

Examenul coprobacteriologic

Analize microbiologice	Examenul coprobacteriologic
Specimen recoltat	materii fecale (scaun emis spontan)
Recipient recoltare	coprorecoltor – recipient de plastic, transparent, curat si uscat, cu capac, prevazut cu eticheta autocolanta cu numele pacientului, de unica folosinta.
Metoda	Cultivare/insamnatore, identificare si antibiograma

Informatii generale

Boala diareica acuta (BDA) a fost si ramane o entitate patologica foarte raspandita la nivel mondial, fiind a doua cauza de deces dupa bolile cardiovasculare si a al treilea cel mai frecvent intalnit sindrom in practica medicala.

Etiologia sindromului diareic infectios :

1. bacteriana-aeroba :
 - *Enterobacteriaceae*:
 - patogene :
 - *Salmonella* spp.
 - *Shigella* spp.
 - *Yersinia enterocolytica*
 - *Escherichia coli* (sase patotipuri diaerigene–enterotoxigen, enterohemoragic, enteroinvaziv, anteroagregativ, enteropatogen, enteroadherent difuz)
 - conditionat patogene:
 - *Klebsiella* spp.
 - *Edwarsiella*
 - *Proteus*
 - *Providencia*
 - *Vibrio*
2. microaerofila – *Campylobacter*
3. bacteriana anaeroba – *Clostridium*
4. micotica - *Candida*

5. virala – Rotavirus, Adenovirus Norwalk virus etc
6. parazitara - *Giardia lamblia*, *Stroglyoides stercoralis*, *Trichinella spiralis*, *Criptosporidium parvum*, *Entamoeba hystolitica*.

Examenul microbiologic al materiilor fecale se face cu scopul:

- de a defini agentul etiologic al diareilor bacteriene (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*);
- surprinderii dismicrobismelor intestinale (dezechilibre ale florei bacteriene intestinale normale);
- surprinderii reinfectiilor;
- verificarii eficientei tratamentului administrat;
- confirmarii starii de paortaj de *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* etc..

Prelevarea si transportul probelor

Pentru un examen bacteriologic concludent al materiilor fecale prelevarea trebuie facuta cat mai aproape de debutul bolii si inainte instituirii oricarui tratament antimicrobian. Se recomanda colectarea a 2-3 probe in zile diferite pentru cresterea sansei de izolare a bacteriilor.

Recoltarea materiilor fecale se poate realiza din scaun emis sprontan sau prin prelevarea rectala.

Prelevarea din scaun emis spontan:

- este de preferat si se indica in toate formele de diaree acuta cand emisia de materii fecale este frecventa;
- pentru defecare se recomanda containere de unica folosinta (din carton sau material plastic) care sa poata fi decontaminate si indepartate cu usurinta dupa efectuarea prelevarii;
- pentru examinari bacteriene si parazitare prelevarea din masa fecaloida se face cu „lingurita” coprorecoltorului sau cu tamponul, vizand portiunile lichide si indeosebi cele mucoase si/sau sangvinolente – atunci cand ele exista; cantitatea minima de materii fecale recoltata trebuie sa fie de 5g (marimea unui bob de mazare).
- Pentru izolari sau examene virusologice (rota/adenovirusuri) se preleva din container steril 5 g materii fecale care se refrigereaza si se pastreaza ca atare la 4 °C pana in momentul examinarii.

Prelevarea rectala se recomanda in:

- Shigeloze cronice (unde raclarea mucoasei rectale cu tamponul sau sonda da sanse mai mari izolarii) si la investigarea purtatorilor de *Shigella* si *Salmonella* cu exceptia celor de *Salmonella typhi*.

- Este mai puțin indicată în salmoneloză, yersinioză sau campilobacterioză acută în care agresiunea bacteriană este ileo-jejunală ori colică înaltă.
- La prelevarea rectală se recomandă folosirea sondelor Nélaton (nr. 14-16) ori a unor tamponuri adecvate (cu tijă lungă și tampon bine atașat care să nu permită rețenția intrarectală). Există dispozitive comerciale conținând tamponuri în tuburi de plastic cu sau fără mediu de conservare.

Se recomandă ca materiile fecale să nu fie amestecate cu urină (urina poate inactiva și distruge formele vegetative ale unor paraziti) sau cu substanțe grase (din supozitoare) a căror prezență în scaun diminuează semnificativ performanțele examenului microscopic (coprocitograma).

Examinarea materiilor fecale

Materiile fecale sunt examinate macroscopic și microscopic.

Examenul macroscopic al scaunului: se urmărește culoarea, consistența, modificările patologice – prezența de mucus, puroi, sânge.

Examenul microscopic al materiilor fecale (coprocitograma) se realizează pe frotiu colorat cu albastru de metilen și Gram, care aduce informații cantitative și calitative cu privire la prezența de polimorfonucleare neutrofile, macrofage, enterocite, hematii, mucus, bacterii cu morfologie particulară, celule leucocitare, ouă chisti sau larve de paraziti.

Cultivarea probelor – se însămânțează proba pe mediile de cultură adecvate, unul slab selectiv și unul moderat selectiv și se incubează 24 de ore la o temperatură de 37°C cu prelungire până la 48 de ore la temperatura de 22-29 °C (temperatura camerei). Pentru a crește șansele de izolare, proba este subcultivată pe medii de îmbogățire ce favorizează multiplicarea patogenilor (ex. bulion selenit acid de sodiu pentru *Salmonella spp.* și apă peptonată alcalină pentru *Vibrio*).

Identificarea tulpinilor de *Salmonella*, *Shigella* sau *Yersinia enterocolitica* începe cu observarea aspectului coloniilor dezvoltate la 24-48 de ore pe mediile de cultură. Coloniile sunt apoi identificate prin teste prezumtive sau definitive. Identificarea preliminară a tulpinilor se bazează pe interpretarea reacțiilor biochimice, utilizând medii de cultură politrope (TSI, MIU), se termostatează timp de 24 de ore la 37 °C. Prin efectuarea triajului biochimic sunt eliminate tulpinile necorespunzătoare, iar cele rămase sunt prelucrate suplimentar pentru identificarea de certitudine.

Identificarea de certitudine utilizează truse latex-aglutinare sau seruri de aglutinare.

Identificarea serologică a tulpinilor pentru care testele de triaj sugerează *Salmonella*, *Shigella* sau *Yersinia enterocolitica* se realizează prin reacția de aglutinare pe lama folosind seruri de aglutinare (polivalente /monovalente de grup sau de tip) sau prin reacția de latex aglutinare folosind truse comercializate de latex-aglutinare.

Examinarea micologica

Sindromul diareic micotic se caracterizeaza prin scaune de consistenta redusa, chiar apoasa, insotite de stare afebrila sau febrila si simptomatologie digestiva constand din arsuri si dureri abdominale difuze, inapetenta si uneori greata.

Prin microscopie directa se poate depista prezenta levurilor in cantitate mare si „dominanta” lor prin coparatie cu flora bacteriana fecaloida diminuata uneori pana la disparitie. Aspectul microscopic este decisiv pentru cultivarea scaunului in vederea izolarii si cuantificarii levurilor.

Prelevarea se face din scaun emis spontan. Izolarea levurilor se face prin cultivare pe medii agarizate care contin inhibitori pentru bacterii.

Interpretarea si comunicarea rezultatelor

Coprocultura – in decurs de 48-72 de ore de la primirea probei se comunica prezenta sau absenta germenilor patogeni din genurile *Salmonella*, *Shigella* sau *E. coli* (*EPEC* – numai la copil sub 2 ani)