

Téma P05: Diagnostika *Pasteurellaceae* a G– nefermentujících tyčinekKe studiu: *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* a G– nefermentující tyčinky (učebnice WWW atd.)

Z jarního semestru: Mikroskopie, kultivace, biochemická identifikace, antigenní analýza

Tabulka pro hlavní výsledky úkolů 1 až 5 (k postupnému vyplnění):

Kmen		K	L	M	N	P	Q	R	S
Gramovo barvení – Úkol 1									
Kul- tiva- ce Úkol 2	Růst na KA (A/N)								
	Růstové charakteri- stiky na KA (ČA*)								
	Endova p. (-/L-/L+)								
	MH agar (barva)								
Úkol 3a Satelitový fenomén (+/-)									
Úkol 3b Růstové f. (X, V, X + V)									
Úkol 3c Pouzdrný typ: <i>Haemophilus</i>									
3d Test citliv.	Penic.								
	Vanko.								
Fermentace gluk. Úkol 4 (Hajna)									
Oxidázový test Úkol 5a									
NefermTest 24 (Úkol 5b)									
KONEČNÝ ZÁVĚR									

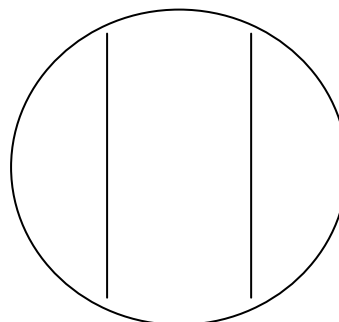
*Pro bakterie nerostoucí na krevním agaru (KA) použijte čokoládový agar (ČA)

Úkol 1: Mikroskopie suspektních kmenů

Na stole máte kmeny popsané písmeny. Obarvíte je podle Grama, a do tabulky vepíšete výsledky. Kmen, který NENÍ G– tyčinka, nebude studován v úkolech 3 až 5 (ale v Úkolu 2 si ho pro srovnání popíšete)

Úkol 2: Kultivace na agarových půdách

Nejdříve napište, které bakterie rostou na krevním agaru a které ne. Pak, používající standardních procedur, popište kolonie všech kmenů na krevním agaru. Pouze ty, které na KA nerostou, popište na čokoládovém agaru. Poté popište růst na Endově půdě (stačí „-“ pokud nerostou a „+“ pokud rostou; fermentaci laktózy nelze posuzovat, neboť kmeny jsou naočkovány na osminy a netvoří izolované kolonie) a na MH agaru (jen „-“ nebo „+“, a případně přítomnost specifického zbarvení).

Úkol 3: Identifikace *Pasteurellaceae* a jejich přesnější určení**a) Satelitový fenomén**Hemofily jsou typické takzvaným satelitovým fenoménem. To znamená, že samy o sobě nerostou na krevním agaru, ale jsou tam schopny růst v přítomnosti kmene, který pro ně z krviček uvolní růstové faktory. Pro tento účel se zpravidla používá kmen *Staphylococcus aureus*. Zakreslete satelitový fenomén a spojte popisky s příslušnými jevy na obrázku*Staphylococcus aureus*

Kolonie hemofilů

Úkol 6: Testy citlivosti patogenů na antibiotika

Mezi vašimi bakteriemi je pět patogenních: dvě z čeledi *Pasteurellaceae* a tři G– nefermentující. Zapište celé názvy antibiotik a změřte velikost zón. Zapište kmeny jako citlivé (C) resistantní (R) a dubiózní (D). (Dubiózní jsou ty, které mají velikost zóny právě hraniční.)

Test pro *Pasteurellaceae*

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

Velké, splývající zóny není potřeba měřit, hodnotte rovnou jako „citlivé“.

Test pro G– nefermentující

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

Úkol 7 Vztahy bakterií ke kyslíku – porovnání enterobakterií, G– nefermentujících a anaerobů

Podívejte se na bujóny kultivované za aerobních a anaerobních podmínek (vrstva parafínu na povrchu), vyhodnoťte růst bakterií a jeho charakter.

Kmen			
Růst v bujónu			
Růst ve VL bujónu			
Závěr			

Kontrolní otázky:

1. Za jakých okolností jsou hemofily schopny růst na krevním agaru? Proč?
2. Ve kterém materiálu nejspíše nalezneme *Pasteurella multocida*?
3. Který hemofil je nejvíce patogenní? Které závažné infekce způsobuje?
4. Proč v posledních letech u nás klesá počet batolecích meningitid působených hemofily?
5. Proč zpravidla u *Pseudomonas aeruginosa* není nutno provádět biochemické testování?
6. Jaké infekce nejčastěji způsobují gramnegativní nefermentující tyčinky?
7. Navrhněte antibiotika vhodná pro léčbu infekcí způsobených nefermentujícími tyčinkami.