

ΑΣΚΗΣΗ 1

Ασηπτικές μέθοδοι εργασίας στη Μικροβιολογία

Επειδή οι μικροοργανισμοί βρίσκονται παντού στο περιβάλλον θα πρέπει για οποιαδήποτε μικροβιολογική πειραματική εργασία, να παίρνονται μέτρα έτσι ώστε να αποκλείεται η επιμόλυνση με άλλα μικρόβια. Αυτό επιτυγχάνεται με ένα σύνολο εργαστηριακών δεξιοτήτων, που αναφέρονται ως ασηπτικές τεχνικές και στοχεύουν στον αποκλεισμό όλων των μικροοργανισμών του περιβάλλοντος. Η χρήση αποστειρωμένων θρεπτικών μέσων και αντικειμένων καθώς και η εργασία σε αποστειρωμένο χώρο αποτελούν το ελάχιστο από αυτά που θα πρέπει να εφαρμόζει ο Μικροβιολόγος. Το λυχνάρι bunsen είναι απαραίτητο για τη γρήγορη αποστείρωση ορισμένων μικροαντικειμένων και για τη δημιουργία στοιχειωδώς αποστειρωμένου χώρου στον πάγκο εργασίας, αφού για την εκτέλεση των ασκήσεων δεν υπάρχουν διαθέσιμοι θάλαμοι νηματικής ροής αέρα που χρησιμοποιούνται για μικροβιολογικές εργασίες.

Οι παραδοσιακές γυάλινες πιπέττες που χρησιμοποιούνται στη Μικροβιολογία είναι βουλωμένες με βαμβάκι έτσι ώστε να αποφεύγεται η περίπτωση μόλυνσης του διαλύματος με μικρόβια του στόματός μας, της επιφάνειας των χεριών μας ή του αέρα. Επιπλέον το βαμβάκι μας προφυλάσσει από κατά λάθος κατάποση των υγρών της πιπέττας. Παρόλα αυτά, όταν υπάρχει έστω και υποψία παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών, δε συνίσταται το πιπεττάρισμα με το στόμα.

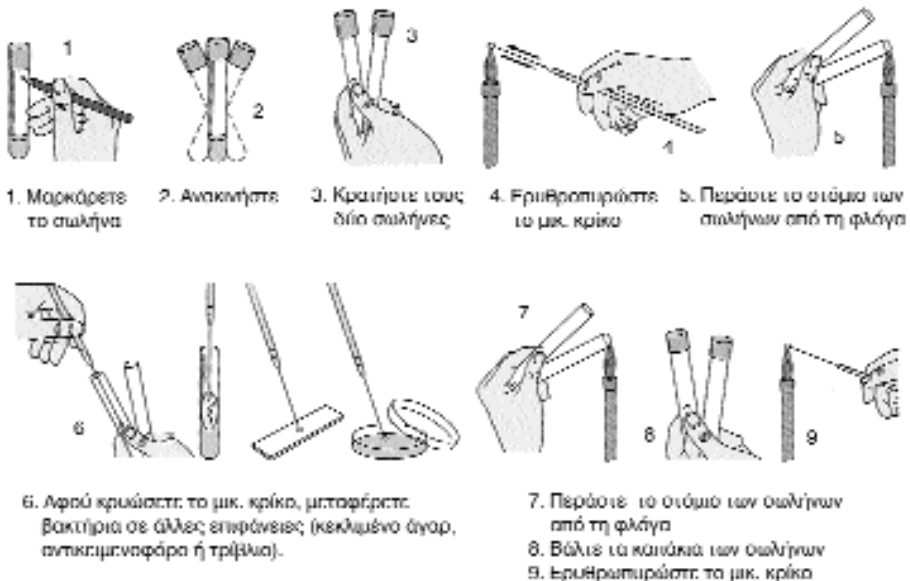
Οι πιπέτες αποστειρώνονται κλεισμένες σε μεταλλικά δοχεία ή τυλιγμένες σε αλουμινόχαρτο. Το δοχείο που τις περιέχει δεν πρέπει να ανοιχθεί πριν από τη χρήση τους. Κάθε πιπέτα χρησιμοποιείται μόνο μια φορά και αμέσως μετά τοποθετείται σε ειδικά δοχεία που περιέχουν απολυμαντικό υγρό. Με τις αυτόματα ρυθμιζόμενες πιπέτες (μικροπιπέτες) χρησιμοποιούνται πλαστικά ρύγχια τα οποία έχουν προηγουμένως αποστειρωθεί.

Ο μικροβιολογικός κρίκος (Σχήμα 1) χρησιμοποιείται για την ασηπτική μεταφορά μικροοργανισμών από ένα θρεπτικό μέσο (υγρό ή στερεό) σε άλλο. Είναι απαραίτητο πριν και μετά τη χρήση ο μικροβιολογικός κρίκος να αποστειρώνεται με πυράκτωση στη φλόγα του λυχναριού bunsen. **Ποτέ μην αφήνετε τον μικροβιολογικό κρίκο στον πάγκο αν δεν έχει αποστειρωθεί προηγουμένως.**

Η μεταφορά υλικών από δοχείο σε δοχείο θα πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή, ώστε να αποφευχθούν οι επιμολύνσεις. Έτσι όταν ανοίγεται ένα αποστειρωμένο δοχείο θα πρέπει πρώτα να περάσει στιγμιαία το στόμιο του από τη φλόγα του λυχναριού bunsen. Η διαδικασία αυτή περιγράφεται στο σχήμα 2.



Σχήμα 1. Μικροβιολογικός κρίκος.



Σχήμα 2. Ασηπτικοί χειρισμοί για τη μεταφορά βακτηρίων.

Υλικά και συσκευές

- Μικροβιολογικός κρίκος, αποστειρωμένες πιπέττες
- Ένας δοκιμαστικός σωλήνας με αποσταγμένο και αποστειρωμένο νερό
- Δύο δοκιμαστικοί σωλήνες με θρεπτικό ζωμό
- Ένα τριβλίο με *E. coli*
- Επωαστικός κλίβανος

Πειραματικό μέρος

A. Ασηπτική μεταφορά υγρών

1. Αποστειρώστε το μικροβιολογικό κρικό.
2. Ανοίξτε ένα δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει αποσταγμένο και αποστειρωμένο νερό. Αφού περάσετε το στόμιό του στιγμιαία από τη φλόγα, εμβαπτίστε το μικροβιολογικό κρικό στο νερό.
3. Εμβαπτίστε το μικροβιολογικό κρικό σε ένα νέο σωλήνα που περιέχει θρεπτικό ζωμό, αφού προηγουμένως περάσετε το στόμιο του σωλήνα στιγμιαία από τη φλόγα.
4. Επώαστε το σωλήνα που έγινε η μεταφορά, στους 37°C, για 24 ώρες.
5. Μετά το τέλος της επώασης παρατηρήστε το σωλήνα που έγινε η μεταφορά των βακτηρίων. Τί παρατηρήτε;

B. Υγρή καλλιέργεια βακτηρίων

1. Αποστειρώστε το μικροβιολογικό κρικό.
2. Πάρτε με το μικροβιολογικό κρικό μια απομακρυσμένη από τις άλλες αποικία *E. coli*.
3. Εμβαπτίστε το μικροβιολογικό κρικό που φέρει τα βακτήρια σε ένα νέο σωλήνα που περιέχει θρεπτικό ζωμό, αφού προηγουμένως περάσετε το στόμιο του σωλήνα στιγμιαία από τη φλόγα.
4. Επώαστε το σωλήνα που έγινε η μεταφορά, στους 37°C, για 24 ώρες.
5. Μετά το τέλος της επώασης παρατηρήστε το σωλήνα που έγινε η μεταφορά των βακτηρίων. Τί παρατηρήτε;