

4. gyakorlat: Táptalajok. A baktériumok biokémiai tevékenysége.

A táptalaj olyan tápanyagokat tartalmazó közeg, amely biztosítja a baktériumok növekedését, szaporodását. Alkotók: C, N forrás, nyomelemek, oxigén, víz, megfelelő ozmotikus koncentráció. Fontos jellemzőjük a sterilitás!

Funkció szerinti csoportosítás: Nagyon fontos, hogy a funkció szerinti beosztás nem kizárólagos, tehát bizonyos táptalajok lehetnek egyben szelektívek és differenciálók is!

1. Elektív vagy szelektív táptalajok

Egyes baktériumok szelektív tenyésztésére szolgálnak. Más baktériumok nem vagy csak csökkent mértékben képesek növekedni rajtuk, mivel tartalmaznak valami anyagot (pl. festék), ami a baktériumok egy részének a növekedését gátolja.

Például:

Eozinmetilénkék táptalaj: szelektív és differenciáló táptalaj. Gram-pozitív baktériumok növekedése gátolt. **A laktóz bontásának** kimutatására is szolgál: a laktóz bontó *Escherichia coli* telepei lilák.

2. Differenciáló táptalajok

A baktériumok biokémiai tevékenységét a baktériumok azonosítására is felhasználhatjuk. A biokémiai próbák során vizsgáljuk bizonyos enzimek meglétét illetve hiányát úgy, hogy az enzim szubsztrátját a táptalajba helyezzük. Az enzim működése során a szubsztrátból termék keletkezik, ennek létrejöttét, ha pH eltolódással jár, indikátorral tudjuk kimutatni.

Például:

- **Russel táptalaj:** ferde agar táptalaj, cukorbontás + gázképzés detektálása (laktóz + dextróz + szacharóz). A táptalaj tartalmaz indikátort (Andrade-indikátor), amely sav hatására megpirosodik.

Mit vizsgálhatunk vele? Szénhidrátok bontásának kimutatására szolgál.

Ismétlés: A tejsavas erjedés a tejsavbaktériumok jellemző anyagcsere-folyamata. A tejsavbaktériumok Gram-pozitív, oxidáz és kataláz negatív, pálcika vagy kokkus alakú baktériumok. A tejsavbaktériumok a különböző szénhidrátokat (elsősorban a glükózt és a laktózt) anaerob úton tejsavvá alakítják. A keletkező tejsav a termék pH-ját a savas tartományba tolja el, tehát csökkenti a pH-t. A tejsavas erjesztett élelmiszerek esetében a következő nemzetségekhez tartozó fajok játsszák a kulcsszerepet: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus* és *Carnobacterium*. Meg kell még említeni a tejsavbaktériumokhoz közelálló, probiotikus hatású *Bifidobacterium* fajokat is.

- **Véres agar:** felolvasztott majd 45°C-ra lehűtött agarhoz 5% defibrinált vért keverünk, alkalmas a hemolizint termelő baktériumok kimutatására (α , β hemolízis)

Mit vizsgálhatunk vele? Hemolizin kimutatására szolgál: a baktériumok által termelt hemolizinek enzim természetűek. Bonthatják a vörösvértestek membránját, de a hemoglobint is károsíthatják. Véres agar táptalajon a telepek körül feltisztulást tapasztalunk, ha a baktérium termel hemolizint.

- **Krómagar táptalaj:** kromogén szubsztrátkeveréket tartalmazó szilárd táptalaj, amellyel a húgyúti patogén baktériumokat biokémiai tevékenységük alapján tudjuk beazonosítani (más fajok eltérő színű telepeket képeznek).

Feladat: Készíts véres agar táptalajt és izolálj környezeti mikroorganizmusokat a mintavevő eszközök segítségével!

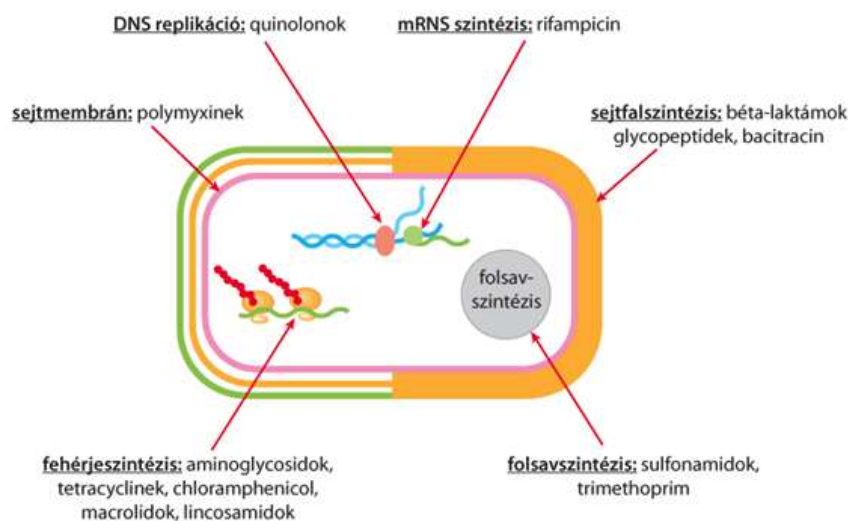
5. gyakorlat: A baktériumok antibiotikum érzékenységének vizsgálata.

Antibiotikum érzékenység meghatározása papírkorong diffúziós módszerrel.

Bemutató: előre elkészített rezisztencia vizsgálat korongmódszerrel *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* tenyészeteken. **Gyakorlat:** rezisztencia vizsgálat elvégzése *E. coli* és *S. epidermidis* húsleves tenyészetéből papírkorong módszerrel.

Az antibiotikumok a baktériumok szervezetén belüli elpusztítására vagy szaporodásuk leállítására alkalmas gyógyszerek. Lehetnek **baktericid** szerek, melyek a baktériumok pusztulását okozzák, és **bakteriosztatikusok**, melyek a baktériumok osztódását gátolják.

Az antibiotikumokat a támadáspontjuk alapján csoportosítjuk. Hathatnak szerkezeti elemekre (pl. sejtmembrán), interferálhatnak azok szintézisével (pl. sejtfal szintézist gátló szerek), befolyásolhatják a DNS replikációt, az mRNS szintézist, a fehérjeszintézis különböző lépéseit és gátolhatnak metabolikus folyamatokat (pl. folsav szintézis).



1. ábra. Az antibiotikumok támadáspontjai

Az antibiotikumok használatának széleskörű elterjedésének köszönhetően az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia gyakoriságának növekedése figyelhető meg a baktériumok között. A baktériumok különböző törzsei eltérő mértékben gátolhatók egyes antibiotikumokkal. Gyakran megjelenhetnek olyan multirezisztens törzsek, melyek egyszerre több antibiotikummal szemben is rezisztensek. Ezért a sikeres terápia szempontjából feltétlenül szükséges az emberi megbetegedésekből származó baktériumok rezisztenciájának meghatározására.

A baktériumok antibiotikum érzékenységének vizsgálata történhet korongdiffúziós módszerrel. Az eljárás azon alapul, hogy a vizsgálandó baktériummal beoltott szilárd táptalaj felszínére az antibiotikum meghatározott koncentrációjú oldatával átitatott szűrőpapírkorongot helyezünk. Az antibiotikum a táptalajból származó vízben feloldódik és a korong környezetében eloszlik. Az antibiotikum diffúziójával egyidőben a baktérium szaporodásnak indul. Ahol az antibiotikum kellő koncentrációban van jelen a táptalajban meggátolja a baktérium szaporodását, a korong körül ún. gátlási zóna alakul ki. A vizsgált baktérium érzékenységét a gátlási zóna mérete alapján ítéljük meg. A gátlási zónák szabályos kör alakúak. Annak a területnek az átmérőjét határozzuk meg, ahol szabad szemmel nem észlelünk növekedést.

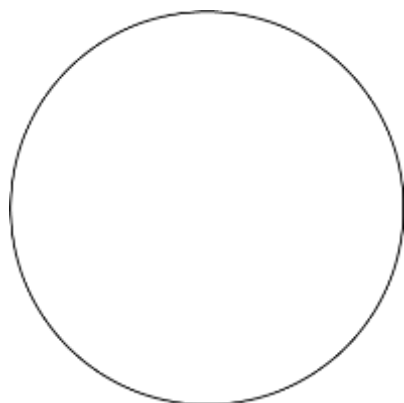
Feladatok:

1. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményének kiértékelése az előre elkészített tenyészeteken.

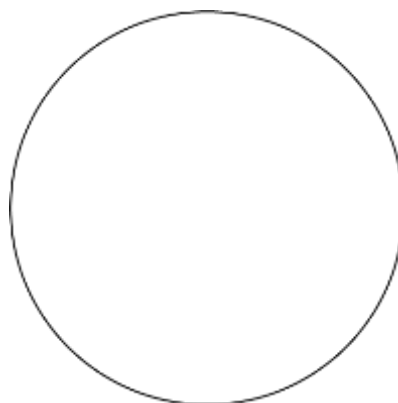
Mérd le a gátlási zónák átmérőjét! A mért értékeket (mm-ben) írd be a táblázatba!

Antibiotikum	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2. Határozd meg a *Staphylococcus epidermidis* tenyészet antibiotikum érzékenységét korongdiffúziós módszerrel!



Antibiotikumok (5/2. feladat)



Illóolajok (6/1. feladat)

6. gyakorlat: Illóolajok antibakteriális hatásának vizsgálata.

Illóolajok: teafa, levendula, grapefruitmag, geránium, eukaliptusz

A agar lemezek beoltása *Staphylococcus epidermidis* folyékony tenyészetével, majd steril papírkorongokra cseppentjük az illóolajokat. Értékelés: gátlási zónák leolvasása

Az illóolajok története

Az első illatszereket már az őskorban használták. Az ókori receptgyűjtemény, az egyiptomi Papyrus Ebers (Kr.e. 1600) tartalmaz illóolajok gyógyászati használatára vonatkozó feljegyzéseket. A mai Pakisztán területén folytatott ásatások során kezdetleges illóolaj desztilláló berendezéseket is találtak. Az illóolajok kinyerésére a máig leggyakrabban alkalmazott vízgőzdesztillációt Avicenna perzsa orvos dolgozta ki. A középkorban a kolostori gyógyászatban széles körben elterjedté vált az illóolaj tartalmú növényeknek és kivonataiknak használata.

Az illóolajok jellemzői

Az illóolajok többkomponensű elegyek, amelyek leggyakrabban monoterpének, szeszkviterpének vagy aromás fenilpropán-származékok. A sok illékony komponensre jellemző, hogy alacsony molekulatömegűek, apoláros, illetve gyengén poláros anyagok. Az illóolajok a kis molekulatömeg és a lipofil oldódási tulajdonságok miatt a nyálkahártyákon és a bőrön keresztül könnyen felszívódnak. Kiválasztásuk a tüdőn, bőrön, a vesén, illetve a májon át történhet.

Az illóolajok biológiai hatásukat tekintve antimikróbás aktivitással rendelkeznek. Hatékonyak légúti fertőzések terápiájában, továbbá a központi idegrendszerre gyakorolt hatásuk miatt számos tudományos adat igazolja nyugtató, altató és szorongást csökkentő hatásukat. Külsőleg reumás és mozgásszervi megbetegedésekben lehetnek hasznosak az illóolajok, belsőleg pedig az emésztésre gyakorolhatnak pozitív hatást – ezért alapelemei a fűszerek a gasztronómiának.

Antimikróbás hatású illóolajok

- A teafa illóolaj fő komponense a terpinén-4-ol, amely membránkárosító hatásának következtében gátolja a vírusok, baktériumok és gombák szaporodását
- A terpinén-4-ol tartalomnak köszönhető a levendula illóolaj antimikróbás hatása is
- A kakukkfű és a szurokfű fő antimikróbás alkotórésze a timol és a karvakrol, amelyek aromás monoterpén alkoholok, a bőr és a köröm gombás fertőzéseinél alkalmazhatóak
- A citrusfélék (citrom, narancs, mandarin, grapefruit, bergamott) illóolajában megtalálható limonén hatásos gombás fertőzések esetén
- Az eukaliptusz olajban található cineol is antifungális hatással rendelkezik
- Antibakteriális hatású a szegfűszeg (eugenol), a fahéj (o-metoxi-fahéjaldehid), a fenyőfélékben található pinének, valamint az orvosi zsálya és a mirrha illóolaja is

Feladat: Határozd meg az illóolajok antibakteriális hatását korongdiffúziós módszerrel *Staphylococcus epidermidis* tenyészetben!