

## Mikrobiologia weterynaryjna

Justyna Janiszewska, Aneta Bieleniewicz-Kamińska

Badania mikrobiologiczne są jednymi z głównych badań laboratoryjnych wykorzystywanych przez lekarzy weterynarii w celu postawienia prawidłowej diagnozy oraz wdrożenia odpowiedniego leczenia. Podstawowym celem diagnostyki mikrobiologicznej jest rozpoznanie czynnika wywołującego dany proces chorobowy. Można tego dokonać przy pomocy kilku metod:

1. badanie mikroskopowe próbki, hodowlę oraz identyfikację bakterii
2. identyfikację na podstawie obecności antygenów wykrywanych za pomocą serologicznych metod diagnostycznych
3. techniki molekularne (np. PCR)
4. wykrywanie przeciwciał swoistych dla danego czynnika (metody serologiczne) – jest to badanie pośrednie, które wykrywa odpowiedź na kontakt z czynnikiem zakaźnym, a nie sam czynnik, dlatego wynik musi być zawsze interpretowany w połączeniu z objawami klinicznymi.

W niniejszym artykule chcielibyśmy się skupić na podstawowych badaniach mikrobiologicznych, czyli na hodowli bakterii i ich identyfikacji, a przede wszystkim na sposobie przygotowania materiału do tego typu badań. Odpowiednie pobranie materiału do badania bakteriologicznego odgrywa znaczącą rolę dla wyniku tego badania.

Materiał do badania mikrobiologicznego pobieramy jałowymi wymazówkami, które następnie umieszczamy w podłożu transportowym lub bezpośrednio do jałowych pojemników.

Bardzo istotny jest tu fakt, aby zwierzę nie było w trakcie antybiotykoterapii. Wymaz powinno się pobierać przed jej rozpoczęciem lub 10-14 dni po zakończeniu leczenia. Jeżeli

pobieramy wymaz w trakcie antybiotykoterapii, powinniśmy o tym poinformować laboratorium. W trakcie antybiotykoterapii materiał staramy się pobrać przed podaniem kolejnej dawki leku.

Materiał do badania musi pochodzić z miejsca, w którym toczy się proces chorobowy. Bardzo ważne jest, aby próbka nie była zanieczyszczona materiałem pochodzącym z okolicznych tkanek (ma to przede wszystkim znaczenie w przypadku próbek pobieranych ze skóry lub górnych dróg oddechowych, gdzie bardzo łatwo może dojść do zanieczyszczenia próbki florą postronną).

Materiał do badania musi być świeży. Szczególnie ma to znaczenie w przypadku, gdy próbka transportowana jest bez odpowiedniego podłoża zapewniającego warunki do przeżycia bakterii (np. mocz pobrany do jałowego pojemniczka).

Bardzo istotne jest też właściwe opisanie próbki oraz dołączenie do niej pisma przewodniego z takimi danymi jak: **miejsce z którego wymaz został pobrany, informacja o lekach stosowanych u zwierzęcia, a mogących mieć wpływ na wzrost bakterii, gatunek zwierzęcia, imię i nazwisko właściciela.**

Bardziej szczegółowo chcielibyśmy omówić kilka układów, z których wymazy są przesyłane do naszego laboratorium najczęściej.

### MOCZ

Mocz pobieramy do jałowego pojemnika lub bezpośrednio na zestaw transportowo-wzrostowy (np. Uricult). Taki zestaw składa się z pojemniczka oraz płytki, po obu stronach której znajdują się podłoża wzrostowe dla bakterii. Oblewamy moczem

oba podłoża (możemy też podstawić taką płytkę bezpośrednio pod strumień moczu oddawanego przez zwierzę), wkładamy do pojemniczka i zamykamy szczelnie. Bardzo ważne jest, aby w pojemniczku nie zostawiać moczu. Jeżeli po opłukaniu płytek w pojemniczku jest jeszcze mocz, trzeba jego nadmiar usunąć. Zestaw taki jest bardzo dobrym rozwiązaniem w sytuacji gdy materiał jest dostarczany do laboratorium po dłuższym czasie, gdyż zbyt długi transport moczu pobranego do zwykłego jałowego pojemnika może dać fałszywe wyniki, wskazujące na bakteriurię (mocz jest bardzo dobrą pożywką, na której bakterie szybko się namnażają).

Mocz pobrany do pojemnika przechowujemy do momentu transportu w lodówce w temp  $+4^{\circ}\text{C}$ . Mocz pobrany na Uricult przechowujemy w temperaturze  $+37^{\circ}\text{C}$ , co umożliwia wzrost bakterii na podłożach.

Mocz można pobrać przez nakłucie pęcherza, przez cewnikowanie lub w trakcie swobodnego oddawania moczu przez zwierzę. Pobieranie moczu w trakcie mikcji wiąże się z dużym prawdopodobieństwem jego zanieczyszczenia florą postronną, dlatego w warunkach ambulatoryjnych zalecane jest nakłucie nadłonowe pęcherza moczowego. Najczęściej jednak mocz jest pobierany przez właściciela zwierzęcia w trakcie mikcji. Ponieważ u zwierząt trudno jest spełnić zalecenia jakie są wymagane u ludzi przy pobieraniu próbki moczu (mycie okolicy cewki moczowej oraz pobieranie moczu ze środkowego strumienia), materiał może być zanieczyszczony przez bakterie występujące w okolicy cewki moczowej lub w

cewce moczowej, dlatego wprowadzono kilka zasad pomagających przy interpretacji wyniku badania bakteriologicznego moczu.

U ludzi przyjmuje się, że zakażenie układu moczowego wywołuje zwykle jeden patogen (czasami dwa). Obecność trzech (lub więcej) różnych drobnoustrojów w posiewie moczu świadczy o niewłaściwym pobraniu materiału (zanieczyszczeniu próbki).

Do stwierdzenia zakażenia układu moczowego, liczba bakterii musi przekraczać u kota  $10.000 (10^4) / \text{ml}$ , a u psa  $100.000 (10^5) / \text{ml}$  w przypadku pobrania do badania moczu wolno oddanego przez zwierzę. Przy takich mianach możemy mówić już o bakteriurii.

W moczu pobranym przez kateter o bakteriurii świadczy obecność bakterii w ilości  $>10^5 / \text{ml}$  u psa i  $>10^3 / \text{ml}$  u kota, a w moczu pobranym przez nakłucie pęcherza moczowego  $>10^3 / \text{ml}$ .

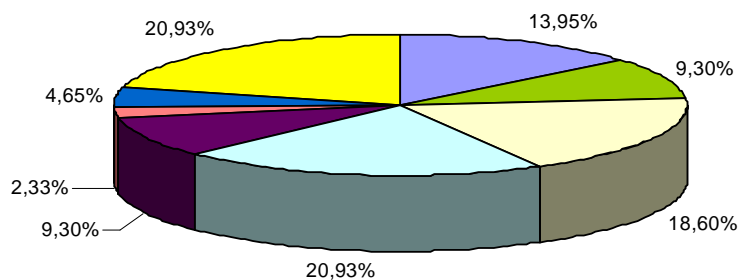
Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażenia układu moczowego są bakterie jelitowe.

Stwierdzenie w posiewie moczu bakterii chorobotwórczych (tj.: Staphylococcus koagulazododatni, Streptococcus beta-hemolityczny) oraz drożdżaków z rodzaju Candida, niezależnie od ich liczby, wskazuje na zakażenie układu moczowego czy moczowo-płciowego.

Izolowanie monokultury bakterii w liczbie  $10^4 / \text{ml}$  (lub większej) lub bakterii chorobotwórczych, jest wskazaniem do wykonania antybiogramu.

U zdrowych zwierząt układ moczowy powyżej cewki moczowej (pęcherz moczowy, moczowody i nerki) pozostają wolne od drobnoustrojów.

najczęściej stwierdzane patogeny w materiale pobranym z układu moczowo-płciowego



- |                                       |                                      |
|---------------------------------------|--------------------------------------|
| ■ Staphylococcus sp. koagulazododatni | ■ Staphylococcus sp. koagulazoujemny |
| ■ Streptococcus beta-hemolityczny     | ■ Escherichia coli                   |
| ■ Proteus sp.                         | ■ inne gram (-) pałeczki             |
| ■ Pseudomonas sp.                     | ■ Enterococcus                       |

## SKÓRA I BŁONY ŚLUZOWE

Przede wszystkim trzeba usunąć wszystkie zewnętrzne zanieczyszczenia, a materiał pobrać z głębszych warstw zmiany.

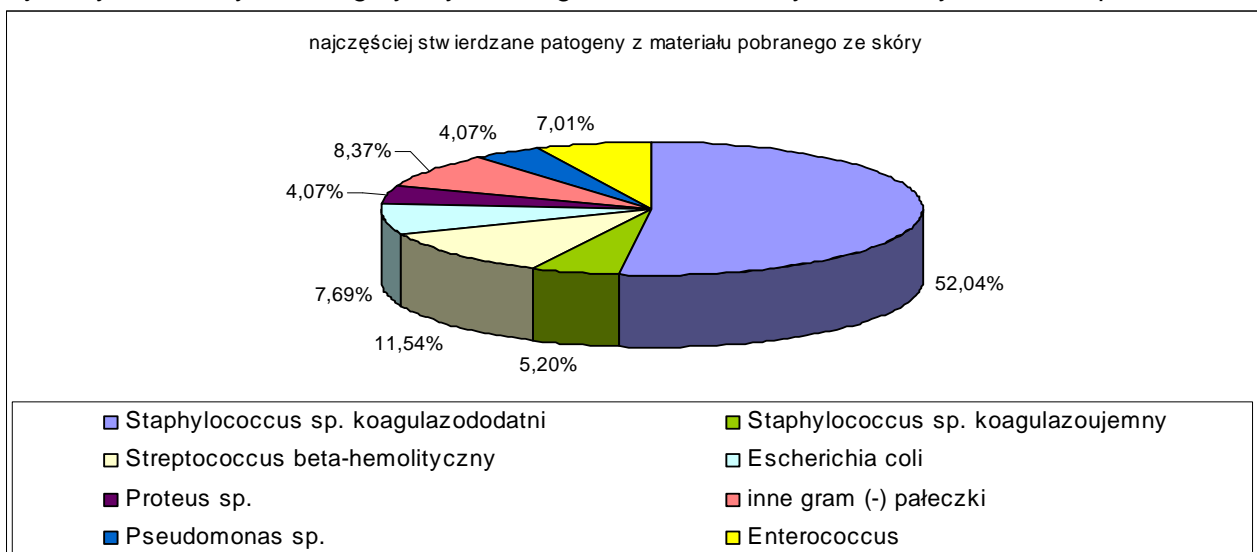
Przy suchych zmianach na skórze oraz w przypadku zmian na błonach śluzowych dobrze jest zwilżyć wymazówkę jałowym roztworem fizjologicznym.

Wymazy z ropni powinno się pobierać z głębszych warstw zmiany, gdyż często pobranie samej wydzieliny ropnej (na którą składają się neutrofile i zniszczone bakterie), daje wynik fałszywie negatywny, dlatego

najlepiej pobrać materiał z samego dna zmiany po wcześniejszym usunięciu ropy. W przypadku pobierania materiału z nakłucia powinniśmy wygolić to miejsce i starannie odkazić skórę.

Pobierając materiał z worka spojówkowego, odchylamy dolną powiekę i uważamy aby nie dotknąć pałeczką rzęs.

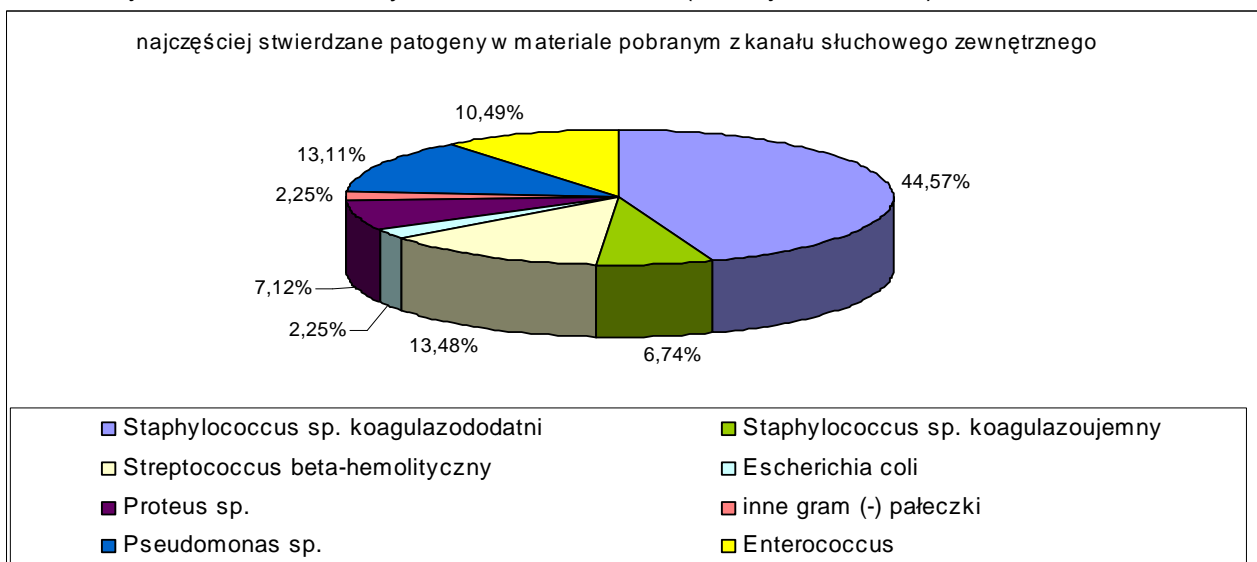
Przy pobieraniu materiału z migdałków, musimy uważać, aby nie dotknąć pałeczką języka i tkanek okolicznych, co spowodowałoby zanieczyszczenie próbki śliną.



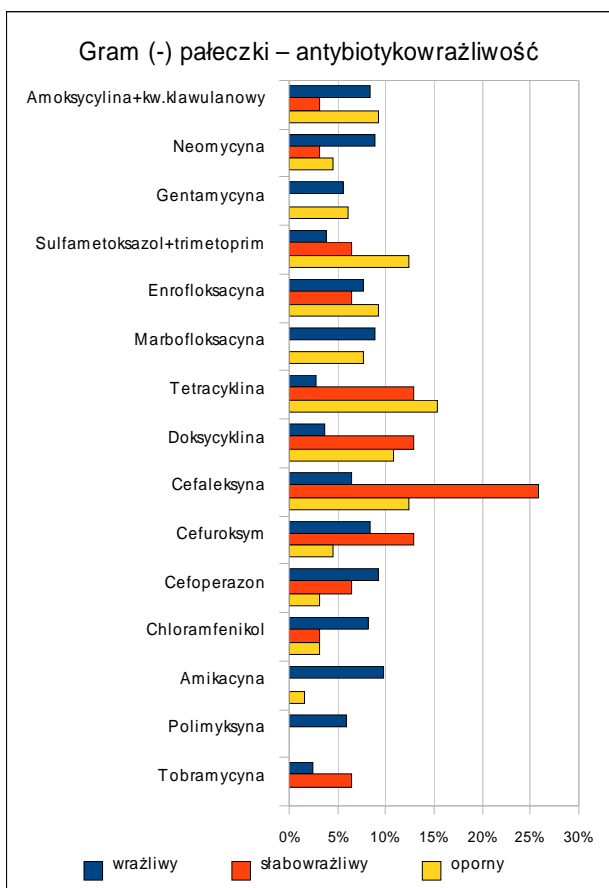
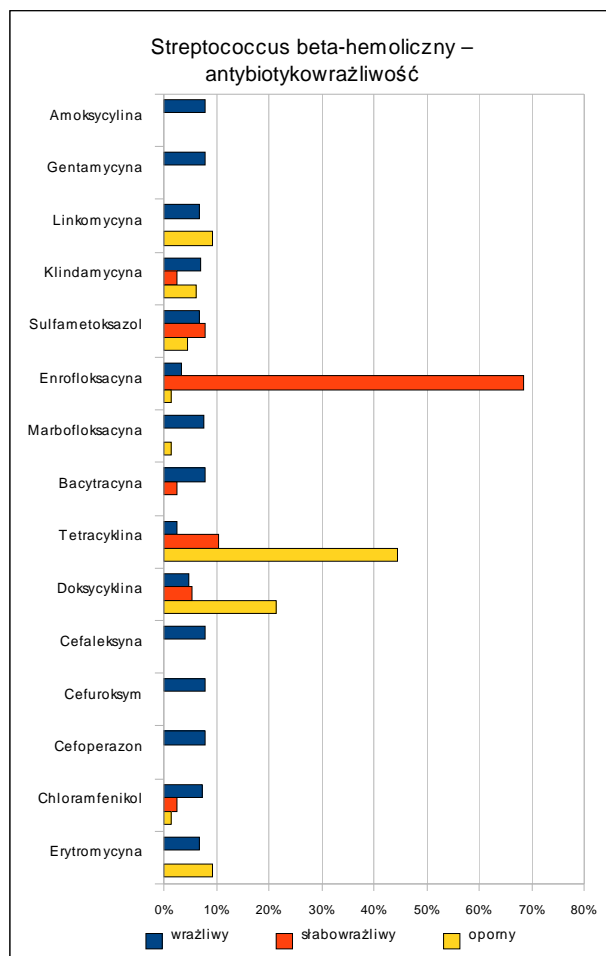
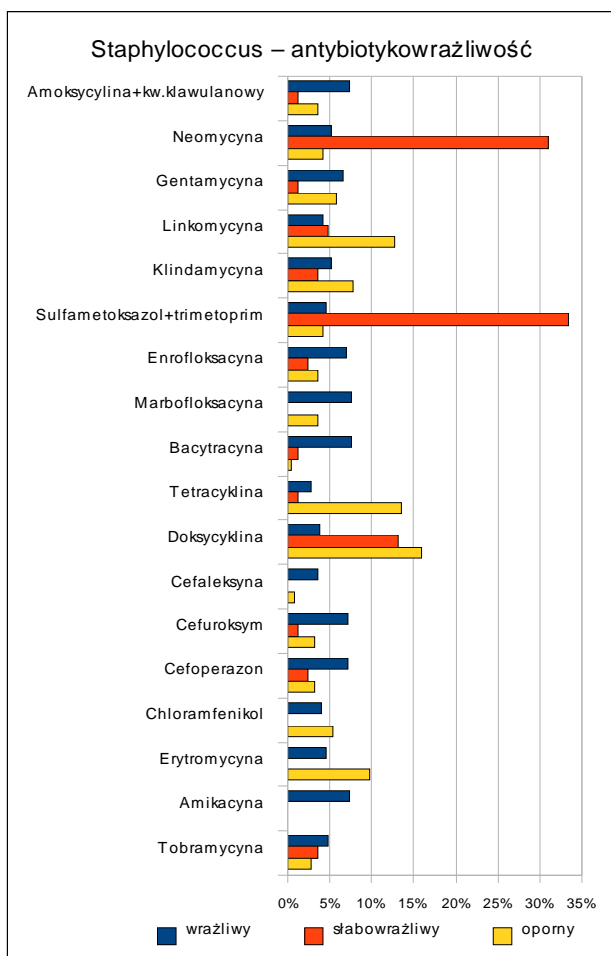
## KANAŁ SŁUCHOWY ZEWNĘTRZNY

Wymaz z zewnętrznego przewodu słuchowego pobieramy z jego dna, po uprzednim usunięciu zalegającej w nim wydzieliny, woskowiny lub ropy. Przed aplikacją środków działających bakteriobójczo lub bakteriostatycznie.

W przypadku próbki z kanału słuchowego oprócz bakterii musimy też sprawdzić obecność grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Malassezia*, które często uczestniczą w stanie zapalnym razem z bakteriami (infekcje mieszane).



Ponieważ badanie mikrobiologiczne trwa kilka dni, a czasami trzeba włączyć antybiotyków od razu, chcielibyśmy przedstawić Państwu kilka statystyk odnośnie najczęściej izolowanych bakterii oraz ich antybiotykooporności:



## BIBLIOGRAFIA

1. „Zarys klinicznej bakteriologii weterynaryjnej” t.1 pod redakcją prof. dr hab. K.Malickiego i dr hab. M.Binka, prof. nadzw. SGGW
2. „Podstawowe procedury laboratoryjne w bakteriologii klinicznej” pod redakcją prof. dr hab. med. A.Przondo-Mordarskiej.