

Metoda: Identifikace Streptococcus pneumoniae pomocí Optochinového testu

Helena Knechtová, 2. ročník Laboratorní diagnostiky ve zdravotnictví

Školitelka: Bc. Martina Šnajdrová

Princip: Základem principu identifikace je citlivost Streptococcus pneumoniae na antibiotikum optochin, který difunduje do okolí, čímž zabraňuje bakteriálnímu růstu. Na kultivační půdě vzniká inhibiční zóna s minimální velikostí 14 mm.

Krevní agar rovnoměrně naočkujeme koloniemi testovaného kmene získanými z kultivace. Sterilně přiložíme optochinový disk a dáme vzorek inkubovat na 24 h při 37 °C do termostatu se zvýšenou tenzí CO₂. Druhý den lékař zhodnotí velikost inhibiční zóny.

Uplatnění metody: Pomocí metody od sebe snadno rozlišujeme o jaký typ beta hemolytických streptokoků se jedná. Přesněji grampozitivní Streptococcus pneumoniae od orálních streptokoků.

Úskalí metody: Mezi hlavní úskalí mikrobiologické laboratoře patří kontaminace způsobená nevhodným postupem při zpracování anebo už při odebírání vzorku. Jak zmiňuji u odběru vzorku, vzorek musí být vždy odebírán do sterilních odběrových souprav, personál musí při odběru dbát na osobní hygienu rukou, tedy mít vydesinfikované ruce a sterilní rukavice. V laboratoři se musí dbát na to, aby vzorek nebyl kontaminován bakteriemi z okolí a nebo z jiného vzorku, na očkování půd se vždy používá buď jednorázová plastová klička a nebo kovová klička, která musí být vypálená a vychladlá.

Přístrojové vybavení: Jediný přístroj, který pro tuto práci potřebujeme je termostat se zvýšenou tenzí CO₂, kde za 24 hodin necháme bakterie narůst. Z pomůcek potřebujeme kolonii, kterou jsme získali z předešlé kultivace, dále krevní agar, na který rozočkujeme získanou kulturu a optochinové disky, díky kterým můžeme identifikovat, zda se opravdu jedná o kmen Streptococcus pneumoniae.

Odběr a transport: Na kultivaci Streptococcus pneumoniae se odebírá moč, likvor a sputum.

Pro odběr moči je potřeba pacienta řádně poučit o správné hygieně před odběrem. Genitálie musí být omyté a zkumavka musí být sterilní. Odbírá se střední proud moči a ve výjimečných případech se moč odebírá cévkováním. Vzorek se buď ihned zasílá do laboratoře na vyšetření, nebo se uchovává v chladu, mimo sluneční záření a do laboratoře musí být doručen maximálně 24 hodin od odběru.

Likvor se odebírá nejčastěji pomocí lumbální punkce, méně často subokcipitálně. Lumbální punkce se nejčastěji provádí v místech bederní páteře. Při odběru pacient, buď sedí v předklonu nebo leží na boku s hlavou u brady a pokrčenými koleny. Před odběrem se označí místo vpichu, místo se vydesinfikuje a provedeme lokální anestezii. Provedeme vpich, změříme likvorový tlak a necháme likvor odkapat do sběrné zkumavky (obvykle 2-4 ml). Likvor je potřeba dopravit do laboratoře co nejrychleji aby nedošlo k rozpadu buněk.

Sputum se u pacienta odebírá ráno, nalačno. Pacient si vyčistí zuby, případně ještě vyčistí ústa kloktáním. Poté se zhluboka nedechně a vykašle sputum do sterilní zkumavky s širokým hrdlem.