

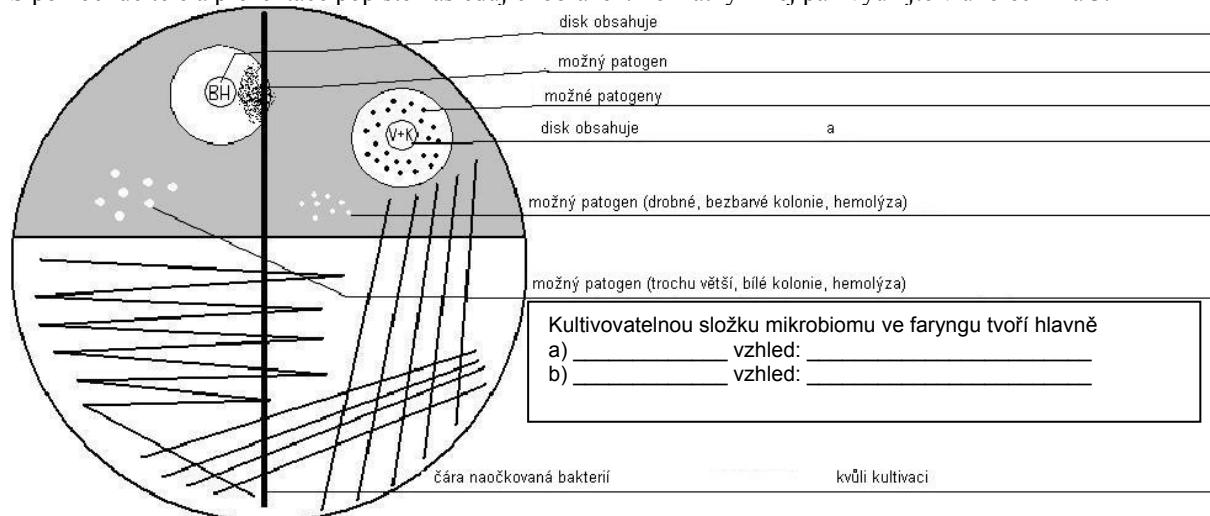
P11 Klinická mikrobiologie II – vyšetřování u dýchacích a trávicích infekcí; metody detekce orálního biofilmu

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.



Úkol 2: Vyšetření u akutní bronchopneumonie

Pro tuto kasuistiku, dokumentovanou průvodkou, se pokusete 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 pojištovny 1 1 1	požaduje dřl A	IČP 7 2 1 2 3 4 5 6	Datum Odbornost 7 8 9 1 5 1 2 0 8	Čís. dokladu provedl dřl B	Poř. č.: _____
POUKAZ NA VYŠETŘENÍ / OŠETŘENÍ					
Pacient Linda Zelená	Č. pojištěnce *1932	akutní bronchopneumonie, 38,5 °C, diabetička			
Variabilní symbol _____	Odeslán ad:	Kód nahradý _____			
Požadováno: sputum na bakteriologické vyšetření					
Poznámka: <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">72</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">Dr. Mikrobiologický</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">123</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">praktický lékař</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">456</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">Gru. pozitivní 8. Brno</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">_____</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">razítko a podpis lékaře</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">VZP-06x/1999</div> </div>					
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">Dne:</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">_____</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; margin-right: 10px;">razítko a podpis</div> </div>					

Pacientka: Linda Zelená *1932 Dg.: Pneumonie, diabetes					
Vzorek: Sputum Objednавatel: Dr. Mikrob Strašlivý					
Mikroskopie: epitelie: leukocyty: G+ koky ve dvojicích: G+ koky v řetízcích: G+ koky ve shlucích: G+ tyčinky: 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	

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

*interpretuje se jako oxacilin a další betalaktamy

**výsledek testu citlivosti platí i pro doxyeyklin

Konečný závěr a doporučení léčby: _____

a) Mikroskopie sputa

Prohlédněte si nátěr připravený z vašeho vzorku. Pokuste se identifikovat jednotlivé objekty (bakterie, hostitelské buňky). Vyplňte poličko „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 nepopisuji. 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“ (citolivé či rezistentní). Hraniční zóny máte na stole.

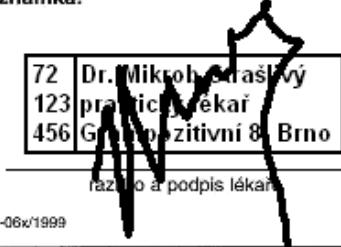
e) Končený závěr.

Pokuse se formulovat závěr pro obvodního lékaře.

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

Úkol 3: Vyšetření u akutní tonsilitidy

Také u této kasuistiky, dokumentované průvodkou, se pokusete vyšetřit příslušný vzorek (výtěr z krku), najít patogena a učinit závěr a interpretovat jej. Postupně vyplňte jednotlivá políčka v „obrazovce laboratorního informačního systému“. Způsob vyplnění viz u předchozího úkolu.

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	
POUKAZ NA VYŠETŘENÍ / OŠETŘENÍ					
Pacient Č. pojištěnce Variabilní symbol	Martin Modrý *1991	akutní tonsilitis, 38,8 °C	provedl díl B	Poř. č.	
Odeslán ad:		Kód náhrady			
Požadováno: výtěr z krku na bakteriologické vyšetření					
Poznámka: <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;">  <p>72 Dr. Mikrob Strašlivý 123 praktický lékař 456 Grupe pozitivní 8 Brno razítko a podpis lékaře</p> <p>VZP-06x/1999</p> </div> <div style="flex: 1; background-color: #cccccc; padding: 10px; margin-left: 20px;"> <p>Dne:</p> <p style="text-align: center;">razítko a podpis</p> </div> </div>					

Pacient Martin Modrý *1991 Dg.: Akutní tonsilitis						
Vzorek: Výtěr z krku Objednavatel: Dr. Mikrob Strašlivý						
Bakterie A: popis	Závěr:	Interpretace				
Bakterie B: popis	Závěr:	Interpretace				
Bakterie C: popis	Kata-láza	Slanetz Bartley	PYR	CAMP	Závěr:	Interpretace

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

Penicilin (P)	R < 18 C ≥ 18		Chloramfenikol (C)	R < 19 C ≥ 19	
Erythromycin (E)	R < 18 C ≥ 21		Tetracyklin* (TE)	R < 20 C ≥ 23	
Klindamycin (DA)	R < 17 C ≥ 27		Vankomyein (VA)	R < 13 C ≥ 13	

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

*interpretuje se jako oxacilin a další betalaktamy

**výsledek testu citlivosti platí i pro doxyceyklin

Konečný závěr a doporučení léčby: _____

Úkol 4: Vhodné vzorky u různých respiračních chorob

S pomocí prezentace najděte vhodné vyšetřovací postupy pro různé klinické situace

Podezření na	Typ vzorku	Podezření na	Typ vzorku
rhinitis		bronchitis	
sinusitis		akutní pneumonie (hnisavá expektorace)	
pharyngitis		subakut. pneumonie (suchý kašel)	
chřipku		plicní aspergilózu	

Vyšetřování gastrointestinálního systému**Úkol 5: Vyšetření u akutního průjmu**

V tomto případě byla do laboratoře zaslána stolice. Je třeba vědět, že stolice normálně obsahuje striktně anaerobní flóru, která však nemůže být nalezena při normální kultivaci, neboť ta je pouze aerobní. Ani enterokoky běžně nenalezáme, protože součástí běžného vyšetření stolice není použití krevního agaru. Na druhou stranu ve stolici často nacházíme zástupce čeledi *Enterobacteriaceae*, a to jak součásti normální flóry (příčemž některé kmeny mohou vykazovat zvýšenou virulenci, např. EPEC u *E. coli*) tak i obligátní patogeny (*Salmonella*). – Výsledky kultivace posuzujeme po 24 h (přímá kultivace na Endově agaru a XLD) a 48 h (přímý výsledek kultivace kampylobakteria na půdě CCDA a yersinie na půdě CIN agar, a subkultivace ze selenitového bujónu na Endovu půdu a MAL agar). Ve vašem případě byl již odečet za 24 h proveden. Proveďte vyhodnocení za 48 hodin, proveděte další testy a učiňte závěr.

Pozor: Na půdách jako je XLD, MAL, CIN či CCDA zapište nález jako „suspektní“ pouze pokud se podobá pozitivní kontrole (na bočním stole). Všechny ostatní nálezy (buď negativní, anbo „něco roste, ale nevypadá to jako kontrola“) se považují za negativní!

Kód pojišťovny 1 1 1	posouzenuje dříl A	IČP 7 2 1 2 3 4 5 6 Odbornost 7 8 9 1 5 1 2 0 8	Datum
POUKAZ NA VÝSETRĚNI / OŠETŘENÍ			
Pacient Cecília Hnědá	Č. pojištěnce 1983	Akutní průjem	
Variabilní symbol			
Odeslaný ad:		Kód náhrady	
Požadováno: Bakteriologické vyšetření stolice			
Poznámka:  <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> 72 Dr. Mikolášek 123 právnická 456 Gastrozdrav Brno razítka a podpis lékaře </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> Dne: razítka a podpis </div>			

Patientka 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>Clostridoides difficile</i>	

Úkol 7: Mikroskopie orálního biofilmu

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

Popište a zakreslete sledované útvary. Všimejte si shluků bakterií a v preparátu barveném alciánovou modří obarvené extracelulární polysacharidové substance (v preparátu barveném Gramem je neuvidíte)

Gramovo barvení	Alciánová 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: _____

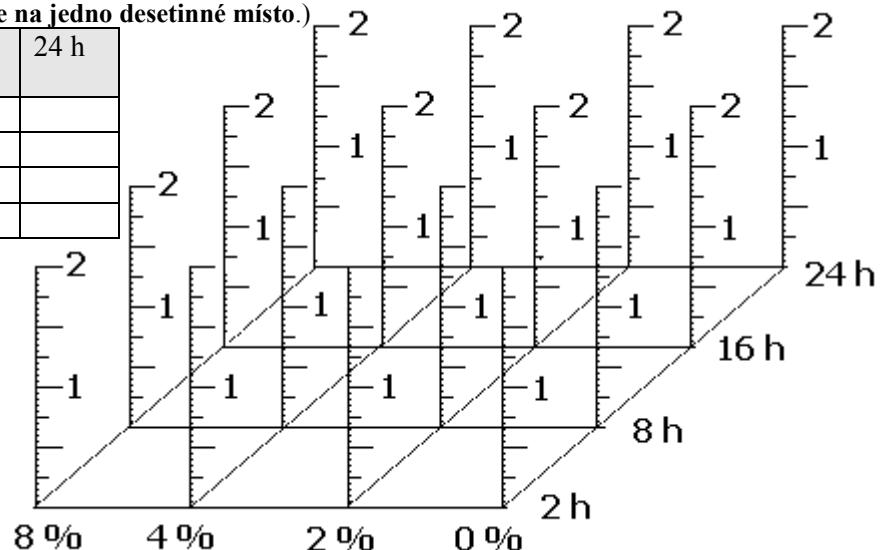
Úkol 9: Vliv přítomnosti sacharidů na dynamiku růstu biofilmu

Do jednotlivých důlků mikrotitrační destičky obsahující BHI médium doplněné 0 %, 2 %, 4 %, 8 % glukózy byl inkulován 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 stejně
koncentraci glukózy
po stejný čas



Jak ovlivňuje doplnění média glukózou tvorbu biofilmu?