

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: 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.

### Úkol č. 3: 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 adheřujících na povrch katétru. Je-li kolonií evidentně více než 100, napište „> 100“.

Výsledky:

	3a	3b	3c
Odhad počtu mikrobů			

Jméno: \_\_\_\_\_

Kruh: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

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

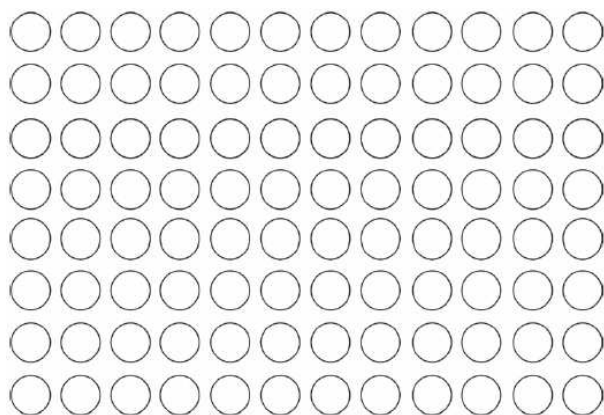
Které metody umožňují kvantifikovat množství bakterií adherovaných na povrchu katétru? \_\_\_\_\_

Jaký je smysl kvantifikace mikrobů z katétru? \_\_\_\_\_

### 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 adherovaná na stěnách jamek mikrotitrační destičky, byla obarvena 20 minutovým působením genciánové violeti. Přebytečné 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.



### Kontrolní otázky:

1. Co to je biofilm?
2. Jaké jsou hlavní složky biofilmu?
3. Jaký je význam orálního biofilmu z hlediska tvorby zubního kazu?

Jméno:

Kruh:

Datum:

---

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?