



OBEČNÁ MIKROBIOLOGIE

MIKROSKOPICKÉ PREPARÁTY

Petra Lysková



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Univerzita
Pardubice

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

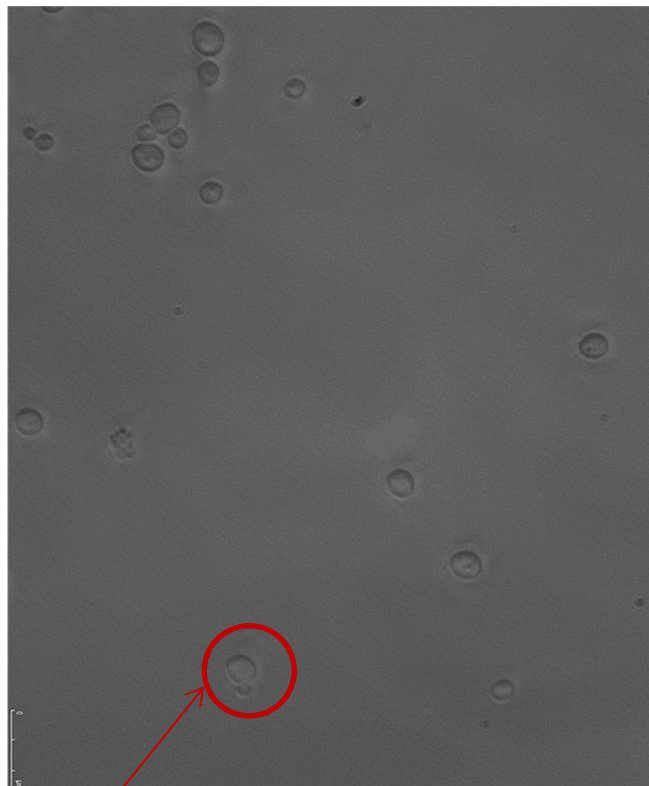
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

NATIVNÍ PREPARÁT

- význam
 - tvar a struktura buněk kvasinek
 - určování morfologických znaků plísní
 - průkaz vajíček, cyst a vegetativních forem parazitů
- princip: odlišná světlolomnost částic v objektu
- pozorujeme skutečný (neporušený) tvar buňky
- pohyb
 - vlastní pohyb
 - Brownův pohyb
 - pohyb tekutiny



NATIVNÍ PREPARÁT



kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*

[1]

pučení



Aspergillus clavatus

[2]



tasemnice

[3]

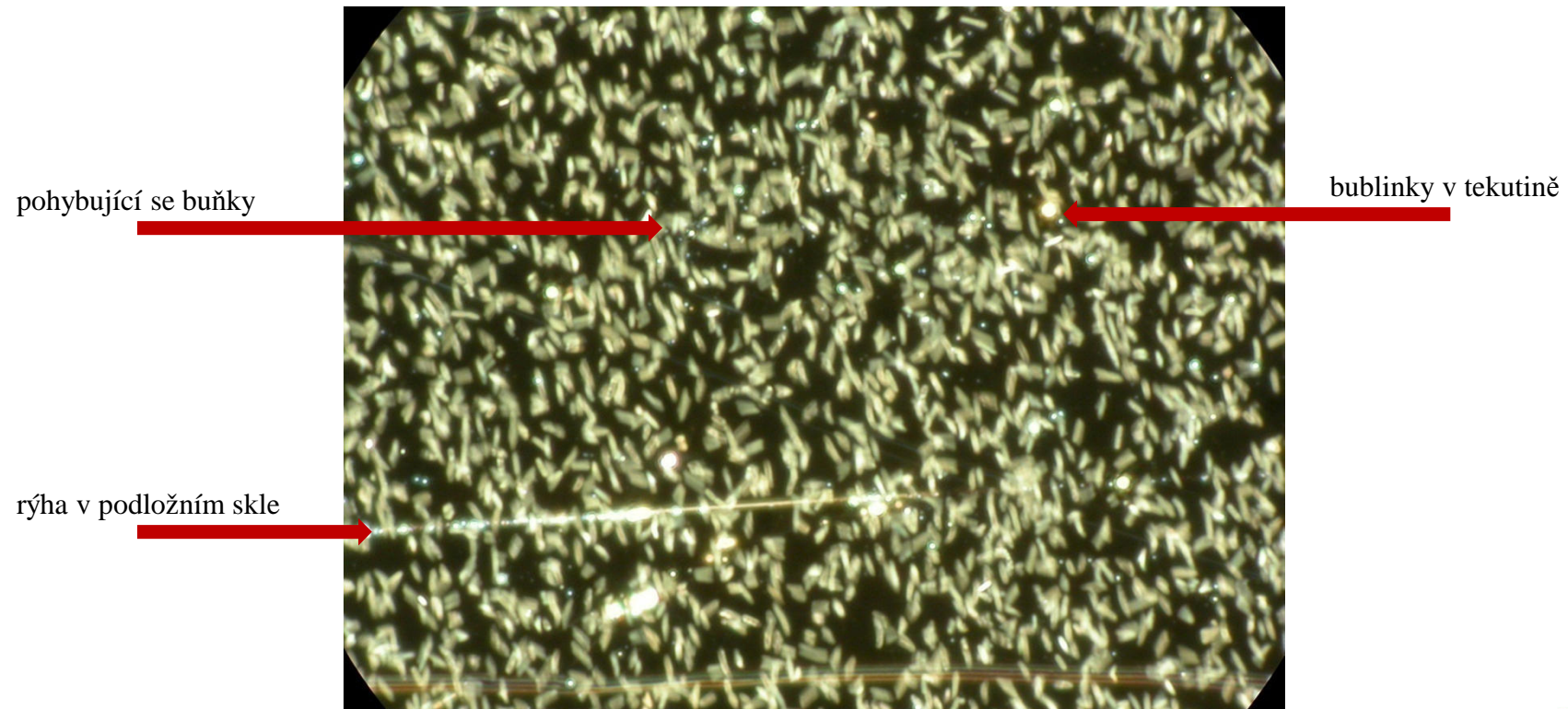


MIKROSKOPOVÁNÍ V ZÁSTINU

- význam
 - pohyblivost bakterií
 - pozorování špatně barvitelných mikroorganismů
- princip: do objektivu vstupuje jen světlo odražené nebo rozptýlené osvětleným objektem
- pohyb
 - vlastní pohyb
 - Brownův pohyb
 - pohyb tekutiny



MIKROSKOPOVÁNÍ V ZÁSTINU



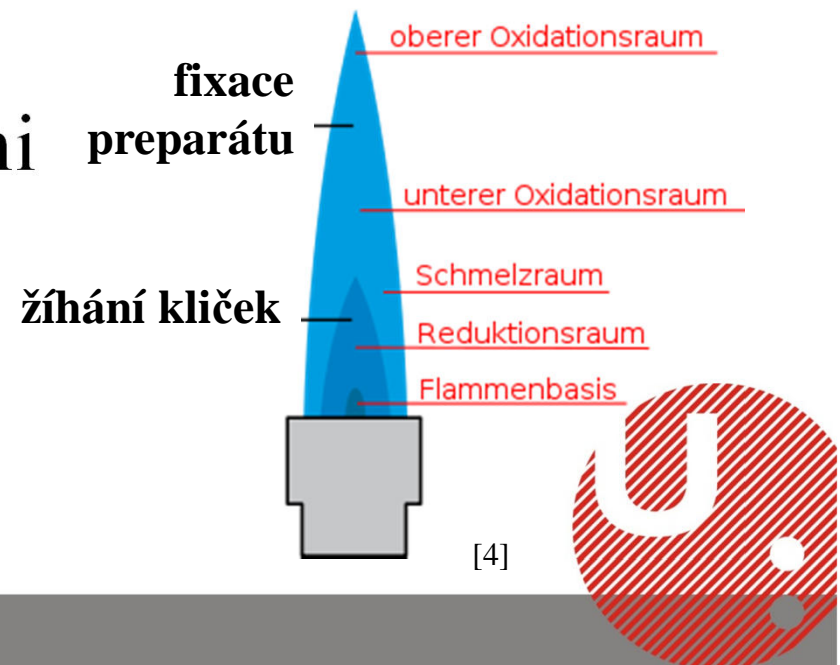
Bacillus subtilis

Petra Lysková © UPa



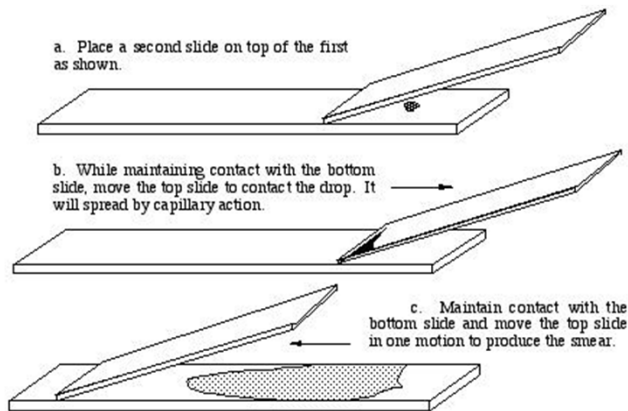
FIXACE A BARVENÍ PREPARÁTU

- účelem je usmrcení buněk
 - usmrcené buňky lépe přijímají barvivo
 - usmrcené buňky lépe přilnou k podložnímu sklíčku
- podstatou je vysrážení buněčných koloidů
- bakterie fixujeme plamenem
- kvasinky, plísně chemikáliemi
- barvení
 - jednoduché
 - diferenciální (barvení spor)
 - diagnostické (Gramovo barvení)

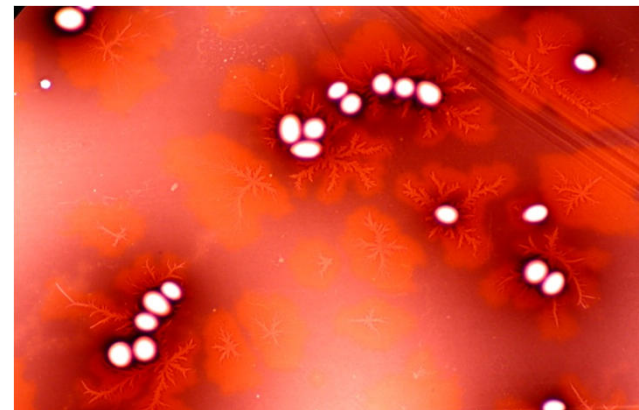


NEGATIVNÍ BARVENÍ

- význam
 - měření velikosti buněk (NESMÍ SE FIXOVAT !!!)
- princip: obarveno pozadí, buňky bezbarvé
- kongočerveň + bakteriální kultura →→ HCl



[5]



Petra Lysková © UPa
negativní barvení *Saccharomyces cerevisiae*

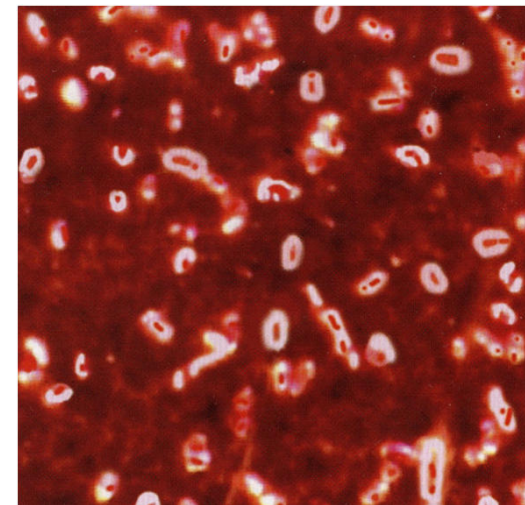
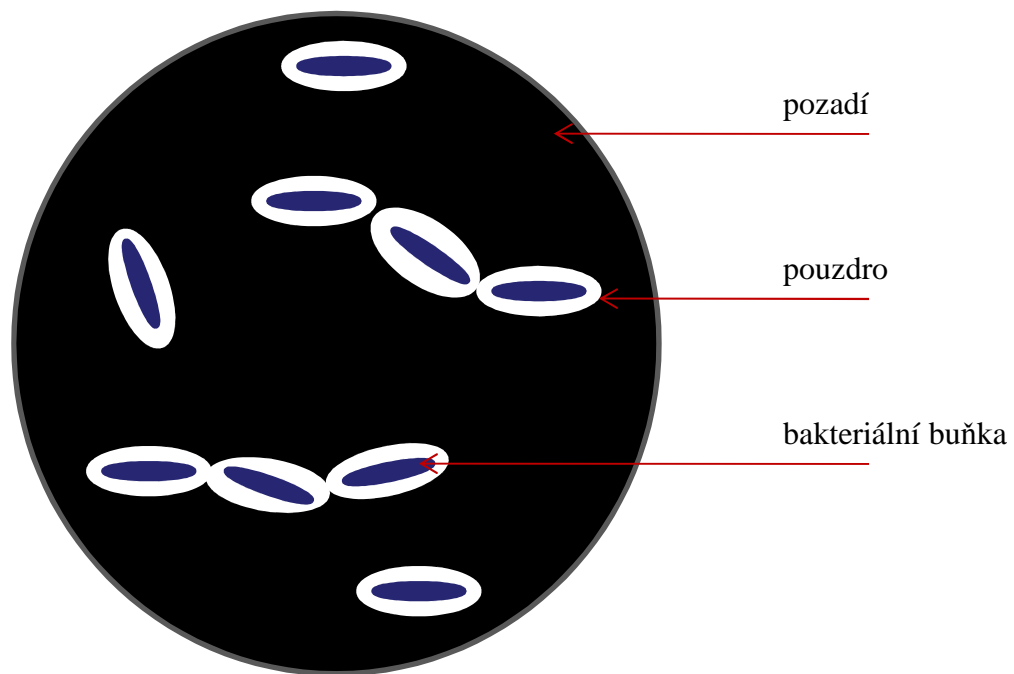


BARVENÍ POUZDER

- pouzdro
 - chrání buňku proti nepříznivým podmínkám
 - hlenový nebo želatinový charakter
- princip: obarveno pozadí, buňky bezbarvé
- moření nebo metoda negativního barvení
- metoda dle Burriho
 - tuš + bakteriální kultura →→ karbolfuchsin (3-5 min)
 - na tmavém pozadí ve světlých dvorcích obarvená těla mikrobů



BARVENÍ POUZDER



[6]

pouzdra *Klebsiella pneumoniae*

Petra Lysková © UPa

barvení pouzder dle Burriho - schéma

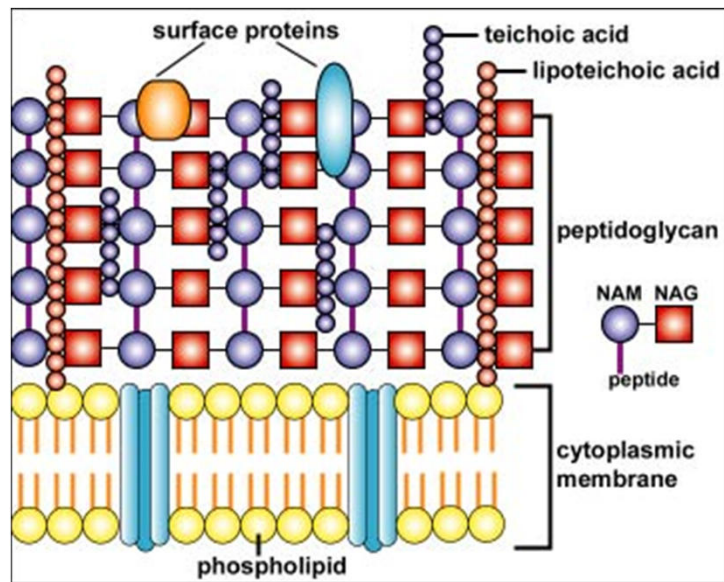


BARVENÍ DLE GRAMA

- identifikace bakterií na základě odlišné stavby buněčné stěny
- postup: VLAK/VLAS
- Grampozitivní MO (modrá až fialová barva)
- Gramnegativní MO (červená barva)
- nelze použít pro mykobakterie, spirochety, mykopasmata a ureaplasmata
- Gramlabilní MO odlišíme KOH testem

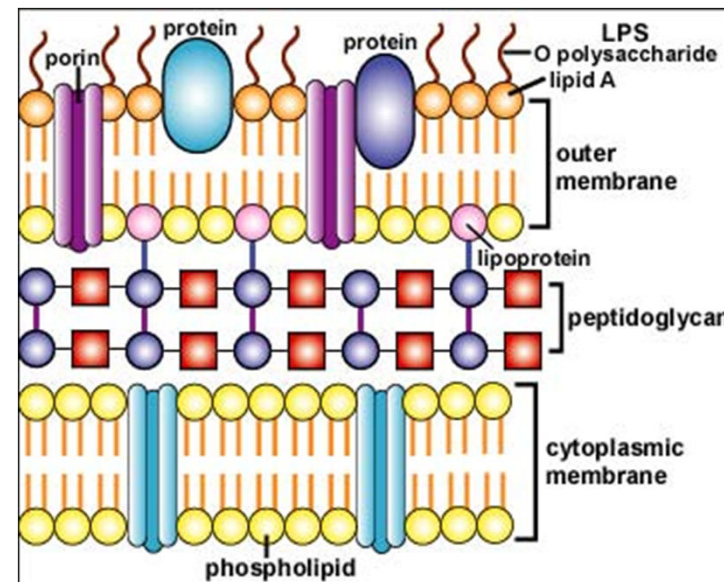


BARVENÍ DLE GRAMA



[7]

buněčná stěna Grampozitivní bakterie

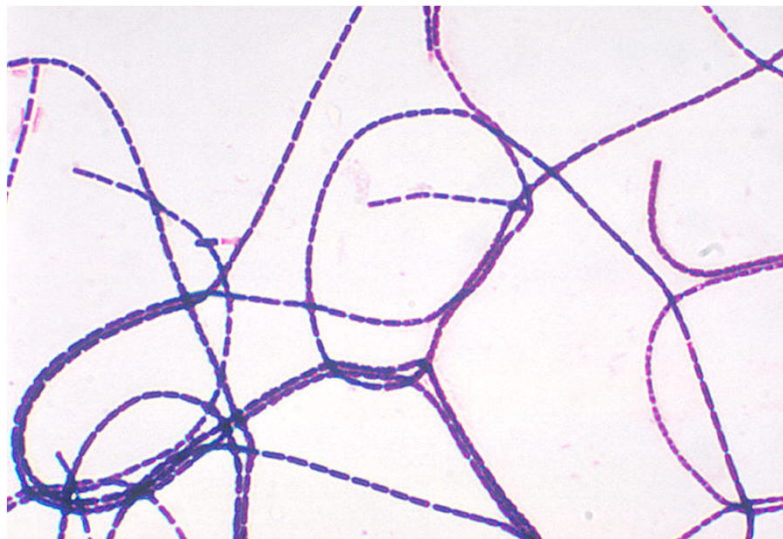


[8]

buněčná stěna Gramnegativní bakterie

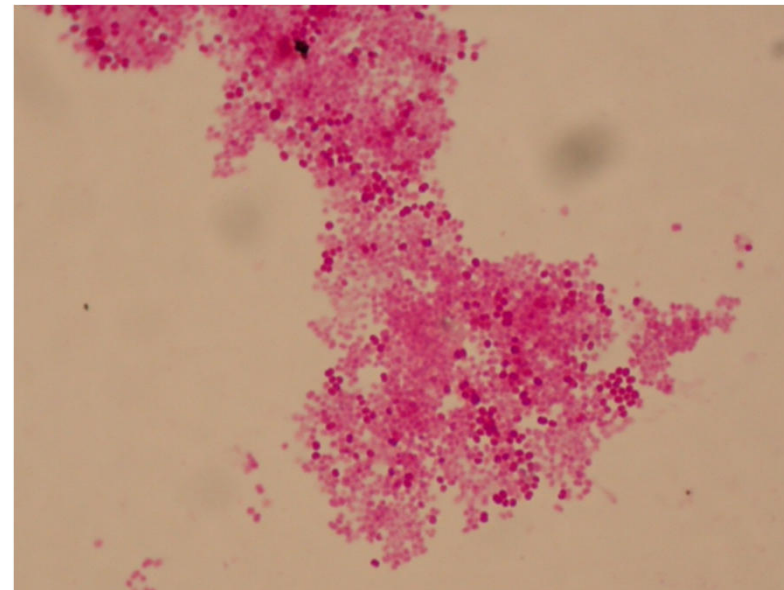


BARVENÍ DLE GRAMA



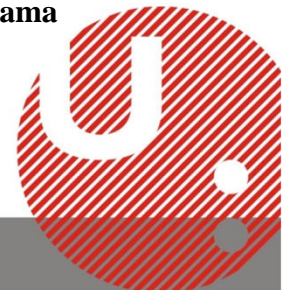
[9]

preparát *Bacillus anthracis* barvený dle Grama



Petra Lysková © UPa

preparát *Neisseria* sp. barvený dle Grama

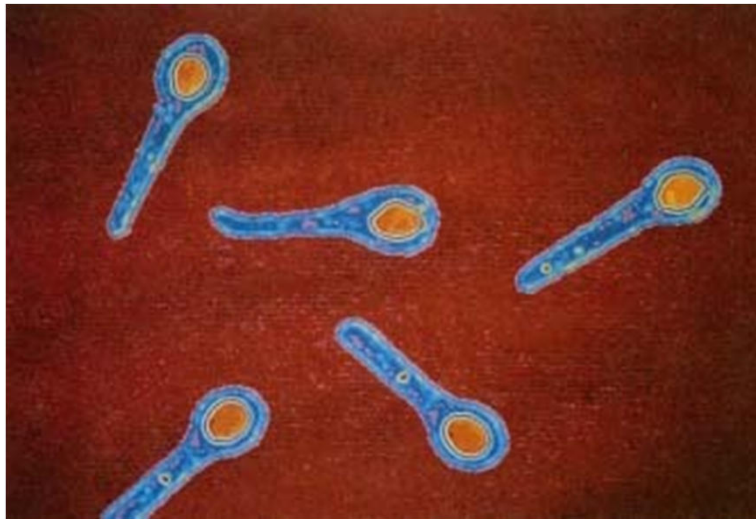


BARVENÍ SPOR

- spora
 - klidové stádium (neměřitelný metabolismus)
 - odolné vůči extrémním podmínkám
- špatně barvitelné i po fixaci
- moření nebo za horka konc. barvivy
- metoda dle Wirtze-Conklina
 - malachitová zeleň + bakteriální kultura → 5 min stát → 3x zahřát do výstupu par → karbolfuchsin (1 min)
 - spory jsou zelené, bakteriální buňky červené

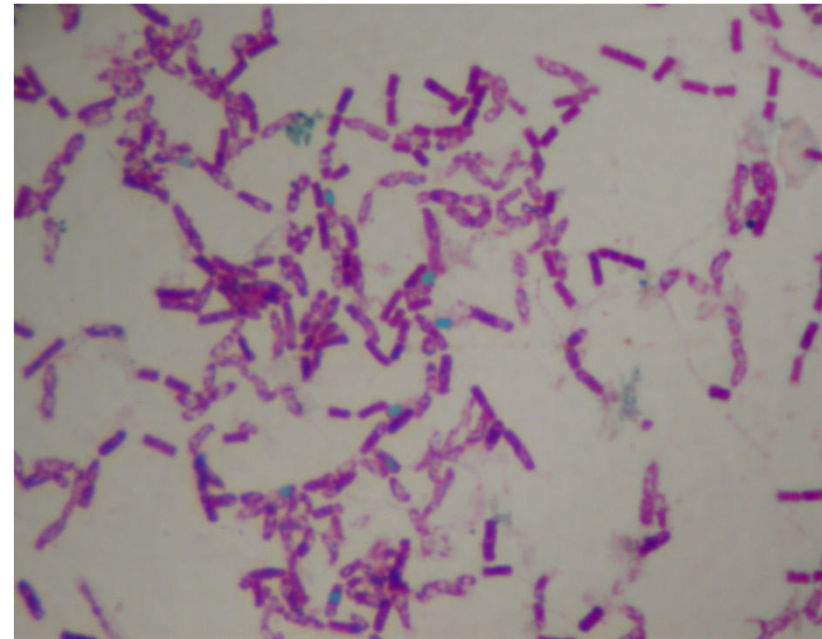


BARVENÍ SPOR



[10]

Clostridium tetani
spory a vegetativní forma



Petra Lysková © UPa

spory *Bacillus cereus*
barvené dle Wirtze-Conklina

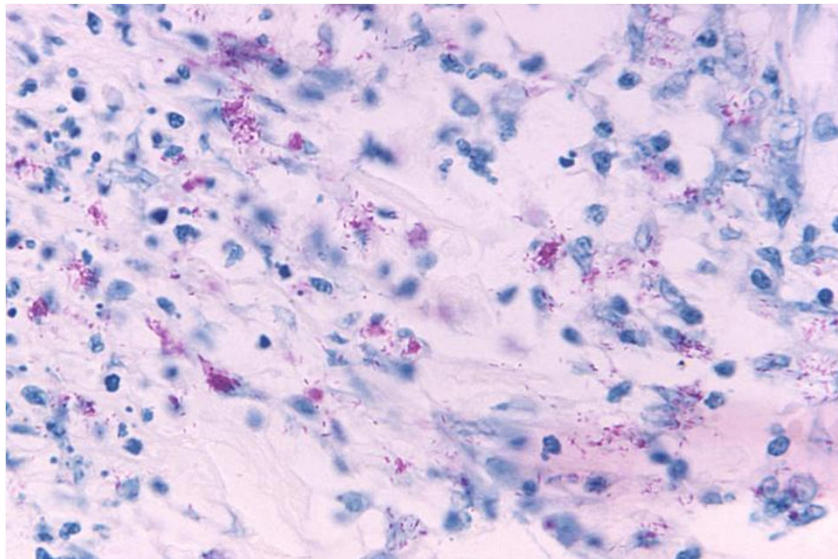


ACIDOREZISTENTNÍ BARVENÍ

- identifikace mykobakterií
 - vysoký obsah lipidů a kyseliny mykolové
 - acidorezistence
- barvíme za horka koncentrovanými barvivy
- metoda dle Ziehl-Neelsena
 - karbolfuchsin + bakteriální kultura → 3x zahřát do výstupu par → nechat působit 3-5 min → methylenová modř (30 s)
 - mykobakterie červené, epitelie a ostatní MO modré
 - hodnotíme 50 zorných polí (neg. – na +++)

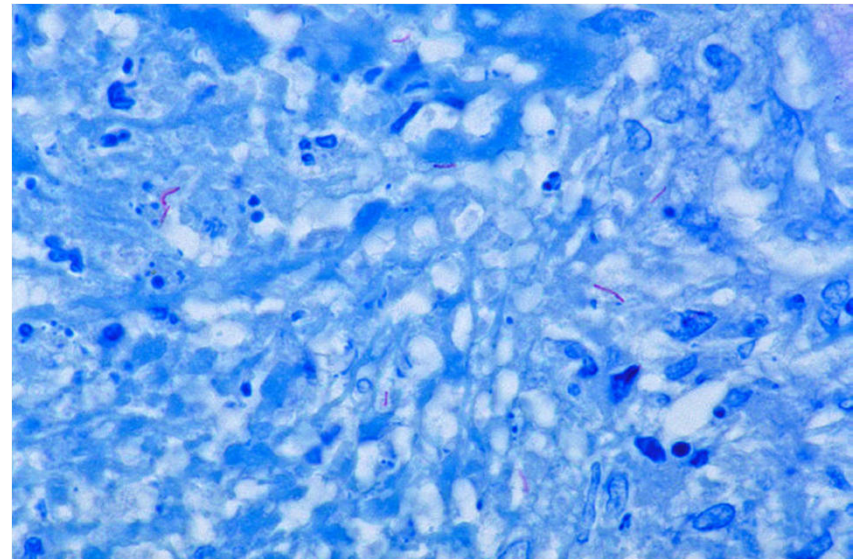


ACIDOREZISTENTNÍ BARVENÍ



[11]

mykobakteriální infekce kůže
(*Mycobacterium* sp., buňky kožní tkáně)



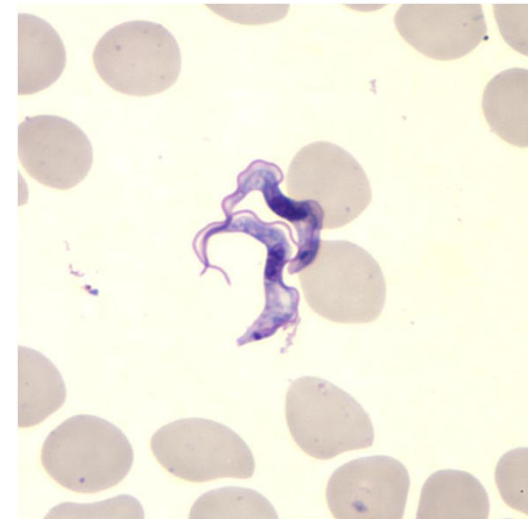
[12]

mykobakteriální infekce placenty
(*Mycobacterium tuberculosis*, bílé krvinky)



GIEMSOVO BARVENÍ

- diferenciace buněčných struktur
 - prvoci, krevní paraziti
 - mikrobiální obraz poševní (MOP)
- rychlá i pomalá metoda barvení
- MOP
 - fyziologický obraz
 - bakteriální vaginóza
 - zánětlivá bakteriální vaginitida
 - kapavčitý výtok
 - trichomonádový výtok
 - vaginální mykóza



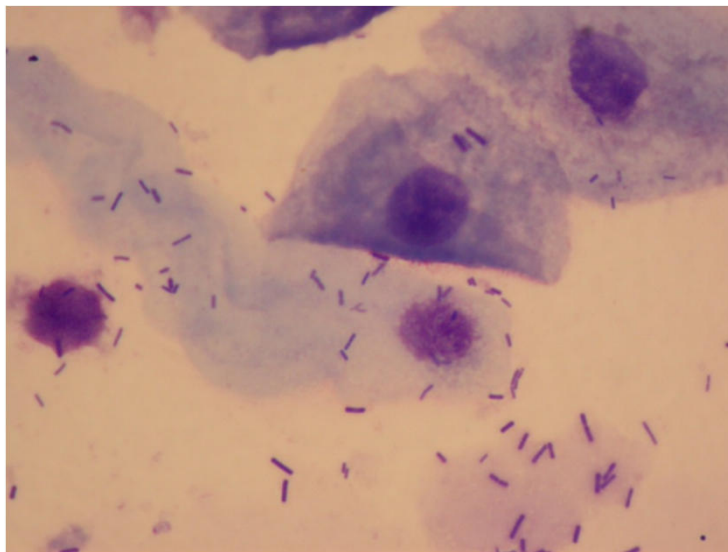
[13]

Trypanosoma brucei
(krevní nátěr)

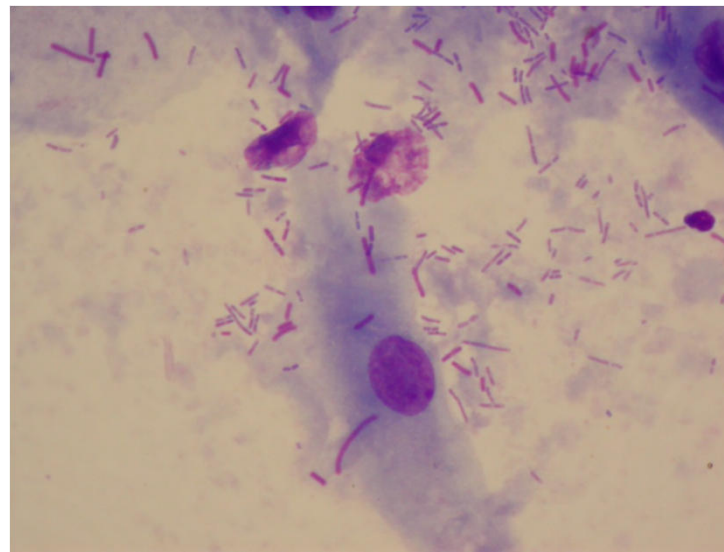


MOP I – Fyziologický obraz

- epitelie
- ojediněle leukocyty
- množství hrubých tyčinek – *Lactobacillus vaginalis*



Petra Lysková © UPa

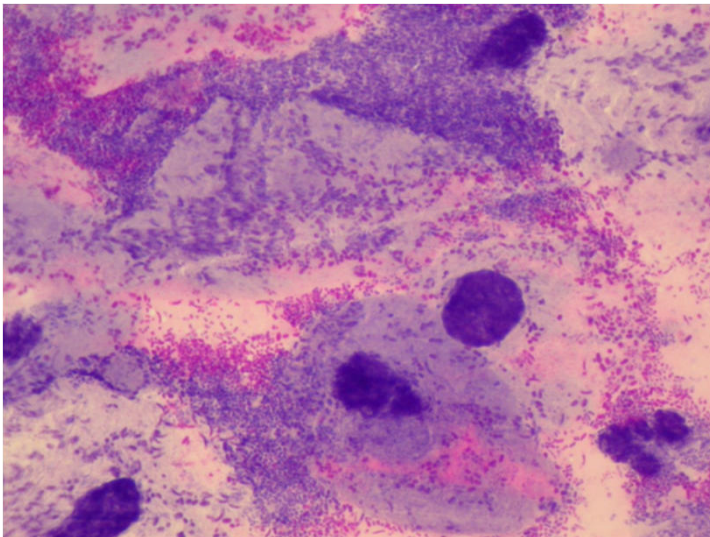


Petra Lysková © UPa

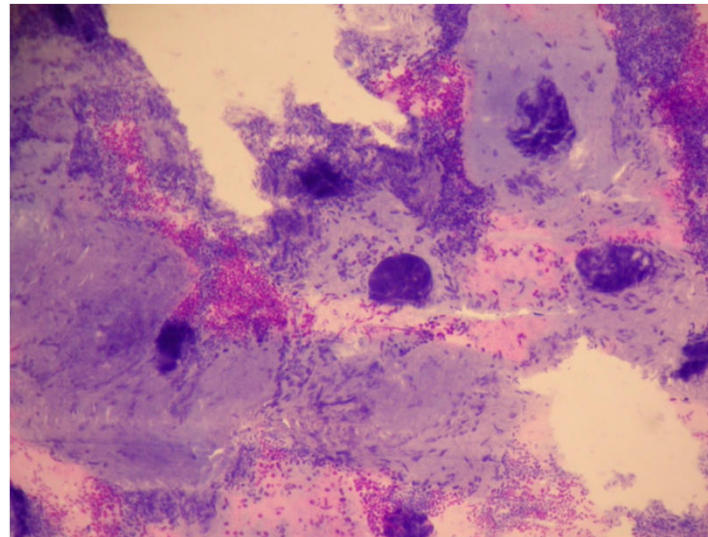


MOP II – Bakteriální vaginóza

- epitelie – klíčové buňky
- leukocyty
- množství tyčinkovité a kokovité bakteriální flóry



Petra Lysková © UPa

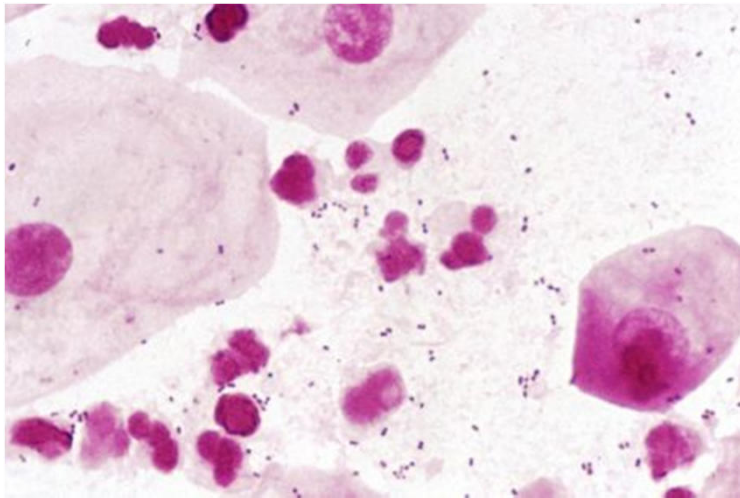


Petra Lysková © UPa

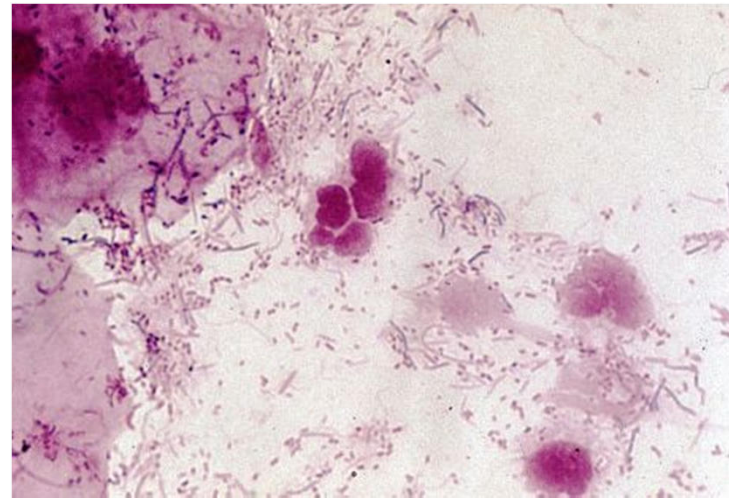


MOP III – Bakteriální vaginitida

- epitelie
- množství kulovitých, tyčinkovitých nebo rohlíčkovitě zahnutých i vláknitých mikrobů vně i uvnitř leukocytů



[14]

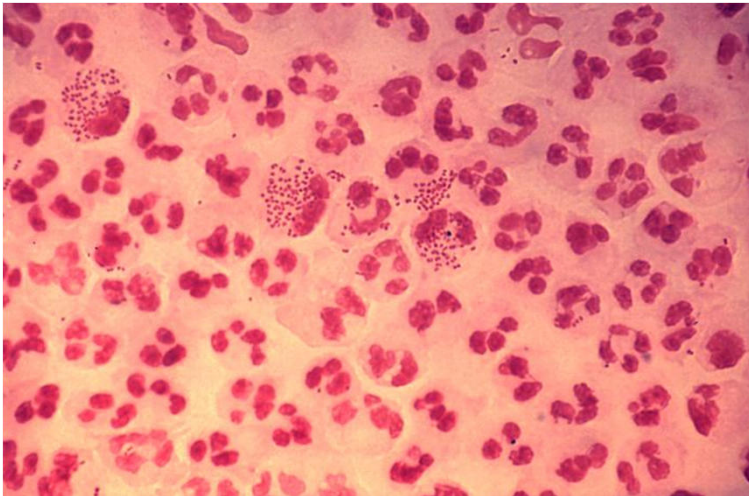


[15]

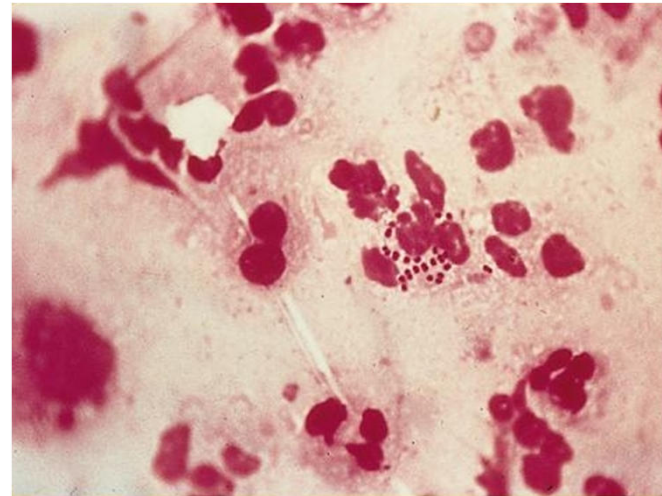


MOP IV – Kapavčitý výtok

- ojediněle epitelie
- leukocyty (s fagocytovanými diplokoky)
- diplokoky – *Neisseria gonorrhoeae*



[16]

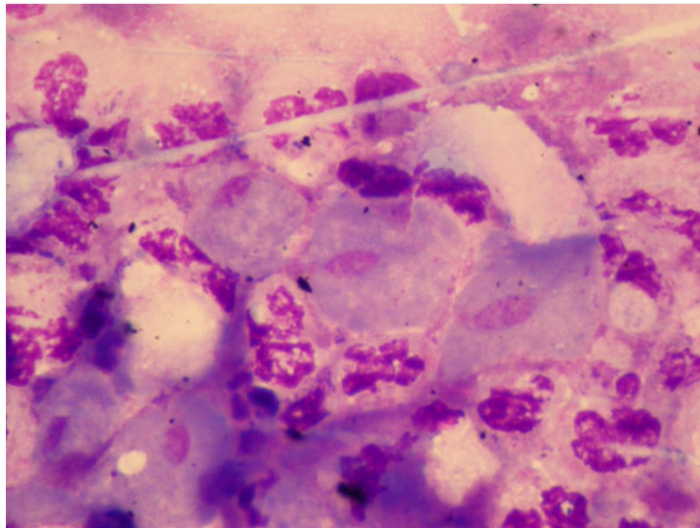


[17]

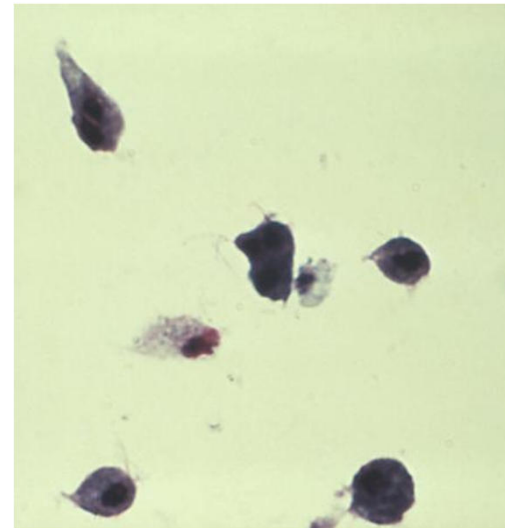


MOP V – Trichomonádový výtok

- epitelie
- leukocyty (s fagocytovanými MO)
- prvok – *Trichomonas vaginalis*
- množství tyčinkovité a kokovité bakteriální flóry



Petra Lysková © UPa



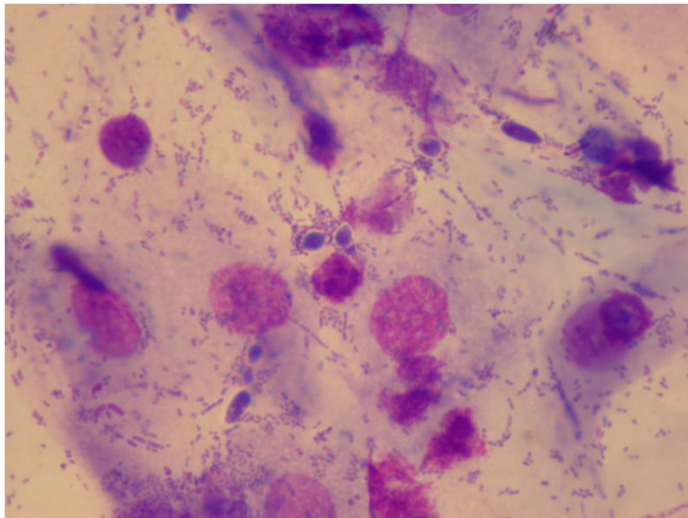
[18]

prvok
Trichomonas vaginalis

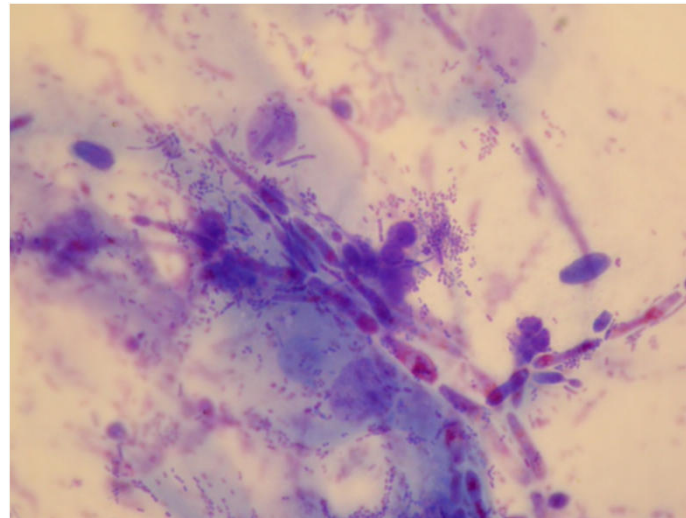


MOP VI – Vaginální mykóza

- epitelie
- leukocyty (s fagocytovanými MO)
- množství tyčinkovité a kokovité bakteriální flóry
- blastospory a pseudomycelia kvasinkovitých MO



Petra Lysková © UPa



Petra Lysková © UPa



ZDROJE OBRÁZKŮ

- [1] Marta Ferreira. Wikimedia Commons [online]. 2007 [cit. 2010-03-02]. File: 8 800px-Micrograph_of_Transformed_S.cerevisiae_%28with_GFP%29.jpg. Dostupné pod GFU Free Documentation License na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/04/Micrograph_of_Transformed_S.cerevisiae_%28with_GFP%29.jpg/800px-Micrograph_of_Transformed_S.cerevisiae_%28with_GFP%29.jpg.
- [2] Unknown photographer. Wikimedia Commons [online]. 2009 [cit. 2010-03-02]. File: 800px-Aspergillus_clavatus.jpg. Dostupné pod GFU Free Documentation License na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/73/Aspergillus_clavatus.jpg/800px-Aspergillus_clavatus.jpg.
- [3] Unknown photographer. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1986 [cit. 2011-08-03]. File: 5262_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/20031208/15dc7a2463b842c69afc2db6c07f7b9f/5262_lores.jpg.
- [4] Benedikt Seidl. Wikimedia Commons [online]. 2009 [cit. 2010-03-02]. File: 373px-Entleuchtete_Brennerflamme.svg.png. Dostupné pod licencí Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c1/Entleuchtete_Brennerflamme.svg/373px-Entleuchtete_Brennerflamme.svg.png.
- [5] David R. Caprette. Rice University [online]. 2009 [cit. 2010-03-02]. File: smear.gif. Dostupné na WWW: <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/bios318/smear.gif>.
- [6] Unknown photographer. Wikimedia Commons [online]. 2009 [cit. 2010-03-02]. File: s 617px-%D0%9A%D0%B0%D0%BF%D1%81%D1%83%D0%BB%D0%B0_Klebsiella_Pneumoniae.jpg. Dostupné na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e6/%D0%9A%D0%B0%D0%BF%D1%81%D1%83%D0%BB%D0%B0_Klebsiella_Pneumoniae.jpg/617px-%D0%9A%D0%B0%D0%BF%D1%81%D1%83%D0%BB%D0%B0_Klebsiella_Pneumoniae.jpg.
- [7] Gary Kaiser. The Community College of Baltimore County [online]. 2005 [cit. 2010-03-10]. File: u1fig9b.jpg. Dostupné na WWW: <http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab15/diseases/staphaureus/images/u1fig9b.jpg>.
- [8] Gary Kaiser. The Community College of Baltimore County [online]. 2009 [cit. 2010-01-16]. File: u1fig10b.jpg. Dostupné na WWW: <http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab16/diseases/nmeningitidis/images/u1fig10b.jpg>.



ZDROJE OBRÁZKŮ

- [9] Unknown photographer. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1980 [cit. 2010-03-17]. File: PHIL_2105_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/09122002/00006/PHIL_2105_lores.jpg.
- [10] Pier Larochelle. Wikimedia Commons [online]. 2007 [cit. 2010-04-7]. File: Clostridium_tetani2.JPG. Dostupné na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Clostridium_tetani2.JPG.
- [11] Roger Feldman. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1972 [cit. 2010-03-17]. File: 11226_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/11226/11226_lores.jpg.
- [12] Edwin P. Ewing. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1994 [cit. 2010-03-17]. File: PHIL_28_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/04072002/00004/PHIL_28_lores.jpg.
- [13] Blaine Mathison. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 2011 [cit. 2011-08-03]. File: 11821_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/11821/11821_lores.jpg.
- [14] Vladislav Holec. Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě [online]. 1999 [cit. 2010-03-17]. File: ompovabac19f.jpg. Dostupné na WWW: <http://www.zuova.cz/informace/pic/ompovabac19f.jpg>.
- [15] Vladislav Holec. Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě [online]. 1999 [cit. 2010-03-17]. File: ompovabac19g.jpg. Dostupné na WWW: <http://www.zuova.cz/informace/pic/ompovabac19g.jpg>.
- [16] Joe Millar. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1979 [cit. 2010-03-17]. File: Gonococcal_urethritis_PHIL_4085_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2e/Gonococcal_urethritis_PHIL_4085_lores.jpg.
- [17] Unknown photographer. Wikimedia Commons [online]. 2005 [cit. 2010-03-02]. File: SOA-gonorroe.jpg. Dostupné pod GFU Free Documentation License na WWW: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ec/SOA-gonorroe.jpg>.
- [18] Unknown photographer. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1986 [cit. 2011-08-03]. File: 5237_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/20031204/1f82705afb1d4a649921bbdb08a101b2/5237_lores.jpg.

