

Metoda: Krátká řada biochemických testů

Kateřina Živná, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 2. ročník

Školitelé: J. Hanzlíčková

Princip: Test probíhá v řadě zkumavek, ve kterých probíhají biochemické reakce. Přesněji se jedná o zkvašování glukózy, tvorbu H₂S, tvorbu ureázy, Simmonsova citrátu, indolu, a štěpení laktózy, sacharózy a manitolu.

Průkaz zkvašování glukózy probíhá ve Wassermanově zkumavce s roztokem glukózy s bromthymolovou modří, ve které je vložena menší zkumavka („plynovka“). Pokud zkoumaná bakterie štěpí glukózu, v této menší zkumavce otočené dnem vzhůru se začnou objevovat bublinky vzduchu a okolní roztok zežloutne. Pokud roztok zůstane zelenomodrý, tak zde kvašení neprobíhá.

Test pro tvorbu H₂S probíhá na Hajnyho půdě, kde jako indikátor slouží citrát železitanoamonný. Při pozitivitě se vylučuje sulfid olova, což způsobí zčernání půdy, při negativním výsledku zůstane půda červená či žlutá.

Tvorba ureázy probíhá na šikmo vylité půdě s močovinou, kdy ji ureáza produkovaná bakteriemi rozkládá a tím dochází k alkalizaci prostředí a zbarvení půdy z původní zelené/žluté na růžovou barvu.

Pro prokázání Simmonsova citrátu se používá půda s citrátem sodným, kdy jako indikátor slouží bromthymolová modř. Test vyjde pozitivně pokud bakterie využívají citrát sodný jako zdroj uhlíku, kdy následně dojde k uvolnění amoniaku, tedy alkalizaci prostředí, a půda zmodrá. Při negativitě je půda zelená nebo žlutá.

Zjištění přítomnosti indolu probíhá na Hottingerovu bujónu, který obsahuje tryptofan. Z něj činností bakterií vzniká indol, pro jehož prokázání se přidá Ehrlichovo nebo Kovácsovo činidlo. Při pozitivním výsledku se na povrchu bujónu vytvoří červený prstenec, při negativním žlutý prstenec.

Test štěpení (utilizace) se provádí u laktózy, sacharózy a manitolu. Indikátorem je znovu bromthymolová modř, která při zkvašování cukrů bakteriemi a změně pH obarví půdu modře. Pokud bakterie látku neštěpí, půda zůstane žlutá.

Uplatnění metody: Krátká řada biochemických testů (nebo také „krátká pestrá řada“) se používá pro identifikaci střevních bakterií (v rámci čeledi Enterobacteriaceae), tedy Gram negativních anaerobních tyčů. Jednotlivé rody se pak určují pomocí rozlišných biochemických vlastností.

Úskalí metody: Mezi úskalí metody rozhodně patří její časová náročnost, kdy je její provedení v řádech dnů, ne zcela průkazná a spolehlivá diagnostika, nemožnost zautomatizování a tím i její pracnost, kdy se po kultivaci bakterie musí kolonie rozočkovat ještě do zkumavek s jednotlivými testy. Pro rychlejší a jednodušší určení se ale může použít MALDI-TOF.

Přístrojové vybavení: K provedení testů stačí pouze zkumavky s požadovanými půdami a bujóny.

Odběr a transport: Mezi odebíraný materiál pro tenhle typ vyšetření patří stolice, moč, sputum, hnis, likvor, výtěry z ran nebo pochvy. Je potřeba materiál umístit do vhodné odběrové soupravy a tu následně označit jménem a rodným číslem pacienta. Dále se odebraný materiál posílá s vyplněným průvodním listem do laboratoře. Zde je materiál rozočkován na vhodné půdy, následuje kultivace a po nárůstu jednotlivých kolonií je můžeme naočkovat do zkumavek ke zjištění jejich chemických reakcí.