

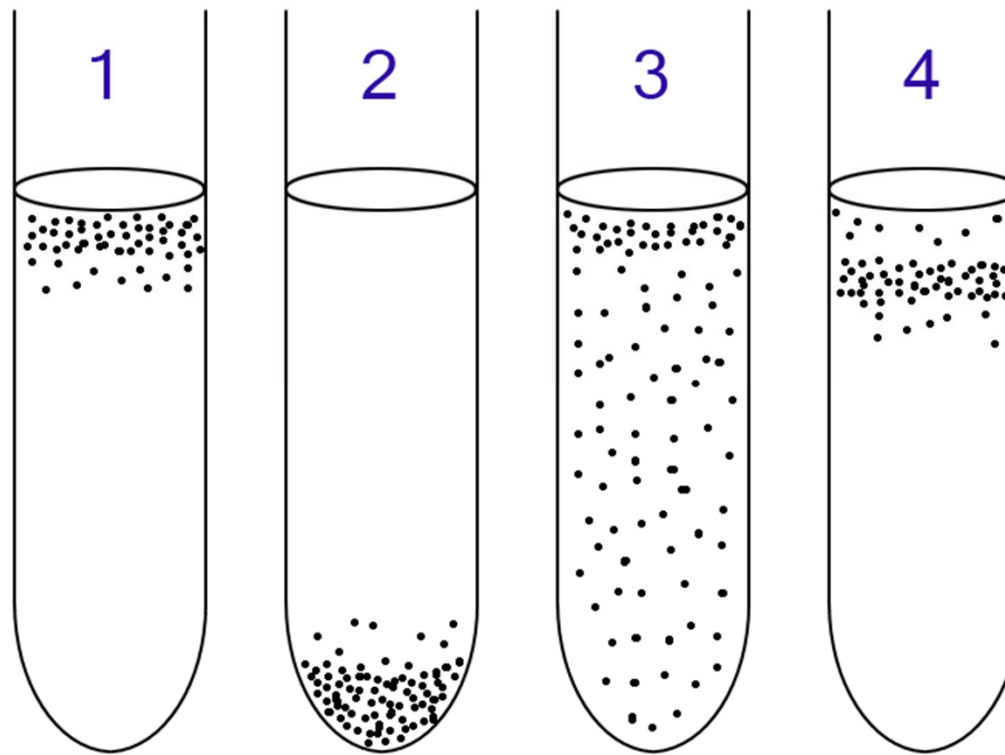


LABORATOŘ MIKROBIOLOGIE II

ROD *CLOSTRIDIUM*

Petra Lysková

MO PODLE VZTAHU K O₂



[1]

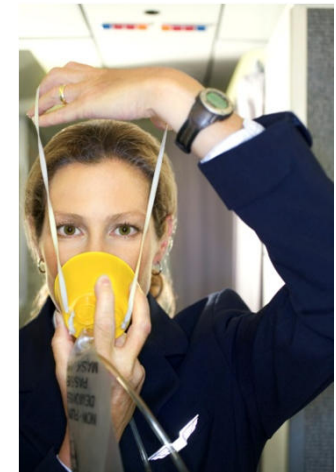
1 obligátně aerobní
2 obligátně anaerobní

3 fakultativně anaerobní
4 mikroaerofilní



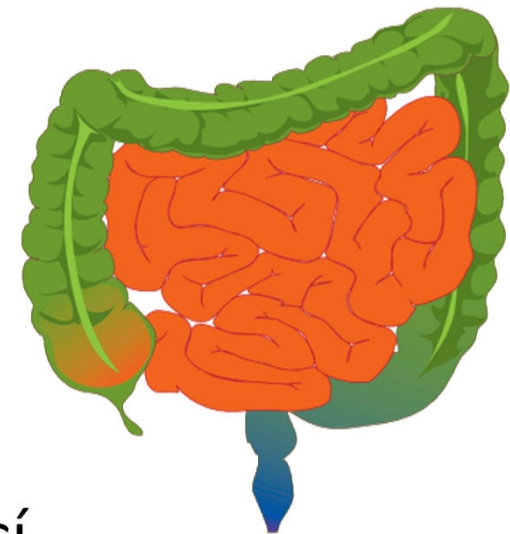
OXIDOREDUKČNÍ POTENCIÁL

- poměr mezi oxidovanými a redukovanými látkami v prostředí
- regulace funkcí některých enzymů
- běžné kultivační půdy vystavené O_2 mají redox potenciál kolem 200 mV
- anaeroby vyžadují redukované prostředí – redox potenciál kolem 0 mV až negativní



KDE ANAEROBY HLEDAT?

- lokality s nízkým redox potenciálem
 - tenké střevo ~ - 100 mV
 - tlusté střevo ~ - 200 až - 300 mV
 - pochva, ústní dutina ~ - 300 mV
- mohou být zdrojem endogenních infekcí
- ! hluboká uzavřená poranění, pokousání, zhmoždění a další



[2]



ODBĚR VZORKŮ

- materiálu je potřeba odebrat co nejvíce
- nejvhodnější k tomuto účelu je injekční stříkačka, ze které se vytlačí vzduch
- na stříkačce se ponechá jehla, na kterou se nasadí plastový kryt
- v ideálním případě se na jehlu napíchne sterilní gumová zátka



ODBĚR VZORKŮ

- pro odběr tkáně je možné použít sterilní zkumavku naplněnou inertním plynem
- v některých vyhraněných případech, kde nelze odebrat dostatečné množství materiálu - odběr přímo na kultivační půdy u lůžka nemocného nebo na operačním sále
- pracovník naočkuje speciální kultivační půdy a okamžitě je uzavře do anaerostatu



KULTIVAČNÍ MÉDIA

- obohacené o redukující látky
- tekuté půdy bývají vysoko nalité
- VL bujon – obsahuje trypticky natrávenou svalovinu, kvasnicový extrakt, cystein a glukosu
- VF bujon – obsahuje pepticky natrávené kousky masa a jater
- Schaedler bujon, Wilkins-Chalgren bujon

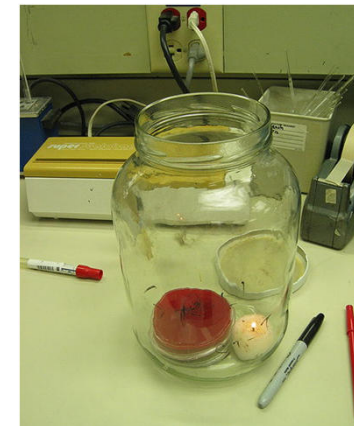


[3]



INKUBAČNÍ PODMÍNKY

- anaerobní kultivace
 - vysoké vrstvy půd v úzkých zkumavkách
 - 1916 – skleněné nádoby s víčkem s odsávacím ventilem
 - 1928 – Fortnerova plotna
 - různé typy anaerostatů
 - dnes termostaty s regulovanou atmosférou
- nejčastěji používané koncentrace plynů
 - 80 % N_2 + 10 % CO_2 + 10 % H_2
 - 100 % CO_2



[4]



CLOSTRIDIUM BOTULINUM

- G+, rovné, pohyblivé tyčinky
- spory oválné, subterminální
- spory vydouvají tyčinku
- spory jsou středně termorezistentní [5]
- *C. botulinum* - 4 skupiny
 - 1. skupina – proteolytické kmeny, botulotoxin A, B a F
 - 2. skupina – sacharolytické kmeny, botulotoxin E, B a F
 - 3. skupina – botulotoxin C a D
 - 4. skupina – proteolytické kmeny, botulotoxin G



[6]



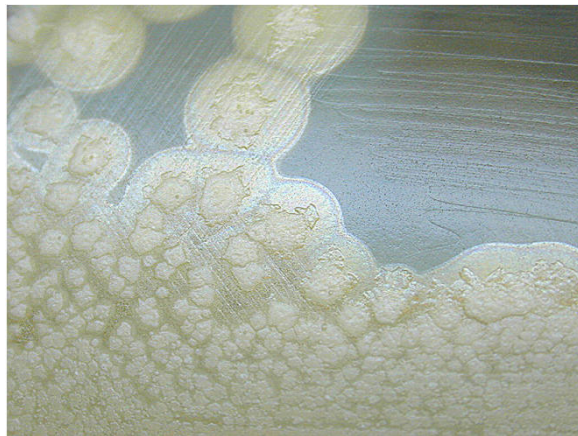
CLOSTRIDIUM BOTULINUM

- diagnostika se opírá hlavně o průkaz toxinu
- materiál: sérum, zvratky, výplach žaludku a střeva, potraviny, krmivo ...
- rychlý transport za chladu
- kultivace – KA pro anaeroby
- biochemická typizace – proteolytické a sacharolytické kmeny, lipasová aktivita
- průkaz toxinu biologickým pokusem na myškách
- typizace toxinu neutralizačním testem

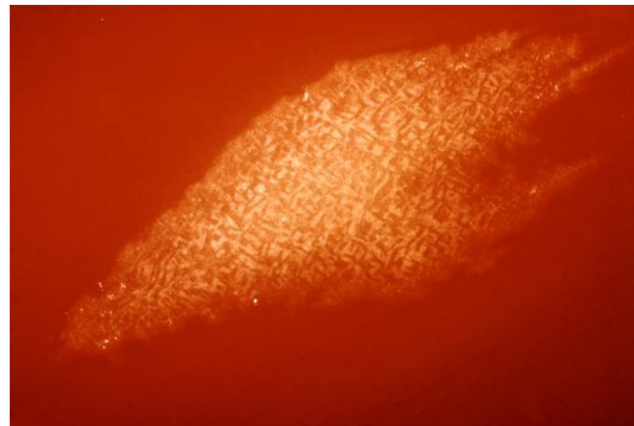


CLOSTRIDIUM BOTULINUM

- na KA pro anaeroby – bělavé, okrouhlé kolonie obklopené zónou úplné hemolýzy (u všech typů)
- všechny typy až na typ G produkují lipasu
- proteolytické typy hydrolyzují želatinu



[7]

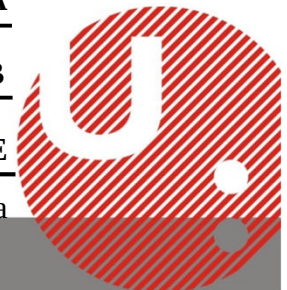
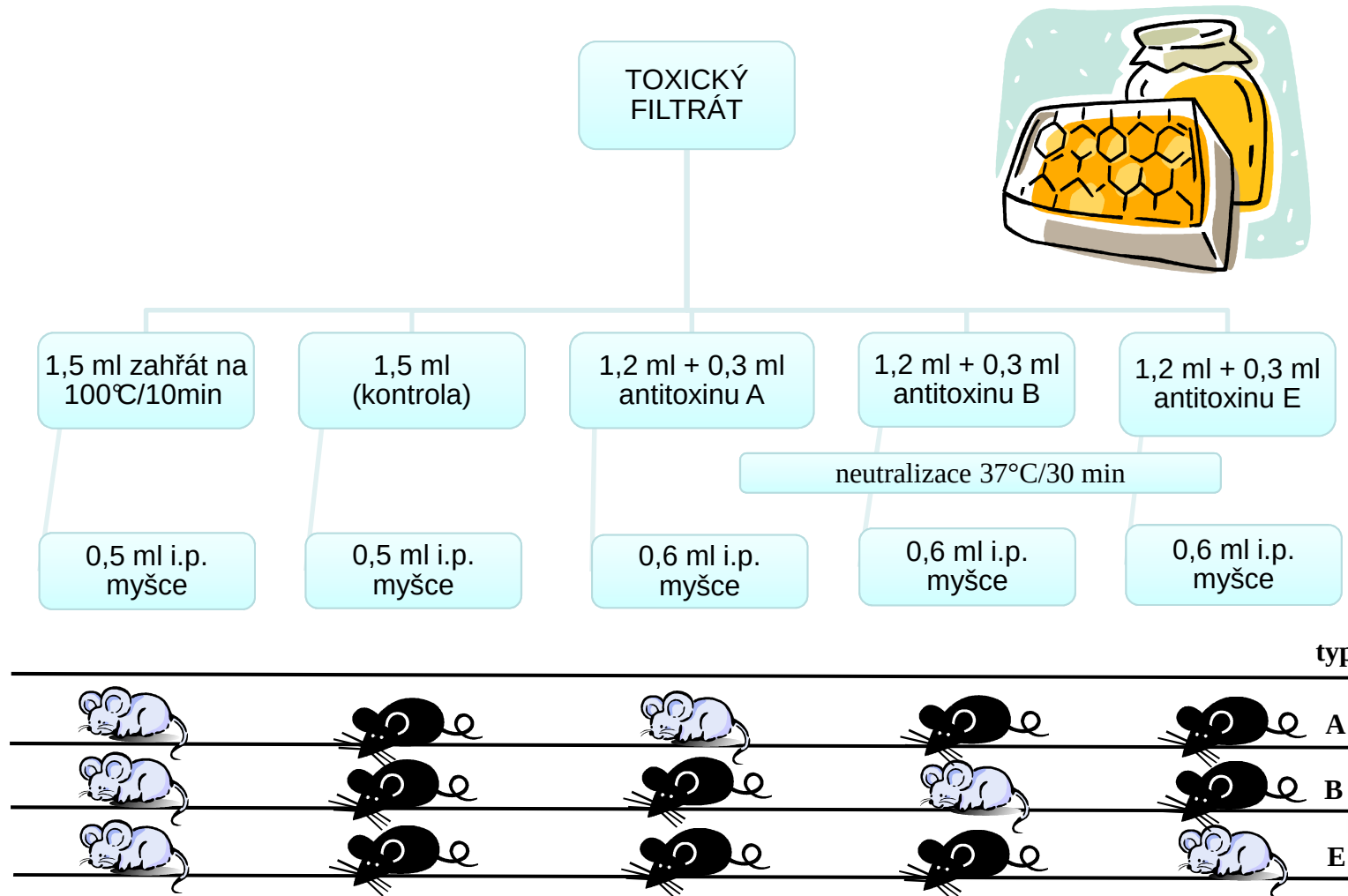


[8]

C. botulinum na Agar s vaječným žloutkem a na Krevním agaru pro anaeroby



CLOSTRIDIUM BOTULINUM

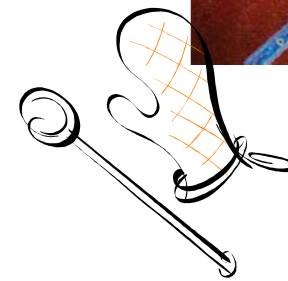


CLOSTRIDIUM TETANI

- součást normální flory střeva savců, hlavně koní
- G+, štíhlé tyčinky, pohyblivé
- spory kulaté, terminální, vydouvají tyčinku
- vegetativní buňky antigenně jednotné
- toxin má tři složky
 - tetanospasmin – vlastní neurotoxin, 1 antigenní typ
 - tetanolysin – dermonekrotické a leukocidní účinky
 - enzym reninového účinku



[9]



CLOSTRIDIUM TETANI

- diagnostika - klinický obraz, anamnéza
- mikrobiolog jen potvrzuje a hledá zdroj spor
- materiál: excize z rány, seškrab z její spodiny
- mikroskopicky - barvení dle Grama, IF
- průkaz tetanotoxinu přímým nebo neutralizačním pokusem na myších



[10]

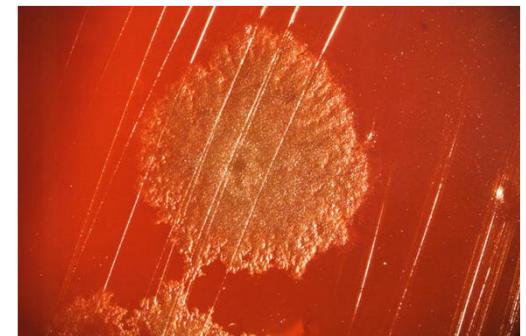


[11]



CLOSTRIDIUM TETANI

- dobře se kultivuje
- na půdě s 2 % agaru a krví roste v jemném povlášku, pod kterým je nevýrazná hemolýza
- na půdě s vyšším obsahem agaru roste v transparentních, laločnatých koloniích
- želatinu hydrolyzuje pomalu, štěpí glukosu

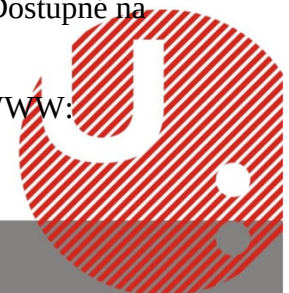


[12]



ZDROJE OBRÁZKŮ

- [1] Unknown photographer. Wikimedia Commons [online]. 2007 [cit. 2009-07-09]. File: 800px-Anaerobic.png. Volně dostupné na WWW: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/90/Anaerobic.png/800px-Anaerobic.png>.
- [2] Mikael Häggström. Wikimedia Commons [online]. 2008 [cit. 2010-04-7]. File: Intestine.gif. Dostupné na WWW: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c4/Intestine.gif>.
- [3] Copan Diagnostics Inc. [online]. 2011 [cit. 2011-08-02]. File: 114.png. Dostupné na WWW: <http://www.copanusa.com/media/images/amies/114.png>.
- [4] Unknown photographer. Wikimedia Commons [online]. 2005 [cit. 2010-04-7]. File: 450px-Anaerobic_chamber.JPG. Dostupné pod licencí Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/72/Anaerobic_chamber.JPG/450px-Anaerobic_chamber.JPG.
- [5] Hermann Sondermann. Wikimedia Commons [online]. 1879 [cit. 2010-04-07]. File: Hermann_Sondermann_Familie_mit_Frau_am_Spinnrad_detail.jpg. Volně dostupné na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/04/Hermann_Sondermann_Familie_mit_Frau_am_Spinnrad_detail.jpg.
- [6] Dennis Kunkel. Dennis Kunkel Microscopy [online]. 2008 [cit. 2010-04-07]. File: 97184phtA.jpg. Dostupné na WWW: http://denniskunkel.com/images/StockImages/Images_04/97184phtA.jpg.
- [7] Larry Stauffer. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 2002 [cit. 2010-04-07]. File: PHIL_1930_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/03262002/00008/PHIL_1930_lores.jpg.
- [8] Holdeman. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1965 [cit. 2010-04-07]. File: PHIL_3869_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/phil_images/20030602/1/PHIL_3869_lores.jpg.
- [9] 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.



ZDROJE OBRÁZKŮ

- [10] Charles Bell. Wikimedia Commons [online]. 1809 [cit. 2010-04-7]. File: Opisthotonus_in_a_patient_suffering_from_tetanus_-_Painting_by_Sir_Charles_Bell_-_1809.jpg. Dostupné na WWW: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d8/Opisthotonus_in_a_patient_suffering_from_tetanus_-_Painting_by_Sir_Charles_Bell_-_1809.jpg.
- [11] Unknown photographer. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1995 [cit 2010-04-07]. File: 6374_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/20041014/19f02a819c8f4352804bc5abdd820c0/6374_lores.jpg.
- [12] Holdeman. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 1965 [cit 2010-04-07]. File: 12050_lores.jpg. Dostupné na WWW: http://phil.cdc.gov/PHIL/Images/12050/12050_lores.jpg.

