

Téma P01: Diagnostika stafylokoků

Úkol 1: Mikroskopie infekčního materiálu

V mikroskopu sledujte preparát obarvený podle Grama. Popište a zakreslete sledované útvary. Všimněte si přítomnosti bakterií (jejich tvaru, barvitelnosti a množství) dále také leukocytů, epitelii a vzájemného poměru mezi nimi.

Popis (napište názvy útvarů a spojte je šipkami s objekty nakreslenými vlevo)

Tabulka pro souhrn výsledků úkolů 2 až 7 (k postupnému vyplnění):

Kmen		K	L	M	N
Gramovo barvení – Úkol 2					
Úkol 3: Kulti-vace (krevní agar)	Velikost				
	Barva				
	Tvar				
	Profil				
	Hemo-lýza				
Jiné					
Úkol 4: růst na KA + 10 % NaCl					
Úkol 5: kataláza (pište „+“ či „-“)					
DÍLČÍ ZÁVĚR					
Úkol 6a: Test clump. faktor (+/-)					
Úkol 6b: Plasma-koaguláz. test (+/-)					
Úkol 6c: Test hyaluronidázy (+/-)					
KONEČNÝ ZÁVĚR					

Úkol 2: Mikroskopie kultur mikroorganismů

Obarvěte podle Grama čisté kultury předložených mikrobů. Výsledky pozorování zakreslete (↓) a zapište (↑).

Kmen K	Kmen L	Kmen M	Kmen N

Úkol 3: Růst na krevním agaru

Vyplňte tabulku v řádku Úkol č. 3. Do „jiných“ napište to zajímavé, co se nevejde jinak.

Úkol 4: Růst bakterií na krevním agaru s 10 % NaCl

Zhodnoťte schopnost růstu předložených kmenů na krevním agaru s 10 % NaCl, který slouží jako selektivní půda pro stafylokoky. Zapište „+“ pokud kmen roste a „-“ pokud neroste.

Úkol 5: Katalázový test

Prokažte přítomnost enzymu katalasy. Setřete mikrobiologickou kličkou kolonie předložených kmenů a vnesete je do kapky 3% H₂O₂ na podložním skličku. Zaznamenejte reakci u všech kmenů. Do tabulky pište „+“ a „-“.

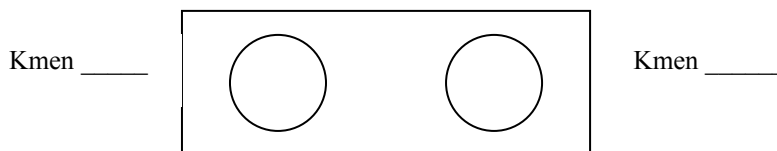
Pozitivitu charakterizují _____, zatímco _____ je negativní.

Nyní vyplňte řádek „Dílčí závěr“. Napište STAF, pokud se kmen ukázal být stafylokokem, a JINÝ, pokud je to něco jiného.

Úkol 6: Testy pro diferenciaci *S. aureus*

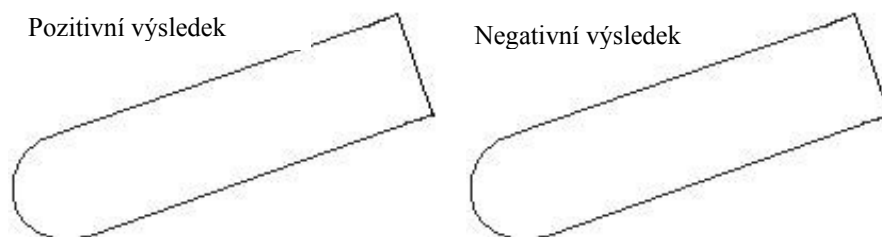
6a) Test na clumping faktor (test vázané plasmakoagulázy)

Na podložní skličku kápněte kapku ředěné králičí plazmy. Pomocí sterilní mikrobiologické kličky v ní suspendujte vyšetřovaný kmen stafylokoka. Přítomnost plasmakoagulázy se projeví aglutinací bakteriálních buněk. Výsledek vyšetření zaznamenejte.



6b) Plasmakoagulázový test (test volné plasmakoagulázy)

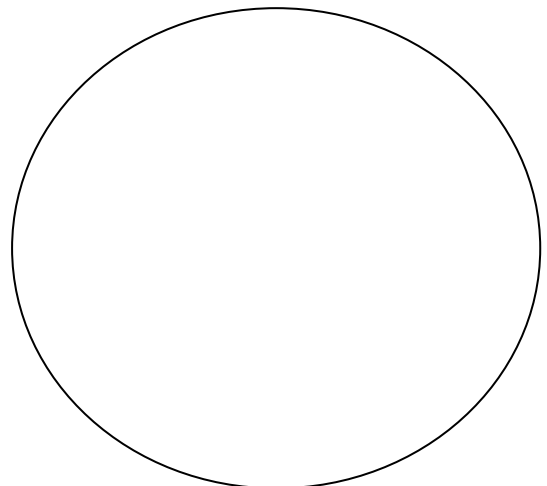
Do 0,5 ml 10× ředěné králičí plazmy bylo suspendováno několik kolonií vyšetřovaného kmene stafylokoka. Suspenzi inkubujeme v termostatu při 37 °C. Výsledek se odečítá po 1, 2 a 24 hodinách. Jako pozitivní reakce se hodnotí, pokud dojde ke koagulaci králičí plazmy ve zkumavce, tj. dojde k zrosolování celého obsahu zkumavky, příp. alespoň části. Zapište a zakreslete výsledek této reakce u vybraných kmenů po 24 hodinách inkubace.



6c) Detekce hyaluronidázy

Na krevní agar jsme naočkovali asi 2 cm široký pás *Streptococcus equii*, bakterie, která tvoří silné pouzdro s obsahem kyseliny hyaluronové. Kolmo k tomuto pásu byla naočkována čára vyšetřovaného kmene stafylokoka. Pokud je příslušným kmenem stafylokoka hyaluronidasa produkována, difunduje do okolí a do druhého dne způsobí lýzu pouzdra *Streptococcus equii*. To se projeví půlkruhovou zónou „ztráty slizovitosti“ v pásu naočkovaného *Streptococcus equii*. Zakreslete výsledek reakce u dvou kmenů (včetně pozitivní a negativní kontroly) a popište.

Pozor! V tomto úkolu nejde o hemolýzu kmenů. Do obrázku ji sice – pokud ji pozorujete – můžete zakreslit, není to však pro tento úkol podstatné. Dbejte pokynů učitele a úkol provádějte až po jeho výkladu!



Úkol 7: Bližší určení stafylokoků pomocí biochemického mikrotestu (STAPHYtest 16)

ZLLM neprovádí

Úkol 8: Citlivost stafylokoků k antibiotikům

Zjistěte citlivost předložených kmenů stafylokoků k vybraným antibiotikům, pomocí diskového difusního testu. Citlivost k předkládaným antibiotikům zhodnoťte na základě srovnání zjištěného průměru inhibiční zóny s příslušnou hraniční zónou. Seznam testovaných antibiotik a hodnoty jejich hraničních zón najdete v příložené tabulce. Výsledky testu pro jednotlivá antibiotika (průměr inhibiční zóny i interpretaci) запиšte.

Antibiotikum (plný název, ne zkratka)	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	Průměr zóny (mm)	Interpretace	Průměr zóny (mm)	Interpretace