

Fyzikální a chemické prostředky kontroly růstu bakterií

Dezinfekce a sterilizace

- ▶ Mikrobicidní x mikrobistatický účinek
- ▶ **Dezinfekce** – ničení či zneškodňování patogenních mikroorganismů na neživých předmětech, ve vnějším prostředí a v infekčním materiálu. Cílem je učinit předměty/prostředí **neinfekční**
- ▶ **Antisepse** – zneškodňování patogenních zárodků v prostředí živých tkání, v ranách, na sliznicích a na kůži. Stačí bakteriostatické působení
- ▶ **Asepsa** – souhrn opatření vedoucích ke stavu, kdy je v prostředí minimum mikroorganismů. Cílem je zabránit přístupu mikroorganismů k živým tkáním při operacích. Také laboratorní a výrobní metody u nichž je snaha zabránit mikrobiální kontaminaci
- ▶ **Sterilizace** – zničení všech živých mikroorganismů, včetně spor

Fyzikální metody sterilizace

▶ Vlhké teplo

přerušovaná sterilizace – varem po dobu 30 min v 18-24h intervalech tři dny po sobě
tyndalizace – bílkoviny, ve vodní lázni na 56-58°C, 30-60 min, 3 dny
vodní pára pod tlakem – 100kPa, 120°C, 20-30 min

▶ Suché teplo

otevřený plamen
horkovzdušná sterilizace – sklo, kovy, 160°C 60 min/180°C 20 min

▶ Filtrace

slouží k odstranění bakterií z tekutin – azbestové, skleněné, membránové filtry

▶ Sterilizace zářením

UV – ideálně 254 nm, germicidní lampy, boxy, operační sály
ionizující záření – penetruje, ale nezahřívá předmět, zdroj γ záření je obvykle radioaktivní kobalt

Chemické prostředky

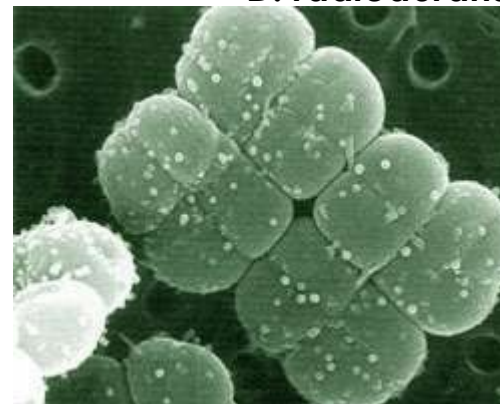
- ▶ **Kritéria:** široké spektrum účinku, nevzniká rezistence, netoxické, rychlé, afinita k MO, inertní k předmětu, stálý účinek za různých podmínek
 - ▶ **Mechanismus účinku:** přímo poškozují strukturu MO nebo narušují jejich základní metabolické procesy
-
- ▶ Zásady a kyseliny
 - ▶ Oxidační prostředky (H₂O₂)
 - ▶ Sloučeniny halogenů
(Chloramin B, jodová tinktura)
 - ▶ Sloučeniny těžkých kovů (Famosept, Thiomersal)
 - ▶ Alkoholy (etanol, etylenoxid)
 - ▶ Fenolové deriváty (krezoly, Lysol)
 - ▶ Povrchové aktivní látky (Ajatin, Septonex)

Zajímavosti

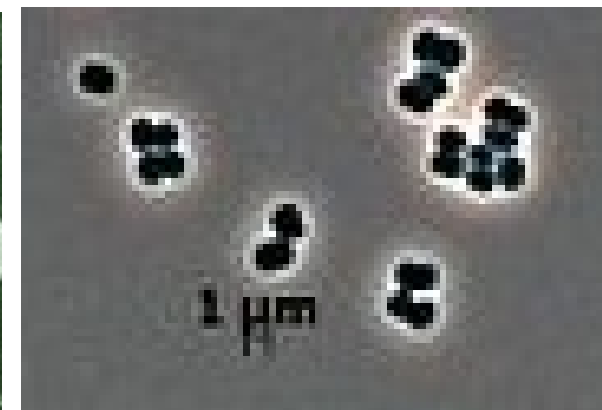


- ▶ Antimikrobiální účinek vína, piva a líhovin
- ▶ „Superbugs“
- ▶ *Deinococcus radiodurans* – přežije 1000 násobní ozáření než jaké zabije lidi
- ▶ *Tersicoccus phoenicis* – byl na Marsu?
- ▶ <http://www.scientificamerican.com/article/bacteria-discovered-spacecraft-clean-rooms/>
- ▶ <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.047134-0>
- ▶ Project PROTECT
- ▶ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3371261/>

D. radiodurans



T. phoenicis

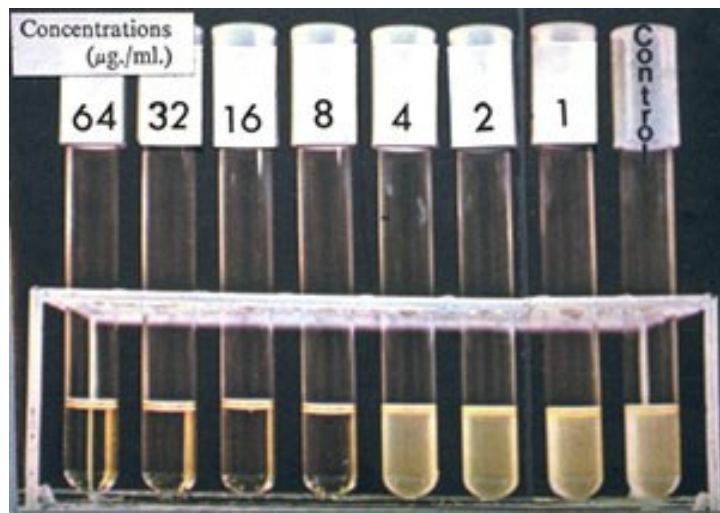


Práce ve cvičení

- ▶ Testování účinku vybraných fyzikálních a chemických prostředků pro kontrolu růstu MO
- ▶ Stanovení účinnosti v závislosti na době kontaktu, koncentraci

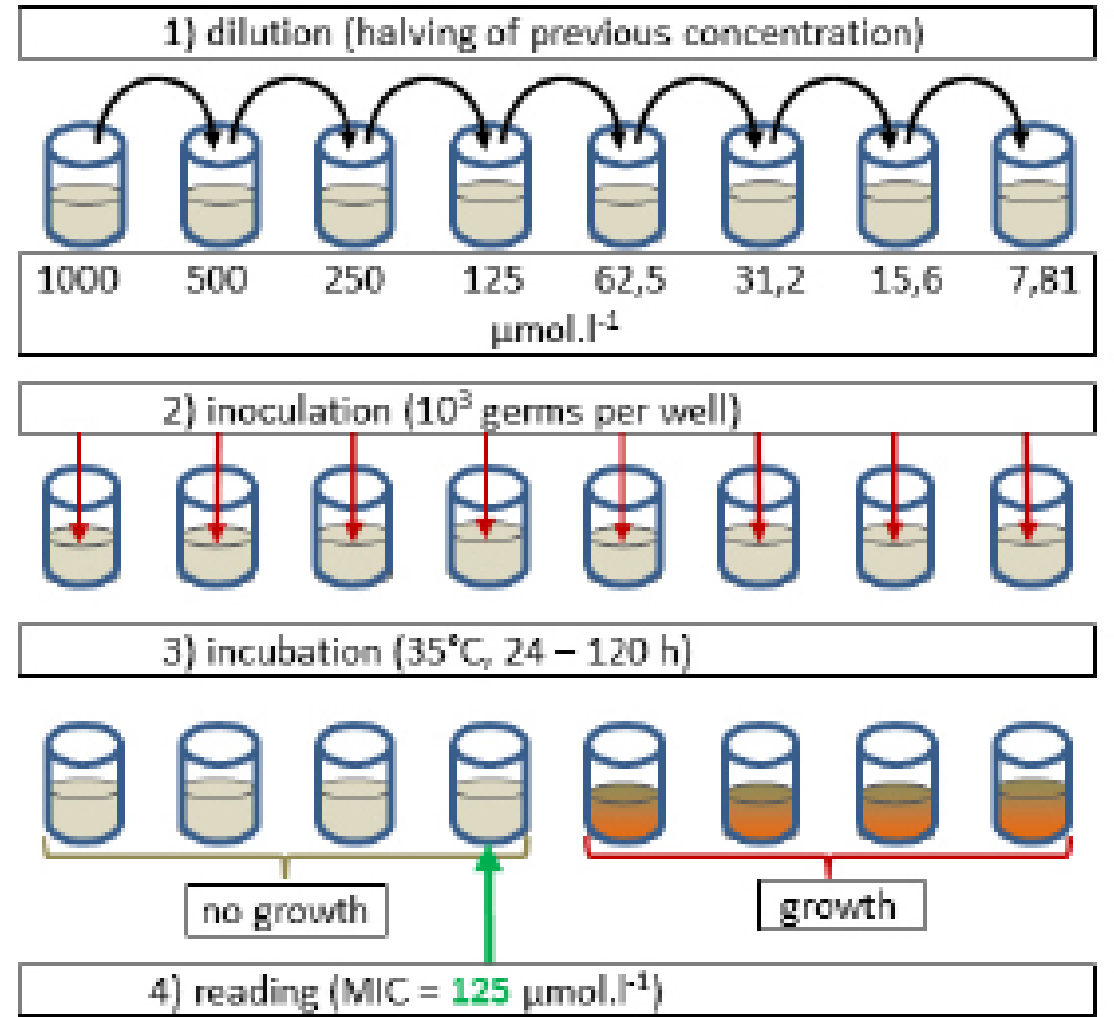
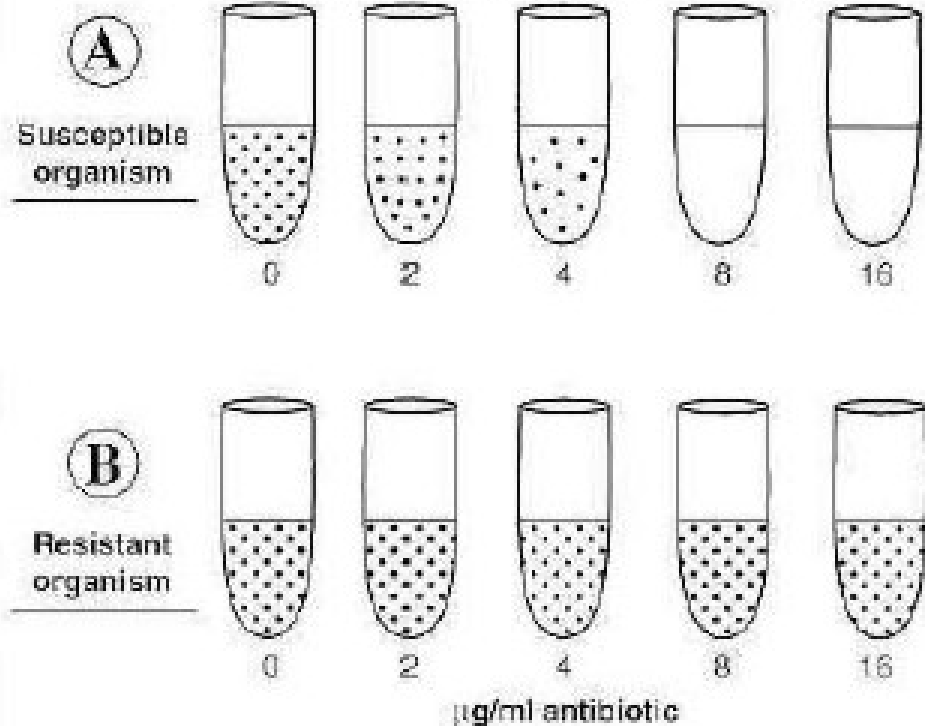
Vliv koncentrace – stanovení minimální inhibiční koncentrace ředící metodou

- ▶ 6 zkumavek (5 na ředící řadu, 1 na kontrolu)
- ▶ **Kontrolní zkumavka– jen 2 ml MPB**, žádná dezinfekce (kontrola růstu)
- ▶ Do první zkumavky roztok v 2 ml MPB: **2% roztok Inciduru** (40 µl a 1960 µl bujonu) nebo **3% roztok Sava** (60 µl a 1940 µl bujonu)
- ▶ Do dalších 4 zkumavek napipetovat **1 ml MPB**
- ▶ **Ředící řada** - z 1. zkumavky odebrat **1 ml a přenést do následující zkumavky**, promíchat, odebrat 1 ml a přenést do další zkumavky atd. Z 5. zkumavky odebrat 1 ml a vypustit do odpadu (všude bude 1 ml)
- ▶ **Poté do všech 6 zkumavek naočkovat 50 µl bakteriální kultury**
- ▶ Inkubovat 24h, 37°C



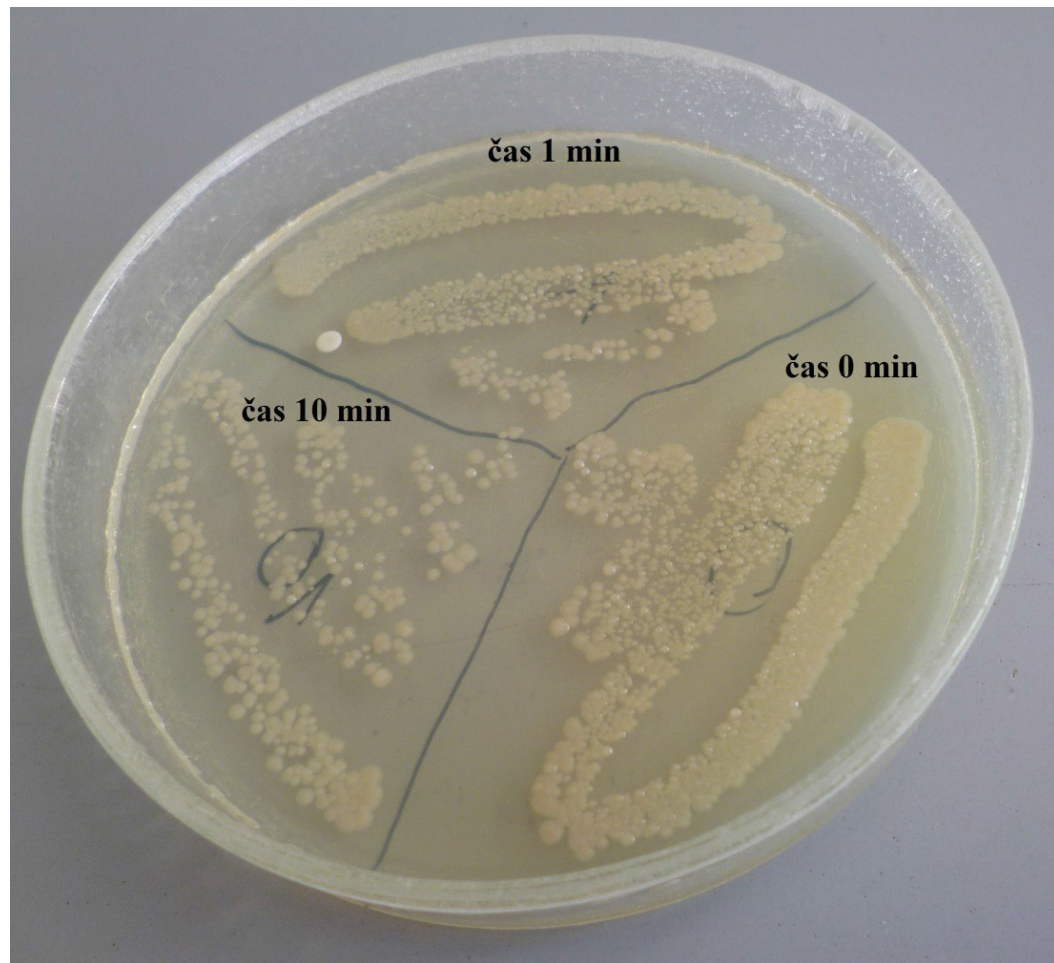
Antibiotic susceptibility tests

Minimum inhibitory concentration test



Vliv doby kontaktu

- ▶ Do sterilní zkumavky připravit **desinfekční prostředek** v koncentraci doporučené výrobcem
 - ▶ **Incidur** - 0,5%; celkový objem 5 ml: 4 975 µl vody + 25 µl prostředku
 - ▶ **Savo** – 3,33% roztok (100 ml do 3l), 4834 µl vody + 167 µl Sava
 - ▶ **Ajatin** – 1% roztok: 4950 µl vody + 50 µl Ajatinu
- ▶ Misku s MPA rozdělit na 3 části (**0 min, 1 min, 10 min**)
- ▶ Do zkumavky s desinfekčním prostředkem **ASEPTICKY** přidat **500 µl bakteriální kultury**. Protřepat.
- ▶ **V časových intervalech 0 min, 1 min a 10 min** rozetřít hádka vatovou tyčinkou do příslušných částí misky
- ▶ Inkubovat 24h na 37°C



Vliv UV záření

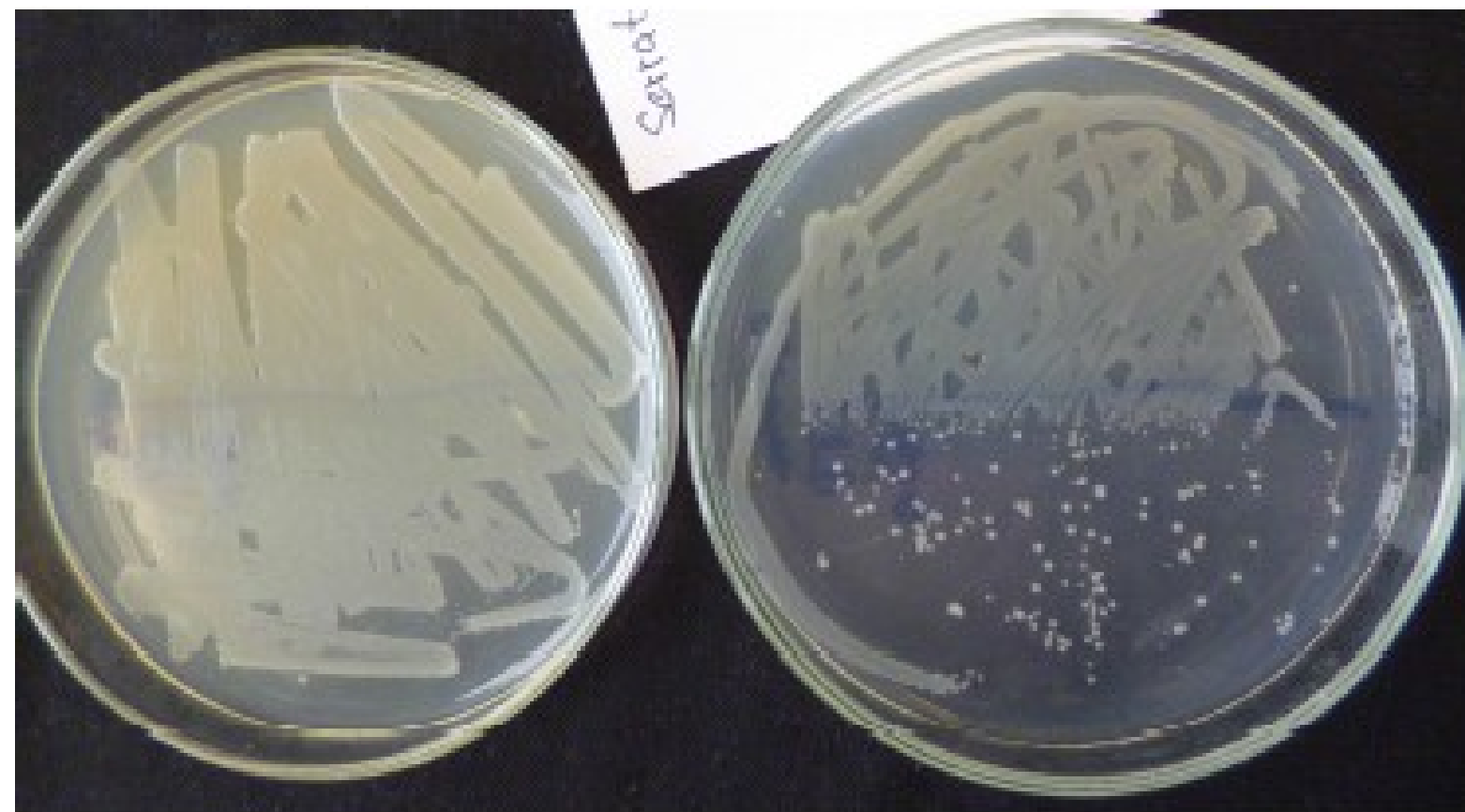
Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus

- ▶ **Vatovou tyčinkou rozetřít kulturu po celém povrchu agaru** (4 misky s MPA)
- ▶ Jedna miska se neozařuje a slouží jako kontrola.
- ▶ 3 misky **rozdělit na poloviny**, umístit do boxu s UV lampou a odklopit víčko. **Polovinu misky zakrýt** alobalem.
- ▶ **První misku ozařovat 10 s, druhou 30 s a poslední 60 s.**
- ▶ Inkubovat 24h, 37 °C

Vliv UV

20 a 60 s

60 s



Hodnocení

- ▶ **Vliv doby kontaktu** – Porovnat hustotu nárůstu – má/nemá na dezinfekci vliv doba působení?
- ▶ **Vliv koncentrace** – Ve které zkumavce (koncentraci) je již znatelný růst?
- ▶ **Vliv UV** – Při jaké době ozařování je znatelný úbytek kultury?