

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: Biochemická identifikace kvasinek soupravou Auxacolor

Odečtete 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

***žlutá pozitivní, bezbarvá negativní

**žluté pozitivní, modré 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. Do tabulky pište jen kmeny, které jsou alespoň na něco citlivé, ostatní zapište pod tabulku. Do tabulky zapište plný název antimykotika podle kartičky, 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 bakterií–kvasinek*) jsou rezistentní na všechny preparáty. **nehodící se škrtněte*

b) Určení citlivosti na antibiotika.

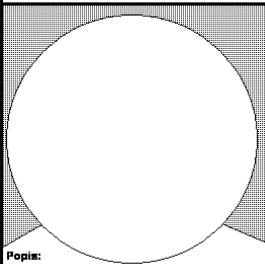
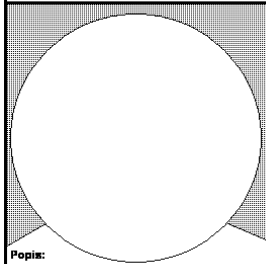
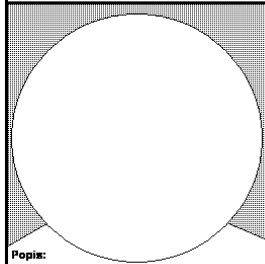
Odečtete in vitro citlivost daných kmenů na antibiotika. Do tabulky pište jen kmeny, které jsou alespoň na něco citlivé, ostatní zapište pod tabulku. Zapište celé názvy antibiotik a změřte velikost zón. Zapište kmeny jako citlivé (C) rezistentní (R) a dubiózní (D). (Dubiózní jsou ty, které mají velikost zóny právě hraniční.)

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

Kmeny ___ a ___ (tj. kmeny bakterií–kvasinek*) jsou rezistentní na všechny preparáty. **nehodící se škrtněte*

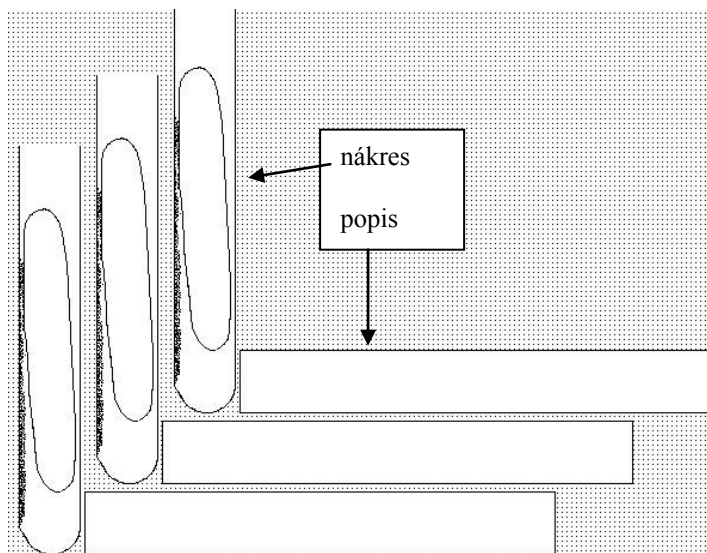
Úkol 5: Mikroskopie plísní

Plísně jsou zpravidla mikroskopovány jinak než kvasinky. Gramovo barvení se užívá zřídka. Zpravidla se užívá **nativní preparát, zvětšení objektivu 10 až 40× (→ BEZ IMERZNÍHO OLEJE!)**. Zakreslete a popište předložené druhy plísní. (Jsou-li k dispozici více než tři druhy, vyberte tři z nich.) Nezapomeňte popsat hyfy, makro a mikrokonidie a další pozorované objekty. Spojte popisky s objekty linkami nebo vyznačte jiným vhodným způsobem, co k čemu patří.

Rod: Druh:  Popis: _____ _____	Rod: Druh:  Popis: _____ _____	Rod: Druh:  Popis: _____ _____
--	---	--

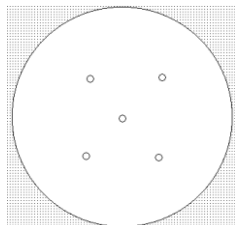
Úkol 6: Kultivace plísní

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. (Jsou-li plísně více než tři, vyberte tři z nich.)



Úkol 7: Nepřímá diagnostika aspergilózy

Vyhodnoťte výsledky precipitace v agaru pro průkaz protilátek proti aspergilóze.



Zakreslete výsledek a označte pozitivní a negativní pacienty.

Úkol 8: Odběr na mykózy

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

Pozor! Na příští praktikum se prosím dohodněte, aby v každém praktiku byl alespoň jeden dobrovolník, který si ráno nevyčistí zuby (bude si je moci vyčistit hned po příslušném úkolu, trvalé následky na zubech nezůstávají).