

A baktériumok láthatóvá tétele festési eljárásokkal

A festési eljárások előnye: a baktériumok megfestve elűtnek a környezetüktől, jobban megfigyelhető alakjuk, méretük esetlegesen csoportos elhelyezkedésük:

- **egyszerű** festések (a baktériumok alakjáról és méretéről kapunk információt)
- **elektív festés** (rendszertani besorolásuk lehetséges)
- **differentiáló festések** (járulékos alkotóik, endospóra, granulumok láthatóvá tétele)

A festési eljárások hátránya: a fixálás miatt a baktériumok mérete és alakja torzul.

Kenetkészítés:

- tárgylemez sterilizálása (Bunsen égő fölött)
- ha folyékony táptalajról dolgozunk, egy kacsnyi baktériumot a tárgylemez közepére helyezünk, és körkörös mozdulatokkal szétterítjük, szilárd táptalajról származó baktérium esetén először egy kacsnyi fiziológiás sóoldat szükséges, amibe belekeverjük a baktériumokat
- a kenetet levegőn hagyjuk megszáradni
- a kenetet hővel fixáljuk, vagyis lassan áthúzzuk a Bunsen égő lángja felett 3 alkalommal.

Figyelj a következőkre!

Nagyon fontos a megfelelő ideig tartó fixálás, mert ennek hiányában a baktériumok a festési eljárás során lemosódnak a tárgylemezről, úgy, mint az ételmaradék a használt tányérokra a mosogatás során.

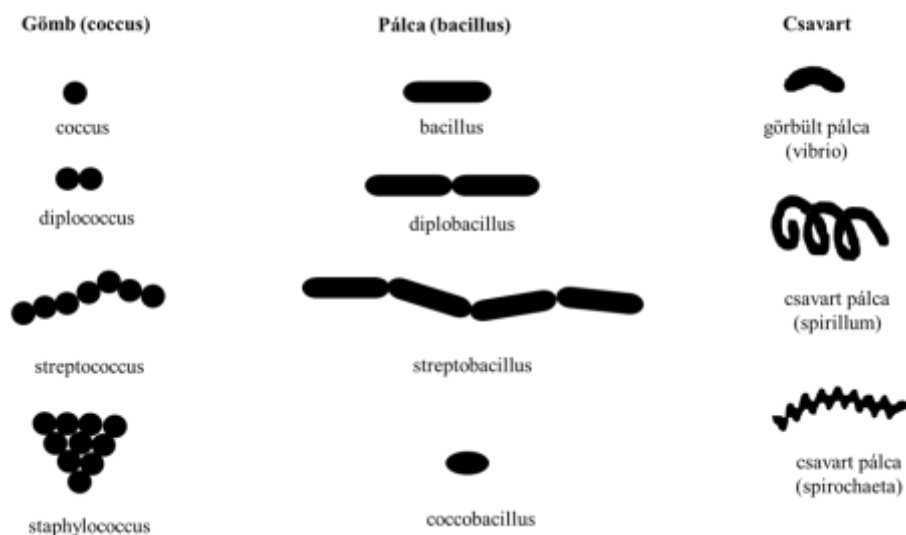
Természetesen az ellenkezője sem jó, vagyis túlfixálni a kenetet, ennek az a következménye, hogy a baktériumok elszenesednek és fekete színben jelennek meg a festés végén.

Ügyelj a baktérium mennyiségre!

Ha szilárd táptalajról dolgozol elég éppen csak megérinteni egy telepet az oltókacccsal.

Ha túl sok baktériummal készíted a kenetet, nem lehet átlátni rajta és nem fog jól fixálódni.

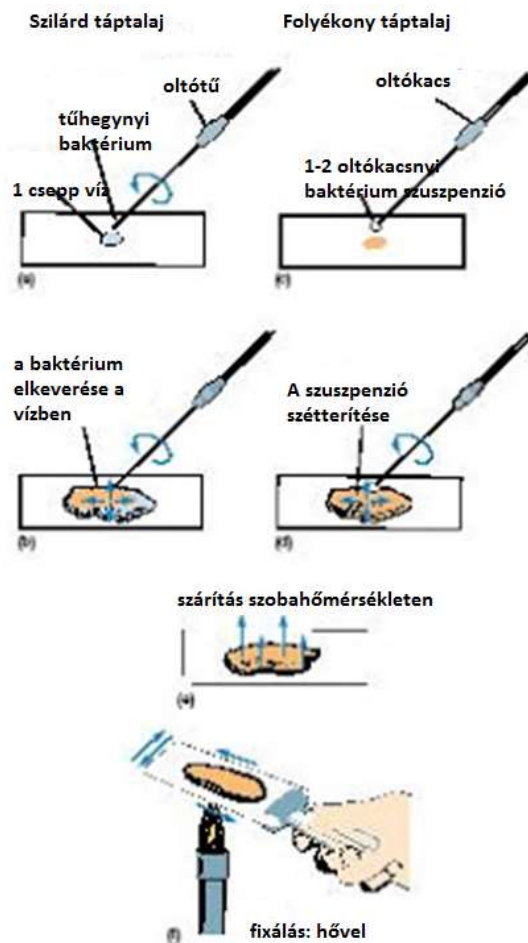
A folyékony táptalajból származónak meg az a hátránya, hogy néha nagyon ritka lesz a kenet és így nehéz lesz megtalálni a szintet a mikroszkópban.



1. ábra. A baktériumok alakja

Feladat:

A leírtak és elmondottak alapján gyakorold a kenetkészítést folyékony és szilárd táptalajról származó baktériumokkal!



2. ábra. A kenetkészítés lépései

Az úgynevezett egyszerű festések során egyféle festéssel dolgozunk.

A folyamat végén kizárólag a baktérium alakjáról és méretéről nyerünk információt.

Egyszerű festések**1. Löffler-féle lúgos metilénkék festés**

- a fixált kenetet a festőállványra helyezzük
- a festéket ráöntjük a lemezre, hogy az egészet elfedje
- festési idő: 2-4 perc

2. Vizes fukszin festés vagy hígított karbol-fukszin festés

- a fixált kenetet a festőállványra helyezzük
- a festéket ráöntjük a lemezre, hogy az egészet elfedje
- festési idő: 30 másodperc

Összetett festések

Elektív festési eljárások: ezekkel bizonyos baktérium genusok egyéb baktériumoktól eltérő módon festődnek, így azoktól elkülöníthetők.

A leggyakrabban használt összetett festési eljárás a Gram festés. A baktériumok a sejtfalszerkezet alapján két csoportra oszthatók. A Gram-pozitívokban sok, úgynevezett peptidoglikán réteg van. A rétegek száma elérheti a 30-40-et is. Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumokban csak 1-2 peptidoglikán réteg van, bennük viszont megtalálható egy speciális rész a külsőmembrán, melynek egyik komponense a lipopoliszacharid. Ez egy hőstabil molekula, sok élettani hatása van a fertőzés során, de a legfontosabb, hogy ez okozza a lázat bennünk.

Gram-féle festés

- a fixált kenetet Gram A-B oldatba (kristályibolya és ammónium-oxalát 1:3 arányú keveréke) helyezzük 1 percre.
- a tárgylemezt öblítjük csapvízzel a hátsó felén.
- a tárgylemezt belemerítjük lugol oldatba 1 percre.
- ismételt csapvizes öblítés a hátsó felén.
- a **differentiálás 96%-os alkohollal** történik, a kenetet tartalmazó oldalra addig csepegtetjük az alkoholt, míg a lemezről a lecsepegő folyadék színe elhalványodik.
- vizes öblítéssel megállítjuk a differentiálást.
- utófestés: vizes fukszinnal 30 sec.
- tárgylemez szárítása, vizsgálata olaj immerziós módon.

Eredmény:

A **Gram-pozitív** baktériumok **sötét kékes-ibolya** színűek

A **Gram-negatívok piros** színűek

A Gram festés lényege, hogy vastag peptidoglikán fallal rendelkező Gram-pozitív baktériumok **az agresszív 96%-os alkohol kezelés hatására sem adják le** a felvett festéket, míg a Gram-negatívok igen.



3. ábra. A képen Gram-pozitív coccusok és Gram-negatív bacillusok láthatók
Figyeld meg az alaki és méretbeli különbségeket!

Gram-pozitív baktérium pl.: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Bacillus* genusok tagjai

Gram-negatív baktériumok pl.: *E. coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Salmonella* genusok tagjai

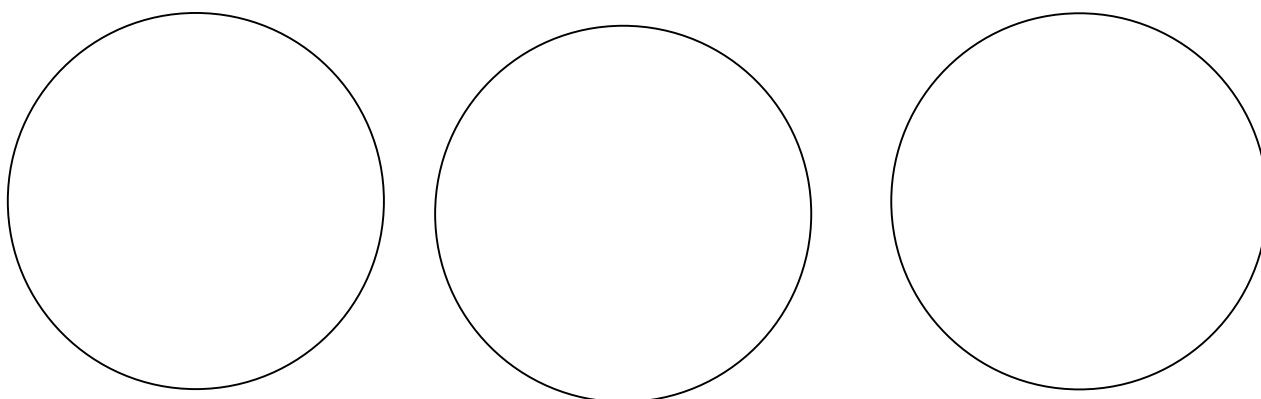
Feladatok

1. Egyszerű festés kivitelezése
2. Gram festés kivitelezése

A festés során figyelmet kell fordítani a megfelelő idejű differenciálásra, ha nem megfelelő ideig kezeled a kenetet, nem oldódik ki a festék a Gram-negatív baktériumokból. A túlságosan elnyújtott differenciálás sem megfelelő, mert az idősödő Gram-pozitív baktériumok is hajlamosak leadni a festéket a differenciálás során!

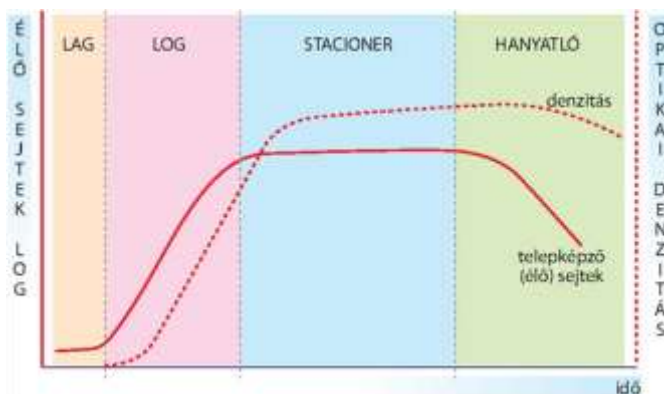
3. A festés befejeztével rajzold le, mit láttál a mikroszkópban!

Probiotikum neve:

**Baktériumszámlálási eljárások****A baktériumok szaporodása, a populáció növekedése**

A baktériumok szaporodása osztódással, két leánysejtté történő szétválással történik. A folyékony kultúrába oltott baktériumok elszaporodásával a folyadék táptalaj zavarossá válik. A zavarossá váló tenyészetben a baktériumok egy idő után leülepedhetnek, aggregálódhatnak, vagy a folyadék-levegő határon az edény falához tapadnak, egyesek azon biofilmet képeznek. Szilárd táptalajon a baktériumok szaporodását a baktérium telepek megjelenése jelzi.

A baktériumpopuláció szaporodása fázisokra osztható, amelyek jól elkülöníthetőek és követhetőek az optikai denzitás mérésével.

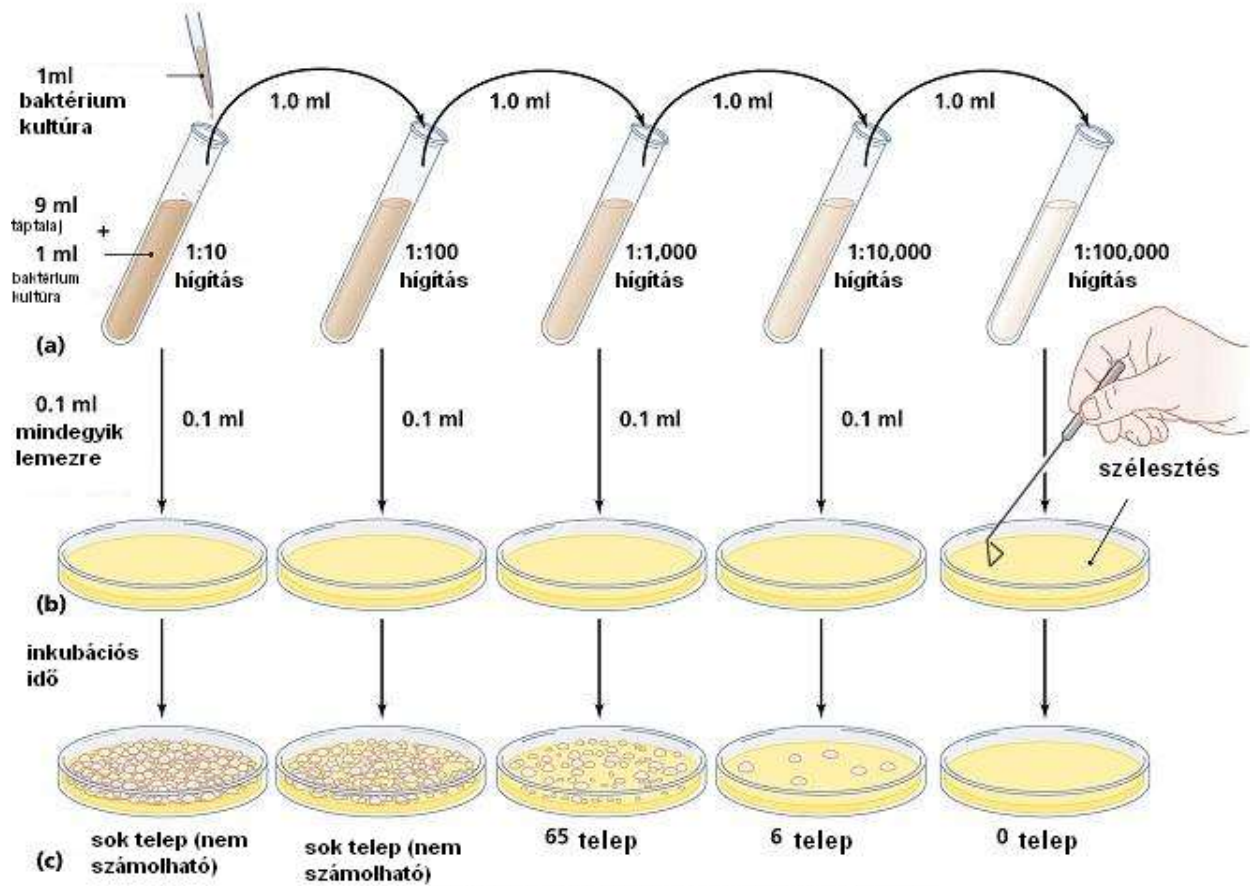


4. ábra. A baktériumtenyészet növekedési görbéje (Pál Tibor, 2014)

Feladatok

Értékelj ki, mennyi baktérium található az adott probiotikumban!

Készíts hígításokat az ábra szerint és határozd meg az egyes hígításokhoz tartozó baktérium telepszámot!



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

5. ábra: Telepszám meghatározása

Jelöld a hígítás fokát és határozd meg a telepek számát!

Probiotikum neve:

Prebiotikumok, probiotikumok

Születést követően különböző mikroorganizmusok (baktériumok, vírusok, gombák) kolonizálják a testünket, melyek összefoglaló neve a mikrobióta és a szervezet normál flóráját alkotják. A minket kolonizáló mikrobióta egész életünk során hatással van az egészségünkre, rendkívül sok feladatot látnak el, többek között segítik az immunrendszer működését, komplex szénhidrátokat bontanak le segítve az emésztést, illetve különböző gyógyszerek lebontását is ők végzik.

Úgy gondolják, hogy egyes betegségek azért alakulnak ki, mert megbomlik az egyensúly a normál flóra, a szervezet immunválasza és a fertőzést okozó mikroorganizmusok között.

Hogyan segítenek a normál flóra tagjai a fertőzések megelőzésében?

1. mivel nagy számban vannak jelen és a tápanyag mennyisége korlátozott, ezért már a jelenlétükkel megakadályozzák, hogy a kórokozó baktériumok elszaporodjanak.
2. folyamatosan edzésben tartják a nyálkahártyához kötött immunválaszt, így az immunrendszer hamarabb felismeri a kórokozókat.
3. olyan antibakteriális anyagokat termelnek, amelyek megakadályozzák a kórokozók elszaporodását.

Ha valamilyen folyamat során (antibiotikus kezelés, fertőzés, hasmenés) megváltozik a normál flóra összetétele, akkor vissza kell állítanunk. Ezt megtehetjük:

1. **prebiotikumokkal**, amelyek olyan összetevőket tartalmaznak, amelyek segítik a normál flóra tagjainak szaporodását, pl. inulin és laktóz
2. **probiotikumokkal**, amelyek a normál flóra tagjait tartalmazzák (erjesztett tejtermékek, táplálékkiegészítők)

Milyen baktériumokat tartalmaznak a probiotikumok?

Activia joghurt	<i>Bifidobacterium animalis</i>
Actimel	<i>Lactobacillus casei</i>
Kaukázusi kefir	<i>Bifidobacterium sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i>
Protexin	<i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Normaflore	<i>Bacillus clausii</i>
Multitabs immuno	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG