

Jméno:

Kruh:

Datum:

Orální mikrobiologie III - biofilm

Úkol č. 1: Nátěr zubního plaku, mikroskopie

Podle pokynů vyučujícího zhotovte fixované preparáty zubního plaku - sterilní špachtlí setřete zubní plak. Natřete na podložní sklo, fixujte v alkoholu a obarvěte podle Grama. Pozorujte imerzním objektivem zvětšujícím 100× (celkové zvětšení tedy zpravidla 1000×).

Výsledky pozorování zakreslete (všimněte si tvaru a barvy přítomných bakterií).

Úkol č. 2: Nátěr mikroflóry dutiny ústní, mikroskopie

Podle pokynů vyučujícího zhotovte fixované preparáty stěrů z bukalní sliznice či hřberu jazyka. Natřete na podložní sklo, fixujte plamenem a obarvěte podle Grama. Pozorujte imerzním objektivem zvětšujícím 100× (celkové zvětšení tedy zpravidla 1000×).

Výsledky pozorování zakreslete (všimněte si tvaru a barvy přítomných bakterií a přítomnosti dalších útvarů).

Úkol č. 3: Vliv čištění zubů na orální biofilm



Dobrovolník si vypláchne ústa roztokem předloženého barviva dle pokynů vyučujícího.

Prohlédněte si výsledek. Zbarvená

místa jsou pokryta biofilmem – zubním plakem. Popište místa, kde je zubního plaku přítomno největší množství a pozorování zakreslete.

Jméno:

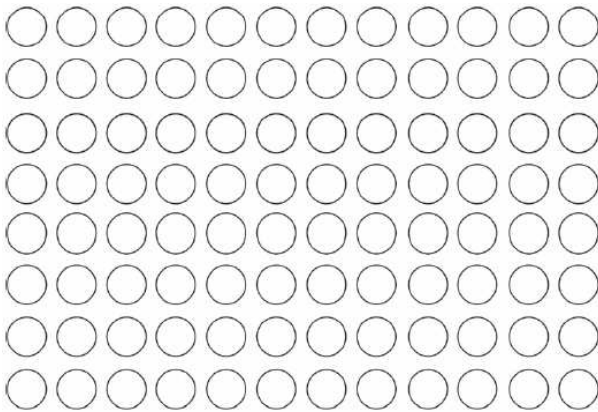
Kruh:

Datum:

Úkol č. 4: Vliv přítomnosti sacharidů ve stravě na tvorbu zubního plaku

Do jednotlivých důlků mikrotitrační destičky obsahující BHI médium suplementované 0 %, 2 %, 4 %, 8 % glukózy byl inokulován kmen *Streptococcus mutans*. Po 2, 8, 16, 24 hodinách kultivace při 37 °C byly příslušné důlky třikrát promyty. Vrstva vytvořeného biofilmu, která zůstala pevně adheovaná na stěnách jamek mikrotitrační destičky, byla obarvena 20 minutovým působením genciánové violeti. Přebytké barvivo bylo odstraněno z jamek opatrným promytím. Intenzita zbarvení jamek je měřena spektrofotometrem a odpovídá tloušťce vytvořené biofilmové vrstvy.

Na přiloženém papíře jsou výsledky spektrofotometrického měření intenzity zbarvení důlků. Z předložených výsledků sestrojte grafy dynamiky tvorby biofilmu pro jednotlivá média.



Úkol č. 5: Průkaz mikrobů kolonizujících katétry

a) Kvalitativní metoda pomnožení v bujónu

Vytažený centrální venózní katétr (CVK) byl ponořen do kultivačního média a kultivován 24 hodin. Poté bylo zakalené kultivační médium vyočkováno na krevní agar. Zhodnoťte nárůst mikroorganismů na krevním agaru.

b) Semikvantitativní metoda (Makiho metoda)

Vytažený CVK byl válen po povrchu krevního agaru, který byl poté kultivován. Zhodnoťte nárůst mikroorganismů a spočítejte narostlé kolonie. Za signifikantní se považuje množství kolonií >15, menší množství se považuje spíše za kontaminaci. Je-li kolonií evidentně více než 100, nepočítejte a napište „> 100“.

c) Kvantifikace pomocí sonifikace katétru

Vytažený CVK se ponoří do 10 ml fyziologického roztoku a poté vystaví účinku ultrazvuku, který rozrušuje strukturu biofilmu a jednotlivé bakteriální buňky tak z biofilmu uvolňuje. 100 mikrolitrů takto vzniklé suspenze se naočkuje přímo na krevní agar a rozočkuje sterilní kličkou po celém povrchu krevního agaru. Na připravené Petriho misce spočítejte množství kolonií narostlých na krevním agaru a vypočítejte počet bakterií adheujících na povrch katétru. Je-li kolonií evidentně více než 100, napište „> 100“.

Výsledky:

	3a	3b	3c
Odhad počtu mikrobů			

Kterým z uvedených postupů je možno detekovat a kvantifikovat bakterie nejen z biofilmu, přítomného na povrchu katétru, ale i v jeho lumen? _____

Které metody umožňují kvantifikovat množství bakterií adheovaných na povrchu katétru?

Jméno:

Kruh:

Datum:

Kontrolní otázky:

1. Co to je biofilm?
2. Jaké jsou hlavní složky biofilmu?
3. Jaký je význam orálního biofilmu z hlediska tvorby zubního kazu?
4. Na kterých dalších onemocněních se biofilm podílí?
5. Co komplikuje léčbu biofilmových infekcí?
6. Jaký má smysl kvantifikace mikroba izolovaného z katétru?
7. Jaké jsou předpokládané příčiny vyšší rezistence biofilmu k antibiotikům?