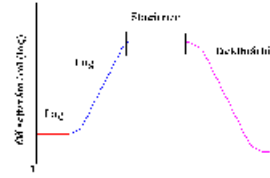
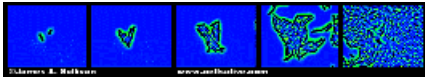


## A baktériumok szaporodása

Baktériumsejt növekszik, majd osztódik ⇒ a populáció szaporodik

- Optimális körülmények esetén a sejtömeg (sejtszám) exponenciálisan nő az idővel
- Generációs idő: az az idő, ami alatt a biomassa tömege a 2x-esére nő  
átl. 20-40 perc (de pl. M. tuberculosis: 20 óra)

valóságban zárt tenyésztetben a **szaporodási görbe** írja a sejtszám-változást



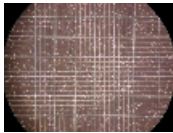
- **lag/adaptációs fázis:** alkalmazkodás az új környezethez, felkészülés az osztódásra
- **log/exponenciális fázis:** ideális szaporodás, mértéke a fajra jellemző
- **stacioner fázis:** élő csíraszám állandó, osztódás = pusztulás a tápközeg kimerül, toxikus termékek szaporodnak fel
- **hanyatló/deklinációs fázis:** élő csíraszám csökken, majd az autólízis miatt az össz-csíraszám is

## A sejtszám meghatározása

⇒ a baktériumok növekedésének nyomonkövetése

**össz-sejtszám** mérése:

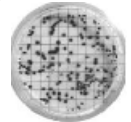
- sejtszámláló kamrában, mikroszkóposan
- elektromos részecskeszámlálóval
- sejtömeg valamely alkotórészének mérésével (pl. N-tartalom)
- leggyakrabban: oldat turbiditásának mérésével



**élő csíraszám** mértékegysége: **CFU** : telepképző egység/ml

meghatározása:

- **szélesztéses módszer:** meghatározott térfogatú tenyészetet szilárd táptalaj felszínére visszük, inkubáljuk, majd a keletkezett telepek számából következtetünk a kezdeti csíraszámra
- **membránszűrési módszer:** ismert térfogatú mintát 0,45µm pórusú membránszűrőn átszűrünk és a membránt a táptalajra helyezük, inkubálás után a membránon kinövő telepeket számoljuk és a szűrt minta mennyiségére vonatkoztatjuk
- **lemezöntéses módszer:** a még folyékony táptalajba keverjük a tenyészetet, kinövő telepeket számoljuk



## Táplálkozási típusok

### • Autotróf (fakultatív autotróf) baktériumok:

Szervesanyag szükséglet: szervesen oxidált anyagokból  
Kórtani jelentőségük nincs

- **fotóautotrófok:** energia a szerves anyaguk szintetizálásához fotoszintézissel
- **kemoautotrófok:** szervesen oxidálása során keletkező energiát hasznosítják  
(ammónia → nitrit → nitrát, szulfid → szulfát)



### • Heterotróf baktériumok:

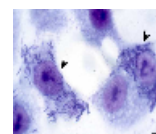
szervesanyaguk szintetizálásához szerves vegyületeket használnak fel

**C-forrás:** tejsav, glükóz, keményítő...

**N-forrás:** levegő N-tartalma, aminosavak...

**Kiegészítő anyagok:** vitaminok, nukleinsavak, nyomelemek, hemoglobin...

- **Paratróf** (heterotrófok): csak élő sejtekben, intracellulárisan szaporodnak (lehet baktérium is!)



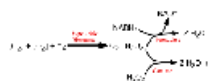
### Energianyerés típusai

- Légzés → aerob baktériumok
- Fermentáció → anaerob baktériumok

### Szénhidrát anyagsere

#### • Légzés

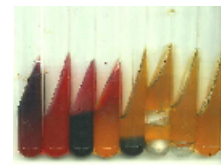
glukóz → piruvát → citrátkör → citokromok → ATP + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O  
 az aerob és aerotoleráns baktériumok képesek a keletkező toxikus melléktermékeket hatástalanítani spec. enzimjeikkel:



- kataláz
- szuperoxid dizmutáz
- peroxidáz

#### » Fermentáció

- glükóz → piruvát → redukált szerves molekula (pl. acetát, laktát, etanol) + ATP + NADH<sub>2</sub>
- végső elektronakceptor szerves molekula
- különböző fermentációs utak – diagnosztikus és ipari jelentőség



### A baktériumok tenyésztése

**Táptalaj:** in vitro optimális feltételek biztosítása

- Megfelelő összetétel, vegyhatás, ionkoncentráció
- Optimális hőmérséklet
- O<sub>2</sub> jelenléte vagy hiánya



**I. Összetétel:** H<sub>2</sub>O, C, N, sók, nyomelem, natív fehérje, vitaminok

a) **pH:** optimális 7,2- 7,4

**Kivétel:** pl. *Vibrio cholerae* – pH: 8-9. *Lactobacillus* - pH: 5,4- 6,6

b) **ionkonc.:** mikróbák toleránsak

**halofil:** pl. *Staphylococcus aureus* 7% NaCl

- II. Hőmérséklet:** mezofil 30 - 37 °C  
 termofil > 50 °C  
 pszichrofil < 20 °C

pl. *Listeria monocytogenes* 4 °C – hűtőben is szaporodik

#### III. O<sub>2</sub> jelenléte vagy hiánya:

- **obligát aerob:** *Pseudomonas aeruginosa* (respiráció)
- **obligát anaerob:** *Clostridium*ok (fermentáció)
- **fakultatív anaerob:** *E.coli* (mindkét lehetőség, humán patogének többsége)
- **microaerophil:** *Campylobacter* (alacsonyabb oxigén tenzió)
- **capnophil:** *Haemophilus influenzae* emelt széndioxid szint



### Táptalajok készítése

**pepton:** aminosav, polipeptid forrás

**húskivonat:** N, növekedési faktor, szénhidrát

**agar-agar:** tengeri moszat kivonat

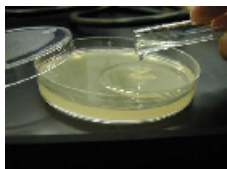
szilárdításhoz kell 0,5- 2%-ban

nem tápanyagforrás

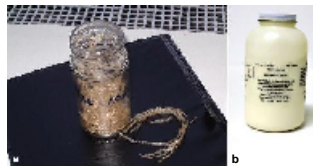
vízmegekötés: súlyának 100x-t

95 °C-on olvad

45 °C-on dermed



Folyékony táptalaj (bouillon)



Szálás (a) és porított (b) agar-agar

Agar-agar táptalajok

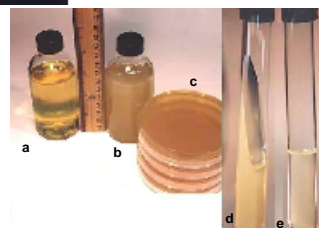
a. folyékony (98°C)

b. dermedt (40-42°C)

c. agarlemez

d. ferdeagar

e. magasagar



## Táptalajok felosztása

**I. Természetes:** tej, epe, burgonya

**II. Mesterséges:**

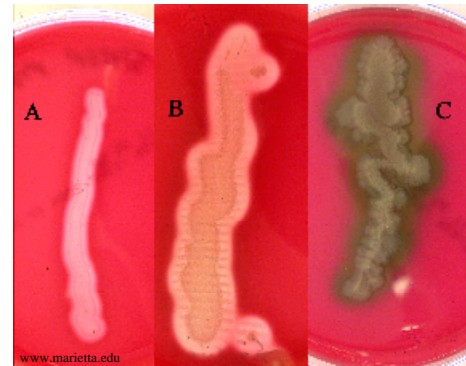
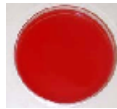
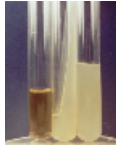
1) Egyszerű táptalajok:

1.1. Folyékony - húsleves, bouillon

1.2. Szilárd – agar-agar tartalmaznak

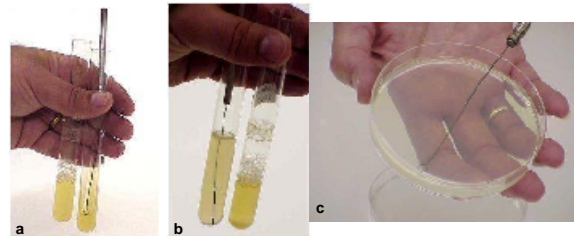
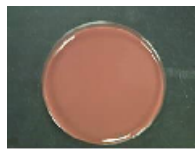
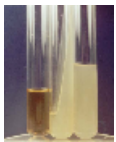
- agar lemez: 2% agar-agar tartalmazó bouillon

- véres agar: 5% defibrinált marhavérrel dúsított  
igényes baktériumok (haem)  
haemolízis is látszik



A, B:  $\beta$ -hemolysis, C:  $\gamma$ -hemolysis

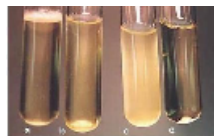
- csokoládé agar: hőkezelt véres agar  
még igényesebb baktériumoknak ( pl.  
Haemophilus)  
haemet és NAD-ot is tartalmaz  
csak az  $\alpha$ -haemolízis (zöld) látható
- ferde agar: törzsfenntartásra szolgál  
nehezebben szárad ki  
oltókacsot használunk hozzá
- magas agar: alul anaerob körülmények



Leoltás ferdeagar (a), magasagar (b) táptalajba és agarlemezre (c)



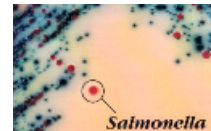
Mintavétel lépései folyékony táptalajból 1. A kémcső nyitása és leégetése, 2. Mintavétel kacsával, 3. A kémcső szájának leégetése és 4. lezárás



a: lepedék, b: üledék,  
c: zavarosodás, d: steril táptalaj

2) Összetett táptalajok:

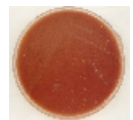
2.1. **Differenciáló** - kül. tulajdonságú baktériumok eltérő morfológiát mutatnak rajta  
pl.: laktóz bontás kimutatása



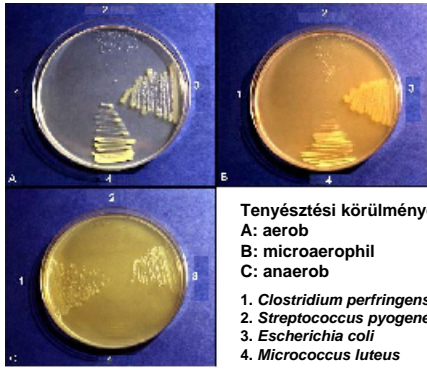
2.2. **Szelektív**

bizonyos baktériumok növekedését elnyomjuk pl. antibiotikum hozzáadásával

szelektív előny biztosítása a normál flórával szemben  
pl. Vancomycines csokoládé agar – H. influenzae







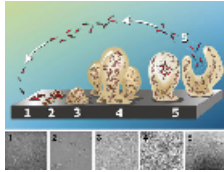
Tenyésztési körülmények  
**A: aerob**  
**B: microaerophil**  
**C: anaerob**  
 1. *Clostridium perfringens*  
 2. *Streptococcus pyogenes*  
 3. *Escherichia coli*  
 4. *Micrococcus luteus*

**3. Microaerophil baktériumok:** 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>  
 tenyésztés csökkentett O<sub>2</sub>, emelt CO<sub>2</sub> tartalmú atmoszférában  
 pl.: *Campylobacter jejuni*

**4. Capnophyl baktériumok:**  
 tenyésztés növelt CO<sub>2</sub> tartalmú atmoszférában - 5-7% CO<sub>2</sub>  
 pl.: *Neisseria*, *Haemophilus*

**Szaporodási formák**

- **telepképzés:** tápanyag gazdag környezetben, szilárd táptalaj felszínén
  - **planktonikus:** növekedés folyadékokban, testnedvekben, tápanyag szegény környezetben
  - **biofilm** képzés felszíneken
- előnye:**
- alkalmazkodó képesség
  - tápanyag csapda
  - O<sub>2</sub> felvétel
  - védelem környezettel, fagocitózissal, ellenanyagokkal szemben
- Anyaga: poliszacharid mátrix  
 Megtapadhatnak katéterek, transzplantátumok, implantátumok, intrauterin kontraceptumok felszínén

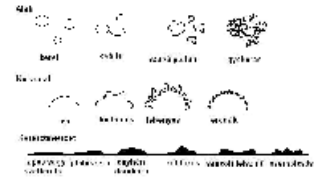


**A baktériumok növekedésének makroszkópos vizsgálata**

**Telep (kolónia):** szilárd táptalajon a baktérium megjelenése /folyékony táptalajban zavarosodás vagy hártya képződik/

**Telepmorfológia megítélésének szempontjai:**  
 nagyság, alak, színe, felszíne, széle, áttetszősége, konzisztencia

- **szaga:**  
*Pseudomonas* – hársfavirág illat  
*H. influenzae* – náthás orrváladék szag



**- pigmentképzés:**

- a) zsírdékony pigment – telep színe (pl. *S. aureus*)
- 
- b) diffúzibilis, vízdékony pigment – egész táptalajt elszínezi  
 pyocyanin – *Pseudomonas aeruginosa*
- 

**- haemolízis véres agaron:**

- α-haemolízis: részleges hemoglobin lebontás – zöld udvar
- β-haemolízis: teljes vvt. (hemoglobin) lebontás – áttetsző udvar
- γ-haemolízis: nem termel hemolizint a baktérium – nincs hemolízis



- **rajzás:**  
 peritrich csillós baktérium (*Proteus*)  
 összefüggő tenyészet, nincs izolált telep

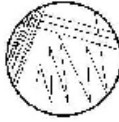
### A baktériumok tenyésztésével kapcsolatos alapfogalmak

- **Inokuláció, beoltás:** kis mennyiségű baktérium steril táptalajba juttatása

- **Inokulum:** beoltásra használt baktérium mennyiség

- **Szélesztés:**

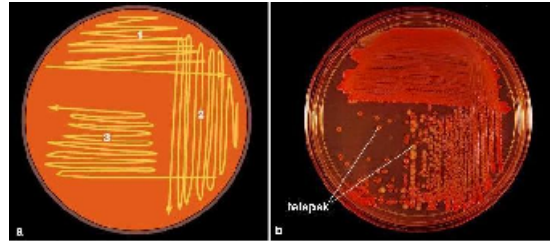
- 1) izolált telep nyérése – indentifikáláshoz  
("3 lépéses technika")



- 2) "baktérium pázsit" - rezisztencia vizsgálathoz

- **Szítvány:** egyetlen faj sejtjei alkotják

- **Áoltás:** valamely mikroorganizmus tenyésztéséből sejteket viszünk át steril táptalajra, hogy tenyésztet hozunk létre



### A leoltás lépései szilárd táptalajra (agarlemez Petri csészében)

a: a leoltás irányát nyíl jelzi, 1. Leoltás az eredeti baktérium tenyésztéséből. A további lépések között a kacsot leégetjük. 2. és 3. a kacs egyre kevesebb baktériumot vesz fel a szélesztésből.

b: a leoltás megfelelően izolált telepeket eredményez

*(Steril, egyszer használatos műanyag kacsok alkalmazása esetén a leégetés természetesen elmarad, az egyes lépésekhez új kacsot kell használni!)*



Helytelen leoltás (nem figyelhetők meg izolált telepek)

Helytelen leoltás (a túl sokáig nyitva hagyott táptalajra a levegőből gombaspórák kerülhetnek, amelyek ott telepeket képeznek)

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.