



Szakkollégiumi gyakorlati foglalkozás

Bevezetés a mikrobiológiába (2018. április 11. 19:00-20:30)

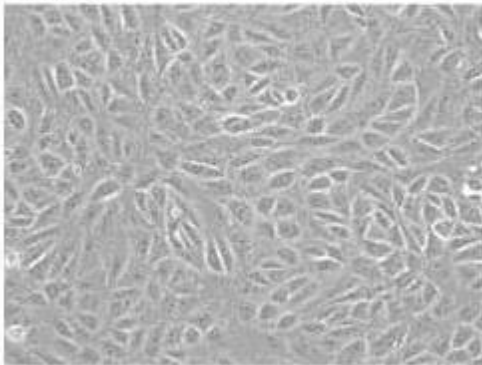
1. Balesetvédelmi oktatás
2. Laboratóriumi eszközök bemutatása, alpműveletek ismertetése

3. Vírusok citopátiás hatásának vizsgálata

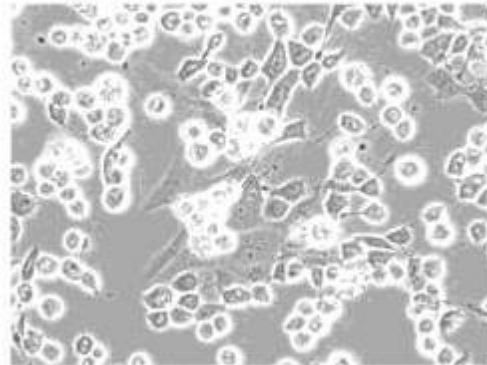
A sejtekben a vírusra jellemző citopátiás (sejtkárosító) hatás alakul ki:

- A vírus hatására a sejtek zsugorodhatnak, lekerekedhetnek, többmagvú syncytiumok jönnek létre (herpes vírus)
- A sejtmagban szaporodó vírusok a magban hoznak létre zárványokat

ATCC® Number: VR-734™
Agent: Human herpesvirus 2
Strain: G



Uninfected host (ATCC® CCL-81™)



Infected host (ATCC® CCL-81™) showing CPE

4. Baktériumok telepmorfológiájának vizsgálata

Figyeld meg, hogy milyen alakúak a baktériumtelepek és milyen a telepek környezete! Ha többféle táptalajon levő tenyészeteket vizsgálsz, jelezd a táptalaj típusát! Táptalaj típusa: HA: húsvéres agar; EMB: eozin-metilénkék táptalaj; VA: véres agar táptalaj

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Streptococcus pneumoniae

Enterococcus faecalis

Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

Klebsiella pneumoniae

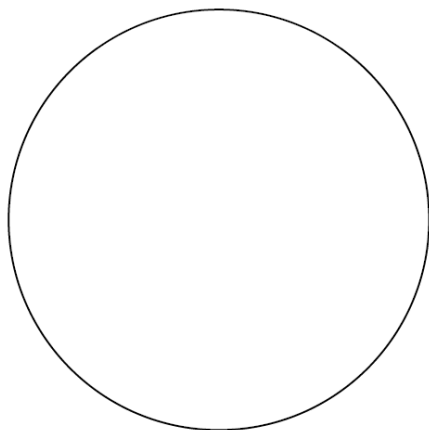
Proteus mirabilis

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.

Pseudomonas aeruginosa vizsgálata API kittel

ChromoBiolUrine táptalaj használata és gyakorlati kipróbálása



6. Festett készítmények vizsgálata élelmiszermintákból

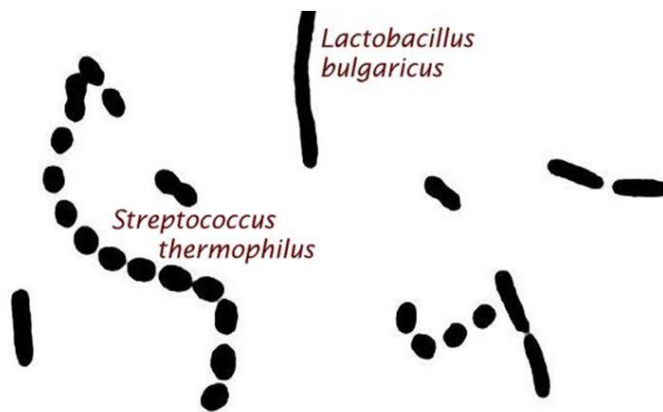
Baktériumok vizsgálata joghurtban

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

3

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



Vizsgálati anyag	Mikroszkópos kép
<i>Activia joghurt</i>	

Gombák vizsgálata

Élesztő vizsgálata Gram-festéssel:

Vizsgálati anyag	Mikroszkópos kép
Élesztő	

4

8. Probiotikumok vizsgálata Gram-festéssel (LactiVPlus, Protexin Balance) 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 hatóanyagoknak – 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”

Protexin Balance

Hatóanyag: 100 millió (10 a nyolcadikon db) élő probiotikus baktérium csíra:

- 1,20 mg *Lactobacillus paracasei*
- 1.05 mg *Lactobacillus rhamnosus*
- 0,30 mg *Streptococcus thermophilus*
- 0,15mg *Lactobacillus acidophilus*
- 0,14 mg *Bifidobacterium breve*
- 0,14 mg *Bifidobacterium longum*
- 0,03 mg *Lactobacillus bulgaricus*

kapszulánként.

Egyéb összetevők: A kapszula prebiotikumként 97% frukto-oligo-saccharidot, és vivőanyagként magnézium-sztearátot tartalmaz.

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. safranin (utófestés) 1percig
4. csapvizet öblítés és szárítás

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

5

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

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

9. Antibiotikumok, antibakteriális hatású illóolajok vizsgálata

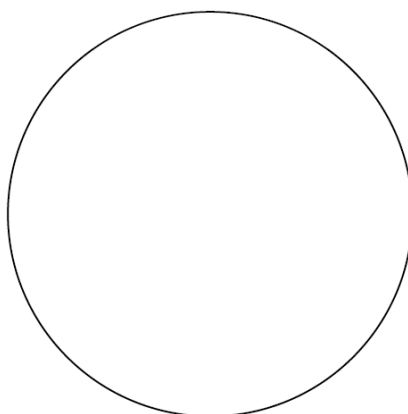
Érzékenységi vizsgálat elvégzése *S. epidermidis* húsleves tenyészetéből papírkorong módszerrel

A folyékony tenyészetből steril vattapálca segítségével egyenletesen a szilárd táptalaj felszínére szélesztjük a baktériumokat. A legegyszerűsebb baktériumpásztát akkor kapjuk, ha legalább 3 irányban végezzük a szélesztést. Az antibiotikum korongokat vagy illóolajjal átitatott steril korongokat steril csipesszel a táptalajra helyezük. A korongok egymástól és a Petri-csésze szélétől legalább 24 mm távolságra kerüljenek, hogy a nagyméretű gátlási zónák is jól értékelhetők legyenek. A korongokra enyhe nyomást gyakoroljunk, hogy a teljes felületük érintkezzen a táptalajjal. A már felrakott korongot nem szabad áthelyezni!

Illóolajok antimikrobiális hatásának alapja:

- A teafa illóolaj fő komponense a terpinén-4-ol, amely membránkárosító hatásának következtében gátolja a vírusok, baktériumok és gombák szaporodását
- A kakukkfű és a szurokfű fő antimikrobás alkotórésze a timol és a karvakrol, amelyek aromás monoterpén alkoholok, a bőr és a köröm gombás fertőzéseinél alkalmazhatóak
- Az eukaliptusz olajban található cineol is antifungális hatással rendelkezik

Rajzoljuk le a Petri-csészéket a vizsgált antibiotikum korongokkal és a gátlási zónákkal!



10. Kézfertőtlenítő szerek vizsgálata

Fertőtlenítőszernek nevezzük azokat az erős hatású, toxikus vegyületeket, melyek alkalmasak az élő mikroorganizmusok (elsősorban baktériumok, gombák) elpusztítására vagy szaporodásuk gátlására.

A fertőtlenítőszeret két nagy csoportra lehet osztani:

- **Antiszeptikumok.** A gazdaszervezetre viszonylag kevésbé toxikus ágensek, *közvetlenül alkalmazhatók* a bőrön és a nyálkahártyákon vagy a sebekben.

- **Dezinficiensek.** Rendkívül toxikusak, izgató és maró hatásuk miatt a testfelületek fertőtlenítésére nem használhatók, *tárgyak, eszközök, felületek* sterilizálására alkalmasak.

Ahhoz, hogy a fertőtlenítőszer maximálisan hassanak, az utasításban a megadott behatási (expozíciós) időtartamot meg kell határozni, és alkalmazásukkor azt be kell tartani. A mindennapi gyakorlatban itt követik el a legtöbb hibát.

Baktériumok az ujjlenyomaton: mivel mossunk kezet?

Anyagok:

1. Agar táptalaj Petri-csészén
2. Víz
3. Szappan (hagyományos, krémszappan, fertőtlenítőszeres szappan)
4. Kézfertőtlenítő szerek (többféle)
5. Alkohol
5. Papírtörő
6. Alkoholos filctoll

A vizsgálat menete:

Három részre osztjuk az agar táptalajt, ezt a csésze alján alkoholos filctollal jelöljük. Először mosatlan ujjunkat nyomjuk az agar táptalaj felszínére. Utána szappannal megtisztított, megtörölt ujjunkat nyomjuk a táptalaj felszínére, végül fertőtlenítőszerrel vagy alkohollal bedörzsölt és megszáritott ujjunkat nyomjuk az agar táptalaj felszínére. A csészéket egy éjszakán át 37°C-on tartjuk, másnap kiértékeljük az eredményeket.

