

## Ćwiczenie 2 – 09.10.2019

### Sterylizacja. Przygotowanie podłoży mikrobiologicznych.

Każda grupa wykonuje:

#### 1. Przygotowanie 2 x 100 ml bulionu odżywczego:

- należy wykonać odpowiednią naważkę wg przepisu na opakowaniu i dodać 100 ml odmierzonej cylindrem wody destylowanej,
- podłoże rozpuszczamy na mieszadle magnetycznym,
- próbkę 1 przenosimy do czystej kolby, zamykamy korkiem, na kolbę naklejamy taśmę do kontroli chemicznej procesu sterylizacji i wstawiamy do sterylizacji w autoklawie (wszystkie grupy razem),
- próbka 2 będzie służyć do sterylizacji metodą filtracji.

#### 2. Sterylizacja parą wodną w autoklawie:

- sterylizacji poddane zostaną przygotowane podłoża oraz próbówki Eppendorf;
- kontrola chemiczna → naklejona taśma
- kontrola biologiczna (Sporal A) → każda grupa dostaje 2 Sporale: jeden poddaje sterylizacji w autoklawie, a następnie hodowli, drugi – jako kontrola wskaźnika, poddany zostanie hodowli bez sterylizacji; hodowlę prowadzimy w podłożu TSB (bulion tryptozowo-sojowy) → gotowe do inkubacji próbki, podpisane grupą wstawić do statywu na stole demonstracyjnym.

#### 3. Sterylizacji suchym gorącym powietrzem w suszarkach:

- sterylizacji poddane zostanie szkło laboratoryjne
- kontrola chemiczna → naklejona taśma
- kontrola biologiczna (Sporal S) → każda grupa dostaje 2 Sporale: jeden poddaje sterylizacji w suszarce, a następnie hodowli, drugi – jako kontrola wskaźnika, poddany zostanie hodowli bez sterylizacji; hodowlę prowadzimy w podłożu TSB (bulion tryptozowo-sojowy) → gotowe do inkubacji próbki, podpisane grupą wstawić do statywu na stole demonstracyjnym.

#### 4. Sterylizacja metodą filtracji:

Sterylizacja samodzielnie przygotowanego bulionu odżywczego – 5 powtórzeń na grupę.

Strzykawką pobieramy 5 ml podłoża i sączymy przez sączek strzykawkowy zawierający filtr o wielkości porów 0,22  $\mu\text{m}$  do jałowej próbówki ze szczelnym korkiem. Przesączone podłoże inkubujemy (kontrola procesu sterylizacji). Sączenie wykonujemy w boksie laminarnym. Dla porównania kolejne 5 ml podłoża wprowadzamy bezpośrednio bez sączenia do jałowej próbówki ze szczelnym korkiem i inkubujemy.

#### 5. Przygotowanie płytek mikrobiologicznych:

- gotowy, rozpuszczony agar znajduje się w łaźni wodnej
- każda osoba wylewa aseptycznie w boksie laminarnym: 1 płytkę agarową, 1 słupek, 1 skos
- przygotowane podłoża proszę podpisać swoim nazwiskiem
- po zastygnięciu, gotowe podłoża wstawiamy do inkubacji (kontrola jałowości Państwa pracy)

#### 6. Odczyt wyników z poprzednich ćwiczeń

Proszę zwrócić uwagę na różnorodność morfologiczną wyrosłych kolonii drobnoustrojów. Liczbę drobnoustrojów wyrosłych na płytkach z badania czystości powietrza należy przeliczyć na  $\text{m}^3$ . Po obejrzeniu wszystkich płytek w grupie, proszę o wystawienie ich na stole demonstracyjnym, aby można było obejrzeć wyniki wszystkich grup.