Jméno a příjmení: Datum:
Skupina č.:

LABORATORNÍ PROTOKOL č.5

Téma: Hemofily, neisserie, mykobakterie, korynebakterie

Úkol č.1: Identifikace hemofilů – faktory V a X

Princip:

Různé kmeny hemofila vyrůstá na živném agaru pouze v okolí disku s příslušným růstovým faktorem.

Postup:

Plotnu s MH agarem rozdělíme napůl a na každou půlku masivně naočkujeme testovaný kmen.
Na naočkované kmeny položíme disky s růstovými faktory – V, X a X+V. Inkubujeme 24 hodin při teplotě 37°C, při 5-10% CO_2 a odečítáme.

Závěr:

Úkol č.2: Identifikace hemofilů – satelitismus

Princip:

Hemofily rostou na krevním agaru pouze v přítomnosti *Staphylococcus aureus*, v jeho přítomnosti se uvolňuje faktor X a produkuje faktor V.

Postup:

Na krevní agar naočkujeme masivně kličkou oba kmeny, každý na svou polovinu. Poté středem kultivace naočkujeme čarou kmen *Staphylococcus aureus*. Inkubujeme 24 hodin při teplotě 37°C, při 5-10% CO_2 a odečítáme.

Závěr:

Jméno a příjmení: Datum:
Skupina č.:

Úkol č.3: Identifikace neisserií – oxidázový test

Princip:

Testem prokazujeme přítomnost cytochromoxidázy barevnou reakcí N,N-dimetyl – 1,4 fenylendiaminu s α-naftolem za vzniku indolfenolové modři.

Postup:

Zónu testovacího proužku otiskneme přímo do testované kolonie

Závěr:

Úkol č.4: Identifikace neisserií – mikroskopický preparát

Závěr:

Úkol č.5: Identifikace korynebakterií

Princip:

Kmen produkující D-sfingomyelinázu inhibuje stafylokokový β-hemolyzin a redukuje či úplně ruší vliv β-hemolyzinu na krvinky. Pozitivní test se projeví potlačením β-hemolýzy testovaného kmene v místě křížení očkovacích čar s kmenem *Staphylococcus aureus*.

Postup:

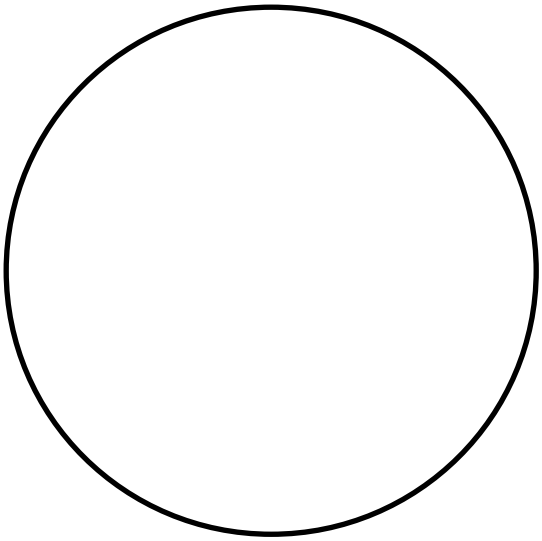
Na krevní agar čarou naočkujeme testovaný kmen a kolmo na něj čarou *Staphylococcus aureus.* Inkubujeme 24 hodin při teplotě 37°C a odečítáme.

Závěr:

Jméno a příjmení: Datum:
Skupina č.:

Úkol č.6: Identifikace korynebakterií – mikroskopický preparát

Závěr:



Úkol č.7: Identifikace *Listeria monocytogenes*

Princip:

L. monocytogenes je pohyblivá při kultivaci do 25°C. Typický kotrmelcový pohyb je možno pozorovat v nativním preparátu.

Postup:

Na podložní sklíčko kápneme kapku bujónové kultury, přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme při 40x zvětšení.

Závěr:

Jméno a příjmení: Datum:
Skupina č.:

Úkol č.8: Identifikace mykobakterií

Princip:

Acidorezistentní barvení dle Ziehl-Neelsena – zahřátí koncentrovaného karbolfuchsinu, odbarvení pomocí kyselého alkoholu a dobarvení preparátu pomocí malachitové zeleně.

Závěr: