**Labbrapport- Bakterieidentifiering från platta**

**Nacka Gymnasium**

**Emil Nygren**

NN3a

Labbrapport- Bakterieidentifiering från platta

# Sammanfattning:

I denna laboration identifierades bakterier från en kultur med hjälp av gramfärgning, morfologi och två enzymatiska tester, katalas och oxidas.

# Introduktion

**Morfologi:**

Du brukar skilja på bakterier beroende på deras form och utseende. Och delar upp dem som är kulformiga som kocker, stavformiga som baciller och spiralformiga som spiriller och spiroketer.

**Gramfärgning:**

När man delar upp bakterier i grampositiva och gramnegativa, delar man upp dem beroende på deras cellhöljes struktur och uppbyggnad. De gramnegativa bakterierna har höga halter av lipider i cellhöljet, då de har ett dubbelmembran där båda består av fosfolipder. Grampositiva bakterier har ett lägre lipidinnehåll, det yttre lagret består utav tjocka peptidoglukanlager och det inre cellagret av lipider.

När man ska skilja på grampositiva och gramnegativa bakterier så färgar man bakterierna först med basiskt färgämne samt jod-jod kalium så att det bildas ett violett färgkomplex i cellen. Därefter sköljer man med etanol, då avfärgas de gramnegativa bakterierna. Detta sker på grund av att de gramnegativa bakterierna består av dubbelt lipidmembran. Etanolen löser då upp membranet och membranets porositet ökar och färgkomplexet läcker ut.   
De grampositivas membran bestod istället utav peptidoglukanlager, detta löses inte upp utav etanolen. Utan här sker en dehydrering, porernas storlek minskar, och färgkomplexet stannar i cellen. Vi kan då skilja på de grampositiva och gramnegativa bakterierna.

Detta kan vara till nytta när man ska bestämma vilken typ av antibiotika man ska använda sig av mot vilka bakterier. Mot grampositiva bakterier använder man oftast ett antibiotikum som ger sig på cellväggen. Till exempel penicillin som gör så att det inte kan bildas peptidbindningar mellan två NAM (N-acetylmuraminsyra), detta hämmar bildandet av filament och kan vid höga koncentrationer leda till lysis av bakterien.   
Mot gramnegativa används istället antibiotika som angriper en annan del hos bakterien, kan exempel vis vara antibiotika som angriper ett visst steg i proteinsyntesen eller nukleinsyrasyntesen.

**Enzymatiska tester:**

Du kan också skilja på bakterier beroende på vilka enzymer de använder sig utav. Detta gör du genom att utföra enzymatiska tester.

Oxidas: Oxidas också känt som Cytokrom-C-oxidas är ett enzym som verkar i elektrontransportkedjan. Det finns på mitokondriernas innermembran och agerar som en elektronacceptor i elektrontransportkedjan. I det här testet katalyserar celler som har enzymet oxidationen av tetra-p-metyldiamin till en färgad produkt och du ser då om bakterierna innehåller enzymet.

Katals: Katalas förekommer oftast hos aeroba bakterie. Katalas är ett enzym som bryter ned väteperoxid till syrgas och vatten.

Du testar om katalas finns hos bakterierna genom att tillsätta väteperoxid till cellerna, om du då ser en gasutveckling vet du att katalas har brutit ner väteperoxiden.

## Metod:

## Materiel

* Ljusmikroskop
* Objektglas
* Täckglas
* Bakterie renkultur
* Kristallviolett i droppflaska
* Lugols lösning i droppflaska
* Aceton-alkohol i droppflaska
* Safraninlösning i droppflaska
* Oxidas-sticka (1% lösning av tetra-p-fenyldiamin)
* Väteperoxid 3%

## Utförande

* Bakterier från odlingsmediet placerades på objektglaset samt en droppe vatten.
* Via studering med hjälp av ljusmikroskopet bestämdes bakteriernas morfologi, Stavar eller Kocker.

Därefter skulle gramfärgningen kontrolleras:

* Bakterier från odlingsmediet placerades på objektglas och löstes upp i en droppe vatten.
* Preparatet torkades i ett värmeskåp.
* Bakterierna täcktes därefter med kristallviolett och lät verka i 1 minut.
* Därefter tvättades preparatet med vatten.
* Bakterierna täcktes med lugols lösning och fick verka i 1 minut.
* Återigen tvättades dessa med vatten.
* Försiktigt tillsattes aceton-alkohol droppvis tills ingen blå färg längre löser sig.
* Bakterierna tvättades igen med vatten.
* Därefter färgades bakterierna med saffranin och lät verka i 1 minut.
* Bakterierna tvättades med vatten och läts därefter torka.
* Bakterierna studerades därefter i ljusmikroskopet för att bestämma gramfärgningen.

Efter gramfärgning genomfördes oxidas test:

* Bakterier ströks på en oxidas-sticka och bestämdes utifrån den om bakterierna innehöll oxidas.

Slutligen utfördes det sista enzymatiska testet, katalas test:

* Bakterier från odlingsmediet placerades på ett objektglas.
* Därefter tillsattes väteperoxid.
* Bakterierna kontrollerades i fall de skedde någon gasbildning eller inte.

# Resultat:

### Tabell 1:

|  |  |
| --- | --- |
| Resultat av testerna: | |
| Morfologi: | Kocker |
| Gramfärgning: | Blå-violett |
| Oxidas test: | Negativt |
| Katalas test: | Negativt, ingen gasbildning |

##### Tabellen beskriver resultatet av de fyra testerna som genomfördes i laborationen

# Diskussion:

Utifrån resultatet ovan kan vi bestämma att bakteriekolonin vi har studerat antingen tillhör Lactococcus eller Streptococcus då båda dessa överensstämmer med de tester vi utförde. Båda dessa är typer av kocker som är både oxidas- och katalasnegativa. Samt att både Lactococcus och Streptococcus är grampositiva bakterier.

# Referenser:

<http://en.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Gram-positive_bacteria>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Gram_staining>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Gram-negative_bacteria>