

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εργαστήριο Μικροβιολογίας & Βιοτεχνολογίας Τροφίμων

Εργαστήριο:

Μικροβιολογία Τροφίμων Ι

Όλγα Παπαδοπούλου, Πασχαλίτσα Τρυφίνοπούλου,
Αναστάσιος Σταματίου

Κανόνες ασφάλειας στο εργαστήριο μικροβιολογίας



Απαγορεύεται η αναρρόφηση με το στόμα. Να αποφεύγετε να τοποθετείτε οτιδήποτε στο στόμα, όσο είστε στο εργαστήριο.

Μην τοποθετείται τα χέρια σας στο στόμα ή τρίβετε τα μάτια χωρίς πρώτα να πλύνετε τα χέρια σας.

Να πλένετε προσεκτικά τα χέρια με σαπούνι και χλιαρό νερό πριν και μετά την εργασία.

Να απολυμαίνετε τους χώρους εργασίας πριν & μετά την εργασία.

Να φοράτε προστατευτικό ρουχισμό (εργαστηριακή μπλούζα, κλειστά παπούτσια). Προσωπικά αντικείμενα τοποθετούνται σε καθορισμένα σημεία στο εργαστήριο.

Να φοράτε γάντια, όταν αυτά είναι απαραίτητα, αλλά και να τα απομακρύνετε όταν τελειώσετε, αποφεύγοντας έτσι την δημιουργία πηγών μόλυνσης. Να αποφεύγετε να πιάνετε τηλέφωνα, πόμολα από πόρτες, διακόπτες ενώ φοράτε τα γάντια.

Μην ξαναχρησιμοποιείτε τις βελόνες. Πάντα να διαθέτετε ειδικό χώρο για τις βελόνες και όλα τα αιχμηρά αντικείμενα προκειμένου να αποστειρωθούν ή να χρησιμοποιηθούν για οποιαδήποτε άλλη χρήση. Υλικά και σκεύη τοποθετούνται στους ειδικούς χώρους του εργαστηρίου.

Δεν επιτρέπεται το φαγητό, το ποτό (καφές), το μάσημα μαστίχας, το κάπνισμα ή το μακιγιάζ στο εργαστήριο. Μακριά μαλλιά πάντα πιασμένα ή μέσα σε ειδικό σακουλάκι.

Δεν επιτρέπεται η αποθήκευση φαγητών ή ποτών στα εργαστηριακά ψυγεία ή στον ευρύτερο χώρο του εργαστηρίου.

Όλες οι καλλιέργειες, τα αποθέματα και άλλα συστηματικά απορρίμματα απολυμνούνται, πριν πεταχτούν, με κάποια εγκεκριμένη μέθοδο απολύμανσης.

Απαγορεύεται η απομάκρυνση από το εργαστήριο υλικών, σκευών, μικροβιολογικών καλλιιεργειών. Να χειρίζεστε όλα τα δείγματα ως ενδεχομένως επικίνδυνα.

Μόνο εξουσιοδοτημένο προσωπικό επιτρέπεται να παρευρίσκεται στο εργαστήριο.

Μην χρησιμοποιείτε εξοπλισμό του εργαστηρίου χωρίς να είστε εξουσιοδοτημένοι για αυτό.

Να τηρείτε πάντα πιστά τα πρωτόκολλα διεργασιών του εργαστηριακού εξοπλισμού που είναι αναρτημένα.

Σε περίπτωση ατυχήματος κατά την εργασία με τραυματισμό, ΑΜΕΣΩΣ ειδοποιήστε τον επιβλέποντα του εργαστηρίου. Αναφέρετε οποιοδήποτε ατύχημα (τόσο με πρόκληση τραυματισμού όσο και εκείνα χωρίς τραυματισμό).



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ



Σε ένα μικροβιολογικό εργαστήριο χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές, συσκευές και υλικά έτσι ώστε να είναι δυνατή η απομόνωση, καλλιέργεια και ταυτοποίηση των μικροοργανισμών.

Επειδή ο προσδιορισμός των βιολογικών και βιοχημικών ιδιοτήτων των μικροοργανισμών απαιτεί καθαρές καλλιέργειες, οι μέθοδοι και τα υλικά που εφαρμόζονται στη μελέτη των μικροβίων θα πρέπει να διατηρούν την καθαρότητα της υπό εξέταση καλλιέργειας και να εμποδίζουν την επιμόλυνση.

Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται αποστειρώνονται ενώ κάθε μικροβιολογική ανάλυση ή μεταχείριση θα πρέπει να διεξάγεται κάτω από ασηπτικές συνθήκες.

Αυτό επιτυγχάνεται με την χρήση του λύχνου Bunsen.

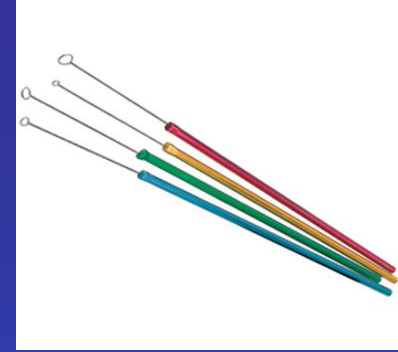
Ο χώρος όπου λαμβάνει χώρα κάθε μικροβιολογική τεχνική μπορεί να είναι ο μικροβιολογικός πάγκος ή ο θάλαμος νηματικής ροής (laminar flow). Η αρχή λειτουργίας αυτού του θαλάμου είναι ότι καθοδικά ρεύματα αέρα μέσα δεν επιτρέπουν την έξοδο μικροοργανισμών προς το περιβάλλον κι αντίστροφα.

Πριν από κάθε μικροβιολογική ανάλυση θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη τα εξής:

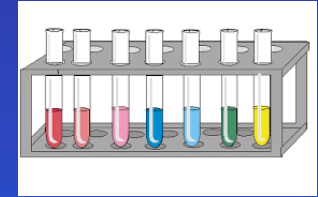
- Φοράμε πάντα εργαστηριακή ποδιά.
- Καθαρίζουμε προσεκτικά τον χώρο όπου θα δουλέψουμε με 70% αιθανόλη.
- Χρησιμοποιούμε αποστειρωμένα γάντια ή πλένουμε τα χέρια μας προσεκτικά.
- Ανάβουμε τον λύχνο Bunsen.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

i) Μικροβιολογικός κρίκος: Χρησιμοποιείται για την μεταφορά αποικίας ή υγρής καλλιέργειας από ένα θρεπτικό υλικό σε ένα άλλο.



ii) Δοκιμαστικοί σωλήνες: Χρησιμοποιούνται για την διατήρηση υγρών και στερεών θρεπτικών υλικών ή άλλων αντιδραστηρίων.



iii) Τρυβλία: Χρησιμοποιούνται για την επίστρωση των στερεών θρεπτικών υλικών.

iv) Πιπέττες: Μπορεί να είναι ρυθμιζόμενου ή σταθερού όγκου. Λαμβάνουν όγκο από 1μl έως 1000μl. Στις πιπέττες προσαρμόζονται ειδικοί υποδοχείς που ονομάζονται tips και χρησιμοποιούνται για την μεταφορά όγκου. Υπάρχουν σε δύο μεγέθη.



v) Κλίβανοι: Χρησιμοποιούνται για την επώαση τρυβλίων σε κάποια επιθυμητή θερμοκρασία.

vi) Υδατόλουτρα: Είναι σαν κλίβανοι με την διαφορά ότι θερμαίνονται με νερό και χρησιμοποιούνται κυρίως για την διατήρηση ενός στερεού θρεπτικού υλικού στην ρευστή του μορφή.



vii) Φυγόκεντρος: Χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό στερεών ή υγρών δειγμάτων διαφορετικών πυκνοτήτων.

viii) Σπεκτοφωτόμετρο: Χρησιμοποιείται για την μέτρηση οπτικής ικανότητας ή για τον προσδιορισμό ενζυμικών προϊόντων.

ix) Αποστείρωση: Χρησιμοποιείται για την αποστείρωση διάφορων υλικών.



x) Stomacher: χρησιμοποιείται για την ομογενοποίηση στερεού δείγματος που έχει διαλυθεί σε ένα αραιωτικό διάλυμα.



xi) Ζυγός - Πεχάμετρο - Μικροσκόπιο.

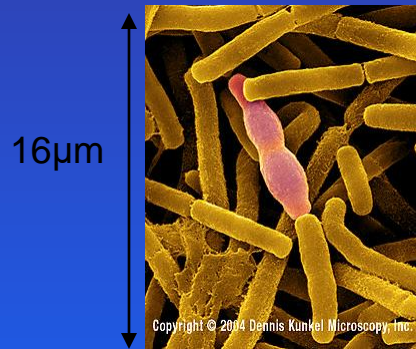
Θεματικές ενότητες εργαστηρίων

1. Παρασκευή θρεπτικών υλικών (στον πάγκο - εργαστήριο ν1).
2. Μέθοδος προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου (στον πάγκο - εργαστήριο ν2).
3. Καταμέτρηση μικροβιακού φορτίου (στον πάγκο - εργαστήριο ν3).
4. Τεχνικές απομόνωσης αποικιών (θεωρία - επίδειξη).
5. Χρώση κυττάρων κατά Gram (θεωρία - επίδειξη).
6. Δοκιμή καταλάσης και οξειδάσης (θεωρία - επίδειξη).
7. Σύγχρονες μέθοδοι προσδιορισμού του μικροβιακού φορτίου (θεωρία).

Είδη βακτηρίων

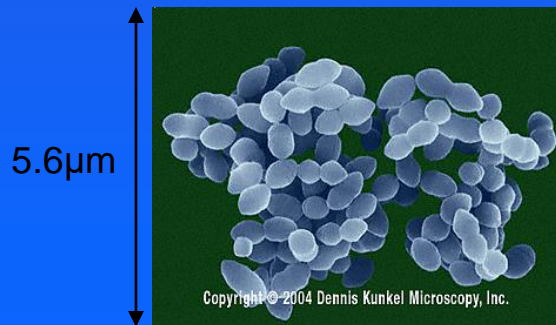
Βάκιλλοι

(*Bacillus anthracis*)



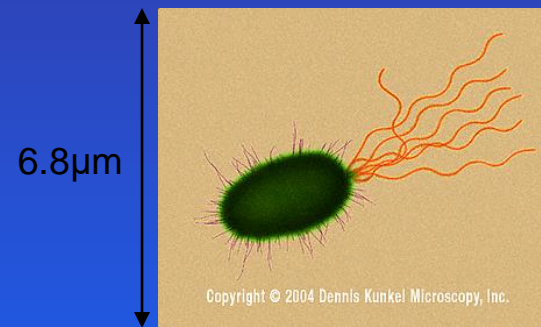
Κόκκοι

(*Staphylococcus aureus*)



Βακτήρια με μαστίγια

(*Pseudomonas* spp)

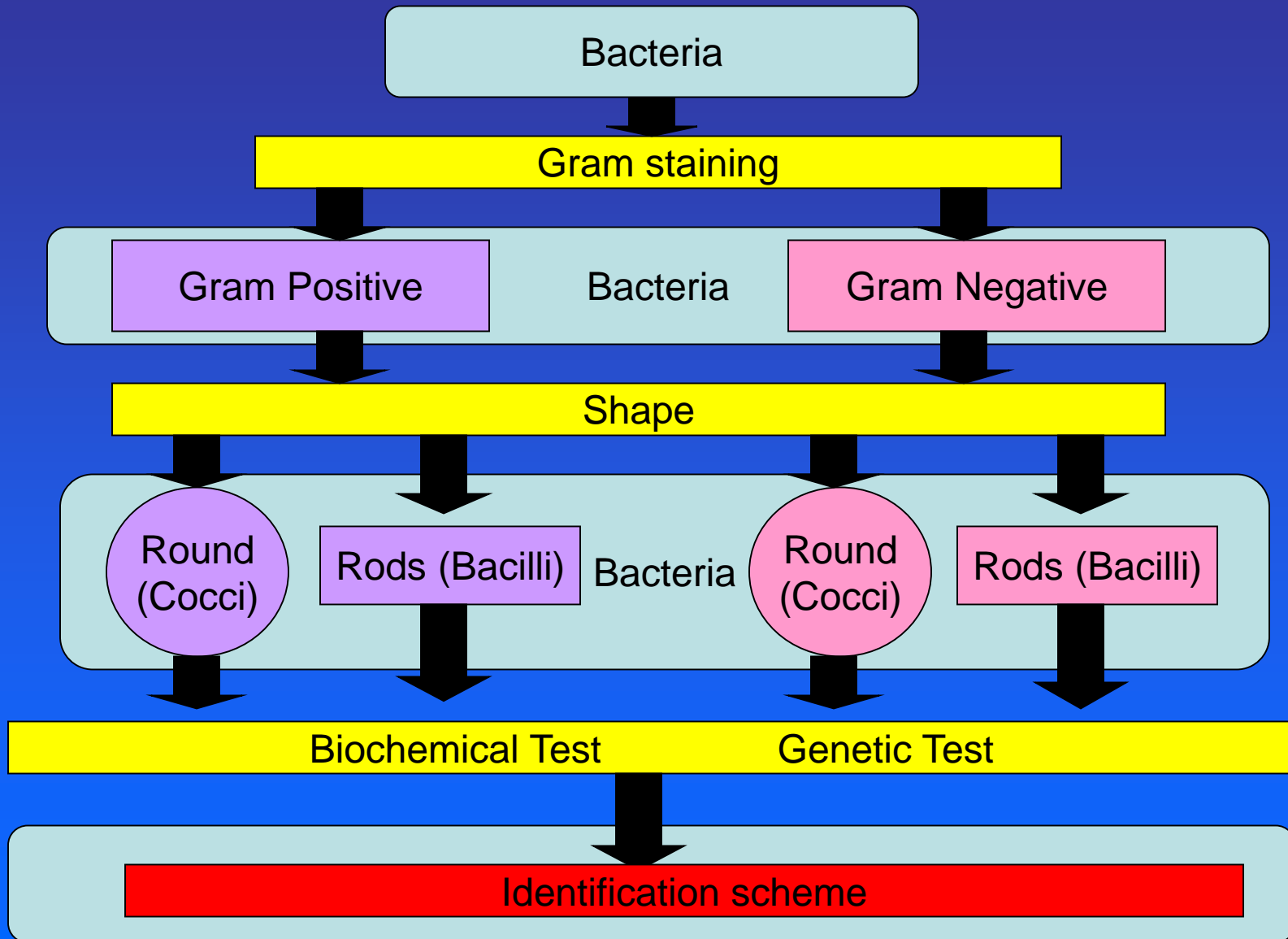


Μικροί βάκιλλοι

(*Escherichia coli*)



Ταυτοποίηση βακτηρίων



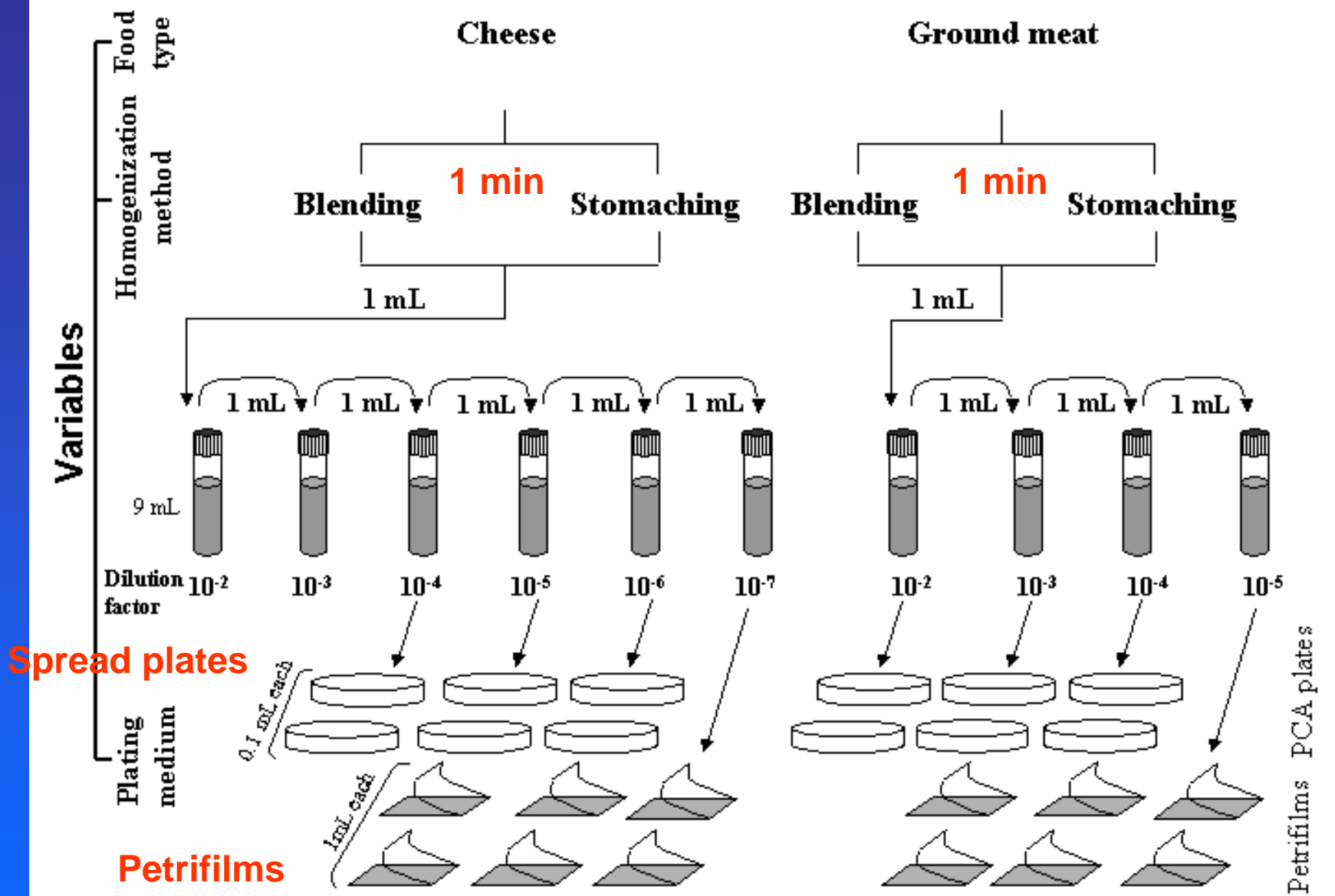
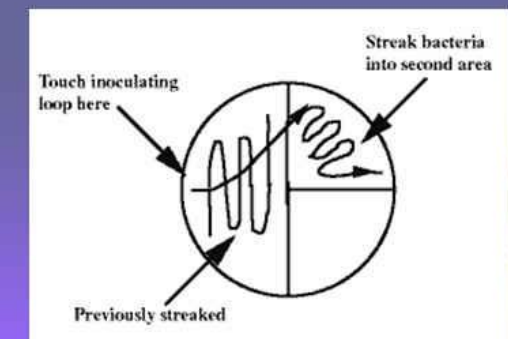
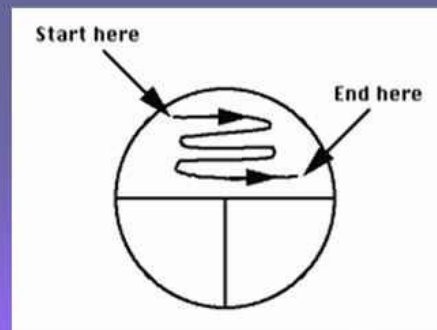
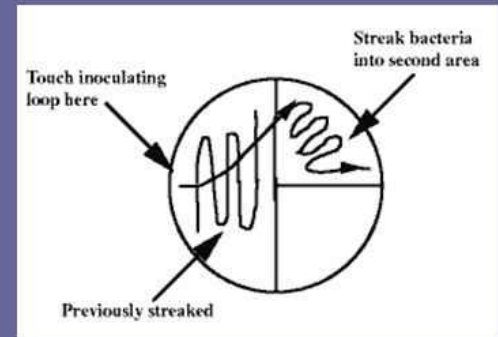
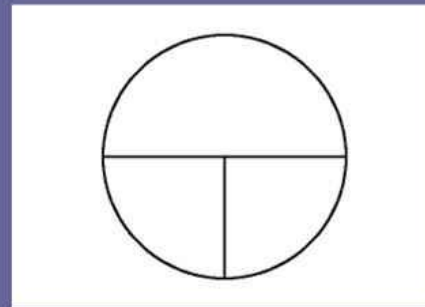
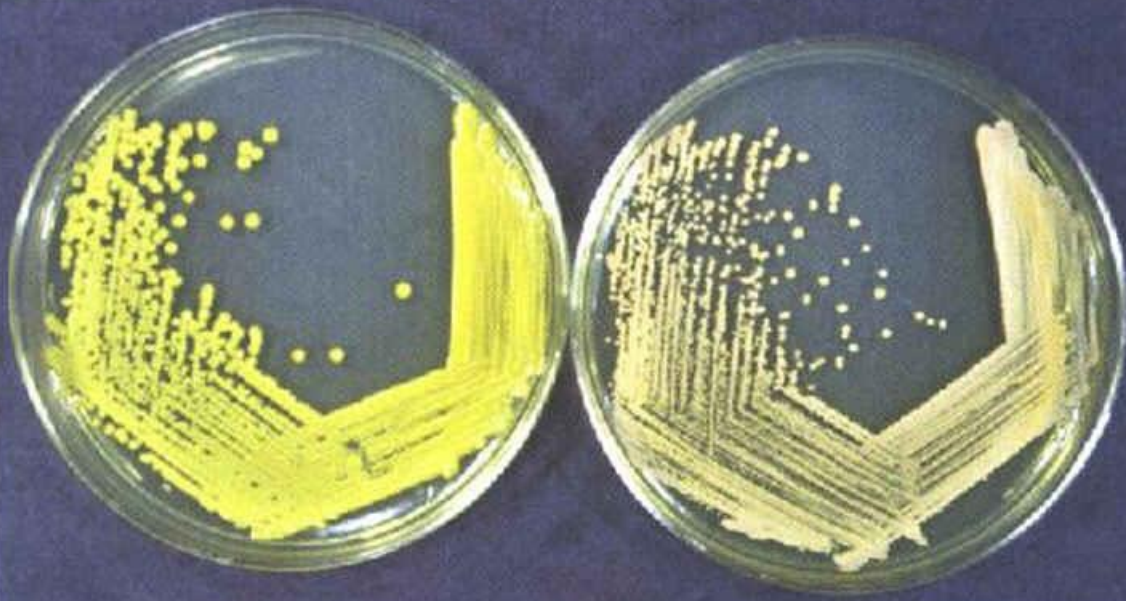
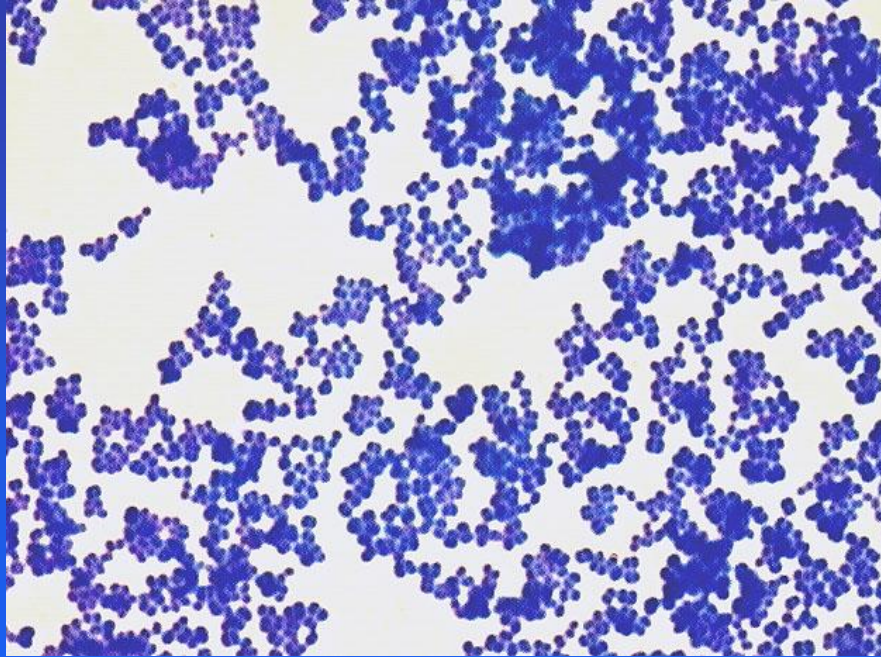


Fig. 2.2. Overall procedure used in the total plate count exercise

Απομόνωση βακτηρίων



Διαφοροποίηση κυττάρων



Gram +



Gram -

Δοκιμή της καταλάσης

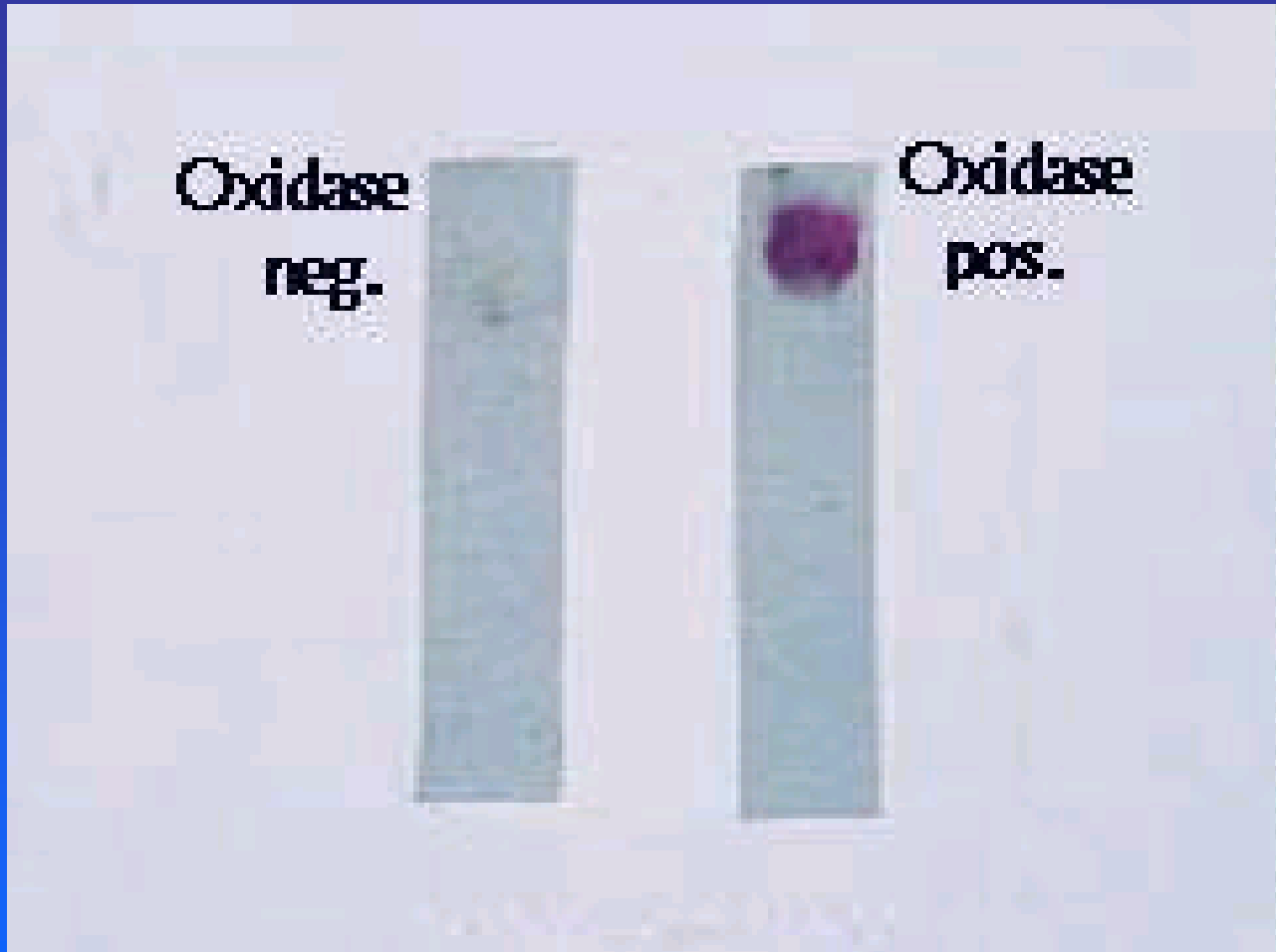
- **Αποτέλεσμα**

Αφρισμός: θετική αντίδραση



Θετικοί ως προς την καταλάση είναι οι αερόβιοι
μικροοργανισμοί

Oxidase Test



Spiral plate

Με τη μέθοδο αυτή το όργανο διανέμει το υγρό εμβόλιο στην επιφάνεια ενός περιστρεφόμενου τρυβλίου. Η εναπόθεση αρχίζει από το κέντρο του τρυβλίου προς την περιφέρεια εναποθέτοντας σταδιακά όλο και λογότερο εμβόλιο



← Αποτέλεσμα

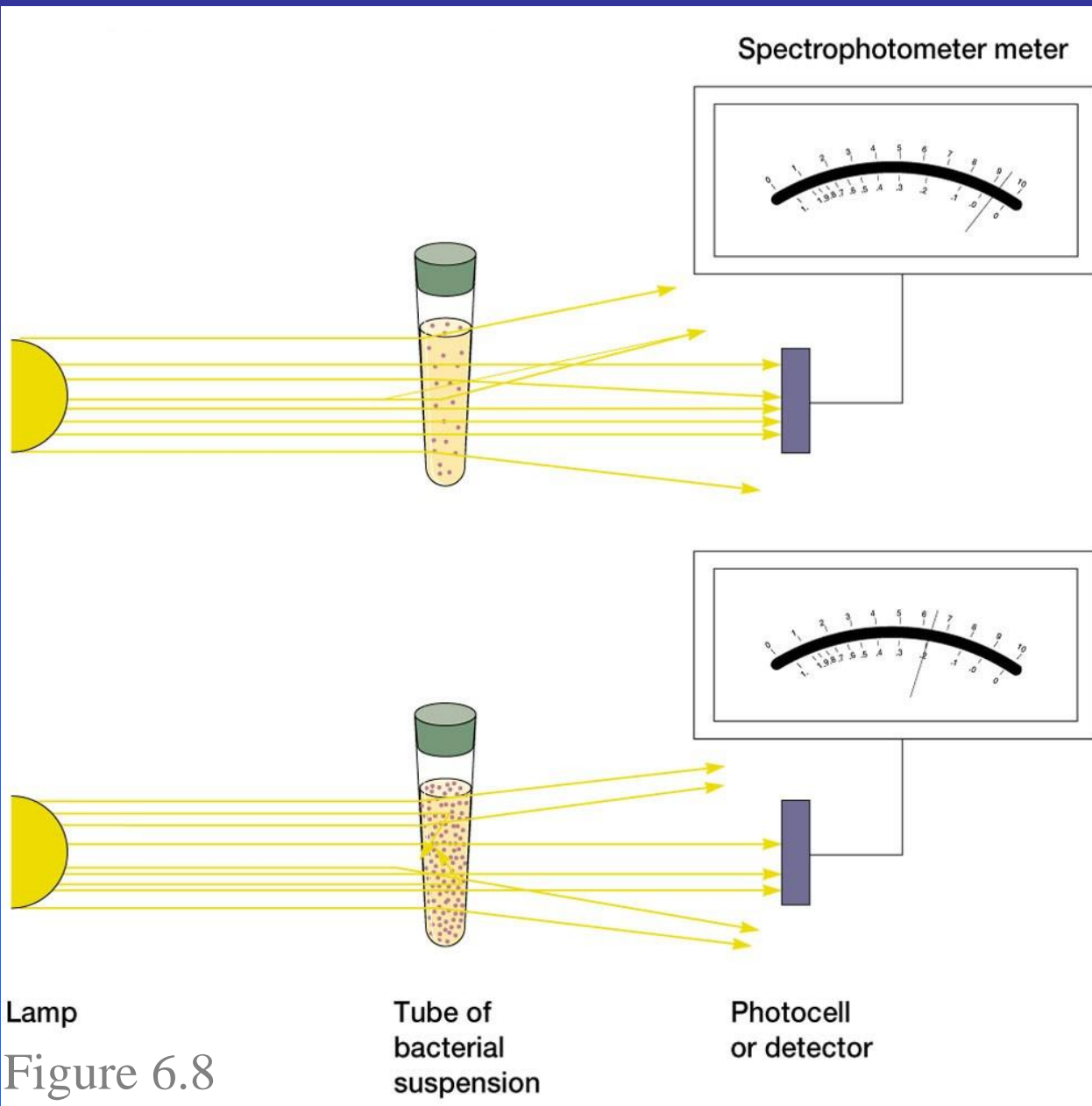


Figure 6.8

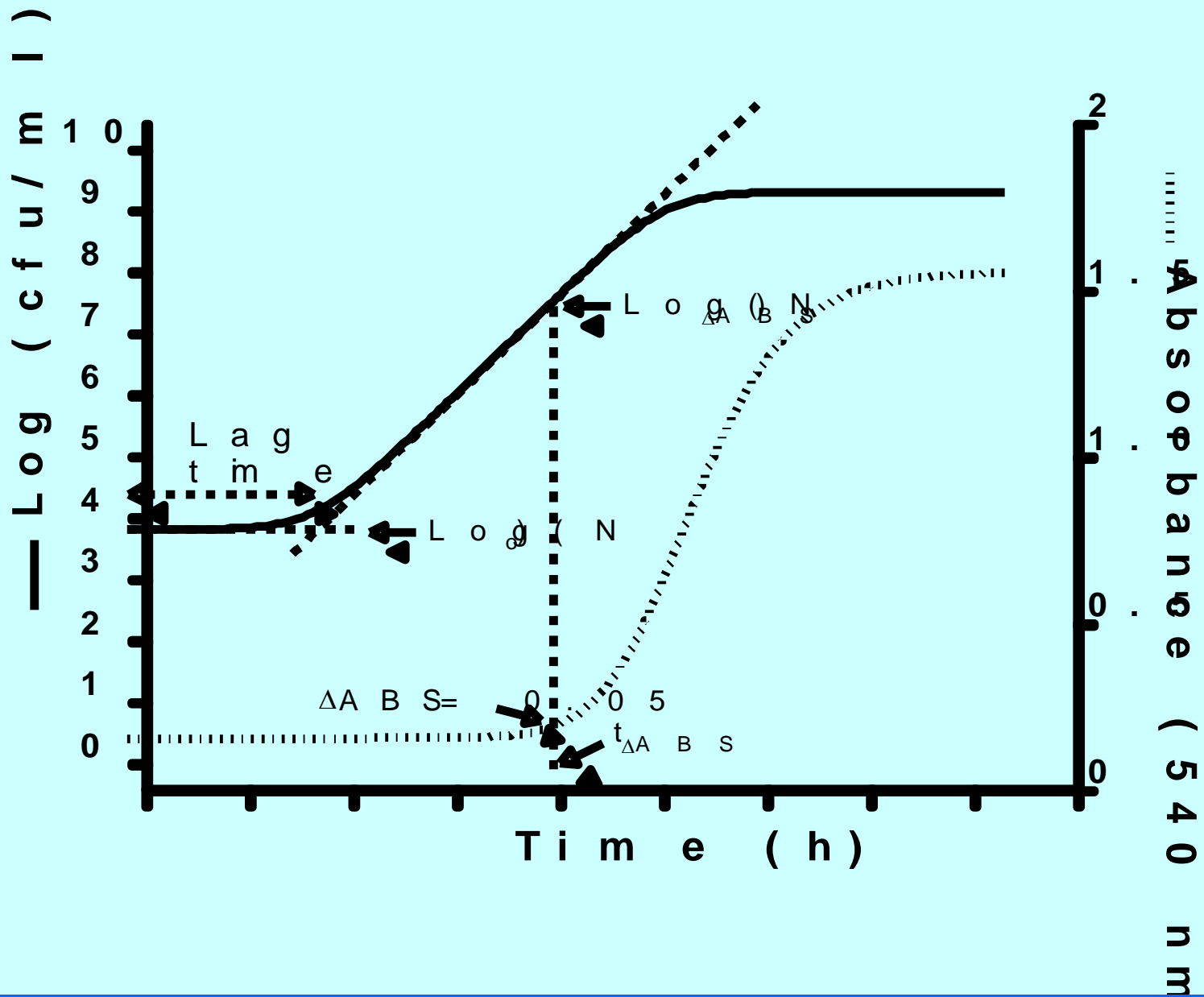
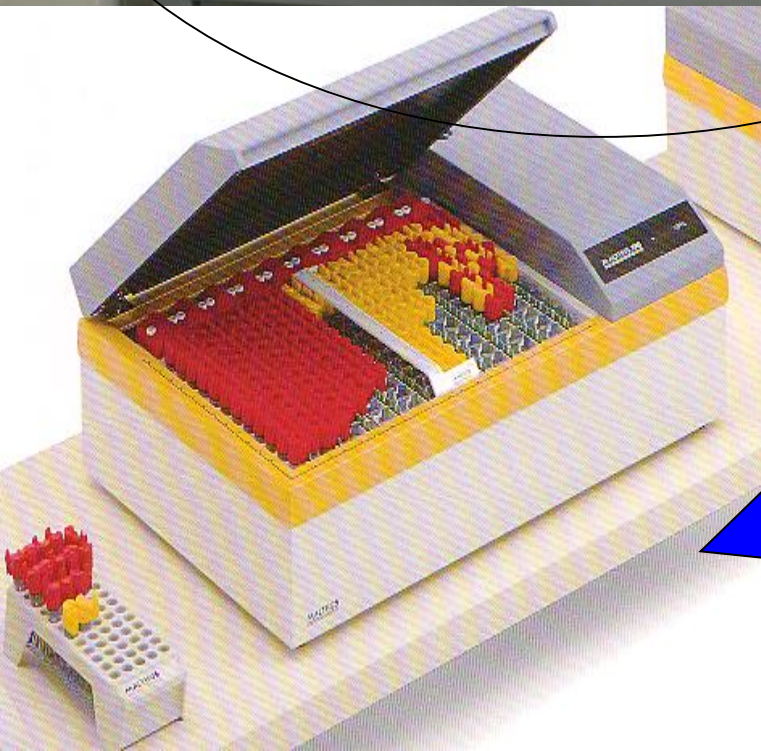


Fig. 1

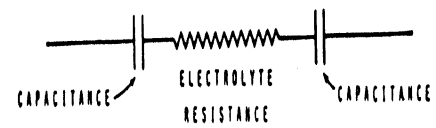
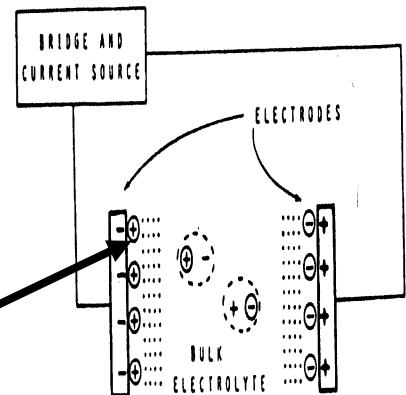
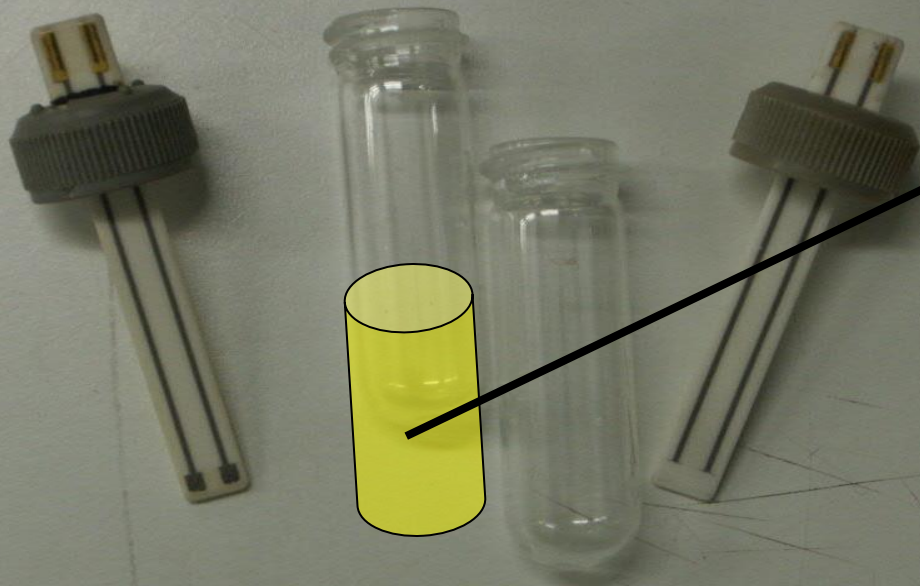
BACTOMETER

RABBIT



MALTHUS





Library Rec : 26 - C2	Num. Orgs : <10
Sample Type : DEFLT	Detection Time : 10.4 Hours
Test Type : DEFLT	Overall Change : 0.0 (0.0)
Result : Detected	Max. Rate : 0.0 (0.0)

