

ĆWICZENIE 3, 4

Podłoża stosowane do hodowli drobnoustrojów. Metody hodowli drobnoustrojów. Metody ilościowego oznaczania drobnoustrojów – cz. I.

- A. mieszanina drobnoustrojów: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*;
- B. hodowla szczepu: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* (1 szczep na stanowisku);
- C. rozcieńczona hodowla *Escherichia coli* do posiewów ilościowych.

Zadania do wykonania:

- 1. Z mieszaniny drobnoustrojów A wyizoluj:
 - a. ½ stanowisk – paciorkowce z rodzaju *Enterococcus*
 - posiew izolacyjny na podłoże Słanetz'a
 - posiew izolacyjny na podłoże agar odżywczy
 - b. ½ stanowisk – pałeczki grupy coli
 - posiew izolacyjny na płytkę z podłożem VRBL
- 2. Posiew szczepu B (wykonują wszyscy):
 - na skos agarowy
 - do próbki z bulionem odżywczym

Inkubacja posiewów w temp. optymalnej dla danych drobnoustroju. Pałeczki *Lactobacillus plantarum* - inkubacja w warunkach beztlenowych z zastosowaniem Anaerocoult C.

- 3. Oznaczenie liczby drobnoustrojów w badanym materiale – studenci pracują w parach ale dzielą się zadaniami, każdy wykonuje poszczególne zadania samodzielnie, siedzą przy oddzielnych stanowiskach:
 - a. wykonać dziesięciokrotne rozcieńczenia materiału badanego w stosunku 1:10 i 1:100 – jedna osoba z pary;
 - b. wykonać posiewy metodą wgłębną po 1 cm³ materiału z rozcieńczeń 1:10 i 1:100 – jedna osoba z pary;
 - c. wykonać posiew metodą powierzchniową po 0,1 cm³ z rozcieńczenia 1:10 – jedna osoba z pary.
- 4. Oznaczanie obecności i NPL pałeczek grupy coli i paciorkowców kałowych w określonej objętości materiału np. 0,1g (cm³); 0,01 g (cm³); 0,001 g (cm³) – **demonstracja** na podłożu z żółcią, zielenią brylantową i laktozą oraz na podłożu Burzyńskiej

Tabela 1. Wskaźniki NPL dla posiewów 3-probówkowych

Liczba wyników dodatnich w wybranych 3 rozcieńczeniach			Wskaźnik NPL	Kategorie prawdopodobieństwa przy różnej liczbie próbek z partii				
				1	2	3	4	5
0	0	0	<0,30	3	2	2	2	1
0	1	0	0,30	2	1	1	1	1
0	1	1	0,61	0	3	3	3	3
0	2	0	0,62	3	2	2	2	1
0	3	0	0,94	0	0	0	0	3
1	0	0	0,36	1	1	1	1	1
1	0	1	0,72	2	2	1	1	1
1	0	2	1,1	0	0	0	3	3
1	1	0	0,74	1	1	1	1	1
1	1	1	1,1	3	3	2	2	2
1	2	0	1,1	2	2	1	1	1
1	2	1	1,5	3	3	3	3	2
1	3	0	1,6	3	3	3	3	2
2	0	0	0,92	1	1	1	1	1
2	0	1	1,4	2	1	1	1	1
2	0	2	2,0	0	3	3	3	3
2	1	0	1,5	1	1	1	1	1
2	1	1	2,0	2	2	1	1	1
2	1	2	2,7	0	3	3	3	3
2	2	0	2,1	1	1	1	1	1
2	2	1	2,8	3	2	2	2	1
2	2	2	3,5	0	0	0	0	3
2	3	0	2,9	3	2	2	2	1
2	3	1	3,6	0	3	3	3	3
3	0	0	2,3	1	1	1	1	1
3	0	1	3,8	1	1	1	1	1
3	0	2	6,4	3	3	2	2	2
3	1	0	4,3	1	1	1	1	1
3	1	1	7,5	1	1	1	1	1
3	1	2	12	3	2	2	2	1
3	1	3	16	0	0	0	3	3
3	2	0	9,3	1	1	1	1	1
3	2	1	15	1	1	1	1	1
3	2	2	21	2	1	1	1	1
3	2	3	29	3	3	3	2	2
3	3	0	24	1	1	1	1	1
3	3	1	46	1	1	1	1	1
3	3	2	110	1	1	1	1	1
3	3	23	>110					