

Metoda: Vyšetření stolice na přítomnost patogenních bakterií

Student(ka): Lucie Maroušková, 2. ročník ZL

Školitelé: Lenka Laiblová, MUDr. Drahomíra Rottenbornová

Oddělení lékařské mikrobiologie, Poliklinika Agel Plzeň

Princip: Vyšetření stolice na přítomnost bakterií se provádí pomocí kultivace na pevné půdy. Kultivační půdy obsahují vhodné životní podmínky pro růst určitých mikroorganismů. Cílem kultivace je izolovat infekční agens v čisté kultuře, aby mohlo dojít k následné identifikaci. Využívá se tedy metody přímého průkazu, kdy prokážeme přítomnost agens.

Půdy obsahují:

Endoagar: Selektivně diagnostická půda pro růst střevních bakterií (enterobacteriaceae). Obsahuje MPA základ a laktózu. Indikátorem jejího kvašení je bazický fuchsin odbarvený siřičitanem sodným. Je-li laktóza kvašena, mění se barva světle fialovorůžová do temně fialové vlivem změny pH bakterie, které laktózu kvasí. Narostlé kolonie mají tmavě fialové zbarvení, někdy také s kovovým leskem. Bakterie, které laktózu nezkvašují mají kolonie růžové.

XLD agar: Půda pro záchyt střevních bakterií – Salmonella a Shigella. Půda obsahuje laktózu, také xylózu, lyzin a sacharózu. Salmonelly a Shigelly rostou v červených koloniích. U salmonely lze rozpoznat tvorbu H₂S černými středy u kolonií. Ostatní bakterie rostou ve žlutých až oranžových koloniích.

Postup při provádění metody:

Pomocí kličky (očka) se výtěr stolice vyočkuje na ½ krevního agaru, poté na ½ Endoagaru, dále na ½ XLD agaru. Dle požadavků na žádance se provádí očkování i na další půdy – Karmaliho agar. Poté se výtěr s tamponem zlomí a vloží se do tekuté pomnožovací půdy – selenitu. Výtěr se následně ze selenitu vyočkuje na ½ Endoagaru a ½ XLD agaru.

Rozočkování se provádí tak, aby se z hustého nánosu bakterie roztáhly v očkovacích čarách do větší plochy a mohly vyrůstat v izolovaných koloniích.

Po očkování kultivujeme krevní agar, Endoagar a XLD agar při 37°C v termostatu po dobu 24 hodin, Karmaliho agar kultivujeme ve zvonu při 42°C.

Po proběhnutí kultivace se hodnotí narostlé kolonie a určuje se výskyt přítomných patogenů podle charakteristických vlastností pro určité druhy a rody bakterií. Popis kolonie končí buď předběžným určením bakteriálního druhu anebo se při nejasném rozpoznávání bakterií provádí izolace, tzn. nabere se 1 kolonie a rozočkuje se na čistou půdu.

Uplatnění metody: Metoda se uplatňuje při podezření na přítomnost střevních bakterií. Provádí se u pacientů trpících průjmy, jedná-li se o průjmy hromadného výskytu, u osob vyskytujících se v potravinářském průmyslu nebo u osob s oslabeným imunitním systémem.

Úskalí metody: Metoda poměrně zdlouhavá - 24 hodin.

Nález 2 a více druhů kolonií (bakterií) svědčí o kontaminaci. Musí se provést nový odběr a opětovné zpracování materiálu.

Přístrojové vybavení: K této metodě není povětšinou třeba žádného přístroje. Mikrobiologovi na určení bakterie stačí v mnoha případech oko. V některých případech se ale využívá hmotnostní spektrofotometrie – MALDI-TOF k dourčení kolonie. Princip je založený na srovnání hmotnostního spektra biomolekul vyšetřovaného izolantu s hmotnostním spektrem známého mikroorganismu

Odběr a transport: Biologický materiál musí být odebrán ze správného místa do předem označených a sterilních odběrových nádob. Musí se odebírat asepticky. Odběr materiálu se provádí před zahájením léčby antibiotiky. K materiálu je nutno vypsát průvodku. Materiálem na bakteriologické

vyšetření je výtěr z rekta. Provádí se takto: Klečící pacient se opírá o lokty nebo leží na boku. Po vyzvání, aby zatlačil jako při konání potřeby, se mu do konečníku do hloubky přibližně dva až tři centimetry vsune odběrový tampon a následně se jím pootočí. Tampon se poté vloží do transportního media. Vzorek by měl být dopraven do laboratoře co nejrychleji, nejpozději 2 hodiny po odběru by měl být již zpracován.