

Jméno \_\_\_\_\_ Kruh \_\_\_\_\_ Datum \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . 2008

**Téma P07: Diagnostika anaerobních bakterií**

Ke studiu: *Clostridium*; nesporeující anaeroby (učebnice, WWW atd.)

Z jarního semestru: Mikroskopie, kultivace, biochemická identifikace, pokus na zvířeti, neutralizace

**Tabulka pro hlavní výsledky úkolů 1 až 4 (k postupnému vyplnění):**

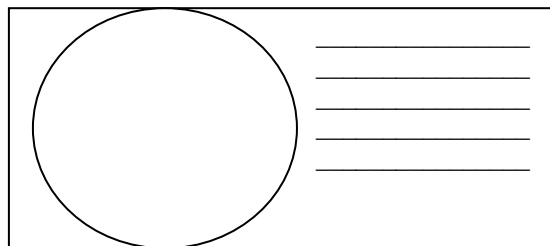
Kmen	A	B	C	D
Gramovo barvení – Úkol 1b (včetně případných údajů o tvorbě spor)				
Kultivace: úkol 3	Krevní (“KA”) Růst A/N			
	VL agar (“VLA”) Růst A/N			
	VL bujón Růst A/N			
	Popis kolonií na KA/VLA*			
<b>KONEČNÝ ZÁVĚR (výsledek Úkolu 4 – AnaeroTest, nebo, u ne-anaerobů, výsledky předchozích testů)</b>				

\*Použijte VLA (VL agar) u bakterií, které nerostou na krevním agaru

**Úkol 1: Mikroskopie klinického vzorku a mikroskopie kmene**

**a) Prohlídka klinického vzorku**

Prohlédněte si Gramem barvený preparát. Pravděpodobně najdete směs různých bakterií, jak je to u anaerobních infekcí typické: za infekci nemůže jeden patogen, ale směs patogenů. Vedle bakterií můžete vidět leukocyty (zejména polymorfonukleary), případně epitelie, tkáňovou drť a tak dále. Nezapomeňte obrázek **popsat** (použijte čáry)!



**b) Mikroskopie podezřelých kmenů**

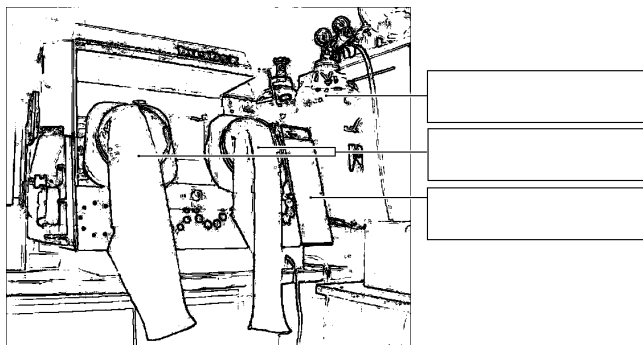
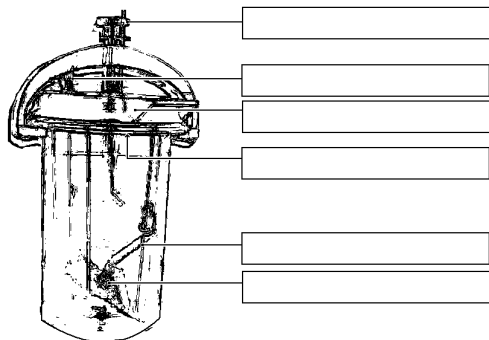
Anaerobní bakterie mohou být koky i tyčinky, grampozitivní i gramnegativní; v tom se neliší od jiných bakterií. Bývají ale pleomorfnější. U rodu *Clostridium* je přítomnost a pozice endospor užívána jako významný diagnostický znak. Pokuste se u jednoho z vašich kmenů (robustní G+ tyčinky) endospory najít.

**Úkol 2: Anaerostat a anaerobní box**

K získání anaerobiózy používáme v naší laboratoři tři způsoby:

- a) pro tekuté půdy se jako bariéra médium/atmosféra používá **parafinový olej** (není dokonalé)
- b) pevné půdy dáváme do **anaerostatu**, kde je kyslík chemicky nahrazen směsí plynů
- c) pevné půdy lze také umístit do **anaerobního boxu**; anaerobní atmosféra je vhnána z bomby.

Vepište do obrázků svůj popis (anaerostat uvidíte doopravdy a spolu s anaerobním boxem také na obrázku).



Jméno \_\_\_\_\_ Kruh \_\_\_\_\_ Datum \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . 2008

**Úkol 3: Kultivace na agarových půdách**

Popište kultivační výsledky daných kmenů na aerobních i anaerobních půdách.

**a) Aerobní kultivace na krevním agaru (KA)**

Napište, zda bakterie rostou či nikoli, případně též popište jejich kolonie.

**b) Anaerobní kultivace na VL agaru (VL krevním agaru)**

VL (krevní) agar je podobný krevnímu agaru, ale má snížený redoxní potenciál a kultivuje se v anaerostatu či anaerobním boxu. Napište, které kmeny zde rostou a ty, které nerostly na KA, popište.

**c) Pomnožení anaerobů ve VL bujónu**

VL bujón se používá pro pomnožení málo početných anaerobních bakterií. Zkontrolujte přítomnost zákalu (růstu) ve VL bujónu a porovnejte s výsledky části b).

**Úkol 4: Druhá diagnostika anaerobů biochemickými testy**

U kmenů určených jako anaeroby použijeme biochemický mikrotest (ANAEROTest 23 Lachema) naočkovaný o dva dny dříve. Odečtete podle schématu. Pozor, kódová kniha má tentokrát čtyři části, musíte tedy najít správnou část dle výsledků mikroskopie. Výsledky sloupců „B“ a „A“ se neuapočítávají, získáte tedy šestimístný kód za sloupce H až C.

Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A	Kód:
	1								Identifikace:
	2								% pravděpodobn.:
	4								Index typičnosti:
Kód									
Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A	Kód:
	1								Identifikace:
	2								% pravděpodobn.:
	4								Index typičnosti:
Kód									

Notes:

**Úkol 5 Citlivost anaerobů na antibiotika**

Na stole naleznete difusní diskové testy citlivosti na antibiotika u kmenů, které jste určili jako G- koky a které patří k patogenním druhům. Do tabulky dopište zkratky antibiotik dle přiložené kartičky a pro všechny testované kmeny změřte zóny citlivosti. Na kartičce máte napsány hraniční zóny – podle nich interpretujte zóny vámi zjištěné jako citlivé (C), rezistentní (R) a dubiózní (D).

Kmen →				
Antibiotikum (celé jméno)	Ø zóny (mm)	Interpr.	Ø zóny (mm)	Interpr.

Jméno \_\_\_\_\_ Kruh \_\_\_\_\_ Datum \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . 2008

**Kontrolní otázky:**

1. Kde se v lidském těle vyskytují za fyziologických podmínek anaerobní bakterie? Jak se dostávají do jiných tkání, kde pak způsobují záněty?
2. Jaké jsou principy odběru a transportu vzorku při podezření na anaerobní infekce?
3. Které anaerobní bakterie zpravidla nacházíme v ústní dutině a které se zde mohou podílet na patologických procesech?
4. Jmenujte alespoň tři antibiotika vhodná k léčbě anaerobních infekcí