

Půdy pro růst mikroorganismů (MO)

Info a přehled:

[http://sharka-ali.blog.cz/0803/mikrobiologie-
prehled-kultivacnich-pud](http://sharka-ali.blog.cz/0803/mikrobiologie-prehled-kultivacnich-pud)

<http://www.agrola.cz/zivne-pudy.html>

Živná média – ke kultivaci, přímému průkazu a izolaci MO

- Sledování fyziologických vlastností (vztah k O₂, rychlost růstu,...)
- Složení odpovídá požadavkům MO (pH, zdroj C, N..)
- Příprava – aseptická práce se sterilním nádobím

- Syntetická x přirozená základní x obohacená
- Univerzální x selektivní x selektivně diagnostické
- Tekuté x polotekuté x tuhé x ztužené
- transportní

- Způsoby sterilizace chemická x fyzikální (suché a vlhké teplo, filtry, frakcionizovaná sterilizace, záření...) – délka závisí na použitém objemu, pozor na citlivá média (např. s cukry)
- **Dezinfekce** = zničení vegetativních forem MO
- **Sterilizace** = zničení všech forem MO

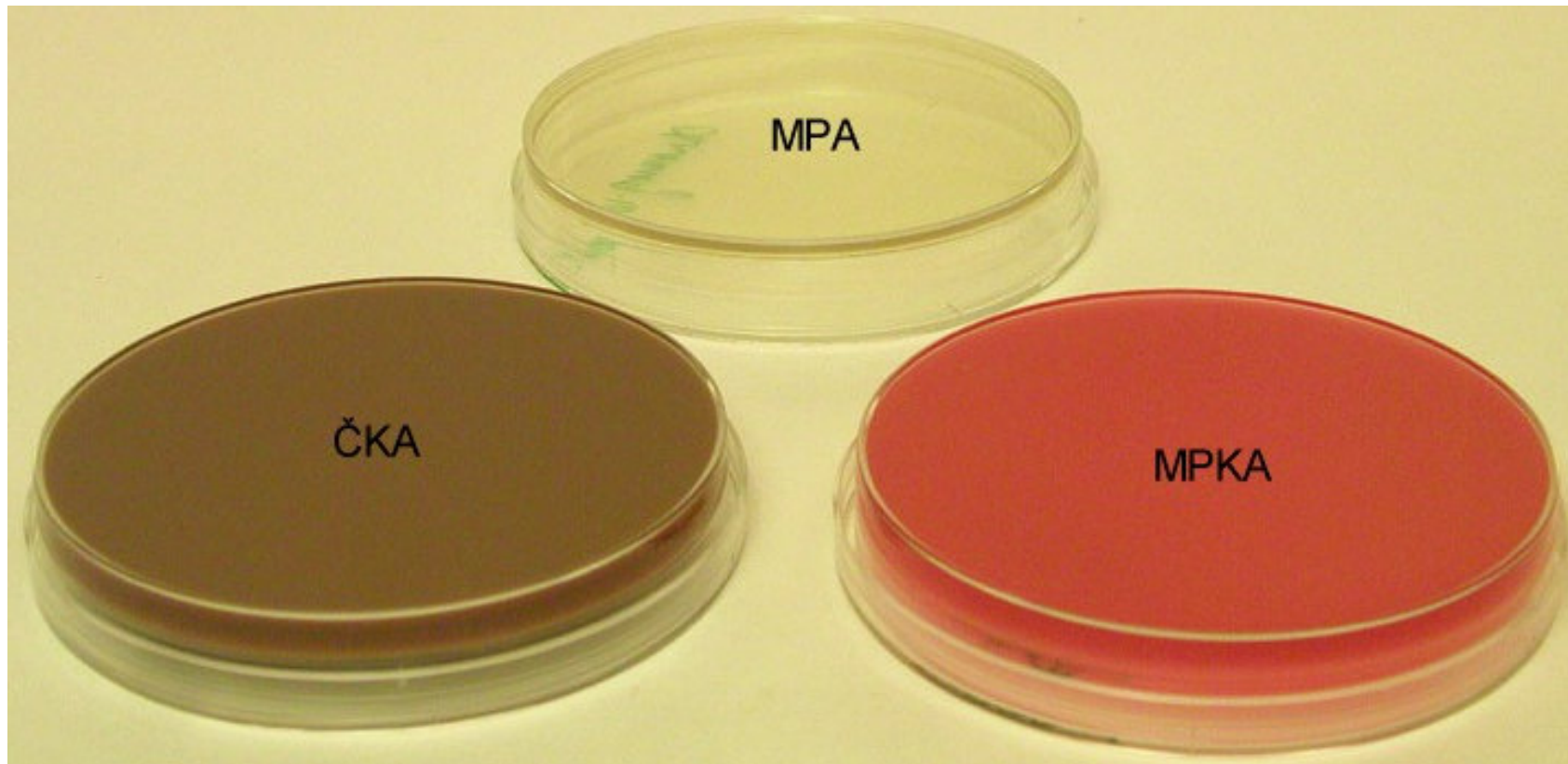
- Agar – izolace jednotlivých kolonií, přímý průkaz MO, pozorování makroskopických znaků
- Bujon – pomnožení, nerozeznáme směs MO

- Mikroorganismy – kultivovatelné asi 1,5 – 5%
- Půdy si připravíme dle cílového MO → směs z prostředí, sbírková kultura (katalog), klinika,...

- Viry – kultivace na nárůstu bakterií → fágy
 - Na tkáňových kulturách → živočišné viry
 - Podobné je to u intracelulárních parazitů

- Cílená izolace ze vzorku směsné kultury
- Selektivní podmínky
- Zisk uhlíku (heterotrofie, autotrofie)
- Zisk energie (chemoorganotrofie, chemolitotrofie, fotolitotrofie)

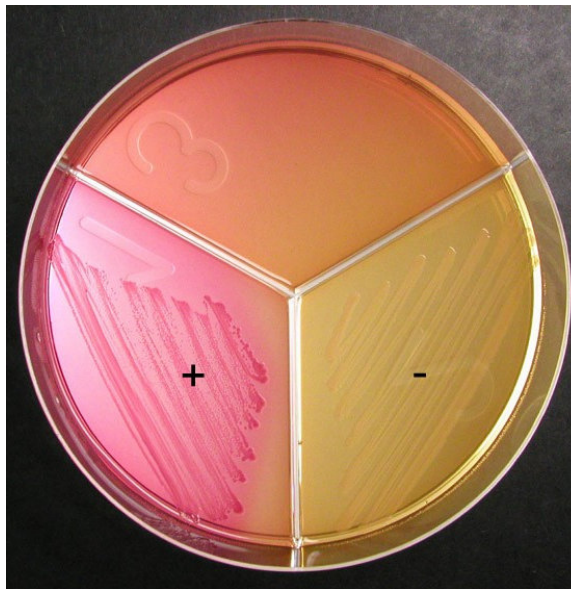
- čokoládový agar
- masopeptonový
- masopeptonový-krevní agar



- **Endův agar** - selektivní složkou a zároveň indikátorem štěpení laktózy je v této půdě Schifovo reagens (vyvážená směs bazického fuchsinu s kyselým siřičitanem sodným), které reaguje s aldehydy

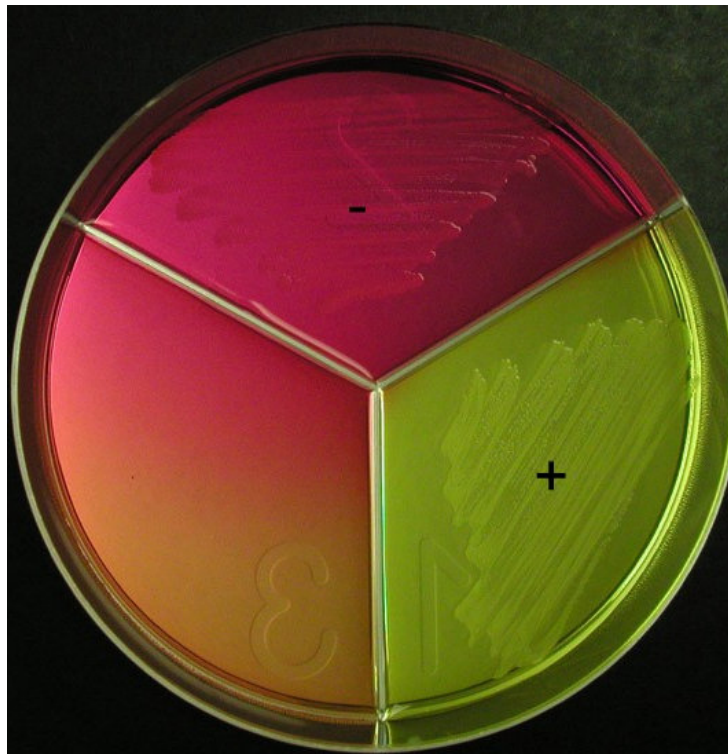


- **MacConkeyův agar** - inhibiční složkou v médiu je speciální směs žlučových solí. Okyselení, které vzniká rozkladem laktózy, indikuje neutrální červeň. Inhibiční rozsah má téměř shodný s Endovým agarem. Obě média umožňují růst gramnegativním nenáročným bakteriím z čeledi *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* a některým dalším rodům (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*).

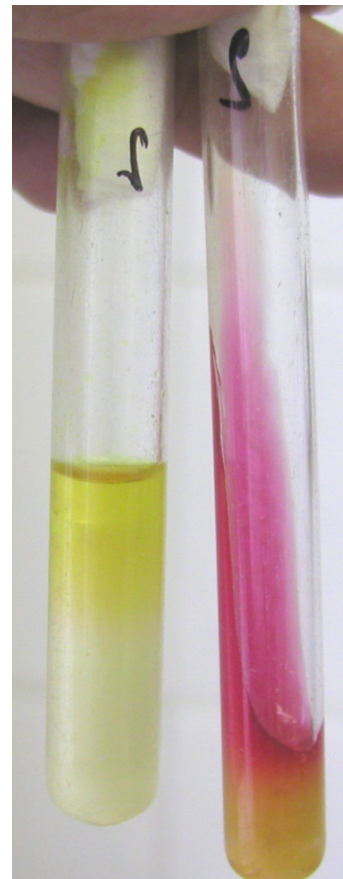


- **Desoxycholát-citrátový agar (DC agar)** - inhibiční složkou jsou v médiu tvoří žlučové soli, avšak ve vyšší koncentraci než v MCA. Navíc obsahuje citronan železitý, který indikuje tvorbu sirovodíku. Indikátorem okyselení je opět neutrální červeň. DCA je zvláště vhodný pro izolaci salmonel a yersinií. Podobné složení má i Salmonella-Shigella agar (SS agar).

- **Agar s brilantovou zelení** - inhibiční složkou je brilantová zeleň, indikátorem pH fenolová červeň. Používá se hlavně pro selektivní izolaci salmonel. Přidá-li se do půdy jako diagnostická přísada vedle laktózy ještě sacharóza, zvýší se její diferenciační hodnota. Dnes je průmyslově vyráběna řada tzv. chromogenních půd na kterých lze rozlišit podle typického zbarvení kolonií vybrané rody z čeledi *Enterobacteriaceae*. Jako příklad lze uvést Rambachův agar, který je určený pro izolaci salmonel.



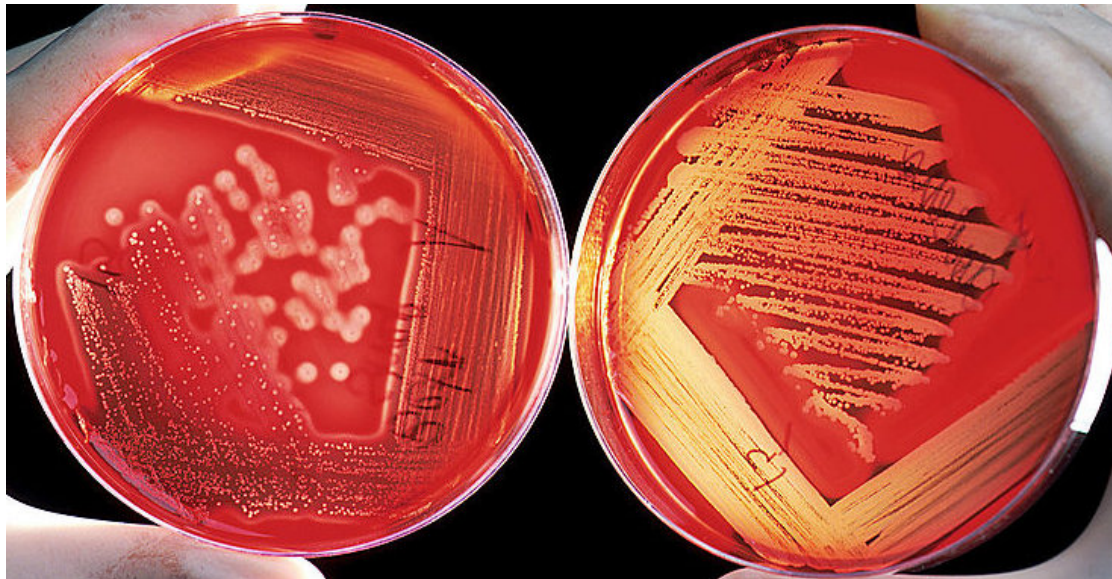
- zkvašování cukrů a produkce CO_2 v **kombinované půdě podle Hajny**. Substrátem pro tvorbu H_2S je thiosulfát sodný a indikátorem citrát železitoamonný. Sirovodík vytvořený redukcí thiosulfátu reaguje s ionty železa za vzniku sulfidu železitého. Produkce H_2S se projeví zčernáním spodní části půdy. *S. Typhi* dělá jen užoučký černý proužek na rozhraní šikmé části a plného sloupce.



- **Mueller Hinton agar** je kultivační půda, která se používá pro test citlivosti na antibiotika a sulfoamidy (disková, difúzní Kirby-Bauer metoda) a pro primární izolaci neisserií.



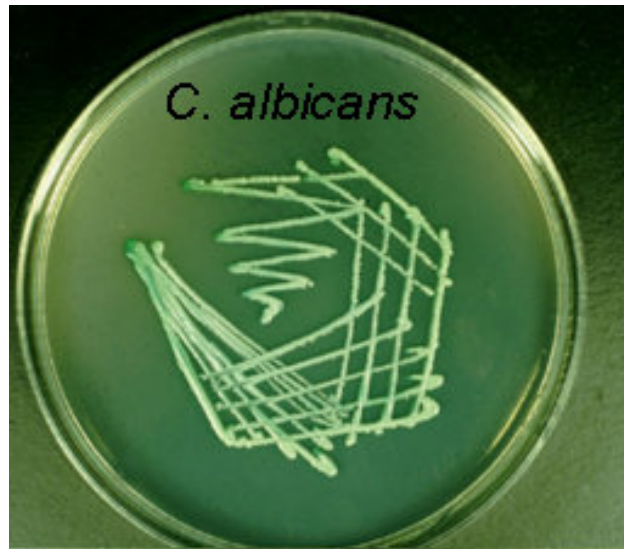
- **krevní agar** (vlevo stafylokoky, vpravo streptokoky)



- **Polotuhé médium, *Proteus mirabilis***
- plazivý růst = Raussův fenomén = fenomén příbojové vlny



- Chromogenní půda



Postup

!POPSAT SVÉ ZKUMAVKY A MISKY ZESPODU!

- Navážit 2,6 g masopeptonového bujonu = MPB
 - Doplnit do 200 ml destilovanou vodou, změřit pH (případně upravit)
 - Pipetovat po 5 ml do zkumavek
 - Přidat 3,6 g agaru, po zahřátí pipetovat do zkumavek po 5 ml
 - Sterilizace v autoklávu (poté již aseptická práce!!!!)
 - Rozlití MPA (masopepton.agar) do Petriho misek, ožihávat hrdlo!
 - Zkumavky s MPA našikmit
- Výsledek: 3 misky MPA, 2 šikmé agary MPA, 1 tekutý bujon MPB