

P11 Klinická mikrobiologie II – vyšetřování u dýchacích a trávicích infekcí; metody detekce orálního biofilmu

Ke studiu: Infekce různých orgánů a orgánových systémů (z učebnic, WWW atd.); mikroskopie, kultivace, biochemická identifikace

Vyšetřování u infekcí respiračního traktu

Úkol 1: Vyhledávání respiračních patogenů v klinické mikrobiologii

S pomocí učitele a prezentace popište následující obrázek. Poznatky z něj pak využijte v úkolech 2 a 3.

disk obsahuje _____

možný patogen _____

možné patogeny _____

disk obsahuje _____ a _____

možný patogen (drobné, bezbarvé kolonie, hemolýza) _____

možný patogen (trochu větší, bílé kolonie, hemolýza) _____

Kultivovatelnou složku mikrobiomu ve faryngu tvoří hlavně

a) _____ vzhled: _____

b) _____ vzhled: _____

čára naočkovaná bakterií _____ kvůli kultivaci _____

Úkol 2: Vyšetření u akutní bronchopneumonie

Pro tuto kasuistiku, dokumentovanou průvodkou, se pokuste vyšetřit odpovídající vzorek (sputum), nalézt patogena, učinit závěr a interpretovat jej. Postupně vyplňte jednotlivá políčka v „obrazovce laboratorního informačního systému“. Pro mikroskopii použijte obrázek z předchozího praktika studentů všeobecného lékařství.

Kód pojišťovny 1 1 1	požaduje díl A	IČP 7 2 1 2 3 4 5 6 Odbornost 7 8 9 1 5 1 2 0 8	Datum	Čís. dokladu	Poř. č.
POUKAZ NA VYŠETŘENÍ / OŠETŘENÍ					
Pacient	Linda Zelená				
Č. pojištěnce	*1932	akutní bronchopneumonie, 38,5 °C, diabetička			
Variabilní symbol					
Odeslán ad:	Kód náhrady				
Požadováno:	sputum na bakteriologické vyšetření				
Poznámka:					
72 123 456	Dr. Mikrob. Prášný praktický lékař G. M. z. 1. Brno				
	Dne: _____				
	razítko a podpis				
VZP-06x/1999					

Pacientka: Linda Zelená*1932 Dg.: Pneumonie, diabetes					
Vzorek: Sputum Objednavatel: Dr. Mikrob Strašlivý					
Mikroskopie: epitellie: leukocyty: G+ koky ve dvojicích: G+ koky v řetězcích: G+ koky ve shlucích: G+ tyčinky:			G- diplokoky: G- tyčinky: kvasinky: Jiné:		
Bakterie A: popis	Závěr:	Interpretace			
Bakterie B: popis	Závěr:	Interpretace			
Bakterie C: popis	Kataláza	10 % NaCl	Hyaluronidáza	Závěr:	Interpretace

Test citlivosti na antibiotika (bakterie C) – studenti Bi7170c z časových důvodů neprovádějí

Cefoxitin (FOX)*	R < 22 C ≥ 22		Ko trimoxazol (SXT)	R < 14 C ≥ 17	
Erythromycin (E)	R < 18 C ≥ 21		Tetracyklin** (TE)	R < 19 C ≥ 22	
Clindamycin (DA)	R < 19 C ≥ 22		Chloramfenikol (C)	R < 18 C ≥ 18	

zapisujte C = citlivý, R = rezistentní, případně I = intermediární

*interpretuje se jako oxacilin a další betalaktamy

**výsledek testu citlivosti platí i pro doxycyklin

Konečný závěr a doporučení léčby: _____

a) Mikroskopie sputa

Prohlédněte si nátěr připravený z vašeho vzorku. Pokuste se identifikovat jednotlivé objekty (bakterie, hostitelské buňky). Vyplňte políčko „Mikroskopie“ takto:

- +++ = více než 10 objektů v zorném poli
- ++ = méně než 10 objektů v zorném poli
- + = jen řídce (jeden či méně objektů na zorné pole)
- 0 = nepřítomno

b) Popis bakterií

Na krevním agaru popište velikost, barvu a hemolytické vlastnosti daných bakterií. Jiné vlastnosti nepopisujte. Vezměte v úvahu, že na Endově půdě žádné bakterie nerostly. Bakterie A a B by měly být takové, které lze považovat za součást běžné flóry. Bakterie C bude patogen, který bude blíže testován v části c) a d).

c) Další testy

Vyplňte výsledek katalázového testu, růst na krevním agaru s 10 % NaCl a hyaluronidázový test

d) Citlivost na antibiotika

Vyplňte test antibiotické citlivosti u bakterie C. Napište vždy název antibiotika a „C“ nebo „R“ (citlivé či rezistentní). Hraniční zóny máte na stole.

e) Končební závěr.

Pokuse se formulovat závěr pro obvodního lékaře.

Jméno _____ Bi7170c Red box tým _____ Datum 26. 11. 2019 Strana 2/6

Pacientka Cecílie Hnědá, *1984				Dg.: Akutní průjem	
Endova půda (24 h)	Půda XLD (24 h)	Endova půda (subkultivace)	Půda MAL (subkultivace)	Půda CIN (48 h)	Půda CCDA (48 h)
<i>E. coli</i>	negativní			Konečný závěr a interpretace:	
Další testy					
Hajnova půda					
Serotypizace					

Úkol 6: Odběr stolice na vyšetření různých patogenů a toxinů

Pro některé účely lze zasílat výtěry z konečníku. V jiných případech je nutno zaslat skutečný vzorek stolice, někdy dokonce při chladničkové teplotě.

Vyplňte následující tabulku.

Stolice zaslána na	Typ vzorku	Stolice zaslána na	Typ vzorku
bakteriologii		virologii – izolace viru	
mykologii		parazitologii	
virologii – průkaz antigenu		detekce toxinu <i>Clostridioides difficile</i>	

Úkol 7: Mikroskopie orálního biofilmu

Prohlédněte si dvě skla s preparáty zubního plaku. První sklo je obarveno podle Grama, druhé je obarveno alcianovou modří (barvivo selektivně se vážící na polysacharidy): fixovaný preparát se polije alcianovou modří a barví asi 5 minut, poté se sklo lehce opláchne, opatrně osuší a kápne se kapka parafinového oleje.

Popište a zakreslete sledované útvary. Všimněte si shluků bakterií a v preparátu barveném alcianovou modří obarvené extracelulární polysacharidové substance (v preparátu barveném Gramem je nevidíte)

Gramovo barvení	Alcianová modř

Úkol 8: Vliv čištění zubů na orální biofilm

Vypláchněte si ústa roztokem předloženého barviva dle pokynů vyučujícího a prohlédněte. Zbarvená místa jsou pokryta biofilmem. Popište místa, kde se biofilm usazuje nejvíce, případně kde nebyl biofilm odstraněn při čištění zubů. Poté si zuby vyčistěte, máte-li čím.

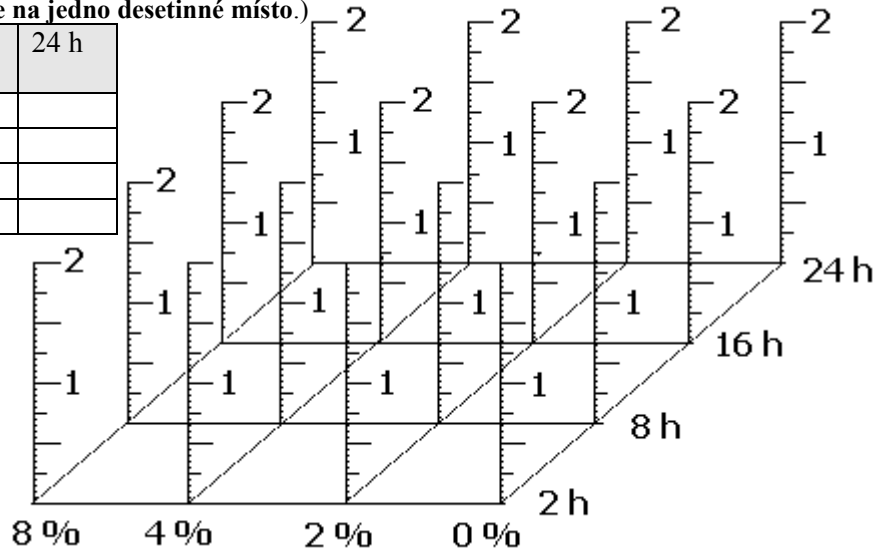
Výsledek: Biofilm se nejvíce usadil na těchto místech: _____

Úkol 9: Vliv přítomnosti sacharidů na dynamiku růstu biofilmu

Do jednotlivých důlků mikrotitrační destičky obsahující BHI médium doplněné 0 %, 2 %, 4 %, 8 % glukózy byl inokulován kmen *Streptococcus mutans*. Po 2, 8, 16, 24 hodinách kultivace při 37 °C byly příslušné důlky třikrát promyty. Vrstva vytvořeného biofilmu, která zůstala pevně adherovaná na stěnách jamek mikrotitrační destičky, byla obarvena 20minutovým působením genciánové violeti. Přebytečné barvivo bylo odstraněno z jamek opatrným promytím. Intenzita zbarvení jamek se měří spektrofotometrem a odpovídá tloušťce vytvořené biofilmové vrstvy.

Na přiloženém papíře jsou výsledky spektrofotometrického měření intenzity zbarvení důlků. Z předložených výsledků sestrojte prostorový graf dynamiky tvorby biofilmu v závislosti na čase a koncentraci glukózy. (Pro každou koncentraci a čas je změřeno šest důlků, **vyberte vždy hodnotu přibližně průměrnou, není nutno počítat průměr přesně, zaokrouhlete na jedno desetinné místo.**)

Průměrné hodnoty*	2 h	8 h	16 h	24 h
0 %				
2 %				
4 %				
8 %				



* hodnoty absorbance, **přibližný** průměr ze všech šesti důlků, které byly podrobeny stejné koncentraci glukózy po stejný čas

Jak ovlivňuje doplnění média glukózou tvorbu biofilmu?