



## Genul Haemophilus

### Produs patologic

- secreție nazo-faringiană - de la poarta de intrare
- puroi – în otite, sinuzite
- spută – în pneumonii
- LCR – în meningită
- sânge – în septicemie

### Recoltare și transport

- ! în meningită – recoltarea LCR
  - la patul bolnavului
  - transport rapid la 37°C, este interzisă refrigerarea

### Examen direct

- macroscopic
  - LCR cu aspect purulent
- microscopic
  - direct din pp. sau după centrifugare pentru concentrarea germenilor
  - frotiu colorat Gram sau cu albastru de metilen
    - celule inflamatorii
    - cocobacili G-, capsulați. În culturi vechi își pierd capsula
    - izolați, în grămezi sau lanțuri scurte, intra/extraleucocitar

### Cultivare

- germen pretențios
- necesită incubare în CO<sub>2</sub> 10%, atmosferă umedă, 37°C
- necesită factori de creștere
  - mediu Chocolat
  - ! *S. aureus* produce factor de creștere V

### Identificare

- c.m.t.
- c.c.
  - colonii S sau M
  - asemănătoare cu picăturile de rouă
  - coloniile sunt prezente în jurul coloniilor de *S. aureus* (satelitism)
- c. biochimice
  - indol pozitive (majoritatea)
  - fermentează inconstant zaharurile
  - în prezent se folosesc teste API



- pe baza creșterii în jurul discurilor cu factori X, V, X+V

Specie	Creștere în jurul factorilor		
	X	V	X+V
<i>Haemophilus aegyptius</i>	-	-	+
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	v/-	-	+
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-	+
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	-	-	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	-	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-	+	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+	+

- identificare antigenică
  - identificarea Ag capsular K
    - reacții de umflare a capsulei
    - RIF, ELISA, latexaglutinare
- identificarea AN
  - se folosesc sonde nucleotidice produse comercial

### Diagnostic serologic

- folosit pentru verificarea răspunsului imun după vaccinare
- ELISA, RIA

### Antibiograma

- obligatorie
- se face pe medii speciale (Haemophilus test medium - HTM)



## ***Corynebacterium diphtheriae* - Diagnosticul de laborator în difterie**

### **Produsul patologic**

- falsă membrană, secreție faringiană,
- secreție nazală la purtători
- secreție conjunctivală, vulvară, din plăgi

### **Recoltarea se face cu 3 tampoane**

#### **1. Cu primul tampon se efectuează 3 frotiuri**

- **frotiu colorat Gram** – pentru observarea morfologiei și dispoziției spațiale
  - o *C. diphtheriae* – bacil Gram pozitiv, ușor încurbat, cu capetele măciucate, dispus caracteristic (litere chinezești, chibrituri aruncate pe masă)
- **frotiu colorat Neisser** – pentru evidențierea corpusculilor metacromatici Babeș-Ernst
  - o *C. diphtheriae* – prezintă corpusculi metacromatici la capete
- **frotiu colorat Giemsa** – pentru diagnosticul diferențial cu angina fuso-spiralară
  - o pe frotiu se evidențiază fusobacterii și forme spiralate (*Treponema vincenti*)

#### **2. Tamponul al doilea se însămânțează pe mediul de îmbogățire OCST**

incubare 12-18 ore, după care se izolează pe medii caracteristice

#### **3. Tamponul al treilea se descarcă pe medii de cultură folosite pentru izolare, identificare**

- **mediul Löffler** – colonii caracteristice, circulare, ușor crenelate, alb-gălbui
- **geloză sânge** – colonii albe-gri, perlate, friabile
- **mediul Gundel Tietz** – se diferențiază cele trei tipuri de bacil difteric
  - o **tipul gravis** – colonii negre, de tip R, plate, cu margini crenelate, centrul mamelonat, cu strițiuni radiare, ca o “floare de margaretă”,
  - o **tipul mitis** – colonii negre, de tip S
  - o **tipul intermedius** – colonii de tip S-R
- **bulion: tipul gravis** – formează peliculă la suprafață, restul mediului rămâne clar
  - o **tipul mitis** – tulbură uniform mediul
  - o **tipul intermedius** – formează inel la suprafață, depozit și tulbură uniform mediul



## Caractere biochimice

- **producerea de H<sub>2</sub>S** – se studiază pe mediul PISU (cu cistină)
- **fermentarea zaharurilor**
  - o în funcție de fermentarea glucozei, maltozei și zaharozei, bacilii difterici se pot încadra în specie (*C. difteriae*, *hoffmanii*, *xerosis*)
  - o în funcție de fermentarea dextrinei, amidonului și glicogenului, îi încadrăm în tip (*gravis*, *mitis* și *intermedius*)

## Caractere de patogenitate - cercetarea producerii de exotoxină difterică

- **teste în vivo**
- **teste in vitro**
  - o testul Elek – reacție de precipitare în gel
    - se toarnă geloză peste o hârtie de filtru impregnată în ser antidifteric
    - se însămânțează în striuri tulpinile de cercetat
    - dacă o tulpină produce exotoxină difterică (Ag), aceasta este eliberată în mediu și apare o bandă de precipitare
  - o testul Ramon – reacție de floculare prin care se dozează putere toxică a toxinei

## Diagnosticul indirect

- **IDR Shick** – IDR de neutralizare
  - o se injectează strict intradermic 1 unitate de toxină
    - dacă organismul nu are anticorpi, toxina își exercită efectul eritematos și la locul inoculării apare un eritem – organism receptiv.
    - dacă organismul are anticorpi, aceștia vor neutraliza toxina, deci nu apar modificări la locul inoculării – organism imun
- **Reacții de hemaglutinare pasivă** - determinare cantitativă a antitoxinelor



## **Bacillus anthracis - diagnosticul de laborator al infecției carbunoase**

### **Produsul patologic:**

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

### **2. Izolare**

- germene nepretențios
  - o bulion, geloză simplă, geloză sânge

### **3. Identificare**

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

### **4. Diagnostic retrospectiv**

- reacția Ascoli – reacție de precipitare inelară
  - o evidențiază prezența antigenelor în fragmente de organe recoltate de la cadavre