

Topic P10: Základy klinické mykologie

K nastudování: Houby ☺

Z jarního semestru: Mikroskopie, kultivace, antibiotická citlivost, precipitace

Tabulka pro hlavní výsledky úkolů 1 až 3 (k postupnému vyplnění):

Kmen		K	L	M	N
Gramovo barvení – Úkol 1					
Kultivace (krevní agar) Úkol 2a	Velikost				
	Barva				
	Tvar				
	Profil				
	Hemolýza				
	Povrch				
	Zápach				
Úkol 2b: Růst na Sabouraudově agaru s chloramfenikolem (+/-)					
Úkol 2c: růst na chromogenní půdě					
KONEČNÝ ZÁVĚR (dle úkolů číslo 2c a 3)					

Úkol 1: Mikroskopie kmenů bakterií a kvasinek

Obarvíte Gramem dané kultury mikroorganismů. **Použijte imerzní mikroskopii (imerzní objektiv 100× zvětšující).** Výsledky запиšte do tabulky. Povšimněte si velikostních rozdílů mezi kvasinkami a bakteriemi.

Úkol 2: Kultivace bakterií a kvasinek**a) Kultivace na krevním agaru**

Popište kolonie daných kmenů na krevním agaru a запиšte do hlavní tabulky. Nezapomeňte popsat zápach. Všimněte si, že kolonie kvasinek (dle výsledků Úkolu 1) jsou podobné některým bakteriím (zejména G+ kokům, které dle morfologie kolonií asi budou stafylokoky).

b) Kultivace na Sabouraudově agaru s chloramfenikolem

Zhodnoťte nárůst daných kmenů na selektivním agaru pro kvasinky a plísně (Sabouraudův agar s chloramfenikolem). Sabouraudův agar sám o sobě není selektivní, ale jeho selektivita je zajištěna přidávkem širokospektrého antibiotika (chloramfenikol).

c) Kultivace na chromogenní půdě

Chromogenní půdy pro kvasinky umožňují rozlišení nejdůležitějších druhů rodu *Candida*. Pomocí kontrolních kmenů se pokuste určit druh kandidy pomocí chromogenní půdy. Jsou-li kolonie bílé (není tedy přítomno žádné barvivo), znamená to, že kmen touto chromogenní půdou nelze určit.

Úkol 3: Auxacolor

Odečtěte výsledek auxacoloru u kmene, který se nepodařilo identifikovat chromogenní půdou. V tomto případě se nepočítá kód, nýbrž se výsledek porovnává s tabulkou. (Může se stát, že vyjde více taxonů. V tom případě mějte na paměti, že např. *C. albicans* by byla v úkolu 2c) zelená a *Rhodotorula* by na 2b) měla červený pigment.)

C Neg*	Glu**	Mal**	Sac**	Gal**	Lac**	Raf**	Ino**
Cel**	Tre**	Ado**	Mel**	Xyl**	Ara**	Act***	Pox#
Výsledek identifikace:							

*normálně modré

**žluté pozitivní, modré negativní

***žlutá pozitivní, bezbarvá negativní

#hnědé pozitivní, bezbarvé negativní

Úkol 4: Určení citlivosti na antimikrobiální látky

K léčbě mykotických infekcí nelze použít antibiotika. Musíme použít speciální léky – antimykotika. Ta zase na druhou stranu nejsou účinná u bakteriálních infekcí.

a) Určení citlivosti na antimykotika.

Odečtete in vitro citlivost daných kmenů na antimykotika. Zapište do tabulky plný název antimykotika podle kartičky, a pro všechny testované kmeny vyhodnoťte jako citlivé nebo rezistentní. U amfotericinu B je referenční zóna 10 mm. Pro jiná antimykotika je to 20 mm, zato však není nezbytné, aby uvnitř zóny nebyly přítomny vůbec žádné kolonie.

Kmen →				
Antimykotikum (celé jméno)	Ø zóny (mm)	Interpretace	Ø zóny (mm)	Interpretace

Kmeny ___ a ___ (tj. kmeny _____) jsou rezistentní na všechny preparáty.

b) Určení citlivosti na antibiotika.

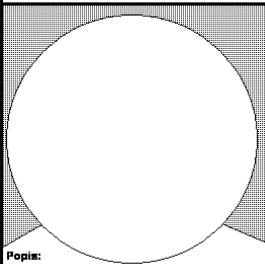
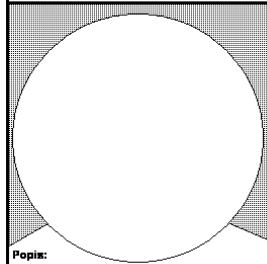
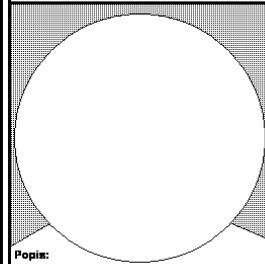
Odečtete in vitro citlivost daných kmenů na antibiotika. Zapište celé názvy antibiotik a změřte velikost zón. Zapište kmeny jako citlivé (C) rezistentní (R) a dubiózní (D). (Dubiózní jsou ty, které mají velikost zóny právě hraniční.)

Kmen →				
Antibiotikum (celé jméno)	Ø zóny (mm)	Interpretace	Ø zóny (mm)	Interpretace

Kmeny ___ a ___ (tj. kmeny _____) jsou rezistentní na všechny preparáty.

Úkol 5: Mikroskopie plísní

Plísně jsou zpravidla mikroskopovány jinak než kvasinky. Gramovo barvení se užívá zřídka. Zpravidla se užívá **nativní preparát bez imerze, zvětšení objektivu 10 až 40x**. Zakreslete a popište předložené druhy plísní. Nezapomeňte popsat hyfy, makro- a mikrokonidie a další pozorované objekty. Spojte popisky s objekty linkami nebo vyznačte jiným vhodným způsobem, co k čemu patří.

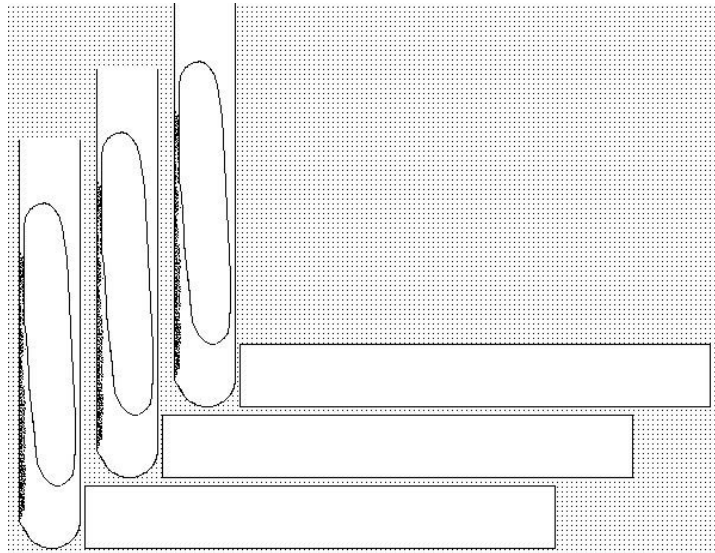
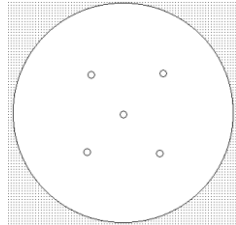
<p>Rod:</p> <p>Druh:</p>  <p>Popis:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>Rod:</p> <p>Druh:</p>  <p>Popis:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>Rod:</p> <p>Druh:</p>  <p>Popis:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
--	---	--

Úkol 6: Kultivace plísní

Plísně zpravidla vyžadují delší čas k růstu. Z tohoto důvodu pro kultivaci zpravidla nepoužíváme Petriho misky, protože by kultury vyschly a kontaminovaly by se. Zakreslete kultivační výsledky daných plísní do obrázku vpravo.

Úkol 7: Nepřímá diagnostika aspergilózy

Vyhodnoťte výsledky precipitace v agaru pro průkaz protilátek proti aspergilóze. Zakreslete výsledek.



Úkol 8: Odběr na mykózy

Prohlédněte si video „Odběr materiálu na povrchové mykózy“ a запиšte hlavní zásady odběru u kožních mykóz.

Kontrolní otázky:

1. Uveďte názvy antimykotik, která lze použít na povrchové mykózy.
2. Uveďte názvy antimykotik, která se hodí k léčbě generalizovaných kandidóz a jiných systémových mykóz.
3. Jak dlouho (cca kolik dní) rostou
 - a) kvasinky:
 - b) zygomycety
 - c) aspergilly
 - d) dermatofyty
4. Při jakých teplotách a na které půdě se kultivují patogenní houby?
5. Uveďte alespoň pět faktorů napomáhajících vzniku systémových mykóz.