

PRAKTICKÉ CVIČENIE č. 1

ÚVOD DO MIKROBIOLOGICKEJ DIAGNOSTIKY INFEKČNÝCH OCHORENÍ

Úvod do praktických cvičení :

Organizačné pokyny k praktickým cvičeniam, základné členenie a vybavenie mikrobiologického pracoviska.

Zásady bezpečnosti práce a prvej pomoci v laboratóriu klinickej mikrobiológie.

Základný algoritmus priamej a nepriamej mikrobiologickej diagnostiky,

Dezinfekcia a sterilizácia v stomatológii a metódy ich kontroly.

Odber a transport materiálu na mikrobiologickú diagnostiku s dôrazom na stomatologického pacienta, demonštrácia pomôcok na odber a transport biologického materiálu.

PRAKTICKÉ CVIČENIE č.2

Rýchla nekultivačná mikrobiologická diagnostika.

Mikroskopické vyšetrenie vzoriek (natívny preparát, fixovaný preparát, monochromatické farbenie, diagnostické farbenie); informácie, ktoré poskytuje mikroskopické vyšetrenie; význam mikroskopického vyšetrenia klinických vzoriek pre diagnostiku a liečbu stomatologického pacienta.

Dôkaz genómu infekčných pôvodcov v klinických vzorkách.

Úloha č.1

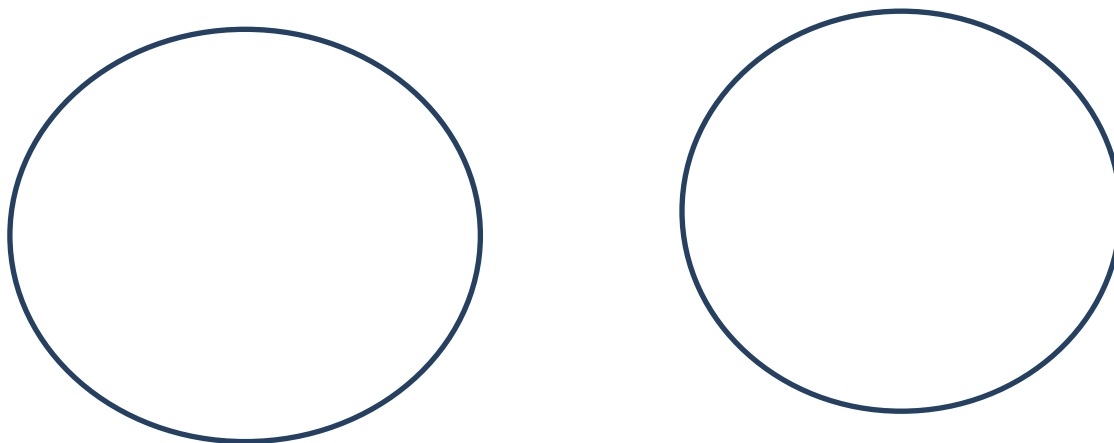
Odoberte materiál z horných dýchacích ciest (výter tonzíl tampónom) Naočkujte odobraný materiál na pevnú kultivačnú pôdu – Krvný agar.

Úloha č. 2 : Zhotovte , pozorujte a zakreslite **natívny preparát** pripravený z kultúry

Escherichia coli , *S aureus* a *Candida albicans*

Pomôcky: podložné a krycie sklíčko, fyziologický roztok, plynový kahan, bakteriologická kľučka, filtračný papier, pipety, kultúry *Escherichia coli*. *S aureus* a *Candida albicans*

Pracovný postup: Na čisté, odmastené podložné sklíčko kvapnite kvapku fyziologického roztoku a preneste vypálenou a ochladenou bakteriologickou kľučkou malé množstvo kultúry. Prikryte krycím sklíčkom a pozorujte pri zväčšení 10x40. Pozorovanie zakreslite .



Úloha č. 3 : Zhotovte fixovaný preparát z kultúr *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* a *Candida albicans*

Pracovný postup: Na čisté, odmastené podložné sklíčko kvapneme kvapku fyziologického roztoku. Potom pomocou vypálenej a ochladenej bakteriologickej kľučky do nej preniesieme malé množstvo kultúry a urobíme suspenziu trochu rozotrieme . Po zaschnutí preparát

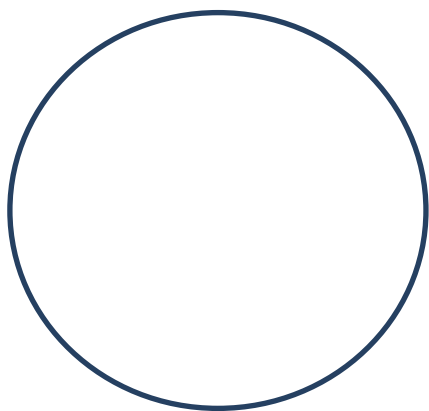
fixujeme teplom . *Pozor* - nedostatočná fixácia spôsobí, že nanosením farbiva môžeme preparát zmyť!

Nanášame farbivo podľa zvolenej metódy :

Monochromatické = Orientačné farbenie – používa sa len jeden druh farbiva (napr. metylénová modrá, kryštalická violet' alebo karbolfuchsín). Farbenie vyhovuje len nízkym nárokom , lebo informuje iba o prítomnosti, počte, tvare a usporiadaní baktérií.

Pomôcky : fixovaný preparát , metylénovú modrú, filtračný papier, pinzetu, plynový kahan

Pracovný postup: Fixovaný preparát prevrstvíme metylénovou modrou, necháme pôsobiť 2-5 minút, opláchneme ho pod tečúcou vodou , necháme vysušiť a pozorujeme . Preparát pozeráme pod imerzným olejom pri zväčšení 10 x100 . Pozorovanie zakreslite :



Diagnostické farbenie - farbenie podľa Grama :

Zafarbite preparáty bakteriálnych kultúr a kvasiniek podľa Grama , zakreslite a opište výsledok.

Pomôcky: Fixovaný preparát z kultúr *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* , kryštalická violet', Lugolov roztok, acetón, zriedený karbolfuchsín, filtračný papier, pinzeta, plynový kahan

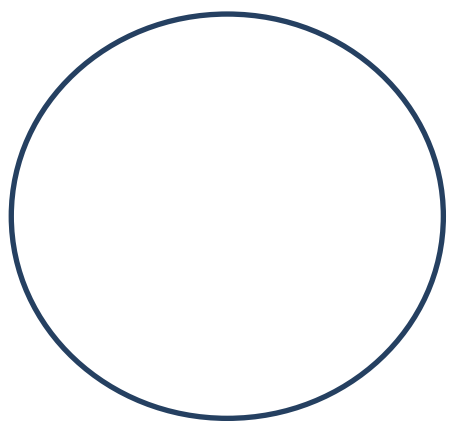
Pracovný postup: Fixovaný preparát prevrstvíme kryštalickou violet'ou - farbíme 3 minúty. Naň potom nalejeme Lugolov roztok - farbíme 2 minúty. Takto vzniknutý komplex potom opláchneme vodou a odfarbíme acetónom – 5 sekúnd. Znovu opláchneme vodou a dofarbíme karbolfuchsínom - 1 minútu. Preparát usušíme, pozeráme pod imerzným olejom pri zväčšení 10 x100. Pozorovanie zakreslite:

Výsledok :

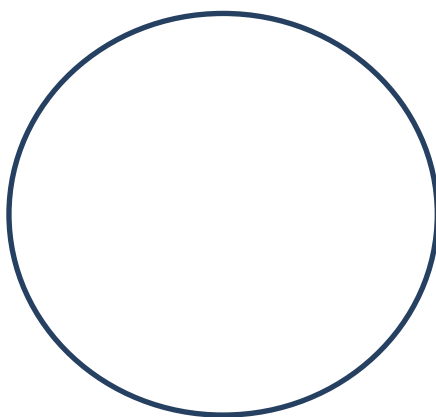
Grampozitívne baktérie sa zafarbia na tmavofialovo

Gramnegatívne baktérie sa zafarbia na červeno

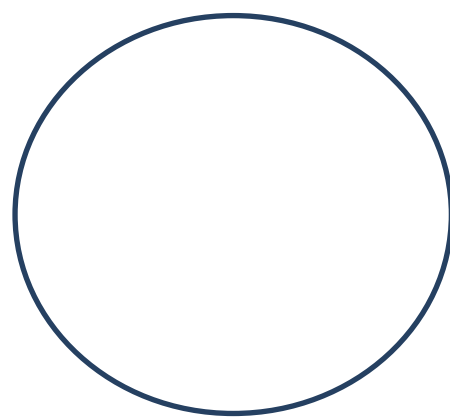
Gramlabilné baktérie sa zafarbia len čiastočne, alebo s prechodným farebným odtieňom



E.coli



S.aureus



C.albicans

PRAKTICKÉ CVIČENIE č. 3

Základné princípy kultivačnej diagnostiky v laboratóriách klinickej mikrobiológie.
Kultivačné médiá. Tekuté, polotekuté a pevné kultivačné pôdy. Základné, obohatené, selektívne a diagnostické kultivačné pôdy.

Podmienky kultivácie baktérií. Aeróbna, anaeróbna a mikroaerofilná kultivácia. Kultivácia pri zvýšenej tenzii CO₂.

Hodnotenie kultivácie a informácie poskytované kultivačnou diagnostikou.

Baktérie, ktoré nie sú kultivovateľné na laboratórnych kultivačných médiách.

Identifikácia baktérií pomocou mikroskopického vyšetrenia a biochemických testov.

Sérotypizácia baktérií.

Využitie hmotnostnej spektrometrie (MALDI-TOF MS) pri identifikácii mikroorganizmov.

Identifikácia mikroorganizmov analýzou ich genómu (génové sondy, PCR, sekvenovanie).

Definujte kultiváciu (čo to je):.....

.....

1. Aké typy kultivačných pôd poznáme:

.....

2. Aké typy hemolýzy na Krvnom agare rozoznávame:

.....

KULTIVÁCIA

Úloha č.1

1. Sledujte vplyv zloženia kultivačných médií na rast mikroorganizmov.

	Krvný agar	McConckey pôda
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Salmonella enteritidis.</i>		

2. Vyhodnot' te rast baktérií na pevných kultivačných pôdach (sfarbenie kolónií, typ hemolýzy, rast podľa disociačných fáz, produkcie sírovodíka, skvasovanie laktózy a pod.):

Krvný agar:

Staphylococcus aureus.....

Streptococcus salivarius.....

McConckey pôda

Escherichia coli.....

Salmonella enteritidis

Sabouraudov agar:

Candida sp.....

DEMO - nenaočkované kultivačné média:

Pevné pôdy – krvný agar, čokoládový agar, Levinthalova pôda, McConckey agar, dezoxycholátová pôda, VL agar.

Tekuté pôdy – živný bujón, tioglykolátová pôda, selenitová pôda, alkalická peptónová voda.

IDENTIFIKÁCIA BAKTÉRIÍ

Úloha č.2

Identifikujte bakteriálny *kmeň č.1* pomocou **biochemickej identifikačnej súpravy ENTEROTEST 24**. Pri identifikácii použite diagnostický zoznam.

	H		G		F		E		D		C		B		A	
1	I		H		L		O		U		A		S		M	
	N	1	2	1	Y	1	R	1	R	1	R	1	C		A	
	D		S		S		N		E		G		I		L	
2	P		O		I		A		C		S		T		M	
	H	2	N	2	N	2	D	2	E	2	U	2	R		A	
	E		P		O		O		L		C		E		N	

3	V		E		S		R		M		R		D		G
	P	4	S	4	O	4	H	4	L	4	A	4	U		L
	T		L		R		A		B		F		L		U
													Numerický profil		

Identifikácia:

.....

Identifikujte bakteriálny *kmeň č.2 biochemickej identifikačnej súpravy STAPHYTEST 24*. Pri identifikácii použite diagnostický zoznam.

	H		G		F		E		D		C		B		A	
1	U		A		O		b		G		b		P		E	
	R	1	R	1	R	1	G	1	L	1	G	1	H		S	
	E		G		N		A		R		L		S		L	
2	N		G		S		T		M		M		X		M	
	A	2	A	2	U	2	R	2	A	2	L	2	Y		N	
	G		L		C		E		N		T		L		S	
3	L		S		R		F		C		A		R		X	
	A	4	O	4	I	4	R	4	E	4	A	4	A		O	
	C		R		B		U		L		A		F		L	

Úloha č.3

Vyhodnoťte výsledok kultivácie odberu z DÚ na PC č.2

Demonštrácia

- Rôzne typy biochemických identifikačných systémov pre bakteriológiu.
- Využitie hmotnostnej spektrometrie (MALDI-TOF MS) pri identifikácii mikroorganizmov. Identifikácia mikroorganizmov analýzou ich genómu (génové sondy, PCR, sekvenovanie).

PRAKTICKÉ CVIČENIE č. 4

Zisťovanie citlivosti na antibakteriálne liečivá

Kvalitatívne metódy (diskový difúzny test)

Kvantitatívne metódy (zisťovanie MIC dilučnými testami a E-testom).

Zisťovanie mechanizmov rezistencie fenotypovými metódami a detekcia genetických determinantov rezistencie.

Monitorovanie hladín antibiotík v telesných tekutinách.

Úloha č. 1

- Vykonajte test stanovenia citlivosti kmeňov *Escherichia coli* na antimikrobiálne liečivá diskovou difúznou metódou.

Úloha č.2

- Vyhodnoťte kvalitatívny test citlivosti *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* (disková difúzna metóda).

Testovaný bakteriálny kmeň: *Staphylococcus aureus*.

ATB	Cefoxitín → Oxacilín			Erytromycín			Klindamycín		
Hraničné hodnoty inhibičných zón v mm	C	I	R	C	I	R	C	I	R
	≥22	–	<22	≥21	18 – 20	<18	≥22	19 – 21	<19
Namerané hodnoty inhibičných zón v mm									
Interpretácia									
ATB	Tetracyklín			Gentamicín			Kotrimoxazol		
Hraničné hodnoty inhibičných zón v mm	C	I	R	C	I	R	C	I	R
	≥22	19 – 21	<19	≥18	–	<18	≥17	14 – 16	<14
Namerané hodnoty inhibičných zón v mm									
Interpretácia									

R - rezistentný I - intermediárny C - citlivý

- Zistite, či kmeň *Staphylococcus aureus* tvorí β-laktamázu.

Interpretujte výsledok.....

➤ Je testovaný kmeň **MRSA** (Meticilín–rezistentný *Staphylococcus aureus*)?

Testovaný bakteriálny kmeň: *Escherichia coli*.

ATB	Ampicilín			Amoxicilín/kys. klavulánová			Cefuroxím		
Hraničné hodnoty inhibičných zón v mm	C	I	R	C	I	R	C	I	R
	≥14	–	<14	≥19	–	<19	≥19	–	<19
Namerané hodnoty inhibičných zón v mm									
Interpretácia									
ATB	Gentamicín			Ciprofloxacín			Kotrimoxazol		
Hraničné hodnoty inhibičných zón v mm	C	I	R	C	I	R	C	I	R
	≥17	14 – 16	<14	≥26	24 – 25	<24	≥14	11 – 13	<11
Namerané hodnoty inhibičných zón v mm									
Interpretácia									

Úloha č.3

detekcia citlivosti **kolorimetrickou mikro–metódou** pomocou súpravy MIDITECH MIC–20 (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*)



MIDITECH

Stanovenie minimálnych inhibičných koncentrácií (mg/L)



Meno pacienta:

Materiál /Dg:

Oddelenie /odds. lekár:

Identifikácia:

Laboratórium:

Lekár:

Dátum vyšetrenia:

Interpretácia: *Staphylococcus aureus*

M/17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
AMP	SAM	OXA	FOX	TZP	ERY	CLI	LNZ	RIF	GEN	TEC	VAN	TMP	CHL	TGC	MFX	CIP	TET	COT	NIT	
32	32+4	4	16	64+4	8	4	8	4	128	16	16	32	4	4	4	16	4+76	64		
A	R	R	R	R	R	R	R	R	HLG	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	U
16	16+4	2	8	32+4	4	2	4	2	8	8	8	8	16	2	2	2	8	2+38	32	
B	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	U
8	8+4	1	4	16+4	2	1	2	1	4	4	4	4	8	1	1	1	4	1+19	16	
C	S	S	S	S	I	R	S	R	R	R	R	R	R	U	S	R	S	R	S	U
4	4+4	0,5	2	8+4	1	0,5	2	1	0,5	2	2	4	0,5	0,5	0,5	2	0,5+0,5	8		
D	S	S	S	S	S	I	S	I	R	S	S	U	S	S	R	S	I	S	U	
2	2+4	0,25	1	4+4	0,5	0,25	1	1	1	1	1	2	0,25	0,25	0,25	1	0,25+0,5	4		
E	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	U	S	S	S	S	S	S	S	U
1	1+4	0,12	0,5	2+4	0,25	0,12	0,25	0,12	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,12	0,12	0,12	0,5	0,12+0,2	2	
F	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	U	S	S	S	S	S	S	S	U
0,5	0,5+4	0,06	0,25	1+4	0,12	0,06	0,25	0,06	0,25	0,25	0,25	0,25	0,5	0,06	0,06	0,06	0,25	pos. cont.	neg. cont.	
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	U	S	S	S	S	S	S	S	U
0,25	0,25+4	0,03	0,12	0,5+4	0,06	0,03	0,06	0,03	0,12	0,12	0,12	0,12	0,25	0,03	0,03	0,03	0,12	pos. cont.	neg. cont.	
H	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	U

R rezistentný
 HLG skríning vysokej rezistencie enterokokov na GEN
 U pri bežnom dávkovaní sa dosiahne účinná hladina len v moči
 I účinná hladina sa dosiahne len pri zvýšenom dávkovaní
 S citlivý





MIDITECH

Stanovenie minimálnych inhibičných koncentrácií (mg/L)



Meno pacienta:

Materiál /Dg:

Oddelenie /odos. lekár:

Identifikácia:

Laboratórium:

Lekár:

Dátum vyšetrenia:

Interpretácia: *Escherichia coli*

V17	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
→	AMP	SAM	TZP	CM	CTX	CTC	CAZ	CAC	SPZ	FEP	ETP	MEM	GEN	TOB	AMI	TGC	CIP	TET	COL	COT	
R	>32	>32+4	>64+4	>32	>32	>32+4	>32	>32+4	>64+2	>32	>4	>16	>16	>16	>64	>4	>4	>16	>8	>4+76	
A	32	32+4	64+4	32	32	32+4	32	32+4	64+2	32	4	16	16	16	64	4	4	16	8	4+6	
B	16	16+4	32+4	16	16	16+4	16	16+4	32+3	16	2	8	8	8	32	2	2	8	4	2+38	
C	8	8+4	16+4	8	8	8+4	8	8+4	16+4	8	1	4	4	4	16	1	1	4	2	1+9	
D	4	4+4	8+4	4	4	4+4	4	4+4	8+3	4	0.5	2	2	8	0.5	0.5	2	1	0.5+9	0.5	
E	2	2+4	4+4	2	2	2+4	2	2+4	4+1	2	0.25	1	1	1	4	0.25	0.25	1	0.5	0.25+6	
F	1	1+4	2+4	1	1	1+4	1	1+4	2+0	1	0.12	0.5	0.5	0.5	2	0.12	0.12	0.5	0.25	0.12+2	
G	0.5	0.5+4	1+4	0.5	0.5	0.5+4	0.5	0.5+4	1+0	0.5	0.06	0.25	0.25	0.25	1	0.06	0.06	0.25	pos.	neg.	
H	0.25	0.25+0	0.5+4	0.25	0.25	0.25+4	0.25	0.25+4	0.5+0	0.25	0.03	0.12	0.12	0.12	0.5	0.03	0.03	0.12	pos.	neg.	
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	cont.	cont.

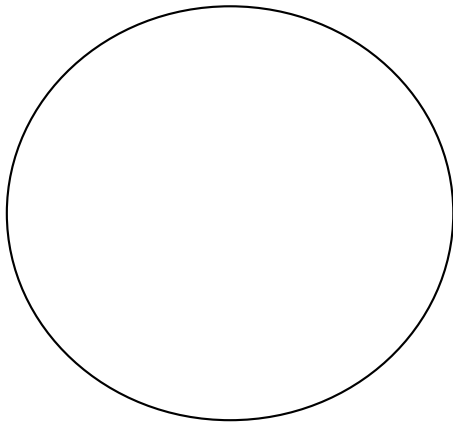
1	AMP	Ampicilín
2	SAM	Amp.+sulb.
3	TZP	Pip.+za zob.
4	CM	Cefuroxim
5	CTX	Cefotaxim
6	CTC	CTC+klavul.
7	CAZ	Ceftazidim
8	CAC	CAZ+klavul.
9	SPZ	Cefop.+sulb.
10	FEP	Cefepim
11	ETP	Ertapeném
12	MEM	Meropeném
13	GEN	Gentamicín
14	TOB	Tobramycín
15	AMI	Amikacín
16	TGC	Tigecykín
17	CIP	Ciprofloxacín
18	TET	Tetracyklín
19	COL	Kolisín
20	COT	Trim.+sulfon.

R	v rozsahu testovaných koncentrácií je kmeň rezistentný
I	účinná hladina v sére sa dosiahne len pri zvýšenom dávkovaní
S	účinná hladina v sére sa dosiahne pri bežnom dávkovaní



Vyhodnoťte kvantitatívnu citlivosť na antimikróbne liečivá (MIC) = Stanovenie citlivosti

E-testom:



Demonštrácie

Zisťovanie citlivosti na kombináciu antibiotík.

Zisťovanie mechanizmov rezistencie fenotypovými metódami a detekcia genetických determinantov rezistencie.

Monitorovanie hladín antibiotík v telesných tekutinách.

PRAKTICKÉ CVIČENIE č. 5

Priama a nepriama sérologická diagnostika mikrobiálnych infekcií.

Dôkaz antigénov infekčných pôvodcov v klinických vzorkách imunochromatografickým a latexovým testom.

Detekcia antigénov pomocou spätnej sklíčkovej aglutinácie (sérotypizácia)

Odber materiálu na dôkaz protilátok.

Dôkaz protilátok proti pôvodcom infekčných chorôb imunochemickými metódami –ELISA testom

Úloha č.1

SÉROTYPIZÁCIA

Charakterizujte antigénnu štruktúru bunkovej steny baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*. .

.....

Vykonajte sérotypizáciu enteropatogénneho *E. coli* – EPEC. Interpretujte výsledok

Polyšpecifické antiséra	Monošpecifické antiséra		
A	O55	O86	O111
B	O114	O126	O127

Výsledok:.....

Vysvetlite princíp sérotypizácie a zdôvodnite jej dôležitosť pre prax.

.....

Úloha č.2 :

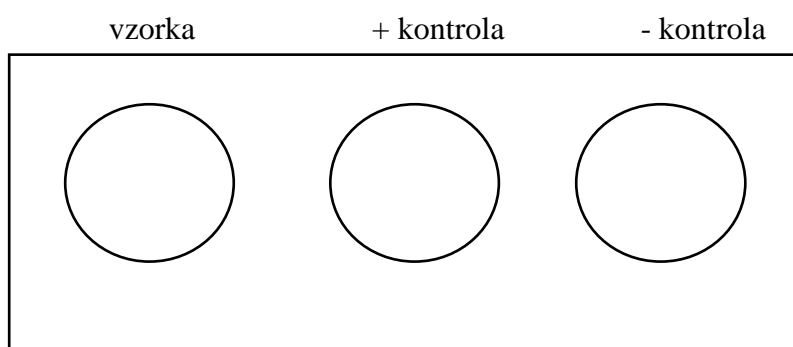
Vyhodnoťte **Komplement fixačnú reakciu** a zistite titer protilátok.

Skúmavka/jamka	1	2	3	4	5
Riedenie	1 : 4	1: 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Hemolýza					
Reakcia					
Výsledný titer					

	Kontroly			
	Sérum	Antigén	Komplement	HS (erytrocyty)
Skúmavka / jamka	6	7	8	9
Sérum	+	-	-	-
Antigén	-	+	-	-
Komplement	+	+	+	-
Hemolytický systém	+	+	+	+
Hemolýza				
Výsledok kontrol				

Úloha č. 2 :

Vyhodnoťte flokulačnú **Rýchlu reagínovú reakciu (RRR)** na dôkaz netreponémových (nešpecifických) reagínových protilátok, ktorá sa používa pri skriningovom vyšetrení na syfilis.



Úloha č.3:

Vyhodnoťte výsledok ELISA testu

a) na stanovenie prítomnosti vírusového antigénu (HBsAg),

.....

b) na stanovenie prítomnosti protilátok voči vírusu HIV.

.....

Demonštrácie

Nepriama aglutinácia, precipitácia, imunofluorescenčný testom.

Konfirmácia výsledkov pomocou Western-blotu.

Možnosti kvantifikácie protilátok.

Interpretácia testov na dôkaz protilátok.

Dôkaz bunkovej imunity – IGRA testy.

PRAKTICKÉ CVIČENIE Č. 6

Základy mikrobiologickej diagnostiky vírusových a mykotických infekcií.

Využitie mikrobiológie pri diagnostike mykotických a vírusových infekcií dutiny ústnej a systémových infekcií s prejavmi v dutine ústnej.

Úloha č. 1 :

4- ročná pacientka sa 2 dni sťažovala na bolesti v ústach, bolesti hrdla, odmietala príjem stravy. Osobná anamnéza bez pozoruhodností, kompletne povinné očkovanie. Podľa údajov matky pacientka začala navštevovať hudobný krúžok, v ktorom aj ďalšie deti mali podobné ťažkosti.

Nález pri vyšetrení: Teplota 38,5 °C, mnohopočetné vezikuly a vriedky na podnebí, jazyku a tonzilách.

Dg.: suspektná herpangína

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie : Ster z dutiny ústnej



Úlohy a otázky:

Vyhodnoťte výsledok mikrobiologického vyšetrenia.

.....

Aká je diferenciálna diagnostika ochorenia ?

.....

Zaraďte (druh) izolované etiologické agens.

.....

Uvedte ďalšie ochorenia, ktoré spôsobujú uvedené etiologické agens.

.....

Vyhodnoťte **Komplement fixačnú reakciu** a zistite titer protilátok.

Skúmavka/jamka	1	2	3	4	5
Riedenie	1 : 4	1: 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Hemolýza					
Reakcia					
Výsledný titer					

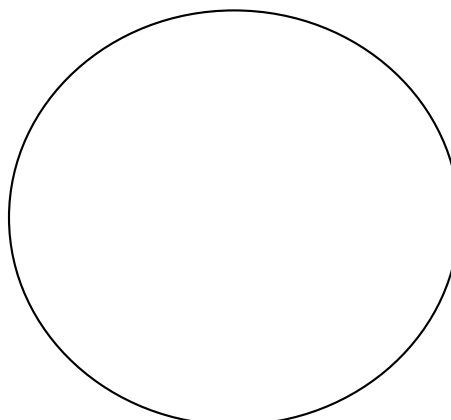
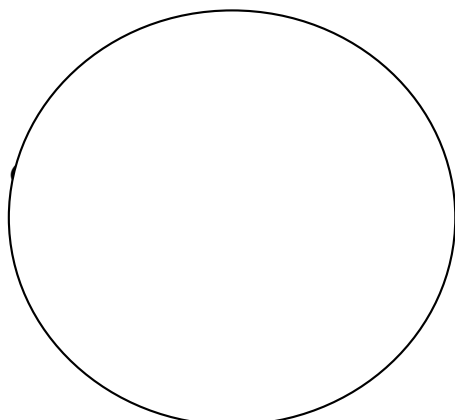
	Kontroly			
	Sérum	Antigén	Komplement	HS (erytrocyty)
Skúmavka / jamka	6	7	8	9
Sérum	+	-	-	-
Antigén	-	+	-	-
Komplement	+	+	+	-
Hemolytický systém	+	+	+	+
Hemolýza				
Výsledok kontrol				

Úloha č. 2

Pozorujte v mikroskope narastenú bunkovú kultúru – monolayer a cytopatický efekt na bunkovej kultúre infikovanej vírusom.

Úloha č.3

Vyhodnoťte test klíčenia spór (Germ - tube test) na diferenciálnu diagnostiku *Candida albicans* komplexu od *Candida* -non albicans druhov a zakreslite



Úloha č. 4

70 ročný pacient bol prijatý na neurologické oddelenie s anamnézou sclerosis multiplex. Celkový stav pacienta primeraný z pohľadu základného ochorenia. Pri vyšetrení pacient udáva nepríjemný pocit v ústach. Vzhľadom k tomu, že pacient má snímateľnú zubnú náhradu, odoslal ho ošetrojúci lekár na konziliárne stomatologické vyšetrenie s podozrením na kandidózu.

V stomatologickej ambulancii zistené suché, difúzne začervenané sliznice a opuch sliznice podnebia v oblasti zubnej náhrady.

Bol odobraný **ster z podnebia** a **ster zo zubnej náhrady** na mikrobiologické vyšetrenie.

Dg.: Erytematózna kandidóza

Úlohy a otázky:

Identifikujte pôvodcu ochorenia.

.....

Aký postup by ste zvolili pri liečbe pacienta ?

.....

Akým spôsobom je možné predchádzať opakovaným kandidózam u pacienta ?

.....

Uveďte ďalšie prejavy kandidózy v ústnej dutine ?


.....

Vyhodnoťte identifikačný systém **api 20 C AUX**

api 20 C AUX

07221 A REF.: _____

 Origine / Source / Herkunft / Origen / Prelievo : _____



bioMérieux

1 h	○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			Hypho/ Pseudo- Hypho
2 h	○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			
3 h	○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			○ ○ ○			
	O	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CB	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF		
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	

Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests :

Ident. :

Imprimé en France / Printed in France

Vyhodnoťte test citlivosti izolovaných kvasiniek na antimykotiká testom

Micronaut-AM MHK 2

Evaluation protocol MICRONAUT-AM MHK 2

CE

Only for in vitro diagnostic

REF M/E1-827-040

Plate number:.....

Material number:.....

Please mark with a cross on the evaluation protocol the detected MIC during the reading of the plates. MIC = the lowest concentration of an antimycotic with no detectable growth (minimum inhibitory concentration).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GC 0,031 ○	APH 0,062 ○	APH 0,125 ○	APH 0,25 ○	APH 0,5 ○	APH 1 ○	APH 2 ○	APH 4 ○	APH 8 ○	APH 16 ○	APH 32 ○	ITR 4 ○
B	NGC ○	FCY 0,062 ○	FCY 0,125 ○	FCY 0,25 ○	FCY 0,5 ○	FCY 1 ○	FCY 2 ○	FCY 4 ○	FCY 8 ○	FCY 16 ○	FCY 32 ○	ITR 2 ○
C	FCA 0,125 ○	FCA 0,25 ○	FCA 0,5 ○	FCA 1 ○	FCA 2 ○	FCA 4 ○	FCA 8 ○	FCA 16 ○	FCA 32 ○	FCA 64 ○	FCA 128 ○	ITR 1 ○
D	VOR 0,015 ○	VOR 0,031 ○	VOR 0,062 ○	VOR 0,125 ○	VOR 0,25 ○	VOR 0,5 ○	VOR 1 ○	VOR 2 ○	VOR 4 ○	VOR 8 ○	VOR 16 ○	ITR 0,5 ○
E	POS 0,015 ○	POS 0,031 ○	POS 0,062 ○	POS 0,125 ○	POS 0,25 ○	POS 0,5 ○	POS 1 ○	POS 2 ○	POS 4 ○	POS 8 ○	POS 16 ○	ITR 0,25 ○
F	MIF 0,015 ○	MIF 0,031 ○	MIF 0,062 ○	MIF 0,125 ○	MIF 0,25 ○	MIF 0,5 ○	MIF 1 ○	MIF 2 ○	MIF 4 ○	MIF 8 ○	MIF 16 ○	ITR 0,125 ○
G	ANF 0,015 ○	ANF 0,031 ○	ANF 0,062 ○	ANF 0,125 ○	ANF 0,25 ○	ANF 0,5 ○	ANF 1 ○	ANF 2 ○	ANF 4 ○	ANF 8 ○	ANF 16 ○	ITR 0,062 ○
H	CAS 0,015 ○	CAS 0,031 ○	CAS 0,062 ○	CAS 0,125 ○	CAS 0,25 ○	CAS 0,5 ○	CAS 1 ○	CAS 2 ○	CAS 4 ○	CAS 8 ○	CAS 16 ○	ITR 0,031 ○

Legend (drug concentration in µg/ml):

Growth control GC

Negative Control NGC

Antifungal Agent	Short cut	CLSI recommended breakpoints for <i>Candida</i> spp.		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
5-Fluorocytosin	FCY	≤ 4 µg/ml	8 – 16 µg/ml	> 16 µg/ml
Amphotericin B	APH	Specific MIC breakpoints for clinical interpretation have not been proposed. MICs of >1 µg/ml are probably resistant.		
Anidulafungin	ANF	≤ 2 µg/ml		> 2 µg/ml
Caspofungin	CAS	≤ 2 µg/ml		> 2 µg/ml
Fluconazol	FCA	≤ 8 µg/ml	16 - 32 µg/ml	> 32 µg/ml
Itraconazol	ITR	≤ 0,125 µg/ml	0,25 – 0,5 µg/ml	> 0,5 µg/ml
Micafungin	MIF	≤ 2 µg/ml		> 2 µg/ml
Posaconazol	POS	Specific MIC breakpoints for clinical interpretation have not been proposed.		
Voriconazol	VOR	≤ 1 µg/ml	2 µg/ml	> 2 µg/ml

Susceptible-DD = Susceptibility is dependent on achieving the maximal possible blood level.



Demonštrácia

- Rýchly dôkaz aspergilových, kandidových a kryptokokových antigénov v telových tekutinách pomocou latexových aglutinačných testov.
- Rôzne identifikačné systémy na biochemickú identifikáciu kvasiniek.

PRAKTICKÉ CVIČENIA č. 7

Základné algoritmy mikrobiologickej diagnostiky infekcií dýchacích ciest, urogenitálneho a gastrointestinálneho traktu a infekcií kože.

Respiračný systém

Otázky:

Ktoré vírusy môžu spôsobiť ochorenie respiračného systému ?

.....

Ktoré bakteriálne druhy sa najčastejšie podieľajú na infekciách horných dýchacích orgánov u imunologicky kompetentných pacientov v ambulantnej praxi?

.....

Úlohy:

Zistite pôvodcu ochorenia Postup a výsledky Vašej práce prezentujte ostatným kolegom.

Pacient č.1

Ročné dievčatko priviedla k lekárovi matka, ktorá udáva zvýšenú teplotu u dieťaťa do 38°C, červené hrdlo a mandle, ťažko prehĺta.

Dg.: tonsilitis acuta

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: Tampón z tonzíl

Úlohy a otázky:

Vyhodnoťte mikrobiologické vyšetrenie a identifikujte pôvodcu.

.....

Aké sú možnosti rýchlej diagnostiky pri tejto diagnóze ?

.....

Aké sú možnosti liečby ?

.....

Aké môžu byť neskoré následky tejto infekcie ?

.....

Urogenitálny systém

Otázky:

Ktoré mikroorganizmy sa najčastejšie spôsobujú akútne infekcie močových ciest ?

.....

Hodnotenie kultivačného nálezu pri odbere stredného prúdu moča

nekomplikované infekcie dolných dýchacích ciest

signifikantná bakteriúria:

suspektná bakteriúria

nesignifikantná bakteriúria:

V ktorých prípadoch treba opakovať odber ?

.....

Akým spôsobom môžu vzniknúť infekcie genitálneho systému?

.....

Ktoré mikroorganizmy vyvolávajú pohlavne prenosné ochorenia?

.....

Ktoré z nich vyvolávajú ochorenia s prejavom v DÚ ?

.....

Úlohy:

Zistite pôvodcu ochorení Postup a výsledky Vašej práce prezentujte kolegom

Pacient č.2

35 ročná žena udáva náhly vznik ťažkostí pri močení- pálenie, rezanie, časté nútenie na močenie. Pacientka je afebrilná. *Základná diagnóza* - Diabetes mellitus

Dg.: akútna cystitída

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: moč

Na základe mikrobiologického vyšetrenia zistíte pôvodcu ochorenia

Stanovte kvantitatívnu bakteriúriu

.....

Ktorí sú najčastejší pôvodcovia cystitíd ?

.....

Aké sú možnosti liečby ?

.....

Pacient č.3

Na oddelenie stomatologickej kliniky prišla 22 ročná žena s 6 týždňovými prejavmi áft v ústnej dutine s zhoršujúcim sa stavom so zvyšujúcim sa počtom áft a so zväčšením krčných lymfatických uzlín. Bez teploty, pocit celkovej slabosti a choroby, rýchle chudla. Všeobecný lekár zahájil intravenóznou liečbu pyridoxínom a vitamínom B12. Klinický stav sa čiastočne zlepšil.

Súčasne sa objavil výsev eflorescencií na dlaniach, predlaktiach a chodidlách. Dermatológ diagnostikoval psoriázu. Pre diferenciálnu diagnostiku zväčšených lymfatických uzlín poslal všeobecný lekár pacientku na interné konziliárne vyšetrenie, internista na základe klinického obrazu a laboratórnych vyšetrení diagnostikoval aftóznou stomatitídu s reakciou regionálnych lymfatických uzlín bez ďalšej liečby s kontrolným vyšetrením o 14 dní. Zároveň odporučal stomatologické vyšetrenie. Stomatológ pacientku s diagnózou suspektný lichen ruber planus poslal na konziliárne vyšetrenie na stomatologickú kliniku.

Nález pri vyšetrení: Na sliznici dutiny ústnej prítomné početne drobné oválne sýtejšie sfarbené makuly, ojedinele veľkosti šošovice, bez zápalového lemu, lokalizované prevažne na tvrdom podnebí, na sliznici hornej a dolnej pery a na bukálnej sliznici v blízkosti ústnych kútikov. Jazyk povlečený, v strednej tretine vyhladený, chrup sanovaný. V kútikoch prítomné obojstranne ragády. Zväčšené lymfatické uzliny na krku. Na koži dlaní a chodidiel prítomné presne ohraničené lentikulárne papuly veľkosti 4-5 mm, mierne vyčnievajúce nad niveau okolia, hnedočervenej farby, s nepatrnými šupinkami na povrchu.

Pacientka s podozrením na syfilis odoslaná na dermatovenerologickú kliniku.

Dg.: suspektný syfilis

Úlohy a otázky :

Ako by ste potvrdili suspektnú diagnózu ?

.....

Akým ďalším spôsobom je v uvedenom štádiu možné dokázať pôvodcu ochorenia ?

.....

Uveďte možnosti liečby ochorenia.

.....

Uveďte ďalšie pohlavne prenosné ochorenie s prejavmi v dutine ústnej.

.....

Gastrointestinálny trakt

Ktoré baktérie sa považujú za primárne patogénne pre gastrointestinálny trakt človeka?

.....

Ktoré baktérie môžu vyvolať potravinové toxizózy?

.....

Ktoré vírusy môžu vyvolať hnačky u človeka?

.....

Úloha

Zistite pôvodcu ochorenia. Postup a výsledky Vašej práce zapíšte a na záver prezentujte kolegom.

Pacient č. 4

30-ročná pacientka sa 10 hodín po konzumácii zákuskov v cukrárni začala zle cítiť. Zvracia, má intenzívne gastrointestinálne ťažkosti, teplotu 38,5 °C. Spočiatku kašovitá stolica nadobudla vodnatý charakter, má zelenkavú farbu bez prímеси hlienu a krvi.

Diagnóza: gastroenteritída.

Materiál: rektálny výter.

Úlohy

1. Na základe kultivačného vyšetrenia rektálneho výteru zistite pôvodcu ochorenia.
2. Komentujte možnosti terapie.

Čo môže byť rezervoárom tejto infekcie?

.....

Kožné infekcie

Vymenujte pôvodcov infekcií kože

.....

Pacient č.5

Zistite pôvodcu infekcie. Zapište si postup a výsledok vašej práce. Potom prezentujte výsledky vašim kolegom.

Matka prišla do ambulancie so 4-ročný dieťaťom kožnú infekciu. V tvárovej časti a na končatinách boli lokalizované lézie s úzkym lemom zapálenej kože , ktoré sa na niektorých miestach menili na pustuly, na ktorých sa po prasknutí vytvárali zlatožlté krusty

Materiál: ster z kože.

1. Na základe kultivačného vyšetrenia zistite pôvodcu ochorenia.
2. Komentujte možnosti terapie.

PRAKTICKÉ CVIČENIE č. 8

Mikrobiota dutiny ústnej. Charakterizácia mikrobioty dutiny ústnej metódami klinickej mikrobiológie (mikroskopické a kultivačné vyšetrenie; využitie metód na dôkaz genómu mikroorganizmov pri analýze mikrobioty zubného plaku). Vizualizácia zubného plaku. Mikrobiologické metódy na odhad rizika kariogénneho účinku orálnej mikrobioty.

FYZIOLOGICKÁ FLÓRA DUTINY ÚSTNEJ (Mikrobiota)

Otázky:

Ktoré mikroorganizmy patria k fyziologickej flóre dutiny ústnej ?

.....

Ktoré mikroorganizmy môžu spôsobovať zubný kaz ?

.....

Uveďte mikrobiologické osídlenie jednotlivých súčastí dutiny ústnej.

.....

Ako vzniká zubný povlak ?

.....

Ako vzniká zubný kaz ?

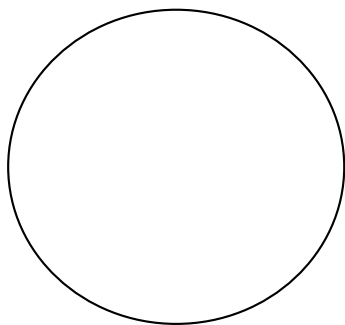
.....

Ako vzniká pulpitída ?

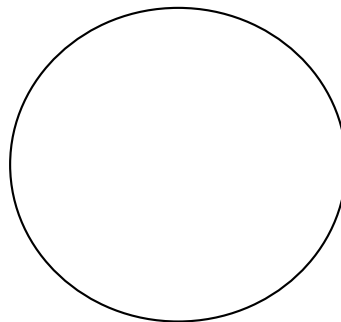
.....

Úlohy

- Odoberte ster zo zuba, prípadne medzizubného priestoru a ster z bukálnej sliznice. Zhotovte mikroskopický preparát podľa Grama a pozorujte pod mikroskopom. Výsledok pozorovania zakreslite.



zub



bukálna sliznica

- Odoberte ster zo zuba a ster z bukálnej sliznice a naočkujte na kultivačné médiá. Výsledok kultivácie odčítajte a vyhodnoťte (nasledujúce praktické cvičenie).

	zub	bukálna sliznica
Kultivačný nález		

- Použitím súpravy VIVADENT si otestujte pufrovaciu kapacitu slín a prítomnosť a kvantitu najčastejších kariogénnych baktérií.

Výsledok:

a/ pufrovacia kapacita

slín.....

b/ kvantita.....

.....

- Vizualizujte si zubný povlak. Na dôkaz použite roztok methylrosanilin chloratum. Výsledok pozorovania zapíšte.

.....

PRAKTICKÉ CVIČENIE Č. 9

Mikrobiologická diagnostika gingivitíd a ochorenia parodontu.
Mikrobiologická diagnostika bakteriálnych infekcií s prejavmi v dutine ústnej.

Otázky:

Aké typy gingivitíd poznáte ?

.....

Definujte periodontitídu a uveďte rozdelenie periodontitíd.

.....

Aká je etiológia periodontitíd ?

.....

Medzi periodontálne patogény patria najmä:

.....

Úlohy:

Zistite pôvodcu ochorenia .Postup a výsledky Vašej práce prezentujte kolegom .

Pacient č. 1

17 ročná pacientka v dobrom celkovom stave prišla do ambulancie zubného lekára a sťažovala si na rok pretrvávajúcu fistulu na krku, vpravo pod sánkou. Viaceré konzultácie u rôznych špecialistov (ORL, plastická chirurgia, ..) doteraz jasne nevysvetlili príčinu fistulácie. Kontrastné vyšetrenie fistuly ostalo bez výsledku. Vykonaná chirurgická revízia fistuly priniesla len dočasné zlepšenie stavu.

Z anamnézy:

Pred 4 rokmi ošetrovaný zubný kaz zuba 46 (nepriame prekrytie drene). Pri poslednej kontrole pred 18 mesiacmi zub reagoval pozitívne na test citlivosti.

Pri vyšetrení: Otvor fistuly vpravo dole pod sánkou, chrup a parodont dobre ošetrovaný, ošetrovaný zub 46 nereagoval na test citlivosti. Zvýšená pohyblivosť ani bolesť na tlak neboli prítomné, parodontálne vaky 3 mm.

RTG nález: Výplň siahala takmer k pulpe, apikálna parodontitída na strednom a zadnom koreni.

Dg.: Nekróza pulpy s asymptomatickou apikálnou parodontitídou a extraorálnou fistuláciou na zube 46

Úlohy a otázky:

Uved'te, ktoré ochorenia prichádzajú do úvahy v diferenciálnej diagnostike uvedeného prípadu.

.....

Pacient č. 2

70 ročný pacient bol prijatý na neurologické oddelenie s anamnézou sclerosis multiplex. Celkový stav pacienta primeraný z pohľadu základného ochorenia. Pri vyšetrení pacient udáva neprijemný pocit v ústach. Vzhľadom k tomu, že pacient má snímateľnú zubnú náhradu, odoslal ho ošetrojúci lekár na konziliárne stomatologické vyšetrenie s podozrením na kandidózu.

V stomatologickej ambulancii zistené suché, difúzne začervenané sliznice a opuch sliznice podnebia v oblasti zubnej náhrady.

Bol odobraný **ster z podnebia** a **ster zo zubnej náhrady** na mikrobiologické vyšetrenie.

Dg.: Erytematózna kandidóza

Úlohy a otázky:

Identifikujte pôvodcu ochorenia.

.....

Aký postup by ste zvolili pri liečbe pacienta ?

.....

Akým spôsobom je možné predchádzať opakovaným kandidózam u pacienta ?

.....

Uved'te ďalšie prejavy kandidózy v ústnej dutine ?

.....

Aké sú najčastejšie formy orálnej kandidózy ?

.....

Aké sú predispozičné faktory pre vznik orálnej kandidózy ?

.....

Pacient č. 3

7- ročný pacient prišiel s rodičmi do zubnej ambulancie, chlapec 3 dni odmietal jesť pre bolesti pri prehĺtaní. Podľa údajov rodičov je chlapec slabý, predchádzajúci deň teplota 39 °C.

Nález pri vyšetrení: V dutine ústnej opuch ďasien, na gingiválnej sliznici a na jazyku prítomné mnohopočetné pľuzgieriky a belavo povlečené ulcerácie.

Dg.: *suspektná herpangína*

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: ster z dutiny ústnej

Úlohy a otázky:

Uveďte príčinu ochorenia.

.....

Do ktorej čeľade patrí izolované agens a aké ďalšie druhy z danej čeľade poznáte ?

.....

Uveďte ďalšie ochorenia, ktoré spôsobuje uvedené etiologické agens.

.....

PRAKTICKÉ CVIČENIE Č. 10

Mikrobiologická diagnostika infekcií mäkkého tkaniva, čeľustných kostí a paranzálnych dutín, ktoré súvisia s infekčným procesom v dutine ústnej.

Aké sú pramene pôvodcu infekcií mäkkých tkanív?

.....
.....

Úlohy

Zistite pôvodcu infekcie . Postup a výsledky Vašej práce zapíšte a na záver prezentujte kolegom.

.....

Pacient č. 1

Na oddelenie čeľustnej ortopédie prišiel 28 ročný muž s bolestivým submandibulárnym zdurením vľavo. Pacient uviedol, že opuch vznikol pred 10 dňami. Používal tetracyklín bez zlepšenia klinického stavu. Vzhľadom k pretrvávajúcej purulentnej infekcii bol pacient odoslaný na ďalšie vyšetrenie.

Nález pri vyšetrení: Vľavo submandibulárne opuch mäkkého tkaniva, koža červená, edematózna, palpačne citlivá. Prítomný spasmus žuvacieho svalstva (II.st.).

RTG vyšetrenie : semiretinovaný zub múdrosti vľavo dole.

Vykonaná chirurgická incízia v ľavej temporomandibulárnej oblasti, odobraný hnisavý sekret so žltkastými zrnčkami. Odobraná biopsia z ložiska.

Dg.: suspektná aktinomykóza

Materiál na mikrobiologické a bioptické vyšetrenie: Náter na sklíčko, hnisavý sekret, biopsia

Úlohy a otázky :

Identifikujte pôvodcu ochorenia

.....

Akým spôsobom by ste postupovali pri liečbe ?

.....

Popíšte možný zdroj infekcie.

.....

Pacient č. 2

Na Stomatologickú kliniku prišiel na odporúčanie ošetrojúceho všeobecného lekára pre deti a dorast 11 ročný pacient s edémom v oblasti pravej príušnej žľazy, ktorý vznikol so súčasne prebiehajúcou tonsilofaryngitídou. Pacient bol afebrilný, bez alterácie celkového stavu. Palpačne málo bolestivý plastický edém zasahoval 3 cm **pred tragus**, mierne zdvíhal ušný lalôčik. Otváranie úst nebolo obmedzené. Koža nad edémom bez zmien, lymfatické uzliny nehmatné. V ústnej dutine bol zistený začervenaný vývod pravej príušnej žľazy. Vývody slinných žliaz boli bez zmien. Pri masáži pravej príušnej žľazy vytekali z ústia Stenonovho vývodu číre, miestami rôsolovité sliny s belavými vločkami. Vo faryngeálnych oblúkoch zväčšené tonzily s čapmi.

Anamnesticky sa jednalo o tretí výskyt edému príušnej slinnej žľazy. Prvýkrát bolo popísané obojstranné zdurené príušných žliaz pred 2 rokmi, následne sa opakovalo len na pravej príušnej žľaze (časový údaj chýba). Spôsob liečby týchto atakov nebolo možné zistiť.

Podľa údajov matky bol pacient liečený na alergickú rinitídu.

Pri prvom vyšetrení bol odobratý **výter z tonzíl, nosa a zo sliny postihnutej slinnej žľazy**. 4 dni boli vykonané výplachy žľazy 1 % prokaínom.

Dg.: Chronická recidivujúca juvenilná parotitída (Payenova parotitída)

Úlohy a otázky:

Vyhodnoťte výsledky mikrobiologického vyšetrenia, identifikujte pôvodcu a zistite citlivosť na antimikróbne liečivá.

.....

Aké sú predispozičné faktory Payenovej parotitídy ?

.....

Aké ďalšie ochorenia slinných žliaz poznáte ?

.....

Pacient č. 3

Rodičia prišli na lekársku pohotovostnú službu s 3 ročným chlapcom s zväčšujúcim sa opuchom v mandibulárnej oblasti, s ťažkosťami pri dýchaní. Ťažkosti trvali 24 hodín.

Anamnesticky mal chlapec pred 3 týždňami úraz, pri ktorom spadol a poranil si nos.

Nález pri vyšetrení: Mäkký opuch a začervenanie v submandibulárnej oblasti, teplota 38,8° C, pozitívne zápalové markery. Pri RTG vyšetrení zistená výrazná prominencia mäkkých tkanív bez prítomnosti cudzieho telesa.

Vykonaná incízia a drenáž, pri ktorej bolo odobraného 10 ml purulentného materiálu.

Indikovaný oxacilín intravenózne.

Dg.: Ludwigova angína

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: Purulentná tekutina

Úlohy a otázky:

Vyhodnoťte výsledok mikrobiologického vyšetrenia

.....

Akým spôsobom je ohrozený pacient pri tomto ochorení ?

.....

Pacient č. 4

30 ročný pacient bol s genitoanálnym výskytom kondylómov hospitalizovaný na kožnej klinike. Na stomatologickú kliniku bol odoslaný na konziliárne vyšetrenie pre podobný útvar v dutine ústnej.

Anamnéza: Opakované hospitalizácie (niekoľko rokov) na kožnej klinike s diagnózou generalizovaného mikrobiálneho ekzému.

Nález pri vyšetrení: Pri vyšetrení dutiny ústnej v podjazykovej oblasti na frenulum lingue zistená prítomnosť verukózneho útvaru.

Terapeuticky bola u pacienta vykonaná excízia kondylomatózneho tkaniva, ktoré bolo odoslané na histologické vyšetrenie.

Dg.: suspektná papilomavírusová infekcia

Materiál na histologické vyšetrenie: Excízia kondylomatózneho tkaniva

Úlohy a otázky :

Definujte pôvodcu ochorenia, do akej čeľade patrí ?

.....

Akým spôsobom je možné diagnostikovať pôvodcu ochorenia ?

.....

V čom spočíva riziko infekcie uvedeným vírusom ?

.....

PRAKTICKÉ CVIČENIE Č.11

Mikrobiologická diagnostika systémových infekcií odontogénneho pôvodu.
Mikrobiologická diagnostika endokarditídy, sepsy a infekcií CSN odontogénnej etiológie.

Odontogénne pyogénne infekcie

Otázky:

Aké sú možnosti šírenia infekcie z dutiny ústnej ?

.....

Vymenujte najčastejších pôvodcov infekcií odontogénnej etiológie ?

.....

Pacient č.1

21 ročný muž mal asi mesiac pred hospitalizáciou bolesťami zuba 15. Obvodný stomatológ zub trepanoval a endodonticky liečil asi 10 dní s následnou extrakciou zuba pre podozrenie na periostitídu maxily. Rana po extrakcii bolela, mierne krvácala. Stomatológ zahájil zvyčajnú liečbu výplachmi extrakčnej rany, drenážami s antiseptickým roztokom a antibiotickou liečbou penicilínom. Stav sa zhoršoval, horúčka, zväčšenie submandibulárnych uzlín.

Obvodný lekár po zistení leukocytózy poslal pacienta na hematologickú kliniku.

Anamnéza bez pozoruhodností. Pri prijatí na oddelenie pacient udáva potenie, zimnicu, slabosť, únavu, dýchavičnosť, chudnutie, hnisavú sekréciu z pravej nosnej dierky. Teplota 38 0 C. Pretrvávajúci mierny difúzny, nebolestivý, neohraničený opuch pravého líca. V dutine ústnej extrakčná rana po zube 15 so známkami zápalu. Subnadibulárne uzliny obojstranne zväčšené, na pohmat miere bolestivé.

Z laboratórnych vyšetrení: FW 125/hod., Ery $2,06 \times 10^{12}/l$, hb 67/l, Ly $4,0 \times 10^9/l$, Tr $250 \times 10^9/l$. Kultivačné vyšetrenie hemokultúry negatívne,. Sternálna punkcia potvrdila masívnu blastickú infiltráciu kostnej drene s ťažkou rekukciou základnej hemopoézy. Stomatologický nález: na hrebene alveolu hornej čeľusti vpravo vmieste extrahovaného zuba 15 bola sondou zistená oroantrálna komunikácia s výtokom hnisu pri pretlaku v nose. RTG: masívne zatienenie pravej čeľustnej dutiny bez hladiny.

Dg.: akútna lymfoblastická leukémia, sinusitis maxillaris dx.

Odber materiálu na mikrobiologické vyšetrenie : Hnis z maxilárnej dutiny

Úlohy:

Vyhodnoťte kultivačné vyšetrenie a interpretujte jej výsledok.

.....

Identifikujte pôvodcu, zistite citlivosť na antimikróbne látky a navrhnete možnosti antimikróbnej liečby.

.....

Endokarditída a sepsa odontogénnej etiológie

Otázky:

Definujte sepsu a priebeh septického ochorenia.

.....

ODBER, TRANSPORT A SPRACOVANIE MATERIÁLU

Krv na hemokultiváciu odoberáme z v. mediana cubiti asepticky, t.j. že v miesta venepunkcie aplikujeme za sebou 2 dezinfekčné prostriedky aby sme vylúčili pravdepodobnosť kontaminácie vzorky kožnou flórou - aplikujeme 75 - 95% benzín-alkohol , ako druhý môžeme použiť jódomový preparát. Ak je však pacient alergický, použijeme chlórhexidín. Necháme cca 2 minúty exponovať.

!! Pred odberom krvi vždy treba ešte odobrať ster z miesta vpichu na kontrolu či je miesto sterilné - bez kožnej flóry.

Krv odoberieme do striekačky a po výmene ihly vstrekneme do pripravenej hemokultivačnej nádoby (pred aplikáciou vydezinfikovať zátku !!!) .

Množstvo odobratej krvi sa riadi vekom pacienta :

- **Novorodenci** **1-2 ml**
- **Kojenci** **2-3 ml**
- **Staršie deti** **3-5 ml**
- **Dospelí** **10 ml**

Optimálne je na hemokultiváciu vykonať 3 sady odberov . Krv sa obvykle odoberá súčasne aj na aeróbnu aj anaeróbnu kultiváciu

- Ak ide o intermitentnú bakteriémiu - čas odberu by mal byť približne 1 hodinu pred vzostupom teplotnej krivky (triaška)
- Odoberáme minimálne 2 samostatné sady z rôznych miest v priebehu 10 minút

pri odbere jednotlivých hemokultúr je vhodné **striedať miesto vpichu** (žilú) → väčšia pravdepodobnosť záchytu

krv sa **nemá** odoberať cez **dlhodobo** zavedené **katétre** a infúzne **cievky** → väčšia pravdepodobnosť **kontaminácie**

výnimkou je dôkaz kontaminácie CVK – kaval, vtedy sa vyšetrenie doplní o odber krvi z **periférie**

- Pri kontinuálnej bakteriémii/fungémii asociovanou s *infekčnou endokarditídou, endarteritídou, supuratívnou tromboflebitídou, kavalovou a implantačnou vaskulárnou infekciou* - čas odberu nie je rozhodujúci. Odoberieme 3 sady krvi z rôznych lokalít v priebehu 1-2 hodín
- Pri horúčke neznámeho pôvodu v prípade negativity hemokultúr opakujeme odber po 24 – 48 hodinách – odobrať ďalšie 3 sady.
- Pri podozrení na kavalovú (katétrovú) bakteriémiu treba spolu s hemokultúrou odoslať na kultivačné vyšetrenie aj hrot kavala (katétra)
- Pri potrebe zavedeného CVK - odoberáme 2 vzorky krvi súčasne : 1 z periférie a 1 z kavalového katétra.
- Po odbere treba hemokultúru ihneď transportovať do mikrobiologického laboratória – uchovávať v teple !
- Ak HK nemôžeme hneď po odbere odoslať do laboratória vložíme do termostatu. Ak nie je k dispozícii termostat, necháme HK pri stabilnej izbovej teplote. Podľa možnosti sa snažiť čo najskôr ju transportovať do laboratória !

Súčasne je potrebné odobrať materiál na mikrobiologické vyšetrenie z predpokladaného zdroja sepsy (hnis z abscesu, moč, likvor a pod.).

Mikroskopický obraz (Gramovo farbenie, akridínová oranž) je dôležitou prvou informáciou o etiologickom agens.

Dôkaz antigénov sérologickými a molekulárnymi metódami .

Potvrdenie zápalovej aktivity , napr. CRP, prokalcitonín, neopterin .

Úlohy:

Zistíte pôvodcu ochorenia . Postup a výsledky zapíšete a na záver prezentujete kolegom .

Pacient č. 2

84 ročný vojnový veterán bol vyšetrovaný na geriatrickom oddelení pre pretrvávajúcu horúčku, nepokoj, nechutenstvo a chudnutie. Dlhšiu dobu pociťoval intermitentne teplotu a začal sa často potiť pri rôznych podnetoch.

Pri vyšetrení: tachykardia 10/min., teplota 37,5°C, tlak krvi a dychové parametre v norme. Ťažká rozsiahla gingivitída, zlá ústna hygiena. Auskultačný nález na srdci- slabý diastolický šelest parasternálne, vyšetrenie pľúc, brucha a rekta v norme. Lymfatické uzliny nezväčšené. Pacient bol odoslaný na kardiologické vyšetrenie.

Dg.: infekčná endokarditída

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: Krv na hemokultiváciu (3 – 5 vzoriek), ster z kože z miesta vpichu

Otázky a úlohy:

Vyhodnoťte kultivačný nález a identifikujte zachytený bakteriálny kmeň

.....

Interpretujte výsledok mikrobiologického vyšetrenia

.....

Navrhnite možnosti antibiotickej liečby

.....

Čo bolo pravdepodobne prameňom infekcie a bránou vstupu ?

.....

Označte predispozičné faktory pre vznik endokarditídy u Vášho pacienta.

.....

Ktorí ľudia a kedy sú ohrození infekčnou endokarditídou ? aké sú preventívne opatrenia ?

.....

Vymenujte najčastejších pôvodcov endokarditíd .

.....

Mikrobiologická diagnostika CNS

Otázky:

Aký je rozdiel medzi septickou (purulentnou) a aseptickou meningitídou ?

.....

Vymenujte najčastejších pôvodcov purulentnej meningitídy :

.....
Vymenujte najčastejších pôvodcov aseptické meningitídy.
.....

Úlohy:

Zistite pôvodcu ochorenia . Postup a výsledky prezentujte kolegom.

Pacient č.3

U 19- ročného vojaka z povolania sa náhle objavili kruté bolesti hlavy, vysoká teplota 39 0 C, zvracal, postupne nastúpilo stuhnutie šije a bezvedomie. Na koži trupu a tváre boli prítomné početné petechie. Jeho veliteľ udáva, že sa pred týždňom hlásil v ošetrovni pre ochorenie horných dýchacích orgánov.

Dg.: meningitída

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie : Likvor, 3 sady vzoriek krvi na hemokultiváciu, ster z kože z miesta vpichu pre odber hemokultúry

Otázky a úlohy:

Identifikujte pôvodcu, zistite jeho citlivosť na antimikróbne preparáty a navrhnete možnosti antimikróbnej liečby Vášho pacienta

.....
Čo bolo pravdepodobne zdrojom pôvodcu infekcie a bránou vstupu ?
.....

Čo je hlavným faktorom virulencie pôvodcu infekcie u Vášho pacienta ?
.....

Aké predisponujúce faktory boli prítomné u pacienta ?
.....

Aké následky infekcie môžu vzniknúť u Vášho pacienta ?
.....

Je potrebné vykonať opatrenia na zabránenie šírenia tohto ochorenia medzi ostatnými vojakmi v útvere ? Ak áno, aké opatrenia navrhujete ?

PRAKTICKÉ CVIČENIA Č. 12

Mikrobiologická diagnostika infekcií získaných počas ošetrovania na stomatologickom pracovisku.

Mikrobiologická diagnostika nozokomiálnych infekcií so zreteľom na chirurgickú liečbu v oblasti hlavy a krku.

Otázky a úlohy:

Aké sú možné cesty prenosu infekcie v ambulancii zubného lekára ?

.....

Môže byť zdrojom infekcie iba človek s akútnym ochorením ?

.....

Pri ktorých infekciách je možný prenos infekcie z pacienta na zubára ?

.....

Pri ktorých infekciách je možný prenos zo zubára na pacienta ?

.....

Ktoré z uvedených infekcií : hepatitída B, hepatitída C, záškrt, chrípka, AIDS sú preventabilné očkovaním ?

.....

Aký spôsob dezinfekcie je nutné používať v ambulancii na dezinfekciu použitých nástrojov a pracovných plôch ?

.....

Diagnostikujte pôvodcu ochorenia Postup a výsledky práce zapíšte a na záver prezentujte kolegom

Prípad č. 1

62 ročný muž bol odoslaný do nemocnice pre zhoršujúce sa dýchacie a zmätenosť. Pred piatimi dňami začal suchý kašeľ bez vykašliavania, mal problémy s dýchaním. Pred 3 rokmi prekonal infarkt myokardu. Prítomná hypertenzia, užívanie diuretík. Fajčí 20- 30 cigariet denne. Pri vyšetrení bol ospalý, dezorientovaný, počet dychov 22/min., tachykardia 95/min, teplota 37.5°C. Auskultačne prítomný difúzne krepitus, viac zreteľný vľavo. Neurologické vyšetrenie v norme, na EKG známky prekonaného infarktu, na RTG škvrnité zatienenie vľavo strednom a pľúcnom poli. Krvný obraz, urea, elektrolyty, hladina sérovej glukózy a vápnika v norme. V priebehu 18 hodín bol na oddelení JIS napojený na umelú pľúcnu ventiláciu.

Z anamnézy: zmätenosť a dezorientácia prítomná len v posledných dňoch. Pred viac ako týždňom absolvoval náročný stomatologický zákrok. Ochorenie začalo ako viróza celkovou slabosťou, sekréciou z nosa a miernym kašľom. Po prijatí na JIS pacientovi vykonané bronchoskopické vyšetrenie s nálezom zapálených bronchov a zvýšenou sekréciou hlavne vľavo.

Otázky a úlohy:

Akú diagnózu by ste určili na základe uvedených vyšetrení a anamnézy ?

.....

Vyhodnoťte výsledky mikrobiologického vyšetrenia

.....

Popíšte pôvodcu ochorenia.

.....

Akým spôsobom môže vzniknúť infekcia uvedeným agens ?

.....

Aké opatrenia musí zdravotnícky personál dodržiavať pri starostlivosti o pacienta s daným ochorením ?

.....

Prípad č. 2

U 42- ročnej pacientky bola naplánovaná implantácia. Pred implantáciou bolo urobené vyšetrenie na dôkaz periodontálnych patogénov s negatívnym výsledkom. Implantácia bola úspešná. Po 10 mesiacoch sa v blízkosti imlantátu rozvinula hnisavá sekrécia. Odobraný materiál bol poslaný na mikrobiologické vyšetrenie.

Dg.: gingivitída v okolí implantátu, peri-implantitída

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: Hnis z ložiska

Otázky a úlohy:

Vyhodnoťte výsledky mikrobiologického vyšetrenia

.....

Čo bolo možným zdrojom infekcie u pacientky ?

.....

Čo bolo vhodné urobiť pred implantáciou na zníženie rizika vzniku infekcie ?

.....

Menujte možné preventívne opatrenia po implantácii.

.....

Pacient č.3

20. decembra priniesla matka na stomatologické oddelenie 3 ročného chlapca so začínajúcou periostitídou z kariézneho zuba 63. Vedúci lekár oddelenia odporučil extrakciu, ktorú vykonal mladý lekár. Dieťa pri výkone bolo nepokojné. Zub sa po ľahkej extrakcii Beinovou pákou stratil. Dieťa sa upokojilo a nejavilo známky komplikácií. Bolo prepustené domov a objednané nasledujúci deň na kontrolu. Na druhý deň priniesla matka dieťa na kontrolu. Uviedla, že chlapec sa v noci sťažoval na bolesti v hrudi. Dieťa lekár poslala na RTG vyšetrenie, ktoré potvrdilo vdýchnutý zub v ľavom pľúcnom laloku. Dieťa poslali na ORL kliniku 21. 12. Vo večerných hodinách, boli ordinované antibiotiká. Vybratie vdýchnutého zuba bolo realizované 22. 12. V celkovej anestézii bronchoskopickou cestou. Celkový stav dieťaťa sa rýchle horšil, bolo niekoľkokrát resuscitované. Napriek medikamentóznej a chirurgickej liečbe dieťa 24. 12. Zomrelo. Pitva objasnila príčinu smrti- rozsiahla bronchopneumónia.

Otázky :

Ktoré bakteriálne patogény mohli spôsobiť aspiračnú pneumóniu u 3- ročného chlapca ?

.....

Prípad č. 4

Počas pohotovostnej služby v roku 1979 sa 33 ročný zubný lekár poranil pri extrakcii zuba u pacienta. Rana bola ošetrovaná a zahojila sa per primam. Po 3 mesiacoch si všimol mierne ikterické sklery a pociťoval tlak pod pravým rebrovým oblúkom.

Nález pri vyšetrení: mierny ikterus kože a slizníc, pečeň v oblúku, palpačne citlivá. Hodnoty hepatálnych testov zvýšené. Odber krvi na markery hepatitíd pre diferenciálnu diagnostiku hepatitídy A a B.

U pacienta potvrdená hepatitída B, pravidelne chodieval na kontrolné vyšetrenia. Pretrvávali zvýšené hepatálne markery, ktoré potvrdzovali chronickú hepatitídu. Po siedmych rokoch na sonografickom vyšetrení zmenená echogenita pečene so susp. Cirhózou pečene. Napriek podpornej liečbe vznikol u pacienta karcinóm pečene, v roku 1995 zomrel.

Nozokomiálne infekcie

Čo je to nozokomiálna nákaza ?

.....

Ktoré mikroorganizmy patria k najčastejším pôvodcom nozokomiálnych nákaz ?

.....

Pacient č. 5

55 ročný pacient bol hospitalizovaný pre polytramu, bol napojený na riadenú ventiláciu. Po 3 dňoch sa vyvinula pneumónia. Bola vykonaná bronchoalveolárna laváž.

Dg.: pneumónia

Materiál na mikrobiologické vyšetrenie: Bronchoalveolárna laváž

Otázky a úlohy:

- Vyhodnoťte výsledok kultivačného vyšetrenia a identifikujte pôvodcu
- Navrhnite možnosti antimikróbnej liečby

Kde bol zdroj a brána vstupu infekcie ?

.....

Ktoré predisponujúce faktory vzniku pneumónie boli prítomné ?

.....