



Diagnosticul de laborator în infecții cauzate de germenii din genul **Pseudomonas**

Pseudomonas aeruginosa

pseudomonade

produs patologic

- germene condiționat patogen, produce infecții grave în condițiile scăderii rezistenței organismului
 - exudate purulente, puroi din plăgi, arsuri suprainfectate, leziuni necrotice cutanate
 - secreții nasofaringiene, spută
 - urină
 - materii fecale, bilă
 - sânge
 - LCR
 - secreții vaginale
 - secreții conjunctivale
- face parte din categoria germenilor de spital, determinând infecții nozocomiale
- probe de pe instrumente, instalații sanitare, soluții medicamentoase, dezinfectante

1. Examenul direct

- **macroscopic**
 - puroiul poate avea o culoare albastră-verzuie și degajă un miros caracteristic aromat
- **microscopic**
 - se practică doar din produse biologice în mod normal sterile
 - bacili Gram negativi, subțiri, cu un cil polar, necapsulați, nesporulați

2. Izolare

- bulion
- geloză simplă
- geloză sânge
- medii selective și diferențiale pentru enterobacterii: Leifson

3. Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
- **caractere de cultură**
 - în mediu lichid – tulbură uniform mediul, formează o peliculă la suprafață (strict aerob) sub care se acumulează pigment
 - pe mediu solid - colonii de tip S, lactozo - negative, uneori cu luciu metalic. Pe măsură ce cultura îmbătrânește, coloniile devin de tip R, se produce un pigment verzui difuzibil



- pe geloză sânge – colonii cenușii, unele produc hemoliză beta

- **caractere biochimice**

- oxidază pozitive
- geloză lactozată – nu fermentează lactoza
- proteoliza – lichefiază mediul Loffler
- pe geloză sânge - hemoliză beta
- producere de pigment
 - piocianina, specific, verde –albăstrui, solubil în cloroform
 - pioverdina (fluoresceina), galben-verzuie, solubilă în apă
- miros aromat

- **Tipizare**

- **lizotipie**
 - este utilă în scop epidemiologic pentru stabilirea sursei unei infecții nozocomiale
- **piocinotipie**
 - identificare pe baza tipizării piocianinei, care este specifică fiecărui tip

4. Antibiograma

- este obligatorie, multe tulpini de Pseudomonas prezentând rezistență multiplă la antibiotice



Diagnosticul de laborator al holerei

Vibrio cholerae

produs patologic

este considerat potențial periculos și letal – măsuri de protecția muncii riguros respectate
materii fecale, lichid de vărsătură
probe de apă, alimente

1. Examen direct

- **macroscopic:** scaun cu conținut fecaloid minim, aspect riziform
- **microscopic**
 - colorația Gram – bacil Gram negativ, subțire, încurbat, sub formă de virgulă, prezintă un cil la un capăt, necapsulat, nesporulat
 - examen microscopic pe fond întunecat
 - se efectuează **preparat nativ**
 - germeni foarte mobili
 - testul de imobilizare cu ser imun antiO1, antiO139. Imobilizarea germenilor din preparat ridică suspiciunea prezenței vibriunii în preparat.

2. Izolarea

- pe apă peptonată alcalină
- pe mediul BSA (bile salt, agar)
- pe mediul TCBS (tiosulfat, citrat, bilă, sucroză)
- pe geloză sânge

3. Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
- **caractere de cultură**
 - în mediu lichid crește foarte rapid și formează un vâl la suprafață, mediul rămâne clar
 - pe geloză sânge – colonii de tip S, mici, mate, alb-cenușii, nehemolitice
- **caractere biochimice**
 - oxidază pozitiv

4. Identificare antigenică

- pe baza antigenului O (O1, O139)

diagnosticul definitiv se confirmă în laboratoare de referință



Diagnosticul de laborator al infecției cărbunoase

Bacillus anthracis

Produsul patologic:

- în cărbunele cutanat – exsudat din pustula malignă
- în cărbunele intestinal – materii fecale
- în cărbunele pulmonar – spută
- în formele septicemice – sânge
- pentru diagnostic retrospectiv – fragmente de organe

1. Examen direct

- frotiu Gram
 - bacil Gram pozitiv, cu capetele retezate sau ușor concave, așezați în lanțuri, cu aspect ce imită trestia de bambus.
 - prezintă un spor central
 - în produsul patologic prezintă capsulă

2. Izolare

- germene nepretențios, poate fi cultivat pe
 - bulion
 - geloză simplă
 - geloză sânge

3. Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
- **caractere de cultură**
 - în mediu lichid formează un depozit floconos, mediul rămâne clar
 - pe medii solide – colonii de tip R cu suprafața rugoasă, centrul ombilicat, margini dantelate cu prelungiri laterale (cap de Medusa)
 - în geloză dreaptă crește sub forma unui brad inversat
- **diagnostic diferențial** față de alți germeni din genul *Bacillus* (*B. cereus*)
 - sensibilitatea la penicilină:
 - *B. anthracis* este sensibil, *B. cereus* este rezistent
 - hemoliza
 - *B. anthracis* nu produce hemoliză, *B. cereus* produce hemoliză
 - sensibilitatea față de bacteriofagi

4. Diagnostic retrospectiv

- Reacția Ascoli
 - reacție de precipitare inelară
 - evidențiază prezența antigenelor în fragmente de organe recoltate de la cadavre



Genul Clostridium

- bacili G+, anaerobi, sporulați
- prezenți în intestinul oamenilor și a animalelor, se elimină prin materii fecale
- sporii rezistă pe sol timp îndelungat, sunt termorezistenți

C. tetani

- pentru producerea bolii este necesară contaminarea profundă a unei plăgi (plagă tetenigenă)
- produce toxine răspunzătoare de apariția **tetanosului**
 - contracții musculare spastice
 - la om – tetanos descendent
 - musculatura feței – „risus sardonicus”
 - musculatura membrelor
 - musculatura coloanei vertebrale – opistotonus
 - deces prin paralizia musculaturii respiratorii
- **Produs patologic**
 - fragmente biotice din plăgi contaminate
 - probe de pământ, de metal
 - materii fecale
 - medicamente injectabile
 - cat-gut

C. botulinum

- omul se contaminează prin ingerarea de alimente care conțin toxină botulinică preformată
- toxinele sunt răspunzătoare de apariția **botulismului**
 - paralizie musculară flască
 - debut cu afectarea globilor oculari, ptoză palpebrală
 - evoluție descendentă
 - deces prin paralizia musculaturii respiratorii
- **Produs patologic**
 - ser
 - probe de alimente
 - urină
 - materii fecale
 - fragmente de organe

C. perfringens

- implicat în toxiinfecții alimentare
- produce o toxină
 - alterează epiteliul intestinal
 - produce diaree apoasă
- **Produs patologic**
 - ser
 - probe de alimente
 - materii fecale



1. Examen microscopic




- bacili G+, sporulați

2. Cultivare

- pentru cultivarea clostridiilor este obligatorie asigurarea condițiilor de anaerobioză
 - metode fizice - anaerostat
 - metode chimice – hârtie de filtru îmbibată cu pirogalol (se lipește în interiorul cutiei Petri, absoarbe oxigenul)
 - metode biologice - cultivăm pe aceeași cutie Petri și germeni aerobi și anaerobi
- medii de cultură folosite
 - mediu Schaedler – geloză sânge glucozată
 - geloză simplă
 - bulion

3. Identificare

- caractere morfotinctoriale

	Colorație	Cili	Capsulă	Spori	
C. tetani	bacili G+	peritrichi	-	+ (terminal)	
C. botulinum	bacili G+	peritrichi	-	+ (subterminal)	
C. perfringens	bacili G+	-	+	+ (subterminal)	

- caractere de cultură

	Geloză dreaptă	Mediu Schaedler
C. tetani	colonii pufoase	colonii „R”
C. botulinum	colonii cu centrul transparent	colonii „R”
C. perfringens	colonii lenticulare	colonii „R”

- caractere biochimice

- produc hemoliză β pe mediu Schaedler
- mirosul este caracteristic
 - corn ars – *C. tetani*
 - ranced – *C. botulinum*
 - butiric – *C. perfringens*



4. Boala experimentală

- *C. tetani* inoculat la cobai / șoareci pe cale subcutanată → paralizie spastică
- *C. botulinum* inoculat la
 - șoareci → paralizie flască a trenului posterior
 - cobai → paralizia mm. abdominali
 - pisică → diaree, tulburări de acomodare



Diagnosticul de laborator al sifilisului

Treponema pallidum

Produse patologice:

- serozitate din șancrul sifilitic (stadiul I.)
- sânge (ex. serologic)
- LCR (neurosifilis)

1. Examen direct microscopic

- **preparat nativ** – examinare la microscop cu fond întunecat – forme spiralate mobile (rotație, flexie)
- **preparate colorate**
 - colorație Giemsa
 - colorație negativă (Burri)
 - impregnare argentică (Fontana-Tribondeau)
 - forme spiralate, spire regulate, capete drepte, dimensiuni: 6-16 /0,25μm

2. Izolare prin metode biologice

- treponemele patogene nu pot fi cultivate pe medii artificiale
- inoculare intratesticulară la iepure – orhită sifilitică

3. Diagnostic indirect – serologic

a. Reacții serologice clasice

- evidențierea anticorpilor antilipoidici
- antigen folosit: cardiolipina
- pot apare reacții fals pozitive
- pentru confirmare, diagnosticul se completează cu reacții moderne (specifice)
- aplicații practice
 - reacția de floclare (VDRL)
 - latexaglutinare (RPR)
 - reacția de fixare a complementului (RFC)

b. Reacții serologice moderne

- evidențiază anticorpii antiproteici
- antigene folosite – antigene treponemice specifice de gen și de specie
- Reacții cu specificitate de gen:
 - RFC, CIEF
- Reacții cu specificitate de specie:
 - FTA – Abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorbtion Test)
 - TPHA (reacție de hemaglutinare pasivă)
 - TIT (testul se imobilizare a treponemelor)
 - ELISA