**ЗАКАРПАТСЬКИЙ УГОРСЬКИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ФЕРЕНЦА РАКОЦІ ІІ**

**II. RÁKÓCZI FERENC KÁRPÁTALJAI MAGYAR FŐISKOLA**

**Кафедра біології та хімії**

**Biológia és Kémia Tanszék**

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ / MÓDSZERTANI ÚTMUTATÓ**

до практичних (семінарських) робіт / gyakorlati (szemináriumi) munkákhoz

*Мікробіологія / Mikrobiológia*

(назва навчальної дисципліни / a tantárgy neve)

Перший (бакалаврський) / Alapképzés (BSc)  
(ступінь вищої освіти / felsőoktatás szintje)

*01 Освіта/Педагогіка* / *01 Oktatás/Pedagógia*  
(галузь знань / képzési ág)

*Середня освіта* / *Középiskolai oktatás*  
(освітня програма / képzési program)



Берегове / Beregszász  
2022р. / 2022

Методичні вказівки розроблені на основі діючого законодавства України та Стандартів вищої освіти за спеціальністю 014 «Середня освіта (Біологія та здоровʹя людини)» для першого (бакалаврського) рівня вищої освіти, з метою забезпечення студентів методичними вказівками до практичних/семінарських занять з курсу «Зоологія (хордових)» для студентів денної та заочної форм навчання. У методичних вказівках розгладається хід практичних/семінарських занять з завданнями та містять загальні теоретичні матеріали курсу.

Затверджено до використання у навчальному процесі  
на засіданні кафедри біології та хімії ЗУІ ім. Ф. Ракоці ІІ  
(«27» вересня 2021 року, протокол № 2.)

Рекомендовано до видання в електронній формі (PDF)  
рішенням Вченої ради Закарпатського угорського інституту ім. Ф.Ракоці ІІ  
(протокол № 9 від 30 вересня 2021р.).

Розробники методичних вказівок:

*Аттила* *Молнар* – науковий співробітник кафедри біології та хімії Закарпатського угорського інституту імені Ференца Ракоці ІІ

*Степан* *Коложварі* – доктор філософії, доцент кафедри біології та хімії Закарпатського угорського інституту імені Ференца Ракоці ІІ

*Іллар Леонард* – викладач кафедри біології та хімії Закарпатського угорського інституту імені Ференца Ракоці ІІ

За зміст методичних вказівок відповідальність несуть розробники

Відповідальний за випуск:

*Ержебет Когут* – доктор філософії, доцент кафедри біології та хімії Закарпатського угорського інституту імені Ференца Ракоці ІІ, завідувач кафедри

Видавництво: Закарпатський угорський інститут імені Ференца Ракоці II (адреса: пл. Кошута 6, м. Берегове, 90202. Eлектронна пошта: [foiskola@kmf.uz.ua](mailto:foiskola@kmf.uz.ua))

**© Розробники методичної казівки, 2022**

**© Кафедра біології та хімії ЗУІ ім. Ф. Ракоці ІІ, 2022**

A módszertani kiadvány a hatályban lévő törvényi háttér és a 014 „Középfokú oktatás (Biológia és az ember egészsége)” szakirányú felsőoktatási standart alapján készült el a bachelor szint számára; annak érdekében, hogy ellássuk a nappali és levelező tagozatos diákokat módszertani útmutatókkal a gyakorlati/szemináriumi órák lebonyolításához mikrobiológia tárgyból. A módszertani útmutató tartalmazza a gyakorlati/szemináriumi órák menetét feladatokkal, és röviden összefoglalja az elméleti anyagot.

Az oktatási folyamatban történő felhasználáshoz jóváhagyta  
a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszéke  
(2022. augusztus 29., 1. számú jegyzőkönyv).

Elektronikus formában (PDF fájl formátumban) történő kiadásra javasolta  
a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Tudományos Tanácsa  
(2021. szeptember 30., 9. számú jegyzőkönyv).

A módszertani útmutató kidolgozói:

*Molnár Attila* – a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszékének tudományos munkatársa

*Kolozsvári István* – Ph.D., a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszékének docense

*Illár Lénárd* – a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszékének oktatója

A módszertani útmutató tartalmáért kizárólag az útmutató kidolgozói felelnek.

A kiadásért felel:

*Kohut Erzsébet –* Ph.D., a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola Biológia és Kémia Tanszékének docense, tanszékvezető

Kiadó: a II. Rákóczi Ferenc Kárpátaljai Magyar Főiskola (cím: 90202, Beregszász, Kossuth tér 6. E-mail: [foiskola@kmf.uz.ua](mailto:foiskola@kmf.uz.ua))

**© A módszertani útmutató kidolgozói, 2022**

**© A II. RF KMF Biológia és Kémia Tanszéke, 2022**

# Tartalomjegyzék

[Tartalomjegyzék 1](#_Toc95914757)

[Gyakorlati foglalkozások tematikája Mikrobiológia tantárgyhoz a ІІІ/5 évfolyamos biológia szakos hallgatók részére 4](#_Toc95914758)

[1. A gyakorlat követelményeinek ismertetése. A mikrobiológia gyakorlatok során alkalmazott munkavédelmi alapismeretek. 5](#_Toc95914759)

[A gyakorlat célja 5](#_Toc95914760)

[A gyakorlat követelményei 5](#_Toc95914761)

[Munkavédelmi szabályok a mikrobiológiai laboratóriumokban 5](#_Toc95914762)

[2. Mikroorganizmusok tenyésztése. A mikroorganizmusok tenyésztéséhez használt tápközegek fő típusai. Tápagar készítése. 7](#_Toc95914763)

[Tápközegek 7](#_Toc95914764)

[A táptalajok összetétele 7](#_Toc95914765)

[A táptalajok csoportosítása 8](#_Toc95914766)

[A táptalajok csoportosítása összetétel szerint 8](#_Toc95914767)

[A táptalajok csoportosítása halmazállapot szerint 8](#_Toc95914768)

[A táptalajok csoportosítása a felhasználás célja szerint 8](#_Toc95914769)

[A táptalajok és hígítófolyadékok készítése és tárolása 9](#_Toc95914770)

[Tenyésztési módszerek 10](#_Toc95914771)

[Aerob tenyésztési eljárások 10](#_Toc95914772)

[Anaerob tenyésztési eljárások 10](#_Toc95914773)

[Alap táptalaj készítése 11](#_Toc95914774)

[A gyakorlat menete 11](#_Toc95914775)

[3. A szétválasztás elve. Tiszta kultúrák megőrzésének jelentősége és módszerei. Különböző közegekről vett minták kultúrába vitele. Szélesztéses eljárás. 12](#_Toc95914776)

[A gyakorlat menete 13](#_Toc95914777)

[4. A mikroorganizmusok meghatározása telepmorfológia és mikroszkóp segítségével. 14](#_Toc95914778)

[Jellemző teleptulajdonságok 14](#_Toc95914779)

[A gyakorlat menete 15](#_Toc95914780)

[5. Festési eljárások a mikrobiológiában. A Gram festés. 17](#_Toc95914781)

[A festési eljárások csoportosítása 17](#_Toc95914782)

[Gram-festés 18](#_Toc95914783)

[A munka menete 18](#_Toc95914784)

[6. Az élővizek mikrobiológiája. Különböző típusú élővizek mikroszkópos vizsgálata. 20](#_Toc95914785)

[A gyakorlat menete 21](#_Toc95914786)

[7. Az élelmiszermikrobiológia alapjai. Az élesztő vizsgálata és joghurtkultúra készítése. 22](#_Toc95914787)

[A gyakorlat menete 23](#_Toc95914788)

[8. A leadandó munkák ellenőrzése. Záró dolgozat. 24](#_Toc95914789)

[Táptalajok 25](#_Toc95914790)

[Alap agar (Base agar) 1000 ml-re 25](#_Toc95914791)

[Tápleves (Nutrient broth) 1000 ml-re 25](#_Toc95914792)

[Tápagar (Nutrient agar) 1000 ml-re 25](#_Toc95914793)

[Zselatinos táptalaj (Nutrient gelatin) 1000 ml-re 25](#_Toc95914794)

[Mannitol só agar (Mannitol salt agar, MSA) 1000 ml-re 25](#_Toc95914795)

[Czapek-Dox minimál táptlalaj 1000 ml-re 25](#_Toc95914796)

[Véres agar 1000 ml-re 25](#_Toc95914797)

[LB tápleves (Lysogeny broth, Luria broth, Luria-Berthani medium) 1000 ml-re 25](#_Toc95914798)

[LB táptalaj (Lysogeny broth agar, Luria broth agar, Luria-Berthani agar) 1000 ml-re 25](#_Toc95914799)

[Endo Agar (pH 7.5) 1000 ml-re 26](#_Toc95914800)

[MRS táptalaj (DeMan, Rogosa, Sharpe Agar) 1000 ml-re 26](#_Toc95914801)

[Tápagar (Nutrient agar) 1000 ml-re 26](#_Toc95914802)

[SCA táptalaj (Starch Casein Agar) 1000 ml-re 26](#_Toc95914803)

[EMB táptalaj (Eosin methylene blue agar) 1000 ml-re 26](#_Toc95914804)

[MacConkey táptalaj 1000 ml-re (MacConkey agar) (I. változat) 26](#_Toc95914805)

[MacConkey táptalaj 1000 ml-re (MacConkey agar) (II. változat) 27](#_Toc95914806)

[XLD táptalaj (Xylose Lysine Deoxycholate Agar) 1000 ml-re 27](#_Toc95914807)

[SS táptalaj (SS agar, Salmonella Shigella agar) 1000 ml-re 27](#_Toc95914808)

[Tej táptalaj (Milk Agar) 1000 ml-re 27](#_Toc95914809)

[Burgonyás táptalaj (Potato agar) 1000 ml-re 27](#_Toc95914810)

[PDA táptalaj (Potato Dextrose Agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914811)

[QPDA táptalaj (Quarter strength potato dextrose agar, 1/4 Strength PDA) 1000 ml-re 28](#_Toc95914812)

[APDA táptalaj (Acidified Potato Dextrose Agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914813)

[SAB táptalaj (Saboraud agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914814)

[PCA táptalaj (Potato Carrot Agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914815)

[YGC táptalaj (YGC medium, Yeast Glucose Chloramphenicol Agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914816)

[YM táptalaj (Yeast Malt Extract Agar) 1000 ml-re 28](#_Toc95914817)

[Főbb festési eljárások 29](#_Toc95914818)

[Gram-festés 29](#_Toc95914819)

[Fukszin festés 29](#_Toc95914820)

[Ziehl-Neelsen-féle festési eljárás 29](#_Toc95914821)

[Stamp-féle festés 29](#_Toc95914822)

[Köster-féle festési eljárás 29](#_Toc95914823)

[Módosított Castaneda festési eljárás 30](#_Toc95914824)

[Módosított Dorner-féle módszer 30](#_Toc95914825)

[Schaeffer-Fulton módszer 30](#_Toc95914826)

[KOH teszt 30](#_Toc95914827)

[Felhasznált irodalom 52](#_Toc95914828)

[Ajánlott szakirodalom 52](#_Toc95914829)

# Gyakorlati foglalkozások tematikája Mikrobiológia tantárgyhoz a ІІІ/5 évfolyamos biológia szakos hallgatók részére

|  |  |
| --- | --- |
| 1 | A gyakorlat követelményeinek ismertetése. A mikrobiológia gyakorlatok során alkalmazott munkavédelmi alapismeretek. |
| 2 | Mikroorganizmusok tenyésztése. A mikroorganizmusok tenyésztéséhez használt tápközegek fő típusai. Tápagar készítése. |
| 3 | A szétválasztás elve. Tiszta kultúrák megőrzésének jelentősége és módszerei. Különböző közegekről vett minták kultúrába vitele. Szélesztéses eljárás. |
| 4 | A mikroorganizmusok meghatározása telepmorfológia és mikroszkóp segítségével. |
| 5 | Festési eljárások a mikrobiológiában. A Gram-festés. |
| 6 | Az élővizek mikrobiológiája. Különböző típusú élővizek mikroszkópos vizsgálata. |
| 7 | Az élelmiszermikrobiológia alapjai. Az élesztő vizsgálata és joghurtkultúra készítése. |
| 8 | A leadandó munkák ellenőrzése. Záró dolgozat. |

# A gyakorlat követelményeinek ismertetése. A mikrobiológia gyakorlatok során alkalmazott munkavédelmi alapismeretek.

## A gyakorlat célja

Alapvető és általános mikrobiológiai ismeretek átadása és azok gyakorlati alkalmazásának bemutatása. A gyakorlatok során a hallgatók megismerkednek a mikrobiológiai laboratórium működésének alapelveivel (általános viselkedési és munkavédelmi szabályok). A baktériumok kimutatásának (direkt, indirekt) és vizsgálatának (kenetkészítés, egyszerű és összetett festési eljárások, mikroszkóp-használat, táptalajkészítés, sterilizálási módszerek, baktérium-izolálás, a baktériumok genus és fajszintű azonosítása) módszereivel, amely során baktérium-tenyésztésre és az általános bakteriológiai laboratóriumi munkák elvégzésére is nyílik lehetőség.

## A gyakorlat követelményei

A gyakorlat során a hallgatóknak minden gyakorlati alkalmon részt kell vennie, és a záró dolgozatot sikeresen (60 % fölötti eredmény) kell teljesítenie. Ezen kívül a következő leadandó munkákat kell mindenkinek leadni:

* referátum: egy iskolában elvégezhető, mikrobiológiához kapcsolódó kísérlet leírása
* gyakorlati jegyzőkönyv leadása;
* kiselőadás megtartása az alább felsorolt témák egyikéből:

|  |
| --- |
| Mikrobiológiai rögzítési és festési eljárások |
| Sterilizálási eljárások a laboratóriumokban |
| Az élelmiszeripar által használt mikrobiológiai eljárások |
| Az ember szimbióta mikrobái |
| Főbb növénypatogén mikrobák |
| Főbb állatpatogén mikrobák |
| Főbb humánpatogén mikrobák |
| Főbb antibiotikumok és azok hatásmechanizmusa |
| Vakcinák és azok hatásmechanizmusa |
| Főbb vektor által terjesztett kórokozók |
| Gyógyszerrezisztencia kialakulásának okai |

## Munkavédelmi szabályok a mikrobiológiai laboratóriumokban

Irányelvek a biztonságos laboratóriumi gyakorlathoz:

* Mindig viseljen megfelelő egyéni védőeszközöket. Váltson kesztyűt, és dobja ki az elhasználtakat, ha az más tevékenységek során szennyezett lett. Csökkentse minimálisra a kontamináció lehetőségét.
* Mosson kezet munka után, és a laboratórium elhagyása előtt is a fertőzésveszély miatt.
* Nem szabad enni, inni, dohányozni, kontaktlencsét és kozmetikumokat viselni, és emberi fogyasztásra szánt élelmiszereket tárolni a laboratóriumban.
* Kövesse az intézményi szabályzatban foglaltakat a vágó, szúró eszközök biztonságos kezelését illetőleg. (tűk, szikék, pipetták és törött üveg).
* Ügyeljen arra, hogy minimálisra csökkentsék az aeroszolok és / vagy fröccsenő anyagok létrehozását a kísérletek alatt, és ha valami kiömlik vagy lecsöppen, azonnal törölje fel, és fertőtlenítse le mivel ezen anyagok a potenciálisan fertőzőnek minősülnek. Rutinszerűen kell tisztítani a laboratóriumi berendezéseket, akkor is, ha nem szennyezettek.
* Fertőtlenítse az összes fertőzésveszélyes anyagot annak ártalmatlanítása előtt.
* Jelentsen a megfelelő gyakorlatvezetőnek minden olyan eseményt, amelyek eredményeként fertőzésveszély következhet be.

***A munkavédelmi szabályokat megértettem és tudomásul vettem, a felelősséget vállalom.***

Aláírás:…….…………………………….

# 2. Mikroorganizmusok tenyésztése. A mikroorganizmusok tenyésztéséhez használt tápközegek fő típusai. Tápagar készítése.

A tenyésztéses módszerek egyrészt lehetőséget teremtenek mikroorganizmusok különböző célra történő fenntartására és elszaporítására, másrészt ezen eljárások segítségével megoldható egyes mikrobacsoportok vagy fajok jelenlétének kimutatása. Ugyancsak ezen módszerek képezik az élősejtszám-meghatározás alapját.

A mikroorganizmusok szaporodásának feltétele a megfelelő tápanyagellátás és környezeti tényezők (hőmérséklet, pH, redoxpotenciál, vízaktivitás) biztosítása. Laboratóriumi körülmények között ezt a célt szolgálják a különböző összetételű tápközegek, amelyekkel a vizsgált mikrobák tápanyag-, pH-, vízaktivitás- és redoxpotenciál-igénye kielégíthető. A szükséges hőmérséklet termosztátokkal állítható be.

## Tápközegek

### A táptalajok összetétele

A táptalajoknak tartalmazniuk kell mindazokat az anyagokat, amelyekre a mikroorganizmusoknak szüksége van, és amelyeket maguk szintetizálni nem képesek. **Feltétlenül szükséges táptalajkomponensek:**

***Víz:*** A víz az élő szervezet alapvető komponense, szerepet játszik minden élőlény anyagcsere-folyamataiban. Emellett a táptalajokban a mikroorganizmusok számára, mint környezeti tényező is nélkülözhetetlen. A táptalajok készítéséhez általában egyszer desztillált vizet kell használni.

***Szén- és energiaforrás:*** a táptalajokban a redukált széntartalmú vegyületek kettős célt szolgálnak: egyrészt asszimilatív oxidációs folyamataik révén energiát nyernek belőle, másrészt ezekből építik fel a mikroorganizmusok saját széntartalmú anyagaikat. Az autotróf mikroorganizmusok képesek a levegő szén-dioxid tartalmát is hasznosítani, a mikrobák döntő többsége azonban a kemoheterotróf csoportba tartozik. A számukra hasznosítható szerves szénforrások igen széles skálája mikrobafajonként eltér, s ez a tulajdonság vizsgálata a mikroorganizmusok azonosításának igen fontos lépése. A leggyakrabban használt szén- és energiaforrások az egyszerű cukrok (glükóz, laktóz stb.), a pepton és a húskivonat. (E két utóbbi egyben nitrogénforrás is.)

***Nitrogénforrás:*** az élő anyag bioszintéziséhez szükséges, igénytől függően szerves vagy szervetlen nitrogén-vegyületek. A levegő molekuláris nitrogéntartalmát csak néhány baktériumfaj képes hasznosítani (Rhizobium, Azotobacter fajok). A különböző nitrogénforrások eltérő hasznosíthatósága - hasonlóan a szénforrásokhoz - diagnosztikai célokra kihasználható. A leggyakrabban használt szervetlen nitrogénforrások az ammónium-, nitrit- és nitrátsók, szervesek pedig a húskivonat, természetes fehérjék, peptonok, triptonok és az aminosavak.

***Ásványi anyagok:*** fontos szerepet játszanak egyrészt a sejt ozmotikus nyomásának kialakításában a sejthártya aktív transzportfolyamatai révén, valamint kofaktorként az enzimaktivitás szabályozásában. A mikroorganizmusok ásványianyag-igényét gyakran a csapvíz is kielégíti, de a szervetlen foszforvegyületeket - a makroerg foszfátkötések révén a sejt energiaforgalmában betöltött döntő szerepe miatt - megfelelő mennyiségben a táptalajhoz kell adni.

**Feltételesen szükséges táptalajkomponensek:**

***Vitaminok, biosz anyagok:*** a különböző anyagcsere-folyamatokban - igen kis mennyiségben - szükséges anyagok, amelyeket a mikroorganizmus nem képes előállítani. Ezek az anyagok elsősorban a koenzimként játszanak szerepet az anyagcserében. A baktériumoknak zsírban oldódó vitaminokra és C-vitaminra nincs szükségük. A legtöbbjük a B-vitaminokat is szintetizálni képes, azonban amelyek nem, azoknak ezeket készen kell kapniuk. A laboratóriumi gyakorlatban legáltalánosabban használt komplex vitaminforrás az élesztőkivonat. .

***Szervetlen és szerves hidrogénakceptorok:*** baktériumok légzési láncában képződő hidrogén-ionokat felvevő terminális anyagok. Csak akkor szükséges a táptalajhoz adni, ha a táptalajban lévő többi komponens egyike sem képes ezt a funkciót ellátni.

## A táptalajok csoportosítása

### A táptalajok csoportosítása összetétel szerint

Összetétel szerint megkülönböztetünk természetes, félszintetikus és szintetikus táptalajokat. A **természetes táptalajok** természetes anyagok felhasználásával készülnek, ezért összetételük pontosan nem definiálható. Ebbe a csoportba tartozik a húsleves, a melasz vagy a maláta. **Félszintetikus tápközegek** összetevőinek egy része olyan természetes anyag, amelynek összetétele nem teljesen ismert, vagy alkotóinak aránya változó. Ebbe a csoportba tartozik minden olyan táptalaj, amely agart tartalmaz. A **szintetikus táptalajok** minden összetevőjét kvantintitative és kvalitative is ismerjük. Hátrányuk, hogy igen drágák.

### A táptalajok csoportosítása halmazállapot szerint

Halmazállapot szerint beszélhetünk folyékony, félfolyékony és szilárd táptalajokról.

A **folyékony táptalajokra** jellemző, hogy a különböző tápanyagokat szuszpenzióban, valódi vagy kolloid oldat formájában tartalmazzák. A folyékony halmazállapotú tápközegek közül a természetes vagy félszintetikus táptalajokat **leves**eknek nevezzük, a szintetikus táptalajokat pedig **tápoldat**nak. A **szilárd táptalaj**ok a folyékony táptalajokból származtathatók szilárdítóanyagok (agar, zselatin, szilikagél) hozzáadásával. Régebben a zselatin volt a legelterjedtebb szilárdítóanyag, ma egyre inkább háttérbe szorul, ami egyrészt igen alacsony olvadáspontjával (35 °C) magyarázható, másrészt azzal a ténnyel, hogy a zselatint számos baktériumfaj elfolyósítja zselatináz enzime révén. Éppen ezért ma már inkább csak diagnosztikai céllal használjuk. Az agar kétkomponensű gélképző poliszacharid-keverék, amelyet egyes tengeri vörösalgákból vontak ki. Az agar nagy előnye, hogy 38-40 °C-on megdermed, olvadáspontja azonban 98 °C. Mivel az agar természetes anyag, összetétele nem definiálható pontosan, csak természetes és félszintetikus táptalajokhoz használható. A szintetikus táptalajokban szilárdítóanyagként zömmel szilikagél szerepel. A szilárd táptalaj megjelenési formája szerint lehet kémcsőben elkészítve magas- vagy ferdeagar, Petri-csészébe leöntve pedig agarlemez. A **félfolyékony táptalajok** is tartalmaznak szilárdítóanyagot, de lényegesen kevesebbet, mint a szilárd táptalajok.

### A táptalajok csoportosítása a felhasználás célja szerint

**Alaptáptalajok:** Az alaptáptalajok olyan médiumok, amelyek összetételüknél fogva általánosan (de nem univerzálisan) használhatók, a szaporodáshoz szükséges tápanyagokon kívül más speciális anyagot nem tartalmaznak.

**Elektív táptalajok:** olyan táptalajok, amelyekben összetételüknél fogva csak bizonyos mikrobacsoportok képesek szaporodni, így azok a környezetükben élő kísérő mikroflórából kiemelhetők.

**Szelektív táptalajok:** A szelektív táptalajok olyan kiegészítő komponenst tartalmaznak, amelyek egyes mikrobacsoportok szaporodását gátolják (festékek, szulfonamidok, antibiotikumok stb.). Természetesen ezek a táptalajok gyakran tartalmaznak olyan alkotókat is, amelyek a keresett, mikrobacsoport szaporodását segítik. A szelektív táptalajok közé tartoznak a módosított pH-jú (erősen savas vagy lúgos) médiumok is.

**Differenciáló vagy indikátor táptalajok:** a mikroorganizmusok differenciálására, azonosítására szolgáló táptalajok, amelyek kémiai indikátort, vagy egyéb jelzőrendszert (pl. Durham-féle fermentációs cső) tartalmaznak. Jellemzőjük, hogy egyes komponenseik szabad szemmel is látható reakciót adnak a mikroorganizmusok bizonyos anyagcseretermékeivel vagy enzimeivel.

**Speciális táptalajok:** különböző vizsgálati céllal összeállított, különleges vizsgálatokat szolgáló táptalajok.

### A táptalajok és hígítófolyadékok készítése és tárolása

Táptalajok és hígítófolyadékok készítéséhez csak kifogástalan minőségű és tisztaságú, bakteriológiai célokra alkalmas alapanyagok használhatók fel. A hőkezelés nélkül felhasználásra kerülő alapanyagokat aszeptikusan kell kezelni. Az alapanyagokat tisztán tartott, száraz, rovaroktól és rágcsálóktól mentes helyiségben kell raktározni. A higroszkópos anyagokat légmentesen zárható edényben kell tárolni. A beméréseket tiszta eszközökkel, analitikai körülmények között kell elvégezni.

A táptalajokat és hígítófolyadékokat csak tiszta, hőálló üvegedényben, rozsdamentes acélból készült vagy hibátlan tűzzománcos edényben szabad elkészíteni. A készítés során az alábbi műveleti sorrendet kell betartani:

* az alapanyagok előkészítése, - az alapanyagok bemérése,
* az alapanyagok oldása a receptekben megadott sorrend szerint, állandó keverés közben,
* pH-ellenőrzés, szükség szerint beállítás - kiegészítés végső térfogatra,
* agar táptalajoknál a szilárdsági próba elvégzése, - kiszerelés,
* sterilezés.

A táptalaj ill. hígítófolyadék pH-mérése hőmérsékletkompenzációs pH-mérővel történjen, a pH-beállítását 1 n NaOH-, ill. HCI-oldattal kell végezni.

A táptalajok és hígítófolyadékok többségét telített, túlnyomásos gőzzel, 115-121 °C-on autoklávban kell sterilezni 15 percig. A behatási időt attól az időponttól kell számítani, amikor a munkatér hőmérséklete az adott nyomásnak megfelelő értéket elérte. Csavaros kupakkal záródó palackok sterilezése előtt a zárókupakot meg kell lazítani, majd az autoklávból történő kiszedés után szorosra meg kell húzni. A rakomány felmelegítése minél gyorsabb legyen, ,a sterilezés után a túlnyomás megszüntetését viszont lassan kell végezni. Az autokláv ajtaját csak akkor szabad kinyitni, ha a táptalajok hőmérséklete már 70-80 °C-ra lehűlt.

Bizonyos táptalajokat frakcionált sterilezésnek kell alávetni, tehát három egymás után következő napon 80-85 °C-os hőmérsékleten 1-2 óra hosszat hőkezelni. A hőkezelés közötti idő alatt a táptalajokat a spórák germinációjának elősegítése céljából szobahőmérsékleten kell tartani.

Olyan táptalajokat vagy táptalaj-alapanyagokat, amelyeket még 80-85 °C-on sem lehet hőkezelni, szűréssel (0,2-0,45 μm pórusnagyságú membránszűrő) kell sterilezni.

A nagyobb mennyiségben elkészült táptalajokat általában literes térfogatú, papírvatta-dugóval lezárt üvegekben kell tárolni. Az üvegben tárolt táptalajokat áramló gőzben kell felolvasztani, és a még szükséges összetevők hozzáadása után további hevítés nélkül mielőbb szétmérni. Csak annyi alaptáptalajt szabad felolvasztani, amennyire szükség van; az ismételt felolvasztás a táptalajt károsíthatja!

Az agar táptalajok hőmérséklete a lemezekbe történő kiöntés alatt a kondenzvíz képződés csökkentése érdekében 60 °C-nál nagyobb ne legyen.

Az agar táptalajokból a szokványos Petri-csésze aljába kb. 20 ml-t kell önteni.

A táptalajokat általában hűtőszekrényekben, 4-8 °C-on kell tárolni. A Petri-csészébe fejtett szilárd táptalajokat fordított helyzetben, kell a hűtőszekrénybe helyezni. Kiszáradt, elszíneződött, vagy baktériumos szennyeződés jeleit mutató táptalajokat nem szabad felhasználni. A táptalaj készítésének napját a gyűjtőkosáron, ill. az egyedi táptalajedényen fel kell tüntetni. A hűtőszekrényben tárolt táptalajokat beoltás előtt szobahőmérsékletre kell felmelegíteni.

## Tenyésztési módszerek

Tenyésztés alatt értjük a baktériumok és gombák meghatározott táptalajokon történő mesterséges szaporítását. A mikroba-tenyésztés célja lehet egy már meglévő tenyészet fenntartása, tiszta tenyészet készítése, a szükséges mikroorganizmusok tömeges elszaporítása, illetve egy vizsgálati minta élősejt-számának meghatározása.

Inokulálásról, beszélünk, ha a vizsgálati anyag egy részével (inokulum) beoltjuk a szaporításra szolgáló táptalajt. Minden olyan esetben, amikor hígítófolyadékból vagy tápközegből viszünk mikroorganizmust a szaporítást szolgáló táptalajra (törzsfenntartás, tiszta tenyészet készítése stb.), átoltásról beszélünk.

A tenyésztés a mikroorganizmus oxigénigényének megfelelően aerob vagy anaerob körülmények között történik. Aerob módon tenyészthető minden olyan mikroorganizmus, amely anyagcseréjéhez oxigént igényel, vagy amelyek szaporodását az oxigén nem gátolja jelentős mértékben (aerotolerans). Anaerob módon kell tenyészteni minden olyan mikrobát, amelynek anyagcseréjét, szaporodását az oxigén gátolja. A mikroorganizmusoknak egy csoportja viszont csak csökkentett oxigénnyomáson, szén-dioxiddal dúsított légtérben képes szaporodni. Ezeket a mikrobákat mikroaerofiléknek nevezzük.

### Aerob tenyésztési eljárások

Az aerob tenyésztési eljárásoknál biztosítani kell a szaporításra szolgáló közeg oxigénellátását. Ez a legtöbb esetben nem jelent problémát, mert a Petri-csészékbe öntött és megszilárdult, néhány mm vastag táptalajba a levegőből bediffundáló oxigén elegendő a szaporodáshoz. Hasonló módon, fémkupakkal, vagy laza papírvatta-dugóval lezárt kémcsövekben is elegendő az oxigén-ellátás ferde agaros tenyészetek vagy egyszerű levestenyészetek esetében. Nagyobb térfogatú folyadéktenyészeteknél a nyugvó folyadék felületén át történő oxigénátadás már nem elegendő, ezeket a tenyészeteket rázatással vagy steril levegővel történő buborékoltatással kell "levegőztetni". Ezt a célt szolgálják a laboratóriumi rázógépek, vagy rázóvízfürdők, illetve a fermentorok, amelyek segítségével az intenzív oxigén-bevitel biztosítható.

### Anaerob tenyésztési eljárások

Az obligát anaerob baktériumok -330 mV-nál magasabb redoxpotenciálú környezetben nem szaporodik. Az atmoszférikus levegővel egyensúlyban lévő vízben a redoxpotenciál +800 mV. Anaerob tenyésztési körülmények eléréséhez tehát a redoxpotenciált csökkenteni, kell. A redoxpotenciál csökkenthető az oxigén kizárásával, vagy redukálóanyagok hozzáadásával. A levegő kiszorításának egyik legegyszerűbb módja a tápközeg fedése paraffindugóval, vagy paraffnolajjal. Ezt az eljárást kémcsőben készített tenyészetek esetén célszerű alkalmazni. Agarlemezek esetében célszerűbb az un. anaerob edények alkalmazása. Az anaerob edények olyan légmentesen zárható edények, amelyekből az oxigént kémiai úton (pl. pirogalluszsav és kálium-hidroxid összekeverésével) vonjuk el. Az edénybe az anaerob körülmények meglétének ellenőrzése céljából redoxindikátorral átitatott szűrőpapírt, kell helyezni.

Nagy mintaszámmal dolgozó laboratóriumok esetében a legcélszerűbb az anaerob termosztát használata. Az anaerob termosztát légmentesítése a levegő kiszivattyúzásával, vagy kémiai úton az oxigén vízzé alakításával hidrogén jelenlétében palládium katalizátor segítségével történik.

A táptalajhoz adott redukaló hatású adalékanyagként leggyakrabban merkapto-, vagy szulfhidril csoportot (-SH) tartalmazó anyagot (marhamáj, darált hús, cisztein, nátrium-tioglikolát) adunk.

## Alap táptalaj készítése

A mikroorganizmusokat különböző összetételű tápközegben tenyésztjük további vizsgálatok céljából. A további vizsgálatokhoz egy egyszerű, általános használatra kiválóan alkalmas LB táptalajt készítünk.

## A gyakorlat menete

**Szükséges anyagok és eszközök:**

Petri-csészék (kb. 20 db), főzőpohár, laboratóriumi mérleg, mikrohullámú sütő, autokláv, bemérőkanál, óraüvegek, agar, szacharóz, NaCl, fehérjeforrás (pepton, kazein), desztillált víz.

A főzőpohárba bemérjük a következő anyagokat a megfelelő mennyiségben a „***Táptalajok***” fejezet ***tápagar*** receptje alapján (***Figyelem! A receptek 1 liter táptalaj összeállítására vonatkoznak!***):

* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………
* ………………………………

Ezek után körülbelül 50 ml desztillált vizet az elegyhez adva pépesre keverjük el a szilárd összetevőket, majd öntsük fel a főzőpoharat desztillált vízzel 500 ml-ig. Ezek után keverjük meg a főzőpohár tartalmát, majd körülbelül fél percre helyezzük be mikrohullámú sütőbe. A melegítés után újra kevergessük meg az oldatot, és ezt a folyamatot ismételjük meg még legalább egyszer. ***Mivel az edény fala nagyon magas hőmérsékletű, ezért megfelelő védőeszközzel fogjuk meg csak azt!*** A cél az, hogy egy homogén oldatot kapjunk. Ezek után a mikrohullámú sütőbe visszahelyezve forrásig melegítsük fel a főzőpohár tartalmát, újra keverjük meg azt, majd körülbelül 2 percig forraljuk.

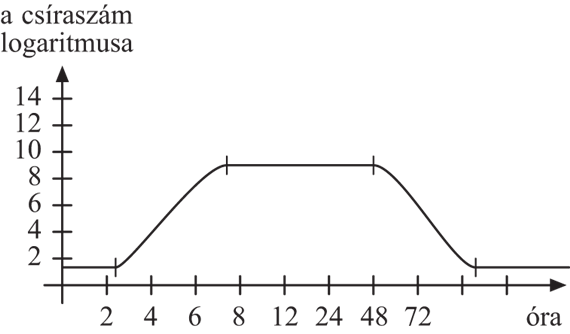
Az így elkészített oldatot autoklávba helyezzük, ahol körülbelül 20 perces programot állítsunk be a sterilizálásra. Ne felejtsük el lefedni egy darab alumínium fóliával a főzőpoharat! Helyezzük be a használni kívánt Petri-csészéket is az autoklávba.

A program lejárta után vegyük ki az edényeket az autoklávból, és helyezzük el őket a lamináris box munkafelületére. Itt öntsük szét a kapott oldatot a Petri-csészékbe, ügyelve arra, hogy az oldat teljesen ellepje az edények alját (kb. 20-20 ml). Éjszakára hagyjuk a lamináris boxban a Petri-csészéket, hogy kihűlhessenek és kellően megszilárdulhassanak. Másnap reggel az elkészült táptalajokat hűtőszekrénybe helyezhetjük felhasználásig. ***Semmiképp se rakjuk fagyasztószekrénybe őket!***.

**Megfigyelések:**

# 3. A szétválasztás elve. Tiszta kultúrák megőrzésének jelentősége és módszerei. Különböző közegekről vett minták kultúrába vitele. Szélesztéses eljárás.

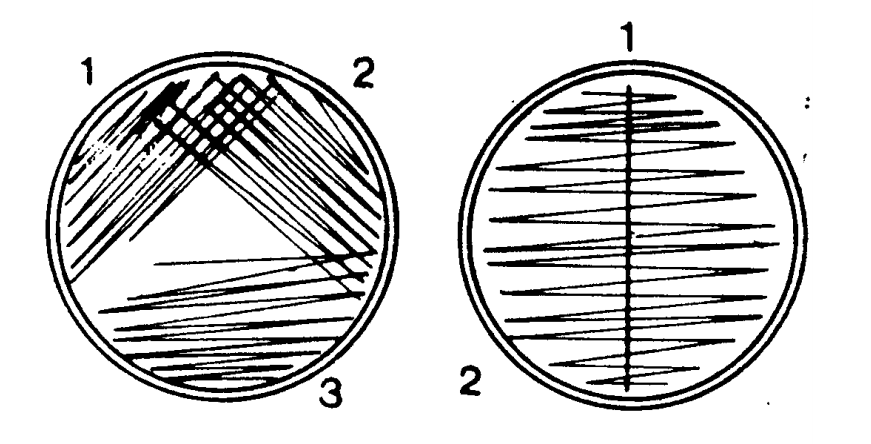
A baktériumok vizsgálata során a steril táptalajokat „megfertőzzük”, beoltjuk valamilyen nem steril anyaggal. Ezt az anyagot a táptalajra juttatva inkubáljuk a tenyészetet, azaz megfelelő körülmények között engedjük őket szaporodni, hogy telepeket képezhessenek, melyek egyértelműen azonosíthatóak. A tapasztalatok alapján a csíraszám a következőképpen szokott alakulni az idő függvényében:



Az inkubációs idő után a táptalajon megjelennek a mintában jelen lévő baktériumok telepei, melyek már vizsgálhatókká válnak. A telepekről tiszta tenyészeteket lehet készíteni, melyek a mikrobiológiai vizsgálatok alapját képezik.

Az elektív, szelektív és differenciáló táptalajok alkalmazásával csak mikroorganizmusok egy-egy szűkebb csoportját tudjuk elkülöníteni, de ezek teljes körű azonosításra nem alkalmasak, ezt a célt a különböző diagnosztikai vizsgálatok (biokémiai, szerológiai stb.) szolgálják. Az azonosíthatóságnak, a mikrobafaj meghatározásának minden esetben előfeltétele a tiszta tenyészet előállítása.

A tiszta tenyészet készítése során egyetlen sejt elszaporodásából származó telepből kell kiindulni. Az átoltás során a vizsgálandó mikroorganizmusokat tartalmazó tenyészetből egysejt eredetű mikroorganizmusokat viszünk át friss, steril táptalajra. A tiszta tenyészet készítésének számos formája használatos a kiindulási és a készítendő táptalaj típusának függvényében. A legelterjedtebb forma az elektív, szelektív vagy differenciáló, folyékony, vagy szilárd táptalajból alaptáptalajra történő átoltás ritkító szélesztéssel. A ritkító szélesztés célja olyan "vonáskultúra" készítése, melynek eredményeként az inkubálást követően szoliter telepeket is kapunk. A ritkító szélesztés különböző technikáit az alábbi rajz mutatja:



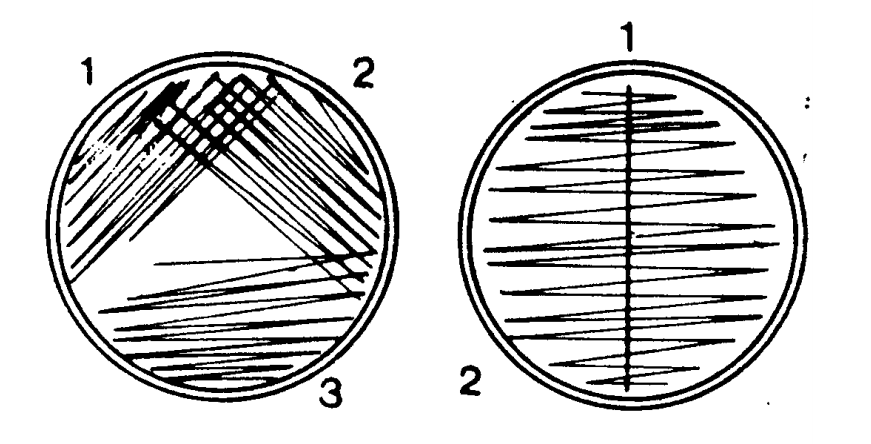
## A gyakorlat menete

**Szükséges anyagok és eszközök:**

oltókacs, alap agar lemezek, fültisztító pálcikák, vatta, Bunsen-égő, tömény alkohol, alkoholos filc.

A gyakorlat során a steril, korábban elkészített agarlemezekre különböző felületekről származó mintákat oltunk rá, hogy kiderüljön, milyen gazdag mikroflórával rendelkeznek a mindennapi használati tárgyaink vagy a testünk.

Első lépésként vegyünk ki a hűtőből annyi agarlemezt, amennyit használni szeretnénk. Ezeket rakjuk ki a lamináris box munkafelületére. Ezek után a frissen kinyitott fültisztító pálcikák segítségével vegyünk kenetet különböző felületekről (kilincs, mobiltelefon stb.). A keneteket egyenként dörzsöljük rá az agarlemezekre, és alkoholos filc segítségével jelöljük meg azokat, hogy a későbbiekben ne keverjük össze őket. A bedörzsölés során a következő mintázatok valamelyikét kövessük:



A beoltott mintákat kb 37 °C-on inkubáljuk 2 napig.

**Megfigyelések:**

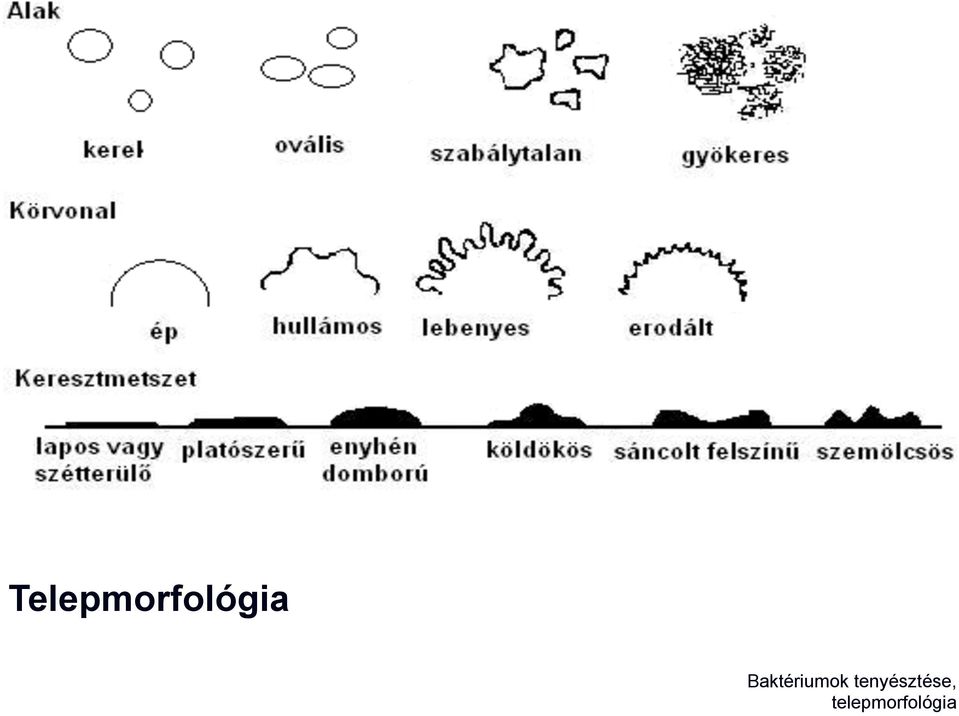
Rajzolja le, hogy milyen eloszlásban jelennek meg a telepek szélesztésnél:

# 4. A mikroorganizmusok meghatározása telepmorfológia és mikroszkóp segítségével.

A makroszkopikus jellemzők alatt a mikroorganizmusok tenyészetének alaki jellemzőit értjük. Kiterjedhetnek a szilárd táptalajok felületén kifejlődött telepek (kolóniák) jellemzőire, valamint a folyékony, esetleg félfolyékony vagy gélszerű tápközegekben kialakuló tenyészetek jellemzőire.

## Jellemző teleptulajdonságok

* A telep mérete: egyes baktériumok (pl.: *Thiobacillusok*) igen apró telepeket képeznek, ellenben a csillókkal rendelkező mozgékony baktériumok (pl.: *Bacillus subtilis*) a lemez egész felületét beboríthatják. Nagy telepszám esetén a telepek mérete kisebb a táplemezbe jutó anyagcseretermékek gátló hatása miatt. Azonos tenyésztési körülmények és telepszám esetén a telepek mérete jellemző az adott mikroorganizmusra.
* A telep szélének és belső szerkezetének alakulása: egy telepen belül eltérő korú sejtek találhatók. Idősebb telepeknél a középső rész kráterszerű horpadást mutathat az elöregedett sejtek autolízise folytán. Gyűrűs felszínű telepek kialakulása valamelyik környezeti tényező periodikus változására vezethető vissza. Több mikroorganizmus fajnál különböző variánsok, azonos körülmények között, eltérő felületű és szerkezetű telepeket képeznek. Így megkülönböztethetünk "S" (smooth) sima telepeket és "R" (rough) érdes telepeket, valamint "M" (mucous) nyálkás telepeket. A telepképzési eltérések a tokképzésben, mozgékonyságban és virulenciában fennálló különbségeket tükrözik.
* A telepek színe: a mikrobák gyakran termelnek pigmentanyagokat, melyek vagy csak a telepet színezik el, vagy a táptalajba diffundálva a telep környezetét is elszínezik. Leggyakrabban sárga, piros és barna szín fordul elő.
* A telepek mozgása: néhány baktériumnál a telepek mozgása figyelhető meg. Pl. a *Bacillus alvei* és *Bacillus helixoides* esetében 14 mm/óra sebességű mozgást észleltek. A mozgó telepek után gyakran árok marad vissza a táptalaj felületén.
* Fonalas gombák telepei: eltérnek a baktériumok és élesztők telepeitől. A gombatelepek a folyadékba, illetve táptalajba merülő micéliumból és a felület fölé növő légmicéliumból állnak. A kezdetben színtelen, vagy fehér sugaras felépítésű, györsan növekvő micéliumok később megsötétednek és gyakran színes sporangium vagy konídium gyep jelenik meg rajtuk.
* Sugárgombák telepei: lassan fejlődő, gyakran gyűrűs szerkezetű telepei átmenetet képeznek a baktériumok a baktériumok és fonalas gombák telepei közt.
* Zselatin elfolyósítása: zselatinnal szilárdított mély táptalajba készített szúrt kultúrák jellegzetes tenyésztési képet adhatnak. A mikroorganizmusok egy része teljesen elfolyósítja a táptalajt, de gyakran csak részleges oldás lép fel. Az utóbbi esetben kialakuló zselatinoldási idomok helye és alakja jellemző.
* Vonáskultúrák tápagaron: jellemző a növekedés erőssége, a vonáskultúra körvonala, szegélye, a kolónia konzisztenciája, a tenyészet színe, illetve pigmentképzése.
* Tápoldatokban fejlődő tenyészetek vizsgálata: a felületi rétegben aerob, alul anaerob körülmények uralkodnak, jellemző a tenyészetnek a tápoldatban való vertikális elhelyezkedése.



## A gyakorlat menete

**Szükséges anyagok és eszközök:**

beoltott agarlemezek, oltókacs, mikroszkóp.

Vizsgáljuk meg az előzőleg inkubált tenyészeteket. Figyeljük meg a leírás szempontjai szerint, hogy milyen morfológiával bírnak a kifejlődött telepek. Próbáljuk a kapott eredmények, és a ***Határozási segédlet*** segítségével meghatározni, hogy milyen taxonokkal van dolgunk. A telepekből mintát vehetünk, és preparátumokat készíthetünk, hogy mikroszkóp alatt is megfigyelhessük a sejtek morfológiáját, ehhez azonban ajánlott először elvégezni a Gram-festést.

**Következtetések és megfigyelések:**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Agarlemez azonosítója** | **Szín** | **A telep mérete** | **A telep alakja** | **A telep körvonala** | **A telep kereszt-metszete** | **Egyéb megfigyelések** |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |

# 5. Festési eljárások a mikrobiológiában. A Gram-festés.

## A festési eljárások csoportosítása

A mikroszkópos gyakorlatban a sejtek színe általában gyenge és mikroszkóppal vizsgálva nem feltűnő. A sejt plazmája és egyes struktúrái azonban a festéket felveszik, magukba sűrítik, ami egyrészt lehetővé teszi a jobb megfigyelést, másrészt speciális festékeket alkalmazva különböző citokémiai reakciók elvégzésére is alkalmas.

A mikroszkópos gyakorlatban a mikroorganizmusok színezésére használt festékanyagok kémiai szempontból három fő csoportba sorolhatók. A **bázikus színezőanyagok** színes, un. kromofor csoportja kation jellegű, ezáltal a sejtek savas karakterű alkotórészeihez, főként a nukleotidokhoz kötődnek. Ebbe a csoportba tartoznak a legelterjedtebben használt festékek, mint a metilénkék, a fukszin, a malachitzöld, a kristályibolya és a neutrálvörös A **savas** karakterű festékek kromofor csoportja anion jellegű, tehát a sejt bázikus karakterű anyagaihoz képes kötődni. Ebbe a csoportba tartozik pl. az eozin. A **semleges** karakterű festékek jellemző tulajdonsága, hogy disszociációra nem hajlamosak, minden pH-tartományban azonos mértékben festenek (pl. rhodamin B).

A mikroorganizmusok sejtszerkezete elpusztulásuk után megváltozik, ezért törekedni kell arra, hogy úgy öljük el a sejteket, hogy minél kevesebb strukturális elváltozás történjen. Ezt a célt szolgálja a preparátum **rögzítése**, ami egyúttal biztosítja a sejtek megtapadását is a tárgylemezen. A rögzítési eljárások igen széles skálája áll a mikrobiológiai laboratóriumok rendelkezésére. Ezek közül a legegyszerűbb és leggyorsabb a hővel való rögzítés, ami viszont durva változásokat idéz elő a sejtek ultrastruktúrájában, ezért finom ultracelluláris részletek vizsgálatakor alkalmazása nem célszerű. A teljes sejt vizsgálatához azonban kiválóan alkalmas.

Minden mikrobiológiai morfológiai vizsgálat előtt a tárgylemezt tisztítani kell. E célból először 96 %-os alkohollal zsírtalanítjuk, majd száradás után a tárgylemezt Bunsen- égő lángja felett néhányszor áthúzzuk. Ezt követően készítjük el a preparátumot (kenet, szuszpenzió), majd fixáljuk oly módon, hogy a tárgylemez alját néhányszor láng fölött óvatosan. áthúzzuk. Fixáláskor a tárgylemez ne melegedjen 60-70 °C-nál magasabb hőmérsékletre, mert a sejtek összezsugorodnak, és a preparátum értékelhetetlen lesz.

A festéses módszerek között megkülönböztetünk **egyszerű és összetett festéseket.** Az egyszerű festések során egyetlen festékoldattal kezeljük a készítményt. A festés **lehet pozitív vagy negatív** attól függően, hogy a sejtek, vagy a háttér festődik. Az egyszerű festés speciális formái a polikróm festés, a mikroanalitikai festések és az indikáló festések. A **polikróm** **festés** során is egy festéket használunk, a készítményben azonban az egyes alkotórészek más-más színűek lesznek. Ide sorolható pl. a *Bacillus anthracis* (a lépfene kórokozója) festése karbolvizes toluidinkékkel, aminek hatására a baktérium burka rózsaszínre, a többi része pedig kékre festődik. A **mikroanalitikai festések** a preparátum meghatározott részeinek illetve anyagainak kimutatására szolgálnak a festésre használt anyaggal történő színreakció révén (pl. keményítőszemcsék kimutatása). Az **indikáló** **festések** a készítmény vagy a készítmény egyes részleteinek redoxpotenciál, vagy pH- viszonyairól, ad a kialakuló, színreakció alapján felvilágosítást.

Az összetett festések során a preparátumot többféle festékoldattal kezeljük. Az összetett festés eredményeként a preparátum más-más részei eltérő festődést mutatnak (Gram-festés, Ziehl-Neelsen-féle festés). Az összetett festések között kell megemlíteni a **differenciáló festéseket,** amelynek lényege, hogy egy adott mikroorganizmus egyes sejtalkotói más-más színűre festődnek (*Bacillus cereus* differenciáló spórafestése).

## Gram-festés

A Christian Gram dán orvos által 1884-ben kifejlesztett eljárás a mikrobiológiai gyakorlatban a legjelentősebb festésnek tekinthető. Segítségével a baktériumok két fő csoportra, a Gram szerint festődő (Gram-pozitív) és a Gram szerint nem festődő (Gram-negatív) baktériumok csoportjára oszthatók. A Gram pozitív baktériumok a festés során megtartják az elsődleges festés színét, míg a Gram-negatívak elvesztik azt. Az elszíneződés a sejtfal szerkezetétől függ. A különbséget azok a lipoid vegyületek jelentik, melyeket csak a Gram-negatív sejtfal tartalmaz.

A Gram-festésnek számos változata alakult ki, de az alapelv valamennyiben azonos:

A baktériumokat először trifenil-metán típusú festékkel kristályibolya v. genciánibolya) kell kezelni, aminek során minden baktérium ibolya színűre festődik. Jód hatására jód-para-rozanilin komplex képződik, ami 96 %-os alkohollal a Gram-negatív baktériumokból kivonható, a Gram-pozitívakból viszont nem. Az elszíntelenedett Gram-negatív baktériumokat az eredeti festéktől eltérő színű kontrasztfestéssel (pl. fukszin, szafranin) kell láthatóvá tenni.

## A munka menete

**Szükséges anyagok és eszközök:**

Mikroszkóp immerziós objektívvel, tárgylemez, oltókacs, 96-os alkohol, kristályibolya, vagy genciánibolya-oldat, Lugol-oldat, szafranin- vagy fukszin-oldat, festőtál, immerziós olaj.

**Kenetkészítés**

1. A tárgylemez zsírtalanítása: általában Bunsen-égő lángja felett néhányszori áthúzással.
2. A minta felvitele a tárgylemezre. Ha a minta folyékony, egyszerűen rácseppentik. Ha nem folyékony, akkor fiziológiás sóoldatot vagy csapvizet cseppentenek a tárgylemezre, s abban elszuszpendálják a mintát.
3. Hagyják, hogy a kenet megszáradjon a levegőn.
4. Fixálás: miután a minta megszáradt, a tárgylemezt néhányszor áthúzzák a Bunsen-láng felett. Így az élő sejtek elpusztulnak, fehérjéik pedig kicsapódnak és az üveglemezhez tapadnak.

**Festés**

1. A Gram festés kivitelezésénél a rögzített készítményt 1 percig ammónium-oxalátot tartalmazó kristályibolya oldattal kezeljük.
2. Desztillált vizes öblítés után 1 percig Lügol oldattal kezeljük
3. Újabb öblítés után fél percig alkohollal kezeljük
4. Egy újabb öblítés után 1 percig szafraninnal vagy fukszinnal kontraszt színezést végeztünk el.
5. A színezés után a Gram-pozitív sejtek sötét kékes-ibolya színűek, a Gram-negatív sejtek rózsaszín-piros színűek lesznek.

**Mikroszkópos vizsgálat**

A Gram-festés segítségével megszínezett mintákat vizsgálja meg mikroszkóp alatt! Rajzolja és írja le, hogy mit tapasztalt:

**Megfigyelések:**

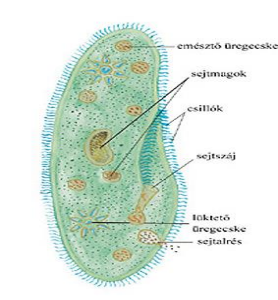
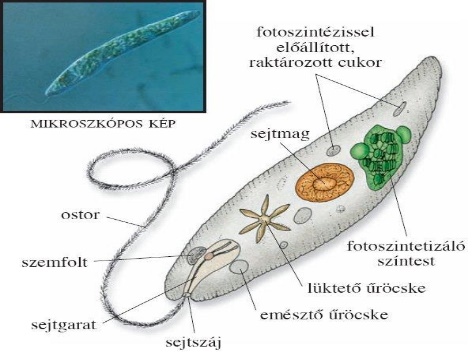
# 6. Az élővizek mikrobiológiája. Különböző típusú élővizek mikroszkópos vizsgálata.

A baktériumok, egyéb mikroorganizmusokkal együtt természetes és mesterséges úton juthatnak az ivóvízbe.

* Természetes úton a csapadék kimossa a levegőből a mikroorganizmusokat. A talaj felső rétegével - mely baktériumokban rendkívül gazdag - érintkezve a csapadékvíz bakteriálisan tovább szennyeződik, a talaj szerkezetétől függően hosszabb-rövidebb idő alatt a mélybe szivárog és az első vízzáró réteget elérve, összegyűlik. Közben a talaj öntisztuló képességének hatására a mikroorganizmusok kiszűrődnek, ellenálló képességük függvényében, megfelelő tápanyag hiányában elpusztulnak. Így, ha a talajszerkezet megfelelő, öntisztuló képessége mesterséges szennyezés útján nem sérült, az első vízadó rétegből (6-7 m mélységből) akár már bakteriológiai szempontból kifogástalan vizet hozhatunk a felszínre. Sajnos ennek valószínősége a szennyvízcsatorna hálózat elégtelensége miatt az országban minimálisra csökkent. Az alsóbb vízadó rétegek csak mélyfúrású kutakkal érhetők el. A vezetékes ivóvíz többnyire ilyen kutakból származik. A mélyfúrású kutak vize bakteriológiai szempontból kifogástalan, mivel abban a mélységben már kórokozó baktériumok nem élnek meg. Ezeknek a kutaknak az elszennyeződése csak műszaki hiba, felsőbb rétegekből történő rászennyeződés miatt következhet be.
* A víz mesterséges szennyezése egyértelműen az emberi tevékenység eredménye. Ide sorolhatók a szennyvízelhelyezés különböző formái a felszíni vizekben, a fekália deponálása talajban, a szennyvíz kiengedése a talajba vagy használaton kívüli ásott kútba, továbbá ide tartoznak az állattartásból eredő szennyvizek, hulladékvizek is.

Az eukarióták közé tartozó ostoros egysejtűek és a csillósok már valódi sejtmaggal rendelkeznek. Az ostorosmoszatok az édesvizekben elterjedt egysejtűek. Egyik legismertebb képviselőjük a zöldszemes ostoros, melynek testfelépítésében növényi és állati sajátságok is megfigyelhetők. Sejtjét csak sejthártya határolja, sejtfala nincs. Ostora tövében szemfolt látható, amelynek a fény érzékelésében van szerepe. Az ostor közelében helyezkedik el a sejtszáj, amely szerves táplálék felvételére szolgál. A sejtplazmában zöld színtestek is vannak. Sejtfelépítésüknek köszönhetően az ostorosmoszatok a körülményektől függően autotróf vagy heterotróf anyagcserét is folytathatnak, mixotróf táplálkozásúak. Fényben fotoszintetizálnak, sötétben pedig szerves anyagokkal táplálkoznak. Az édesvizekben nagyon elszaporodhatnak, de szerepük lehet a természetes vizek öntisztulásában is.

A csillósok törzsébe tartozó papucsállatkák tengerekben és édesvizekben is elterjedtek. A sejtet bőrke borítja, melyen sejtszáj és a folytatásaként sejtgarat található. Csillókkal mozognak. A salakanyagot a sejtalrésen üríti ki. Kétféle sejtmaggal rendelkezik. (kicsi az ivaros szaporodást irányítja, a nagy sejtmag az összes többi életfolyamatot szabályozza) Kedvezőtlen körülmények között védőburkot, tokot képeznek.



## A gyakorlat menete

**Szükséges anyagok és eszközök:** különböző forrásból származó vízminták (akvárium, folyó, tó), pipetta, tárgylemezek, fedőlemezek, főzőpohár, mikroszkóp, metszetgyűjtemény.

A különböző helyről származó vízmintákból cseppentsen egy-egy cseppet a tárgylemezekre, majd fedje le őket fedőlemezzel. A mikroszkóp alatt keressen élőlényeket a mintákban, majd vesse össze a látottakat az előre elkészített metszetekkel. Rajzolja le, hogy milyen élőlényeket látott a vízmintákban, és határozza meg azokat.

1. …………………………….. 2. ……………………………..

1. …………………………….. 4. ……………………………..

Következtetések:

# 7. Az élelmiszermikrobiológia alapjai. Az élesztő vizsgálata és joghurtkultúra készítése.

Az élelmiszeriparban elterjedten használnak mikroorganizmusokat. Nagyon jó példa erre az élesztő használata a pékiparban vagy különböző baktériumtörzseké a tejiparban.

Sütés közben a könnyű tészta megszilárdul, rugalmas lesz, anyagában vázszerkezet alakul ki. A tészta összeállítása előtt az élesztőt "futtatni" szokták, bár ez a száraz élesztőnél elmaradhat, ha a liszttel még szárazon jól elkeverik. Langyos tejben cukrot (szacharózt) oldanak, és ebbe teszik az élesztőt, amely lassan habosodni, futni kezd.

Az élesztő (*Sacharomyces cerevisiae*) erjesztése - fermentációja - során egyszerű cukorból szén-dioxid és etil-alkohol keletkezik. A futtatáshoz folyadékra, cukorra és melegre van szükség. Az élesztőgombák zimáz enzime felelős az erjedésért. Szőlőcukorból szén-dioxid és alkohol keletkezik.

élesztő képlet

A tészta kelése annyival összetettebb folyamat, hogy a liszt szemcséiben lévő keményítő a víz és az enzimek (amiláz, maltáz) hatására fokozatosan egyszerűbb cukrokká bomlanak. Így át-alakulva már részt tud venni az erjedési folyamatban. Nagyon fontos a jó tésztához, hogy a CO2gázbuborékok ne szökjenek meg, tartsák felfújva, kifeszítve a masszát. Ezért a liszt fe-hérjéje, a sikér felelős. A fehérje erős vázszerkezet kialakítására képes, amely hőmérséklet-emelés hatására stabilizálódik.

A tej kitűnő tápközeg sok mikroorganizmus számára. Nagy vízaktivitása, semleges pH-ja és gazdag tápanyagtartalma kedvező a szaporodásukhoz. A tej azonban nem védtelen a mikrobákkal szemben, mivel számos természetes antimikrobás anyagot (laktoperoxidázt, laktoferrint, lizozimet és specifikus immunglobulinokat) tartalmaz.

Az egészséges tehén teje a tőgyben még mikrobamentes, de a frissen fejt tej, ha kis számban is, már tartalmaz mikroorganizmusokat. Mikrobiotáját pszichrofil baktériumok, főként *Pseudomonas*, *Flavobacterium* és *Alcaligenes* alkotja. *Bacillus*, *Micrococcus*, *Aerococcus*, *Staphylococcus* fajok, valamint enterobaktériumok szintén jelen lehetnek, de többnyire a *Pseudomonas*ok a dominánsak. A mikrobiota 65–70%-át a *Pseudomonas* nemzetségbe tartozó fajok teszik ki, nagy számban fordulnak elő még a *Flavobacterium* és az *Alcaligenes* nemzetségbe tartozó fajok. A tejsavbaktériumok a szarvasmarha bőrének és tőgyének normál biotájához tartoznak, így minden nyers tej, ha kis számban is, tartalmaz tejsavbaktériumokat. A mikrobás szennyeződés forrásai az istálló talaja, a széna, fű, a víz és a levegő, továbbá a tejnyerés eszközei. A pszichrotróf baktériumok fő forrásai a fejőeszközök és a tárolóedények, tankok. A nyers tej patogén mikroorganizmusokat is tartalmazhat (pl. *Sa. enterica, Cb. jejuni, Li. monocytogenes,* enterohemorrágiás*E. coli, Ye. enterocolitica*).

A tejben található *Pseudomonas*ok általában proteáztermelők. A proteázok az exponenciális és stacioner fázisban termelődnek. „Túlélik” a pasztőrözést, hidrolizálják a kazeint és keserű peptideket termelnek. Hatásuk sajtokban és más savanyított tejtermékekben kicsi, mert a kis pH-érték és hőmérséklet gátolja az enzim aktivitását. A sajtgyártás során a savóval eltávoznak, de ezzel a sajtgyártás kihozatalát csökkentik, mert a proteolízis termékei sem kerülnek a sajtba. Tartós proteolízis eredményeként a termék rothadt szagú lehet különböző kellemetlen anyagok (ammónia, aminok, szulfidok) keletkezése miatt.

A folyékony tejtermékek romlása leggyakrabban kellemetlen ízű savanyodás, amit kis mennyiségű ecetsav és propionsav képződése okoz. Jellegzetes malátaízt okoz a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *maltigenes*. A tejsavbaktériumok esetenként nyúlósodást okoznak. A legtöbb tejtermékkel kapcsolatos tejsavbaktérium extracelluláris polimereket képez, amelyek növelik a termék viszkozitását. Néhány törzsüket nagy viszkozitású, fermentált termékek (pl. joghurt, kefir) készítésére használják.

## A gyakorlat menete

**Szükséges anyagok és eszközök:**

Erlenmeyer lombikok, főzőpoharak, élesztő, joghurtkultúra, lufik, friss házi tej, cukor, vonalzó, filctoll.

1. Készítsük elő az élesztő futtatását. Az Erlenmeyer lombikokba engedjünk kb 40-40 cm3 langyos csapvizet. Adjunk hozzá 10-10 g cukrot, és keverjük el azt. Végül adjunk az oldathoz 1-1 g különböző típusú élesztőt, és azt is keverjük el benne. Ezután helyezzük meleg helyre az edényeket, és húzzunk a szájukra egy-egy lufit, melyekre előzőleg filctollal 1 cm-es vonalakat húzunk. Hagyjuk állni a keverékeket.
2. Készítsük elő a joghurtkultúrát. A főzőpohárba öntsünk be kb. 1 liter langyos, friss házi tejet. Ezek után adjunk a tejhez egy gyógyszertárban vásárolt joghultkultúra adagot, és keverjük el azt. Alufóliával fedjük le a főzőpoharat, majd helyezzük azt meleg helyre (37-38 °C) 24 órára. Jegyezzük fel, hogy milyen baktériumfajokat tartalmaz a kultúra:
3. Bolti élesztő egy kis darabkáját tegye üvegpohárba és öntsön hozzá kb. 30 cm3 vizet! Keverőbottal keverje össze az oldatot! Cseppentsen belőle tárgylemezre és fedje le! Vizsgálja meg mikroszkóp alatt. Tapasztalatait írja le:
4. Ellenőrizze a léggömbökkel lefedett lombikokat. Mérje le, hogy milyen hosszúságúak a korábban felfestett 1 cm-es vonalak. Írja le tapasztalatait:

Következtetések:

# 8. A leadandó munkák ellenőrzése. Záró dolgozat.

A záró dolgozat a gyakorlati füzetben szereplő információk, a prezentációk és a kiselőadások anyagai alapján kerül összeállításra. A következő kérdéstípusok fordulhatnak elő a dolgozatban:

* egyszerű választás
* többszörös választás
* kakukktojás
* négyféle asszociáció
* esszé
* ábrafelismerés
* párosítás
* fogalomkifejtés

A záró dolgozat eredménye, a leadandó feladatok és a kiselőadás teljesítése összesítve adja a gyakorlat eredményét.

A dolgozat maximum egyszer javítható!

# Táptalajok

Az alább ismertetett táptalaj receptek 1 liternyi térfogatú oldatok előállításához szükséges anyagmennyiségeket mutatják be.

### Alap agar (Base agar) 1000 ml-re

15 g agar

1 l desztillált víz

### Tápleves (Nutrient broth) 1000 ml-re

5 g pepton vagy kazein

3 g marhahús/élesztő kivonat

(5 g NaCl)

1 l desztillált víz

### Tápagar (Nutrient agar) 1000 ml-re

5 g pepton vagy kazein

3 g marhahús/élesztő kivonat

15 g agar

(5 g NaCl)

1 l desztillált víz

### Zselatinos táptalaj (Nutrient gelatin) 1000 ml-re

5 g pepton vagy kazein

3 g marhahús/élesztő kivonat

120 g zselatin

(5 g NaCl)

1 l desztillált víz

### Mannitol só agar (Mannitol salt agar, MSA) 1000 ml-re

5 g kazein

5 g pepton

1 g marhahús kivonat

10 g D-mannitol

75 g NaCl

0,025 g fenolvörös

15 g agar

### Czapek-Dox minimál táptlalaj 1000 ml-re

2 g Na NO3

0,5 g MgSO4 x 7 H2O

0,5 g KCl

0,5 g K2HPO4

30 g szacharóz

10 mg ZnSO4 x 7 H2O

10 mg FeSO4 x 7 H2O

3 mg CuSO4

30 g agar

### Véres agar 1000 ml-re

15 g tripton

5 g szója pepton

5 g NaCl

10 g agar

50 ml defibrinált marha-vagy bikavér (a fenti elegyhez az autoklávozás után 45 °C-ra hűlt állapotban adjuk hozzá)

Csokoládé agar

### LB tápleves (Lysogeny broth, Luria broth, Luria-Berthani medium) 1000 ml-re

10 g tripton

5 g élesztő kivonat

10 vagy 5 vagy 0,5 g NaCl (bizonyos baktériumok érzékenyek a só koncentrációjára)

### LB táptalaj (Lysogeny broth agar, Luria broth agar, Luria-Berthani agar) 1000 ml-re

10 g tripton

5 g élesztő kivonat

10 vagy 5 vagy 0,5 g NaCl (bizonyos baktériumok érzékenyek a só koncentrációjára)

15 g agar

Endo Agar (pH 7.5) 1000 ml-re

10 g pankreatikusan emésztett zselatin

10 g laktóz

3,5 g dikálium-hidrogén-foszfát (K2HPO4)

2,5 g nátrium-szulfit (Na2SO3)

0,4 g bázikus fukszin

15 g agar

### MRS táptalaj (DeMan, Rogosa, Sharpe Agar) 1000 ml-re

20 g glükóz

10 g pankreatikusan emésztett zselatin

10 g agar

8 g marhahús kivonat

5 g nátrium acetát (C2H3NaO2 x 3 H2O)

4 g élesztő kivonat

2 g K2HPO4

2 g C6H17N3O7

0,2g MgSO4 x 7H2O

0,05 g MgSO4 x 4H2O

1 ml szorbitán-monooleát (C24H44O6)

### Tápagar (Nutrient agar) 1000 ml-re

5 g pepton vagy kazein

3 g marhahús/élesztő kivonat

15 g agar

20 g szacharóz

### SCA táptalaj (Starch Casein Agar) 1000 ml-re

15 g agar

10 g oldható keményítő

2 g K2HPO4

2 g KNO3

2 g NaCl

0,3 g kazein

0,05 g MgSO4 x 7H2O

0,02 g CaCO3

FeSO4 x 7H2O

Megjegyzés: Adjuk hozzá az összetevőket desztillált vízhez, és egészítsük ki egy literre. Óvatosan hevítsük fel forrásig az oldatot, majd így öntsük szét. Mivel az *Actinomycetes* fajok fakultatív anaerobok, rétegeznünk kell a táptalajt. A táptalaj felét öntjük ki az edénybe, ide oltjuk át a mintáinkat, majd a táptalaj másik felével fedjük le azokat.

### EMB táptalaj (Eosin methylene blue agar) 1000 ml-re

13,5 g agar

10 g Pankreatikusan emésztett zselatin

5 g laktóz

5 g szacharóz

2 g K2HPO4

0,4 g eozin Y

0,06 g metilénkék

Megjegyzés: Gram-negatív enterobaktériumok izolálására, tenyésztésére és elkülönítésére használják. Azok a baktériumok, amelyek laktózbontók (pl. E. coli), fémes zöld, sötétkék színű telepeket képeznek. A nem laktózbontó fajok telepei színtelenek, átlátszóak, esetleg világoslila színűek.

### MacConkey táptalaj 1000 ml-re (MacConkey agar) (I. változat)

17 g pankreatikusan emésztett zselatin

13,5 g agar

10 g laktóz

5 g NaCl

1,5 g epesók

1,5 g pankreatikusan emésztett kazein

1,5 g peptikusan emésztett állati szövet

0,03 g neutrálvörös

0,001 g kristályibolya

### MacConkey táptalaj 1000 ml-re (MacConkey agar) (II. változat)

20 g pepton

12 g agar

10 g laktóz

5 g NaCl

5 g epesók

0,075 g neutrálvörös

Megjegyzés: Coliformok és enterobaktériumok izolálására, tenyésztésére és elkülönítésére használják. Azok a baktériumok, amelyek laktózbontók (pl. E. coli), vörös vagy rózsaszínű telepeket képeznek. A nem laktózbontó fajok telepei színtelenek, átlátszóak.

### XLD táptalaj (Xylose Lysine Deoxycholate Agar) 1000 ml-re

13,5 g agar

7,5 g laktóz

7,5 g szacharóz

6,8 g Na2S2O3

5 g L-lizin

5 g NaCl

3,5 g xilóz

3 g élesztő kivonat

2,5 g C24H39NaO4 (Nátrium-deoxikolát)

0,8 g ammónium-ferrocitrát

0,08 g fenolvörös

Megjegyzés: Enterobaktériumok, elsősorban Shigellák és Providencia fajok elkülönítésére és izolálására használják. A xilózt, laktózt és szacharózt nem bontó baktériumok vörös színű kolóniákat képeznek. A xilózbontó, lizin-dekarboxiláló fajok szintés vörös telepeket képeznek. A xilózfermentáló, lizint nem dekarboxiláló fajok opálos, sárga telepeket alkotnak. A laktóz vagy szacharózbontók pedig sárgákat.

### SS táptalaj (SS agar, Salmonella Shigella agar) 1000 ml-re

13,5 g agar

10 g laktóz

8,5 g epesók

8,5 g Na2S2O3

8,5 g nátrium-citrát

5 g marhahús kivonat

2,5 g pankreatikusan emésztett kazein

2,5 g peptikusan emésztett állati szövet

1 g vas(III)-citrát (C6H5FeO7)

0,025 neutrálvörös

0,33 mg zöldike

### Tej táptalaj (Milk Agar) 1000 ml-re

15 g agar

5 g pepton

3 g élesztő kivonat

1 g vagy 10 ml tejpor vagy tej

### Burgonyás táptalaj (Potato agar) 1000 ml-re

200 g burgonya

20 g agar

Megjegyzés: 200 g felkockázott burgonyát 1 liter csapvízben főzzünk puhára, majd szűrjük át géz anyagon. A szűrletet öntsük fel 1 literig vízzel, majd adjunk hozzá 20 g agart, és autoklávozás után öntsük szét petri csészékbe.

### PDA táptalaj (Potato Dextrose Agar) 1000 ml-re

15 g agar

20 g glükóz

500 ml burgonya kivonat

Burgonya kivonat: adjunk 300 g megtisztított és megpucolt burgonyát 1 liter desztillált vízhez, és 30 percig főzzük. Ezután géz segítségével szűrjük át az oldatot.

### QPDA táptalaj (Quarter strength potato dextrose agar, 1/4 Strength PDA) 1000 ml-re

15 g agar

20 g glükóz

125 ml burgonya kivonat

Burgonya kivonat: adjunk 300 g megtisztított és megpucolt burgonyát 500 ml desztillált vízhez, és 30 percig főzzük. Ezután géz segítségével szűrjük át az oldatot.

### APDA táptalaj (Acidified Potato Dextrose Agar) 1000 ml-re

15 g agar

20 g glükóz

500 ml burgonya kivonat

5 ml tejsavoldat

Burgonya kivonat: adjunk 300 g megtisztított és megpucolt burgonyát 500 ml desztillált vízhez, és 30 percig főzzük. Ezután géz segítségével szűrjük át az oldatot.

Tejsavoldat: adjunk 2,5 g tajsavat 10 ml desztillált vízhez, és jól keverjük össze, ezután szűrve sterilizájuk.

Megjegyzés: A tejsavoldatot csak akkor kell az oldathoz adni, amikor az 50 °C-ra hűlt vissza.

### SAB táptalaj (Saboraud agar) 1000 ml-re

30 g neopepton

20 g agar

### PCA táptalaj (Potato Carrot Agar) 1000 ml-re

300 g burgonya

25 g sárgarépa

15 g agar

Megjegyzés: A burgonyát héjával együtt felszeleteljük, a sárgarépát pedig megpucoljuk és szintén felszeleteljük. Helyezzünk 300 g burgonyát és 25 g sárgarépát 1 l vízbe, és forrástól számítva 20 percig főzzük, majd az oldatból szűrőpapír segítségével szűrletet készítünk. Ezután hozzáadunk 15 g agart, és kiegészítjük desztillált vízzel 1 literre.

### YGC táptalaj (YGC medium, Yeast Glucose Chloramphenicol Agar) 1000 ml-re

20 g glükóz

18 g agar

5 g élesztő kivonat

0,1 g klóramfenikol

### YM táptalaj (Yeast Malt Extract Agar) 1000 ml-re

20 g agar

10 g glükóz

5 g pepton

3 g élesztő kivonat

3 g maláta kivonat

# Főbb festési eljárások

### Gram-festés

Mire használjuk: a Gram-pozitív és -negatív baktériumok elkülönítésére.

Eredmény: a Gram-pozitív baktériumok kék színűvé válnak, míg a Gram negatívak rózsaszínűvé.

1. felkenés, szárítás, fixálás láng felett;
2. festés kristályibolyával 1 percig, majd vízzel lemossuk;
3. leöblítés után Lugol-oldat 1 percig, majd vízzel lemossuk;
4. differenciálás 96%-os alkohollal 30 másodpercig;
5. kontrasztfestés híg vizes fukszinnal vagy szafraninnal 15 másodpercig, majd csapvizes öblítés és szárítás következik.

### Fukszin festés

Mire használjuk: baktériumok kimutatására.

Eredmény: a baktériumok rózsaszínűvé válnak.

1. felkenés, szárítás, fixálás láng felett;
2. festés híg karbolvizes fukszinnal 30 másodpercig;
3. kivonás ecetsavval elszíntelenedésig;
4. leöblítés vízzel, szárítás.

### Ziehl-Neelsen-féle festési eljárás

Mire használjuk: Mycobacteriumok kimutatására (saválló pálcák).

Eredmény: a Mycobacteriumok piros színű pálcákként látszanak, míg a többi sejt kék.

1. felkenés, szárítás, fixálás nem láng felett;
2. festés karbolvizes fukszinnal, melegítés gőz fölött 5 percig;
3. leöblítés vízzel;
4. differenciálás 5%-os HCl oldattal 30 másodpercig;
5. differenciálás 96%-os alkohollal;
6. leöblítés vízzel;
7. kontrasztfestés híg vizes metilénkékkel 15 másodpercig (esetleg tovább);
8. leöblítés vízzel, szárítás szűrőpapír segítségével.

### Stamp-féle festés

Mire használjuk: Brucella kimutatására.

Eredmény: a Brucellák rózsaszín színű coccobacilusokként látszanak, míg a többi sejt zöldes.

1. felkenés, szárítás, fixálás láng felett, festés Stamp-fukszinnal 10 percig, leöblítés vízzel;
2. kivonás 1%-os ecetsavval 1-2 percig, leöblítés vízzel;
3. kontrasztfestés 3%-os malachitzölddel 2-5 percig, leöblítés, szárítás.

### Köster-féle festési eljárás

Mire használjuk: Brucella kimutatására.

Eredmény: a Brucellák rózsaszín színű coccobacilusokként látszanak, míg a többi sejt kék.

1. felkenés, szárítás, fixálás láng felett;
2. festés karbolvizes fukszinnal, melegítés gőz fölött 5 percig;
3. leöblítés nélkül 15 másodpercig kivonás 0,5%-os kénsavval;
4. leöblítés vízzel;
5. kontrasztfestés 3%-os vizes metilénkékkel 15 percig.

### Módosított Castaneda festési eljárás

Mire használjuk: rickettsiák kimutatására.

Eredmény: a rickettsiák kék színűvé válnak, míg a többi sejt vörös.

1. fixálás 10 percig metilalkohollal;
2. festés Löffler-metilénkékkel 10 percig
3. leöblítés nélkül kontrasztfestés 1%-os szafraninnal 10 mp-ig.
4. leöblítés vízzel, szárítás;
5. lefedés Depex-el

### Módosított Dorner-féle módszer

Mire használjuk: baktériumok és gombák spóráinak festésére.

Eredmény: a spórák vörössé válnak, míg a vegetatív sejtek fehérré.

1. a tenyészetből kenetet készítünk, rögzítés nélkül szárítjuk;
2. szűrőpapírt helyezünk a kenetre, erre karbolos fukszint csepegtetünk;
3. 10-15 percig forró vízfürdő felé helyezzük a preparátumot, miközben az elpárolgó festéket folyamatosan pótoljuk;
4. a szűrőpapírt eltávolítjuk, majd etanollal mossuk a preparátumot annak elszíntelenedéséig, majd csapvízzel öblítjük, leitatással szárítjuk;
5. a spórák vörössé válnak, míg a vegetatív sejtek fehérek.

### Schaeffer-Fulton módszer

Mire használjuk: baktériumok és gombák spóráinak festésére.

Eredmény: a spórák zölddé válnak, míg a vegetatív sejtek pirossá.

1. a tenyészetből kenetet készítünk, rögzítés nélkül szárítjuk;
2. szűrőpapírt helyezünk a kenetre, erre malachit-zöld oldatot csepegtetünk;
3. 10 percig forró vízfürdő felé helyezzük a preparátumot, miközben az elpárolgó festéket folyamatosan pótoljuk;
4. a szűrőpapírt eltávolítjuk, majd 30 másodpercig folyó vízzel mossuk a preparátumot;
5. 30 másodpercig kontrasztfestést végzünk szafraninnal;
6. csapvízzel leöblítjük a mintát, majd hagyjuk kiszáradni;

### KOH teszt

Mire használjuk: a bőr gombás fertőzésének kimutatására.

Eredmény: a gombák hifái jól láthatóvá válnak.

1. a fertőzött bőr felületéről kaparékot, esetleg szőrt veszünk, közvetlenül egy tárgylemezre;
2. a tárgylemezt 10 vagy 20%-os KOH oldattal mossuk át, és 5-15 percig hagyjuk, hogy a KOH lebontsa a bőrsejteket, szőrszálakat;
3. annak érdekében, hogy a lebontás minél hatékonyabban mehessen végbe, a tárgylemezt folyamatosan melegítsük, de ne hagyjuk, hogy fellforjon a KOH oldat;
4. a tárgylemezt dimetil-szulfoxid (DMSO) oldattal moshatjuk le, ezzel jelentősen rövidíthetjük a várakozási időt (akár azonnal is látható az eredmény). A gombasejtek láthatóbbá tétele érdekében laktofenol kék festéket csepegtethetünk a mintára;
5. **Gram-pozitív baktériumok**
   1. ***Staphylococcus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Staphylococcus aureus electron microscopy, SEM. | Staphylococcus aureus seen under microscope after Gram&#39;s staining |  Download Scientific Diagram | s. aureus under the microscope, cell morphology |
| *Staphylococcus aureus* elektronmikroszkópos kép (http://www.bacteriainphotos.com/) | *Staphylococcus aureus* fénymikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Staphylococcus aureus* fénymikroszkópos kép (http://www.bacteriainphotos.com/) |
| Staphylococcus epidermidis Staphylococcus aureus Nutrient Agar |(NA) Staphylococcus epidermidis on Nutrient Agar (NA) Staphyl | | Mannitol Salt Agar: Uses, Results • Microbe Online |
| *Staphylococcus epidermidis* és *Staphylococcus aureus* tápagaron és mannit-só agaron (MSA) (https://www.chegg.com/) | | *Staphylococcus sp.* telepek mannit-só agaron (MSA) (https://microbeonline.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív kokkusz, nem képez spórát, szabálytalan csoportok |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | *S. aureus*: kis, sima felszínű kerek telepek, aranysárga színűek, mannit-só agaron világossárga.  *S. epidermidis*: nagyon kis méretű, sima felszínű kerek telepek, fehér színűek, mannit-só agaron vörös. |

* 1. ***Streptococcus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron microscopy of S. pyogenes cells. Late-exponential-phase bacterial cultures were left untreated (A) or treated with trypsin (see Materials and Methods) (B). Untreated S. pyogenes cells displayed large amounts of material on the surface. The cells treated with trypsin showed a significant reduction of surface-exposed material, as the cells appeared smooth and of smaller size. Bar, 300 nm. | Gram stained streptococcus 100X magnified (Maria A Carrillo-Marquez et... |  Download Scientific Diagram | https://faculty.weber.edu/kendalbeazer/protectedpage/Web%20photo%20gallery%20and%20images/Streps/S%20pyogenes%20blood%20-1.jpg |
| *Streptococcus sp.* elektronmikroszkópos kép  (https://www.researchgate.net/) | *Streptococcus* *pyogenes* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.researchgate.net/) | *Streptococcus pyogenes* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://faculty.weber.edu/) |
| Solved Scientific name of microorganism: Pseudomonas | Chegg.com | |  |
| *Streptococcus sp.* tápagaron és véresagaron (https://www.chegg.com/) | | *Streptococcus sp.* hemolízis formái véresagaron (https://www.medical-labs.net/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív kokkusz, nem képez spórát, láncokat alkotnak |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Kis méretű, sima felszínű kerek telepek, véres agaron hemolizálnak. |

* 1. ***Bacillus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| File:Bacillus cereus SEM-cr.jpg - Wikimedia Commons | Escherichia coli and Bacillus sp. microscopy | Morphology of Bacillus cereus |
| *Bacillus cereus* elektronmikroszkópos kép (https://commons.wikimedia.org/) | *Bacillus sp.* (kék) és *Escherichia coli* (rózsaszín) fénymikroszkópos kép (Gram festés) (http://www.bacteriainphotos.com/) | *Bacillus cereus* fénymikroszkópos kép (endospórákkal)  (https://microbenotes.com/) |
| PS 16 on Nutrient agar. | Download Scientific Diagram | https://nsf.gov/news/mmg/media/images/PF3216_hera_h.jpg | bacillus subtilis colony petri dish |
| *Bacillus cereus* tápagaron (https://www.researchgate.net/) | *Bacillus subtilis* tápagaron (https://nsf.gov/) | *Bacillus subtilis* tápagaron (https://biologydictionary.net/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív bacillusok, endospórát képeznek. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Nagyméretű, opálos színű, durva felszínű, szeldelt peremű, fehér telepek. |

* 1. ***Lactobacillus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron micrograph (SEM) of L. acidophilus (As(III)-treated)... |  Download Scientific Diagram | Lactobacillus Gram-stain and cell morphology. Lactobacillus micrograph,  appearance under the microscope. Lactobacillus cell morphology. Lactobacillus  microscopic picture. | https://www.tgw1916.net/images/micr_Lactobacillus_plantarum.jpg |
| *Lactobacillus acidophilus* elektronmikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Lactobacillus sp.* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.microbiologyinpictures.com/) | *Lactobacillus* *acidophilus* fénymikroszkópos kép (Gram festés) |
| A képen konyhai edények, szűrő, petricsésze, edények látható  Automatikusan generált leírás | Lactobacillus Casei | https://www.tgw1916.net/images/Lactobacillus_rhamnosus.jpg |
| *Lactobacillus* *acidophilus* tápagaron (https://www.researchgate.net/) | *Lactobacillus* *casei* MRS agaron (http://droguet-sebastien.e-monsite.com/) | *Lactobacillus* *rhamnosus* MRS agaron (https://www.tgw1916.net/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív hosszú bacillusok, nem képeznek endospórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Sima felszínű, opálos színű, kis méretű, fehér telepek. |

* 1. ***Pediococcus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron micrograph of Pediococcus acidilactici MK20 growth on...  | Download Scientific Diagram | Pharmaceutical Microbiology Resources: Current Perspectives USP Microbial  Identification | C:\Users\Tanár\Downloads\JCM15055B.jpg |
| *Pediococcus sp.* elektronmikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Pediococcus sp.* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.pharmamicroresources.com/) | *Pediococcus acidilactici* fénymikroszkópos kép (https://www.jcm.riken.jp/) |
|  | | |
| *Pediococcus* telepek különböző kémhatású tápagarokon (http://nutrilots.blogspot.com/) | | | |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív coccobacilusok, párba vagy tetrádokba rendeződve. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Sima felszínű, opálos színű, kis méretű, fehér telepek. |

* 1. ***Leuconostoc***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Home - Leuconostoc mesenteroides mesenteroides ATCC 8293 | Complete genome sequence of Leuconostoc gelidum subsp. gasicomitatum  KG16-1, isolated from vacuum-packaged vegetable sausages | Environmental  Microbiome | Full Text | A képen beltéri, petricsésze, étkészlet látható  Automatikusan generált leírás |
| *Leuconostoc mesenteroides* elektronmikroszkópos kép (https://genome.jgi.doe.gov/) | *Leuconostoc mesenteroides* fénymikroszkópos kép (https://environmentalmicrobiome.biomedcentral.com/) | *Leuconostoc mesenteroides* szacharóz tartalmú tápagaron (https://atlas.sund.ku.dk/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív tojásdad coccusok, párokba rendeződve. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Sima felszínű, opálos színű, nyálkás telepek. |

* 1. ***Clostridium***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Clostridium botulinum rods at 2,000 times magnification. (Copyright ©... |  Download Scientific Diagram | Clostridium Botulinum - Stepwards | File:Botulism07.jpeg - wikidoc |
| *Clostridium botulinum* elektronmikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Clostridium botulinum* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.stepwards.com/) | *Clostridium tetani* véres agaron (https://www.researchgate.net/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív pálcika alakú, spóraképző (ilyenkor dobverő alakúak) anaerob baktériumok, párokba rendeződve. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A véres agar felszínén egyenetlen felszínt hoz létre. |

* 1. ***Actynomyces***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron micrograph of the actinomycete isolate A 24 growing... |  Download Scientific Diagram | Actinomyces graevenitzii | A képen növény látható  Automatikusan generált leírás |
| *Actinomyces sp.* elektronmikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Actinomyces graevenitzii* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://microbe-canvas.com/) | *Actinomyces* *sp.* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.doccheck.com/) |
| https://minio.scielo.br/documentstore/1678-4324/SMXtKw34xnxmLgfcP5N8ppN/63598f5b4410c813e1731c353196059183a85aa7.jpg | | |
| Különböző *Actynomyces* fajok telepei SCA táptalajon (https://www.scielo.br/) | | |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram pozitív, nem képez spórát, hifa jellegű hálózatot hoznak létre a sejtek |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A telepek kicsik, törékenyek, laposak, változatos színűek, krétaszerű tapintásúak. |

1. **Gram-negatív baktériumok**
   1. ***Escherichia coli***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| E. coli under a Scanning Electron Microscope [image] | EurekAlert! Science  News | E.coli Gram-stain and cell morphology. E.coli micrograph, appearance under  the microscope. E.coli cell morphology. E.coli microscopic picture. | http://universe84a.com/wp-content/uploads/2021/04/E.-coli-in-Gram-Stain.jpg |
| *Escherichia coli* elektronmikroszkópos kép (http://www.bacteriainphotos.com/) | *Escherichia coli* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.microbiologyinpictures.com/) | *Escherichia coli* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (http://universe84a.com/) |
| Escherichia coli on nutrient agar. | Download Scientific Diagram | E.coli on Endo agar. | Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) • Microbe Online |
| *Escherichia coli* tápagaron (https://www.researchgate.net/) | *Escherichia coli* endo agaron (https://www.microbiologyinpictures.com/) | *Escherichia coli* EMB agaron (https://microbeonline.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram negatív, pálcika alakú, nem képez spórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Laktózbontó; Endo- és MacConkey agaron rózsaszínű, EMB agaron zöldes, fémes színű telepeket képez. Tápagaron nagyméretű, vastag, szürkésfehér színű, sima felületű, opálos vagy áttetsző telepek jönnek létre. |

* 1. ***Pseudomonas***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron micrograph showing a large number of microcolonies of P. aeruginosa covered with glycocalyx adherent to the surface of an untreated catheter segment after flushing and before sonication (magnification, 6,200). | Pseudomonas aeruginosa micrograph | Pseudomonas aeruginosa under microscope |
| *Pseudomonas aeruginosa* elektronmikroszkópos kép  (https://www.researchgate.net/) | *Pseudomonas aeruginosa* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://www.microbiologyinpictures.com/) | *Pseudomonas aeruginosa* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://phil.cdc.gov/) |
| A képen szöveg, személy, beltéri, kéz látható  Automatikusan generált leírás | https://phil.cdc.gov/PHIL_Images/6688/6688_lores.jpg | E.coli P.aeruginosa |
| *Pseudomonas aeruginosa* tápagaron (https://www.microscopemaster.com) | *Pseudomonas aeruginosa* véres agaron (https://www.microbiologyinpictures.com) | *Pseudomonas aeruginosa* és *Escherichia coli* MacConkey agaron |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram negatív, rövid pálcikák, nem képez spórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Nem laktózbontó; MaCconkey agaron lapos, rózsaszínű, táp- és tejagaron zöldes színű az általa termelt piocianin pigment miatt. Proteáz termelése miatt a telepek környéke kitisztul tejagaron. |

* 1. ***Salmonella***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Salmonella - Wikipedia | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/salmonella-typhimurium/salmonella-typhimurium_001_f01_bouill_gram-2_f-800x600__wm__.jpg | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/salmonella-typhimurium/salmonella-typhimurium_001_f01_bouill_gram-2_ff-800x600__wm__.jpg |
| *Salmonella enterica* elektronmikroszkópos kép  (Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH) | *Salmonella enterica* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://microbe-canvas.com/) | *Salmonella enterica* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://microbe-canvas.com/) |
| http://int-prop.lf2.cuni.cz/heart_sounds/h13/salmo20.jpg | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/salmonella-typhimurium/salmonella-typhimurium_001_f01_bk_xld_24-3_f-800x600__wm__.jpg | Labelled photograph of an agar plate. Large black dots are labelled Salmonella. Large red dots are labelled Escherichia coli. Small black dots with orange halo are labelled Proteus. Large black dots with orange halo are labelled Shigella. |
| *Salmonella typhi* tápagaron (http://int-prop.lf2.cuni.cz/) | *Salmonella enterica* XLD agaron (https://microbe-canvas.com/) | Különböző baktériumok SS agaron(https://theory.labster.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram negatív, rövid bacilus, nem képez spórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Nem laktózbontó; lapos, fehéres telepek MaCconkey- és tápagaron, H2S termelő, fekete telepeket képez SS agaron, míg átlátszó telepeket képez, fekete középső résszel XLD agaron. |

* 1. ***Shigella***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Shigella flexneri invading embryonic stem cell | Wellcome Collection | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/shigella-flexneri/shigella-flexneri_001_atcc_bouill_gram-2_f-800x600__wm__.jpg | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/shigella-flexneri/shigella-flexneri_001_atcc_ba_48-3_f-800x600__wm__.jpg |
| *Shigella flexneri* elektronmikroszkópos kép  (https://wellcomecollection.org/) | *Shigella flexneri* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://microbe-canvas.com/) | *Shigella flexneri* véres agaron (https://microbe-canvas.com/) |
| https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/shigella-flexneri/shigella-flexneri_001_atcc_mc_24-1_f-800x600__wm__.jpg | Details - Public Health Image Library(PHIL) | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/shigella-flexneri/shigella-flexneri_001_atcc_xld_48-3_f-800x600__wm__.jpg |
| *Shigella flexneri* MaCconkey agaron (https://microbe-canvas.com/) | *Shigella flexneri* SS agaron (https://phil.cdc.gov/) | *Shigella flexneri* XLD agaron(https://theory.labster.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram negatív, rövid bacilus, nem képez spórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Nem laktózbontó; lapos, fehéres telepek MaCconkey- és tápagaron, H2S termelő, szürkéstől feketéig terjedő színű telepeket képez SS agaron, míg átlátszó, opálos telepeket képez XLD agaron. |

* 1. ***Serratia***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| https://www.sciencesource.com/Doc/TR1/8/f/8/5/SS2260330.jpg?d0 | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/serratia-marcescens/serratia-marcescens_002_f22_cult_gram-1_f-800x600__wm__.jpg | File:Serratia marcescens pigment cropped and balanced.jpg - Wikimedia  Commons |
| *Serratia marcescens* elektronmikroszkópos kép  (https://www.sciencesource.com/) | *Serratia marcescens* fénymikroszkópos kép (Gram festés) (https://microbe-canvas.com/) | *Serratia marcescens* tápagaron (https://commons.wikimedia.org/) |
| https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/serratia-marcescens/serratia-marcescens_001_f100_sput_mc_24-1_f-800x600__wm__.jpg | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/serratia-marcescens/serratia-marcescens_003_f49_bk_ba_24-2_f-800x600__wm__.jpg | https://microbe-canvas.com/uploads/image/bacterien/serratia-rubidaea/serratia-rubidaea_f17_bk_ba_48-6_f-800x600__wm__.jpg |
| *Serratia marcescens* MaCconkey agaron (https://microbe-canvas.com/) | *Serratia marcescens* véres agaron (https://microbe-canvas.com/) | *Serratia rubidaea* véres agaron(https://theory.labster.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gram negatív pálcikák, nem képeznek spórát. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Kis, sima felületű, vöröses színű telepek MacConkey- és tápagaron, nem termel laktózt, MacConkey agaron lapos telepek, vörös színű pigmenteket termel. |

1. **Penészgombák**
   1. ***Penicillium***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| https://www.sciencesource.com/Doc/TR1/6/a/4/2/SS2136722.jpg?d0 | A képen tüskésbőrűek, antenna látható  Automatikusan generált leírás | Biodiversity of the Genus Penicillium in Different Habitats - ScienceDirect |
| *Penicillium sp.* elektronmikroszkópos kép  (https://www.sciencesource.com/) | *Penicillium sp.* fénymikroszkópos kép (https://www.sciencesource.com/) | Különböző *Penicillium* fajok agar lemezeken (https://www.sciencedirect.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Ecsetszerű konidioforok hordozzák a konídiumokat. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Zöld vagy zöldesszürke színű telepeket képeznek, gyümölcsökön élnek elsősorban. |

* 1. ***Cladosporium***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| https://phil.cdc.gov/PHIL_Images/15887/15887_lores.jpg | Fun With Microbiology (What&#39;s Buggin&#39; You?): Cladosporium species  (Revisitied) | https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/images/moisissures/Cladosporium-Malt_recto_verso.jpg |
| *Cladosporium sp.* konidioforja konídiumokkal  (https://phil.cdc.gov/) | *Cladosporium sp.* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Cladosporium sp.* agar lemezeken (https://www.inspq.qc.ca/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | A konidioforok kitűnnek a vegetatív hifák közül, felállóak, egyenesek vagy hajlottak, a csúcsi végükön lehetnek elágazóak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A telepek viszonylag lassan nőnek, olajbarna vagy sötétbarna színűek, de lehetnek szürkék, barnák, velúrosak, időnként púderessé válik a bőséges konídium termelés miatt. |

* 1. ***Aspergillus niger***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| File:Aspergillus niger SEM.jpg - Wikipedia | Aspergillus niger - Chaetomium Queen -Chaetomium Queen | black mold (Aspergillus niger ) on Potato dextrose agar (Fungal  Non-selective Media PDA ) - 5473758 |
| *Aspergillus niger* elektronmikroszkópos kép  (https://www.sciencesource.com/) | *Aspergillus niger* fénymikroszkópos kép (https://www.chaetomiumqueen.com/) | *Aspergillus niger* PDAagar lemezeken (https://www.sciencedirect.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | A konidioforok nem ágaznak el, a gumószerű végeken napsugárszerűen helyezkednek el a konídiumok. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A micélium először fehér, majd fekete színűvé válik a beérő konídiumok miatt. |

* 1. ***Asperigillus flavus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Aspergillus flavus - scanning electron micrograph, rough conidiophore | http://3.bp.blogspot.com/-R2R125EssdU/Ty2OA9SIV4I/AAAAAAAAG24/FRshUovcAvA/s1600/Aspergillus%2Bflavus%2B9%2B%2528X1000%2529.jpg | http://2.bp.blogspot.com/-u8k_26sX9iE/Ty2IMCCGU9I/AAAAAAAAG1M/hMi3HmpYE50/s400/Aspergillus%2Bflavus%2BSAB_72hr.JPG |
| *Aspergillus flavus* konidioforja elektronmikroszkópos kép  (https://atrium.lib.uoguelph.ca/) | *Aspergillus flavus* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Aspergillus flavus* SAB agar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | A konidioforok nem ágaznak el, a gumószerű végeken napsugárszerűen helyezkednek el a konídiumok. A konídiák durva felszínűek |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A micélium először fehér, majd zöldessárga színűvé válik a beérő konídiumok miatt. |

* 1. ***Mucor***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| C:\Users\Tanár\Downloads\Scanning-electron-microphotographs-of-sporangia-A-C-and-sporangiospores-D-of-Mucor.png | http://2.bp.blogspot.com/-Kj58MiVYwGM/TZjDidiqxAI/AAAAAAAAGac/Nz9TAI4HRm0/s1600/Mucor%2Bspecies%2BNo3_100X.jpg | Mucor fungus (Mucor spp. ) on Quarter strength potato dextrose agar (Fungal  Non-selective Media QPDA ) - 5426778 |
| *Mucor sp.* elektronmikroszkópos kép  (https://www.researchgate.net/) | *Mucor sp.* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Mucor sp.* QPDAagar lemezeken (https://www.forestryimages.org/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | A sporangia spórákat tartalmaz, nincsenek rhizoidok. Gömb alakú fejecskék láthatóak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Gyorsan növő, gyapjúszerű fehér telepek, sötét pöttyökkel tarkítva. |

* 1. ***Rhizopus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| http://1.bp.blogspot.com/-1lbxPBnUp1o/UXhRO_FDCaI/AAAAAAAAB0I/aHrroroFtUk/s640/sporangium.gif | C:\Users\Tanár\Downloads\1563327-PPT.jpg | Rhizopus soft rots (Rhizopus spp. ) on Acidified potato dextrose agar  (Fungal Non-selective Media APDA ) - 5426801 |
| *Rhizopus nigricans* sporangioforjának elektronmikroszkópos képe  (http://murry-gans.blogspot.com/) | *Rhizopus stolonifer* fénymikroszkópos kép (https://www.forestryimages.org/) | *Rhizopus sp.* APDA agar lemezen (https://www.forestryimages.org/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | A sporangiumok spórákat tartalmaznak, rizoidok vannak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Gyapjúszerű fehér telepek, sötét pöttyökkel tarkítva. |

* 1. ***Alternaria***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Frontiers | Identification of a Novel Alternaria alternata Strain Able to  Hyperparasitize Puccinia striiformis f. sp. tritici, the Causal Agent of  Wheat Stripe Rust | Microbiology | http://1.bp.blogspot.com/_od5PmBTqqUM/TBUlCn9DTkI/AAAAAAAAGFs/COVs3Ctk7Cw/s1600/Alternaria_1.jpg | https://www.frontiersin.org/files/Articles/242185/fmicb-08-00071-HTML/image_m/fmicb-08-00071-g002.jpg |
| *Alternaria alternata* elektronmikroszkópos kép  (https://www.frontiersin.org/) | *Alternaria alternata* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Alternaria alternata* PCAagar lemezeken (https://www.frontiersin.org/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Ananász alakú, többsejtű konídiumok, melyek láncokat alkotnak. A sejtek horizontálisan és vertikálisan is el vannak különülve egymástól. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Sötétzöld vagy barna, mélyen és gyorsan növő telepek, melyek alulról nézve olajcseppnek tűnnek. Gyapjú szerű textúra. |

* 1. ***Curvularia***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| SEM analysis of Curvularia lunata spores processed by growing the... |  Download Scientific Diagram | http://4.bp.blogspot.com/-KVgokkoiFWY/TcirLF01xPI/AAAAAAAAGfA/_9S2VEZ1PxU/s1600/Curvularia_3.jpg | http://4.bp.blogspot.com/-trGxRqfjKm4/Tcintl6b2EI/AAAAAAAAGeg/rM3gbpufvHw/s400/Curvularia_SAB_%2B5_Days.jpg |
| *Curvularia lunata* elektronmikroszkópos képe  (https://www.researchgate.net/) | *Curvularia sp.* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Curvularia sp.* agar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Vastag, többsejtű konídiumok, melyben a sejtek csak horizontálisan vannak elválasztva egymástól. Hármas vagy négyes csoportokban találhatóak leginkább a konidioforák végén. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Gyorsan növő, zöld vagy fekete, mély telepek. Gyapjúszerű textúra. |

* 1. ***Fusarium***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Scanning electron microscopy. Subcylindrical monophialides with prominent collaretes, formed laterally in abundance on vegetative hyphae in F . dimerum (MRC 1652). Bar 1⁄4 1 m m. | http://3.bp.blogspot.com/-w_0cJ1oH6fQ/T-W7TZNlwVI/AAAAAAAAHfY/Yo_rZUXJmQQ/s400/12-+Fusarium+oxysporum.jpg | http://2.bp.blogspot.com/-J_Rh363hiLs/T-Wy5_6R8qI/AAAAAAAAHd4/GaNOl9Ab_Yk/s1600/00-+Fusarium+oxysporum+SAB.jpg |
| *Fusarium dimerum* elektronmikroszkópos kép  (https://www.researchgate.net/) | *Fusarium oxysporum* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Fusarium oxysporum* SABagar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Görbült orsó alakú, többsejtű konídiumok (mikrokonídium), melyek a konidiofor végn, csoportosan láthatóak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A telepeik fehérek, a közepükön rózsaszín, lila vagy barna színnel. A telep alja sárga, rózsaszín vagy lila is lehet. |

* 1. ***Geotrichum***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| http://1.bp.blogspot.com/-lqibULDigBs/T7hhiF72uAI/AAAAAAAAHbE/-vZirJp_uqo/s400/13-+Geotrichum+sp.jpg | http://2.bp.blogspot.com/-R4XRcoi4ESk/T7he9SS3A-I/AAAAAAAAHaU/62G3X7t1NzA/s1600/06-+Geotrichum+sp.jpg | http://3.bp.blogspot.com/-ARjYCW1lawM/T7hdTdT7IwI/AAAAAAAAHZs/LHpA_ciMNE0/s400/01-+Geotrichum+species+SAB.jpg |
| *Geotrichum candidum* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Geotrichum candidum* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Geotrichum candidum* SAB agar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Hialin (áttetsző) hifák által alkotott láncok, melyeket sima felületű, gömbölyded vagy henger alakú sejtek alkotnak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Gyorsan növő, lapos, fehér vagy krémszínű, szarvasbőr tapintású, száraz telepek. A telep alja nem pigmentált. |

* 1. ***Botrytis***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| PDF) Botrytized wines - Current perspectives | C:\Users\Tanár\Downloads\5405264-PPT.jpg | gray mold (Botrytis cinerea ) on Potato dextrose agar (Fungal Non-selective  Media PDA ) - 5535406 |
| *Botrytis* elektronmikroszkópos kép  (https://www.researchgate.net/) | *Botrytis cinerea* fénymikroszkópos kép (https://www.forestryimages.org/) | *Botrytis cinerea* PDAagar lemezen (https://www.invasive.org/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Fürtösen álló konídiumok a konidioforon. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A telepeik fehérek, a konídiumok szürkék. |

* 1. ***Sporotrichum (Sporothrix)***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/img/fungi/s/Sporothrix_schenckii_SEM-1.jpg | http://4.bp.blogspot.com/-uJ1xgjIPWR4/VU9pBaKSJFI/AAAAAAAAJ88/vg2TL5jd7AQ/s1600/05-%2BSporothrix_schenckii_complex_400X.jpg | http://2.bp.blogspot.com/-6q5wvM_48fE/VU9mX4MhyMI/AAAAAAAAJ8c/SjID5iRin44/s400/01-%2BS_schenkii%2BSAB%2B3wks%2B4.jpg |
| *Sporothrix schenckii* elektronmikroszkópos kép (http://medicalmycology.blogfa.com/) | *Sporothrix schenckii* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Sporothrix schenckii* SAB agar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Szeptált hifák, konidioforok, aleurokonídiumok, arthrokonídiumok és klamidiospórák. A hifa szeptumainál hidak alakulhatnak ki. A konidioforok lehetnek hosszúak vagy rövidek, magányosak vagy csoportosak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A felszín lehet selymes vagy púderes. A felszín alapvetően fehér, idővel bőrszínűvé, rózsaszínessé, narancssárgává válik, teljesen be is sötétedhet. Alulról világosabb színt mutat. |

1. **Élesztőgombák**
   1. ***Saccharomyces***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Rachel Brem: Understanding Evolutionary Genetics | Plant &amp; Microbial  Biology | University of California, Berkeley | https://www.uwyo.edu/virtual_edge/lab13/images/ascomycota02.jpg | File:Saccharomyces cerevisiae YGC colonies 50.jpg - Wikimedia Commons |
| *Saccharomyces* elektronmikroszkópos kép  (https://plantandmicrobiology.berkeley.edu/) | *Saccharomyces cerevisiae* fénymikroszkópos kép (https://www.uwyo.edu/) | *Saccharomyces cerevisiae* YGC agar lemezen (https://commons.wikimedia.org/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gömb vagy tojásdad alakú egysejtűek, melyek mérete nagyobb, mint a baktériumoké. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Lapos, sima, nedves felületű telepek csillogó vagy fénytelen felülettel, krémes színnel. |

* 1. ***Rhodotorula***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 (A) Rhodotorula sp. colony that is moist, glistering, mucoid, and salmon pink after 5 days of growth on Sabouraud agar at 25°C. (B) Scanning electron micrograph of Rhodotorula sp. showing budding and isolated globose yeast cells, with pseudohyphae. | Gram stain of Rhodotorula mucilaginosa (magnification: ×1,000). | Download  Scientific Diagram | https://www.jcm.riken.jp/JCM/img/JCM8165A.jpg |
| *Rhodotorula sp.* elektronmikroszkópos kép (https://www.researchgate.net/) | *Rhodotorula mucilaginosa* fénymikroszkópos kép (Gram-festés) (https://www.researchgate.net/) | *Rhodotorula glutinis* YM agar lemezen (https://www.jcm.riken.jp/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gömb vagy tojásdad alakú egysejtűek, melyek mérete nagyobb, mint a baktériumoké. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A telep színe krémszínű, narancssárga, piros, rózsaszín vagy sárga lehet. |

* 1. ***Candida***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| How Candida albicans Exploits Lack of Oxygen to Cause Disease - Global  Biodefense | Candida albicans Gram stain. Yeast stage. | Colony morphology and appearance of Candida albicans cultivated on  Sabouraud agar plate. |
| *Candida albicans* elektronmikroszkópos kép  (https://globalbiodefense.com/) | *Candida albicans* fénymikroszkópos kép (Gram-festés) (https://www.microbiologyinpictures.com/) | *Candida albicans* SAB agar lemezen (https://www.microbiologyinpictures.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Gömb vagy tojásdad alakú egysejtűek, melyek mérete nagyobb, mint a baktériumoké. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | Lapos, sima, nagy kolóniák, világos színekkel |

* 1. ***Sporotrichum (Sporothrix)***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/img/fungi/s/Sporothrix_schenckii_SEM-1.jpg | http://4.bp.blogspot.com/-uJ1xgjIPWR4/VU9pBaKSJFI/AAAAAAAAJ88/vg2TL5jd7AQ/s1600/05-%2BSporothrix_schenckii_complex_400X.jpg | http://2.bp.blogspot.com/-6q5wvM_48fE/VU9mX4MhyMI/AAAAAAAAJ8c/SjID5iRin44/s400/01-%2BS_schenkii%2BSAB%2B3wks%2B4.jpg |
| *Sporothrix schenckii* elektronmikroszkópos kép (http://medicalmycology.blogfa.com/) | *Sporothrix schenckii* fénymikroszkópos kép (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) | *Sporothrix schenckii* SAB agar lemezen (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/) |

|  |  |
| --- | --- |
| **Mikroszkopikus sajátosságok** | Szeptált hifák, konidioforok, aleurokonídiumok, arthrokonídiumok és klamidiospórák. A hifa szeptumainál hidak alakulhatnak ki. A konidioforok lehetnek hosszúak vagy rövidek, magányosak vagy csoportosak. |
| **Makroszkopikus sajátosságok** | A felszín lehet selymes vagy púderes. A felszín alapvetően fehér, idővel bőrszínűvé, rózsaszínessé, narancssárgává válik, teljesen be is sötétedhet. Alulról világosabb színt mutat. |

# Felhasznált irodalom

1. Boross Nikoletta, Dr. Vidács Anita (2018): Élelmiszermikrobiológia gyakorlatok Okleveles Élelmiszermérnök és Okleveles Élelmiszerbiztonsági és Minőségi Mérnökök részére. Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar, Élelmiszermérnöki Intézet, Mikrobiológia Tanszék
2. Schaechter, Moselio szerk. (2004): The Desk Encyclopedia of Microbiology, Second Edition. Elsevier Academic Press.
3. Harley, J.P. and Prescott, L.M. (2002): Laboratory Exercises in Microbiology. 5th Edition, The McGraw-Hill Companies.
4. Atlas, Ronald M. (2010): Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition. Taylor & Francis Inc., Bosa Roca, United States
5. Omar-Zahid, Lina A. (2012-2013) Atlas of Food Microbiology LAB. University of Baghdad, College of Science, Department of Biology
6. Benson, Harold J. (2002): Microbiological Applications. A Laboratory Manual in General Microbiology. 8th Edition

# Ajánlott szakirodalom

1. Pesti Miklós (2001): Általános mikrobiológia. Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs, 310 old.
2. Векірчик К. (2002): Мікробіологія з основами вірусології: Навчальний посібник.- ЦУЛ,-312с.
3. Векірчик К. (2002): Практикум з мікробіології: Навчальний посібник,- ЦУЛ,- 144 с.
4. Протченко П. 3. (2002): Загальна мікробіологія, вірусологія, імунологія: Навчальний посібник.-ЦУЛ,-298с.
5. Люта В. А. (2001): Мікробіологія з основами вірусології та імунології: Підручник.- ЦУЛ, 280с.
6. Ситник І. О. (2000): Загальна мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник.- ЦУЛ,- 392 с.
7. Гусев М. В., Минеева Л. А. (1985): Микробиология: Підручник, 2-ге видання.- М.,-376с.