

## Téma P07: Diagnostika anaerobních bakterií

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

Kmen	K	L	M	N
Gramovo barvení – Úkol 1b (včetně případných údajů o tvorbě spor)				
Kultivace: úkol 3	Krevní (“KA”) Růst A/N			
	VL agar (“VLA”) Růst A/N			
	VL bujón Růst A/N			
	Popis kolonií na KA/VLA*			
<b>KONEČNÝ ZÁVĚR (výsledek Úkolu 4 – ANAEROTest, nebo, u ne-anaerobů, výsledky předchozích testů)</b>				

\*Použijte VLA (VL agar) u bakterií, které nerostou na krevním agaru

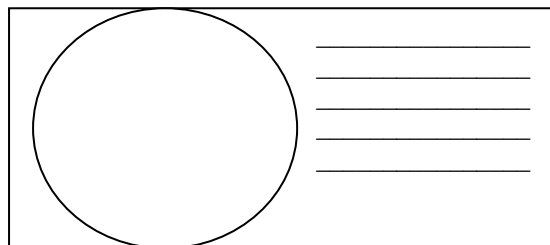
### Úkol 1: Mikroskopie klinického vzorku a mikroskopie kmene

#### a) Prohlídka klinického vzorku

Prohlédněte si Gramem barvený preparát.

Pravděpodobně najdete směs různých bakterií, jak je to u anaerobních infekcí typické: za infekci nemůže jeden patogen, ale směs patogenů. Vedle bakterií můžete vidět leukocyty (zejména polymorfonukleary), případně epiteliu, tkáňovou drť a tak dále.

Nezapomeňte obrázek **popsat** (použijte čáry)!



#### b) Mikroskopie podezřelých kmenů

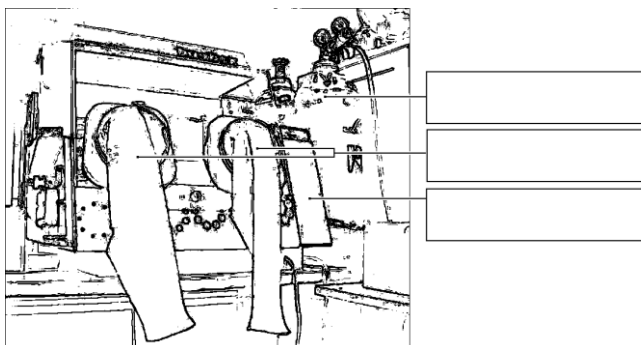
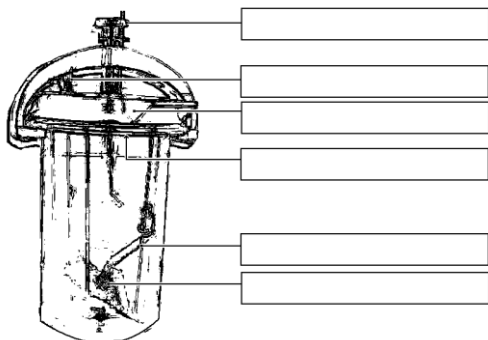
Anaerobní bakterie mohou být koky i tyčinky, grampozitivní i gramnegativní; v tom se neliší od jiných bakterií. Bývají ale pleomorfější. U rodu *Clostridium* je přítomnost a pozice endospor užívána jako významný diagnostický znak. Pokuste se u jednoho z vašich kmenů (robustní G+ tyčinky) endosporu najít.

### Úkol 2: Anaerostat a anaerobní box

K získání anaerobiózy používáme v naší laboratoři tři způsoby:

- pro tekuté půdy se jako bariéra médium/atmosféra používá **parafinový olej** (není dokonalé)
- pevné půdy dáváme do **anaerostatu**, kde je kyslík chemicky nahrazen směsí plynů
- pevné půdy lze také umístit do **anaerobního boxu**; anaerobní atmosféra je vhnána z bomby.

Vepište do obrázků svůj popis (anaerostat uvidíte doopravdy a spolu s anaerobním boxem také na obrázku).



**Úkol 3: Kultivace na agarových půdách**

Popište kultivační výsledky daných kmenů na aerobních i anaerobních půdách.

**a) Aerobní kultivace na krevním agaru (KA)**

Napište, zda bakterie rostou či nikoli, případně též popište jejich kolonie.

**b) Anaerobní kultivace na VL agaru (VL krevním agaru)**

VL (krevní) agar je podobný krevnímu agaru, ale má snížený redoxní potenciál a kultivuje se v anaerostatu či anaerobním boxu. Napište, které kmeny zde rostou a ty, které nerostly na KA, popište.

**c) Pomnožení anaerobů ve VL bujónu**

VL bujón se používá pro pomnožení málo početných anaerobních bakterií. Zkontrolujte přítomnost zákalu (růstu) ve VL bujónu a porovnejte s výsledky části b).

**Úkol 4: Druhá diagnostika anaerobů biochemickými testy**

U kmenů určených jako anaeroby použijeme biochemický mikrotest (ANAEROTest 23 Lachema) naočkovaný o dva dny dříve. Odečtete podle schématu. Pozor, kódová kniha má tentokrát čtyři části, musíte tedy najít správnou část dle výsledků mikroskopie. Výsledky sloupců „B“ a „A“ se nezapočítávají, získáte tedy šestimístný kód za sloupce H až C.

Kmen:		H	G	F	E	D	C	B	A	Kód:	
	1									Identifikace:	
	2									% pravděpodobn.:	
	4									Index typičnosti:	
	Kód										
Kmen:		H	G	F	E	D	C	B	A	Kód:	
	1									Identifikace:	
	2									% pravděpodobn.:	
	4									Index typičnosti:	
	Kód										

Notes:

**Úkol 5 Citlivost anaerobů 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 dubiózní (D).

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

**Úkol 6: Detekce toxinů klostridií**

U klostridií se používají různé testy produkce toxinu.

**a) Průkaz toxinu (lecitinázy) *Clostridium perfringens***

ZLLM neprovádí

**b) Průkaz toxinu *Clostridium tetani***

ZLLM neprovádí

**c) Detekce A a B toxinů *Clostridium difficile***

Pseudomembranózní kolitida způsobená toxiny *Clostridium difficile* je velmi nebezpečná, zejména u hospitalizovaných pacientů. Testování se provádí imunochromatografickým testem, který již byl prováděn v praktiku J09. Pro praxi je důležité, že na toto vyšetření je nutno zasílat kusovou stolicí (NESTACÍ výtěr z řiti). Prohlédněte výsledek průkazu toxinů A + B *Clostridium difficile* ve vzorcích stolice X and Y a zapište výsledky:

**Vzorek X** je *pozitivní – negativní*

**Vzorek Y** je *pozitivní – negativní*

**Úkol 7: Ukázka hledání anaerobů mezi fakultativně anaerobní flórou**

ZLLM neprovádí