

Testování citlivosti na antibiotika

Léčba mikrobiálních infekcí je často spojena s použitím antibiotik. V dnešní době existuje široké spektrum antibiotik, proto existují v mikrobiologii metody sloužící k určení nejvhodnějšího, a tím i nejúčinnějšího druhu antibiotika.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Antibiotika.*

Metody

Využívají se antibiotika (ATB) v sestavách, která jsou volena jak dle druhu zpracovaného materiálu (moč, sputum, výtěr...), tak dle vyšetřovaného druhu bakterie. Výsledkem stanovení citlivosti testované bakterie k antimikrobním přípravkům (ATB) je tzv. **antibiogram**, který umožní výběr nejvhodnějšího antibiotika pro léčbu konkrétního pacienta.

Dělíme na:

1. Difúzní metody
2. Diluční metody

Difúzní metody

Charakteristika: Jde o testy kvalitativní. Určíme jím buď citlivost nebo rezistenci bakterie k danému ATB.

Princip: Spočívá v difúzi ATB do agarů s naočkovaným bakteriálním testovaným kmenem. V případě potlačení růstu bakteriálního kmene antibiotikem dojde k vytvoření tzv. inhibiční zóny.

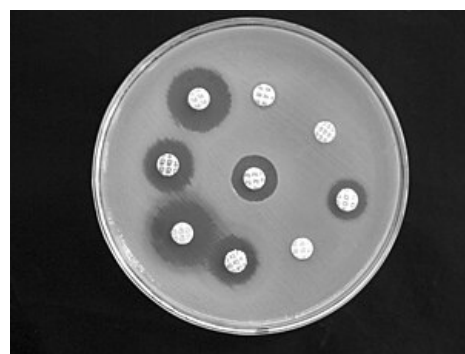
Disková difúzní metoda

Popis: Kvalitativní metoda jejíž výsledek nám říká, zda-li je antibiotikum účinné, nebo zda-li je testovaný kmen k ATB rezistentní. Hodnocení probíhá na základě měření velikosti inhibičních zón s následným porovnáním s referenčními hodnotami.

Výsledek:

1. Testovaný kmen je k antibiotiku rezistentní: tzn. že ATB difundující z ATB disku nezastaví růst bakteriálního kmene a nedojde k vytvoření inhibiční zóny.
2. Testovaný kmen je na ATB citlivý: tzn. že ATB difundující z disku zastaví růst bakteriálního kmene a dojde k vytvoření inhibiční zóny. Zde je však potřeba vycházet z referenčních hodnot.

- Velikost inhibiční zóny je menší než referenční rozmezí = bakterie je k ATB rezistentní
- Velikost inhibiční zóny je větší (překračuje) referenční rozmezí = bakterie je na ATB citlivá



Disková difúzní metoda

Provedení testu:

1. Z čisté, izolované kolonie, kterou chceme testovat připravíme suspenzi mikroba tak, že pomocí bakteriální kličky sejeme kolonii bakteriálního kmene a přeneseme do fyziologického roztoku. Zde je potřeba dodržet stanovený zákal hodnocený pomocí McFarlandových jednotek. Doporučená hodnota zákalu je 0,5 McFarlanda.
2. Suspenzi mikroba naočkovujeme pomocí sterilního tampónu na celý povrch agarové půdy, nejčastěji jde o Müller-Hintonovu půdu.
3. Pomocí speciálních dávkovačů přiklademe ATB disky
4. Kultivujeme – nejčastěji 24 hod./ 37 °C
5. Po inkubaci se měří průměr inhibičních zón. Výsledek se porovná s tabulkou NCCLS a tak se zjistí, zda kmen je na antibiotikum citlivý nebo rezistentní.

E-test

Popis: Kvantitativní metoda, jejíž výsledek nám poskytne informaci o vhodné koncentraci antibiotika, která je proti testovanému kmenu účinná. Jde v podstatě o metodu určení minimální inhibiční koncentrace (MIC : Taková koncentrace ATB, která je schopna zastavit růst bakterie). Využívá se speciální proužek napuštěný rostoucími koncentracemi antibiotika, opatřený stupnicí.

Výsledek: V případě citlivosti na ATB, se vytváří zóna inhibice růstu ve tvaru elipsy, která přetíná proužek s antibiotikem právě v místě udávajícím hodnotu MIC.

Provedení testu: Provedení testu odpovídá postupu u diskové difúzní metody s tím rozdílem, že se nepoužívají ATB disky, ale již zmíněný proužek napuštěný ATB.



E-test

Diluční metody

Charakteristika: Jde o testy kvantitativní. Slouží ke zjištění minimální inhibiční koncentrace (MIC), tj. minimální koncentrace ATB, která je schopna zastavit růst bakterie. Jsou přesnější nežli difúzní metody.

Princip: Spočívá v inhibici růstu bakterie danou koncentrací ATB.

Popis: Používají se ATB ředěná tzv. geometrickou řadou. Takto naředěná ATB se smíchají s tekutým bujónem, který v tomto případě nahrazuje tuhou půdu (agar). Takto připravené roztoky ATB s bujónem se dávkuje do mikrotitrační destičky (dnes se destičky i s ATB dodávají do laboratoře již připravené). Růst bakterie se projeví zákalem. V případě inhibice bakterie ATB zákal mizí.



Stanovení MIC

Výsledek: Jamka, ve které dojde k zastavení růstu, je hodnocena jako tzv. minimální inhibiční koncentrace.

Provedení: Do již připravené mikrotitrační destičky se naočkuje sledovaná bakterie. Následuje kultivace (nejčastěji 24 hod/ 37 °C) a odečet MIC.

Odkazy

Související články

- Diskový difúzní test
- Minimální inhibiční koncentrace

Použitá literatura

- SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie : Pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha : Grada, 2010. 224 s. ISBN 978-80-247-3170-4.
- BEDNÁŘ, Marek. *Příručka mikrobiologie pro bakaláře 3.LF UK* [online]. Ústav mikrobiologie 3.LF UK, [cit. 2012-04-29]. <<http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/>>.