

## Téma P06: Diagnostika některých dalších gramnegativních bakterií (*Neisseria*, *Moraxella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Francisella*....)

**Ke studiu:** *Haemophilus*, *Neisseria*, *Moraxella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Francisella* (učebnice, WWW...)

**Z jarního semestru:** Mikroskopie, kultivace, biochemická kultivace, aglutinace

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

Kmen	K	L	M	N	P
Gramovo barvení kmene – Úkol 1b					
Kultivace Úkol 2	“Chudý” KA (“KA”) Růst A/N				
	“Bohatý” KA (“KA+”) Růst A/N				
	Čokoládový agar Růst A/N				
	Popis kolonií na KA+*				
Úkol 3	a) Oxidázový test (+/-)				
	b) Indoxylacetátový (INAC) test				
<b>KONEČNÝ ZÁVĚR (výsledek úkolu 4 – <i>Neisseria</i> Test, resp. úkolu 1 pro kmen který není gramnegativním kokem)</b>					

\*U bakterií nerostoucích na KA+ použijte výsledek růstu na ČA

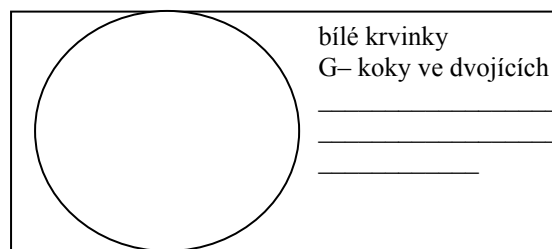
### Úkol 1: Mikroskopie klinického vzorku a mikroskopie kmene

#### a) Pozorování uretrálního nátěru u kapavky

Prohlédněte si Gramem barvený nátěr.

Nevšímejte si jen bakterií, ale také buněk makroorganismu, zejména leukocytů. Pověšimněte si, že koky nejsou přítomny v každém leukocytu. Zakreslete, a spojte popisky objektů s pozorovanými objekty na obrázku.

*Poznámka: Velmi podobně by také vypadala mikroskopie u hnisavého mozkomíšního moku v případě akutní meningokokové meningitidy.*



#### b) Mikroskopie suspektních kmenů – hledání

##### G– koků

Na stole máte sklíčka s kmeny obarvenými podle Grama. Prohlédněte je a zapište výsledky do tabulky. Kmen, který není G– kokem, nebude studován v úkolech 3 a 4; ve druhém úkolu si jej však pro srovnání popište také.

#### Úkol 2: Kultivace na agarových půdách

Zapište do tabulky, které bakterie rostou na „chudém KA“, „bohatém KA“ a na čokoládovém agaru. Ústní druhy neisserií stejně jako moraxely a většina G+ koků rostou i na chudším krevním agaru. *Neisseria meningitidis* („meningokok“) roste jen na bohatších krevních agarech. *Neisseria gonorrhoeae* (gonokok) na krevním agaru neroste vůbec, je nutný čokoládový agar. Poté popište kolonie všech kmenů na KA+, jen kmen, který tam neroste, popište na ČA. Výsledky zapište do tabulky.

#### Úkol 3: Základní biochemické testy u G– koků

Oba testy budou prováděny demonstračně na bočním stole. Zapište výsledky do tabulky.

##### a) Oxidázový test

Učitel se dotkne několika kolonií kmenů identifikovaných jako G– koky oxidázovým diagnostickým papírkem. V případě pozitivity se během několika vteřin objeví modré zbarvení. Zakreslete a zapište výsledky do tabulky.

	+		-
--	---	--	---

##### b) Indoxylacetátový test

Postup je podobný jako u oxidázového testu, ale proužek musí být předem zvlhčen, místo modré barvy pozorujete barvu modrozelenou a výsledek není viditelný okamžitě, ale je třeba několik minut počkat. Zakreslete pozitivní a negativní výsledek a zapište výsledky do tabulky.

	+		-
--	---	--	---

**Úkol 4: Druhá diagnostika neisserií a branhamel biochemickými testy**

U kmenů určených jako G– koky odečtete biochemický mikrotest (NEISSERIAtest fy Lachema) naočkovaný předchozí den. Odečtete podle schématu. První jamka obsahuje negativní kontrolu, takže vlastní test začíná až od DRUHÉ jamky! Zakápnutí Lugolovým roztokem již bylo provedeno, nemusíte je provádět sami. Povšimněte si nízké biochemické aktivity některých neisserií. Porovnejte výsledek s růstovými vlastnostmi (kmen určený jako gonokok by měl růst pouze na čokoládovém agaru, meningokok pouze na čokoládovém a bohatém krevním agaru).

Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A		Kód:	Identifikace:
	NEC										
	×	1	2	4	1	2	4	1			
	×										
Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A		Kód:	Identifikace:
	NEC										
	×	1	2	4	1	2	4	1			
	×										
Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A		Kód:	Identifikace:
	NEC										
	×	1	2	4	1	2	4	1			
	×										
Kmen:	H	G	F	E	D	C	B	A		Kód:	Identifikace:
	NEC										
	×	1	2	4	1	2	4	1			
	×										

**Úkol 5 Test citlivosti G- koků 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 dubiozní (D).

*Poznámka: U testování citlivosti na penicilin (Neisseria) a ampicilin (Moraxella) se doporučuje místo difusního diskového testu testovat betalaktamázu nitrocefínovým testem. Pro zjednodušení úkolu jsme zde toto doporučení nerespektovali.*

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

### Úkol 6 Přímý průkaz antigenů původců meningitid v mozkomíšním moku (demonstrace diagnostické soupravy a videoklip)

Meningokoková meningitida je závažná choroba. Nelze zde čekat na kultivaci, je nutno využít rychlých diagnostických metod. Vedle mikroskopie se zde využívá především latexové aglutinace.

#### a) Demonstrace soupravy k latexové aglutinaci

Prohlédněte si soupravu a zapište názvy mikrobů, které mohou být touto metodou diagnostikovány.

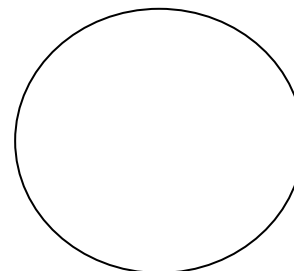

#### b) Videoklip

Prohlédněte si videoklip. V této ukázce se jako patogen projevil \_\_\_\_\_

### Úkol 7 Diagnostika bordetel, brucel, legionel a francisel

#### a) Kultivační diagnostika bordetel

Existuje speciální médium pro druh *Bordetella pertussis* a speciální způsob očkování na tuto půdu. Na rozdíl od mnoha jiných bakterií je *Bordetella* rezistentní k penicilinu. Proto začínáme kápnutím kapky penicilinového roztoku doprostřed misky s agarem. Výtěr je smíchán s kapkou a očkován ve směru spirály. Poté jsou očkovány radiální paprsky kličkou. Napište název půdy a zakreslete postup očkování podle obrázku.



Název půdy: \_\_\_\_\_

#### b) Demonstrace kultivační půdy na legionely

Prohlédněte si kultivační půdu na legionely. Zapište o ní několik údajů.

Zkratka	Co znamenají jednotlivá písmena ve zkratce	Barva půdy

#### c) Průkaz protilátek proti tularémii

Na bočním stole je vlhká komůrka s výsledky nepřímého průkazu francisel aglutinací. Jamky s pozitivní reakcí vykazují příslušnost aglutinátu (větší terčík nepravidelného tvaru), důlky s negativní reakcí ukazují sedimentaci bakterií (menší, výrazně bílé kulaté kolečko). Doplňte do následující tabulky:



**Interpretace:** Jakýkoli titer se považuje za suspektní, při rozhodování o léčbě je nutno vzít v úvahu klinický stav pacienta.

**Interpretace:**

K+								TITR = 1:	
1								TITR = 1:	
2								TITR = 1:	
3								TITR = 1:	

#### d) Vzpomínka na brucely

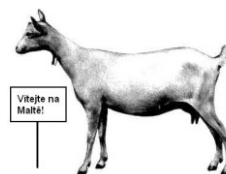
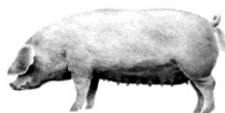
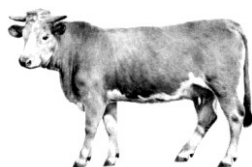
Diagnostika brucel je obtížná a ve střední Evropě je zřídka proveditelná, protože ve dnešní střední Evropě je choroba velmi vzácná. Nicméně v některých částech světa se brucelóza stále vyskytuje. Je nutno vědět, jaký je vztah mezi jednotlivými druhy a jejich hostiteli.

Co se má provést: Spojte vždy obrázek typického hostitele brucely s názvem příslušného druhu.

*Brucella mellitensis*

*Brucella abortus*

*Brucella suis*



Jméno \_\_\_\_\_

Všeobecné lékařství

Datum \_\_\_\_ . 10. 2009 Strana 3

**Kontrolní otázky:**

1. Jaké vzorky se doporučuje odebrat při podezření na kapavku? A jak je potřeba je transportovat do laboratoře?
  
2. Jaké rozdíly lze pozorovat při odběru mozkomíšního moku u zdravého člověka a u člověka s purulentní meningitidou? (Miněny rozdíly pozorované u lůžka, ne v laboratoři.)
  
3. *Neisseria* i *Branhamella* jsou obě gramnegativní. Znamená to tedy, že rostou na Endově půdě?
  
4. Které druhy neisserií jsou biochemicky nejméně aktivní a které cukry štěpí?
  
5. Který původce meningitid je důležitý u předškoláků (přinejmenším byl do zavedení očkování), který u teenagerů a který u seniorů?
  
6. Jakým způsobem se lze nejspíše nakazit tularémií?
  
7. Existují i gramnegativní tyčinky, které se v praxi neprobíraly, ale mohou být významné. Najděte v učebnici nebo na [www](#), které choroby jsou způsobeny následujícími mikroorganismy:
  - a) *Bartonella quintana*
  - b) *Bartonella hensellae*
  - c) zástupci skupiny HACEK (zde také uveďte názvy jednotlivých bakterií).