

Mikrobiológia praktické cvičenie – 12. týždeň

Anaeróbne infekcie – laboratórna diagnostika

Princípy anaeróbnej kultivácie

Odber materiálu

Na anaeróbnú kultiváciu sa odoberá tekutý materiál, prípadne excízia tkaniva, materiál sa umiestni do hermeticky uzatvorenej nádoby (striekačka s ihlou zapichnutou do korku, špeciálna skúmavka s anaeróbnou atmosférou, prípadne do Amiesovho média s aktívnym uhlím tak, aby nedošlo k styku odobratého materiálu s kyslíkom. Typ materiálu sa vyznačí na skúmavke. Odobratý materiál sa transportuje v transportnom systéme pri teplote 4°C. Doba prežívania anaeróbných baktérií pri správnom odbere a transporte je 24 hodín. Pri kontakte s kyslíkom maximálne 40 minút.



Obr. 69. Anaeróbne transportné médium.

<http://www.calgarylabservices.com/files/LabTests/MicrobiologyContainers/Anaerobe.gif>

Kultivácia

Materiál určený na anaeróbnú kultiváciu sa očkuje sa na VL agar (Veillonov) a na VL agar s antibiotikami. Používajú sa vysoko naliate pôdy, ktoré obsahujú redukujúce látky, znižujúce oxidačno-redukčný potenciál kultivačného média. Anaeróby rastú pri záporných hodnotách redox potenciálu, keď v prostredí prevládajú redukované látky. VL agar obsahuje nutričné zložky - mäsový extrakt a peptón. Kvasničný autolyzát a L-cystein poskytujú potrebný aminodusík, rastový uhlík pre metabolizmus baktérií. Kvasničný autolyzát je súčasne zdrojom vitamínov radu B. Chlorid sodný vytvára osmotické prostredie, glukóza je fermentovateľným cukrom a zdrojom energie. Inkubuje sa pri 37°C v anaeróbnej atmosfére. Výsledok sa odčítava po 24 až 48 hodinách, prípadne denne počas 5 dní. Pomnožovacou pôdou je VL bujón, ktorý sa po 48 hodinách vyočkuje na VL agar. VL bujón sa pred použitím musí regenerovať varom, vo vodnom kúpeli, aby sa odstránil prebytočný O₂.



Obr. 70. Systém pre anaeróbnú kultiváciu.

<http://extww02a.cardinal.com/us/en/distributedproducts/ASP/J3078-10.asp?cat=laboratory>

Anaeróbne materiály je potrebné kultivovať v anaeróbnom prostredí (ANAEROSTAT – **chemická metóda** na dosiahnutie anaeróbného prostredia). Nádoba obsahuje držiak na skúmavky, chemickú látku na vytvorenie anaeróbnej atmosféry, katalyzátor a indikátor anaeróbného prostredia. Celá nádoba sa vloží do termostatu a kultivuje sa 48 hod.



Obr. 71. Anaerostat – chemická metóda anaeróbnej kultivácie.

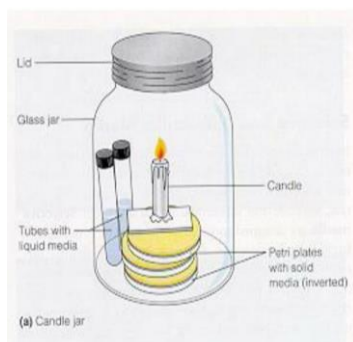
http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/i_nurse/classes_stud/en/ADN%20Program/Freshmen%20year/Fall%20semester/Microbiology/4_TYPES%20OF%20BACTERIAL%20RESPIRATION.htm

Biologický spôsob odstránenia kyslíka z prostredia sa vykonáva pomocou kmeňa *Serratia marcescens*.

Biologická metóda

- Polovica povrchu pevnej pôdy v Petriho miske sa naočkuje vzorkou a druhá polovica baktériou *Serratia marcescens*, ktorá spotrebovaním kyslíka vytvára anaeróbne prostredie. Okraje sa misky sa zalejú parafínom a kultivuje sa v aeróbnom prostredí.

Fyzikálny spôsob zabezpečenia anaeróbného prostredia je možné navodiť odsatím vzduchu a jeho nahradením dusíkom, CO₂, alebo ich zmesou, prípadne je možné použiť **sviečkový exikátor**.



Sviečkový exikátor.

Zdroje:

Kompaníková Jana, Elena Nováková, Martina Neuschlová: Mikrobiológia nielen pre medikov - 2. upravené a doplnené vydanie. Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych disciplín :: Portál Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského [online] , [cit. 01. 05. 2020]. Dostupný z WWW: <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=398>. ISSN 1337-7396.

https://uniba.sk/fileadmin/jlf/Pracoviska/ustav-mikrobiologie-a-imunologie/Slov_Praktika_LS/Mikrobiologia_1/prakt_cv_12_anaeroby.pdf