

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*				
KONEČNÝ ZÁVĚR (výsledek Úkolu 4 – ANAERObtest, nebo, u ne-anaerobů, výsledky předchozích testů)					

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

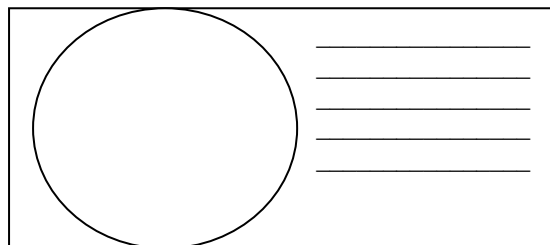
Úkol 1: Mikroskopie klinického vzorku a mikroskopie kmene

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

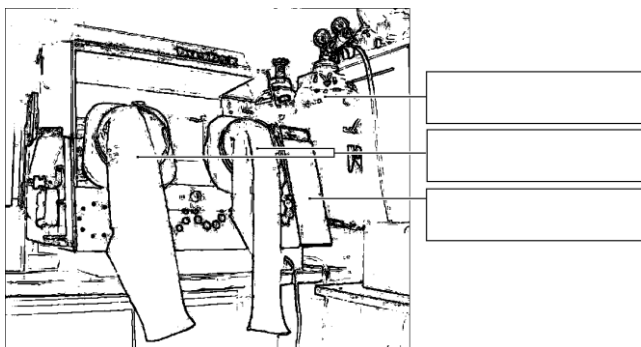
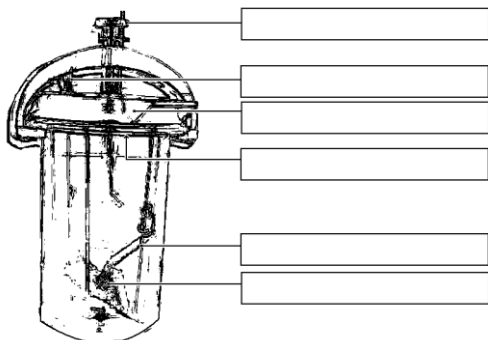
Anaerobní bakterie mohou být koky i tyčinky, grampozitivní i gramnegativní; v tom se neliší od jiných bakterií. Bývají ale pleomorfější. U rodu *Clostridium* je přítomnost a pozice endospor užívána jako významný diagnostický znak. Pokuste se u jednoho z vašich kmenů (robustní G+ tyčinky) endospory najít.

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