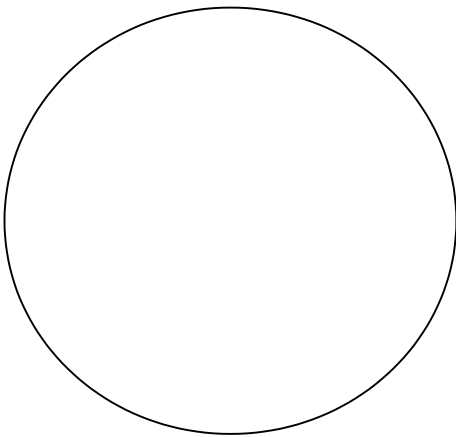




Mikrobiológiai gyakorlati foglalkozás

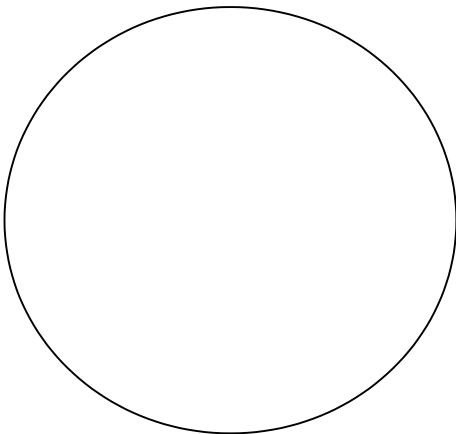
1

1. Balesetvédelmi oktatás
2. Laboratóriumi eszközök bemutatása, alpműveletek ismertetése
3. **Festett kenetek vizsgálata mikroszkóppal: baktériumok alaki tulajdonságainak vizsgálata**



Mycobacterium tuberculosis

A tüdőtuberkulózis (gümőkór vagy TBC) kórokozója.



Helicobacter pylori

A gyomorhurut, fekélybetegség, nyiroktumor, gyomorrák kialakulásában játszik szerepet.

Bacillus anthracis

Lépfene kórokozója, biológiai fegyver lehet a spórája. Bőr-, bél- vagy tüdőanthraxot okoz.

Corynebacterium diphtheriae

A torokgyík kórokozója, régen halálos betegség volt, ma már van ellene védőoltás.

Neisseria gonorrhoeae

A gonorrhoea (tripper, kankó) a klasszikus nemi betegségek közé tartozó kórkép.

4. Baktériumok telepmorfológiájának vizsgálata

Írd le és/vagy rajzold le, hogy milyen alakúak a baktériumtelepek és milyen a telepek környezete!

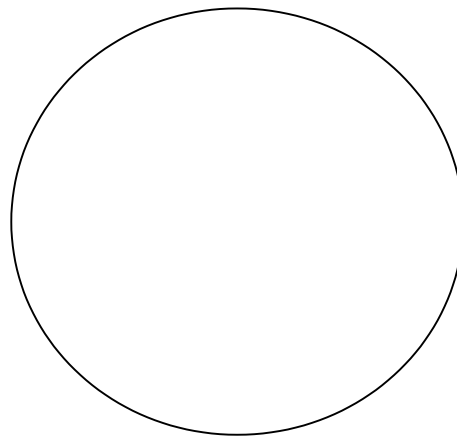
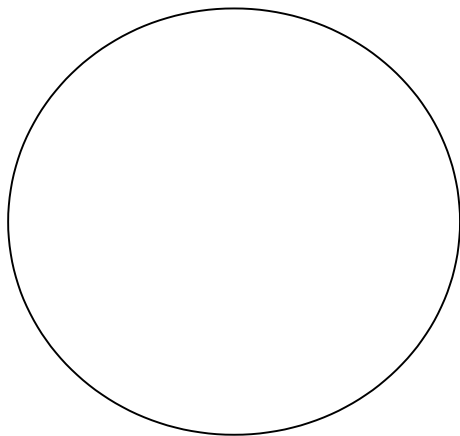
Ha többféle táptalajon levő tenyészeteket vizsgálasz, jelezd a táptalaj típusát!

Táptalaj típusa:

HA: húsleves agar; EMB: eozin-metilénkék táptalaj; VA: véres agar táptalaj

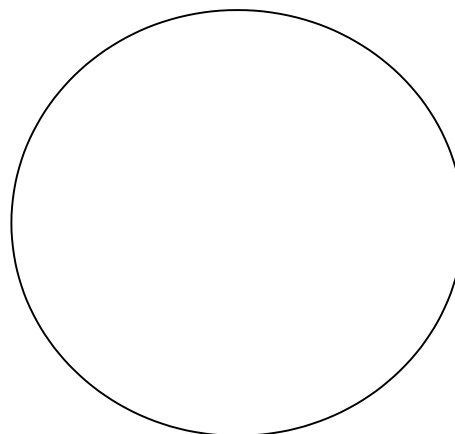
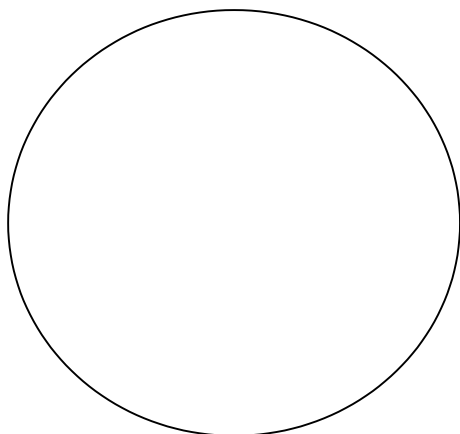
Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus aureus



Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa



5. Baktériumok biokémiai tevékenységének vizsgálata

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.

4

Cukorbontás vizsgálata

A cukorbontás vizsgálata peptonvizet és az adott cukrot (laktóz, glükóz) tartalmazó tápfolyadékban történik. A cukrokból a bontás során sav keletkezik, amit jelezhet az Andrade indikátor rózsaszín színre változása, (de használatos még fenolvörös is, ami savas körülmények között sárga). Ha az adott baktérium a cukrot savval és gázzal is bontja, a keletkezett gázt a tápfolyadékba helyezett kis fordított állású üveg harang felfogja, buborékot láthatunk benne.

Gyakorlat:

Vizsgáld meg a kémcsövekben levő tenyészeteket és írd/rajzold le a tapasztaltakat!

Laktózbontás vizsgálata *Escherichia coli* tenyészetben

Dextrózbontás vizsgálata *Escherichia coli* tenyészetben

Laktózbontás vizsgálata *Staphylococcus aureus* tenyészetben

Dextrózbontás vizsgálata *Staphylococcus aureus* tenyészetben

Oxidáz próba

Az oxidatív anyagcserét folytató baktériumok terminális oxidációjában szerepet játszó citokró-m-oxidáz enzim aktivitását vizsgáljuk, amely az elektron transzportlánc citokró-m c enzimét visszaoxidálja. A citokró-m C oxidált formája többféle szubsztrátot is elfogad.

A teszt során oxidáz reagenssel (tetrametil-fenilén diamin HCl) átitatott szűrőpapírra egy kicsinyi baktérium kultúrát dörzsölünk (fém oltókacs nem használható!). Pozitív esetben sötétbíbor színű reakció látható.

Oxidáz pozitív baktérium: *Pseudomonas aeruginosa*



Gyakorlat:

Hasonlítsd össze az *E. coli* és a *P. aeruginosa* tenyészeteket oxidáz aktivitás szempontjából és rajzold le a látottakat!

Baktérium (műanyag tippel)



<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
----------------	----------------------

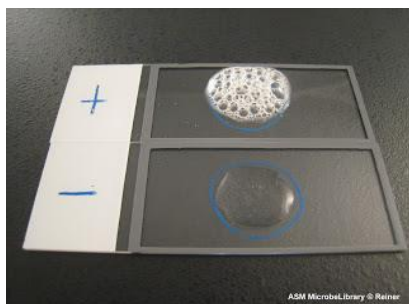
Kataláz próba

A baktériumok egy része a légzése során H_2O_2 -t termel, amely toxikus lenne számukra, viszont a kataláz enzim a H_2O_2 -t vízre és O_2 -re bontja.

*A próba során a ferde agar táptalajon levő baktérium telepekre cseppentett H_2O_2 -t a baktérium kataláza elbontja, és a termelődött O_2 -t a parázsló pálca fellobbanása jelzi.

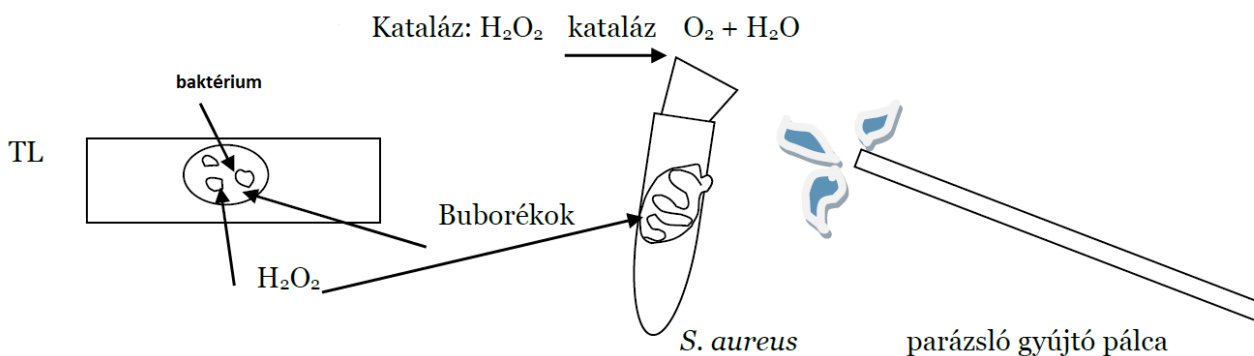
A másik lehetőség a próba elvégzésére, ha egy tárgylemezen a telepet H_2O_2 -vel elkeverjük, pozitív esetben buborékképzést tapasztalunk

6



Gyakorlat:

Adj pár csepp H_2O_2 -t *Staphylococcus aureus* ferde agaron levő tenyészetéhez és nyúlj a csőbe parázsló gyújtópálcával! Írd le a tapasztalataidat!



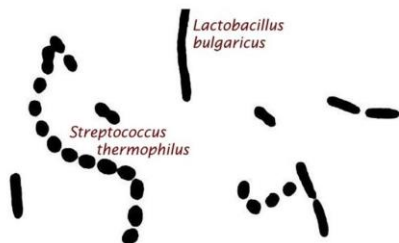
6. Festett készítmények vizsgálata élelmiszermintákból

Baktériumok vizsgálata joghurtban

Gram-festés: A baktériumok két eltérő csoportba oszthatóak a sejtfal szerkezete alapján (Gram-pozitív és Gram-negatív)

Gram-festés menete:

- 1) Gram AB oldat (kristályibolya) 1 perc
- 2) Csapvizes öblítés
- 3) Lugol oldat 1 perc
- 4) Differenciálás 96%-os alkohollal
- 5) Csapvizes öblítés
- 6) Utófestés: vizes fukszin 20 másodperc



	Mikroszkópos kép
Actimel	

Gombák vizsgálata

Kefír vizsgálata Gram-festéssel:

	Mikroszkópos kép
<i>Kunsági kaukázusi kefir</i>	

8

Élesztő vizsgálata Gram-festéssel:

	Mikroszkópos kép
<i>Élesztő</i>	

Probiotikumok vizsgálata Gram-festéssel (LactiVPlus) és spórafestéssel (Normaflore):

LactiVPlus probiotikum

„A Lactiv Plus kapszula ötféle élőflórát tartalmaz, megújult összetételben (*Lactobacillus acidophilus* La-14, *Lactobacillus bulgaricus* Lb-64, *Bacillus coagulans* BC513, *Bifidobacterium animalis lactis* BI-04, *Streptococcus thermophilus* St-21). Garantáltan magas élőflóra tartalom, egy kapszula minimum 1,5 milliárd élőflórát tartalmaz.”

Normaflore probiotikum

„Hatóanyaga a *Bacillus clausii*, a természetben előforduló és feltételezhetően a bél normál flórájában is megtalálható jótékony baktériumtörzs. A *Bacillus clausii* spórák ellenállnak a hőhatásoknak, a gyomorsavnak és az emésztőenzimeknek, így sértetlenül érik el a bélrendszert, és épp ott fejtik ki jótékony hatásukat, ahol arra szükség van; a bélrendszerbe érve képes a szaporodásra, ezzel elősegítve a gyorsabb felépülést;

Ellenáll igazoltan 14 féle, gyakran alkalmazott antibiotikum hatóanyagának – tehát alkalmas az antibiotikum-kurák kiegészítésére, mivel bizonyos mellékhatások kialakulásának valószínűségét csökkenti (különös tekintettel a hasmenésre), illetve a már kialakult mellékhatások intenzitását mérsékli; a Normaflore termékekben lévő jótékony baktérium különböző, különösen a B-vitamin-csoportba tartozó vitaminok termelésére képes”

Spórafestés (Schaffer-Foulton festés) (*Bacillus* fajok)

1. karbols malachit zölddel 6-8 perc alatt 3x gőzölésig alámelegíteni a kenetet
2. differenciálás vízzel (kenet színén)
3. szafranin (utófestés) 1percig
4. csapvizes öblítés és szárítás

festődés: a spórák zöld színűek, a baktérium teste sárgás vörös



Gyakorlat:

Vizsgáld meg festés után a készítményeket és rajzold le a látottakat!

	Mikroszkópos kép
<i>LactiVPlus</i>	
<i>Normaflore</i>	