

INSTRUKCJA WYKONANIA ĆWICZENIA nr 3

PODŁOŻA MIKROBIOLOGICZNE

Zad.1

Cel: Zapoznanie się z metodami przygotowywania podłoży bakteriologicznych

Materiały:

1. 2 kolby płaskodenne 250 ml i folia aluminiowa
2. suche podłoża gotowe - bulion odżywczy i agar odżywczy
3. woda destylowana w kolbie
4. cylinder miarowy
5. waga laboratoryjna
6. niejałowe probówki 20 ml z korkami.
7. statyw
8. metalowy koszyk
9. jałowe płytki Petriego
10. marker
11. autoklaw

Wykonanie:

1. Odważyć, zgodnie z instrukcją na opakowaniu wymagane ilości suchego podłoża gotowego by otrzymać odpowiednio; 100 ml agaru odżywczego oraz 50 ml bulionu odżywczego. Dodać odpowiednie ilości wody destylowanej (100 i 50 ml)
2. Kolbki zawierające określone podłoże odpowiednio oznakować, odpowiednio, agar odżywczy = AO; bulion odżywczy = B
3. Ustawić w statywie probówki, rozlać do nich ,miarowo, bulion odżywczy (po 10 ml), probówki zakorkować i umieścić w koszyku zbiorczym. Umieszczone w koszyku zbiorczym probówki z bulionem przykryć kapturkiem z foli aluminiowej.
4. Kolbkę z agarem odżywczym ,po zalaniu suchego podłoża wodą destylowaną, pozostawić na 10min. w temp. pokojowej, do napęcznienia agaru
5. Koszyk z probówkami zawierającymi bulion odżywczy oraz kolbki z agarem odżywczym umieścić w autoklawie.
6. Sterylizować podłoża w 121°C/ 15 min. (*Praktyczna demonstracja pracy autoklawu*)
7. Agar odżywczy w kolbce przestudzić a następnie rozlać, z zachowaniem warunków jałowości , na jałowe płytki Petriego oraz przy pomocy jałowej pipety, do 3 jałowych probówek. Jedną z nich pozostawić w statywie pozostałe "skosić", tzn. oprzeć o statyw pod kątem ~ 45 i 20 stopni i pozostawić tak do zestalenia się podłoża.
8. Po zestaleniu się podłoża na płytkach odwrócić płytki denkami do góry i na denku, dermatografem, oznaczyć -AO. Probówki z podłożem zestalonym w formie słupków , skosów i półskosów oznakować jw. i zebrać do koszyka

Zad.2

Cel: Demonstracja wpływu pH na właściwości zestalające agaru

Materiały:

1. 2 kolby płaskodenne 250 ml i folia aluminiowa
2. agar włóknisty
3. woda destylowana w kolbie
4. cylinder miarowy
5. waga laboratoryjna
6. jałowe płytki Petriego
7. marker
8. autoklaw

Wykonanie:

1. Odważyć, zgodnie z instrukcją na opakowaniu wymagane ilość agaru by otrzymać 1,5%.
2. Dodać po 50 mL wody destylowanej
3. W jednej z kolbek obniżyć pH przy pomocy 10% roztworu HCl do ~ 4,5.
4. Kolbki odpowiednio oznakować,
5. Sterylizować podłoża w 121°C/ 15 min.
6. Agar w kolbkach przestudzić a następnie rozlać, z zachowaniem warunków jałowości, na jałowe płytki Petriego.
7. Porównać skuteczność agaru jako czynnika zestalającego w podłożach o różnym pH wyjściowym przed sterylizacją.
8. Zapisać wnioski

Zad.3

Cel: Wykonanie preparatu odciskowego – *wstęp do kolejnych ćwiczeń*

Materiały:

1. jałowe podłoże AO
2. marker

Wykonanie:

1. Przycisnąć lekko palce do podłoża AO
2. Płytki Petriego podpisać i inkubować w cieplarni.

Zad.4

Odczyt wyników z ćwiczenia 2

1. Odczyt wyników wpływu promieniowania UV na drobnoustroje.
2. Ocena skuteczności bakteriobójczej zastosowanego czynnika termicznego.
3. Odczyt i interpretacja wyników filtracji jako metody pozwalającej na sterylizację mechaniczną
4. *Wyniki przedstawić w odpowiednich tabelach i zanotować wnioski*

Zad. 5

Podłoże wg Cyganova (*Streptomyces*)

(NH₄)₂SO₄ 0,2g

K₂HPO₄ 0,1g

MgSO₄ 0,1g

CaCO₃ 0,3g

skrobia 1g

NaCl 0,1g

agar 2g

dH₂O 100mL

Po sterylizacji (kolba min. 500mL, bo się pieni): Actidion 0,05g