

MICROBIOLOGISCH ONDERZOEK VAN SPUTUM

In het licht van de toename van de bacteriële resistentie zal men ook in geval van lagere respiratoire infecties een laboratorium-onderzoek overwegen. Aangezien invasieve technieken zoals bronchoscopie en broncho-alveolaire lavage niet voorhanden zijn in de ambulante praktijk doet men gewoonlijk een beroep op de kweek van sputum. Bij kinderen, waar het niet altijd evident is om sputum te bekomen laat men soms een kweek uitvoeren van naso-faryngeaal sekreet. Alhoewel dit onderzoek als controversieel wordt beschouwd leverde deze techniek nuttige resultaten bij het onderzoek naar de gevoeligheid van pneumokokken bij kinderen (4).

Gramkleuring

Sputum is dikwijls vermengd met speeksel. Het aantal leucocyten is een goede indicator voor de purulentie en de bruikbaarheid van het monster (behalve bij patiënten met neutropenie). De evaluatie van het aantal leucocyten kan vlot geschieden met behulp van een Gramkleuring. Er werden diverse classificaties ingevoerd om de bruikbaarheid van sputum stalen te evalueren op basis van de aanwezigheid van leucocyten (1, 2).

Evaluatie van de kwaliteit van een sputumstaal op basis van de Gramkleuring

Witte bloedcellen +++	purulent sputum, zeer geschikt voor onderzoek
Witte bloedcellen ++, +	bruikbaar sputum, geschikt voor onderzoek
Zeldzame witte bloedcellen	niet geschikt voor onderzoek
Geen witte bloedcellen	niet geschikt voor onderzoek
Epitheelcellen > witte bloedcellen	niet geschikt voor onderzoek

Dikwijls geeft de Gramkleuring reeds een goede indicatie van de dominante bacteriën: Grampositieve lancetvormige en omkapselde (diplo)-kokken zijn praktisch altijd pneumokokken; dikke Gramnegatieve kokken wijzen op *Moraxella catarrhalis*; fijne Gramnegatieve staafjes zijn suggestief voor *Haemophilus influenzae* (3). De massieve aanwezigheid van gisten (*Candida albicans* en anderen) kan eveneens worden aangetoond met de Gramkleuring.

Andere kleuringen

Pneumocystis carinii, een zeldzame verwekker van een pneumonie welke nagenoeg uitsluitend voorkomt bij immuungedepriëerde patiënten (AIDS ea), vergt een speciale kleuring (vb. Giemsa).

Mycobacterium tuberculosis en de andere zuurvaste staven (atypische mycobacteriën en *Nocardia* spp.) worden opgespoord met een kleuring voor zuurvaste bacteriën (Ziehl of auramine-kleuring).

Gewone cultuur**Voornaamste uit sputum kweekbare pathogenen bij lagere luchtwegeninfecties**

Streptococcus pneumoniae, *Haemophilus influenzae* en *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*
Staphylococcus aureus (onder meer bij griep)
Pseudomonas aeruginosa (onder meer bij mucoviscidose)
Klebsiella pneumoniae (bij onderliggende pathologie, alcoholisme, COPD...)

De kweek vergt doorgaans 24 u, de verdere identificatie en antibiogram één à twee extra dagen. De criteria voor het antibiogram van de pneumokokken werden verfijnd. Er zijn nu afzonderlijke criteria voor stammen afgezonderd uit lumbaal vocht (zeer strenge criteria) en uit andere sites (6).

Atypische respiratoire pathogenen

Diagnose van atypische respiratoire pathogenen	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	kweek op Sabouraud
Atypische mycobacteriën	Ziehl* en kweek (traag) op speciale bodems (Lowenstein ea)
<i>Candida albicans</i> en andere gisten	kweek op Sabouraud
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	serologie
<i>Coxiella burnetii</i>	serologie
<i>Legionella pneumophila</i>	speciale bodem, antigeendetectie in urine, serologie
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Ziehl* en kweek (traag) op speciale bodems (Lowenstein ea)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	serologie
<i>Nocardia</i> spp.	Ziehl* en speciale kweek
Noord-Amerikaanse mycosen (<i>Histoplasma</i> e.a.)	kweek op Sabouraud
<i>Pneumocystis carinii</i>	speciale kleuring
<i>Strongyloides stercoralis</i>	parasitologisch onderzoek, serologie
Virussen	kweek in gespecialiseerd labo
* Ziehlkleuring of variante (auraminekleuring)	

M. tuberculosis groeit traag (minstens 10 dagen). Een ochtendsputum geniet de voorkeur (2). Met de PCR-techniek (*polymerase chain reaction*) zal het mogelijk zijn om veel sneller en eenvoudiger tot een diagnose van atypische kiemen te komen. Het antibiogram als dusdanig kan echter niet versneld worden en zal dus op de klassieke manier dienen te gebeuren. Een serologische diagnose is nooit een eerste keuze en bovendien scoren de huidige testen voor de diagnose van respiratoire infecties maar zeer matig.

Epidemiologie

In tabel 1 zijn de 10 meest voorkomende (potentieel) pathogene micro-organismen opgenomen, welke afgezonderd werden uit sputumkweken bij ambulante patiënten in het MCH-Leuven in de periode van 1.01.1996 tot 30.09.2003. Deze resultaten komen goed overeen met deze welke werden bekomen in de periode 1988-1991 (5). Opvallend is de dominante aanwezigheid van *Candida albicans* en andere gisten, wat vermoedelijk dikwijls het gevolg is van voorafgaand antibioticagebruik. In sommige stalen werd meer dan één kiem aangetoond, in anderen geen enkele. Kolonisatie onder meer met Enterobacteriaceae (*Escherichia coli* ea) en met *Aspergillus* spp. is niet zeldzaam.

Referenties:

- Bartlett J.G., Ryan K.J., Smith T.F. & Wilson W.R. 1987. Cumitech 7 A, Laboratory diagnosis of lower respiratory tract infections. Coordinating ed., Washington J.A. II. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Gill V.J., Fedorko D.P., Witebsky F.G. 2000. The clinician and the microbiology laboratory. In Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., eds. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia, Churchill Livingstone: 184-221.
- Goossens H., Meunier F., Valcke Y., Vandepitte J., Wauters G., Lontie M. & Pellegrims E. 1994. Infectieziekten in de algemene praktijk. Vector, Bonheiden.
- Klugman K.P. 1995. Resistant *Pneumococcus*: Global epidemiology: definitions, identification and drug development. In Abstracts of the 35th ICAAC, San Francisco, p 363. American Society for Microbiology.
- Lontie M. 1992. Epidemiologie van de resistentie van respiratoire pathogenen in de huisartsenpraktijk. Tijdschrift voor Geneeskunde, 48, 1237-1242.
- NCCLS. 2003. M100-S13 (M7). MIC Testing, Supplemental Tables.

Tabel 1: 10 meest voorkomende (potentieel) pathogene micro-organismen in sputumkweken bij ambulante patiënten (MCH-Leuven, 1.1.1996-30.9.2003)

<i>Candida albicans</i>	860	gist
<i>Haemophilus influenzae</i>	684	Gramnegatief staafje
<i>Staphylococcus aureus</i>	346	Grampositieve kok
<i>Moraxella catarrhalis</i>	334	Gramnegatieve kok
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	326	Grampositieve kok
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	205	Gramnegatieve staaf
<i>Escherichia coli</i>	192	Gramnegatieve staaf
<i>Klebsiella</i> spp.	144	Gramnegatieve staven
<i>Aspergillus fumigatus</i>	133	fungus
Andere gisten	112	gisten