



Diagnosticul de laborator al sifilisului

Treponema pallidum

Produse patologice:

- serozitate din șancrul sifilitic (stadiul I.)
- sânge (ex. serologic)

1. Examen direct microscopic

- **preparat nativ** – examinare la microscop cu fond întunecat – forme spiralate mobile (rotație, flexie)
- **preparate colorate**
 - o colorație Giemsa
 - o colorație negativă (Burri)
 - o impregnare argentică (Fontana-Tribondeau)
- **Morfologie:** forme spiralate, spire regulate, capete drepte, dimensiuni: 6-16 / 0,25μm

2. Izolare prin metode biologice

- treponemele patogene nu pot fi cultivate pe medii artificiale
- inoculare intratesticulară la iepure – orhită sifilitică

3. Diagnostic indirect – serologic

1. Reacții serologice clasice

- evidențierea anticorpilor antilipoidici
- antigen folosit: cardiolipina
 - reacția de floclare (VDRL)
 - latexaglutinare (RPR)
 - reacția de fixare a complementului (RFC)
- pot apare reacții fals pozitive
- pentru confirmare, diagnosticul se completează cu reacții moderne (specifice)

2. Reacții serologice moderne

- evidențiază anticorpii antiproteici
- antigene folosite – antigene treponemice specifice de gen și de specie
 - o Reacții cu specificitate de gen:
 - RFC
 - CIEF
 - o Reacții cu specificitate de specie:
 - FTA – Abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorbption Test)
 - TPHA (reacție de hemaglutinare pasivă)
 - TIT (testul se imobilizare a treponemelor)
 - ELISA



Diagnosticul de laborator al leptospirozei

Leptospira interrogans

Leptospira biflexa

Produse patologice

- prima săptămână de boală:
 - o sânge (pentru evidențierea leptospirei)
- din a doua săptămână:
 - o urină (recoltată după alcalinizare)
 - o LCR
 - o sânge – pentru serologie

1. Examen direct microscopic

- **preparat nativ** – examinare la microscop cu fond întunecat – forme spiralate mobile
- **preparate colorate**
 - o colorație Giemsa
 - o colorație negativă (Burri)
 - o impregnare argentică (Fontana-Tribondeau)

Morfologie:

- forme spiralate, spire regulate, dese și mici, cu capetele încurbate
- dimensiuni: 6-40 /0,25μm

2. Izolare

- **pe medii de cultură**
 - o prin însămânțare pe mediul Korthoff (cu ser de iepure)
 - o incubare: 28-30°C, până la 60 zile
 - o control: din 5 în 5 zile, prin preparat nativ examinat la microscopul cu fond întunecat
- **pe animale de laborator**
 - o cobai, hamster auriu, iepure

3. Diagnostic serologic

- **Reacția de aglutinare – liză (RAL)**
 - o antigenul folosit: culturi vii de leptospira
 - o diluții succesive de ser (Ac?)
 - o preparat nativ – examinare la microscop cu fond întunecat
- RFC, IF, Precipitare în gel – Mancini, CIEF, ELISA, RIA



Diagnosticul de laborator în infecțiile produse de Borrelia burgdorferi

Produs patologic

- sânge – pentru serologie
- LCR
- căpușa infectantă

1. Examen microscopic direct

- detectarea microscopică a spirochetelor în sângele uman nu a putut fi realizată
- diagnosticul direct a putut fi realizat totuși prin evidențierea microorganismelor în secțiuni tisulare, prin impregnare argentică.

Morfologie:

- forme spiralate, spire neregulate, deformabile în cursul mișcării, cu capetele drepte, dimensiuni: 20-30 /1μm

2. Izolare

- s-au obținut colonii pe mediul Kelly modificat, la temperatura de 28-30°C, în microaerofilie

3. Diagnostic serologic

- se evidențiază anticorpul din sânge și din LCR prin imunofluorescență și reacții ELISA, deoarece dau reacții încrucișate cu Treponema pallidum, se efectuează în paralel și reacția TPHA.



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

1. Examen direct

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

2. Izolare

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

3. Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
 - o factorul cord
- **caractere de cultură**
 - o 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
 - o tipul bovin are o creștere disgonică
 - crește mai lent, într-o lună
 - colonii de tip S, mici, netede
 - coloniile se detașează greu de pe mediu și se emulsionează ușor în ser fiziologic
 - în mediu lichid formează la suprafață un vâl subțire, friabil, cu dezvoltare lentă
- **inoculare la animale de experiență** – cobaiul



4. Antibiograma

- se efectuează pe mediul Lowenstein în care au fost incluse tuberculostatice

5. Diagnostic indirect

- Intradermoreacția Mantoux
 - o se inoculează intradermic tuberculină purificată (PPD, 2 unități)
 - o este o IDR alergică
 - o 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
 - o 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
 - o reacția se interpretează în funcție de mărimea și intensitatea indurației

Diagnosticul de laborator în infecțiile produse de germeni din genul *Mycoplasma*

M. hominis

M. pneumoniae

M. genitalium, M. orale, M. salivarium

Produsul patologic

- periaj endobronsic, lavaj bronho-alveolar
- grataj al mucoaselor
- urină
- aspirat gastric (nou-născuți)
- secreție vaginală
- sânge (dg. serologic)

1. Examen direct

- în produs patologic se pot căuta antigenele bacteriene prin tehnici imunologice: imunofluorescență directă, imunoprecipitare, reacții imunoenzimatic

2. Cultivarea

- dificilă (timp 5-21 zile) - necesită medii bogate în colesterol, extract de levură, precursori pentru sinteza de acizi nucleici
- crește lent, în atmosferă microaerofilă
- *Mycoplasma hominis* - crește pe medii speciale cu arginină, în 1-4 zile

3. Identificare

- Caractere morfotinctoriale

- o sunt bacterii foarte mici, cu dimensiuni de 300 nm motiv pentru care nu pot fi evidențiate la microscopul optic.
- o nu au perete bacterian, lipsa peretelui bacterian le conferă o foarte mare plasticitate și polimorfism



- apar ca forme filamentoase, bacilare, cocoide.
- **Caractere de cultură**
 - coloniile apar în câteva zile, sunt foarte mici, vizibile cu lupa
 - coloniile au aspect de „ou prăjit”.
- **Caractere biochimice**
 - fermentarea glucozei
 - hidroliza ureei și argininei
- **Identificare antigenică**
 - se detectează anticorpii specifici prin
 - imunofluorescență,
 - ELISA
 - Imunoblot
 - prezența IgM specifice sau creșterea titrului de anticorpi în seruri pereche recoltate la 15 zile interval sunt martorii unei infecții recente.

În infecțiile cauzate de micoplasmelor genitale diagnosticul este exclusiv bacteriologic și presupune izolarea pe medii.

Diagnosticul de laborator în infecțiile produse de germeni din genul Chlamydia

Chlamydia trachomatis

Chlamydomydia psittaci

Chlamydomydia pneumoniae

- bacterii mici, 0,2 μm, cocoide, paraziți intracelulari obligatorii cu perete rigid, multilaminat, asemănător ca structură cu cel al bacteriilor Gram negative.

Chlamydia trachomatis

Produsul patologic

- raclajul blând al mucoaselor pentru a recolta **celule**
- se examinează:
 - produs endouretral, din endocolul uterin (recoltor special – burete/perie)
 - raclat conjunctival
 - de la nou născut se recoltează secreția nasofaringiană
 - de la cazurile de linfogranulomatoză veneriană se examinează aspiratul ganglionar și puroiul din fistulă.

1. Examen direct

- se pot aplica tehnici de imunofluorescență directă care utilizează anticorpi monoclonali anti-*Chlamydia trachomatis*, marcați, pentru evidențierea corpusculilor elementari.



2. Cultivare

- izolarea se poate face pe culturi celulare (Mac Coy, HeLa.) sau ou de găină embrionat
- în celulele infectate se formează incluzii citoplasmatică, înconjurată de o matrice bogată în glicogen - din acest motiv, incluziile chlamydiene pot fi evidențiate prin colorare cu iod (Lugol).
- colorația Giemsa, mai frecvent utilizată permite diferențierea incluziilor tinere alcătuite din corpi reticulați care se colorează în albastru și a incluziilor mature în care predomină corpii elementari care se colorează în roșu.

3. Identificare

- cele mai sensibile metode de diagnostic sunt cele de biologie moleculară:
 - o hibridizare
 - o PCR.

4. Diagnosticul serologic

- o evidențierea anticorpilor formați față de antigenele cu specificitate de gen, specie și tip prin RFC, IF, ELISA, Western blot
- o prezența anticorpilor de tip IgM sau seroconversia este semn de infecție recentă
- o în infecțiile genitale se caută anticorpi de tip IgA a căror prezență denotă o infecție activă

Chlamydomphila psittaci

Produs patologic

- pentru diagnosticul psitacozei/ornitozei
 - o spută
 - o tampon nasofaringian
 - o țesut pulmonar
 - o sânge – diagnostic serologic

1. Examen direct

- evidențierea acizilor nucleici prin PCR

2. Diagnostic serologic

- se determină prezența anticorpilor prin IF

Chlamydomphila pneumoniae

Produs patologic:

- spută, lavaj bronho-alveolar
- sânge - serologie

Detectarea acizilor nucleici prin PCR - diagnostic rapid și specific.

Izolarea este dificilă, nu se practică în diagnosticul de rutină.

Diagnosticul se bazează pe serologie, evidențierea anticorpilor prin IF indirectă sau ELISA.

Seroconversia apare la 3 săptămâni de la debutul bolii.