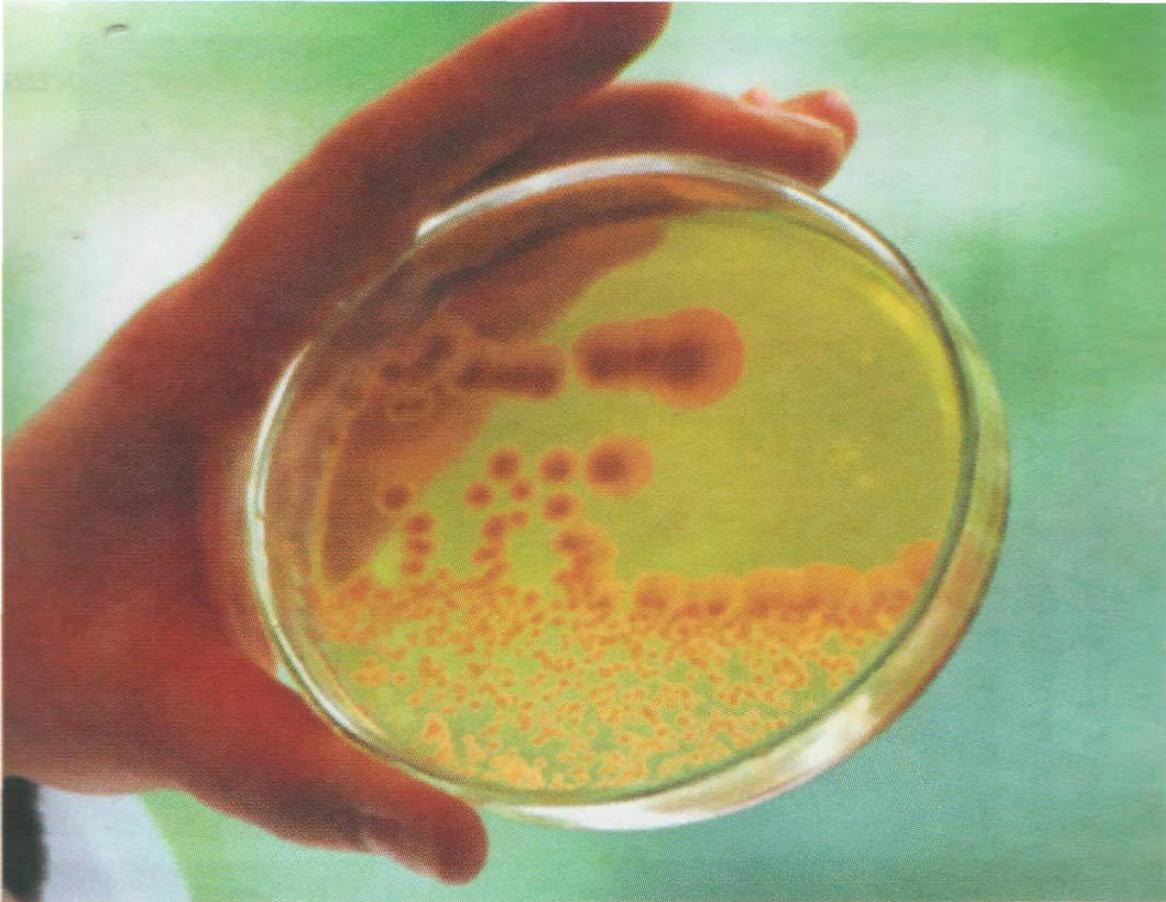
8. Нитчатая;

9. Складчатая;

10. Неправильная;

11. Концентрическая;

12. Сложная.



Clostridium spp.



Рис. 12.1. Лактозопозитивные и лактозонегативные колонии на среде Эндо

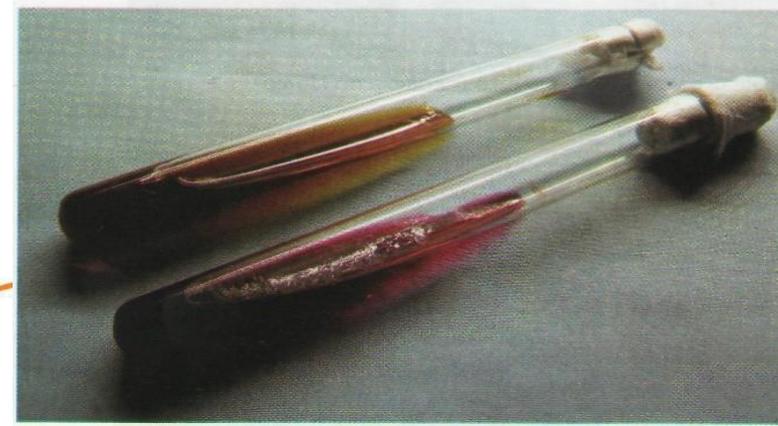


Рис. 12.2. Среда Ресселя до и после посева

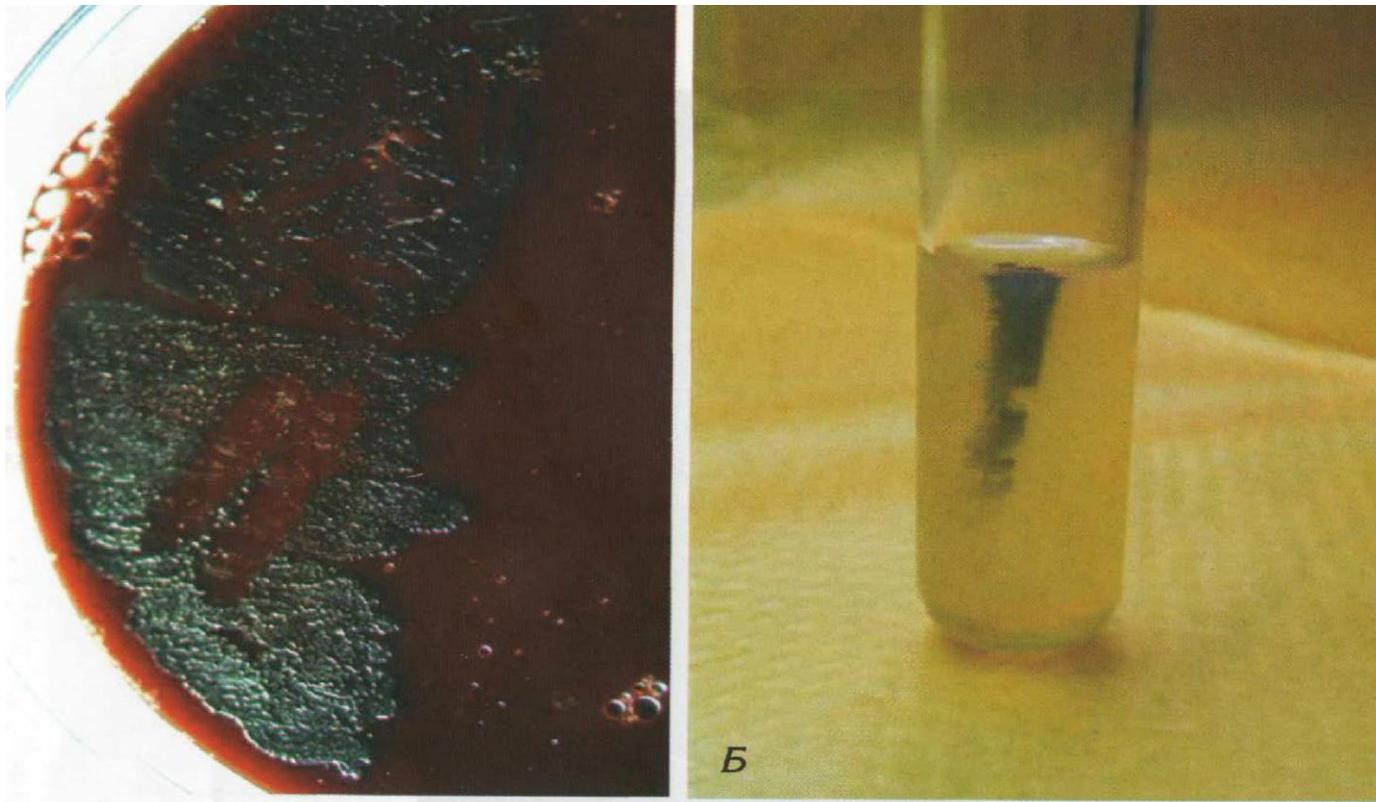
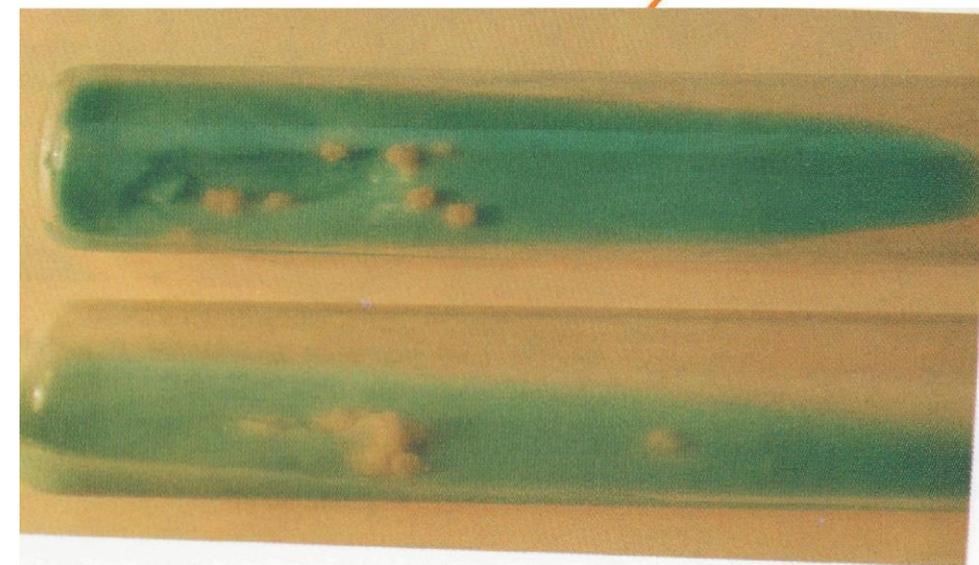


Рис. 11.7. Колонии *C. diphtheria* на кровяно-теллуритовой среде Клауберга. Тип «mitis» (А): положительная проба Пизу (цистиназа) (Б)



Размножение бактерий в жидкой питательной среде

Периодическая система культивирования - если бактерии засеваются в постоянный объём жидкой питательной среды. При размножении они потребляют питательные элементы, что ведёт к истощению питательной среды и прекращению роста бактерий.

Непрерывное культивирование - если условия культивирования поддерживать путём непрерывной подачи свежей питательной среды и оттока такого же объёма культуральной жидкости (хемотраты).

При выращивании бактерий на жидкой питательной среде наблюдается:

- придонный рост культуры,
- диффузный,
- поверхностный (в виде плёнки).

Характер роста бактерий

*На плотных питательных
средах*

Колония
– скопление клеток, выросших
из одной бактериальной клетки

*На жидких питательных
средах*

*рост в виде осадка,
диффузного помутнения,
плёнки на поверхности среды*

Характер роста бактерий на жидких средах



1



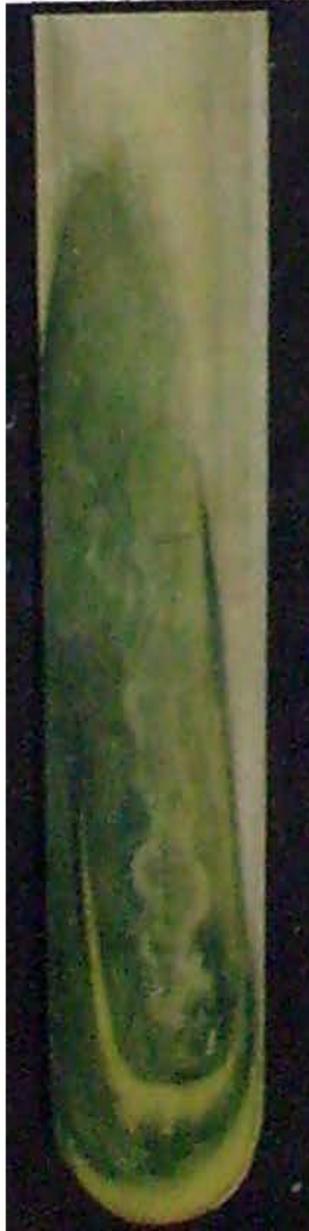
2



3

1 - придонный;
2 - плёночный;
3 - диффузный

Пигменты бактерий



Классификация пигментов бактерий

По химическому составу:

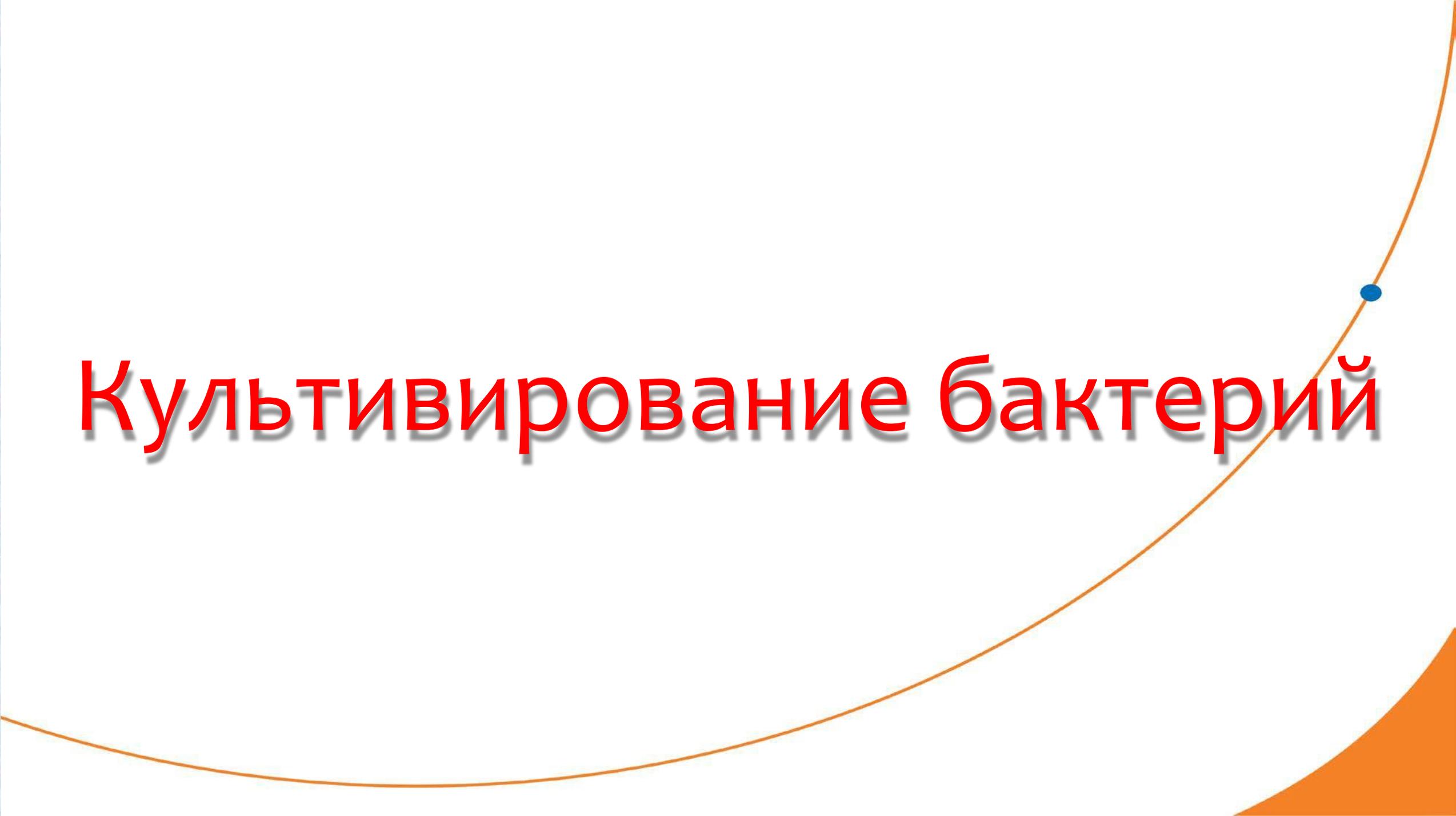
- каротиноидные (красный, оранжевый, жёлтый: *Sarcina*, *M. tuberculosis*, *Actinomices*)
- меланиновые (чёрный, коричневый: *Bacteroides niger*)
- пирроловые (красный: *Serratia*)
- феназиновые (зелёный – пиоцианин: *Pseudomonas aeruginosa*)

Классификация пигментов бактерий

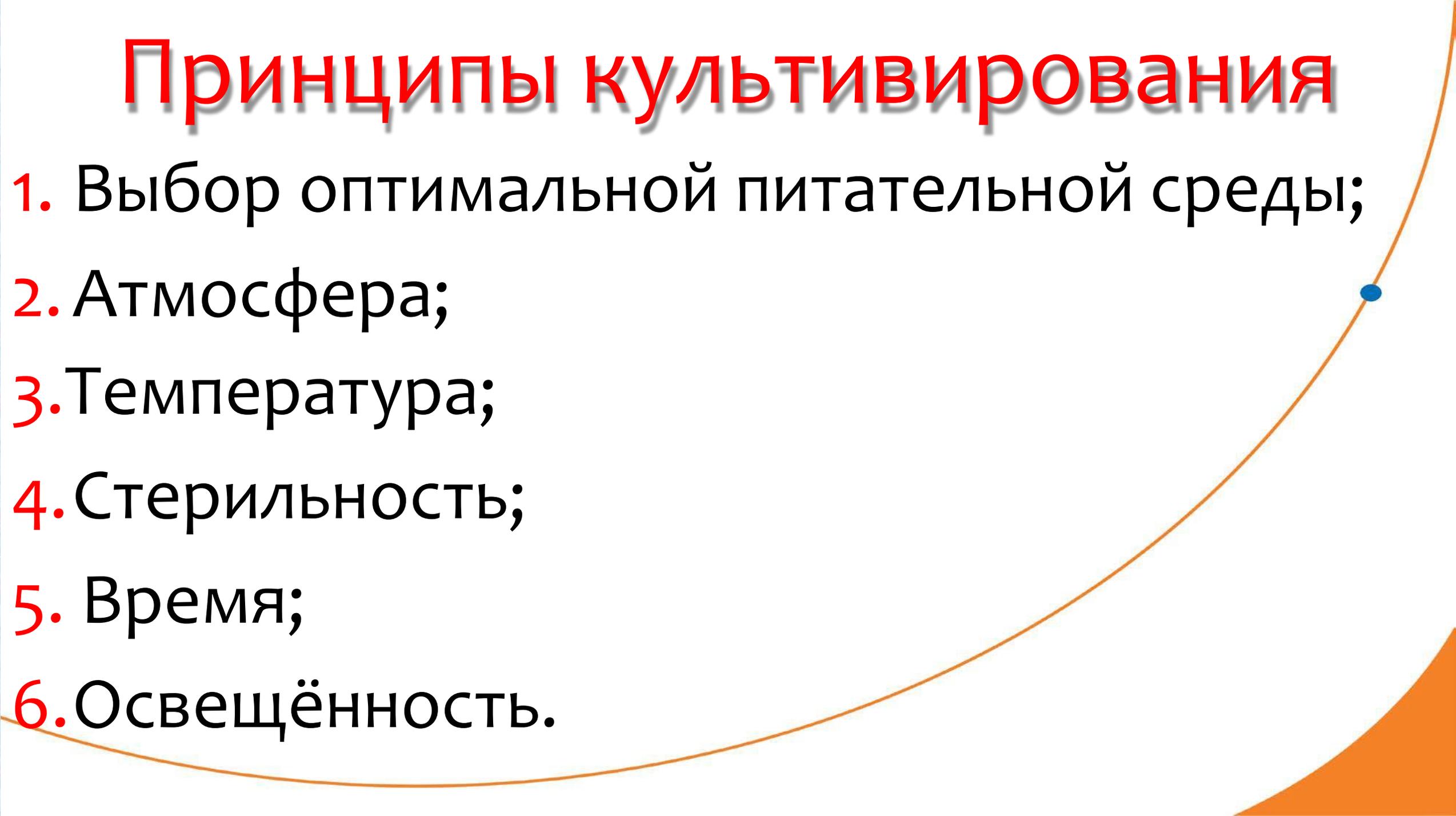
По растворимости:

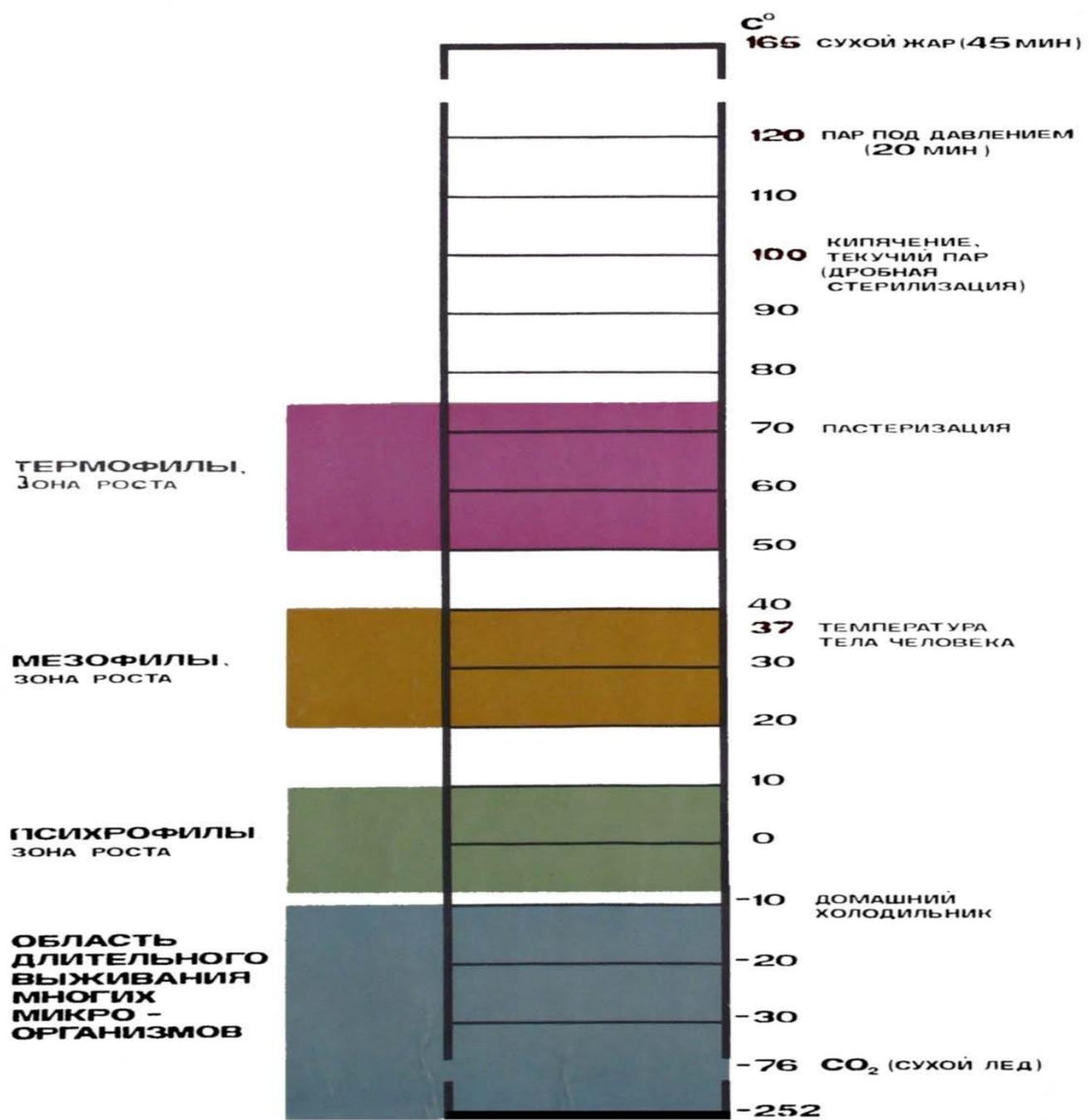
- Жирорастворимые (каротиноидные)
- Водорастворимые (фенозиновые)
- Спирторастворимые (пирроловые)
- Нерастворимые (меланиновые)

Культивирование бактерий

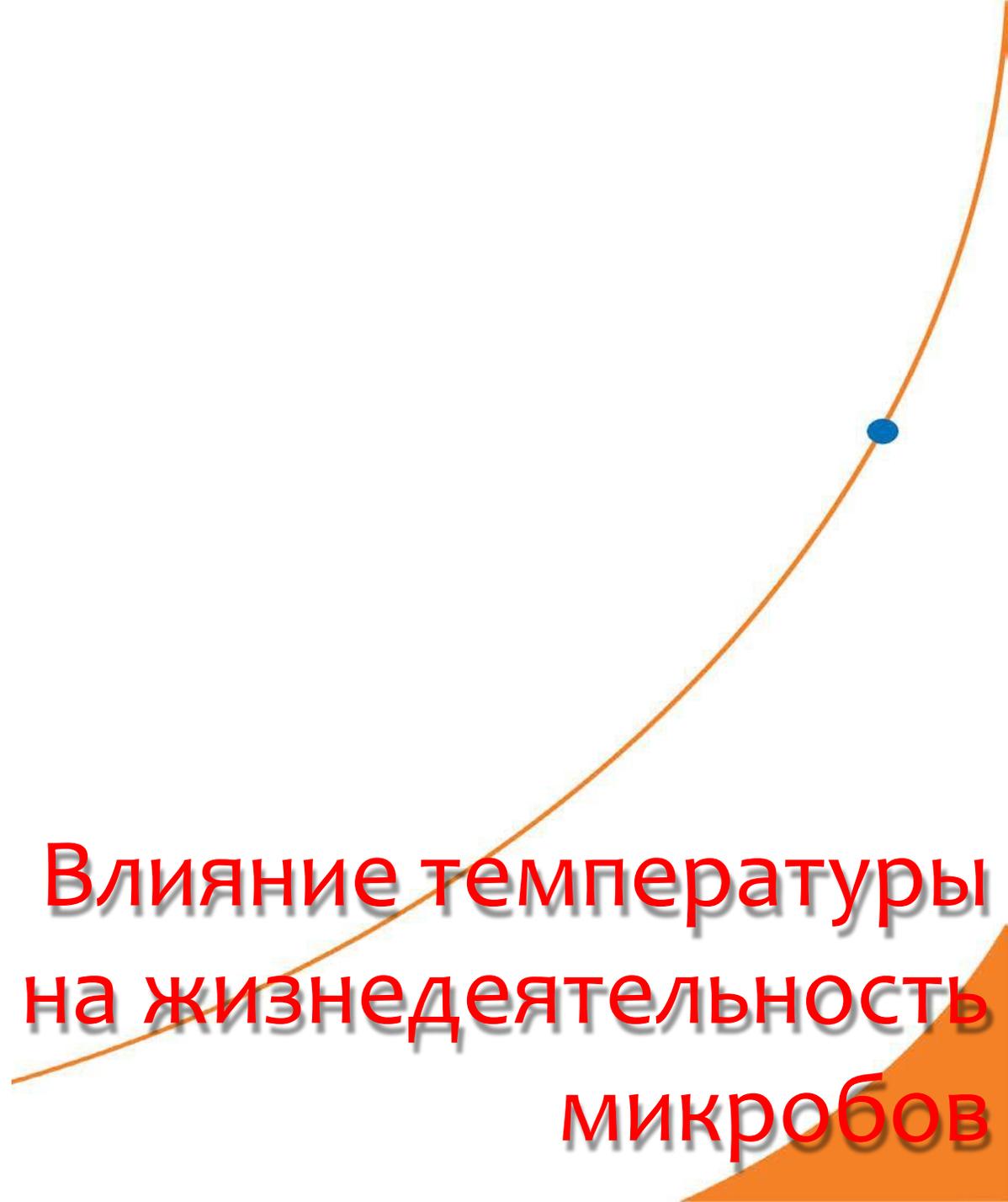
A decorative orange arc curves across the bottom of the slide, starting from the left edge and ending at the top right. A small blue dot is positioned on the upper part of this arc, to the right of the main text.

Принципы культивирования

1. Выбор оптимальной питательной среды;
 2. Атмосфера;
 3. Температура;
 4. Стерильность;
 5. Время;
 6. Освещённость.
- 



Влияние температуры на жизнедеятельность микробов



По температурному оптимуму культивирования:

1. **Мезофилы** - диапазон от +20 до +45 градусов Цельсия.
2. **Термофилы** - растут при температурах выше +45 градусов Цельсия.
3. **Психрофилы** - растут при температурах ниже +20 градусов Цельсия.

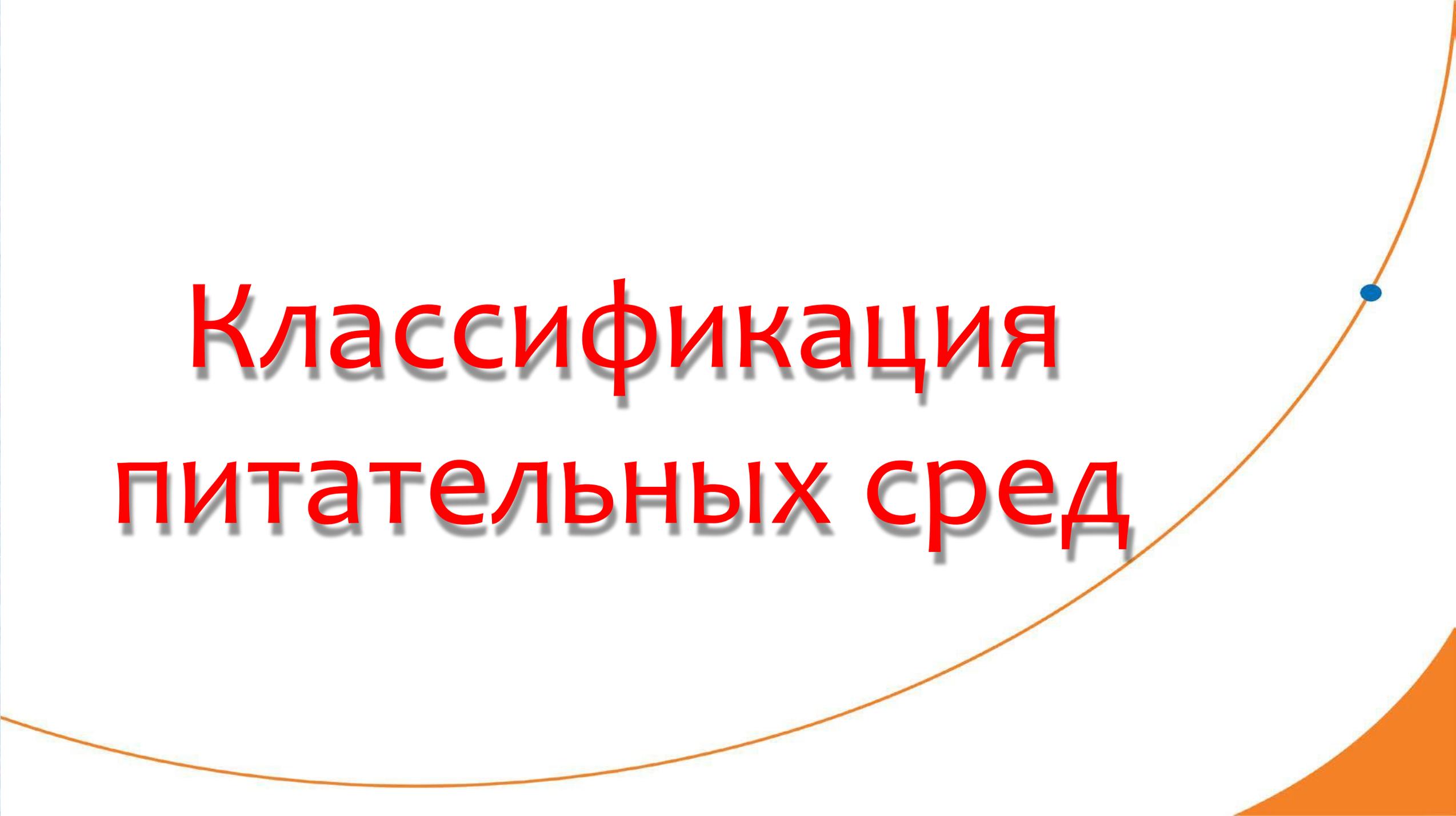
Для культивирования применяют **термостаты**.

Питательные среды

Питательные среды - биологические препараты (**жидкие, полужидкие, плотные субстраты**), используемые для получения чистых культур микроорганизмов, изучения их морфологических и физиологических особенностей, сохранения микроорганизмов в виде чистых культур в лабораторных и производственных условиях.

Питательные среды используют для выделения чистых культур бактерий, грибов, простейших из биогенных или абиогенных объектов, определения культуральных и ферментативных свойств, устойчивости к химическим, физическим, биологическим факторам, накопления микробной биомассы и продуктов биосинтеза, хранения музейных культур.

Классификация питательных сред

A decorative orange arc curves from the bottom left towards the top right. A small blue dot is positioned on this arc in the upper right quadrant.

По происхождению:

Питательные среды

```
graph TD; A[Питательные среды] --> B[Естественные (натуральные)]; A --> C[Искусственные (полусинтетические)]; A --> D[Синтетические];
```

Естественные
(натуральные)

Искусственные
(полусинтетические)

Синтетические

Естественные (натуральные) среды содержат продукты животного или растительного происхождения и имеют сложный, неопределённый, непостоянный химический состав, на них хорошо развиваются многие виды микроорганизмов, но мало пригодны для изучения физиологии и метаболизма микроорганизмов (молоко, яйца, картофель, кровь, желчь, овощные и фруктовые соки, животные ткани).

Искусственные (полусинтетические) среды содержат соединения известной химической природы (соли, углеводы, азотистые вещества) и вещества неопределённого состава (настои, отвары животного и растительного происхождения).

Синтетические среды содержат только химически чистые соединения в точно указанных концентрациях, т. е. состав их полностью известен, стандартны и воспроизводимы с высокой степенью точности, удобны для изучения метаболизма микроорганизмов.

По составу:

Питательные среды

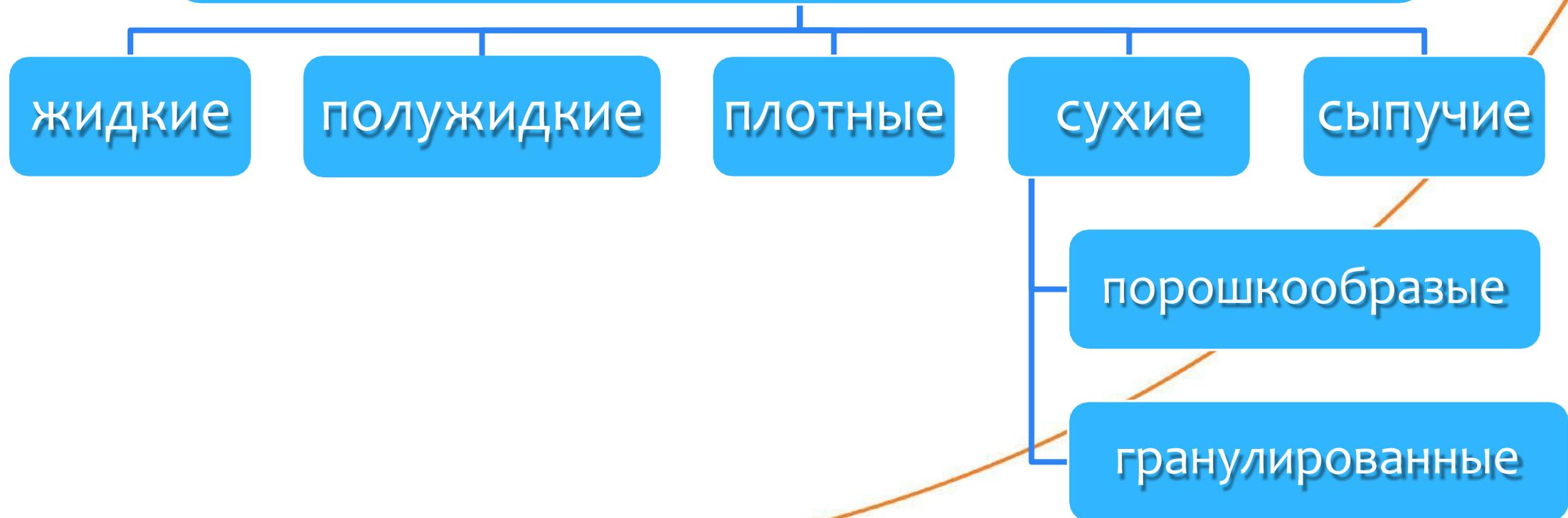
```
graph TD; A[Питательные среды] --> B[простые]; A --> C[сложные];
```

простые

сложные

По консистенции:

Питательные среды



Жидкие среды используют для накопления биомассы или продуктов обмена, изучения физиолого-биохимических особенностей микроорганизмов, поддержания и хранения микроорганизмов, плохо развивающихся на плотных средах.

Полужидкие среды используют для хранения культур (**содержат 0,5% агара**).

Плотные среды используют для выделения чистых культур, количественного учёта микроорганизмов, определения их антагонистических свойств и в ряде других случаев (**содержат 1,5-2% агара**).

Сухие среды представляют собой порошки или гранулы, влажность которых не превышает 10%, легко растворяются в воде, выпускаются по соответствующим технологиям на производствах в различных количествах, удобны для хранения, транспортировки и приготовления готовых к употреблению сред.

Сыпучие среды используют в медицинской и микробиологической промышленности для хранения посевного материала, культур-продуцентов (**отруби, разваренное пшено, кварцевый песок, пропитанные питательным раствором**).

По назначению:

Универсальные

Специальные

Пригодны для выращивания микроорганизмов многих видов, могут применяться для одноразового посева или длительного культивирования, в качестве основы для приготовления специальных сред.

(СПА, ГРМ-агар, ГМФ-агар, агар и бульон Хоттингера и др.)

- Элективные (избирательные);
- Дифференциально-диагностические (индикаторные);
- Накопительные (обогащения)
- Комбинированные
- Транспортные (консервирующие)

Элективные (селективные) среды применяют для выделения чистых культур микроорганизмов из мест их естественного обитания или получения накопительных культур, обеспечивают преимущественное развитие одного вида или группы микроорганизмов (**ЖСА, МСА, щелочной агар и др.**).

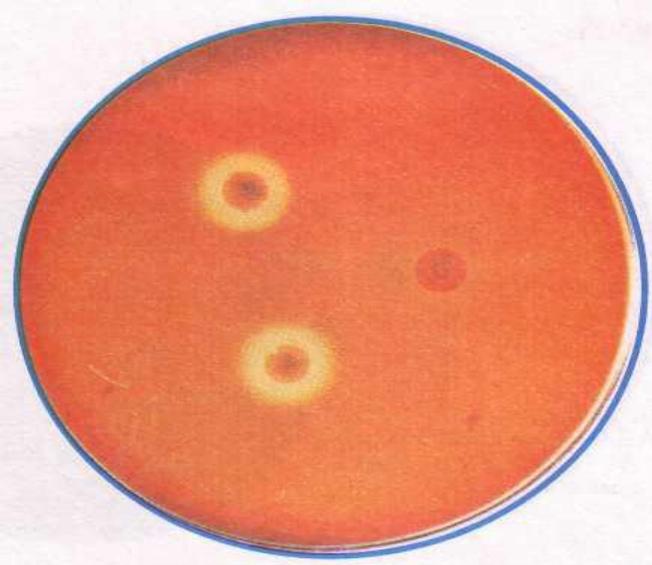
Накопительные (обогащения) среды используют для стимуляции роста какого-то определённого микроорганизма, ингибируя рост других.

Дифференциально-диагностические (индикаторные) среды используют для изучения ферментативных свойств и дифференциации микроорганизмов по их ферментативной активности.

Комбинированные среды сочетают селективную среду, подавляющую рост сопутствующей микрофлоры, и дифференциальную среду, диагностирующую ферментативную активность выделяемого микроорганизма (**среда Плоскирева, висмут-сульфит агар и др.**).

Хромогенные среды – дифференциально-диагностические среды, содержащие хромогенный субстрат для выявления высокоспецифичных ферментов у микроорганизмов, при расщеплении которого образуются окрашенные и/или флюоресцирующие продукты, в результате чего выросшие колонии окрашиваются в определённый цвет или приобретают способность к флюоресценции в ультрафиолете.

Транспортные (консервирующие) среды используют в клинической практике для сохранения жизнеспособности микроорганизмов при транспортировке анализа из клиники в лабораторию (**в интервал времени от взятия материала до его посева**).



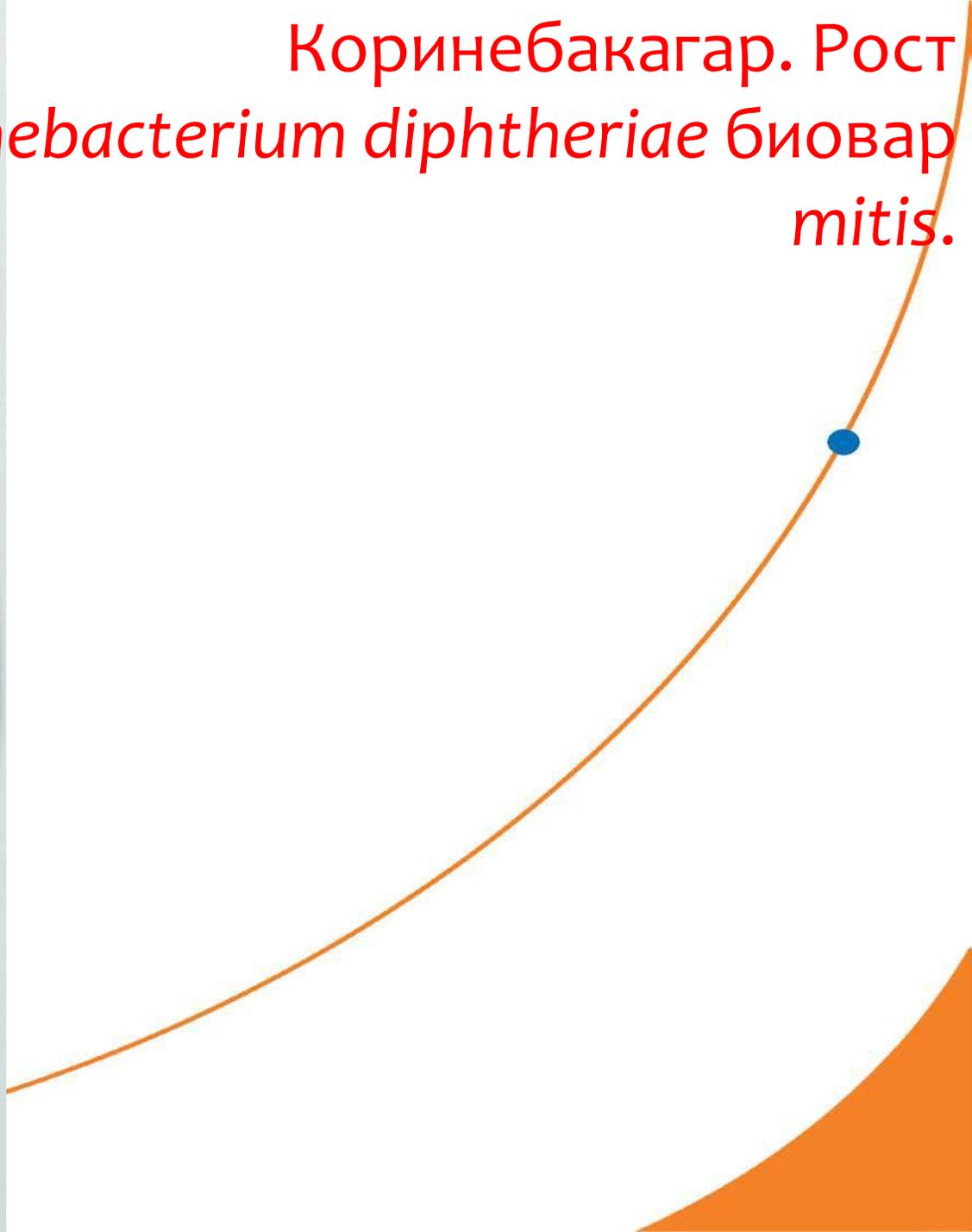
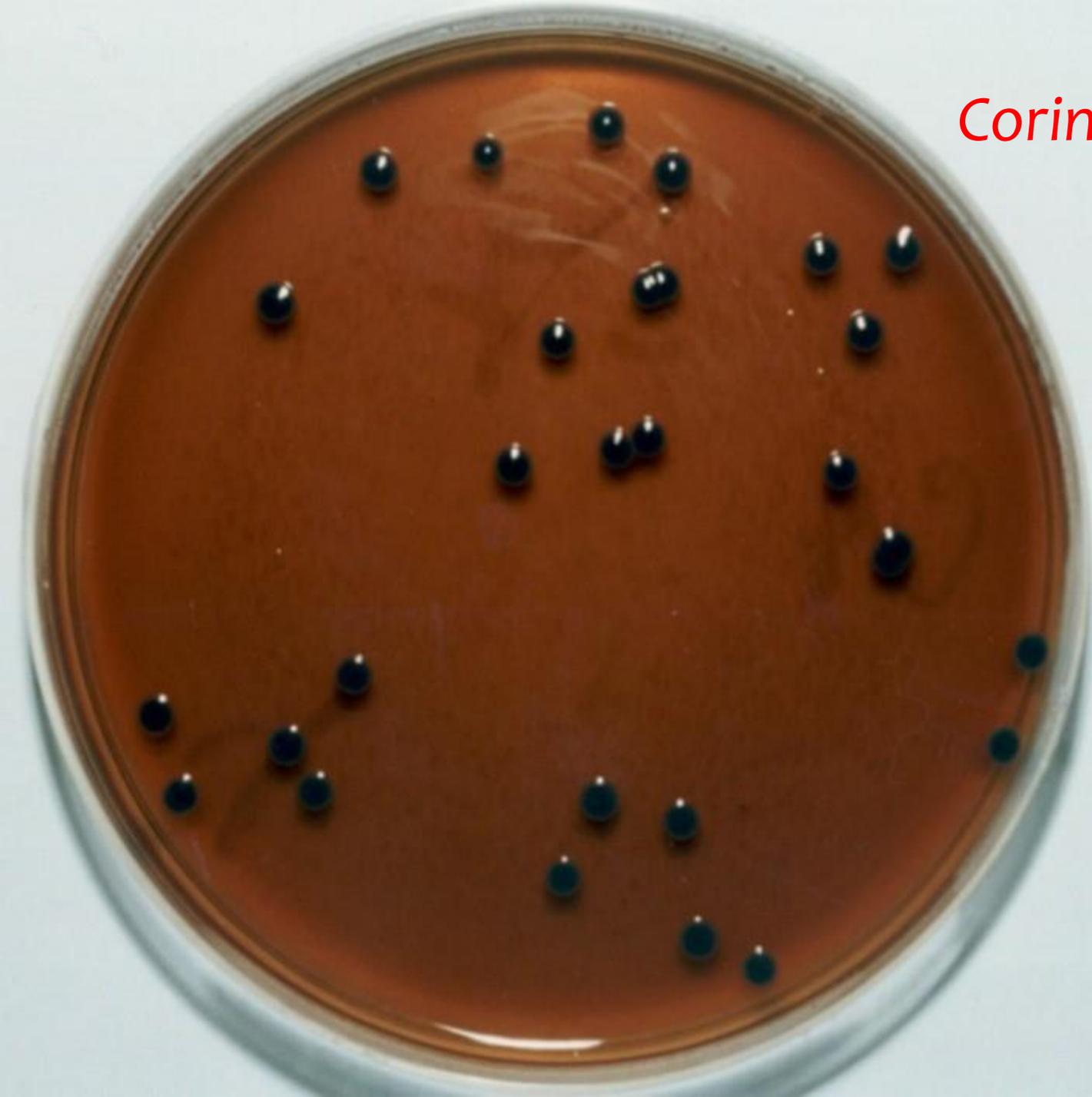
Элективные (избирательные) среды - используют для выделения определённых видов бактерий. Желточно-солевой агар (ЖСА) - элективная среда для стафилококков.

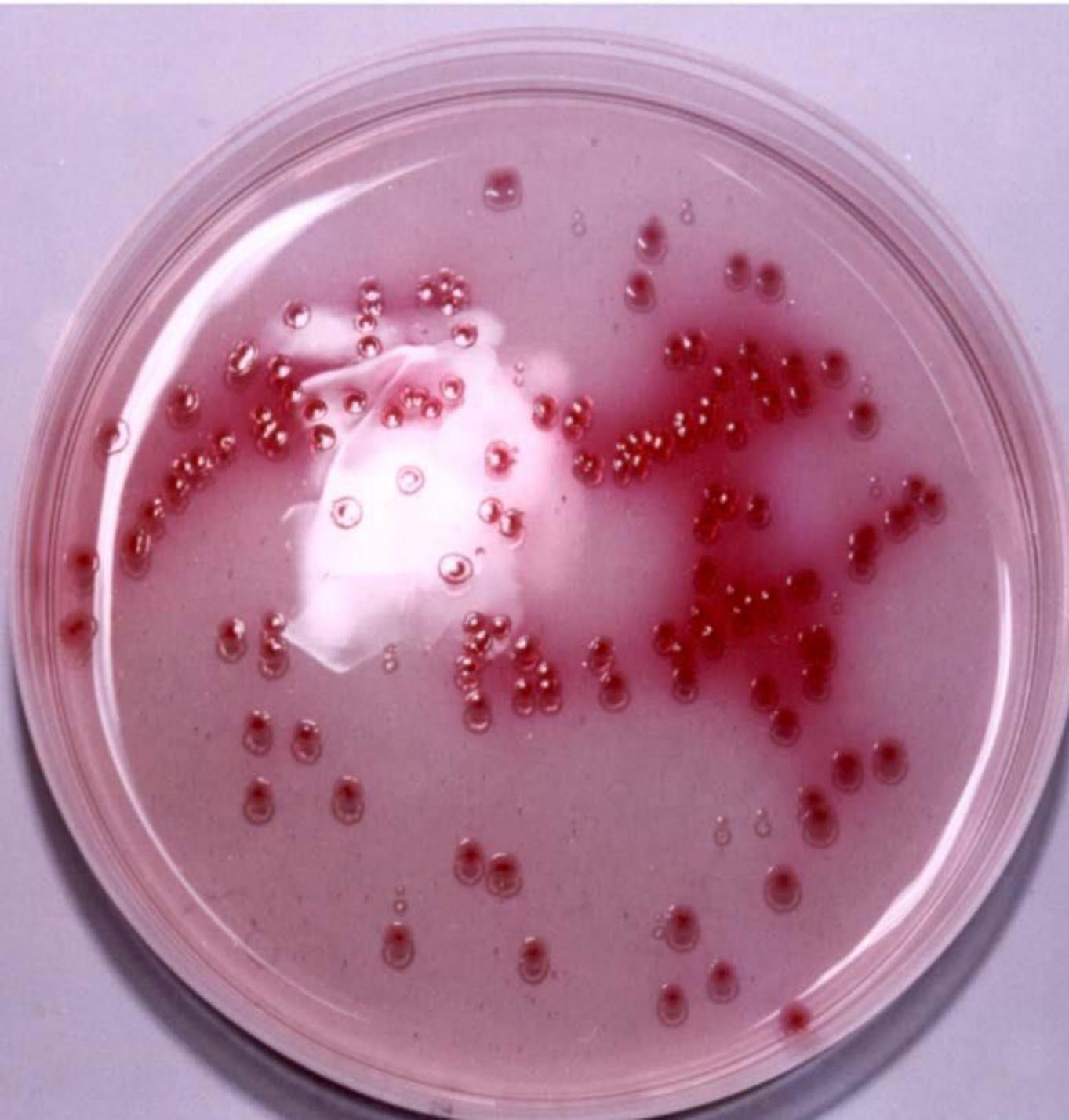
Щелочный МПА - для холерного вибриона.
Свёрнутая сыворотка - для коринебактерий дифтерии.



Среды обогащения - для выделения определённых бактерий, подавляя сопутствующие микроорганизмы (пример: селенитовый бульон - для выделения сальмонелл и шигелл из фекалий, подавляет рост сопутствующей микрофлоры - кишечной палочки).

Коринебакагар. Рост
Corinebacterium diphtheriae биовар
mitis.

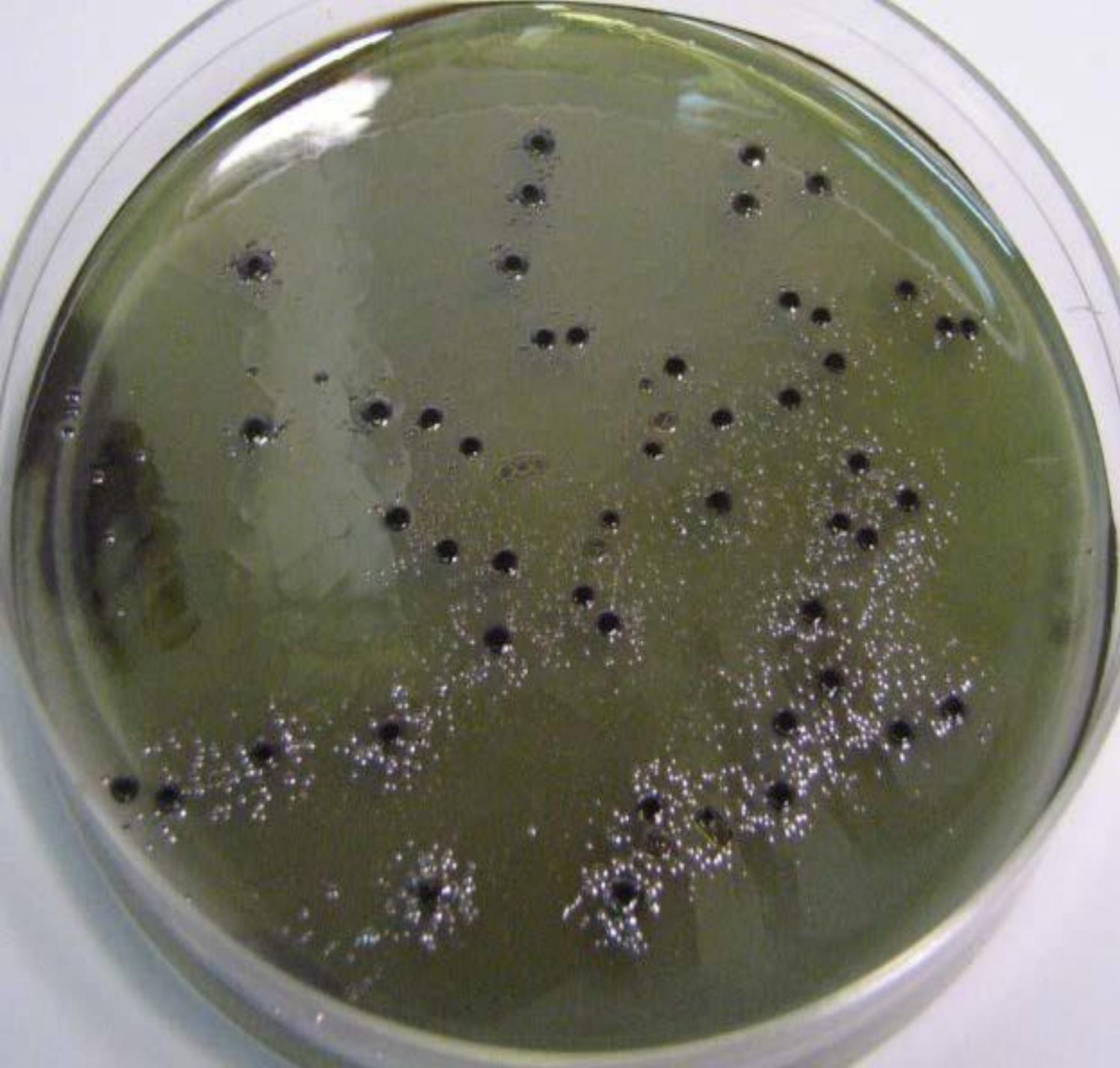




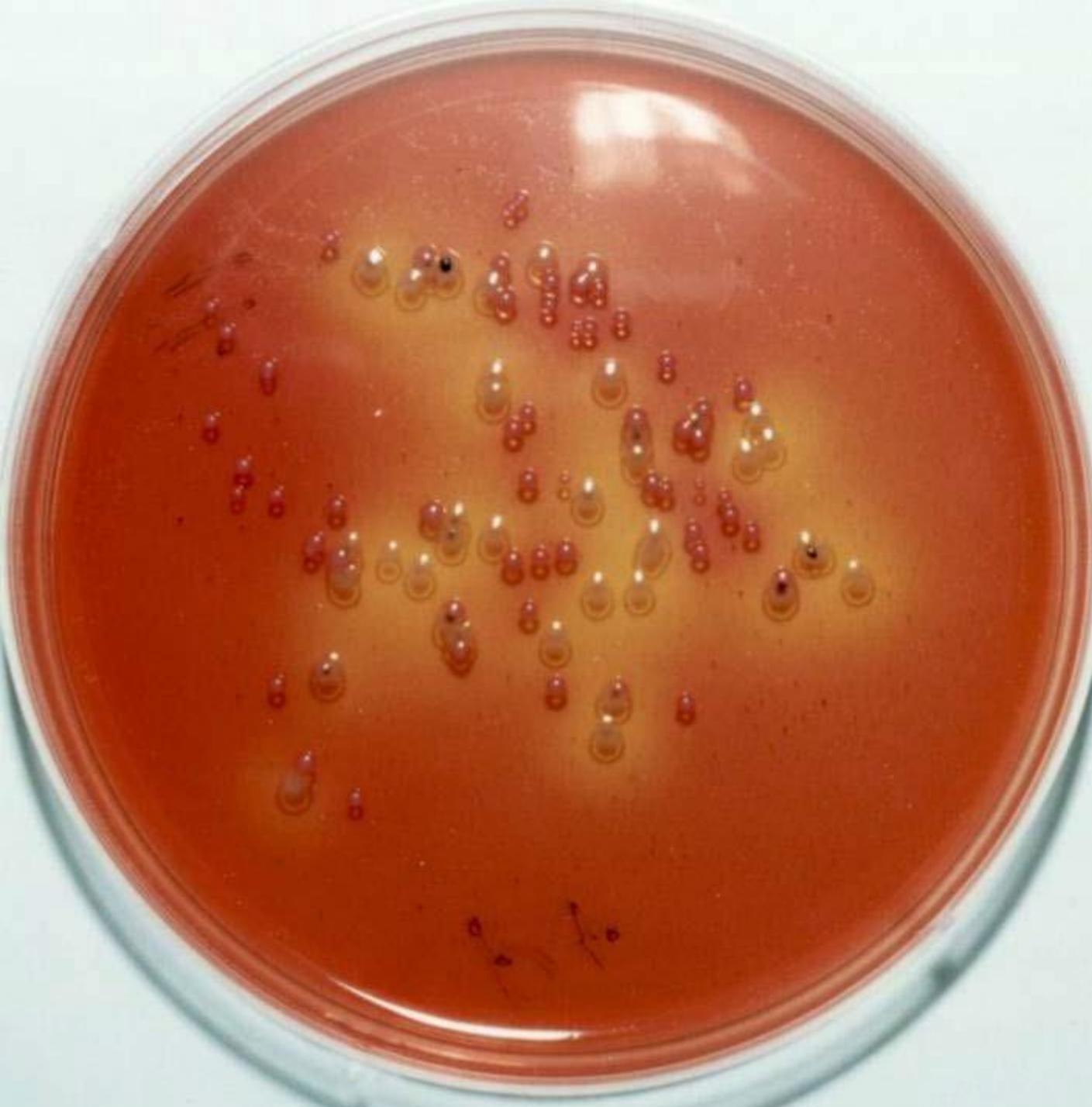
Среда Эндо-ГРМ.
Дифференциация *S. sonnei*
(бесцветные или бледно-розовые
прозрачные колонии) и *E. coli* -
малиновые круглые с
металлическим блеском.



Среда Левина-ГРМ.
1 - тёмно-фиолетовые
колонии с зелёным
металлическим блеском -
E. coli; 2 - бесцветные
прозрачные колонии - *S.*
flexneri.

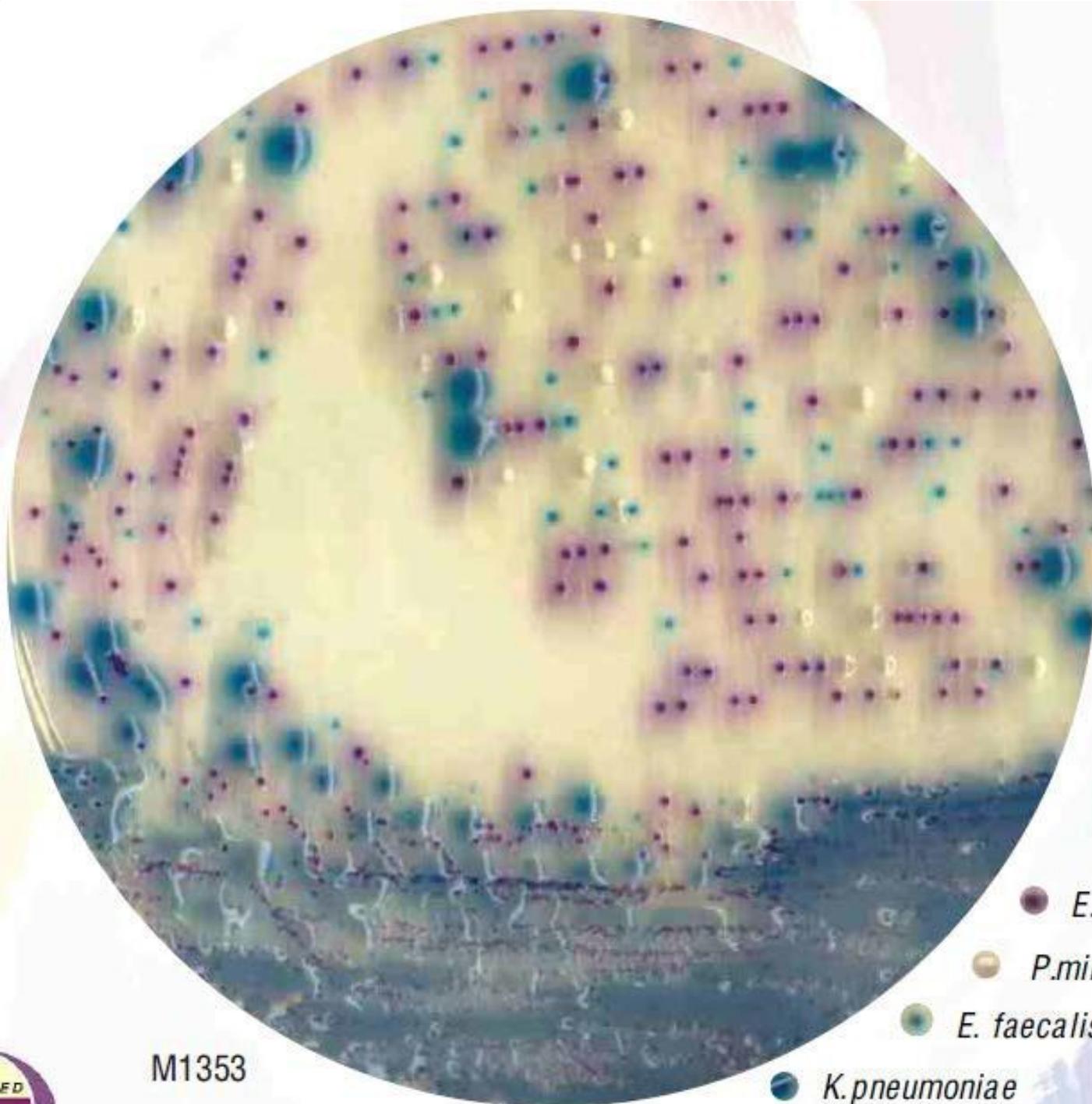


Висмут-сульфит-ГРМ агар.
1 – чёрные колонии с
блестящей зоной вокруг них *S.*
turpithurium; 2 – мелкие
зеленоватые колонии = *E. coli*



SS-АГАР. Дифференциация *E. coli* (красные круглые колонии) и *Salmonella spp.* (бесцветные прозрачные круглые колонии, некоторые, продуцирующие H₂S – с тёмным центром)

Хромогенная питательная среда



● *E. coli*

● *P. mirabilis*

● *E. faecalis*

● *K. pneumoniae*

M1353



Полиэтиленгликоль «+»
β-галактозидаза «+»
Колиформы

Полиэтиленгликоль «+»
β-галактозидаза «-»
Salmonella spp.,
кроме S. Typhi и S. Paratyphi A

По целевому использованию

Производственные

Непроизводственные

- Среды используемые в процессе получения и контроля МИБП
- Белковые основы (пептоны, гидролизаты и др.)
- Стимуляторы роста (дрожжевые и др. экстракты)
- Среды для проверки препаратов на стерильность

Многочисленные и разнообразные среды, применяемые в здравоохранении и в исследовательских целях (для выращивания и выделения, идентификации микроорганизмов)

По способу производства:

Коммерческие

- Готовые к применению
- Сухие

Лабораторного изготовления

готовятся непосредственно в лаборатории по прописям, возможно внесение лабильных соединений, обеспечивающих рост требовательных микроорганизмов, непосредственно перед посевом

Коммерческие питательные среды изготавливаются промышленным способом. Их использование в практике предпочтительно так как они более стандартны, технологический процесс их изготовления строго регламентирован, качество на всех этапах производства контролируется по физико-химическим и биологическим показателям в соответствии с требованиями нормативной документации.

Готовые среды выпускаются в виде жидкостей или студней, могут использоваться без каких-либо предварительных манипуляций, в том числе стерилизации, содержат в своём составе компоненты, исключающие возможность изготовления её в виде сухой среды (**среда Кита-Тароцци, МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера**).

Сухие питательные среды промышленные обеспечивают лучшее качество и сравнимость результатов исследований, выпускаются в виде мелкодисперсных порошков, гранул, шариков, таблеток, хорошо растворяются в воде, имеют длительные сроки годности (**2-5 лет**).

Среды лабораторного изготовления готовятся непосредственно в лаборатории по прописям, возможно внесение лабильных соединений, обеспечивающих рост требовательных микроорганизмов, непосредственно перед посевом.

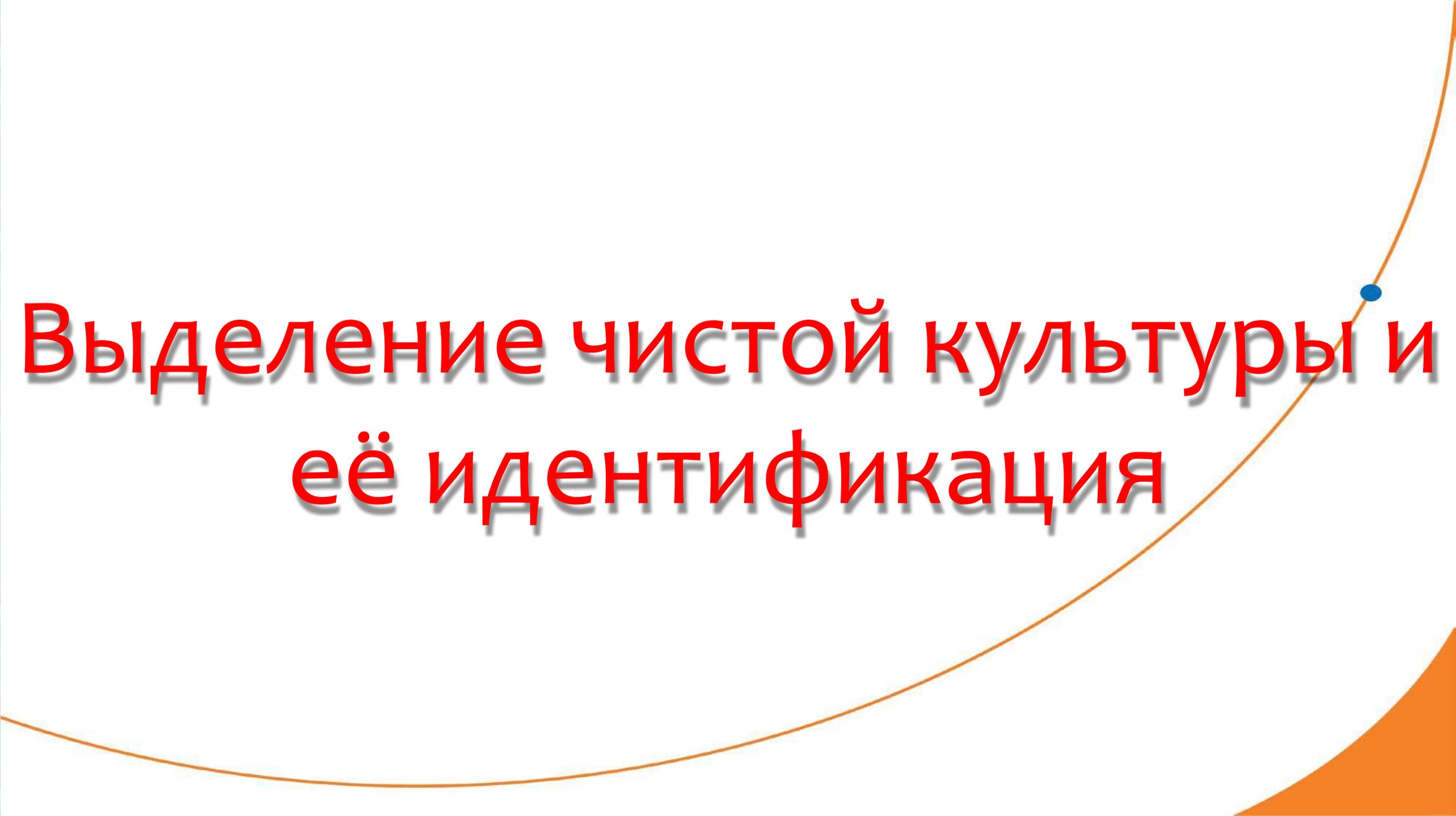
По сырью

- Среды на основе экстрактов, настоев, отваров (животного, растительного, дрожжевого сырья)
- Среды на основе гидролизатов (животных, растительных, дрожжевых) - ферментативные и кислотные
- Среды на основе автолизатов (селезёночных, рыбных, дрожжевых)
- Синтетические среды

Требования, предъявляемые к питательным средам:

- Наиболее полный набор питательных веществ для микроорганизмов
- стерильность
- изотоничность
- рН среды
- eH (окислительно-восстановительный потенциал)
- Влажность
- прозрачность среды
- Простота и доступность приготовления.

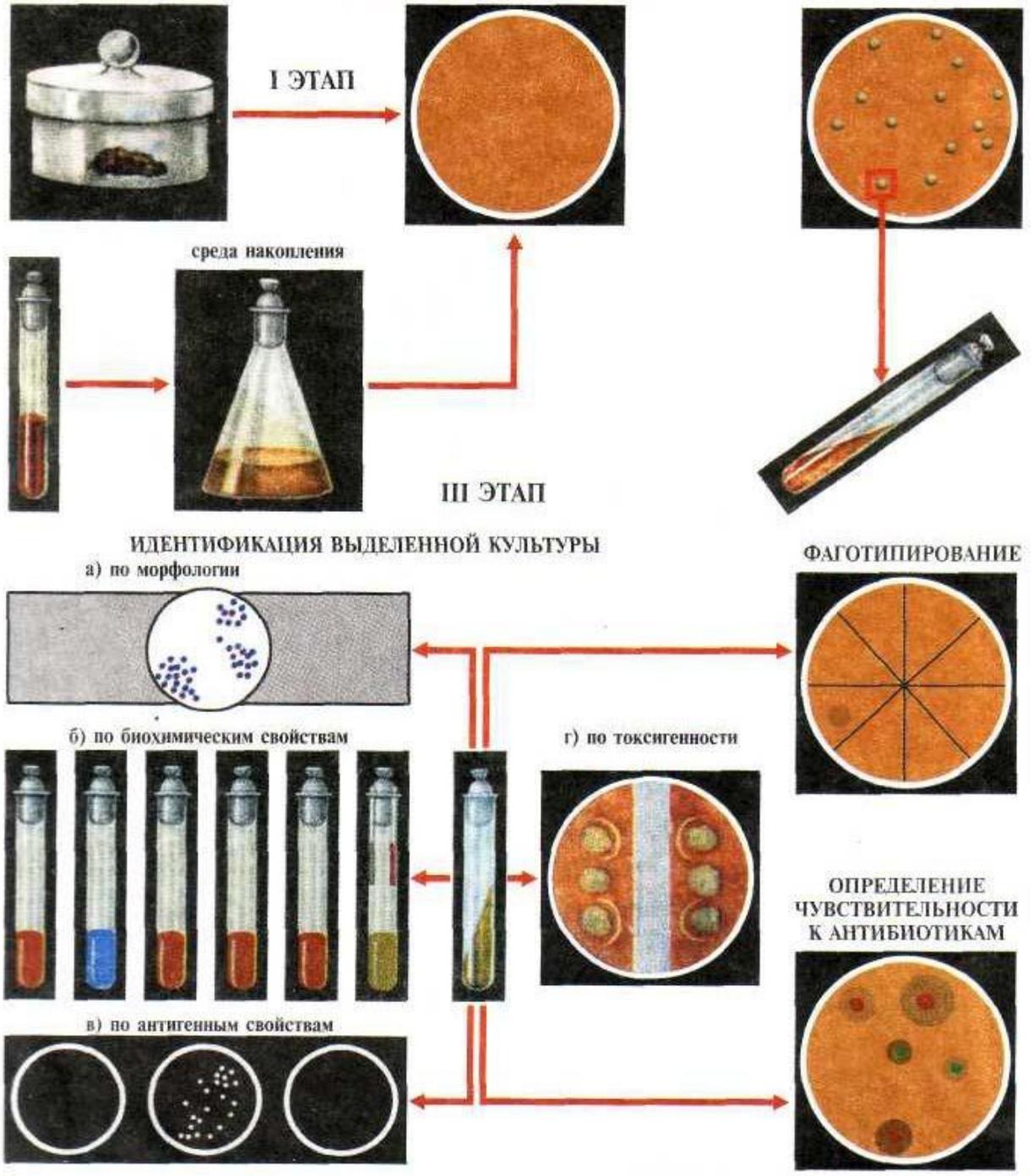
Выделение чистой культуры и её идентификация

A decorative orange arc curves across the bottom of the slide, starting from the left edge and ending at the right edge. A small blue dot is positioned on the upper part of this arc, near the right side of the frame.

Бактериологический метод

Бактериологическое исследование применяют с целью обнаружения (**индикация**) в объектах окружающей среды и клиническом материале бактерий и определения их видовой принадлежности (**идентификация**).

Метод заключается в посеве проб исследуемого материала на питательные среды для выделения чистой культуры.



Чистая культура - совокупность микроорганизмов одного вида, потомство одной клетки, выращенная на питательной среде. Чистую культуру получают путём отсева отдельных изолированных колоний.

Выделение чистых культур бактерий

производят поэтапно:

1-й день - используют механическое разобщение бактерий на плотных питательных средах (посев штрихом, шпателем на несколько чашек Петри - по Дригальскому).

Существуют методы выделения чистых культур, основанные на обработке исследуемого материала с помощью физических или химических факторов, избирательно действующих на определенные бактерии.

Для выделения чистых культур используют способность некоторых бактерий быстро размножаться в организме восприимчивых к ним лабораторных животных.



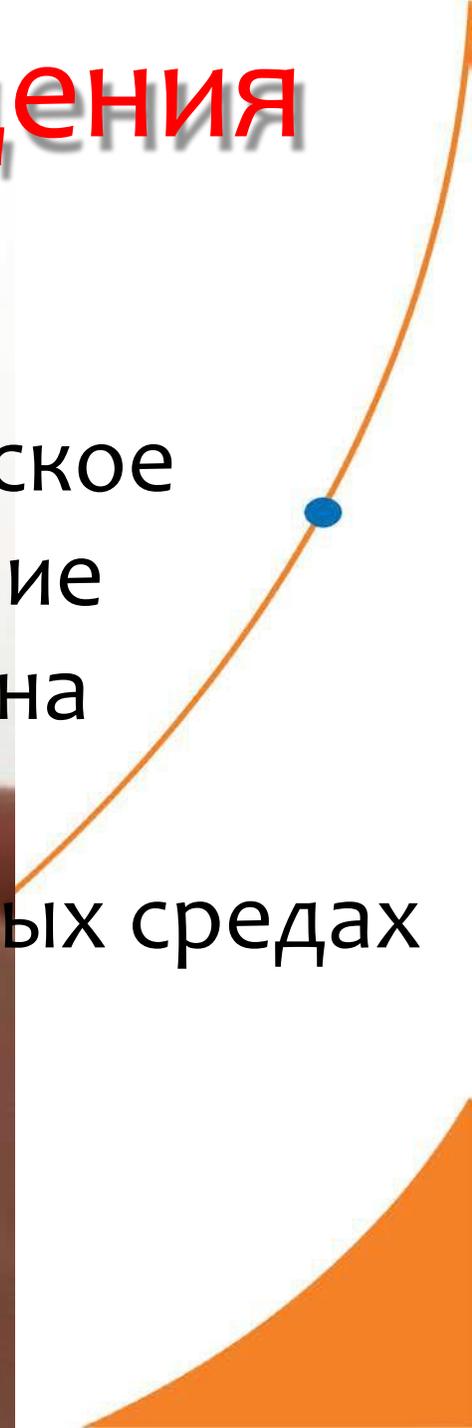
При выделении чистых культур анаэробов посеvy исследуемого материала производят в анаэробных условиях на специальных средах с пониженным редокс-потенциалом в анаэростатах.



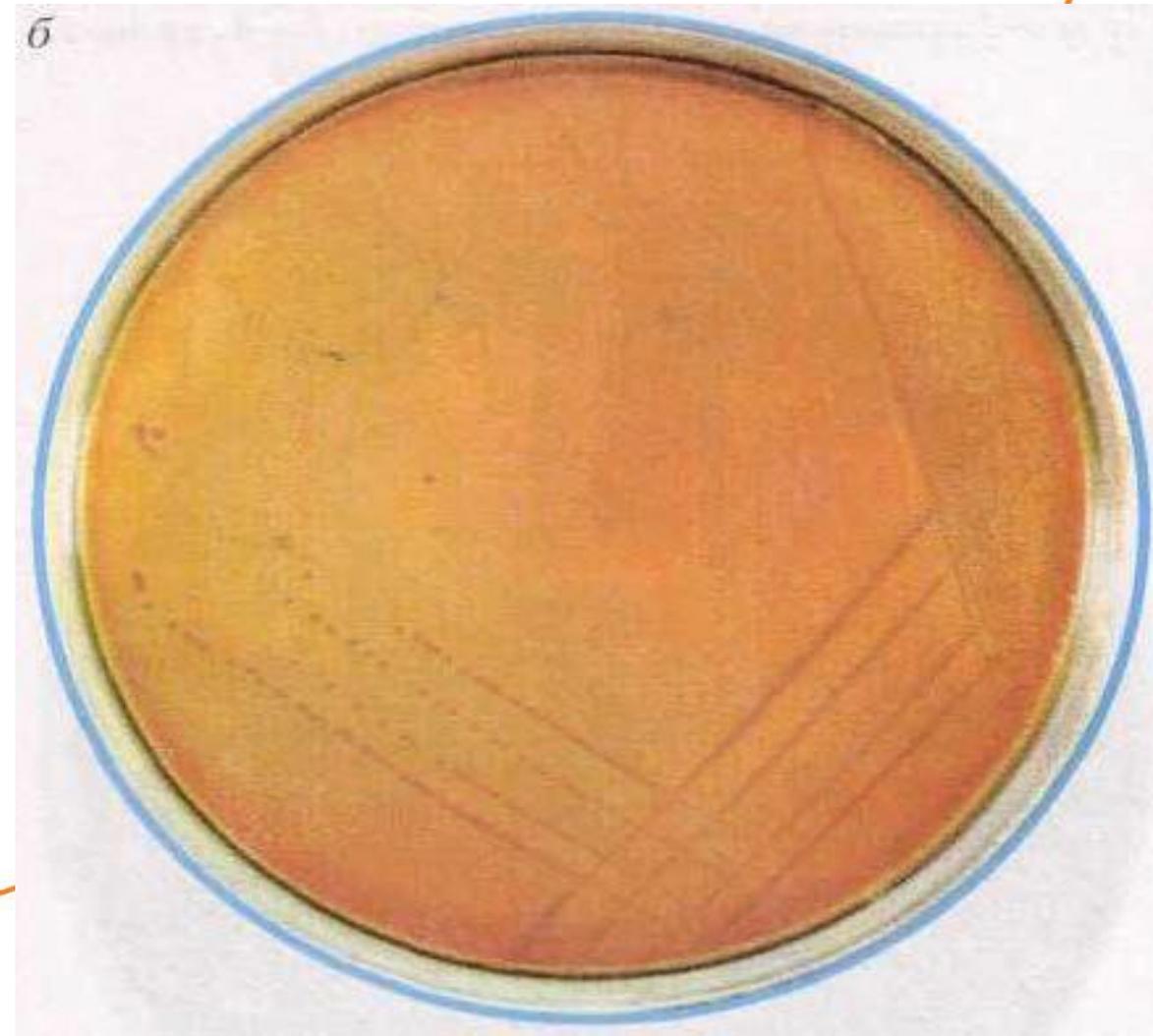
Метод механического разобщения



механическое
разобщение
бактерий на
плотных
питательных средах



Получение изолированных колоний



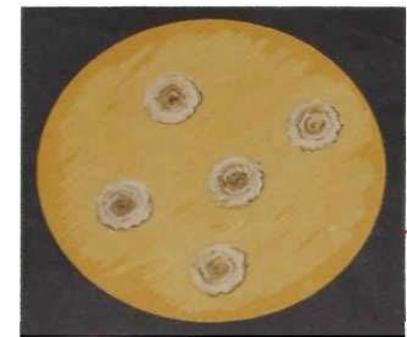
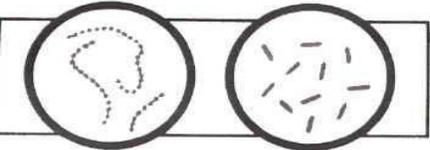
Выделение чистой культуры

Выросшие изолированные колонии различной морфологии отсеваются

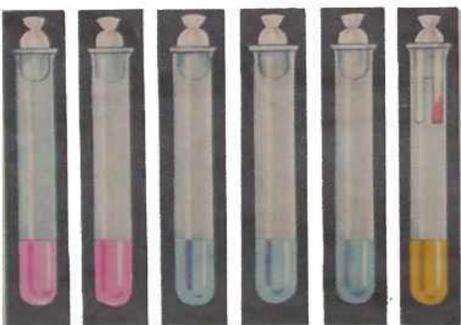


ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ

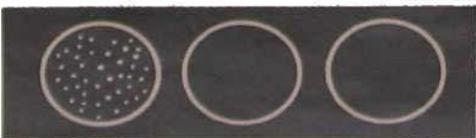
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
И ТИНКТОРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА



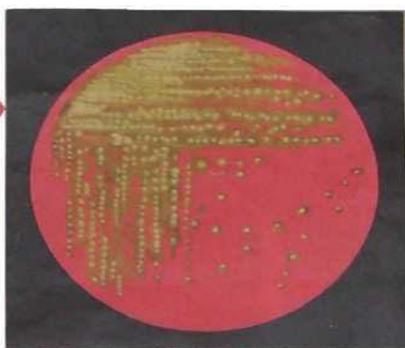
КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА



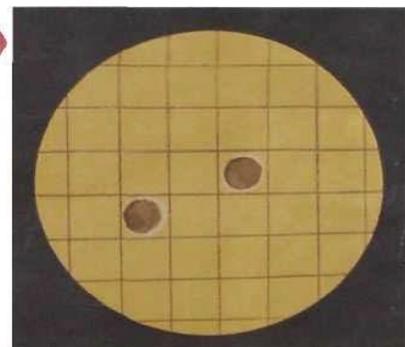
ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СВОЙСТВА



АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА



ТОКСИНООБРАЗОВАНИЕ



ФАГОТИПИРОВАНИЕ



ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
К АНТИБИОТИКАМ

2й день. Получают отдельные изолированные колонии.

Изучают культуральные свойства различных типов колоний (**размер, цвет, форма, края и др.**), выросших на чашке с плотной питательной средой. Делают пересев из каждого типа колоний на скошенный агар для накопления чистой культуры.

3й день: чистую культуру (**после проверки её чистоты путём микроскопирования**) **идентифицируют** по свойствам: морфологическим, тинкториальным, ферментативным, антигенным, определяют токсигенность, резистивность, фаговар и др.

Благодарю за внимание

Москва



АКАДЕМИЯ
ПОСТДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ФГБУ ФНКЦ ФМБА РОССИИ

Кафедра Клинической лабораторной
диагностики и патологической
анатомии

 **Денисова**
 **Ольга**
 **Владимировна**

 **Телефон +7-985-644-**
 **80-90 (в том числе**
вотсап)

 **[email.com](mailto:denisova_ov@inbox.ru)**
denisova_ov@inbox.r
u