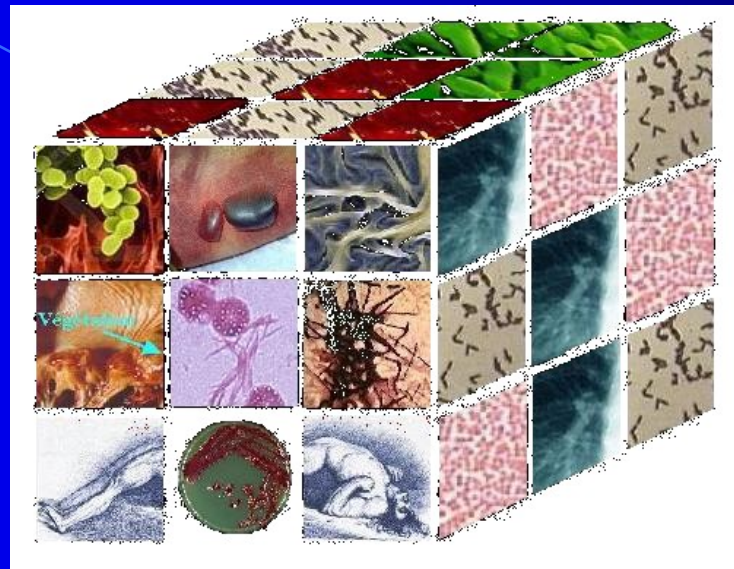


# Úvod k třetímu praktiku



Mikrobiologie a imunologie – RV2BP\_MIKR

Ondřej Zahradníček

zahradnicek@fnusa.cz, 777 031 969

# Přehled mykologické diagnostiky

- **Mikroskopie** – zásadní, hlavně u vláknitých hub
- **Kultivace** – důležitá
- **Biochemická identifikace** – zásadní u kvasinek, u vláknitých hub se nepoužívá
- **Průkaz antigenu** – možný
- **Průkaz protilátek** – hlavně u tkáňových mykóz (aspergilóza například)
- **Citlivost na antimykotika** možná u kvasinek

# Mikroskopie vláknitých hub

- Mikroskopie vláknitých hub se poněkud liší od diagnostiky kvasinek.
- **Mikroskopie** tu má větší význam. Lze pozorovat různé typy spor a konidií.
- Prohlížíme bez imerze, objektivem zvětš. 4× či 10×, 20×, popřípadě 40 ×
- V úkolu A1 si vyberte čtyři druhy vláknitých hub (Rhizopus, Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Microsporum gypseum) a pokuste se je zakreslit



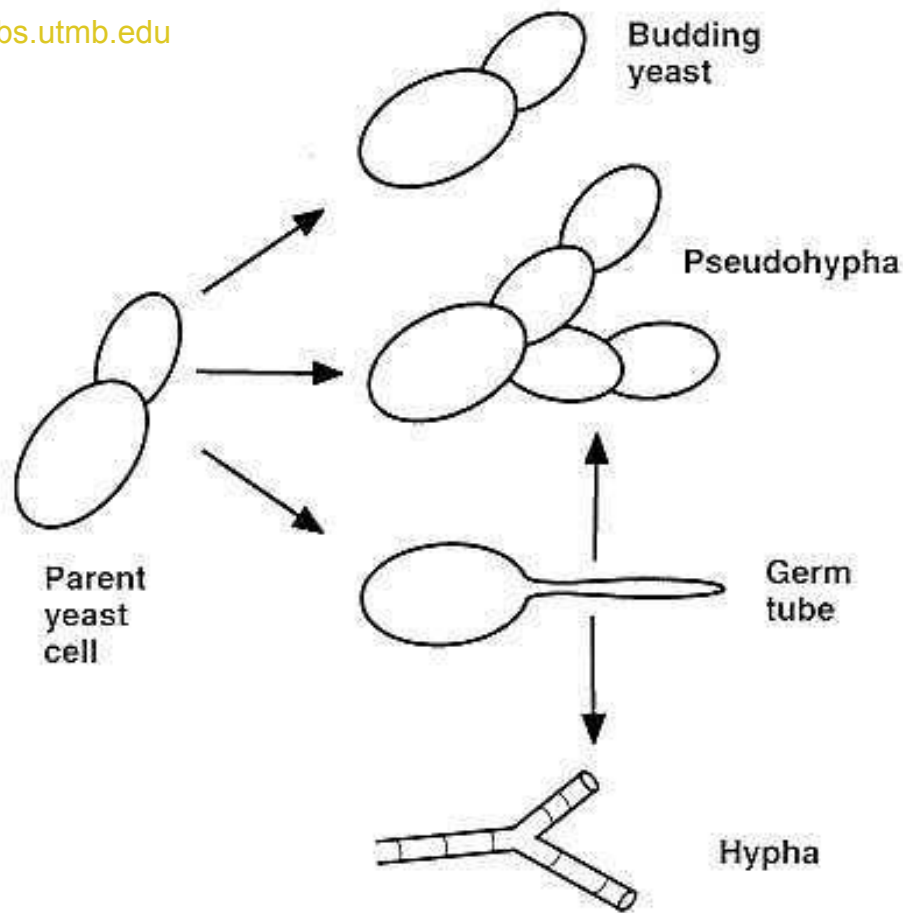
Konopacki  
©2005

HUCK/KONOPACKI TEACHER CARTOONS  
WWW.SOLIDARITY.COM/HKDCARTOONS - OCT

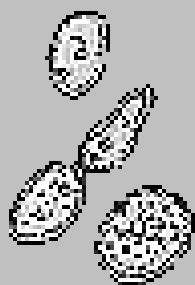
# Jak popsat obrázky mikroskopie hub

- **Blastokonidie** je oválná nebo kulatá buňka, charakteristická pro kvasinky. Často vidíme pučící blastokonidie (blastospory)
- **Hyfa** je vlákno. Může být větvené, může být septované či bez přepážek. Soubor hyf se nazývá **mycelium**, které může být
  - **vegetativní**, ukotvující houbu v substrátu
  - **generativní** neboli vzdušné, nesoucí rozmnožovací struktury houby

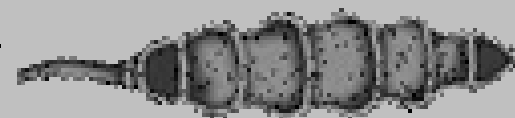
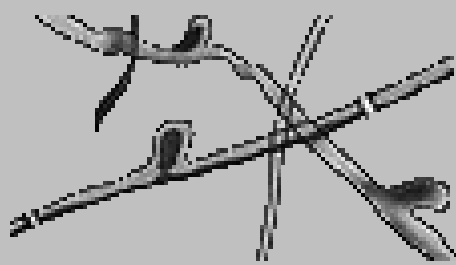
# Některé morfologické útvary hub



● yeast cells ----- budding -----

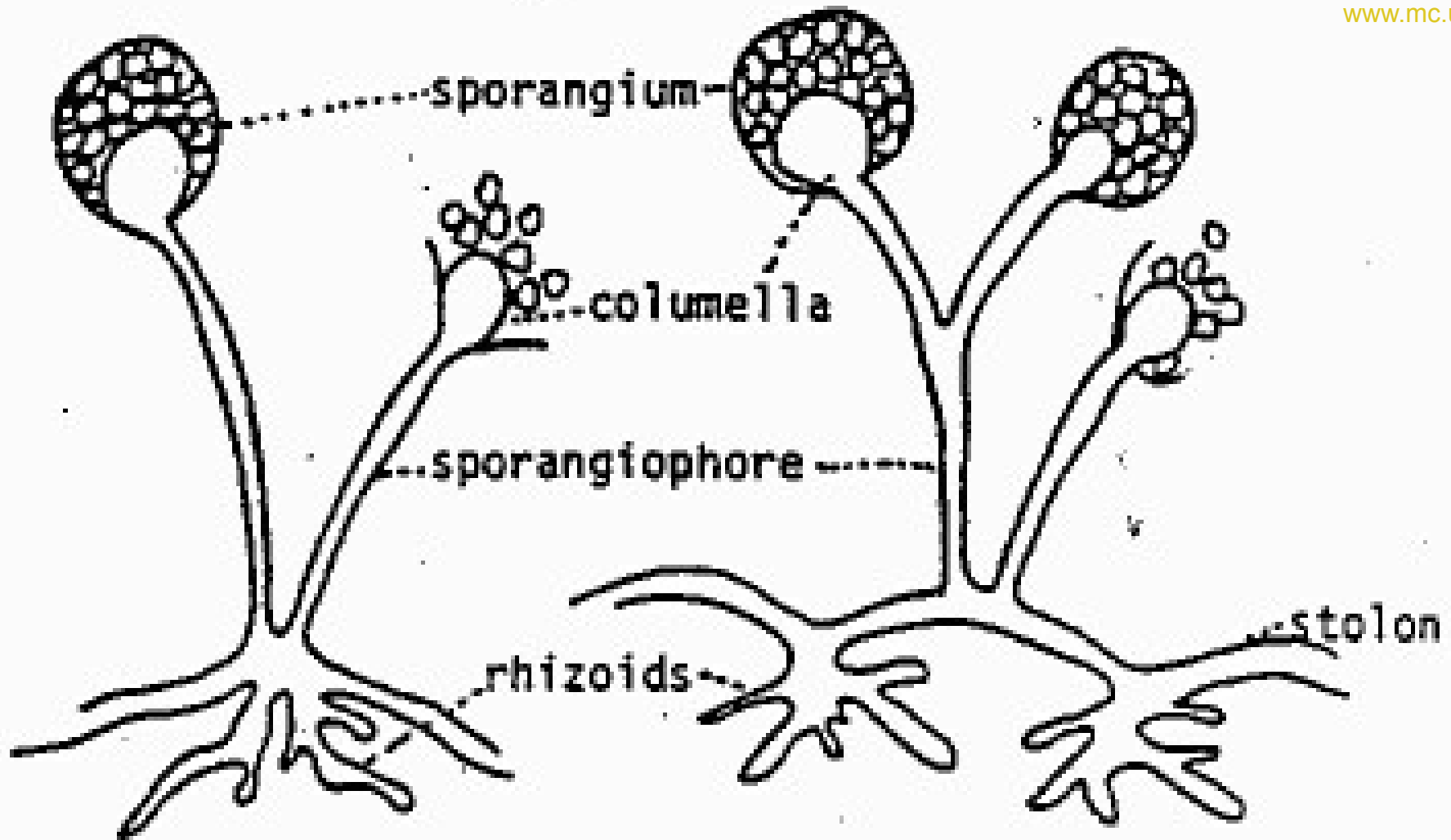


● mycelium ----- microconidia ----- macroconidium

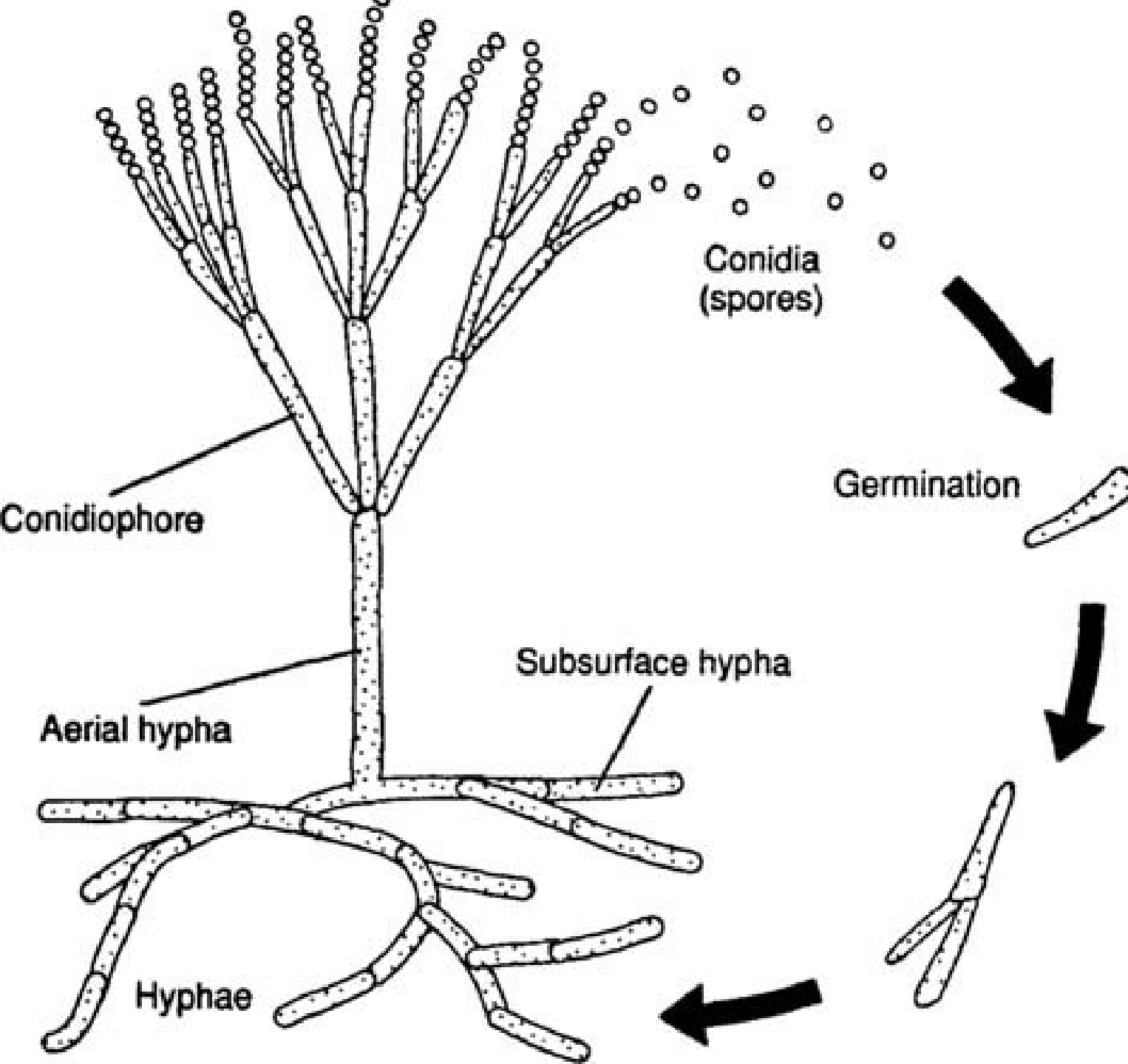


# Jak se jmenují jednotlivé části hub

[www.mc.uky.edu](http://www.mc.uky.edu)



# Životní cyklus jedné houby





# Kultivace vláknitých hub

- Také **vzhled výsledků kultivace** se u vláknitých hub liší od kvasinek i od bakterií, a to jak na Sabouraudově agaru, tak případně i na agaru krevním
- Některé z nich, zejména dermatofyty, rostou velmi pomalu. To kvůli nim se Sabouraudův agar nalévá do zkumavek (v Petriho miskách by za tu dobu vyschl).
- **Úkol A2: Vyberte si libovolný kmen a pokuste se jej zakreslit**

# Chromogenní půda při diagnostice kandid

- Používají se různé chromogenní půdy. Některé odliší pouze *Candida albicans* od ostatních, jiné rozliší vzájemně několik druhů kandid.
- Na půdě CHROMagar, momentálně používané v našich podmínkách je *C. albicans* zelenavá, *C. tropicalis* modrá, *C. glabrata* hladká růžová a *C. krusei* drsná růžová.
- **V první části úkolu A3 se pokuste určit kmeny I a II (třetí řádek vynechejte) podle vzorových kmenů na zbylých šestinách**

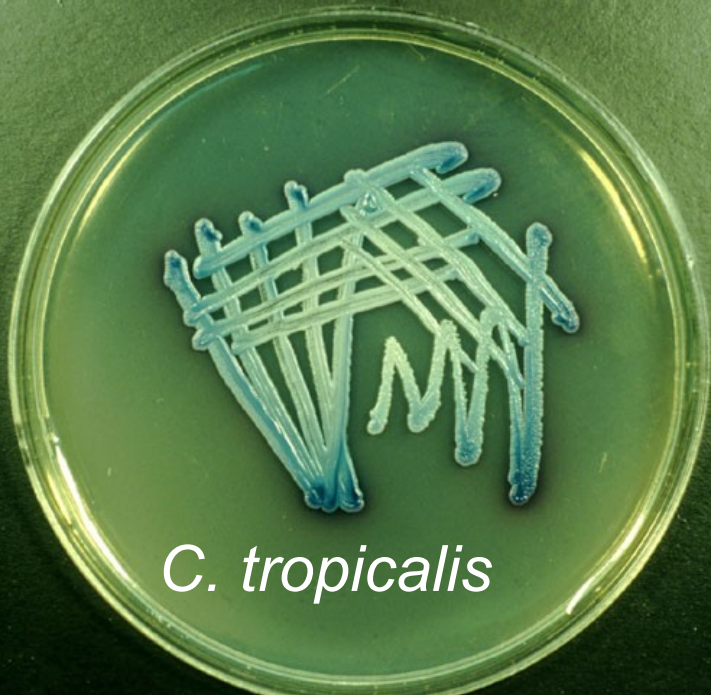
*C. albicans*



*C. glabrata*



*C. tropicalis*



*C. krusei*





# Difúzní diskový test citlivosti na antimikrobiální látky

- Netestuje se citlivost na antibiotika, ale na **antimykotika** (tedy speciální látky proti houbám)
- Houby v tomto testu nekultivujeme na MH, ale **na Sabouraudově agaru**, jinak se ale test podobá testu citlivosti u bakterií (látko difunduje z kulatého disku, zóna větší než referenční = citlivost, žádná nebo malá zóna = rezistence)
- Mimo to existují i soupravy umožňující **stanovení hodnoty MIC** (kvantitativní)

# K odečtu testů na antimykotika

- U amfotericinu B se za citlivý považuje i kmen, který má malou zónu, pokud uvnitř této zóny nejsou viditelné kolonie
- U ostatních antimykotik (těch, co končí na „-konazol“) naopak musí být zóna dost velká, ale připouští se i přítomnost „čehosi“ uvnitř zóny, pokud to „cosi“ svou intenzitou nepřesahuje 20 % intenzity růstu kolem zóny
- **V druhé části úkolu A3 se pokuste určit citlivost kmene I nebo II na antimykotika (vyberte si jeden z nich)**

# Diagnostické metody lékařské parazitologie



## Odběrová souprava na střevní parazity

Ze stránek dodávající firmy

# Odběr materiálu

- Na **střevní parazitózy** se posílá kusová stolice velikosti lískového oříšku
- Na **trichomonózu** se posílá buďto sklíčko na barvení Giemsou (samotné nebo společně se sklíčkem na barvení Gramem, tj. jako klasický MOP), nebo výtěr v soupravě C. A. T. swab
- Na **průkaz akantaméb** se zasílají použité kontaktní čočky ve své tekutině, případně lze provést seškrab rohovky
- U **tkáňových parazitóz** se posílá sérum
- U **ostatních** podle situace (moč, obsah cysty...)

# Diagnostika střevních parazitů

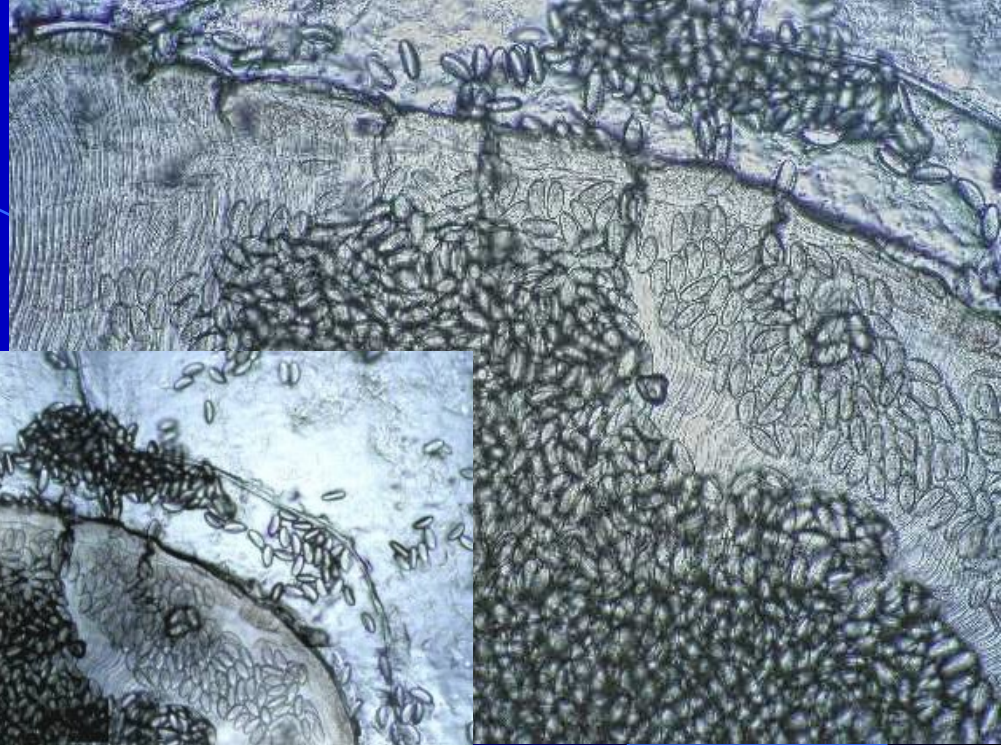
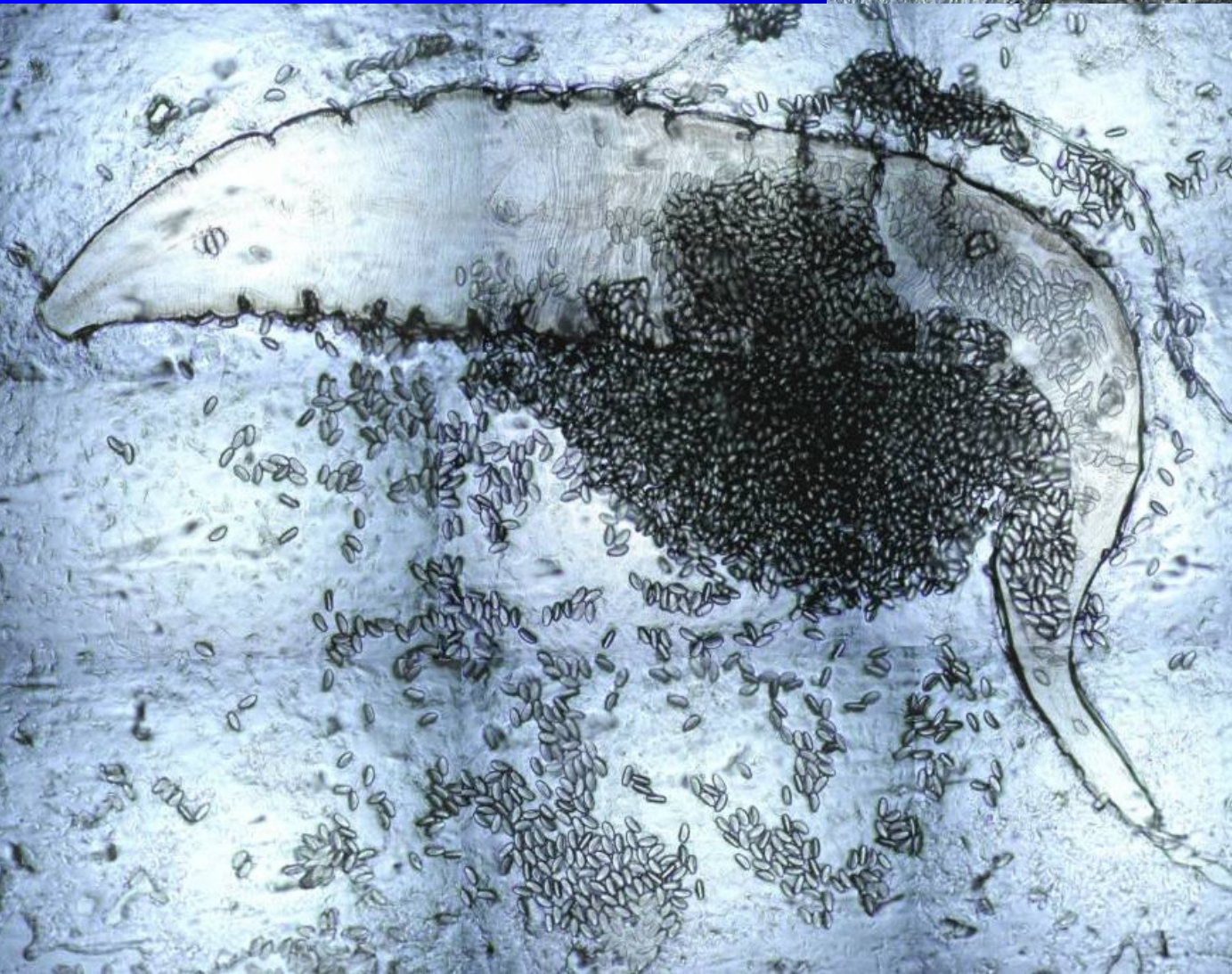
- **Mikroskopie je v každém případě základem**
- **U vajíček červů, popř. článků tasemnic:**
  - Používá se **nativní preparát v různých modifikacích**
    - **Metody dle Kato** s dobarvením pozadí malachitovou zelení
    - **Faustova metoda** je koncentrační
    - **Grahamova metoda** se používá jen u roupů (viz dále)
- **U střevních prvoků (améb, lamblíí)**
  - Používá se barvení, nejčastěji tzv. **trichrom**



# Grahamova metoda v diagnostice roupů

- Spočívá v tom, že pacient se předkloní, roztáhne „půlky“, načež je mu na anální otvor (a hlavně perianální řasy) nalepena **speciální průhledná lepicí páska**. Ta je pak odlepena a **nalepena na podložní sklíčko**
- **Průhlednost pásky je zásadní**, jinak dost dobře nelze mikroskopovat (Jsou i experti, kteří zasílají pásku neprůhlednou, anebo ji celou přelepí štítkem)
- Je **jednodušší než vyšetření stolice**. Používá se však častěji u dětí – dospělí totiž mívají příliš chlupatou řiť, takže provedení metody by bylo obtížné a bolestivé

# Roup s vajíčky



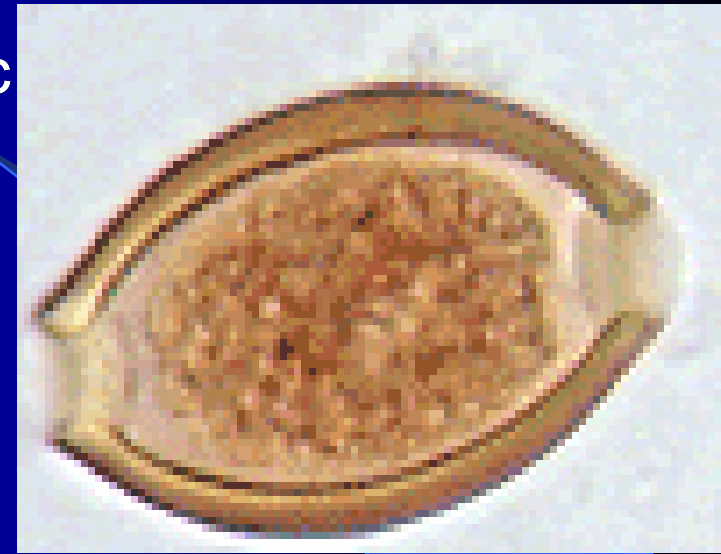
Obrázky: Milada Dvořáčková a  
Ondřej Zahradníček



# Morfologie nejběžnějších vajíček parazitů

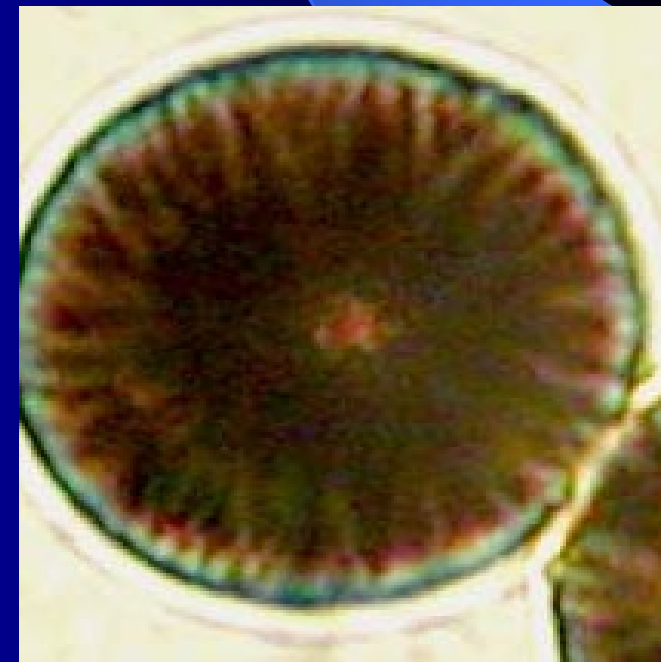


Roup Tenkohlavec  
*Enterobius Trichuris*



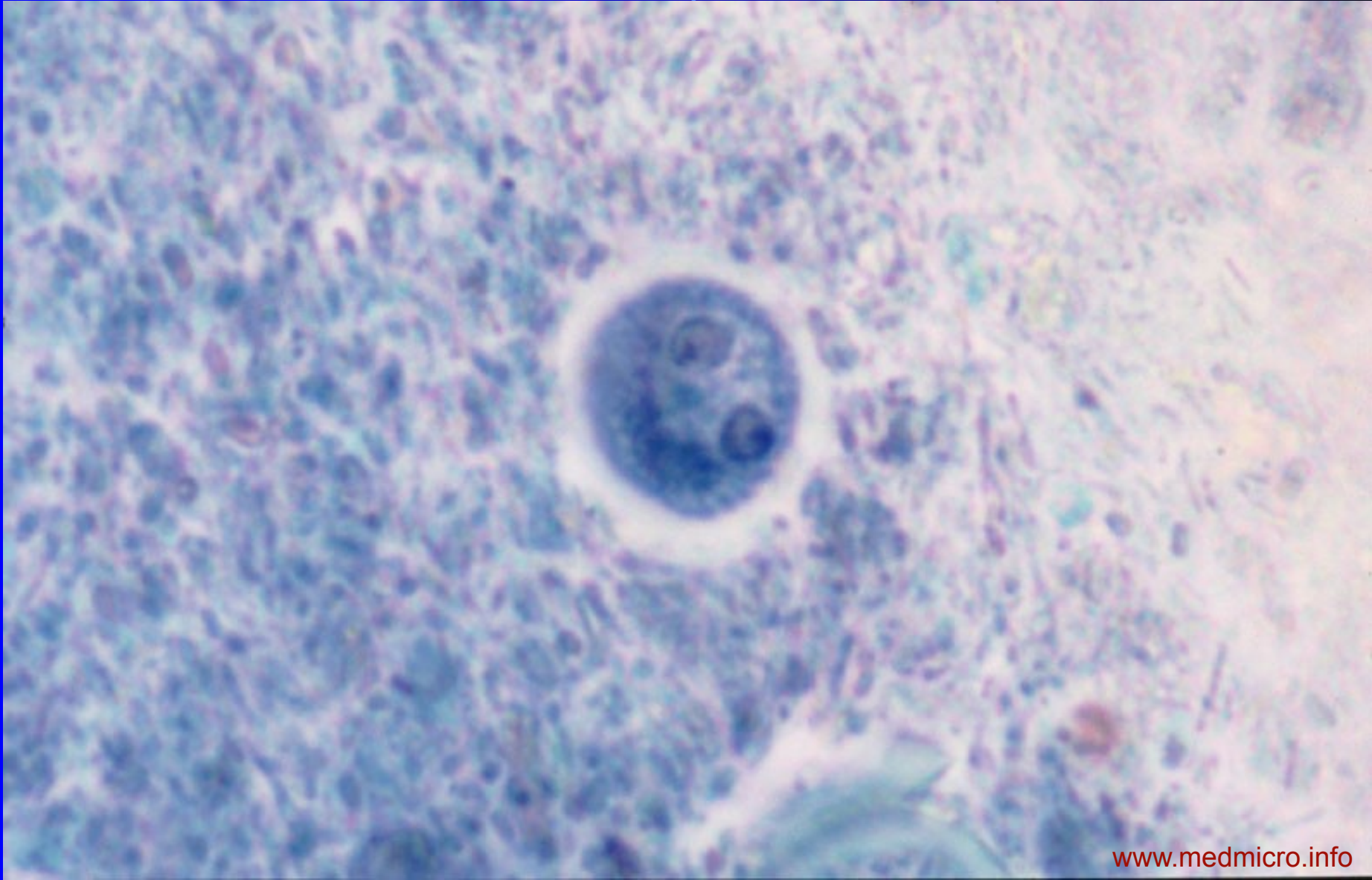
Škrkavka  
*Ascaris*

Tasemnice  
*Taenia*



Obrázky převzaty z CD-ROM „Parasite-Tutor“ –  
Department of Laboratory Medicine, University of  
Washington, Seattle, WA

# *Entamoeba histolytica*, trichrom



# *Entamoeba coli* (cysta)

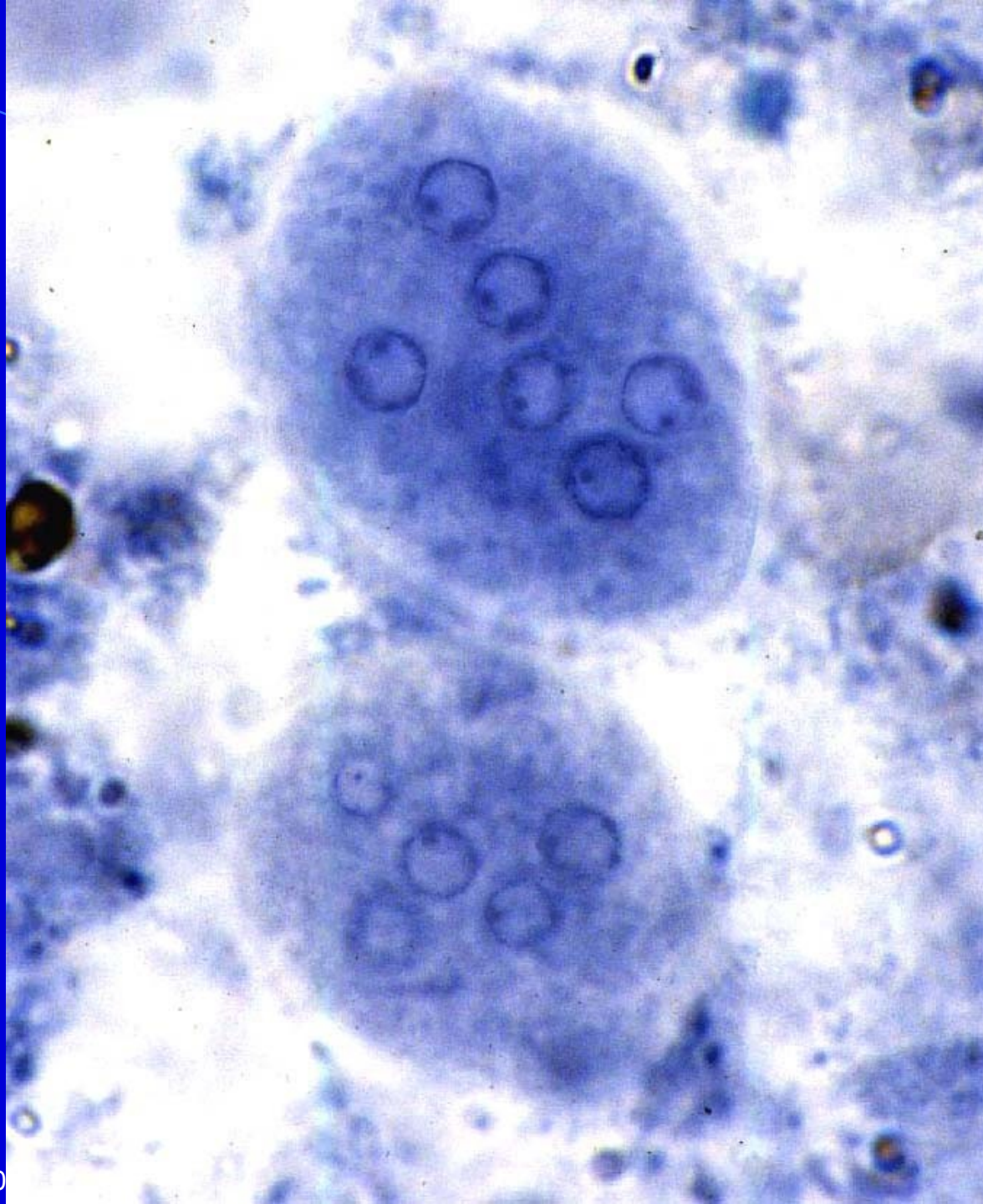


[www.msu.edu/course/zol/316/ameba.htm](http://www.msu.edu/course/zol/316/ameba.htm)

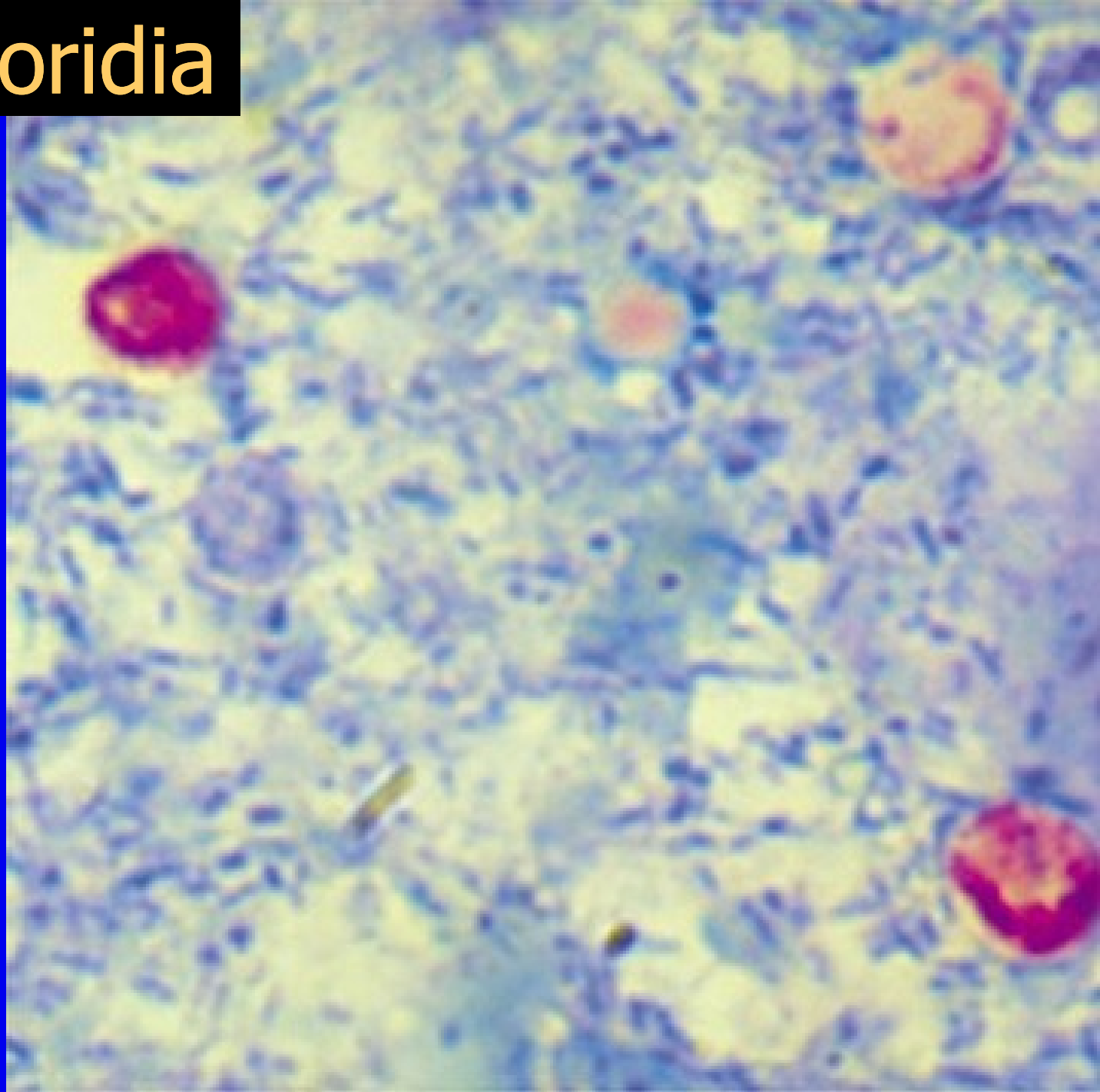
Image from DPDx, the CDC Parasitology Website



*Entamoeba coli* (cysta)



# Kryptosporidia

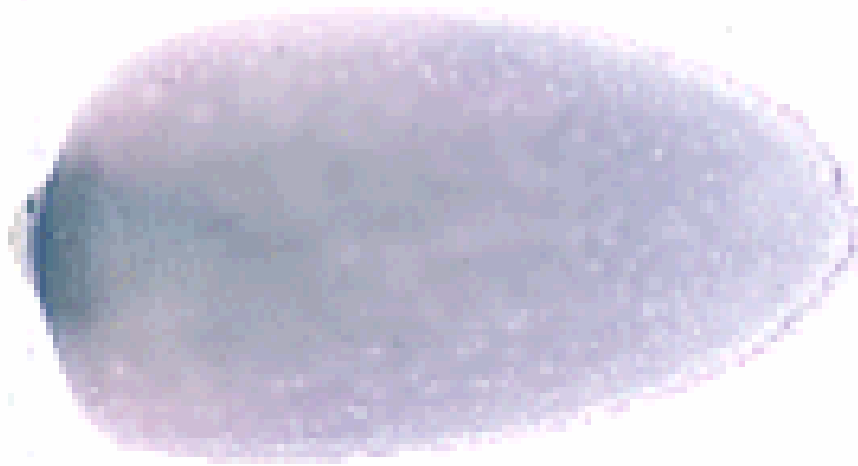


# Diagnostika krevních parazitů: Tlustá a tenká kapka

- V diagnostice krevních parazitů je důležité provedení nátěru metodami tzv. **tenkého nátěru a tlusté kapky**.
- Pro obě metody se používá čerstvá, nebo (provádí-li se nátěr až v laboratoři) nesrážlivá krev. Tenký roztěr se fixuje, tlustá kapka ne. Oboje se pak barví **Giemsovým barvením**.
- Prohlédněte si obrázky na následující obrazovce a krátké videoklipy, z CD-ROMu „Parazite Tutor“.

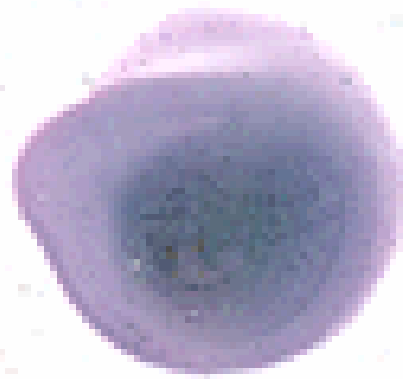


Obrázky  
převzaty z CD-  
ROM „Parasite-  
Tutor“ –  
Department of  
Laboratory  
Medicine,  
University of  
Washington,  
Seattle, WA



SPECIMEN

Tenký nátěr

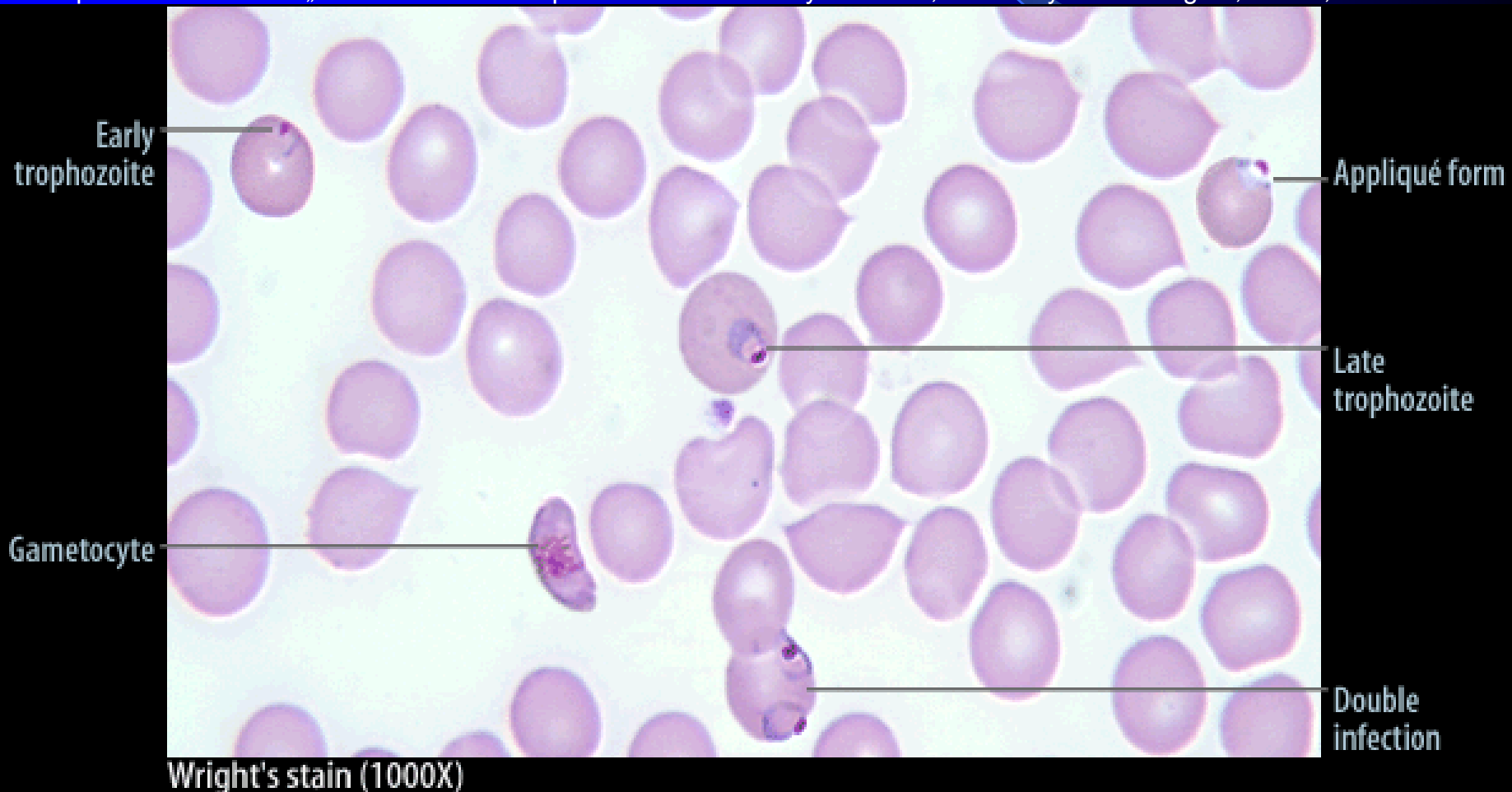


SPECIMEN

Tlustá kapka

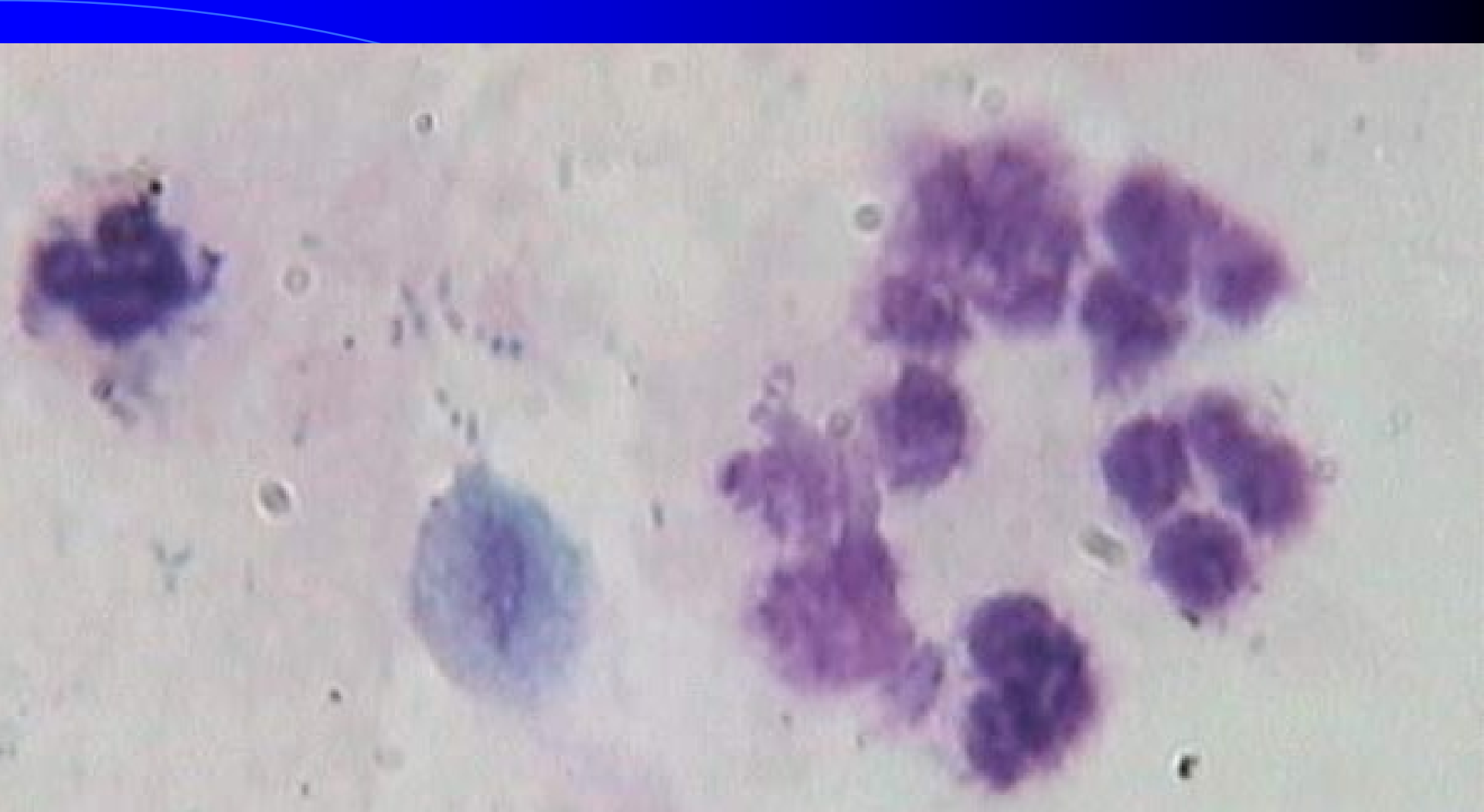
# *Plasmodium falciparum* – „prstýnky“ (trofozoity) a gametocyt

Obrázek převzat z CD-ROM „Parasite-Tutor“ – Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, WA



# Diagnostika trichomonád

- Trichomonády se v poslední době diagnostikují zejména **kultivačně-mikroskopickým vyšetřením**:
  - odebere se **výtěr na tamponu v médiu C. A. T.**
  - médium se nechá **kultivovat** do druhého dne
  - kapka média se **mikroskopuje jako nativní preparát.**
- Tyto preparáty však **nelze uchovat**
- Proto v praxi máme druhý možný způsob – **nátěr na sklíčku barvený dle Giemsy.**



**Photo by: Dr S.M. Sadjjadi**  
**parasito@sums.ac.ir**

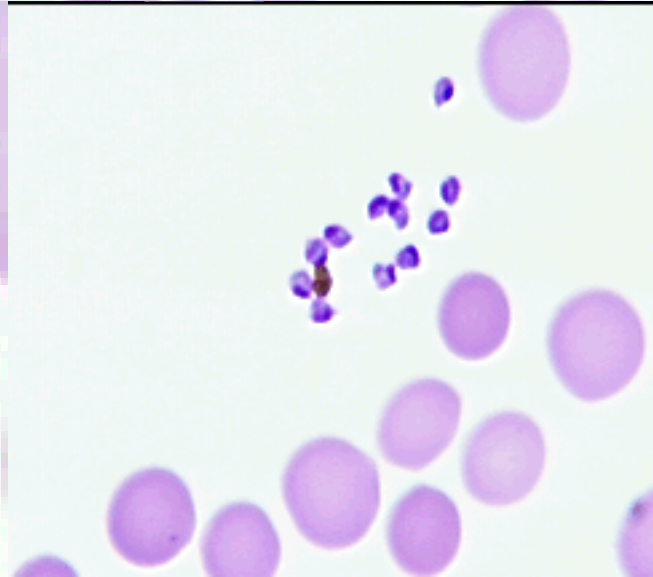
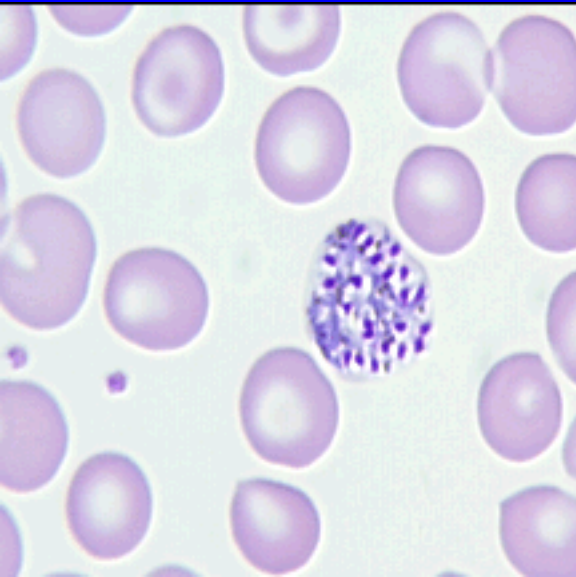
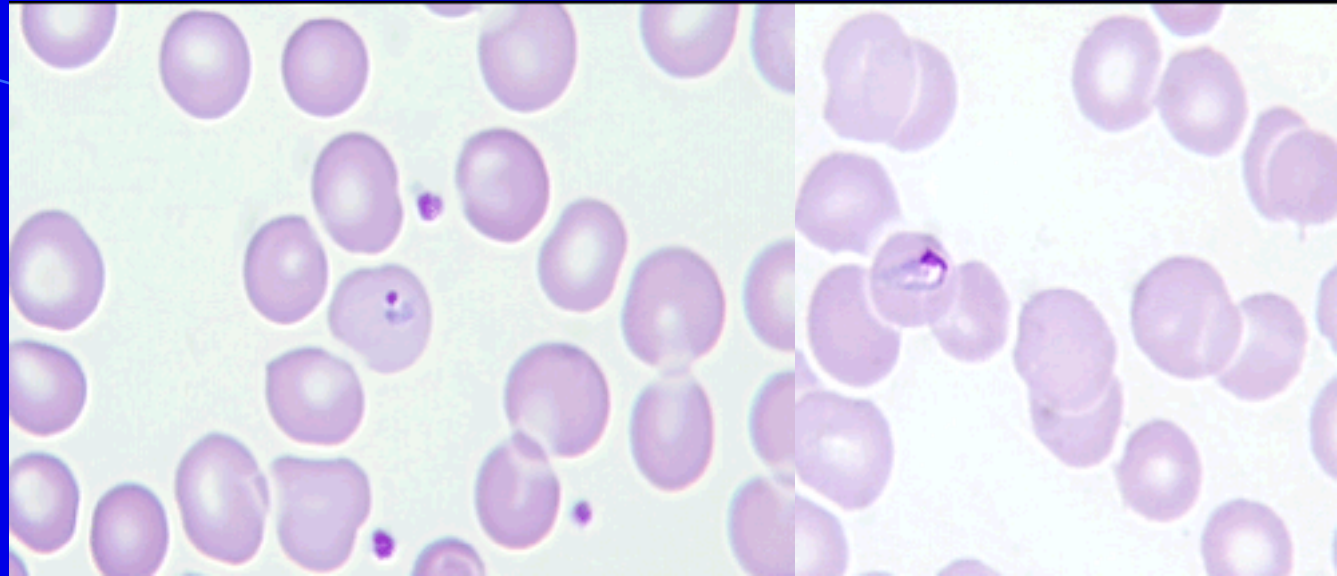
# Modul B – pozorování parazitů

- Prohlédněte si následující parazity:
- **Roup** – z Grahamovy metody, pozoruje se jako nativní preparát bez imerze (mikroskop Ba)
- ***Trichomonas vaginalis*** – Giemsovo barvení, pozoruje se imerzním objektivem (100×, mikroskop Bb)
- ***Plasmodium falciparum*** – Giemsovo barvení, tenký roztěr, mikroskop Bb)
- ***Entamoeba histolytica*** – barvení trichromem, pozoruje se imerzním objektivem (100×, mikroskop Bc)
- ***Cryptosporidium parvum*** – barvení Ziehl-Neelsenem, pozoruje se imerzním objektivem (100×, mikroskop Bc)

# Modul C – další úkoly k parazitům

- C1 – vyberte si dva parazity naložené v lihu a **pokuste se je popsat** nebo alespoň napsat název parazita)
- C2 – **vývojová stádia plasmodií:** viz další obrázek a pomocný text na stole
- C3 – **doplňte vývojová stádia** parazitů podle pomocných textů
- C4 – **dopište** k jednotlivým obrázkům parazitů české, anglické a latinské **názvy** dle pomocného textu

Obrázky převzaty  
z CD-ROM  
„Parasite-Tutor“ –  
Department of  
Laboratory  
Medicine,  
University of  
Washington,  
Seattle, WA



Různá vývojová stádia plasmodií

Hezké léto!  
Rád vás případně  
uvítám u nás na  
ústavu. Také budu  
rád za zpětnou vazbu

Toxoplasmóza  
v uměleckém  
ztvárnění

