

PERFEȚIONAREA CADRELOR MEDII SANITARE

Catedra de microbiologie și inframicrobiologie a I.M.F. din Tirgu-Mureș.
(Conducător: Conf. Dr. Boer Ladislau.)

UTILIZAREA METODELOR DE OMOGENIZARE IN DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL TUBERCULOZEI

Imre Irina laborantă

În multe cazuri, în materialul de examinat trimis la laborator pentru evidențierea bacilului *Mycobacterium tuberculosis* (Mt), numărul bacililor este atât de redus, încât în frotiul colorat după metoda Ziehl-Neelsen nu se poate găsi agentul patogen. Pe de altă parte, materialul de examinat conținând pe lângă agnții patogeni și o floră străină, microbii saprofiți cu ocazia însămirării pe medii speciale ca ser coagulat Dorset, cartof glicerinat Löwenstein, Jensen, Sauton, Sula, etc., înăbușă Mt. care crește încet, îngreunându-i-se dezvoltarea. Mai de mult materialul de examinat supra infectat și cu alți microbi, s-a inoculat la animale de experiență și apoi Mt. a fost cultivat din organele animalului inoculat. Nici în acest caz însă nu e indiferent dacă materialul de examinat inoculat în animal conține sau nu alți microbi (eventual patogeni).

Astfel a devenit necesară elaborarea unor metode, care să permită concentrarea agentului patogen Mt. și epurarea materialului de examinat. Această metodă de preparare prealabilă a materialului de examinat, se numește omogenizare. Punctul de plecare al acestei metode îl constituie rezistența foarte mare a Mt. față de diferite substanțe chimice. Astfel, la tratarea materialului de examinat cu acizi, baze, antiformină, glicerină, formol, sau alte chimicale, Mt. rămâne în viață, pe cînd ceilalți microbi, prezenți în materialul de examinat sînt distruși. Aceste substanțe chimice omogenizează de cele mai multe ori și materialul inomogen. Prin centrifugarea materialului omogenizat, în sedimentul obținut vor fi concentrați bacilii tuberculozei.

Omogenizarea are deci un triplu scop:

1. Distrugerea florei microbiene străine.
2. Concentrarea Mt. în sediment.
3. Omogenizarea materialului inomogen.

Astăzi supunem la omogenizare orice excreție: spută, puroi, urină, materii fecale, lichidul provenit din spălătură gastrică, excreția bronșială, etc., din care se cere evidențierea bacilului tuberculos.

Cele mai des utilizate metode de omogenizare sînt:

1. *Metoda de omogenizare cu hidroxid de potasiu.*

O mică parte din materialul de examinat se pune într-un tub de centrifugă și i se adaugă un volum de 4—5 ori mai mare de hidroxid de potasiu. Se ține apoi la temperatură de 1/2 oră, după care se pune la centrifugă timp de 15 minute, cu 3500 ture pe minut. După centrifugare, lichidul se decantează, iar sedimentul se spală cu o soluție de ser fiziologic amestecat cu cîteva picături de acid clorhidric; se dă din nou la centrifugă, se stabilește pH-ul sedimentului iar întrucît acesta ar fi prea acid, sau prea alcalin, se spală din nou cu ser fiziologic și se dă la centrifugă. Din sediment apoi se inoculează la animale, se însămiră pe medii de cultură și se colorează un frotiu după metoda Ziehl-Neelsen. Metoda de omogenizare cu hidroxid de potasiu poate fi utilizată și pentru evidențierea unui număr redus de Mt.

2. Metoda flotației.

Această metodă se folosește mai ales pentru evidențierea Mt. din spută. Sputa, recoltată timp de 24 ore, se varsă într-o sticlă cu gît lung și i se adaugă o cantitate egală dintr-o soluție de 0,5% NaOH. Se așează sticla în bain-marie de 60° C agitîndu-se puternic, pînă ce conținutul sticlei devine omogen. Se adaugă apoi 2 cc. xylol și se agită timp de 10 minute într-un agitator electric. Se lasă vasul în repaus timp de o oră, apoi se recoltează materialul cremos adunat pe suprafața lichidului, se pune o picătură pe o lamă și se usucă; se repetă acest procedeu de 3—4 ori, pînă ce se obține un strat gros. După uscarea definitivă, se degresează cu eter, apoi se fixează și se colorează după metoda Ziehl-Neelsen. Metoda flotației dă rezultate aproape identice cu metoda omogenizării prin KOH.

3. Metoda de omogenizare Tamura-Kasuo.

Se pun într-o eprubetă 2—5 cc. de spută și o picătură de NaOH. Se amestecă timp de 3—5 minute, apoi i-se adaugă în timp ce se încălzește ușor cite un cc. de apă distilată, pînă cînd cantitatea totală va spori de 10 ori. Sputa se omogenizează bine. Lichidul astfel obținut se pune la centrifugă, de 3500 de ture, timp de 20 de minute și apoi se examinează sedimentul. Metoda Tamura-Kasuo dă de 10 ori mai multe rezultate pozitive, decît vechea metodă de omogenizare cu antiformină.

4. Metoda de omogenizare cu benzină a lui Szüle pentru evidențierea Mt. d.n. materii fecale.

Dintr-o cantitate cit o nucă de materii fecale se face o suspensie cu ser fiziologic. Suspensia se fillrează prin 2—3 straturi de tifon se amestecă cu cițiva cc. de benzină și se pune la centrifugă de 3500 de ture, timp de 15 minute. Se examinează stratul cremos dintre benzină și soluția de ClNa. Fixarea se face cu eter-alcool. Înaintea examinării, timp de citeva zile, bolnavul nu are voie să consume alimente în care se pot găsi bacili acidorezistenți (de ex. lapte).

După părerea lui Sumioshi, Löwenstein, Putnoky, Hohn și Surányi metodele de omogenizare cele mai corespunzătoare sînt cele efectuate cu acizi. În 1945 Gerschenfeld afirmă că rezultatele cele mai bune le-a obținut prin metoda de omogenizare cu antiformină, cu NaOH 3% și cu acid oxalic 5%. La catedra de microbiologie a I. M. F. din Tirgu-Mureș rezultatele cele mai favorabile le-am obținut prin metoda de omogenizare cu KOH 4% și prin metoda Tamura-Kasuo. În sedimentul materialelor omogenizate, de cele mai multe ori, s-a putut găsi Mt. chiar la examenul microscopic. Cultivarea pe mediu de cultură și inocularea la animale a dat, de cele înai multe ori, rezultate identice cu rezultatul examenului microscopic.