

Téma P01: Diagnostika stafylokoků**K nastudování: Rod *Staphylococcus*. (z internetu, učebnic apod.)****Z jarního semestru: Mikroskopie, Kultivace, Biochemická identifikace.****Úkol č. 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, epitelů a vzájemného poměru mezi nimi.

	Popis (napište názvy útvarů a spojte je šipkami s objekty nakreslenými vlevo) <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
--	--

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

Kmen	A	B	C	D
Gramovo barvení – Úkol č. 2				
Kultivace (krevní agar) Úkol č. 3	Velikost			
	Barva			
	Tvar			
	Profil			
	Hemolýza			
Jiné				
Úkol č. 4: růst na KA + 10 NaCl				
Úkol č. 5: kataláza (pište „+“ či „-“)				
DÍLČÍ ZÁVĚR				
Úkol č. 6a: Test Clump. faktor (-/)				
Úkol č. 6b: Plasma-koaguláz. test (+/-)				
Úkol č. 6c: Test hyaluronidázy (+/-)				
Úkol č. 7: STAPHYtest 16				
KONEČNÝ ZÁVĚR				

Úkol č. 2 Mikroskopie kultur mikroorganismů

Obarvěte podle Grama čisté kultury předložených mikroorganismů. Výsledky pozorování zakreslete a запиšte.

Kmen A	Kmen B	Kmen C	Kmen D

Úkol č. 3 Růst na krevním agaru

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

Úkol č. 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 č. 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.

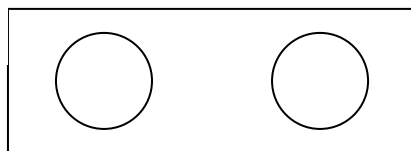
Nyní vyplňte řádek „Dílčí závěr“. Napište STAF, pokud se kmen ukázal být stafylokokem, a JINÝ, pokud je to něco jiného.

Úkol č. 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.

Kmen _____

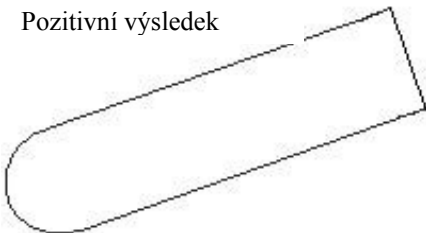


Kmen _____

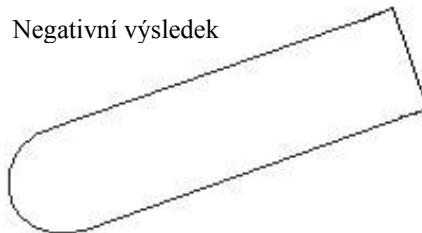
6b) Plasmakoagulázový test (test volné plasmakoagulázy)

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..

Pozitivní výsledek

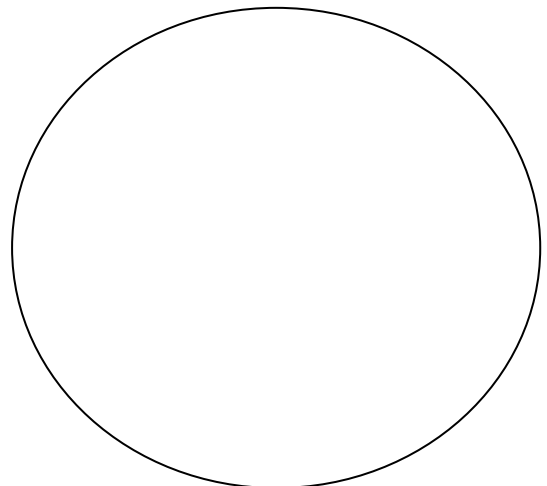


Negativní výsledek



6c) Detekce hyaluronidázy

Na krevním agaru jsme naočkovali asi 2 cm široký pás *Streptococcus equii*, bakterie, která tvoří silné pouzdro s obsahem kyseliny hyaluronové. Kolmo k této čáře 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 naočkováného *Streptococcus equii*. Zakreslete výsledek reakce (včetně pozitivní a negativní kontroly) a popište.



Úkol č. 7 Bližší určení stafylokoků pomocí biochemických testů

Pro identifikaci stafylokoků je určena sada biochemických testů. Podle návodu k použití odečtete výsledky jednotlivých reakcí. Názvy testů i jejich výsledky pro jednotlivé kmeny запиšte a na základě interpretačních tabulek zjistěte, o které druhy stafylokoků jde.

	VPT	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C	2B	2A	
A	+	+	+	-	-	-	+	+	-									
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
	7			0			3											
	Kód:						Identifikace <i>Staphylococcus</i>						% pravděpod.		T index			
	VPT	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C	2B	2A	
B																		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	
Kód:						Identifikace <i>Staphylococcus</i>						% pravděpod.		T index				

Úkol č. 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

Kontrolní otázky

1. Jaké jsou významné charakteristické vlastnosti rodu *Staphylococcus* (metabolické, morfologické a růstové)?

2. Jak odlišíme *S. aureus* od tzv. koagulázanegativních stafylokoků?

<i>S. aureus</i>	Koaguláza negativní stafylokoky
------------------	---------------------------------

3. U kterých dalších stafylokoků, mimo *S. aureus*, se můžeme setkat s přítomností plasmakoagulázy?

4. Co je to clumping factor?

5. Jaká jsou nejvýznamnější protistafylokoková antibiotika?

6. Co je to MRSA a jaké přináší problémy při terapii stafylokokových infekcí?