

10. GAIA. AHO- HORTZ GAIXOTASUN INFEKZIOSOEN LABORATEGIKO DIAGNOSTIKOA

1. Diagnostiko mikrobiologikoaren helburua

2. Lagina

3. Diagnostiko zuzena

- Bakterioak
- Onddoak
- Protozooak
- Birusak

4. Diagnostiko ez zuzena

1. DIAGNOSTIKO MIKROBIOLOGIKOAREN HELBURUA

Diagnostiko mikrobiologikoaren helburua lagin klinikoetan mikroorganismo patogeno baten presentzia baieztatzea edo ezeztatzea da. Diagnostiko mikrobiologikoak gaixotasun infekzioso baten eragilea identifikatzeko erabiltzen diren prozedura eta teknikak barne hartzen ditu. Diagnostiko mikrobiologikoa egiten da:

- Tratamendu egokia ahalik eta azkarren ipintzeko.
- Infekzio iturria identifikatzeko eta transmisioa ekiditeko.

Batzuetan lagin klinikoetatik mikroorganismo patogenoaren isolamendua kultur puruan egin behar da beste ezaugarri batzuk aztertu ahal izateko:

- Antimikrobianoen aurreko sentikortasuna.
- Seroaldaera.
- Birulentzia.
- Txertoak prestatzeko.

Diagnostiko mikrobiologiko zuzena egiteko ezinbestekoa da lagin zuzen batetik abiatu.

2. LAGINA

Lagin kliniko guztietan mikroorganismoak egongo dira (odola eta barruko likidoak izan ezik), beraz, aho barrunbeko edozein laginetan mikroorganismoak egongo dira eta oso garrantzitsua da jakitea, aldez aurretik, zeintzuk izan daitezkeen mikroorganismo kolonizatzaile horiek, eta zeintzuk gaixotasun infekziosoaren eragileak.

Honetaz gain, lagina baldintza batzuk bete behar ditu:

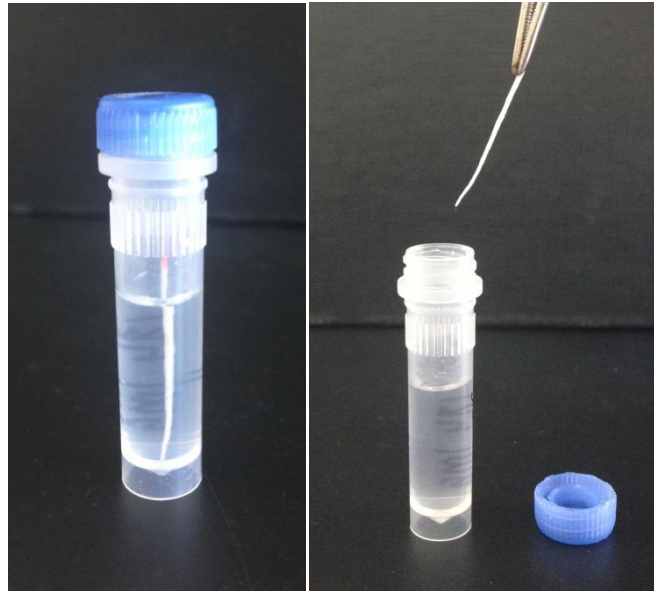
- Gaixotasunaren adierazlea izan behar da.
- Ahalik eta bolumen handiena lortu behar da.
- Kutsadura ekidin behar da aho mikroorganismo mahaikideen presentzia saihesteko.
- Lagina tratamendu antimikrobianoarekin hasi baino lehen hartu behar da, emaitzak fidagarriak izan daitezen.

Lagina hartzeko esterila dagoen materiala erabili behar da. Oso ohikoa da hisopo esterilak erabiltzea aho-mukosatik lagina hartzeko. Ildo gingibaletik edo poltsa periodontaletik, paper xurgatzailezko puntak erabiltzen dira. Lagina laborategira eramateko, hazkuntza inguruaren duen ontzi batean sartzen da.



Lagina hartzeko torundak, hazkuntza inguruarekin.

(Egileak: E. Sevillano, E. Eraso)



Puntak, poltsa periodontaletik lagina hartzeko.

(Egileak: E. Sevillano, E. Eraso)

Gune zornetsuetatik, laginak jeringa eta orratzaren bidez hartzen dira, ahalik eta kantitate handiena lortzen saiatuz. Lesioen biopsiak lagin onak izaten dira gaixotasun baten etiologia ezartzeko.

Mikroorganismo anaerobioen presentzia susmatzen bada, behar diren neurriak hartu behar dira laginak laborategira eramateko eta prozesatzeko orduran, mikroorganismoen bideragarritasuna mantentzeko.

Listua ez da kontsideratzen lagin mota bat, antigorputzen detekzioa edo txantxarra garatzeko joera aztertu nahi ez bada.

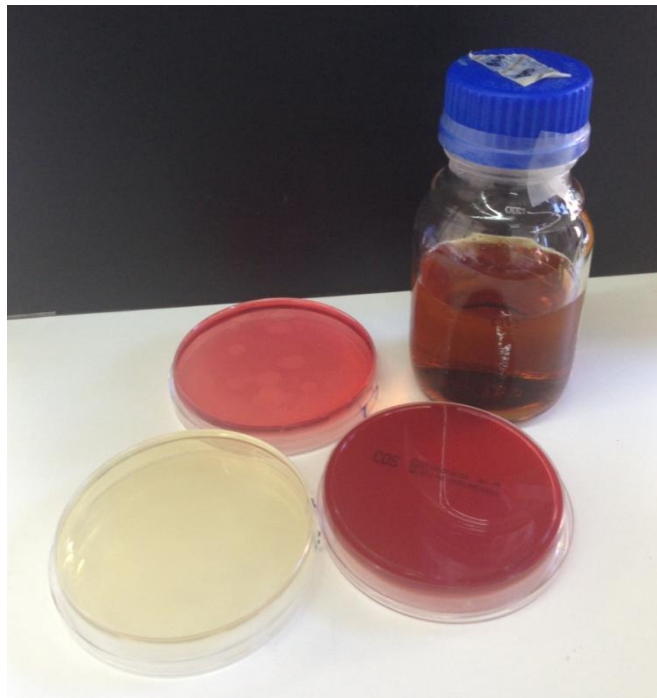
Behin lagina hartuta, diagnostiko mikrobiologikoa modu zuzenez edo ez zuzenez egin ahal da. Diagnostiko zuzenean mikroorganismoa edo bere osagaiak detektatzen dira, eta diagnostiko ez zuzenean (edo zeharkakoa) mikroorganismo patogenoaren kontra garatzen den erantzun immunea detektatzen da; eta batez ere mikroorganismoen kontra ekoizten diren antigorputzen detekzioan datza.

3. DIAGNOSTIKO ZUZENA

Diagnostiko zuzena gaixotasun infekziosoa sortu duen mikroorganismoaren detekzioan edo bere osagaien detekzioan datza.

Lagina mikrobiologia-laborategira eraman eta gero, frotisak egin ahal dira portaobjetu baten gainean, mikroskopiaan zuzenean edo tindatu ostean behatuko ditugunak. Horrela, mikroorganismoaren lehenengo datuak lortuko ditugu: forma, mugikortasuna (lagina tindatu ez bada) edo kopurua.

Hazkuntza-inguru egokietan erein dezakegu lagina, mikroorganismo patogenoaren hazkuntza lortzeko. **Bakterio eta onddoen** hazkuntzarako oso ohikoak dira hazkuntza-inerteen erabilera.



Hazkuntza inguruak

(Egileak: E. Sevillano, E. Eraso)

Orokorrean, hazkuntza-inguru hauek karbono iturri bat daukate, oligoelementuak, koentzimak, tindagaiak eta mikroorganismoaren

hazkuntzarako beharrezkoak diren beste osagaiekin batera. Hazkuntza-inguru mota desberdinak bereizten dira dituzten osagaien arabera:

- Hazkuntza-inguru minimoak: karbono iturri bat besterik ez daukate. Mikroorganismo gutxi hazi ahal dira hauetan.
- Hazkuntza-inguru aberatsak: Karbono iturri bat edukiz gain, beste elikagai batzuk edukiko dituzte, mikroorganismo mota askoren hazkuntza baimenduz.
- Hazkuntza-inguru selektiboak: Mikroorganismo mota batzuen hazkuntza inhibitzen duen substantzia bat gehitzen denean. beste mota batzuen hazkuntza baimenduz.
- Hazkuntza-inguru bereizgarriak: tindagaiak edo pHaren adierazleak edukitzen dituzte, beraz mikroorganismo mota batzuk kolore aldaketa bat sortuz haziko dira eta beste batzuk ez.

Behin lagina hazkuntza-inguru egokian ereinda, mikroorganismoak hazteko baldintza egokietan inkubatzen da, eta inkubatu ostean mikroorganismoen hazkuntza ikusiko dugu. Mikroorganismoen identifikazioa burutzeko ezinbestekoa da kultur puruak lortzea.

Ondoren, identifikazioarekin hazten da, mikroorganismoen ezaugarri makroskopikoak hazkuntza-inguru desberdinetan edo kolonien morfologia aztertuz. Gero, mikroorganismoen azterketa mikroskopikoa egiten da, mikrooskopiaren laguntzaz. Orokorrean, laginen tindaketak egiten dira, Gram tindaketa ohikoena izanik, mikroorganismoaren identifikazioaren jarraitzeko informazioa ematen baitu.

Azterketa makroskopiko eta mikroskopikoen emaitzak kontutan hartuta, ondoren besre proba batzuk egin beharko dira identifikazioarekin jarraitzeko, hala nola proba biokimikoak, proba fisiologikoak edo antibiotikoen aurreko sentikortasun probak.

Onddoen presentzia susmatzen bada, lagina onddoen hazkuntzarako hazkuntza inguru selektiboen ereingo da, Sabouraud agarra esate baterako, eta inkubazio ostean hazkuntza behatzen da. Aho barrunbeko infekzioen eragile

nagusiena *Candida* da, Onddo dimorfikoa eta Sabouraud agarrean kolonia krematsuak sortuz hazten dena. Espezia identifikatzeko burutzeko oso erraza den filamentazio testa egin ahal da; lagina serumean gutxienez bi orduz inkubatu eta gero mikroskopioan behatzen da; *Candida albicans* espezia bada hodi germinalaren ekoizpena ikusiko dugu legamietan. Gaur egun agar kromogenikoak existitzen dira espezie desberdinak identifikatzeko. Agar hauek inkubatu eta gero espezie bakoitza kolore desberdin batekin haziko da, eta patroi batekin konparatu eta gero espeziaren identifikazioa oso erraz egiten da.



Candida generoko espezie desberdinak identifikatzeko agar kromogenoa.

(Egileak: E. Sevillano, E. Eraso)

Onddo filamentatsuen kasuan, identifikazioa egitura fungikoak mikroskopioan behatzen egiten da, beste proba osagarri batzuekin batera. Behaketa mikroskopikoa egiteko mizelioaren lagin bat hartzen da zuzenean erreite uztaiarekin edo zinta itsasgarriarekin, eta tindagai tanta bar daukan portaobjetu baten gainean kokatuz.

Aho barrunbean detektatzen diren **protozooak** *Trichomonas tenax* flagelatu eta *Entamoeba gingivalis* ameba dira. Protozoo hauen identifikazioa freskoan

egiten da, mugikortasuna aztertzeke; Giemsa bezelako tindagaiekin tindatu ostean forma ikusteko; edo proba molekularrak eginez.

Birusen hazkuntza zailagoa da, zelula bizietan egin behar baita. Horretarako zelulen kultura, arrauts enbrionatuak edo animaliak erabiltzen dira. Birusen behaketa zuzena egiteko mikrooskopia elektronikoen laguntzaz baliatu behar gara. Askotan, infektatutako zeluletan efektu zitopatikoa da aztertzen dena.

Askotan, detekzio zuzena mikroorganismoen antigenoak detektatuz egiten da, markatuta dauden antigorputz espezifikoak erabiliz. Antigorputzak molekula fluoresgarri batekin markatuta badaude, laginan birusa badago, fluoreszentsia ikusiko da.

Azken urteotan, polimerasaren kate erreakzioa (PCRa) diagnostiko mikrobiologikoan aurrerapauso handia izan da. Teknika honen bidez laginan dagoen mikroorganismo patogenoaren sekuentzia genetikoak detektatzen dira. Lagina hartu ostean, material genetikoaren erauzketa egiten da, eta PCR teknikaren bidez mikroorganismo baten sekuentzia zehatz baten amplifikazioa egiten da. Ondoren, lagina agarosazko geletan kargatzen da, eta elektroforesi prozesuaren bidez amplifikatutako DNA zatiak tamainaren arabera. Teknika guztietan bezela kontrol positibo eta negatiboak erabili behar dira. Gure laginan, kontrolean agertzen den tamaina berdineko zatia agertzen bada, horrek esango du mikroorganismoa laginan dagoela. Odontologian, diagnostiko mikrobiologiko bat egiteko, PCR teknika erabiltzen da, adibidez, txantxarrarekin erlazionatzen den *Streptococcus mutans* espeziea identifikatzeko. Teknika hau mikroorganismo honen ikerketa epidemiologikoak egiteko ere erabili izan da.

4. DIAGNOSTIKO EZ- ZUZENA

Mikroorganismoaren kontra garatzen den erantzun immunearen detekzioan datza. Erantzun immunearen detekzioa ELISA edo IFI bezelako teknika immunologikoak erabiliz egiten da. Teknika hauen helburua mikroorganismo patogeno baten kontra ekoizten diren antigorputz espezifikoaren detekzioa da. Gainera, detektatzen den antigorputzaren isotipoaren arabera, infekzio berri baten aurrean, iraganeko infekzio baten aurrean edo berraktibazio baten

aurrean gauden jakingo dugu. Lehengo kasuan IgM edo IgA motako antigorputzak detektatzen dira, batez ere; iraganeko infekzioetan IgG maila altuak eta IgM maila baxuak detektatzen dira; eta berrixfekzioetan IgG maila altuak eta IgM normalak.



ELISA teknika

<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:ELISA.jpg> Egilea BiotechMichael Public domain baldintzapean.