

Metoda: Diagnostické a selektivně diagnostické půdy

Zuzana Wolfová, 2.ročník ZL

Školitel: Bc. Martina Šnajdrová, Ústav mikrobiologie, FN Plzeň

Princip:

Diagnostické a selektivně diagnostické půdy využívají specifík metabolismu patogena. Diagnostické půdy slouží k odlišení různých druhů organismu na jednom médiu. Obsahují indikátory, které obvykle mění barvu v závislosti na změně podmínek okolí (nejčastěji pH) v důsledku pochodů vyvolaných mikroby. Diagnostickou půdou je chromogenní agar, která dokáže odlišit jednotlivé druhy kandid na základě odlišné barvy kolonií. Jako diagnostickou půdu lze použít částečně i krevní agar, kdy díky hemolýze a typickému projasnění lze odlišit *Streptococcus agalactiae* od *Streptococcus pyogenes* (CAMP test).

Selektivní půdy se používají pro izolaci daného druhu, patří mezi ně Sabouraudův agar s nízkým pH, které potlačuje růst bakterií a využívá se pro kultivaci *Candida albicans*, nebo Löwensteinova-Jensenova půda pro kultivaci mykobakterií, kolonie *Mycobacterium tuberculosis* mají žlutavou barvu.

Selektivně diagnostické půdy jsou kombinací selektivních a diagnostických, obsahují inhibitory a indikátory, jsou specifičtější. Nejvyužívanější půdou je Endův agar pro odlišení bakterií laktóza pozitivních (L+) – štěpících laktózu od bakterií laktóza negativních (L-). Endova půda obsahuje fuchsin, se kterým reagují aldehydy (produkt metabolismu L+ bakterií) za vzniku Schiffových bází a reakce se projeví tmavorůžovým zbarvením; L- bakterie se barevně neprojeví. Podobného principu je využito pro diagnostiku na MacConkeyho agaru, který obsahuje siřičitan sodný a neutrální červen jakožto indikátor pH, kdy L+ bakterie se díky změně pH projeví červenou barvou, kolonie L- bakterií se nezabarví. Na deoxycholát-citrátovém (DC) agaru nerostou G+ bakterie, gramnegativní L+ bakterie se projeví červeně, díky indikátoru neutrální červen, L- bakterie bíle. Dále obsahuje citrátový roztok, deoxycholát draselný a thiosíran sodný, díky kterému se bakterie produkující sirovodík zbarví černě za vzniku sulfidů železa. Žluč-eskulinový (ŽE) agar slouží naopak k záchytu G+ bakterií. Wilson-Blairova půda obsahuje bismut-sulfidový roztok a briliantovou zeleň. Typickou reakcí je vysrážení bismutu koloniemi bakterií rodu *Salmonella* a jejich černé zbarvení, ostatní enterobakterie rostou v šedomodrých koloniích, G+ bakterie na této půdě nerostou vůbec. Clauberghova půda slouží k záchytu *Corynebacterium diphtheriae*, jehož kolonie vyredukuje telur z teluricitanu draselého obsaženého v půdě a projeví se černým zbarvením.

Uplatnění metody:

Tyto půdy slouží k záchytu a základní diagnostice původců infekčních chorob v mikrobiologické laboratoři. Díky specifitě jednotlivých půd je možné rozlišit patogeny na základě rodu, někdy i dle druhu. K přesnějšímu dourčení se v praxi u některých patogenů využívají biochemické testy, dále přístroj MALDI-TOF, případně PCR diagnostika.

Specifické uplatnění jednotlivých půd:

- Chromogenní agar – odlišení druhů candid
- CAMP test na krevním agaru – odlišení *Streptococcus agalactiae* od *Streptococcus pyogenes*

- Sabouraudův agar – specifická kultivace *Candida albicans*, Löwensteinova-Jensenova půda – specifická kultivace mykobakterií
- Endův agar – odlišení *Escherichia coli* (L+) od *Salmonella enterica* (L-), MacConkeyho agar – odlišení *E. coli* od jiných enterobakterií (salmonel, shigel)
- DC agar – záchyt bakterií produkujících sirovodík (rody *Salmonella*, *Citrobacter*, *Proteus*), zároveň potlačení plazivého růstu protea
- ŽE agar – záchyt *Enterococcus faecalis*
- Wilson-Blairova půda – odlišení bakterií rodu *Salmonella* od ostatních enterobakterií
- Clauberghova půda – záchyt *Corynebacterium diphtheriae*

Úskalí metody:

Nedostatek této metody spočívá v nižší specifitě diagnostiky patogena, v některých případech je možné odlišit bakterie pouze dle rodu a k přesnějšímu dourčení druhu je potřeba využít jiné metody. Nepřesný výsledek můžeme dostat v důsledku chyby v preanalytické fázi (nesprávný odběr, či transport), méně často chybou v analytické fázi (chybné nanesení vzorku na půdu nebo špatné očkování, kontaminace), případně vlivem nedostatečně kvalitního materiálu (použití půd po uplynutí doby expirace), k čemuž by v laboratoři nemělo vůbec docházet a díky zavedenému systému ani nedochází.

Přístrojové vybavení:

K této metodě není potřeba žádného přístrojového vybavení. Přístrojů lze použít v dalších krocích diagnostiky, například k přesnějšímu dourčení druhu patogena přístrojem MALDI-TOF.

Odběr a transport:

Způsob odběru závisí typu materiálu a požadovaném vyšetření (výtěry, moč, likvor...), stejně tak způsob transportu (odběrové sady s případným transportním médiem).

Obrázky:



Obrázek 3, *E.coli* na Endově půdě;

Autor: LenkaM – Own work, CC BY-SA 1.0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9675662>



Obrázek 4, *Enterococcus faecalis* na ŽE agaru

Převzato z: <https://www.wikiskripta.eu/index.php?curid=17450>

Obrázek 5, *Candida albicans* na Sabouradově půdě

Převzato z: <https://www.wikiskripta.eu/index.php?curid=17452>

Zdroje:

1. Doc. MUDr. Marek Bednář, CSc. Příručka mikrobiologie pro bakaláře 3. LF UK. [Online] [Citace: 27. 3 2022.] <http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/pudy/pudy.htm>.
2. WikiSkript, Příspěvatelé. Kultivační půdy. [Online] 5. 2 2022. [Citace: 27. 3 2022.] https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Kultiva%C4%8Dn%C3%AD_p%C5%AFdy&oldid=452732.452732.