



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
 - germeni foarte mobili
 - **testul de imobilizare cu ser imun** antiO1, antiO139. Imobilizarea germenilor din preparat ridică suspiciunea prezenței vibrionului 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
 - pe mediul SIM
 - mobilitate pozitiv
 - indol pozitiv
 - urează negativ
- identificare antigenică
 - pe baza antigenului O (O1, O139)
- **diagnosticul definitiv se confirmă în laboratoare de referință**



Diagnosticul de laborator în infecții cu *Helicobacter*

H. pylori

Bacterie spiralată, G-, prezintă 2-6 flageli la un capăt

Produse patologice

- biopsie gastrică
- sânge pentru serologie

1. Metodele invazive

- **gastroscopie cu recoltarea mai multor fragmente de mucoasă gastrică.**
 - Conservarea probelor recoltate se face la 4°C pentru maximum 4 ore sau se folosesc medii de transport în care proba poate fi menținută maximum 24 de ore.
 - Din fragmentul recoltat se efectuează
 - **testul ureazei**
 - plasarea fragmentului bioptic într-un mediu cu uree și roșu fenol. Ionii de amoniu rezultați din hidroliza ureei alcalinizează mediul și determină virarea culorii indicatorului
 - se citește la 30 minute, o oră, 3 ore și 24 de ore
 - Specificitatea testului este de aproape 100% la 4 ore
 - **microscopie directă**
 - frotiu efectuat din fragmentul bioptic colorat Gram sau secțiune histologică colorată Giemsa
 - bacterii Gram negative
 - încurbate sau spiralate
 - prezintă 4-6 flageli localizați la un pol
 - ! atenție la *Campylobacter* cu morfologie asemănătoare
 - IF
 - **cultivarea bacteriei**
 - Fragmentul bioptic recoltat se omogenizează cu ser fiziologic
 - Două picături din omogenizat se însămânțează pe medii de cultură
 - suplimentate cu sânge 10%
 - conțin agenți antimicrobieni pentru a preveni contaminarea fungică și bacteriană.
 - incubare la 37°C, în microaerofilie (CO₂ 10%, N 85%, O₂ 5%), peste 7 zile, cu prima citire la 3 zile.
 - *H. pylori* produce colonii de tip S, translucide, de 1-2 mm



- cultivarea permite testarea sensibilității la antibiotice
 - nu există metodă standardizată
 - determinarea CMI utilizând Etest sau metoda microdiluției)
- se continuă identificarea prin studierea **caracterelor biochimice**
 - oxidazo pozitive
 - nu descompun zaharurile.
 - produce urează în cantități mari

2. Metodele neinvazive

- **testul respirator cu uree marcată**
 - administrarea unei soluții de uree marcată cu ^{13}C (neradioactiv) sau ^{14}C (radioactiv)
 - sub acțiunea urezei se va elibera CO_2 marcat ce se va absorbi în circulație
 - CO_2 va fi eliminat prin plămâni, putând fi astfel detectat și cuantificat în aerul expirat
 - Sensibilitatea testului variază între 90-98%, iar specificitatea ajunge la 99%
 - Este indicat ca metodă de apreciere a eficacității tratamentului
- **diagnosticul serologic**
 - evidențiază prezența anticorpilor specifici, de tip IgG
 - se folosește testul ELISA, latexaglutinare
 - specificitatea este de 85-95%, și sensibilitatea de 80-95%
- **alte metode**
 - Western-Blot
 - Detectarea antigenelor *H. pylori* în materiile fecale
 - test rapid imunocromatografic folosind anticorpi monoclonali



Diagnosticul de laborator în infecții cu *Campylobacter*

C. jejuni

C. coli

1. Produs patologic

- Materii fecale
- Lichid de vărsătură
- Probe de alimente

2. Cultivare

- Pe medii selective cu sânge, pe membrane filtrante
- În condiții de microaerofilie, la 42°C (nu crește sub 37°C)
- Izolare pe medii selective; ex: mediul MacConkey, CAMPY, Skirrow, CSM (charcoal-based selective medium agar)

3. Identificare

- Cmt
 - Bacterii spiralate, G-
- Caractere de cultură
 - Colonii S, translucide, tendință de curgere (picătură de miere)
- Caractere biochimice
 - NU produc urează
 - Oxidază +
 - Catalază +
 - Mobile (preparat nativ)
 - *C. coli* produce H₂S

4. Testarea susceptibilității față de antibiotice

- metoda difuzimetrică – lipsa standardizării
- determinare CMI (E-test, microdiluții)



Diagnosticul de laborator în infecții cauzate de *Pseudomonas*

P. aeruginosa

produs patologic

- germene condiționat patogen, produce infecții grave în condițiile scăderii rezistenței organismului
 - exudate purulente, puroi din plăgi, arsuri suprainfectate, leziuni necrotice cutanate
 - spută, aspirat traheal, bronșic
 - urină
 - materii fecale, bilă
 - sânge
 - LCR
 - secreții vaginale
 - secreții conjunctivale
-
- face parte din categoria germenilor de spital, determinând infecții nosocomiale
 - 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

- în bulion
- pe geloză simplă
- pe geloză sânge
- pe MacConkey

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 positive
- nu fermentează glucoza (germen nefermentativ)
- geloză lactozată – nu fermentează lactoza
- proteoliza – lichefiază mediul Löffler
- 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**

- în scop epidemiologic pentru stabilirea sursei unei infecții nosocomiale (lizotipie, tipizare moleculară)
- piocinotipie
 - tipizarea piocianinei, care este specifică fiecărui tip

4. determinarea patogenității

- nu are importanță practică

5. antibiograma

- este obligatorie



Diagnosticul de laborator în infecții cauzate de Acinetobacter

Acinetobacter baumannii

Acinetobacter lwoffii

Acinetobacter calcoaceticus

produs patologic

- spută
- aspirat bronșic
- puroi
- urină
- sânge
- LCR
- catetere

Este larg răspândit în mediu, colonizează mucoasele.

Este un germen cu potențial nosocomial cu rezistență naturală față de multe antibiotice.

Tratamentele antibiotice prelungite favorizează apariția infecțiilor.

1. Examenul direct

- **microscopic**

- bacili pleomorfi, scurți, groși, până la cocoizi, Gram negativi, adesea dispuși în perechi
- pe același frotiu se pot întâlni forme cocoide și forme filamentoase cu o lungime de câteva zeci de micrometri
- imobili, frecvent capsulați

2. Izolare

- germen nepretențios, crește pe medii uzuale
- geloză simplă, geloză sânge, MacConkey

3. Izolare

- în funcție de specie cresc la temperaturi cuprinse între 10-35°C

4. Identificare

- **caractere morfotinctoriale** (vezi examenul direct)
- **caractere de cultură**
 - colonii de tip S, rotunde, netede, convexe, lucioase sau mate, nepigmentate
 - unele specii produc hemoliză beta pe geloză sânge
- **caractere biochimice**
 - nu fermentează glucoza (germen nefermentativ)
 - catalază pozitiv
 - oxidază negativ
 - lactoză negativ
 - identificarea de specie: pe baza caracterelor de cultivare (temperatura de creștere) și biochimice

5. Antibiotograma

- este obligatorie



Genul Neisseria

Produs patologic:

Neisseria gonorrhoeae

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

Neisseria meningitidis

- secreție faringiană
- sânge
- LCR

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

1. Examenul microscopic:

- coci Gram(-) sub formă de boabă de cafea, dispuși diplo
- în infecții acute ⇒ se găsesc intracelular
- în infecții cronice ⇒ se găsesc intra și extracelular

- coci gram (-), dispuși diplo
- sunt capsulați

2. Izolarea: (sunt germeni foarte pretențioși)

- se însămânțează imediat după recoltare
- se încălzește mediul la 37⁰C
- mediile de cultură utilizate: Geloză-chocolat, PEIZER-STEFFEN, THAIER-MARTIN
- **Incubarea se face cu CO₂ obligatoriu 10% 24-48 ore la 37⁰C.**

2. Identificarea:

CMT

CC- col "S" friabile, asemănătoare perlelor.

Încadrarea în genul Neisseria: Testul oxidazei ⇒ oxidazo(+)=Neisseria

Încadrarea în specie:

- Testul de umflare a capsulei ⇒ (+) ⇒ N meningitidis ⇒ se stabilește și serogrupul acesteia



- Fermentarea zaharurilor:

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

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

Diagnostic rapid: bazat pe reacții Ag-Ac

– se pun în evidență Ag meningococice direct din LCR

- Reacții de precipitare inelară

- Reacții de aglutinare.