



Flora normală a organismului

Flora normală: totalitatea germenilor care se găsesc în mod permanent (rezidenți) sau tranzitoriu pe suprafața corpului sau în diferite cavități, fără a cauza îmbolnăviri la persoane imunocompetente.

Flora tegumentelor și a părului

- variază în funcție de vârstă
 - nou-născut: floră tranzientă alcătuită din flora vaginală a mamei
 - sugar: influențată de flora mamei, flora intestinală a copilului
 - copii: determinată de flora colectivității din care fac parte
 - adulți: determinată de flora ambientală a căminului și a locului de muncă
- tegumentele sunt populate de: bacili aerobi din aer, *Micrococcus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, corinebacterii;
- încheieturile sunt colonizate de germenii anaerobi: *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp.,
- tegumentele din regiunea anală, perineală: enterobacterii, *S. saprophyticus*, clostridii
- La persoanele care lucrează în brutării, cofetării: *Candida*
- Dintre patogeni pot fi întâlniți tranzitoriu: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. *S. aureus* poate fi rezident la persoanele care lucrează în mediu spitalicesc.
- Rolul florei normale: împiedicarea colonizării cu germeni patogeni.

Flora normală a ochilor

- Conjunctiva poate fi populată de: *Micrococcus*, corinebacterii, *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Rhodotorula*.
- Flora tranzientă: *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., streptococi alfa-hemolitici.
- Factori de apărare locală: lacrima are efect de spălare, lizozimul are activitate antibacteriană
- Cei mai frecvenți patogeni (în cazul unor leziuni pot cauza infecții): *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia trachomatis*, *Moraxella* spp., *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp.
- Ulcerații datorate lentilelor de contact: *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Acanthamoeba* spp.

Flora normală a căilor respiratorii

- urechea medie, sinusurile paranazale, bronhiiolele, plămâni, pleura sunt sterile
- Flora rezidentă a căilor respiratorii superioare: streptococi alfa hemolitici, neisserii saprofite., corinebacterii, Fusobacterii, spirochete, ș.a.
- Pe mucoase intacte pot fi prezente tranzient: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *N. meningitidis*; *Haemophilus influenzae* ș. a. Nu se produce infecție:
 - dacă nr. de germeni este redus,
 - dacă germenii au un defect de patogenitate (lipsa capsulei),
 - dacă nu există locus minoris resistentiae sau
 - dacă există imunitate față de serotipul respectiv.
- Starea de purtător al unui germen patogen: prezența permanentă sau tranzitorie a unui patogen obligat (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) în flora normală a căilor respiratorii superioare, fără a produce îmbolnăvire. !focar de epidemii în colectivități, spitale



Cavitatea bucală

- variază în funcție de vârstă
- biotopuri diferite: palatul, suprafața limbii, buzele, suprafața dinților, fisuri ale dinților, gingiile, saliva
- Flora rezidentă: streptococii din grupul viridans (bacteriile dominante – *S. salivarius* 98%, *S. mutans*), neisserii saprofite, anaerobii Veillonella, Actinomyces, Fusobacterium, Bacteroides spp., Prevotella spp., Porphyromonas spp.; lactobacili, spirochete
- Tranzitoriu: stafilococi coagulazo-negativi

Esofagul, stomacul

- În esofag – bacterii provenite din alimente și salivă
- În stomac nu există floră rezidentă
- Rar se izolează: lactobacili, alte bacterii

Intestinele

- Intestinul subțire: floră tranzientă, nr. mic de germeni (*E. faecalis*, lactobacili)
- Flora colonului:
 - 95-99% germeni anaerobi: *Bifidobacterium bifidum*, *Bacteroides fragilis* (10^{11} /g materii fecale)
 - germeni facultativ aerobi: *E. coli* (10^9 /g materii fecale), *Enterococcus faecalis* (10^3 /g materii fecale).
 - germeni tranzienți: Klebsiella, Proteus, Enterobacter,
 - la sugari alimentați
 - natural: predomină *Lactobacillus bifidus*
 - artificial: apar germeni facultativ aerobi și *Bacteroides fragilis*.

Căile urinare

- sunt sterile
- orificiul uretral extern poate fi colonizat cu germeni proveniți de pe tegumente, din materiile fecale, din mediu, din cavitatea bucală la ambele sexe legat de activitatea sexuală, la femei din flora vaginală, vulvară: *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, Proteus spp., streptococi alfa-hemolitici.
- germeni rezidenți (în nr. redus): Bacteroides, Fusobacterium, corinebacterii, neisserii nepatogene, enterobacterii, enterococi, mycoplasme, streptococi din grupul viridans, Mycobacterium smegmatis.
- tranzitoriu: clostridii, hemofili, coci anaerobi

Flora vaginală

- variază în funcție de statusul hormonal
- înainte de apariția ciclurilor menstruale este paucibacilar, datorită mecanismelor de apărare nespecifice - în cazul unei igiene deficitare pot predomina enterobacteriile
- la femei fără activitate sexuală:
 - predomină lactobacilii (flora Döderlein); + mycoplasme nepatogene, stafilococi, enterococi, streptococi alfa hemolitici, Candida, coci Gram pozitivi anaerobi, Bacteroides spp.
 - flora tranzientă: clostridii, enterobacterii, stafilococi auri și streptococi piogeni



- femei cu activitate sexuală: extrem de variabilă, depinde de igiena personală, obiceiuri sexuale, flora partenerilor, intensitatea vieții sexuale, metode anticoncepționale, cantitatea de glicogen, tratamente cu antibiotice, flora toaletei de acasă și de la locul de muncă.
 - flora vaginală: unică
- perturbarea echilibrului florei vaginale poate duce la infecții endogene, pe când flora echilibrată poate masca timp îndelungat o infecție exogenă.

Exsudatul faringian

se recoltează pentru:

- diagnosticul faringitelor și anginelor streptococice
- confirmarea diagnosticului de difterie
- diagnosticul altor angine bacteriene și fungice
- depistarea unui portaj (Streptococ grup A, *Corynebacterium diphtheriae*)

Transportul și examinarea se face în maximum trei ore de la recoltare, altfel trebuie folosit un mediu de transport

Examen direct microscopic

- se efectuează doar din false membrane (difterie, angină fusospirilară)
- se efectuează 3 frotiuri colorate Gram, Neisser, Giemsa

Însămânțare

- se descarcă tamponul pe mediu și se epuizează cu ansa
- pe geloză sânge - pentru streptococ
- în suspiciunea de difterie, se folosesc mediile: OCST, Löffler, Tinsdale, geloză sânge

Incubarea

- se face 18-24 de ore la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)

Identificare

- pe geloză sânge se va urmări prezența coloniilor mici, de tip S, de 0,5-1 mm, transparente sau opace, cu zonă largă de hemoliză beta, care ridică suspiciunea de streptococ beta hemolitic și se continuă identificarea pentru
 - identificarea genului, prin frotiu
 - identificarea grupei, prin testarea sensibilității la bacitracină (pentru grupul A) și latexaglutinare (pentru încadrarea în celelalte grupe)
 - se efectuează antibiogramă pentru streptococi beta hemolitici în caz de alergie a pacientului față de penicilină
- prezența de colonii mari, de tip S, de 2-3 mm, pigmentate, beta hemolitice (*Staphylococcus aureus*), a coloniilor mari, de tip M (*Klebsiella pneumoniae*), a coloniilor mici, de tip S, albe-cenușii, cu sau fără hemoliză (enterobacterii), a fenomenului de cățărare (*Proteus*), sau a coloniilor cu luciu metalic, beta hemolitice cu miros aromat (*Pseudomonas*) semnifică o disbacterioză orofaringiană și nu are relevanță clinică.



Secreția nazală

- Se recoltează pentru determinarea portajului de *S. aureus*

Recoltarea

- Cu tampon steril umectat cu ser fiziologic steril
- Se șterg pe rând ambele cavități nazale anterioare, prin mișcări de rotație

Însămânțarea

- Pe mediu de îmbogățire pentru stafilococi
- Pe mediu Chapman
- și/sau mediu cromogen pentru identificare MRSA

Incubare

- se face 18-24 de ore la 37°C, în aerobioză

Identificare

- pe mediul Chapman: se urmăresc coloniile manito- pozitive – acestea se identifică, în caz de confirmarea speciei *S. aureus* se efectuează antibiogramă

Secreția nazofaringiană

- Se recoltează pentru diagnosticul infecțiilor căilor respiratorii superioare, uneori a sinuzitelor (în lipsa puncției sinusale)
- Se caută: *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Haemophilus spp.*, *Moraxella spp.*

Recoltarea

- Cu tampon nazofaringian cu tijă flexibilă
- Se introduce recoltorul printr-o nară până atinge peretele posterior al faringelui. Se rotește de câteva ori pentru a se încălca cu secreție.
- Produsul recoltat se trece pe medii de transport

Însămânțarea

- Pe geloză sânge: pentru *S. pneumoniae*, *Moraxella*
- Pe geloză ciocolată: pentru *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*

Incubare

- se face la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)

Identificare

- *S. pneumoniae*: se urmăresc coloniile alfa hemolitice crateriforme caracteristice pe mediul geloza sânge – pentru confirmare se testează sensibilitatea față de optochină, bilă; se efectuează antibiogramă
- *Moraxella catarrhalis*: pe geloză sânge apar colonii oxidazo- pozitive, care alunecă pe suprafața mediului; sunt tulpini producătoare de DN-ază; se testează producerea de beta-lactamază



- *Haemophilus influenzae*: colonii ca picătura de rouă pe geloză ciocolată, lipsa creșterii acestora pe geloză sângie, fenomenul de satelitism; stabilirea speciei pe baza necesității factorilor X,V; se testează producerea de beta-lactamază, se poate efectua antibiogramă

Sputa

- Se recoltează pentru
 - diagnosticul infecțiilor căilor respiratorii inferioare (pneumonii, bronșite, bronșiolite), tuberculoză pulmonară
 - monitorizarea tratamentului (tuberculostatic în special)
- **Recoltarea**
 - Se face dimineata pe nemâncate, înaintea toaletei cavității bucale
 - Dacă există proteze dentare, acestea se înlătură
 - Se clătește gura cu ser fiziologic steril
 - Se inspiră profund și se tușește forțat pentru eliminarea sputei. ! Pacientul trebuie să fie instruit, astfel încât să ne ofere spută și nu salivă !
 - Pentru stimularea expectorației se poate efectua tapaj toracal ascendent sau instilație cu aerosoli.
 - Alte posibilități de recoltare a secrețiilor căilor respiratorii inferioare
 - lavaj sau aspirație traheală, bronșică
 - se evită contaminarea cu germeni aparținând florei normale
 - metodele se folosesc la pacienți tarați sau inconștienți, intubați
 - aspirație transtraheală
 - transfer pe medii de transport în unele cazuri (*S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*)
- **Examen microscopic: frotiu colorat Gram– obligatoriu!**
 - evaluarea calității produsului patologic: prezența leucocitelor, absența celulelor epiteliale indică faptul, că produsul patologic provine într-adevăr din căile respiratorii inferioare; prezența celulelor epiteliale (≥ 25 cel/câmp microscopic examinat cu obiectiv de 10x) reflectă contaminarea pp cu flora căilor respiratorii superioare, a cavității bucale
 - se continuă prelucrarea bacteriologică, numai în situația în care pp este de calitate bună! altfel se obțin rezultate eronate
 - se notează morfotipurile bacteriene prezente pe frotiu
- **Cultivare**
 - Geloză sângie: *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *S. aureus*, etc.
 - Geloză ciocolată: *Haemophilus influenzae*
 - MacConkey – enterobacterii, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.
 - Lowenstein-Jensen: *Mycobacterium tuberculosis*
 - Sabouraud: fungi
- **Incubare**
 - se face la 37°C, în atmosferă de CO₂ (24-48 de ore)



Identificare

- *S. pneumoniae*: se urmăresc coloniile alfa hemolitice crateriforme caracteristice pe mediul geloză sânge – pentru confirmare se testează sensibilitatea față de optochină, bilă; se efectuează antibiogramă
- *Moraxella catarrhalis*: pe geloză sânge apar colonii oxidazo-pozitive, care alunecă pe suprafața mediului; sunt tulpini producătoare de DN-ază; se testează producerea de beta-lactamază
- *Haemophilus influenzae*: colonii ca picătura de rouă pe geloză ciocolată, lipsa creșterii acestora pe geloză sânge, fenomenul de satelitism; stabilirea speciei pe baza necesității factorilor X,V; se testează producerea de beta-lactamază, se poate efectua antibiogramă
- *Pseudomonas aeruginosa*: colonii lucioase, lactozo-negative pe mediul MacConkey, oxidazo-pozitive, pigmentate; se identifică prin creșterea pe mediul cu cetrimidă, creșterea la 44°C, producerea de pigment
- *Staphylococcus aureus* – colonii mari, cremoase cu hemoliză beta, manito-pozitive
- enterobacterii, Acinetobacter spp. – pe mediul MacConkey: colonii lactozo- pozitive sau -negative (nu sunt patogeni respiratorii obligați, se identifică numai în cazul în care cresc în cultură pură și există corelație cu examenul microscopic)
- fungi:
 - prezența câtorva colonii de Candida se ignoră (colonizare); se prelucrează numai dacă predomină sau este în cultură pură și rezultatul culturii corelează cu rezultatul examenului microscopic
 - fungii filamentoși prezenți în orice cantitate se vor identifica

Coprocultura

recoltarea materiilor fecale:

- emise spontan – se recoltează din zonele cu aspect patologic (mucus, sânge, puroi)
- cu sonda Nelaton – pentru izolare de la purtători

Orice produs recoltat, care nu poate fi înșămânțat în două ore este conservat la frigider (la 4°C, maximum 24 de ore), sau pe medii de transport (se recoltează în coprorecoltoare ce conțin medii de transport).

1. Examenul direct

a. macroscopic

se observă mirosul, culoarea, aspectul, prezența elementelor patologice

b. microscopic

nu se efectuează decât în cazuri speciale, la suspiciunea unei parazitoze, a etiologiei micotice, evidențierea leucocitelor și hematiilor în boli dizenterice

2. Înșămânțarea

pe medii de îmbogățire

pe medii selective pentru enterobacterii

- se efectuează o suspensie de materii fecale omogenizate în mediul de transport sau în ser fiziologic, din care se depun 2-3 picături pe placă, care se diseminează cu ansa;
- dacă produsul este recoltat pe tampon, acesta se descarcă pe mediu, apoi este diseminat cu ansa



- **Incubarea** se face la 37°C, 18-24 de ore în condiții de aerobioză, microaerofilie sau anaerobioză, în funcție de etiologia presupusă.

3. Identificare

de pe **mediile selective** se diferențiază coloniile lactozo pozitive de cele lactozo negative, care se izolează în cultură pură pentru orientarea diagnosticului în etapele următoare:

- la copil se repică minimum 3 colonii lactozo negative. Dacă nu există colonii lactozo negative, se repică minimum 10 colonii lactozo pozitive (E. coli enteropatogen este principala cauză de diaree bacteriană la copil)
- la adult se repică 3-5 colonii lactozo negative

se continuă identificarea pe **medii diferențiale** (MIU, TSI, Simmons)

încadrarea în specie se face și prin reacții de aglutinare

4. Antibiograma se efectuează pentru bacteriile izolate

Urocultura

Se recoltează pentru diagnosticul etiologic al infecțiilor urinare nespecifice:

- urina emisă spontan, dimineața, din jetul mijlociu
- prin sondă vezicală
- prin puncție suprapubiană

Transportul și examinarea se face în maximum 2 ore de la recoltare, altfel proba trebuie ținută la frigider, la 4°C.

1. Examenul direct microscopic

se face un frotiu colorat Gram, din sedimentul urinar, obținut prin centrifugare;

indicații:

- triajul de calitate al probelor – mai mulți germeni indică o contaminare la recoltare, nu se mai efectuează urocultura
- aprecierea piuriei – indicată de prezența leucocitelor
- selectarea probelor pentru urocultura cantitativă – se elimină cele care au mai puțin de 14 leucocite/ml și microorganisme absente pe frotiu
- argumentarea diagnosticului de candidoză urinară – evidențierea blastosporilor

2. Însămânțare

- pe geloză sânge
- pe medii slab selective (Leifson) pentru diferențierea bacteriilor Gram negative

Urocultura cu ansă calibrată

- se diluează proba de urină (0,1 ml de urină cu 10 ml apă distilată)
- se însămânțează cu ansa calibrată de 0,01 ml pe geloză sânge și Leifson
- se incubează, la 37°C
- se numără coloniile obținute și se calculează numărul de germeni/ml (unități formatoare de colonii, UFC)
- interpretarea rezultatelor



- sub 10^3 UFC-se recomandă repetarea, în cazuri bine alese
- între 10^3 - 10^5 UFC/ml – se recomandă repetarea
- peste 10^5 UFC/ml - infecție urinară

Incubarea se face 18-24 de ore la 37°C , în aerobioză

3. Identificare

pe geloză sânge și medii diferențiale

- colonii S, alb-cenușii, cu sau fără hemoliză, cu colonii lactozo pozitive pe medii diferențiale – se continuă identificarea pentru enterobacterii (*E. coli*, *Klebsiella* spp.)
- colonii S, mici, transparente, cu sau fără alfa hemoliză, fără creștere pe medii diferențiale – se continuă identificarea pentru *Enterococcus faecalis*
- colonii S, mari, pigmentate, cu hemoliză beta, cu creștere slabă pe medii diferențiale – se continuă identificarea pentru *Staphylococcus aureus*

4. **Antibiograma** se efectuează pentru orice germeni izolat

Puroiul

exudat fibrinos care conține leucocite, resturi celulare și microorganismele determinante; varietatea situsurilor anatomice implică o varietate a produselor patologice și a agenților etiologici;

prelevarea probelor

trebuie să fie corectă, frecvent fiind unică și irepetabilă
prelevări biopsice,
prelevări cu tamponul,
prelevări din colecții purulente prin aspirare,
prelevare din fistule (chiuretarea traiectului fistulos)

1. Examenul macroscopic

culoare, consistență, mirosul

examenul microscopic

frotiu colorat Gram - descriem:

prezența și c.m.t. ale bacteriilor (1 bacterie/frotiu = 10^5 UFC/g de țesut)
prezența leucocitelor

2. cultivare

pe geloză sânge, și pe un mediu cu selectivitate joasă (de ex. ADCL, MacConkey) – stafilococi, enterococi, enterobacterii, ș.a.

pe geloză chocolate: hemofili, gonococi din puroiul articular:

în bulion Schaedler, bulion VF, geloză Schaedler - bacterii anaerobe (!prelevare)

pe mediul Sabouraud – fungii

3. identificare

în funcție de cc, cmt se continuă identificarea de gen, specie



Secreția vaginală

Se examinează pentru identificarea infecțiilor

- bacteriene (Neisseria - gonoree, Chlamidia, Str. agalactiae - portaj)
- fungice (Candida)
- parazitare (Trichomonas)

Recoltarea

- Se face cu ajutorul a 2 bețișoare sterile
- Se șterg pereții vaginali și fundul de sac posterior și anterior
 - Proba 1 se introduce într-o eprubetă cu 1 ml ser fiziologic pentru microscopie
 - Proba 2 se folosește pentru cultivare

Hemocultura

Hemocultura – metoda de cultivare a bacteriilor din sânge. Sângele este lipsit de bacterii în mod normal.

Se efectuează pentru:

- identificarea infecțiilor în care bacteriile se răspândesc prin sânge
- (septicemie, bacteriemie)
- identificarea infecțiilor fungice generalizate
- diagnosticul endocarditelor
- efectuarea antibiogramei

Recoltarea

- Recoltarea se face obligatoriu înaintea instituirii tratamentului AB, în timpul episoadelor de frison (bacteriile sunt eliberate în sânge în număr mare)
- Recoltarea sângelui se face după asigurarea măsurilor de asepsie locală pentru prevenirea contaminării probei.

Metodă

- Se recoltează 10-30 ml sânge venos (2-10 ml la copii)
- Sângele recoltat se introduce în 2 recipiente cu medii de cultură: unul pentru cultivarea germenilor aerobi și unul pentru anaerobi
- Uneori se poate recolta sânge din mai multe vene pentru a crește șansa de identificare a microorganismelor.

Incubarea se face 18-24 ore la 37°C

Identificarea

Se caută modificări privind opacitatea, culoarea, hemoliza, formarea de gaz, apariția coloniilor bacteriene

În cazul hemoculturilor pozitive vor apărea modificări de obicei în maxim 48 ore

În continuare identificarea speciilor bacteriene se face prin



- subcultivări pe medii specifice: geloză sânge (Staphylococcus), geloză-chocolat (Neisseria, Haemophilus), McConkey sau geloză lactozată (enterobacterii)
- evidențierea c.m.t, c.c., c.bio

Identificarea infecțiilor fungice necesită o perioadă mai îndelungată (7-10 zile)

Pentru a putea da un rezultat negativ, trebuie ca timp de 7 zile de incubare să nu apară nici o colonie

Infecții nosocomiale (IN)

Definiție

IN sau infecțiile spitalicești sunt acele infecții care apar în cursul spitalizării, după 48-72 de ore de la internare. Pacientul în momentul internării nu se găsește în perioada de incubație a unei boli infecțioase.

Cele mai frecvente tipuri de IN:

- infecții urinare, pneumonie, diaree
- infecțiile postchirurgicale sau apărute după manevre invazive
- infecțiile materne și ale nou-născutului

Factori care favorizează apariția IN:

- aglomerarea
- imunitatea scăzută a pacienților spitalizați (prin vârstă, boli, tratamente)
- metode invazive
- apariția de noi germeni
- prezența germenilor multirezistenți

Germenii care cauzează IN provin:

- din flora pacientului (infecții endogene)
- de la personalul sanitar (cross-contamination)
- instrumentar contaminat, mediu (infecții exogene)

Impactul IN:

Impactul IN asupra pacientului:

- disabilitate funcțională
- stres emoțional
- sechele funcționale durabile
- deces

Impactul IN asupra bugetului spitalelor: creșterea costurilor datorită

- creșterii duratei de spitalizare
- necesității unei medicații scumpe
- necesității investigațiilor suplimentare

Prevenirea IN

Prevenirea unor IN este posibilă prin strategii relativ necostisitoare, dar care presupun capacitate organizatorică foarte bună și disciplină profesională. Elementele cheie:



- aderența la protocoalele de prevenire ale IN, în special privind igiena mâinilor și purtarea echipamentelor de protecție
- asigurarea posibilității izolării pacienților colonizați/infectați cu germeni cu potențial nosocomial crescut
- atenție la procedeele de decontaminare, dezinfecție a instrumentarului urmat de sterilizare corespunzătoare, curățirea suprafețelor contaminate
- îmbunătățirea siguranței în sălile de operație, în zonele cu risc crescut

Germeți cu potențial nosocomial crescut, mai frecvent implicați în IN

Staphylococcus aureus, *S. aureus* metilino-rezistent (MRSA):

- Sursă: flora personalului, pacienți colonizați/infectați, mediul contaminat
- Transmitere: contact direct, transmiterea de la un pacient la altul prin intermediul mâinilor personalului (cel mai frecvent)
- Măsurile de prevenire: igiena corectă a mâinilor, decolonizarea purtătorilor, izolarea pacienților infectați/colonizați
- Particularități MRSA:
 - o germen multirezistent
 - o într-o primă etapă are loc colonizarea cu MRSA, aceasta fiind favorizată de tratamentele cu cefalosporine (inactive asupra MRSA); poate fi urmată sau nu de infecție
 - o răspândire clonală (implicarea aceleiași tulpini și a descendenților sale în infecții, vehiculate de personal)
 - o determinarea clonalității este posibilă prin tipizare moleculară PFGE (pulsed field gel electrophoresis), tipizare MLST (multilocus sequence typing), tipizare *spa*, etc.

Stafilococi coagulazo-negativi (SCN)

- Sursă: flora normală a pacientului
- Factori de risc pentru IN cu SCN: imunosupresie, aplicarea diverselor catetere (material plastic pe suprafața cărora se formează biofilm, favorizând multiplicarea SCN și asigurând poarte de intrare în organism)

Enterococcus spp. (*E. faecium*, *E. faecalis*)

- Sursă: flora intestinală a pacientului, a personalului
- Transmitere de la pacient la pacient
- Factori favorizanți: tratamentele cu cefalosporine (inactive asupra enterococilor)
- Importanță crescută: enterococ vancomicino-rezistent (VRE) – larg răspândit în SUA, emergent în Europa; nu s-a detectat încă prezența VRE în zona noastră;
 - o Răspândire policlonală (datorită posibilității transferului orizontal a genei de rezistență de la o tulpină la alta) sau clonală

Enterobacterii

E. coli, *Klebsiella pneumoniae*, Enterobacter spp, *Serratia marcescens*, etc., în special tulpinile multirezistente, producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE)

- Sursă: flora intestinală a pacientului, a personalului, mediul contaminat
- Factori favorizanți ai răspândirii tulpinilor rezistente producătoare de BLSE: consumul local crescut de cefalosporine cu spectrul larg (de generația III, IV) –



reducerea frecvenței IN cauzate de acești germeni: scăderea consumului acestor antibiotice

- Răspândire policlonală – posibilitatea transmiterii orizontale a genei de rezistență – sau clonală

Pseudomonas aeruginosa

- Sursă: mediul înconjurător (medii umede), flora pacientului, a personalului
- Ușurință foarte mare în dezvoltarea rezistenței (scăderea permeabilității, mecanism de eflux, enzime inactivatoare) în prezența antibioticelor – apariția rezistenței în cursul tratamentelor, care afectează deodată mai multe clase de antibiotice; tulpini MDR (multidrug resistant)
- Infecții foarte grave; septicemia cu *P. aeruginosa* prezintă cea mai mare rată de mortalitate

Acinetobacter spp.

- Sursă: mediul înconjurător, flora pacientului
- Frecvent multirezistenți; în urma tratamentelor antibiotice prelungite înlocuiesc flora normală a organismului;

Legionella pneumophila

- Sursă: mediul contaminat (sistem de aer condiționat)
- Transmitere prin aer; nu se transmite de la pacient la pacient

Clostridium difficile

- Sursă: flora intestinală a pacientului, personalului, mediul contaminat
- Transmitere fecal-orală
- IN favorizată de tratamente antibacteriene (cefalosporine, clindamicină, etc.)

Tipizarea bacteriilor

Scop: stabilirea sursei unei epidemii, caracterizarea unor bacterii pentru cunoașterea originii, evoluției lor.

Metode:

1. fenotipice
 - a. determinarea antibiotipului – stabilirea fenotipurilor de rezistență, a pattern-ului de rezistență (valoare orientativă)
 - b. lizotipia – determinarea sensibilității față de diverși bacteriofagi (dezavantaj: unele bacterii/tulpini sunt netipabile prin această metodă)
2. moleculare:
 - a. compararea fragmentelor de macrorestricție ale genomului bacterian total (amprentare genomică) prin PFGE (pulsed field gel electrophoresis)
 - i. putere discriminatorie mare, stabilirea clonalității
 - ii. potrivit pentru investigarea tulpinilor circulante într-un spital, zonă geografică
 - iii. permite analiza filiației tulpinilor (dendrograme)
 - iv. nu permite crearea de baze de date, comparabilitate interlaboratoare redusă
 - b. MLST – multilocus sequence typing



- i. Metodă bazată pe secvențiere – se stabilesc alele ale 7 gene housekeeping, pe baza cărora se definesc tipuri de secvență
 - ii. Putere discriminatorie mai mică decât PFGE, dar suficient de mare pentru a fi o metodă potrivită pentru urmărirea în timp a evoluției bacteriene (algoritm eBURST)
 - iii. Permite stabilirea de baze de date internaționale, compararea tulpinilor circulante în diverse zone geografice
- c. Alte metode bazate pe determinarea secvenței unor gene (spa, agr, etc)
 - d. RFLP (restriction fragment length polymorphism)
 - e. AFLP (amplified fragment length polymorphism)