

Bakteriologiske undersøgelser metoder

Hans Lautrop
Niels Høiby
Annie Bremmelgaard
Birgitte Korsager

FADL's Forlag

København
Århus
Odense

GERDI HOFF

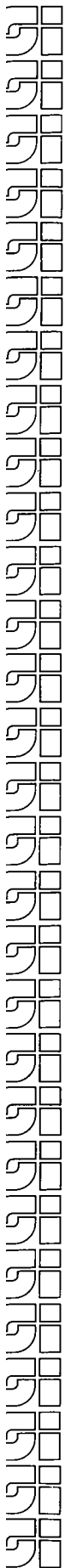
Overlæge

Herning Centralsygehus

DK-7400 Herning

Tlf. 97 21 44 00, lok 5111

→ Helga ♥ ↓



Bakteriologiske undersøgelses metoder

Hans Lautrop
Niels Høiby
Annie Bremmelgaard
Birgitte Korsager

FADL's Forlag

København
Århus
Odense

© 1979 By Hans Lautrop,
Niels Høiby, Annie Bremmelgaard
og Birgitte Korsager.
Sats: Hanne Francia
Tryk: Villadsen & Christensen, København
ISBN 87-7437-692-6

Forord

Denne bog om bakteriologiske undersøgelsesmetoder er resultatet af et undervisningsprojekt gennemført i diagnoseafdelingen, Statens Seruminstitut, i tiden fra januar 1977 til december 1978. Rollefordelingen var fra starten een lærer og tre læger ansat i kursusstillinger i specialet klinisk mikrobiologi, men hurtigt opstod et kollektiv med fire lige aktive forfattere.

Seruminstituttets direktører, J.Chr. Siim og Ole Forsting, har fra begyndelsen indtaget en klart positiv holdning til projektet og har på flere måder direkte støttet dets gennemførelse, hvilket vi hermed siger tak for.

Vi har modtaget megen hjælp fra kolleger blandt Seruminstituttets mikrobiologer, dels i form af svar på spørgsmål, dels i form af gode råd efter genlæsning af hele manuskriptet eller dele af det. Særligt ønsker vi at takke overlæge Jørgen Bang, antibiotikaafdelingen, overlæge dr. med. Per Bülow, regionalafdelingen i Århus, overlæge dr.med. Hans Chr. Engbæk, tuberkuloseafdelingen, overlæge Wilhelm Frederiksen, diagnoseafdelingen, overlæge Knud Gaarslev, diagnoseafdelingen, dr.med. Jørgen Henrichsen, streptokokafdelingen, overlæge dr.med. Ebbe Kjems, streptokokafdelingen, afdelingsleder dr.phil. Vagn Møller, substratafdelingen og overlæge dr.med. Kirsten Rosendal, afdelingen for hospitalsinfektioner.

Projektets sekretær, Agnete Thorborg, skylder vi tak for fremragende hjælp med at tilvejebringe et nogenlunde homogent og læseligt manuskript, instituttets bibliotekspersonale, Ruth Ebert og Tove Gertsen, for udholdende bistand med at fremskaffe litteratur og fotografierne Anne Grete Overgaard og Finn Laursen for fremstilling af alle figurerne.

Vi – i forfatterkollektivet – er enige om, at fra et undervisningssynspunkt var projektet vellykket. Om projektets håndgribelige resultat – håndbogen her – også er blevet vellykket, må andre dømme om.

Diagnoseafdelingen, december 1978.

Hans Lautrop
Annie Bremmelgaard

Niels Højby
Birgitte Korsager

Indholdsfortegnelse

Forord	3
Indledning	7
Farvemethoder	
Kapitel 1: Alment om bakteriefarvning	13
Kapitel 2: Metylenblåfarvning	25
Kapitel 3: Gram-farvning	27
Kapitel 4: Ziehl-Neelsen-farvning	35
Kapitel 5: Flagelfarvning	39
Prøver for kulturelle og andre egenskaber	
Kapitel 6: Hæmolyseprøver (streptokokker)	53
Kapitel 7: Symbioseprøver (<i>Haemophilus</i>)	67
Kapitel 8: Porfyrinsynteseprøver (<i>Haemophilus</i>)	77
Kapitel 9: Koagulaseprøver (staphylokokker)	85
Toleransprøver	
Kapitel 10: Galdeopløselighedsprøver	95
Kapitel 11: Optokinprøven	102
Kapitel 12: Tellurresistensprøven	106
Kapitel 13: KCN-prøver	113
Oxidations-reduktionsprøver	
Kapitel 14: Oxidaseprøver	123
Kapitel 15: Katalaseprøver	130
Kapitel 16: Nitratreduktionsprøver	139
Undersøgelse af kulhydratomsætning	
Kapitel 17: Alment om kulhydratomsætning	153
Kapitel 18: Forgæringsprøver	160
Kapitel 19: Voges-Proskauers prøve	175
Kapitel 20: Prøver for oxidativ syredannelse (Hugh & Leifson's medium)	185
Kapitel 21: ONPG-prøven og andre glukosidaseprøver	194
Kapitel 22: Æskulinspaltningprøver	203
Kapitel 23: Stivelsesspaltningprøver	210
Kapitel 24: Cellulosespaltningprøver	216
Kapitel 25: Pektinspaltningprøver	223
Kapitel 26: Prøve for 3-ketolaktosedannelse	231
Kapitel 27: Prøver for dextran- og levandannelse	238

Indholdsfortegnelse

Undersøgelse af proteinomsætning	
Kapitel 28: Alment om proteinomsætning	253
Kapitel 29: Gelatinesmeltningprøver	256
Kapitel 30: Aminosyredecarboxylaseprøver	266
Kapitel 31: Arginindihydrolaseprøver	275
Kapitel 32: Fenylalanindeaminaseprøver	282
Kapitel 33: Indolprøver	289
Kapitel 34: Svovlbrinteprøver	299
Kapitel 35: Ureaseprøver	312
Undersøgelse af fedtomsætning	
Kapitel 36: Lipase- og fosfolipaseprøver	323
Undersøgelse af nukleinsyreomsætning	
Kapitel 37: DNase- og RNaseprøver	341
Undersøgelser ved brug af antibiotika	
Kapitel 38: Alment om antibiotika og måling v.hj. af agardiffusionsmetoden	355
Kapitel 39: Resistensbestemmelse	376
Kapitel 40: Koncentrationsmåling	396
Stikordsregister	411

Indledning

”Bakteriologiske undersøgelsesmetoder” er i første række tænkt som lære- og håndbog for speciallæger i faget klinisk mikrobiologi, men der er så vidt muligt taget hensyn til at den også skulle kunne anvendes af laboranter.

Bogen dækker langt fra det samlede mikrobiologiske fagområde. Metoder til identifikation af svampe, mycoplasmer, rickettsier, chlamydier og virus er ikke omtalt og der er kun tale om et udvalg blandt eksisterende bakteriologiske prøver. Udvalget er bestemt af forfatterens personlige erfaring, hvilket stort set vil sige at det er begrænset til metoder der anvendes i Seruminstittets diagnoseafdeling. Desværre blev der ikke tid til inden for projektets rammer at udarbejde alle de planlagte kapitler som ville have gjort bogen til en mere komplet håndbog i bakteriologisk teknik.

De beskrevne undersøgelsesmetoder er grupperet i 9 hovedafsnit, dels på grundlag af undersøgelsesgangen i laboratoriet, dels på grundlag af de 4 hovedgrupper af organiske stoffer: kulhydrat, protein, fedt og nukleinsyre. Den enkelte prøves placering i et bestemt hovedafsnit beror dog i nogle tilfælde på en arbitrær beslutning.

De fleste enkeltkapitler behandler een bestemt prøve eller undersøgelsesmetode, men nogle af hovedafsnittene indledes med et oversigtskapitel, som giver det fælles baggrundsstof for resten af kapitlerne i afsnittet og forklarer de enkelte prøvers placering inden for den større sammenhæng.

Kapitler, som beskriver en enkelt prøve, er i de fleste tilfælde opdelt i faste underafsnit for at gøre det lettere for brugeren at finde ønskede oplysninger.

Den *historiske indledning* er mere dybtgående end i andre håndbøger af samme slags. Formålet har været at præsentere de anvendte metoder i den bredest mulige biologiske og historiske sammenhæng, hvilket på een gang skulle uddybe forståelsen af prøvens grundlæggende princip og af de forskellige udformninger, den har fået i tidens løb, og fremhæve, at hver udformning ofte kun giver en vis tilnærmelse til det ønskede resultat. Med andre ord et forsøg på at indpode en kritisk holdning til prøveresultaterne, specielt for så vidt angår deres anvendelse i videnskabeligt arbejde.

Afsnittene om den *biokemiske baggrund* er ligeledes gjort fyldige, dels af hensyn til den fulde forståelse af hvad prøveresultaterne oplyser, dels med henblik på et fremtidigt arbejde med at udforme bedre prøver. En af vanskelighederne med disse afsnit har været, at mange biokemiske forhold stadig kun er delvis afklarede.

I underafsnittene om *valg af metode* er forsøgt en kortfattet vurdering af de vigtigste i litteraturen beskrevne metoder konkluderende i anbefaling af en enkelt eller nogle få udformninger. Afsnittene er uundgåeligt præget af subjektive synspunkter og af hensynet til, at bogen skulle indeholde en teknisk beskrivelse af de for tiden mest anvendte metoder i danske klinisk-mikrobiologiske laboratorier. Et gennemgående træk har været at fremhæve brugen af såkaldte "direkte enzymtests" hvor denne mulighed er til stede. I dette og/eller i de forudgående underafsnit er det som inspiration for fremtidige bakteriologer også fremhævet, hvor bestemte prøver i særlig grad trænger til forbedring, eller hvor der synes at være mulighed for at udarbejde helt ny metoder ved at udnytte foreliggende biokemisk viden.

I underafsnittene om *teknisk udførelse, aflæsning og fortolkning* er angivelser angående substrater og reagenser, hvor intet andet er anført, baseret på de af Seruminstittuttets substratafdeling udgivne løbblade med substratopskrifter og på substratafdelingens á jourførte kommentarer til disse. Beskrivelsen af teknikken er bevidst gjort meget detaljeret. Det skyldes, at mange af prøverne er baseret på en empiri, der må fastholdes så nøjagtigt som muligt, da selv små ændringer i en fastlagt teknik kan vise sig at medføre uforudselige ændringer i resultaterne.

Underafsnittene om *sikkerhedsforanstaltninger* er kortfattede, da det er forudsat, at diagnoseafdelingens regler for omgang med patogene bakterier er kendt og følges.

Underafsnittene *fortegnelse over de vigtigste bakterier med positiv reaktion* er tænkt som en hurtig hjælp til at fastslå, om et bestemt prøveudfald hos en given stamme er foreneligt med den eksisterende almindelige viden om positive prøvers forekomst. Fortegnelsen dækker dog stort set kun taxa, som har betydning i den medicinske bakteriologi. Den oprindelige plan, at anvende "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 8. udgave, 1974, som grundlag for disse fortegnelser, er fastholdt, skønt det i mange tilfælde viste sig umuligt at opnå tilstrækkeligt sikre og fuldstændige data fra denne kilde. Fortegnelserne er derfor i nogle tilfælde suppleret fra andre kilder, men ikke så systematisk at vi kan indestå for, at alle fortegnelser er komplette. Dette er der taget højde for ved at angive, at kun de vigtigste bakterier indgår i fortegnelsen.

Underafsnittene om prøvernes *diagnostiske værdi og særlige anvendelsesområder* gør ikke krav på at være udtømmende. De er væsentligst baseret på forfatternes egne erfaringer, men medtager desuden de i bakteriologien gængse vurderinger. Disse afsnit er kun vejledende og skal ikke afholde nogen fra at forsøge at udnytte en bestemt prøve udenfor de anførte anvendelsesområder.

For at lette litteraturstudiet af de enkelte prøver til videnskabelige eller praktiske formål er hvert kapitel forsynet med en *fortegnelse over citerede arbejder*. Langt størstedelen af denne litteratur findes i diagnoseafdelingens bibliotek i form af fotokopier samlet i mapper for hver prøve. Også relevante sider af monografier og tekstbøger findes som regel, og ud over den i bogen citerede litteratur findes i mange tilfælde et betydeligt supplerende materiale. Denne særtryksamling er efter aftale med diagnoseafdelingens overlæger tilgængelig for interesserede, dog ikke til udlån.