



## Genul *Staphylococcus*

**Stafilococi coagulazo-pozitivi: *S. aureus***

**Stafilococi coagulazo-negativi (SCN) cu importanță clinică: *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus***

### Produs patologic

- portaj: secreție din cavitatea nazală anterioară, secreție faringeană, probe de pe tegumente (zona axilară, perianală)
- plăgi, otite, infecții tegumentare ⇒ puroiul (*S. aureus*)
- infecții urinare ⇒ urină (*S. saprophyticus*, *S. aureus*)
- infecții gastro-intestinale, toxiinfecții alimentare ⇒ materii fecale, vomismente, alimente.
- meningite ⇒ LCR
- septicemie, febră puerperală ⇒ sânge (*S. aureus*, SCN)
- pneumonie ⇒ spută.
- infecții nozocomiale - *S. aureus* metilino-rezistent (MRSA), SCN metilino-rezistent

### 1. Examenul direct al produsului patologic

- **macroscopic:** puroi cremos, filamentos, gălbui.

- **microscopic:** colorația Gram: coci gram (+), dispuși în grămezi asemănătoare ciorchinilor de strugure

### 2. Izolare:

- mediul de îmbogățire: mediul hiperclorurat lichid
- geloză sânge
- Chapman (Ch) – mediu selectiv și diferențial – selectiv pentru stafilococi prin conținutul crescut de Na Cl (7,5%), diferențial prin prezența manitei și a indicatorului RF (roșu fenol)
- Mediul Baird Praker - mediu selectiv pentru stafilococi

**Incubare** aerobă la 37°C, 18 – 24 ore.



### 3. Identificarea bacteriei

- **Caractere morfotinctoriale:** frotiu din cultură pură ⇒ coci Gram (+), în grămezi.
- **Caractere de cultură:**
  - col “S” cu pigment galben-auriu până la citrin
  - col “S” gri-negre cu halou clar pe mediul Baird Parker – colonii date de *S. aureus*
- **Caractere biochimice:**
  - catalază + , oxidază -
  - coagulaza liberă +: *S. aureus*;
  - coagulaza liberă -: stafilococi coagulazo-negativi (SCN)
  - coagulaza legată (clumping factor - CF) +: *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*
  - descompunerea manitolului – pe mediul Chapman ⇒ Ma(+); tulpini patogene;
  - producere de pigment: de la auriu (*S. aureus*) la portocaliu, galben citrin, alb;
  - producerea de hemolizine – pe geloză-sânge
    - ⇒ hemoliza  $\beta$  (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, ș.a.)
    - ⇒ nu prezintă hemoliză (majoritatea tulpinilor SCN)
- Identificare pe baza rezistenței la novobiocină a *S. saprophyticus*
- **Reacții Ag-Ac:** determinarea enterotoxinei produsă de stafilococ

### 4. Determinarea patogenității

- **in vitro:** producerea de coagulază, hemolizine, descompunerea manitolului
- **in vivo:** inoculare la animale de laborator (cobai, iepure)

### 5. Tipizarea bacteriilor

- pentru identificarea sursei de infecție
  - prin lizotipie (determinarea sensibilității stafilococului față de bacteiofagi; este o sensibilitate stabilă a stafilococului)
  - prin metode de biologie moleculară

### 6. Antibiograma



## Genul Streptococcus și Enterococcus

- streptococi  $\beta$  hemolitici
  - o *S. pyogenes*
  - o *S. agalactiae*
- streptococi  $\alpha$  hemolitici
  - o Streptococi grup viridans
  - o Enterococi – *E. faecalis*
  - o *S. pneumoniae* (pneumococ)

### Produs patologic

#### ***S. pyogenes:***

- secreție faringiană, secreție din leziuni tegumentare, sânge pentru serologie

#### ***S. agalactiae :***

- secreție vaginală, secreția canalului cervical –la mamă
- LCR, sânge, aspirat bronșic – la nou-născut

#### **S. grup viridans:**

- se găsesc în mod normal în secreția faringiană
- sânge

#### **Enterococi:**

- urină, secreție uretrală, secreție prostatică, secreția canalului cervical, puroi din plăgi, bilă, sânge.

#### **Pneumococ:**

- spută, LCR, sânge

### 1. Examen direct al produsului patologic

- **examen macroscopic**

- o *S. pyogenes*, *S. de grup viridans*, enterococii - nu este necesar
- o Pneumococ  $\Rightarrow$  spută ruginie



- **examen microscopic**
  - col GRAM – coci gram(+)
  - *S. pyogenes*: coci rotunzi, dispuși în lanțuri
  - *S. de grup viridans*: coci rotunzi sau ovalari dispuși în lanțuri
  - enterococii: coci ovalari, mai mari, dispuși tot în lanțuri
  - pneumococii: coci lanceolați, dispuși diplo cu capetele ascuțite spre exterior și înconjurați de o capsulă proprie.

## 2. Izolarea bacteriei

- mediul de îmbogățire: Pike
- Geloză-sânge
- ABE – agar-bilă-esculină – pentru streptococi  $\alpha$  hemolitici

## 3. Identificare

- **Caractere morfotinctoriale:** (vezi anterior)
- **Caractere de cultură:**
  - pe geloză sânge:
    - col “S” cu hemoliză  $\beta$  (zonă clară, transparentă în jurul coloniilor, hemoliză totală)  $\Rightarrow$  streptococi  $\beta$ -hemolitici

sensibilitate față de  
**BACITRACINĂ** -  
identificare grup A

Determinarea hidrocarbonatului C din  
peretele bacterian prin reacții de  
precipitare și aglutinare – stabilirea  
grupelor Lancefield

**Testul CAMP pentru identificarea *S. de grup B***

### Antibiograma

Streptococ de grup A: și-a păstrat sensibilitatea față de penicilină – nu se efectuează antibiogramă (numai în situații speciale, de ex. alergie la penicilină sau monitorizarea rezistenței la penicilină și alte antibiotice, fără comunicarea rezultatului)



- col “S” cu hemoliză  $\alpha$  (incompletă, de culoare verde datorită reducerii Hb la MetHb)  $\Rightarrow$  streptococi  $\alpha$ -hemolitici

	<b>Bilă</b>	<b>Optochină</b>	<b>Esculină</b>
<b>S. de grup viridans</b>	Rezistent	Rezistent	-
<b>Enterococi*</b>	Rezistent	Rezistent	+
<b>Pneumococi</b>	Sensibil	Sensibil	-

*Notă: \* Enterococii pot fi nehemolitici.*

- identificarea **pneumococilor** se face pe baza sensibilității lor la bilă
- pentru identificarea enterococilor se folosește mediul ABE – enterococii fermentează esculina determinând colorarea în negru a mediului

### **Antibiograma se realizează**

## **4. Evidențierea Ac**

- Streptolizina “O” = SLO= Antigen  $\Rightarrow$  determină formarea de Anticorpi anti-SLO = **ASLO**
- ASLO crește în primele 7 zile până în săptămânile 3-4 când se menține în platou și apoi scade titrul până la valori normale până la 6 luni, dacă s-a intervenit cu un tratament corespunzător (vindecare); sau poate să crească titrul Ac dacă nu a fost tratat bolnavul sau s-a produs o complicație (RAA, afectare cardiacă, glomerulonefrită renală acută, coreea minor etc.).

Dg (+) la titrul de 1/200 UI/ml

Val < 1/200 UI/ml  $\Rightarrow$  nu există infecție streptococică

Val > 1/200 UI/ml  $\Rightarrow$  este infecție streptococică în evoluție.



## Genul Neisseria

### *Neisseria gonorrhoeae*

#### **Proodus patologic:**

- secreție uretrală, secreție glande Bartholini, secreție vaginală, secreție prostatică
- la femei se recoltează în timpul sau la sfârșitul ciclului menstrual
- secreție faringiană
- urină
- secreție conjunctivală

### *Neisseria meningitidis*

#### **Proodus patologic:**

- LCR
- secreție faringiană
- sânge

**Rezistența:** foarte sensibili la temperatura camerei, la uscăciune ⇒ recoltarea se face la patul bolnavului!!!

### 1. Examenul microscopic:

- *N. gonorrhoeae*
  - coci Gram(-) sub formă de boabă de cafea dispuși diplo
  - în infecții acute ⇒ se găsesc intracelular
  - în infecții cronice ⇒ se găsesc intra și extracelular.
- *N. meningitidis*
  - coci Gram(-) sub formă de boabă de cafea dispuși diplo
  - încapsulați

### 2. Izolarea (sunt germeni foarte pretențioși)

- se însămânțează imediat după recoltare
- se încălzește mediul la 37<sup>0</sup>C
- mediile de cultură utilizate: Geloză-chocolat, Peizer-Steffen, Thayer-Martin
- **Incubarea se face cu CO<sub>2</sub> obligatoriu 10% 24-48 ore la 37<sup>0</sup>C.**



### 3. Identificarea

#### Caractere de cultură

- col "S" friabile, asemănătoare perlelor.

#### Încadrarea în genul *Neisseria*:

- Testul oxidazei  $\Rightarrow$  oxidazo(+) = *Neisseria*

#### Încadrarea în specie:

- Testul de umflare a capsulei  $\Rightarrow$  (+)  $\Rightarrow$  *N meningitidis*  $\Rightarrow$  se stabilește și serogrupul acesteia
- Fermentarea zaharurilor:

	Gonococ	Meningococ	Neisserii saprofite
GLUCOZĂ	+	+	+
MALTOZĂ	-	+	+
ZAHAROZĂ	-	-	+

4. **Antibiograma** se face, deși marea majoritate este sensibilă la Penicilină.

### 5. Diagnostic rapid

- bazat pe reacții Ag-Ac
- se pun în evidență antigenele meningococice direct din LCR
  - Reacții de precipitare inelară
  - Reacții de aglutinare.