

učební texty Univerzity Karlovy

Helena Žemličková
a kolektiv

PRAKTIKUM LÉKAŘSKÉ MIKROBIOLOGIE

Praktikum lékařské mikrobiologie

Helena Žemličková a kolektiv

Recenzovali:

prof. MUDr. Miroslav Šplího, DrSc.

doc. Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.

Autorský kolektiv:

doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.

MVDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.

MUDr. Kateřina Neradová

MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D.

MUDr. Kristýna Vavřková

doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.

Vydala Univerzita Karlova, Nakladatelství Karolinum

Praha 2019

Sazba DTP Nakladatelství Karolinum

Vydání první

© Univerzita Karlova, 2019

© Helena Žemličková et al., 2019

ISBN 978-80-246-4378-6

ISBN 978-80-246-4398-4 (pdf)



Univerzita Karlova
Nakladatelství Karolinum

www.karolinum.cz
ebooks@karolinum.cz

OBSAH

Úvod	7
1 Srovnání účinnosti mýdla a dezinfekce pomocí otiskové metody	9
2 Morfologie – růst na tuhých půdách	10
3 Přímý průkaz – mikroskopie	11
4 Přímý průkaz – kultivace	12
5 Počítání kolonií mikrobů	13
6 Vyšetření citlivosti na antibiotika	14
7 Průkaz betalaktamázy	16
8 Sérologická diagnostika	18
9 Virologická diagnostika	22
10 Mykologická diagnostika	25
11 Parazitologická diagnostika	27
12 Staphylococcus	30
13 Streptococcus	33
14 Enterococcus	36
15 Corynebacterium	37
16 Enterobacterales (enterobakterie)	39
17 Pseudomonas a další nefermentující tyčinky	44
18 Haemophilus	47
19 Neisseria	49
20 Mycobacterium	51

ÚVOD

Praktikum lékařské mikrobiologie by mělo sloužit studentům k seznámení s laboratorními postupy v lékařské mikrobiologii. Jednotlivé kapitoly stručně popisují témata, která jsou náplní praktických cvičení, součástí textu jsou i návody k vlastním testům. Vybrané kapitoly, které se věnují zejména virologii a parazitologii, nemohou být dostatečně prezentována v praktických cvičeních, proto jsou v Praktiku lékařské mikrobiologie uvedené samostatně. Cílem je seznámit studenty s laboratorními vyšetřovacími metodami v diagnostice infekčních onemocnění, jejich indikace a interpretace. Tento přehled by měl studentům umožnit osvojit si základní principy mikrobiologické diagnostiky.

1 SROVNÁNÍ ÚČINNOSTI MÝDLA A DEZINFEKCE POMOCÍ OTISKOVÉ METODY

Správná hygiena rukou je klíčová pro prevenci a kontrolu infekcí. Potenciální původci infekcí jsou součástí kolonizujících mikroflóry kůže a sliznic pacientů, jsou přítomni v jeho tělních tekutinách i na povrchích předmětů v jeho okolí. Nedostatečná hygiena rukou umožňuje přenos mikrobů na dalšího pacienta kontaminovanými rukama zdravotnického personálu.

Technika hygieny rukou se rozděluje na **mytí** rukou a **dezinfekci** rukou. **Mytí rukou** je součástí osobní hygieny a slouží k odstranění nečistot a přechodné (tranzientní) kontaminující mikroflóry. Provádí se po dobu **30 sekund**, po oplachu vodou se ruce osuší jednorázovým papírovým ručníkem. **Hygienické mytí rukou** je účinnější než běžné (mechanické) mytí rukou. Provádí se mýdlem pod tekoucí vodou po dobu **40–60 sekund** s následným opláchnutím a osušením jednorázovým ručníkem, který se poté použije k uzávěru baterie. Hygienické mytí rukou se provádí při použití toalety, před jídlem, při viditelném znečištění rukou nebo při pravděpodobné expozici sporám (např.). **Hygienická dezinfekce rukou** snižuje množství tranzientní mikroflóry na pokožce rukou s cílem přerušit cestu přenosu mikrobů. Provádí se pomocí **alkoholových** dezinfekčních prostředků, které se aplikují na suché ruce po dobu **20–30 sekund**, ruce se neoplachují.

Hygiena rukou se provádí vždy:

- před kontaktem s pacientem,
- před čistými a aseptickými výkony,
- po riziku kontaminace tělními tekutinami,
- po kontaktu s pacientem,
- po kontaktu s prostředím pacienta.

PRAKTIKUM

Pomůcky: živný agar, popisovač, mýdlo, suspenze *Staphylococcus epidermidis*, dezinfekce

Pracovní postup: Živný agar označte a rozdělte na 4 kvadranty, otiskněte neomytý prst do kvadrantu 1, prst (ruce) si umyjte mýdlem a suchý umytý prst otiskněte do kvadrantu 2, prst si infikujte připravenou suspenzí nepatogenních mikroorganismů a otiskněte do kvadrantu 3, prst si vydezinfikujte připravenou dezinfekcí a otiskněte do kvadrantu 4. Živný agar se inkubuje 18 h při 37 °C, aerobně.

Hodnocení: Vyhodnoťte množství kolonií v jednotlivých kvadrantech. Porovnejte účinnost mýdla a dezinfekce.

2 MORFOLOGIE – RŮST NA TUHÝCH PŮDÁCH

Bakterie lze prokázat kultivačně či mikroskopicky. Kultivační nález je přímým průkazem mikroba, mikroskopický průkaz svědčí pouze o přítomnosti mikrobů, včetně neživých. Na živných agaroch v Petriho miskách vyrůstají bakterie v tzv. **koloniích**. Jedna kolonie vzniká množením jediné bakteriální buňky, která je označována jako **CFU** (Colony Forming Unit). Popis mikrobiální kultury slouží k předběžné identifikaci mikroba. Morfologicky lze u kolonií hodnotit tvar, velikost, profil, okraje, pigment, konzistenci, vůni, přítomnost a typ hemolýzy (při kultivaci na krevním agaru).

Očkováním (inokulací) nazýváme přenesení malého množství mikroorganismů (inokula) na sterilní živné médium nebo do něj. Princip očkování na tuhá média spočívá v postupném vyředování původního vzorku tak, aby na konci vyrůstaly **jednotlivé** kolonie bakterií. Při očkování je třeba dodržovat aseptické postupy, aby nedošlo ke kontaminaci kultury.

PRAKTIKUM

Pomůcky: sterilní tampon, (špachtle), krevní agar, bakteriologická klička, popisovač

Pracovní postup:

Výtěr z krku. Sterilní tampon se zavede za patrové oblouky tak, aby nedošlo ke kontaktu se sliznicí ústní dutiny a jazyka (možno použít špachtli). Valivým pohybem setřeme mandle a patrové oblouky. Tampon se naočkuje na krevní agar a inkubuje se 18 h při 37 °C.

Očkování. Na povrch krevního agaru přeneseme vzorek, pečlivě rozetřeme sterilní kličkou nebo tamponem; sterilní kličkou uděláme několik rovnoběžných čar přes inokulum. Po opětovném vysterylizování kličky otočíme misku o 90° a postup opakujeme. Celý postup provádíme přísně za aseptických podmínek, misku otevíráme co nejméně.

Hodnocení: Při správně provedeném křížovém rozřtu (izolačním rozočkování) můžeme po kultivaci v termostatu (aerobně, 18 h, 37 °C) pozorovat na miskách jednotlivé kolonie. Hodnotíme jejich barvu, tvar, profil a okraje.