

Mikroby lidského těla – téma P1 – protokol pro praktické cvičení

Modul A: mikroskopie

A1 – Mikroskopie kmenů bakterií a kvasinek

Zakreslete a popište pozorované kmeny

Kmen	Nákres (5 až 10 buněk)	Popis	Kmen	Nákres (5 až 10 buněk)	Popis
A			D		
B			E		
C			Případné poznámky:		

A2 – Mikroskopie patientských vzorků

Zakreslete a popište dva různé vzorky od pacientů

Vzorek	Popis	Obrázek	Popisky nalezených útvarů
F	Sputum, vykašlané pacientem (materiál z dolních cest dýchacích)		
G	Hnis z mužské urethry od pacienta s kapavkou		

Modul B: kultivace a PCR

B1 – Nejdůležitější kultivační půdy

Prohlédněte si předložené kultivační půdy a запиšte jejich barvu a použití. Tekuté půdy z technických důvodů nelze demonstrovat, proto jsou údaje, které k nim patří, již vyplněny

Název půdy	Tekutá/pevná, miska/zkumavka	Barva	Typ půdy (selektivní, ...)	Baktérie, pro něž je půda určena
1. bujon	tekutá	žlutá	pomnožovací	Všechny běžné striktně aerobní i fakultativně anaerobní bakterie
2. VL-bujon	tekutá	žlutá, přelita vrstvou parafinu	pomnožovací	Striktně anaerobní bakterie
3. selenitový bujon	tekutá	světle žlutá	selektivně pomnožovací	salmonely
4. Sabouraudův agar				
5. Löwenstein-Jenssen				
6. Krevní agar (KA)				
7. Endova půda				
8. Müllerův Hintonové agar				

9. KA s 10 % NaCl				
10. VL krevní agar				
11. Půda XLD				
12. Čokoládový agar				
13. Levinthalův agar				
14. Slanetz-Bartleyho agar				

B2 – Kultivace běžné flóry z povrchu těla

Prohlédněte si kultivační výsledek otisků různých částí lidského těla na plotnu s krevním agarem a запиšte, kde jsou přítomny mikroby a případně jak přibližně vypadají jejich kolonie (bílé, šedé, velké, malé apod.)

Místo	Popis výsledků
Palec	
Rty	
Jazyk	
Penis	

B3 – Kultivace běžné flóry z tělních otvorů

Prohlédněte si kultivační výsledek výtěrů z různých otvorů zdravého dobrovolníka na krevním agaru, případně i na Endově půdě, a запиšte, jak vypadají mikroby, které jsou přítomny

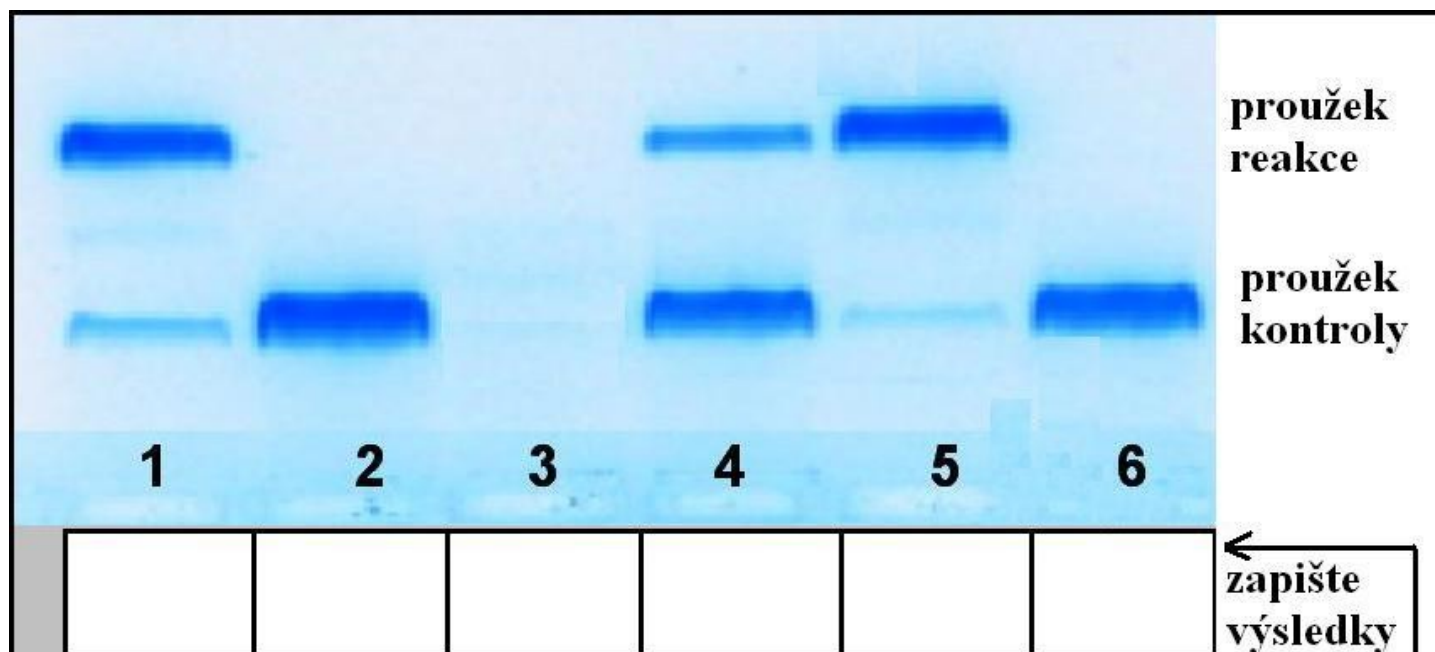
Místo	Popis výsledků
Krk	
Nos	
Ucho	
Řiť	

B4 – PCR

U PCR je nutno izolovat ze vzorku DNA, poté provést její amplifikaci a pak ji prokázat například gelovou elektroforézou, jako máme na obrázku.

V případě reakce PCR je důležité nejen vyhodnotit pozitivitu či negativitu, ale také zabránit falešné negativitě. Ta může být způsobena tím, že vzorek obsahuje nějakou složku, která brání jakékoli amplifikaci DNA. To se pozná tím, že negativní je nejen reakce vzorku, ale i reakce interní kontroly. **Pokud je reakce interní kontroly přítomna a reakce vzorku negativní, jde o negativní výsledek. Pokud přítomna není ani jedna reakce, jde o inhibiční reakce.** Pozor, pokud je pozitivní reakce vzorku, jde o pozitivní výsledek, dokonce i v případě, že reakce interní kontroly je negativní (u výrazně pozitivních vzorků může vzorek spotřebovat veškeré nukleotidy tak, že na interní kontrolu žádné nezbudou).

Prohlédněte si následující obrázek, a dle uvedeného textu vyhodnoťte výsledky (zapište „pozitivní“, „negativní“ nebo „inhibiční reakce“).



Modul C: identifikace bakterií

C1 – Identifikace kombinací různých metod.

Použijte „Klíč k určování mikrobů“ a určete následující druhy mikrobů

Grampozitivní kok, kataláza negativní, neroste na Slanetz-Bartleyho půdě, viriduje, optochin pozitivní	
Gramnegativní tyčinka, roste na Endově agaru, Hajnova půda zůstává červená, je zelená, voní po jasmínu, má pozitivní oxidázovou reakci	
Gramnegativní kok, oxidáza pozitivní, INAC negativní, roste na čokoládovém, ale i na bohatším krevním agaru	

C2 – Identifikace uvnitř bakteriální čeledi.

Na základě výsledku biochemického testu dvou bakterií (viz obrázky) určete, o které bakterie jde. Použijte přitom předložené pomůcky.

	ONPG	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C	2B	2A
Kmen:																	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
	Kód:						Identifikace						% pravd.		T index		
	ONPG	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C	2B	2A
Kmen:																	
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
	Kód:						Identifikace						% pravd.		T index		