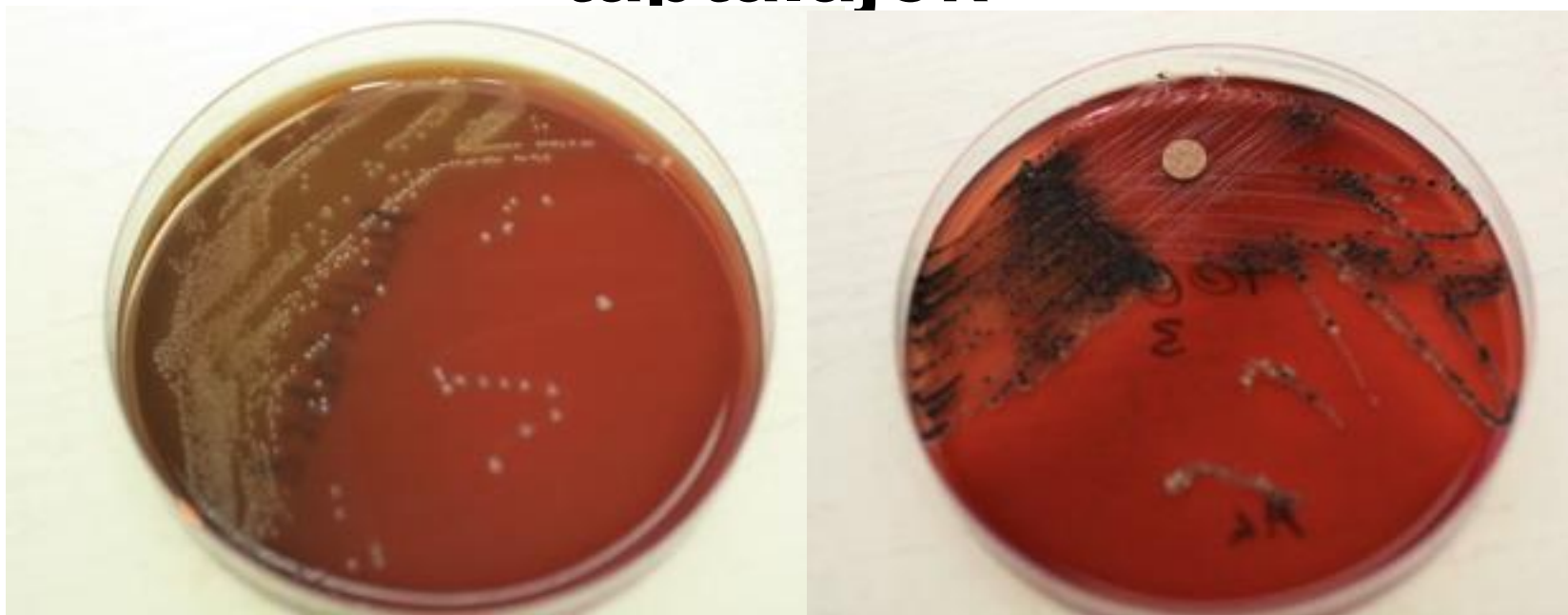


Baktériumok tenyésztése, táptalajok



Dr. Kerényi Monika

Tartalom

Előző gyakorlat emlékeztető

Tenyésztés célja

Baktériumok szaporodásához szükséges a táptalajban

Környezeti tényezők

Táptalajok - Konzisztencia alapján

Táptalajok- Összetétel alapján

Szelektív táptalajok

Differenciáló táptalajok

Biokémiai táptalajok

Újabban kifejlesztett táptalajok

Anyag beküldésére alkalmazott transzport táptalajok

1. Feladat: Szélesztés a Petri csészében lévő szilárd táp...

Szélesztés technikája

2. Feladat: Tenyészetek értékelése

Telep mérete

Telep alakja

Telep színe (pigment termelés)

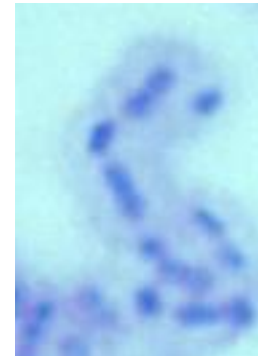
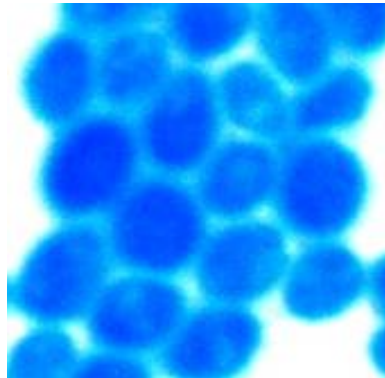
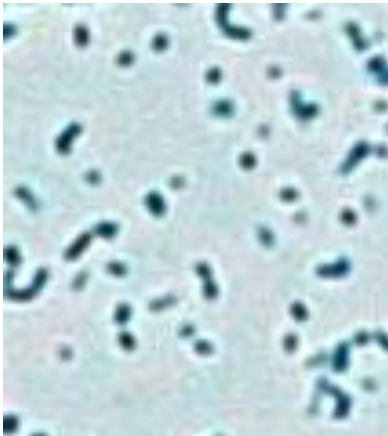
Telep széle

Telep domborúsága

Telepek tapadása, szárazsága, nyákossága

Előző gyakorlat emlékeztető:

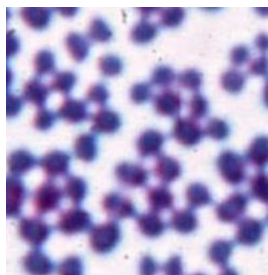
- Egyszerű festés:
pl. metilénkék festés



Alak , méret, elrendeződés, tok, spóra

Előző gyakorlat emlékeztető:

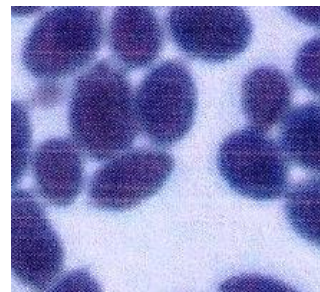
- Összetett festések
 - Gram festés (Gram + vagy Gram-)



Gram + coccus



Gram – pálca



Sarjadzó gomba

- Ziehl-Neelsen festés (saválló baktériumok)
- Neisser festés (Corynebacterium volutin szemcsék)

Tenyésztés célja

- A mintában lévő kis számú baktériumok megsokszorozása.
- A mintában lévő egyes baktériumok kimutatása és elkülönítése (izolálása) az azonosítás céljából

Baktériumok szaporodásához szükséges a táptalajban

- **Szén, és nitrogén** forrás (emésztett fehérjék pl. tripton, pepton)
- **Vitamin** (B vitaminok – élesztő kivonat)
- **Elemek és nyomelemek** (Fe, P, S, Na, K, Mg, Cl, stb)
- **pH** (acidofil, alkalofil)
- **Víz**

Környezeti tényezők:



- **Hőmérséklet**
 - *pszikrofil*
 - *mezofil- mezoterm*
 - *termofil*
 - *hipertermofil* (hőforrások közelében élő baktériumok)
- **Oxigén igény:**
 - *aerob*: jelenléte szükséges
 - *fakultatív anaerob*: oxigén jelenlétében és nélküle is
 - *obligát anaerob*- oxigén toxikus
 - *mikroaerofil* - 10% CO₂

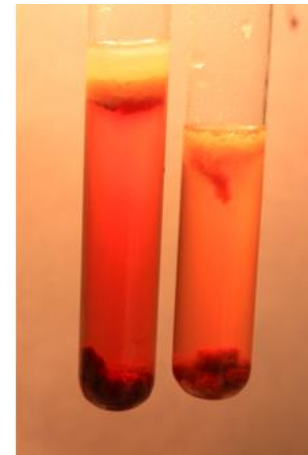
Idő!!

Táptalajok - Konzisztencia alapján:

- **Folyékony**

húsleves vagy tápleves – bouillon, nutrient broth, Holman tápleves / cooked meat broth/ (darált hús és tápleves) – csak „dúsításra” szaporításra alkalmas.

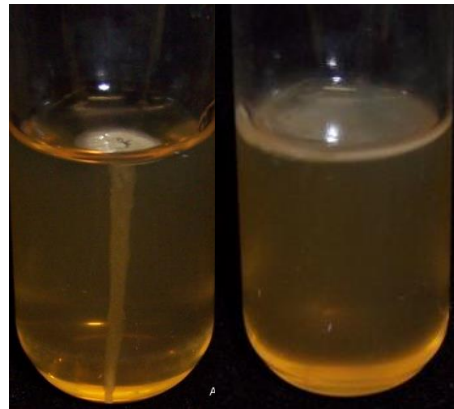
Húsleves (tápleves)



Holman tápleves

Táptalajok - Konzisztencia alapján:

- **Félfolyékony** (0.2-0,3 % agar tartalmaz) – általában mozgás vizsgálatára



mozgás - és mozgás +

- **Szilárd** (1,5 - 2 % agar) – szélesztés után izolált telepek nyerésére

Táptalajok- Összetétel alapján

- **Egyszerű** – tápagar, tápleves
- **Összetett**
 - **véresagar** (5% defibrinált vért) – igényesebb baktériumok – hemolízis meghatározható



véresagar

- csokoládé agar (főtt vért) - hemet és NAD-ot igénylő baktériumok tenyésztésére



Csokoládé agar

Táptalajok- összetétel alapján

Összetétel alapján

- **Összetett**

- különböző **szelektív és differenciáló** táptalajok
- **biokémiai táptalajok** – baktérium biokémiai reakcióinak meghatározására

(általában szubsztrátot és indikátort tartalmaznak)

Szelektív táptalajok

- **Szelektív folyékony tápleves** – szelenites dúsító tápleves – Salmonellák
 - **Szelektív szilárd táptalajok** – csak bizonyos baktériumok növekednek a többi baktérium növekedését gátolhatja – festék, sók, antibiotikumok
- pl. Eozin-metilénkék táptalaj (EM) – festék gátolja a Gram-pozitívok növekedését



EM táptalaj

Eozin-metilénkék táptalaj (EM) – festék gátolja a Gram-pozitívok növekedését



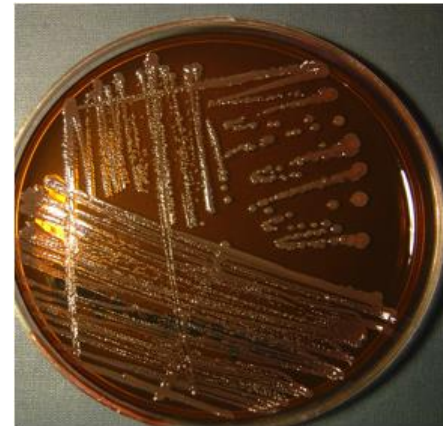
Azonos minta tenyészte véresagaron és eozin-metilénkék táptalajon

Differenciáló táptalajok

Biokémiai reakció az indikátor színváltozását okozza, amely alapján a telepek között különbséget lehet tenni.



Laktózt bontó



Laktózt nem bontó

EM táptalaj laktózt tartalmaz – laktózt bontó baktérium sötét fémfényű (eozinos) telepeket képez, míg a laktózt nem bontó baktériumok világosabb rózsaszínű telepeket.

Differenciáló táptalajok

Differenciáló táptalaj

Sós mannitos táptalaj – *Staphylococcus aureus* – mannitot bont sárga telep. Más staphylococcus fajok rózsaszínű telepek

Mannitot bontót



Mannitot nem bontót

Véresagar is differenciáló! – hemolizáló telepek elkülöníthetőek.

Nem hemolizáló telepek



Hemolizáló telepek

A biokémiai reakció szubsztrátját tartalmazza indikátorral vagy anélkül. A reakció lezajlása a pH változását idézi elő, amely az indikátor színváltozását okozza.

- **Egyszerűek** - egy szubsztrátot és általában indikátort tartalmaznak. Konzisztenciájuk lehet folyékony és félfolyékony, paneleken beszárítva (következő gyakorlat)
- **Összetett biokémiai táptalajok** – politrop táptalajok (Nógrády, Russel, TSI, KIA). Többféle szubsztrátot tartalmaz indikátorral. Szilárdak

Biokémiai táptalajok

- Politrop táptalajok – cukor bontás, ureáz termelés, kénhidrogén termelés



Újabban kifejlesztett táptalajok

Chromagar táptalajok

A táptalaj chromogén szubsztrátokat tartalmaz. A baktériumok az enzimeiknek megfelelően használják a szubsztrátokat, amelynek következtében a különböző fajoknak megfelelően a telepek különböző színekben jelennek meg



Anyag beküldésére alkalmazott transzport táptalajok

- A mikroorganizmusok életben maradását szolgálják



1. Feladat: Szélesztés a Petri csészében lévő szilárd táptalaj felszínén

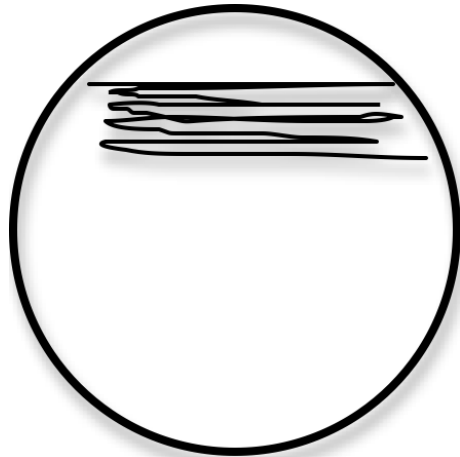
Célja:

Izolált (különálló) telepek növekedjenek a táptalajon.

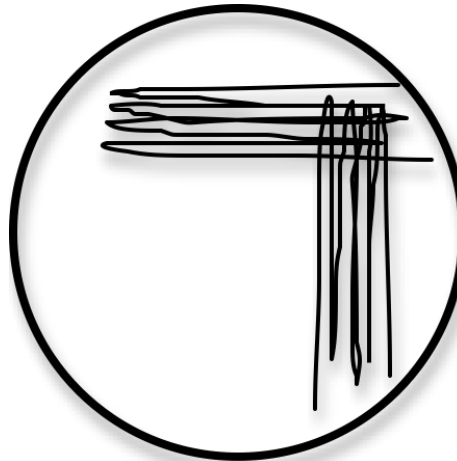
Egyszerű, de nagyon fontos lépés a bakteriális diagnosztikában, hogy a mintában lévő baktériumokat, majd az egy-egy baktériumból növő izolált telepekből meg tudjuk határozni. A klinikai mintákban lévő baktériumok meghatározása nem lehetséges, ha nincsenek izolált telepek.

Szélesztés technikája

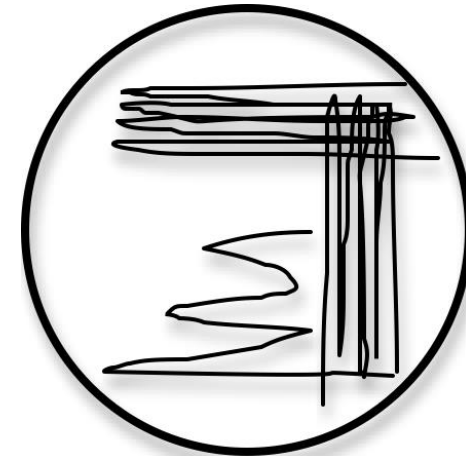
Lángban való sterilizáció után a kaccsal mintát veszünk, majd elszélesztjük a táptalaj felszínén



Kacs
sterilizáció



Kacs
sterilizáció



A szélesztés előtt a táptalajt tartalmazó Petri csésze részt jelöljük meg. Szélesztés után helyezzük a termosztátba a táptalaj felszínével lefelé (kondenz víz ne csöppenjen rá a felszínre) és 37°C-on inkubáljuk másnapig.

2.Feladat: Tenyészetek értékelése

Telep morfológia

A telep jellemző a baktérium fajra (esetenként törzsrre pl tokképzés), a megjelenése függ a táptalajtól is.

Telepek leírása:

- méret – átmérő vagy pl.gombostűfej nagyságú
- alak -
- szín
- telep széle
- domborúság
- áttetszőség
- mattság
- tapadás
- szaga stb

Telep mérete



Gombostű nagyságú

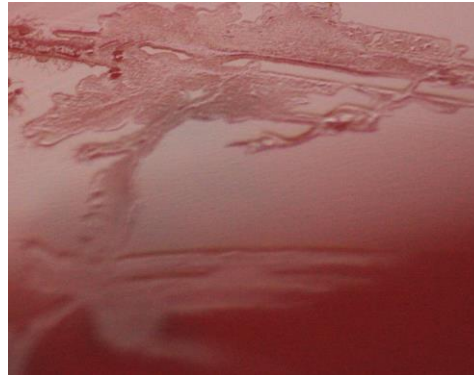


Lencse nagyságú

Telep alakja



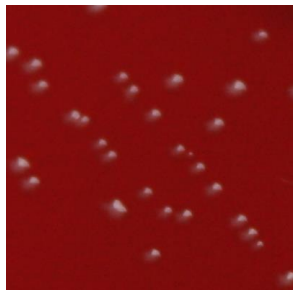
kerek



elágazó (rajzó)



rhizoid



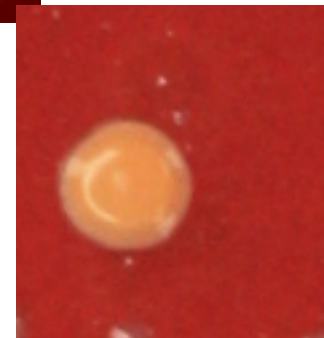
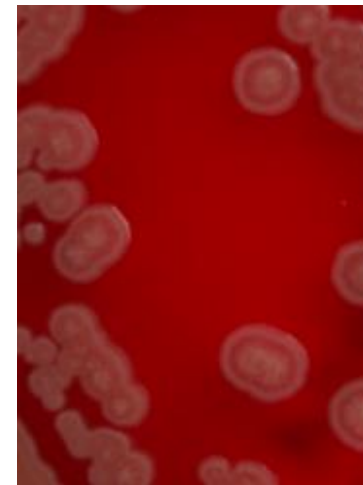
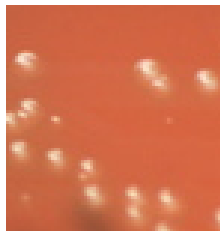
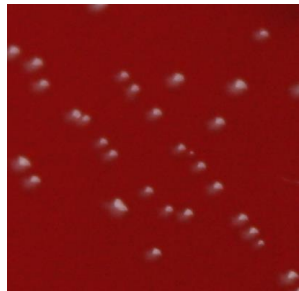
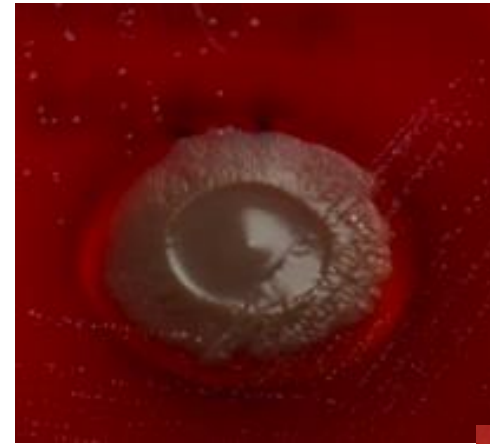
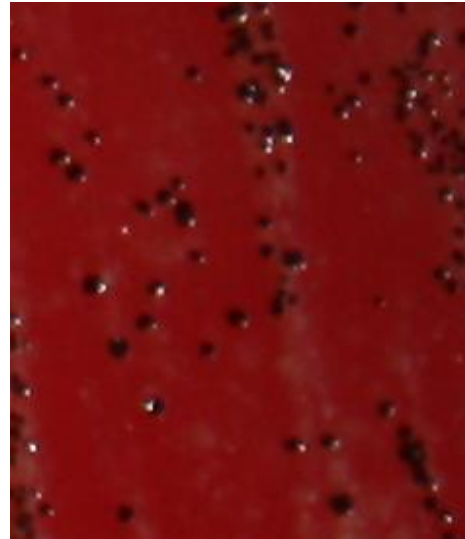
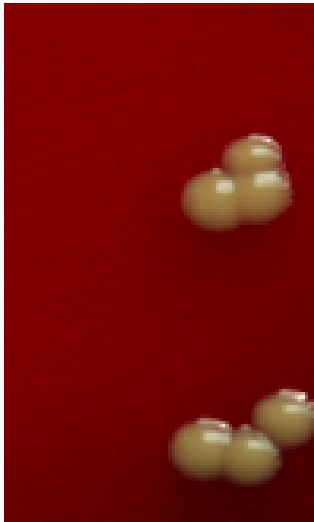
pont alakú



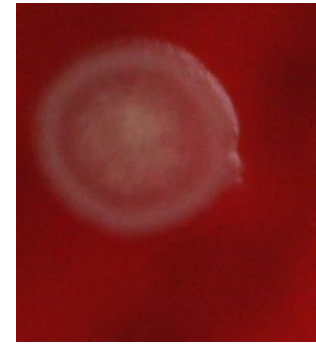
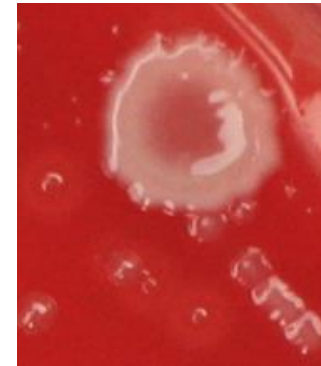
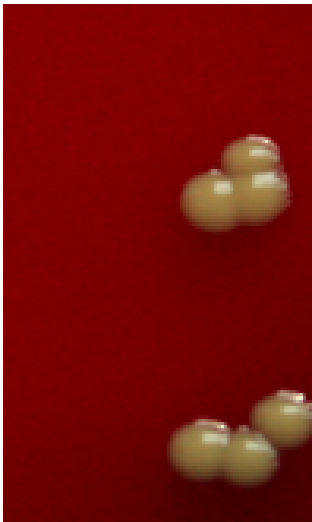
szabálytalan



Telep színe (pigment termelés)

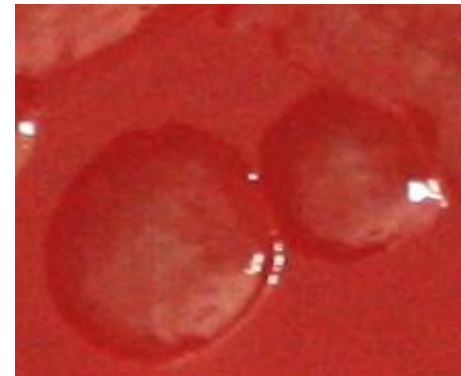


Telep széle



éles (ép)

fűrész

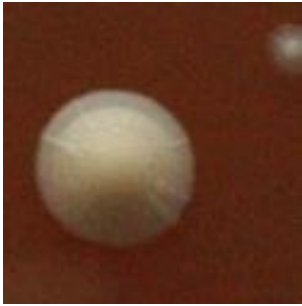


lebenyes

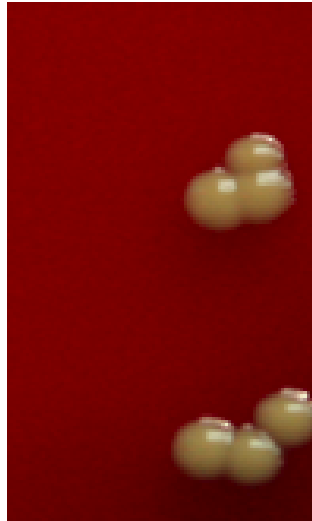
hullámos

„elmosódott”

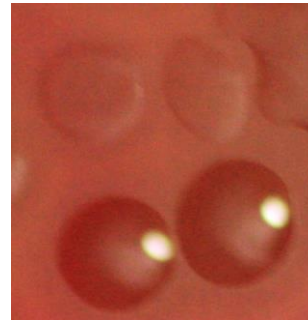
Telep domborúsága



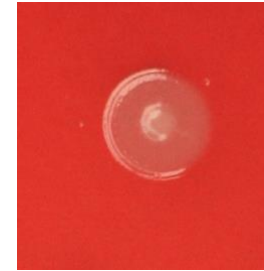
kúp alakú



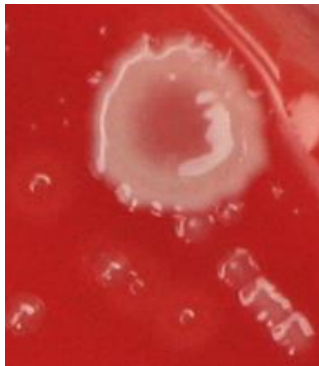
lapos



konvex



gombos

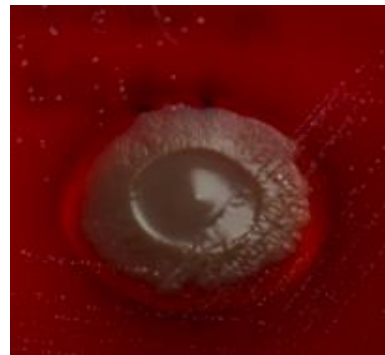


konkáv

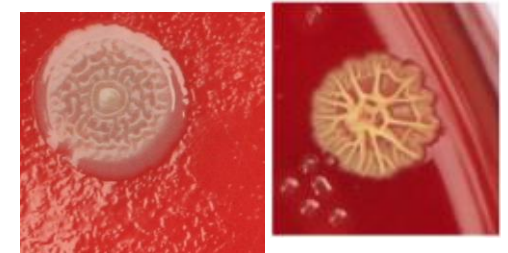


félgömb alakú

peremes

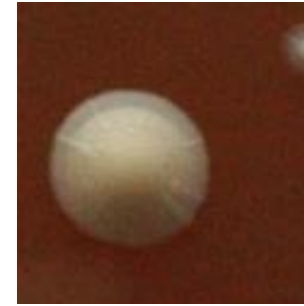
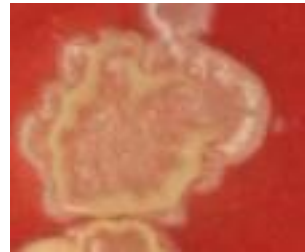


kráteres



szabálytalan

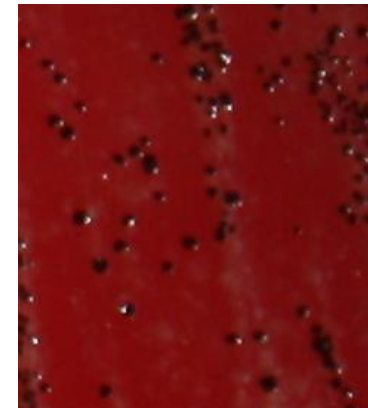
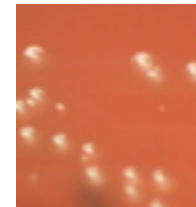
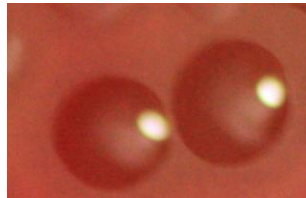
Telepek áttetszősége és mattsága



matt



áttetsző



Fényes

Telepek tapadása, szárazsága, nyákossága



Száraz, tapadós

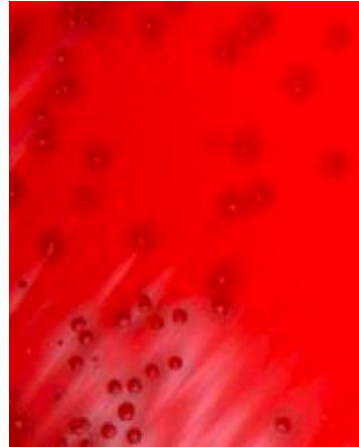


Nyákos

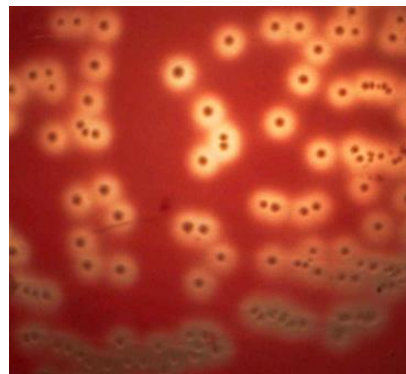
véresagaron:

telep körüli **hemolízisek:**

zöld zóna – alfa hemolízis:



áttetsző zóna, teljes – béta hemolízis:





PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
UNIVERSITY OF PÉCS

SZÉCHENYI 2020

ÚJ SZÉCHENYI TERV

**AZ ÉLETTUDOMÁNYI- KLINIKAI FELSOÓKTATÁS
GYAKORLATORIENTÁLT ÉS HALLGATÓBARÁT
KORSZERŰSÍTÉSE A VIDÉKI KÉPZŐHELYEK
NEMZETKÖZI VERSENYKÉPESSÉGÉNEK
ERŐSÍTÉSÉRE
TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001**

A fotókat Dr. Bártai István és Dr. Kerényi Monika készítette

AZ ÉLETTUDOMÁNYI- KLINIKAI FELSOÓKTATÁS GYAKORLATORIENTÁLT ÉS HALLGATÓBARÁT KORSZERŰSÍTÉSE A VIDÉKI KÉPZŐHELYEK
NEMZETKÖZI VERSENYKÉPESSÉGÉNEK ERŐSÍTÉSÉRE
TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.