

Sputa

Analize microbiologie	Sputa
Specimen recoltat	sputa
Recipient recoltare	– recipient steril din plastic, cu gura larga și capac etanș, cu eticheta autocolanta cu numele pacientului, de unica folosinta.

Informatii generale

Infecțiile tractului respirator inferior sunt dterminate de virusuri, bacterii, mai rar fungi si protozoare.

Infecțiile tractului respirator inferior sunt:

- mai frecvent exogene, contractate pe cale aerogena, dar, posibil, și orala.
- infecții endogene cu microorganisme din orofaringele normal, colonizat nosocomial ori disbiotic, apar la gazde cu apararea antiinfecțioasa compromisa.
- infectia hematogena este posibila și evolueaza ca abcese pulmonare.

Etiologie:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Moraxella catharralis*
- *Haemophilus influenzae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Burkholderia cepacia*
- *Nocardia* spp.
- fungi filamentosi
- *Cryptococcus neoformans*
- Streptococi grup C si G
- alti bacili Gram-negativi daca apare un singur morfotip

Pneumoniile franc lobare acute și bronhopneumoniile genereaza bacteriemii și, prin propagare limfatica retrograda, pleurezii. Exsudatul și hipersecretia acumulate in lumenul bronșic genereaza expectorație mai abundenta in bronșite, mai redusa in pneumonii, chiar absenta in pneumoniile interstițiale. Vomica apare in evolutia abceselor pulmonare.

Pneumonia se clasifica in:

1. comunitara - microorganismele mai frecvent implicate sunt:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- virusuri
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Haemophilus* spp.
- *Legionella pneumophila*

2. nosocomiala - implicate fiind:

- bacilii Gram-negativi
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pneumoniae*

3. de aspiratie - produsa de pneumonita chimica cu sau fara o mixtura de aerobi si anaerobi orali.

4. pneumonia la imunocompromisi:

- *Pneumocystis carinii*
- fungi dimorfi
- *Cryptococcus neoformans*

Bronsita acuta este ocazional bacteriana.

Prelevare, transport si conservarea probelor

Sputa este prelevata curent.

Periajul simplu al dintilor, clatirea energica a gurii si gargara cu apa fiarta si racita sunt de dorit inaintea prelevării. Daca, macroscopic, proba apare constituita in principal din saliva, insista imediat pentru prelevarea unei noi probe care sa contina exsudat mucopurulent. In infectiile acute o proba mucopurulenta cu volum de 1-2 ml este suficienta. La tusitorii cronici pentru diagnostic de tuberculoza sau al infectiei fungice bronhopulmonare, cantitatea de sputa examinata trebuie să fie mai mare (exemplu toata sputa de la expectoratie matinală sau cea expectorata in interval de 1-2 h) La pac cu tuse slab productiva se pot obtine mai usor probe de expectoratie matinala; stimularea expectoratiei – prin inhalare de aerosoli calzi cu solutie salina 10% ofera probe nesatisfăcătoare pentru diagnosticul infectiilor bronhopulmonare, dar utile pentru diagnosticul de tuberculoza

Probele prelevate in colector steril din plastic, cu gura larga și capac etanș, trebuie etichetate și expediate imediat laboratorului, fara refrigerare, pentru examinare in interval de maximum 1h. Refrigerarea la 4°C previne multiplicarea contaminantilor, conserva unii patogeni, dar scade pana la anulare izolarea altora cum ar fi *Haemophilus influenzae*. Recomandata prelevarea probelor inainte de terapia antimicrobiana.

Examen macroscopic

Spalarea sputei in trei bai succesive cu solutie salina izotona sterila a fragmentelor mucopurulente prelevate cu ansa si apoi uscarea lor pe hartie de filtru sterila.

Microscopie

- se efectueaza frotiuri subtiri si uniforme

Triaj citologic de calitate

Marire x 100 – calitatea produsului prin raport CI (celule inflamatorii). Celule malpighiene pentru o proba corespunzatoare calitativ nu trebuie sa fie >5. Celulele malpighiene au atasate pe suprafata lor si in preajma lor bacterii de contaminare orofaringiana – proba improprie pentru examenul bacteriologic in infectii determinate de bacterii conditionat patogene.

Celulele inflamatorii (corespunzatoare calitativ) – sunt asociate de obicei cu fibrina:

- polimorfonucleare (PMN),
- limfocite – intalnite in expectoratia copiilor cu bronșita, astm bronșic,
- macrofagele.

Bacterioscopie cantitativa - frotiu colorat Gram, in cazul unui produs reprezentativ la microscop cu marire x1000 se examineaza cat mai multe campuri bine etalate si corect diferite teritorial cu cel putin 3 PMN/ camp microscopic si la distanta de cel putin 3 diametre in orice directie de celulele malpighiene.

Pe asemenea campuri se determina numarul mediu de bacterii intr-o categorie pe camp (coci Gram-pozitivi ovalari in diplo, coci Gram-negativi in diplo, bacili Gram-negativi polimorfi). Asocierea cu polimorfonucleare a cel putin 10 bacterii din aceeasi categorie microscopica are predictie pozitiva pentru izolarea in sputocultura in cantitate de cel putin 10^6 UFC/ml.

Comunicarea acestei asocieri semnificative clinic poate orienta tratamentul antimicrobian al pacientilor.

Pentru prelevatele necontaminate (sputa, biopsie) prezenta bacteriilor este semnificativa ca atare fara a fi necesare relatii cantitative

Sputocultura consta in insamantarea semicantitativ a fragmentelor mucopurulente (spalate cu trei bai successive de ser fiziologic si uscate pe hartie de filtru sterila pentru a micșora contaminarea orofaringiana) si epuizarea in patru cadrane pe mediile de cultura. Placile sunt incubate in atmosfera cu CO₂ ..

La 24 de ore se examineaza – se urmareste prezenta si numarul coloniilor de *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catharralis*, *Haemophilus* spp., in cadranul 3, 4 al placii pe mediul de cultura. Pentru a le acorda semnificatie clinica este necesara prezenta in cadranul 3 a 5-7 colonii cu morfologie caracteristica.

Izolatele se identifica

Antibiograma difuzimetrica pe subcultura standardizata conform procedurii specifice.

Evaluarea sensibilitatii la antibiotice prin metode calitative.

Interpretarea si comunicarea rezultatelor

Criteriile de semnificatie clinica ale izolatelor depinde de contextul clinic al pacientului si de confruntarea dintre sputocultura si citobacterioscopie cantitativa.

Comensalii rezidentiali ai orofaringelui ca : streptococii viridans, corynebacteriile, neiseriile nepretentioase, stafilococii coagulazo-negativi, Candida spp. - **nu au semnificatie clinica**.

Speciile implicate in infectiile tractului respirator inferior la gazda normoreactiva sunt *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarralis*, *Haemophilus* spp.. Enterobacteriaceele si bacilii Gram-negativi nefermentativi (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*) pot determina infectii ale tractului respirator inferior la gazda imunocompromisa.

La bolnavii intubati si cu respiratie asistata in cultura sondelor de aspiratie pot fi implicate tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (tulpini hemolitice)

Din infectiile tractului respirator inferior de la pacientii cu mucoviscidoza se pot izola *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Patogenii primari ca bacilii tuberculozei au semnificatie clinica indiferent de prelevatul in care sunt depistati.

Pe buletin: pentru probele necorespunzatoare (dupa triaj macroscopic, spalare, triaj microscopic) se comunica - **produs nereprezentativ**.

Pentru probele corespunzatoare :

- examen microscopic :
 - citologia (cu scorul de calitate si bacterioscopie)
 - cultura – agentul etiologic (cu crestere in sectorul 3/4) si antibiograma.

Factori ce pot influenta rezultatele:

- recoltarea probelor dupa inceperea tratamentului
- recipient de recoltare nesteril
- recoltare necorespunzatoare (dupa servirea mesei)

- depasirea intervalului maxim de timp (1 ora) din momentul prelevării și momentul însămânțării probei/ refrigerarea probei, dacă nu se poate respecta acest interval
- calitatea necorespunzătoare a mediilor de cultură/ microcomprimatelor
- nerespectarea timpului și condițiilor de incubare
- eroare de transmitere a datelor către beneficiar.