

Téma P 02: Diagnostika streptokokůK nastudování: *Streptococcus* (z učebnic, internetu...)

Z jarního semestru: Mikroskopie, Kultivace, Biochemická identifikace, Neutralizace

Tabulka pro souhrn výsledků úkolů 1 až 6 (k postupnému vyplnění):

Kmen	K	L	M	N	P	Q	R	S
Gramovo barvení – Úkol č. 1								
Kataláza – úkol 2a								
Slanetz-Bartley 2b								
Kultivace (krevní agar) Úkol č. 3	Velikost							
	Barva							
	Tvar							
	Profil							
	Změny agaru							
	Jiné							
DÍLČÍ ZÁVĚR								
Úkol 4a: Optochin (jen viridující str.)								
Úkol 4b: Streptotest 16 (jen ústní strep.)								
Úkol 5a: PYR test (jen hemolytické s.)								
Úkol 5b: CAMP (jen hemolytické s.)								
Úkol 5c (jen nAnB) Aglutinace								
KONEČNÝ ZÁVĚR								

Úkol č. 1: Mikroskopie podezřelých kmenů

Na stole máte kmeny označené písmeny. Obarvíte je podle Grama a určíte, který z nich není gram pozitivním kokem. Nátěry jednotlivých kmenů označte na sklíčku pomocí dermatografu příslušným písmenem. Výsledky zapište do tabulky. U kmenů, které nejsou G+ koky, proškrtněte zbylou část tabulky.

Úkol č. 2: Základní kultivační a biochemické testy – rodové určení**a) Katalasový test k odlišení stafylokoků**

Proveďte katalasový test se všemi kmeny z prvního úkolu s výjimkou toho, který jste v tomto úkolu vyřadili. Stafylokoky jsou katalasa pozitivní, streptokoky a enterokoky negativní. Zapište do tabulky.

b) Růst na Slanetz-Bartleyově agaru k odlišení enterokoků

Na misce máte po výsech naočkovány všechny kmeny. Roste však jen jeden. Tento kmen je enterokok, a není tedy streptokok. Zapište výsledek do tabulky.

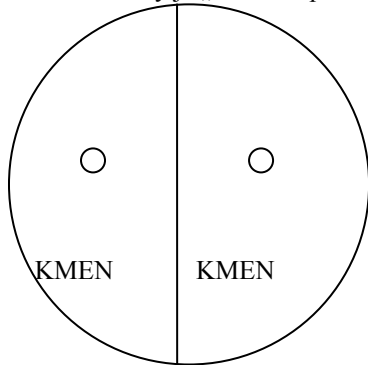
Úkol č. 3 Kultivace na krevním agaru

Na miskách s krevním agarem máte opět všechny kmeny. Ty, které jste vyloučili v úkolech 1 a 2, nemusíte popisovat, pro porovnání se však na ně podívejte. Zapište vlastnosti kmenů do tabulky.

Nyní zapište do tabulky „díličí závěr“. Ke každému z kmenů K až S zapište „NENÍ STR“ (není streptokok) „HEMOL STR“ (částečná či úplná hemolýza) nebo „VIRID STR“ (streptokok s viridací)

Úkol č. 4 Bližší určení streptokoků s viridací**a) Optochinový test**

Máte za úkol vyhodnotit optochinový test u dvou kmenů, které jste určili jako streptokoky s viridací. Optochinový test je test, který se ničím neliší od běžného difúzního diskového testu až na to, že účinná látka (optochin) se nyní už nevyužívá léčebně. Kmen s přítomností zóny inhibice růstu kolem disku je *S. pneumoniae*, kmen bez zóny je „ústní streptokok“. Výsledek zakreslete a zapište do tabulky (tam stačí ve formě + / -)

**b) Biochemické určení „ústního“ streptokoka**

U kmene, který jste v předchozím úkolu určili jako „ústního“ streptokoka, druhově vyhodnoťte biochemický mikrottest, využívající postupů, které znáte z jarního semestru.

Zkum.	První řádek s osmi jamkami								Druhý řádek s osmi jamkami							
VPT	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C	2B	2A
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
Kód:								Identifikace <i>Streptococcus</i>				% pravděpod.		T index		

Úkol č. 5 Určování streptokoků s částečnou či úplnou hemolýzou

Tento úkol provádějte u tří kmenů, které jste určili jako streptokoky s betahemolýzou (části a, b, c); poslední část pouze u kmene, který určíte jako non-A-non-B streptokoka.

a) PYR test

PYR test je proužkový test, podobný oxidázovému. Při odečítání barevné reakce je však nutno asi pět minut vyčkat, pak přikápnout kapku činidla pro PYR test a poté počkat další půlminutu. Pozitivní je zčervenání otisku. Také tento test je pozitivní u *S. pyogenes* (a také u enterokoků). Negativní je *Streptococcus agalactiae* i non-A-non-B streptokoky.

Poznámka: Někdejší bacitracinový test se dříve používal místo PYR-testu. Jeho princip je shodný s principem optochinového testu, jen s jiným antibiotikem. Pro nedostatečnou specifitu byl již téměř opuštěn.

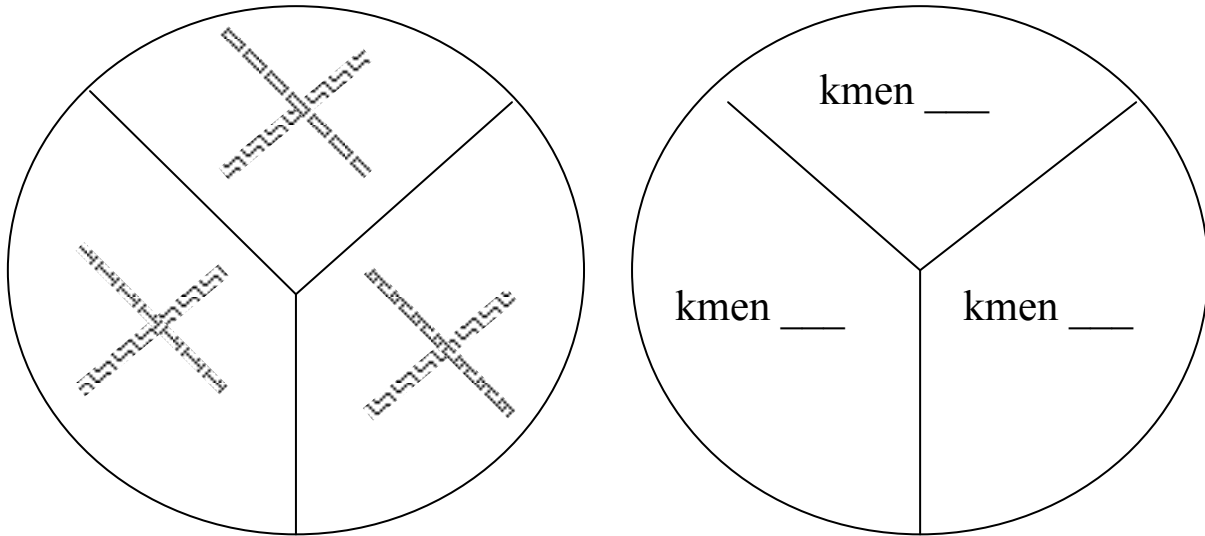
Vyplňte následující tabulku, včetně zakreslení výsledku PYR testu u všech tří testovaných kmenů.

Kmen (zapište písmeno)	Kmen (zapište písmeno)	Kmen (zapište písmeno)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Interpretace: negativní – pozitivní	Interpretace: negativní – pozitivní	Interpretace: negativní – pozitivní

b) CAMP test

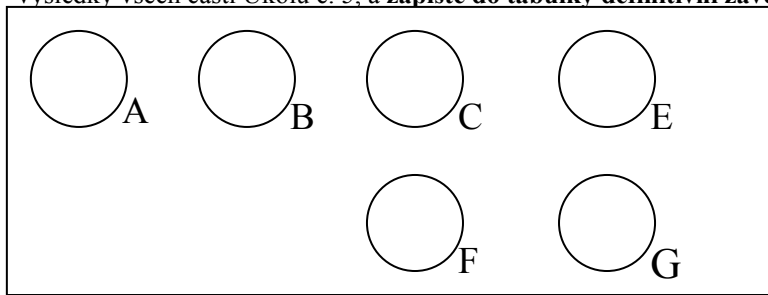
Poznámka: CAMP test nemá nic společného s cyklickým adenosinmonofosfátem. Nazývá se podle jmen svých objevitelů. Proto se také píše CAMP test a nikoli cAMP test.

CAMP test je založen na hemolytickém synergismu mezi kmenem *S. aureus* produkujícím beta-haemolysin a kmenem *S. agalactiae* strain. Pozitivní výsledek má tvar dvou trojúhelníkovitých zón („motýlovitý tvar“) úplné hemolýzy v místě překřížení obou kmenů. Malá zóna jiného tvaru se považuje za negativní výsledek. Negativní je jak *S. pyogenes*, tak i non-A-non-B streptokoky. Nakreslete svůj výsledek do obrázku (na následující stránce):



c) Demonstrace aglutinačního testu k bližšímu určení zejména non-A-non-B streptokoků

U kmene určeného jako streptokok non-A-non-B by se mohlo provést určení séroskupiny aglutinací. Prohlédněte si na obrázku z dataprojekce výsledek takové aglutinace a zakreslete. Poté zaznamenejte do tabulky výsledky všech částí Úkolu č. 5, a **zapište do tabulky definitivní závěr (určení jednotlivých streptokoků).**



Úkol č. 6 Testy citlivosti na antibiotika u streptokoků

Vyhodnoťte testy citlivosti (difusní diskové testy) na antibiotika u těch kmenů streptokoků, které považujete za patogeny či možné patogeny; předpokládejme pro jednoduchost, že se jedná o kmeny z horních cest dýchacích. Do tabulky dopište zkratky antibiotik dle přiložené kartičky a pro všechny testované kmeny změřte zóny citlivost v mm. Na kartičce jsou napsány hraniční zóny – podle nich interpretujte zóny vámi zjištěné jako citlivé (C), rezistentní (R) a dubiózní (D). Dubiózní jsou zóny, jejichž průměr právě odpovídá referenční zóně.

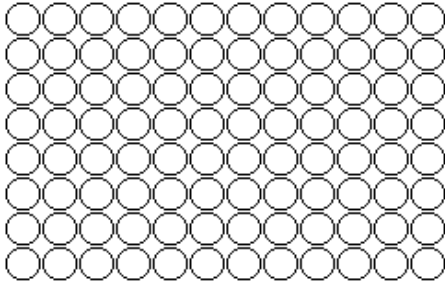
Kmen →								
Antibiotikum (celý název)	Ø zóny (mm)	Interpr.	Ø zóny (mm)	Interpr.	Ø zóny (mm)	Interpr.	Ø zóny (mm)	Interpr.

Úkol č. 7 Diagnostika pozdních následků streptokokových infekcí – vyšetření ASLO

Na bočním stole naleznete ve vlhké komůrce destičku. Obsahuje pozitivní kontrolu a séra 1 až 5. Určete titry a interpretujte z hlediska rizika. (Přesné provedení bylo popsáno v jarním semestru při probírání neutralizace).

Výsledek:

Interpretace výsledku:



Kontrolní otázky:

1. Který streptokok je uspořádán ve dvojicích a jaký tvar jeho koky mají?
2. Který streptokok má pozitivní PYR test? A který celý rod G+ koků jej má pozitivní?
3. Provádí se druhové určení ústních streptokoků rutinně? Kdy má význam?
4. Proč se optochinový test (ale i normální difusní diskové testy) provádí na agaru MH s krví a ne na běžném MH agaru?
5. Lze použít CAMP test v diagnostice zlatého stafylokoka? Zdůvodněte.
6. Proč se u betahemolytických streptokoků k druhovému určení zpravidla nevyužívá biochemických testů?
7. U kterých streptokoků připadají v úvahu pozdní následky a o jaké následky se především jedná?
8. Které streptokoky způsobují infekce s kožními projevy? O jaké infekce jde?