



## Diagnosticul de laborator în difterie

### *Corynebacterium diphtheriae*

#### Produsul patologic

- falsă membrană, secreție faringiană,
- secreție nazală la purtători
- secreție conjunctivală, vulvară, din plăgi

#### Recoltarea se face cu 3 tamponae

##### 1. Cu primul tampon se efectuează 3 frotiuri

- **frotiu colorat Gram** – pentru observarea morfologiei și dispoziției spațiale
  - *C. diphtheriae* – bacil Gram pozitiv, ușor încurbat, cu capetele măciucate, dispus caracteristic (litere chinezești, chibrituri aruncate pe masă)
- **frotiu colorat Neisser** – pentru evidențierea corpusculilor metacromatici Babeș-Ernst
  - *C. diphtheriae* – prezintă corpusculi metacromatici la capete
- **frotiu colorat Giemsa** – pentru diagnosticul diferențial cu angina fuso-spiralară
  - pe frotiu se evidențiază fusobacterii și forme spiralate (*Treponema vincenti*)

##### 2. Tamponul al doilea se însămânțează pe mediul de îmbogățire OCST

- incubare 12-18 ore, după care se izolează pe medii caracteristice

##### 3. Tamponul al treilea se descarcă pe medii de cultură folosite pentru izolare, identificare

- **mediul Löffler** – colonii caracteristice, circulare, ușor crenelate, alb-gălbui
- **geloză sânge** – colonii albe-gri, perlate, friabile
- **mediul Gundel Tietz** – se diferențiază cele trei tipuri de bacil difteric
  - **tipul gravis** – colonii negre, de tip R, plate, cu margini crenelate, centrul mamelonat, cu strițiuni radiare, ca o “floare de margaretă”,
  - **tipul mitis** – colonii negre, de tip S
  - **tipul intermedius** – colonii de tip S-R
- **bulion**
  - **tipul gravis** – formează peliculă la suprafață, restul mediului rămâne clar
  - **tipul mitis** – tulbură uniform mediul
  - **tipul intermedius** – formează inel la suprafață, depozit și tulbură uniform mediul



### caractere biochimice

- **producerea de H<sub>2</sub>S** – se studiază pe mediul PISU (cu cisteină)
- **fermentarea zaharurilor**
  - în funcție de fermentarea monozaharidelor (glucoză, maltoză și zaharoză), bacilii difterici se pot încadra în specie (*C. diphtheriae*, *hoffmanii*, *xerosis*)
  - în funcție de fermentarea polizaharidelor (dextrină, amidon și glicogen), se face încadrarea *C. diphtheriae* în tip (*gravis*, *mitis* și *intermedius*)

### caractere de patogenitate - cercetarea producerii de exotoxină difterică

- **teste în vivo**
- **teste in vitro**
  - testul Elek – reacție de precipitare în gel
    - se toarnă geloză peste o hârtie de filtru impregnată în ser antidifteric
    - se însămânțează în striuri tulpinile de cercetat
    - dacă o tulpină produce exotoxină difterică (Ag), aceasta este eliberată în mediu și apare o bandă de precipitare
  - testul Ramon – reacție de floculare prin care se dozează putere toxică a toxinei

### Diagnosticul indirect

- **IDR Shick** – IDR de neutralizare
  - Se injectează strict intradermic 1 unitate de toxină
  - Dacă organismul nu are anticorpi, toxina își exercită efectul și la locul inoculării apare un eritem – organism receptiv.
  - Dacă organismul are anticorpi, aceștia vor neutraliza toxina, deci nu apar modificări la locul inoculării – organism imun
- **Reacții de hemaglutinare pasivă** - determinare cantitativă a antitoxinelor



## Diagnosticul de laborator al tuberculozei

### *Mycobacterium tuberculosis*

### *Mycobacterium bovis*

#### Produsul patologic

- în tuberculoza pulmonară – spută, aspirat bronșic, lichid pleural, spălătură gastrică
- în tuberculoza renală – urina (toată cantitatea de urină emisă dimineața)
- în tuberculoza genitală – secreție vaginală, cervicală, spermă, secreție prostatică
- în tuberculoza articulară, osoasă – lichid sinovial, puroi
- în tuberculoza ganglionară – material din puncție ganglionară, puroi
- în meningita tuberculoasă – LCR

#### Examen direct

- frotiu colorat **Ziehl-Neelsen**
  - bacili lungi și subțiri, ușor încurbați, roșii (acido-alcoolerezistenți), fondul preparatului fiind albastru

#### Izolare

- pe mediul Lowenstein-Jensen
- incubare la 37°C, până la 90 de zile

#### Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
  - factorul cord
- **caractere de cultură**
  - tipul uman are o creștere eugonică, favorizată de prezența glicerinei
    - crește în 2-3 săptămâni
    - colonii de tip R, neregulate, uscate, conopidiforme, ca firmiturile de pâine
    - coloniile se detașează ușor de pe mediu și se emulsionează greu în ser fiziologic
    - în mediu lichid formează la suprafață un vâl gros ce se întinde mai repede
    - tipul
- **inoculare la animale de experiență** – cobaiul
- **antibiograma** se efectuează pe mediul Lowenstein în care au fost incluse tuberculostatice

#### 4. Diagnostic indirect

- Intradermoreacția Mantoux
  - se inoculează intradermic tuberculină purificată (PPD, 2 unități)
  - este o IDR alergică
    - dacă persoana nu a venit în contact cu germenele (nu a fost bolnav, nu a fost vaccinat), atunci la locul inoculării nu apare nici o reacție
    - dacă persoana a mai venit în contact cu germenele (a fost sau este bolnav, a fost vaccinat), atunci la locul inoculării se declanșează o reacție alergică tardivă (dată de implicarea imunității celulare), urmată de apariția unui eritem și a unei indurații locale.
    - reacția se interpretează în funcție de mărimea și intensitatea indurației



## Diagnosticul de laborator în infecții cauzate de germeni din genul **Candida**

### Produsul patologic

- scuame de tegument, fragmente de unghie, secreție din leziuni, puroi - în afecțiuni cutanate și ale fanerelor
  - spută – în infecții respiratorii
  - materii fecale – în infecții digestive
  - urină – în infecții urinare, balanite
  - secreție vaginală – în vaginite
  - LCR, sânge - în infecții generalizate
- **Examenul direct**
    - **preparat nativ**
    - **frotiuri** colorate Gram, cu albastru de metilen, Giemsa
      - blastospori – celule mari (3-5 $\mu$ ), sferice sau ovoide, înmugurite, Gram pozitive
      - pseudomicelii – celule alungite așezate cap la cap, nedesprinse după diviziune
      - clamidospori – celule sferice cu dublu contur, mai mari decât blastosporii, se observă doar la specia *C. albicans*
  - **Izolare**
    - pe mediul Sabouraud
    - incubare la 30-37 °C, 24-48 de ore
  - **Identificare**
    - **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul microscopic)
    - **caractere de cultură** - colonii de tip S, alb-gălbui, cremoase, mari, cu suprafața mată, miros de drojdie
    - **zimograma** – identificare pe baza studierii fermentării zaharurilor
    - **auxonograma** - identificare pe baza studierii asimilării zaharurilor
    - **testul filamentării rapide** – pentru identificarea speciei *C. albicans*
      - cultura de cercetat se însămânțează în plasmă sau ser de iepure
      - apar prelungiri filamentoase “germ tubes”, foarte rapid în 3 ore
      - se evidențiază la MO prin preparat nativ
    - **formarea clamidosporilor** - pentru identificarea speciei *C. albicans*  
*C. albicans* formează clamidospori dacă se cultivă pe medii speciale (PC, PBC, Tween80)
    - **fungigrama** – testarea sensibilității la antifungice