

**Andrzej Kasprowicz,
Anna Białecka**

Instytut Mikrobiologii,
Akademia Medyczna
Kraków

Możliwości szybkiej identyfikacji bakterii pochodzących z różnych materiałów klinicznych przy użyciu krążków bibułowych

Wiele pracowni mikrobiologicznych zajmujących się opracowaniem materiałów diagnostycznych, napotyka na trudności w identyfikacji szczepów bakterii izolowanych z tych materiałów. Trudności te związane są z brakiem odpowiedniego zaplecza pracowni (zwłaszcza w terenie) umożliwiającego przygotowanie szeregu podłoży różnicujących dla poszczególnych grup bakterii. Ponadto takie szeregi różnicujące są pracochłonne i kosztowne w przygotowaniu, wymagają użycia wysokiej jakości odczynników dla uzyskania powtarzalności wyników.

Ostatnio wiele firm wprowadziło gotowe zestawy różnicujące tzw. mikrotesty. Pozwalają one na dokładne zróżnicowanie w obrębie grup bakterii jak: gronkowce, paciorkowce, pałeczki, grzyby, itp. Z wielu rozpowszechnionych najbardziej znany w Polsce jest system API firmy bio Merieux. System ten pozwala na podstawie szeregu cech biochemicznych precyzyjnie zidentyfikować wyizolowane szczepy bakterii. Pomimo wielu zalet system ten, jak i wiele innych, opartych na podobnej zasadzie, nie jest wprowadzony do rutynowej diagnostyki ze względu na wysoki koszt badania.

Dlatego też wiele pracowni mikrobiologicznych ze względu na brak możliwości przygotowania szeregu różnicujących we własnym zakresie lub zakupu drogich, gotowych zestawów, ogranicza swoje badania prowadzące do wykrycia czynnika etiologicznego jedynie do oceny morfologii makro- i mikroskopowej. Często jedynie na tej podstawie pracownia kwalifikuje bakterie do danego rodzaju. Takie postępowanie prowadzi niejednokrotnie do pominięcia istotnego czynnika etiologicznego w danym schorzeniu, a w konsekwencji do podjęcia przez lekarza nieprawidłowej chemioterapii.

Wydaje się zatem celowe opracowanie prostych i tanich testów diagnostycznych, umożliwiających identyfikację niektórych bakterii, najczęściej występujących w materiałach diagnostycznych.

Od wielu lat znane są testy różnicujące, tzw. krążków bibułowych, które są wysycone odpowiednim substratem, jak np. optochina do różnicowania *Streptococcus pneumoniae*, bacytracyna do różnicowania *Streptococcus pyogenes* (6,7). Zasada oparta jest o dyfuzję substratu z krążka do podłoża i reakcji posianego szczepu bakterii wobec tego substratu.

Ostatnio opracowano dalsze testy wykorzystujące krążki bibułowe, jak np. krążki z furazolidonem, umożliwiające różnicowanie rodzaju *Micrococcus* od *Staphylococcus* (2), krążki z glukozą różnicujące rodzaj *Branhamella* od rodzaju *Neisseria* (5), krążki z hematiną umożliwiające różnicowanie pałeczek z rodzaju *Haemophilus* (1), krążki z nowobiocyną różnicujące szczepy *Staphylococcus saprophyticus* (3,4) itp. Krążki bibułowe wysycone danym substratem, wobec którego dany szczep wykazuje cechę stałą są liofilizowane, a zatem wykazują trwałość i powtarzalność reakcji. Zaletą tych testów jest ich niski koszt, łatwość zastosowania, oszczędność. Przy użyciu jednego krążka można zidentyfikować równocześnie kilka szczepów bakterii. Można to zilustrować przykładem różnicowania szczepów bakterii z rodzaju *Micrococcus* od *Staphylococcus* przy użyciu krążków bibułowych z furazolidonem.

Badane szczepy posiewa się promieniście na podłoże Mueller-Hintona, a następnie centralnie nakłada się krążek bibułowy wysycony furazolidonem-F. Następnie, inkubuje się w cieplarni w temp. 37°C prze 24 godziny. Po określonym czasie inkubacji odczytuje się wynik mierząc

strefę zahamowania wzrostu wokół krążka. Szczepy uważa się za odporne jeśli wykazują wzrost przy samym krążku, natomiast za wrażliwe, jeśli obserwowano strefę zahamowania wzrostu o średnicy 20 mm. Wszystkie szczepy odporne zaliczono do rodzaju *Micrococcus*, a szczepy wrażliwe do rodzaju *Staphylococcus* (2).

Testy z zastosowaniem krążków bibulowych wykazują większą przydatność w diagnostyce rutynowej ze względu na powtarzalność, jednoznaczność w interpretacji wyniku oraz łatwość i szybkość wykonania.

Powyższe testy mogą znaleźć zastosowanie w każdej pracowni mikrobiologicznej w celu szybkiego wykrycia czynników etiologicznych pochodzących z bardzo różnorodnych materiałów klinicznych.

Bibulowe krążki diagnostyczne mogą niejednokrotnie być wykorzystane jako wstępne testy identyfikacyjne przed zastosowaniem bardziej szczegółowych, ale kosztowniejszych testów serologicznych czy biochemicznych.

Literatura

1. Kasprovicz A., Zaborski W., Barylak J., (1979), *Diagn. Lab.*, XV, 1, 27.
2. Kasprovicz A., Heczko P. B., Białecka A., (1985), *Diagn. Lab.*, XXI, 4-5, 236.
3. Kasprovicz A., Heczko P. B., Hryniewicz W., Ławrynowicz J., (1985), *The Staphylococci*, *Zbl. Bakt., Suppl.* 14.
4. Kasprovicz A., Białecka A., Heczko P. B., (1987), *Zbl. Bakt. Suppl.*, 16, 77.
5. Kasprovicz A., Kuźniarska K., Turek J., Heczko P. B., (1987), *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 39, 1.
6. Maxted W. R., (1953), *J. Clin. Path.*, 6, 224.
7. Williams R. E. O., (1958), *Bull. W. H. O.*, 19, 153.

Adres dla korespondencji:

Andrzej Kasprovicz, Instytut Mikrobiologii, Akademia Medyczna, ul. Czysła 18, 31-121 Kraków.