



Exsudatul faringian

se recoltează pentru:

- diagnosticul faringitelor și anginelor streptococice
- confirmarea diagnosticului de difterie
- diagnosticul altor angine bacteriene și fungice
- depistarea unui portaj (*Streptococ* grup A, *Corynebacterium diphtheriae*)

Transportul și examinare se face în maximum trei ore de la recoltare, altfel trebuie folosit un mediu de transport

Examen direct microscopic

- se efectuează doar din false membrane (difterie, angină fusospirilară)
- se efectuează 3 frotiuri colorate Gram, Neisser, Giemsa

Însămânțare

- se descarcă tamponul pe mediu și se epuizează cu ansa
- pe geloză sânge - pentru streptococ
- în suspiciunea de difterie, se folosesc mediile: OCST, Löffler, Tinsdale, geloza sânge

Incubarea

- se face 18-24 de ore la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)

Identificare

- pe geloză sânge se va urmări prezența coloniilor mici, de tip S, de 0,5-1 mm, transparente sau opace, cu zonă largă de hemoliză beta, care ridică suspiciunea de streptococ beta hemolitic și se continuă identificarea pentru
 - identificarea genului, prin frotiu
 - identificarea grupei, prin testarea sensibilității la bacitracină (pentru grupul A) și latexaglutinare (pentru încadrarea în celelalte grupe)
 - se efectuează antibiogramă pentru streptococi beta hemolitici în caz de alergie a pacientului față de penicilină
- prezența de colonii mari, de tip S, de 2-3 mm, pigmentate, beta hemolitice (*Staphylococcus aureus*), a coloniilor mari, de tip M (*Klebsiella pneumoniae*), a coloniilor mici, de tip S, albe-cenușii, cu sau fără hemoliză (enterobacterii), a fenomenului de cățărare (*Proteus*), sau a coloniilor cu luciu metalic, beta hemolitice cu miros aromat (*Pseudomonas*) semnifică o disbacterioză orofaringiană și nu are relevanță clinică.



Secreția nazală

- Se recoltează pentru determinarea portajului de *S. aureus*

Recoltarea

- Cu tampon steril umectat cu ser fiziologic steril
- Se șterg pe rând ambele cavități nazale anterioare, prin mișcări de rotație

Însămânțarea

- Pe mediu de îmbogățire pentru stafilococi
- Pe mediu Chapman
- și/sau mediu cromogen pentru identificare MRSA

Incubare

- se face 18-24 de ore la 37°C, în aerobioză

Identificare

- pe mediul Chapman: se urmăresc coloniile manito- pozitive – acestea se identifică, în caz de confirmarea speciei *S. aureus* se efectuează antibiogramă

Secreția nazofaringiană

- Se recoltează pentru diagnosticul infecțiilor căilor respiratorii superioare, uneori a sinusitelor (în lipsa puncției sinusale)
- Se caută: *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Haemophilus* spp., *Moraxella* spp.

Recoltarea

- Cu tampon nazofaringian cu tijă flexibilă
- Se introduce recoltorul printr-o nară până atinge peretele posterior al faringelui. Se rotește de câteva ori pentru a se încălca cu secreție.
- Produsul recoltat se trece pe medii de transport

Însămânțarea

- Pe geloză sânge: pentru *S. pneumoniae*, *Moraxella*
- Pe geloză ciocolată: pentru *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*

Incubare

- se face la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)

Identificare

- *S. pneumoniae*: se urmăresc coloniile alfa hemolitice crateriforme caracteristice pe mediul geloza sânge – pentru confirmare se testează sensibilitatea față de optochină, bilă; se efectuează antibiogramă
- *Moraxella catarrhalis*: pe geloză sânge apar colonii oxidazo- pozitive, care alunecă pe suprafața mediului; sunt tulpini producătoare de DN-ază; se testează producerea de beta-lactamază
- *Haemophilus influenzae*: colonii ca picătura de rouă pe geloză ciocolată, lipsa creșterii acestora pe geloză sânge, fenomenul de satelitism; stabilirea speciei pe



baza necesității factorilor X,V; se testează producerea de beta-lactamază, se poate efectua antibiogramă

Sputa

- Se recoltează pentru
 - diagnosticul infecțiilor căilor respiratorii inferioare (pneumonii, bronșite, bronșiolite), tuberculoză pulmonară
 - monitorizarea tratamentului (tuberculostatic în special)

- **Recoltarea**
 - Se face dimineața pe nemâncate, înaintea toaletei cavității bucale
 - Dacă există proteze dentare, acestea se înlătură
 - Se clătește gura cu ser fiziologic steril
 - Se inspiră profund și se tușește forțat pentru eliminarea sputei. ! Pacientul trebuie să fie instruit, astfel încât să ne ofere spută și nu salivă !
 - Pentru stimularea expectorației se poate efectua tapaj toracal ascendent sau instilație cu aerosoli.
 - Alte posibilități de recoltare a secrețiilor căilor respiratorii inferioare
 - lavaj sau aspirație traheală, bronșică
 - se evită contaminarea cu germeni aparținând florei normale
 - metodele se folosesc la pacienți tarați sau inconștienți, intubați
 - aspirație transtraheală
 - transfer pe medii de transport în unele cazuri (*S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*)

- **Examen microscopic: frotiu colorat Gram– obligatoriu!**
 - evaluarea calității produsului patologic: prezența leucocitelor, absența celulelor epiteliale indică faptul, că produsul patologic provine într-adevăr din căile respiratorii inferioare; prezența celulelor epiteliale (≥ 25 cel/câmp microscopic examinat cu obiectiv de 10x) reflectă contaminarea pp cu flora căilor respiratorii superioare, a cavității bucale
 - se continuă prelucrarea bacteriologică, numai în situația în care pp este de calitate bună! altfel se obțin rezultate eronate
 - se notează morfotipurile bacteriene prezente pe frotiu

- **Cultivare**
 - Geloză sânge: *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *S. aureus*, etc.
 - Geloză chocolate: *Haemophilus influenzae*
 - MacConkey – enterobacterii, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.
 - Lowenstein-Jensen: *Mycobacterium tuberculosis*
 - Sabouraud: fungi

- **Incubare**
 - se face la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)



Identificare

- *S. pneumoniae*: se urmăresc coloniile alfa hemolitice crateriforme caracteristice pe mediul geloză sânge – pentru confirmare se testează sensibilitatea față de optochină, bilă; se efectuează antibiogramă
- *Moraxella catarrhalis*: pe geloză sânge apar colonii oxidazo-pozitive, care alunecă pe suprafața mediului; sunt tulpini producătoare de DN-ază; se testează producerea de beta-lactamază
- *Haemophilus influenzae*: colonii ca picătura de rouă pe geloză chocolate, lipsa creșterii acestora pe geloză sânge, fenomenul de satelitism; stabilirea speciei pe baza necesității factorilor X,V; se testează producerea de beta-lactamază, se poate efectua antibiogramă
- *Pseudomonas aeruginosa*: colonii lucioase, lactozo-negative pe mediul MacConkey, oxidazo-pozitive, pigmentate; se identifică prin creșterea pe mediul cu cetrimidă, creșterea la 44°C, producerea de pigment
- *Staphylococcus aureus* – colonii mari, cremoase cu hemoliză beta, manito-pozitive
- enterobacterii, Acinetobacter spp. – pe mediul MacConkey: colonii lactozo- pozitive sau -negative (nu sunt patogeni respiratorii obligați, se identifică numai în cazul în care cresc în cultură pură și există corelație cu examenul microscopic)
- fungi:
 - prezența câtorva colonii de Candida se ignoră (colonizare); se prelucrează numai dacă predomină sau este în cultură pură și rezultatul culturii corelează cu rezultatul examenului microscopic
 - fungii filamentoși prezenți în orice cantitate se vor identifica

Coprocultura

recoltarea materiilor fecale:

- emise spontan – se recoltează din zonele cu aspect patologic (mucus, sânge, puroi)
- cu sonda Nelaton – pentru izolare de la purtători

Orice produs recoltat, care nu poate fi înșămânțat în două ore este conservat la frigider (la 4°C, maximum 24 de ore), sau pe medii de transport (se recoltează în coprorecoltoare ce conțin medii de transport).

1. Examenul direct

a. macroscopic

se observă mirosul, culoarea, aspectul, prezența elementelor patologice

b. microscopic

nu se efectuează decât în cazuri speciale, la suspiciunea unei parazitoze, a etiologiei micotice, evidentierea leucocitelor și hematiilor în boli dizenterice

2. Insămânțarea

pe medii de îmbogățire

pe medii selective pentru enterobacterii

- se efectuează o suspensie de materii fecale omogenizate în mediul de transport sau în ser fiziologic, din care se depun 2-3 picături pe placă, care se diseminează cu ansa;



- dacă produsul este recoltat pe tampon, acesta se descarcă pe mediu, apoi este diseminat cu ansa
- **Incubarea** se face la 37°C, 18-24 de ore în condiții de aerobioză, microaerofilie sau anaerobioză, în funcție de etiologia presupusă.

3. Identificare

de pe **mediile selective** se diferențiază coloniile lactozo pozitive de cele lactozo negative, care se izolează în cultură pură pentru orientarea diagnosticului în etapele următoare:

- la copil se repică minimum 3 colonii lactozo negative. Dacă nu există colonii lactozo negative, se repică minimum 10 colonii lactozo pozitive (*E. coli* enteropatogen este principala cauză de diaree bacteriană la copil)
 - la adult se repică 3-5 colonii lactozo negative
- se continuă identificarea pe **medii diferențiale** (MIU, TSI, Simmons)
încadrarea în specie se face și prin reacții de aglutinare

4. Antibiograma se efectuează pentru bacteriile izolate

Urocultura

se recoltează pentru diagnosticul etiologic al infecțiilor urinare nespecifice:

- urina emisă spontan, dimineața, din jetul mijlociu
- prin sondă vezicală
- prin puncție suprapubiană

Transportul și examinarea se face în maximum 2 ore de la recoltare, altfel proba trebuie ținută la frigider, la 4°C.

1. Examenul direct microscopic

se face un frotiu colorat Gram, din sedimentul urinar, obținut prin centrifugare;

indicații:

- triajul de calitate al probelor – mai mulți germeni indică o contaminare la recoltare, nu se mai efectuează urocultura
- aprecierea piuriei – indicată de prezența leucocitelor
- selectarea probelor pentru urocultura cantitativă – se elimină cele care au mai puțin de 14 leucocite/ml și microorganisme absente pe frotiu
- argumentarea diagnosticului de candidoză urinară – evidențierea blastosporilor

2. Însămânțare

- pe geloză sânge
- pe medii slab selective (Leifson) pentru diferențierea bacteriilor Gram negative

Urocultura cu ansă calibrată

- se diluează proba de urină (0,1 ml de urină cu 10 ml apă distilată)
- se însămânțează cu ansa calibrată de 0,01 ml pe geloză sânge și Leifson
- se incubează, la 37°C



- se numără coloniile obținute și se calculează numărul de germeni/ml (unități formatoare de colonii, UFC)
- interpretarea rezultatelor
 - sub 10^3 UFC-se recomandă repetarea, în cazuri bine alese
 - între 10^3 - 10^5 UFC/ml – se recomandă repetarea
 - peste 10^5 UFC/ml - infecție urinară

Incubarea se face 18-24 de ore la 37°C , în aerobioză

3. Identificare

pe geloză sânge și medii diferențiale

- colonii S, alb-cenușii, cu sau fără hemoliză, cu colonii lactozo pozitive pe medii diferențiale – se continua identificarea pentru enterobacterii (E. coli, Klebsiella spp.)
- colonii S, mici, transparente, cu sau fără alfa hemoliză, fără creștere pe medii diferențiale – se continuă identificarea pentru Enterococcus faecalis
- colonii S, mari, pigmentate, cu hemoliză beta, cu creștere slabă pe medii diferențiale – se continuă identificarea pentru Staphylococcus aureus

4. **Antibiograma** se efectuează pentru orice germeni izolat

Puroiul

exudat fibrinos care conține leucocite, resturi celulare și microorganismele determinate;

varietatea situsurilor anatomice implică o varietate a produselor patologice și a agenților etiologici;

prelevarea probelor

trebuie să fie corectă, frecvent fiind unică și irepetabilă

- prelevări biopsice,
- prelevări cu tamponul,
- prelevări din colecții purulente prin aspirare,
- prelevare din fistule (chiuretarea traiectului fistulos)

1. Examenul macroscopic

culoare, consistență, mirosul

examenul microscopic

frotiu colorat Gram - descriem:

- prezența și c.m.t. ale bacteriilor (1 bacterie/frotiu = 10^5 UFC/g de țesut)
- prezența leucocitelor

2. cultivare

pe geloză sânge, și pe un mediu cu selectivitate joasă (de ex. ADCL, MacConkey) – stafilococi, enterococi, enterobacterii, ș.a.

pe geloză chocolate: hemofili, gonococi din puroiul articular:

în bulion Schaedler, bulion VF, geloză Schaedler - bacterii anaerobe (!prelevare)

pe mediul Sabouraud – fungii



3. identificare

în funcție de cc, cmt se continuă identificarea de gen, specie

Secreția vaginală

Se examinează pentru identificarea infecțiilor

- bacteriene (Neisseria - gonoree, Chlamidia, Str. agalactiae - portaj)
- fungice (Candida)
- parazitare (Trichomonas)

Recoltarea

- Se face cu ajutorul a 2 bețișoare sterile
- Se șterg pereții vaginali și fundul de sac posterior și anterior
 - Proba 1 se introduce într-o eprubetă cu 1 ml ser fiziologic pentru microscopie
 - Proba 2 se folosește pentru cultivare

Hemocultura

Hemocultura – metoda de cultivare a bacteriilor din sânge. Sângele este lipsit de bacterii în mod normal.

Se efectuează pentru:

- identificarea infecțiilor în care bacteriile se răspândesc prin sânge
- (septicemie, bacteriemie)
- identificarea infecțiilor fungice generalizate
- diagnosticul endocarditelor
- efectuarea antibiogramei

Recoltarea

- Recoltarea se face obligatoriu înaintea instituirii tratamentului AB, în timpul episoadelor de frison (bacteriile sunt eliberate în sânge în număr mare)
- Recoltarea sângelui se face după asigurarea măsurilor de asepsie locală pentru prevenirea contaminării probei.

Metodă

- Se recoltează 10-30 ml sânge venos (2-10 ml la copii)
- Sângele recoltat se introduce în 2 recipiente cu medii de cultură: unul pentru cultivarea germenilor aerobi și unul pentru anaerobi
- Uneori se poate recolta sânge din mai multe vene pentru a crește șansa de identificare a microorganismelor.

Incubarea se face 18-24 ore la 37°C



Identificarea

Se caută modificări privind opacitatea, culoarea, hemoliza, formarea de gaz, apariția coloniilor bacteriene

În cazul hemoculturilor pozitive vor apărea modificări de obicei în maxim 48 ore

În continuare identificarea speciilor bacteriene se face prin

- subcultivări pe medii specifice: geloză sânge (*Staphylococcus*), geloză-chocolat (*Neisseria*, *Haemophilus*), McConkey sau geloză lactozată (enterobacterii)
- evidențierea c.m.t, c.c., c.bio

Identificarea infecțiilor fungice necesită o perioadă mai îndelungată (7-10 zile)

Pentru a putea da un rezultat negativ, trebuie ca timp de 7 zile de incubare să nu apară nici o colonie