

Mic atlas de microbiologie

- Materialul a fost realizat în cadrul proiectului VIZUAL-LIFE
obținut prin competiția “Fii în centru!” organizată de
Universitatea Transilvania din Brașov

Diana Puiu

CUPRINS

I. Introducere

Grila I

II. Noțiuni de bacteriologie generală

II.1 Noțiuni de microscopie

Grila II.1

II.2 Preparate microscopice

Grila II.2

II.3. Medii de cultură

Grila II.3

II.4 Antibiotograma

Grila II.4

III. Noțiuni de bacteriologie medicală

III.1 Genul Staphylococcus

Grila III.1

III.2 Genul Streptococcus

Grila III.2

III.3 Genul Enterococcus

Grila III.3

III.4 Genul Neisseria

Grila III.4

III.5 Familia Enterobacteriaceae

Grila III.5

III.6 Genul Pseudomonas

Grila III.6

IV. Bibliografie

I. INTRODUCERE

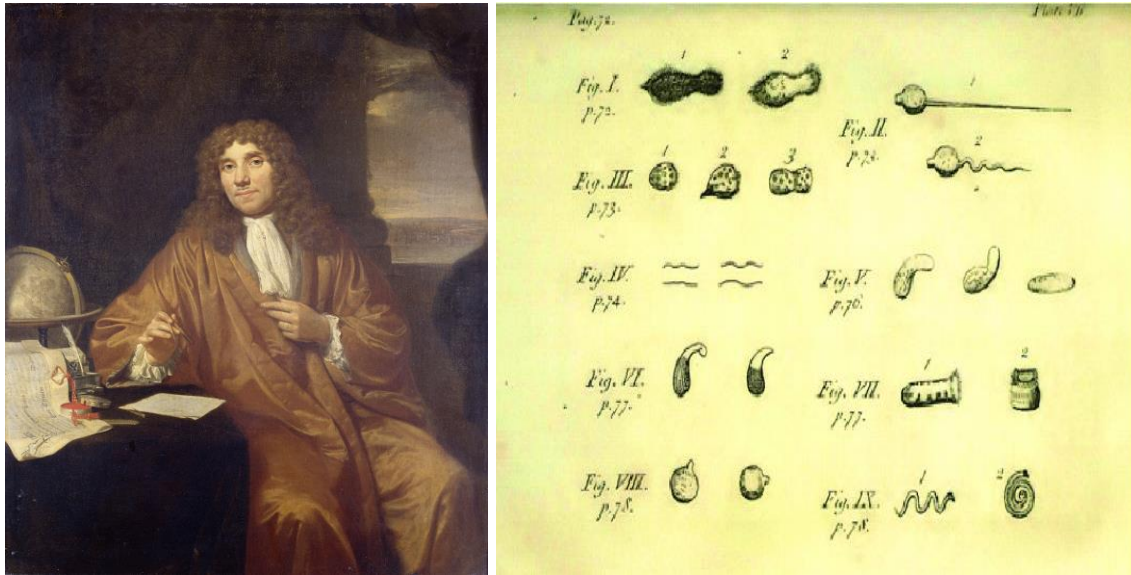
Cauzele bolilor infecțioase au constituit preocupări constante ale oamenilor de știință încă din antichitate. Teoriile idealiste erau dominante dar au existat și germeni ai gândirii materialiste în această perioadă. Astfel, **Aristotle** a formulat „**teoria generațiilor spontane**” ce avea la bază ideea conform căreia organismele mici (mucegaiuri, viermi) iau naștere din materia organică aflată în descompunere. Multe secole, lumea s-a bazat pe această teorie incorectă contestată ulterior de către naturalistul italian Francesco Redi și infirmată de savantul francez Louis Pasteur.

În anul **1590**, a fost construit primul microscop de către **Zacharias** și **Hans Janssen**, șlefuitori de lentile din Middleburg, Olanda, acesta fiind primul pas important spre înțelegerea lumii microbiene și spre studiul, pe baze științifice, a morfologiei și structurii bacteriene.



1. Zacharias Janssen (1585-1632) - primul microscop

În **1673**, un tehnician din Delft, Olanda, **Anton van Leeuwenhoek**, analizând microscopic probe din apa de ploaie, materii fecale și alte produse a desenat și descris o mare varietate de specimene vii pe care le numea "**animalcule**" incluse în 165 scrisori trimise în decurs de 50 de ani Societății Regale din Anglia, devenind astfel membru al Academiei Regale din Londra.



2. Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) – primele descrieri ale microorganismelor (protozoare, bacterii, levuri)

Primul cercetător care a reușit să infirme „teoria generațiilor spontane” a lui Aristotle a fost savantul francez **Louis Pasteur** (1822-1895) considerat în prezent părintele microbiologiei. Acesta demonstrează, pe baza experimentelor, „**teoria germenilor**” prin care susține relația directă de cauzalitate între microorganisme și infecțiile pe care le produc.



3. Louis Pasteur (1822-1895) – părintele microbiologiei

Pe lângă importanta teorie pe care o demonstrează, Louis Pasteur a definit conceptul de **asepsie** și a propus **modul de lucru aseptice în medicină**, a propus proceduri ca **pasteurizarea** și **sterilizarea cu aer cald în cuptorul Poupinel** pentru reducerea sau eliminarea încărcăturii microbiene dintr-un substrat. Louis Pasteur a fost preocupat de prepararea de **vaccinuri**, primul vaccin propus fiind cel **antirabic** în anul **1885**.

Un alt cercetător care a lăsat o amprentă importantă asupra acestui domeniu a fost **Robert Koch** (1843-1910) considerat astăzi „**părintele școlii germane de microbiologie**”. Cercetările în domeniul microbiologiei au avut drept obiective optimizarea metodelor de fixare și colorare a bacteriilor în vederea identificării acestora, analizarea condițiilor de cultivare *in vitro* și introducerea unor metode noi de cultivare care permit obținerea de culturi pure. Robert Koch a introdus **frotiul** în practica microscopică și a cultivat *in vitro* bacterii pe medii de cultură solide utilizând pentru prima dată **agarul** ca **agent de solidificare**. A studiat agenții **antraxului**, **tuberculozei**, **holerei**, **infecțiilor de plagă**, etc. Cercetările asupra tuberculozei au permis formularea postulatelor ce îi poartă numele și i-au adus premiul Nobel pentru Medicină și Fiziologie în anul 1905.

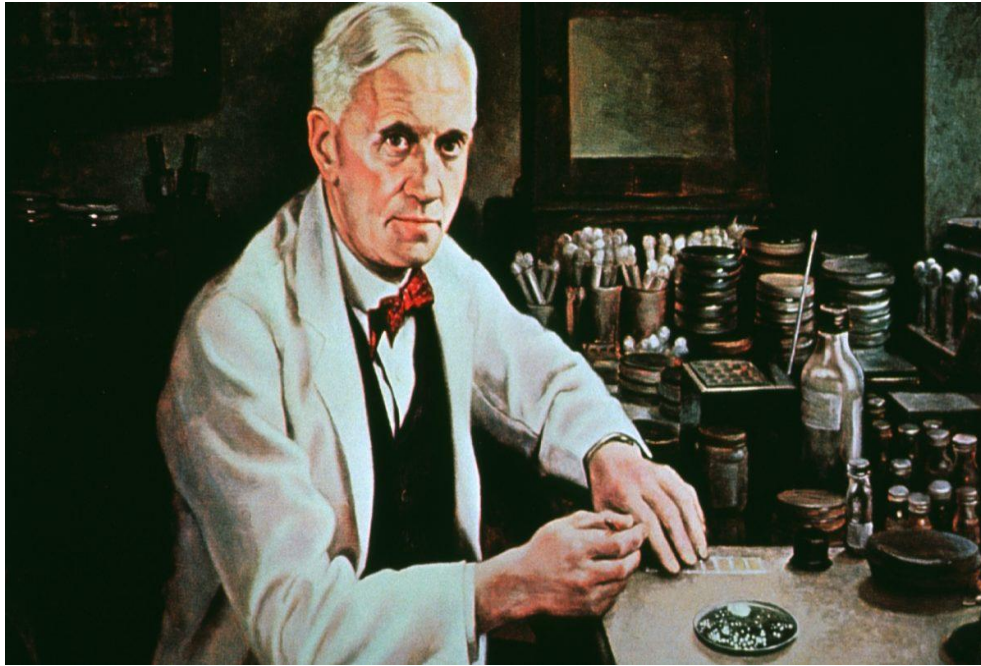


4. Robert Koch (1843-1910)

Un cercetător a cărui activitate a condus la marcarea unui moment esențial în terapia bolilor de etiologie bacteriană a fost **Alexander Fleming** (1881-1955). El este cunoscut pentru descoperirea penicilinei, sintetizată de fungii *Penicillium notatum*, care a deschis era antibioticelor.

Mic atlas de microbiologie

Descoperirea lui Alexander Fleming a fost valorificată prin munca unor echipe de cercetare care au testat toxicitatea și activitatea bactericidă a penicilinei și au inițiat sinteza chimică pentru producția largă și introducerea în terapia infecțiilor umane. Principalele contribuții în această direcție au fost ale cercetătorilor Ernst Boris Chain (1906-1979) și Howard Walter Florey (1898-1968) care au obținut, alături de Alexander Fleming, premiul Nobel pentru Medicină și Fiziologie în anul 1945.



5. Alexander Fleming (1881-1955)



6. Cultura mixtă - bacteriană și fungică (Penicillium)

GRILA I

- 1) Cine a inventat primul microscop?
 - a) Hans Jensen si Zacharias
 - b) Alexander Fleming
 - c) Robert Koch
 - d) Louis Pasteur
- 2) Cine a introdus ideea de aseptie?
 - a) Alexander Fleming
 - b) Hans Jensen si Zacharias
 - c) Louis Pasteur
 - d) Robert Koch
- 3) Ce a descoperit Alexander Fleming?
 - a) Vaccinul
 - b) Penicilina
 - c) Vancomicina
 - d) Tetraciclina
- 4) Cine a formulat teoria „generațiilor spontane”?
 - a) Platon
 - b) Socrate
 - c) Democrit
 - d) Aristotle
- 5) Cine a descris primele microorganisme?
 - a) Aristotle
 - b) Robert Koch
 - c) Antoni van Leeuwenhoek
 - d) Alexander Fleming

II. NOȚIUNI DE BACTERIOLOGIE GENERALĂ

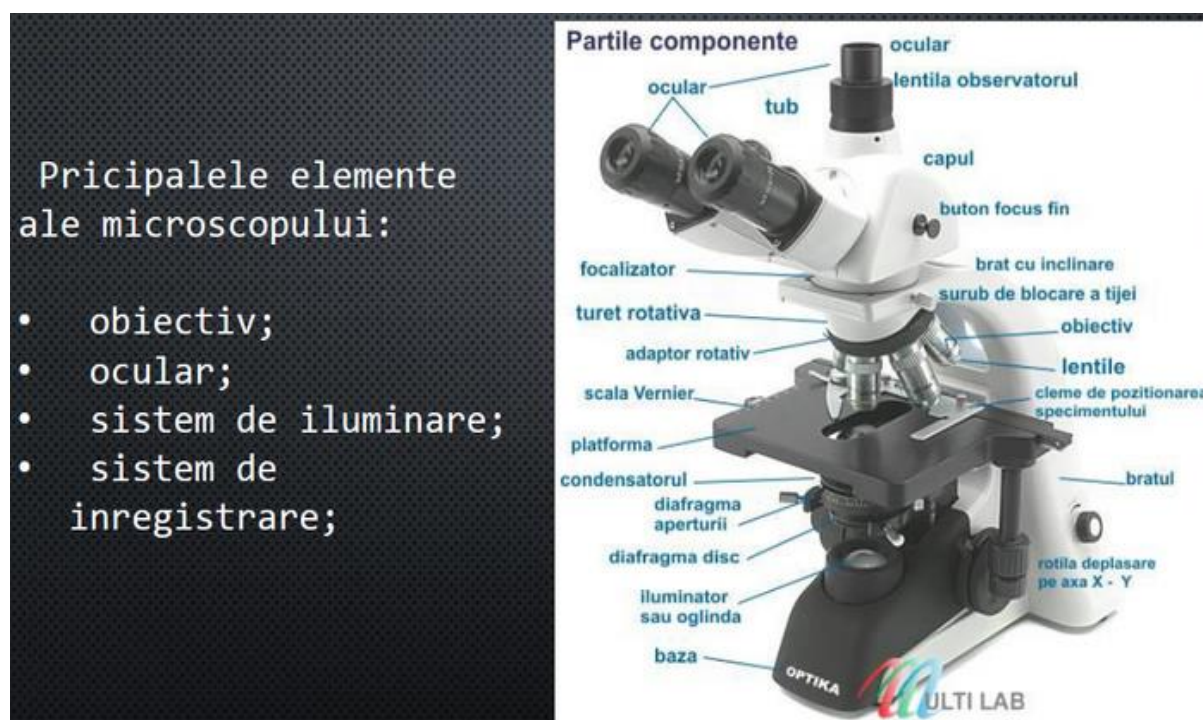
II.1 Noțiuni de microscopie

Microscopia reprezintă o activitate esențială în laboratorul de microbiologie, observarea microorganismelor nefiind posibilă înainte de descoperirea acestui instrument optic.

În prezent, construcția și performanțele microscopelor au înregistrat progrese importante, principalele categorii fiind microscopul optic și microscopul electronic.

Microscopul folosit în laborator are o putere de mărire care variază între 40 și 1000 ori putându-se ajunge până la 1500 sau 2000 ori. Pentru a obține o imagine mărită, lumina are un traseu liniar trecând printr-o serie de lentile care amplifică obiectul până la limita vizibilității cu ochiul uman. Sistemul de lentile al microscopului constă într-un obiectiv, un ocular, mecanisme de focusare a imaginii și mecanisme de poziționare a specimenului.

În laboratoarele de bacteriologie, microscopul optic este folosit pe scară pentru observarea caracterelor morfologice ale bacteriilor prezente în produse biologice prelevate de la pacienți sau în culturile obținute *in vitro*.



7. Părțile componente ale unui microscop optic

GRILA II.1

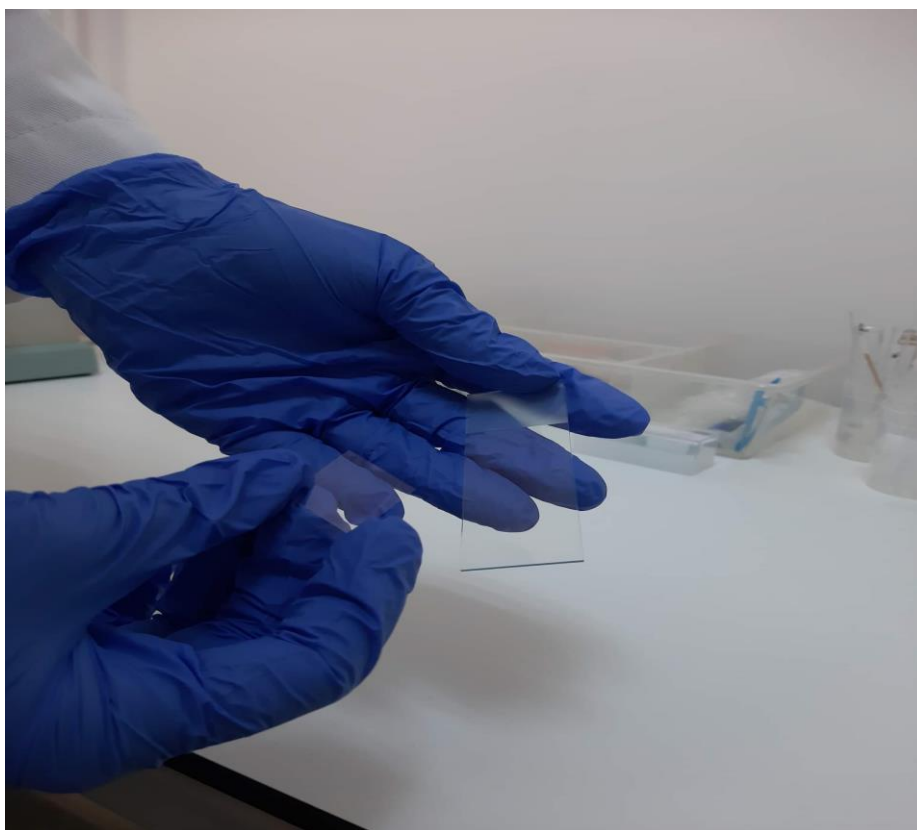
- 1) Care sunt principalele elemente ale microscopului?
 - a) Obiectiv
 - b) Ocular
 - c) Sistem de iluminare și de înregistrare
 - d) Toate de mai sus
- 2) Care este categoria de microscopie folosită mai frecvent în practica medicală?
 - a) Optice
 - b) Electronice
 - c) Ambele
 - d) Niciuna de mai sus
- 3) Pentru ce este utilizat microscopul optic?
 - a) Examinarea caracterelor morfologice bacteriene
 - b) Examinarea coloniilor bacteriene
 - c) Examinarea ultrastructurii bacteriene
 - d) Toate de mai sus
- 4) Care este puterea măritoare a microscopului optic folosit des în bacteriologie?
 - a) Microscopic nu are putere măritoare
 - b) 3 ori
 - c) 40-1000 ori
 - d) Niciuna de mai sus
- 5) Care este obiectivul care permite examinarea microscopică cu imersie?
 - a) x10
 - b) x20
 - c) x40
 - d) x100

II2. Preparate microscopice

Preparatele microscopice folosite în bacteriologie sunt **preparatul nativ** și **frotiul**.

Preparatul nativ este preparatul care se realizează între lamă și lamelă fiind proaspăt, umed, necolorat. Acest tip de preparat se examinează cu obiective x10, x20 sau x40 fiind utilizate mai mult în parazitologie sau micologie.

Tehnica efectuării preparatului nativ constă în mai multe etape. **Prima etapă** constă în punerea unei cantități mici din produsul patologic pe o lamă sterilă. Dacă produsul este lichid, se pune ca atare iar dacă este solid, se dizolvă într-un diluent având grijă ca amestecul să fie omogen și să rămână în centrul lamei. **Ultima etapă** constă în aplicarea peste produsul aplicat pe lamă a unei **lamelle** din sticlă care se aplică inițial cu o latură, se înclină la 45° și se lasă să cadă ușor peste preparat.



8. Lamă și lamelă

Frotiul este un preparat fixat permanent și colorat. În practica bacteriologică colorația folosită de rutină este colorația **Gram**.

Frotiul se prepară în 3 etape. **Prima etapă** constă în **etalarea frotiului** care diferă, ca și tehnică, în funcție de tipul produsului patologic (produsul este întins într-un strat cât mai subțire cu ansa bacteriologică, ca atare sau după diluare). **A doua etapă** constă în **uscarea frotiului** care se lasă pe masă acoperit parțial cu capacul unei plăci Petri. **A treia etapă** constă în **fixarea frotiului** care se face de rutină prin expunere la **căldură** (trecere prin flacăra becului Bunsen). După preparare, se trece la **colorarea frotiului**.

Colorarea frotiului cu colorația **Gram** se realizează în 4 etape. **Prima etapă** este **colorarea** care constă în punerea unei lame cu un frotiu fixat pe un suport de lame și acoperirea frotiului cu soluție de violet de gențiană 1% care se lasă să acționeze 1-2 minute. A doua etapă este **fixarea frotiului** și presupune turnarea peste frotiu de soluție iodo-iodurată Lugol care se lasă să acționeze 2-3 minute. **A treia etapă** este **decolorarea**, când se toarnă peste frotiu un amestec decolorant format din alcool și acetonă (3:1 - 5:1), până când lichidul care se scurge de pe lamă devine incolor. **A patra etapă** este **recolorarea**, etapă în care se pune iar lama pe suport, se acoperă frotiul cu o soluție de fucsină bazică 1% diluată 1/10 cu apă distilată, se așteaptă 1-2 minute, se spală lama cu apă de robinet, se lasă frotiul să se usuce pe un stativ apoi se examinează la microscopul optic, cu ulei de imersie folosind obiectivele x90 sau x100.

Bacteriile **Gram pozitive** apar **violet** iar cele **Gram negative**, **roșu pal**.



9. Frotiuri colorate Gram

GRILA II.2

- 1) Care este prima etapă a preparării frotiului?
 - a) Uscarea frotiului
 - b) Fixarea frotiului
 - c) Etalarea frotiului
 - d) Colorarea frotiului
- 2) Ce tip de preparat este frotiul?
 - a) umed
 - b) necolorat
 - c) fixat
 - d) proaspăt
- 3) Ce caracteristică corespunde preparatului nativ?
 - a) este uscat
 - b) este colorat
 - c) se întinde cu ansa pe lamă în strat cât mai subțire
 - d) se face între lamă și lamelă
- 4) Cu ce soluție se face fixarea frotiului în colorația Gram?
 - a) Albastru de metilen
 - b) Violet de gențiană
 - c) Soluție Lugol
 - d) Fucsină bazică
- 5) Care este culoarea bacteriilor Gram pozitive?
 - a) albastru
 - b) violet
 - c) roșu palid
 - d) Niciuna de mai sus

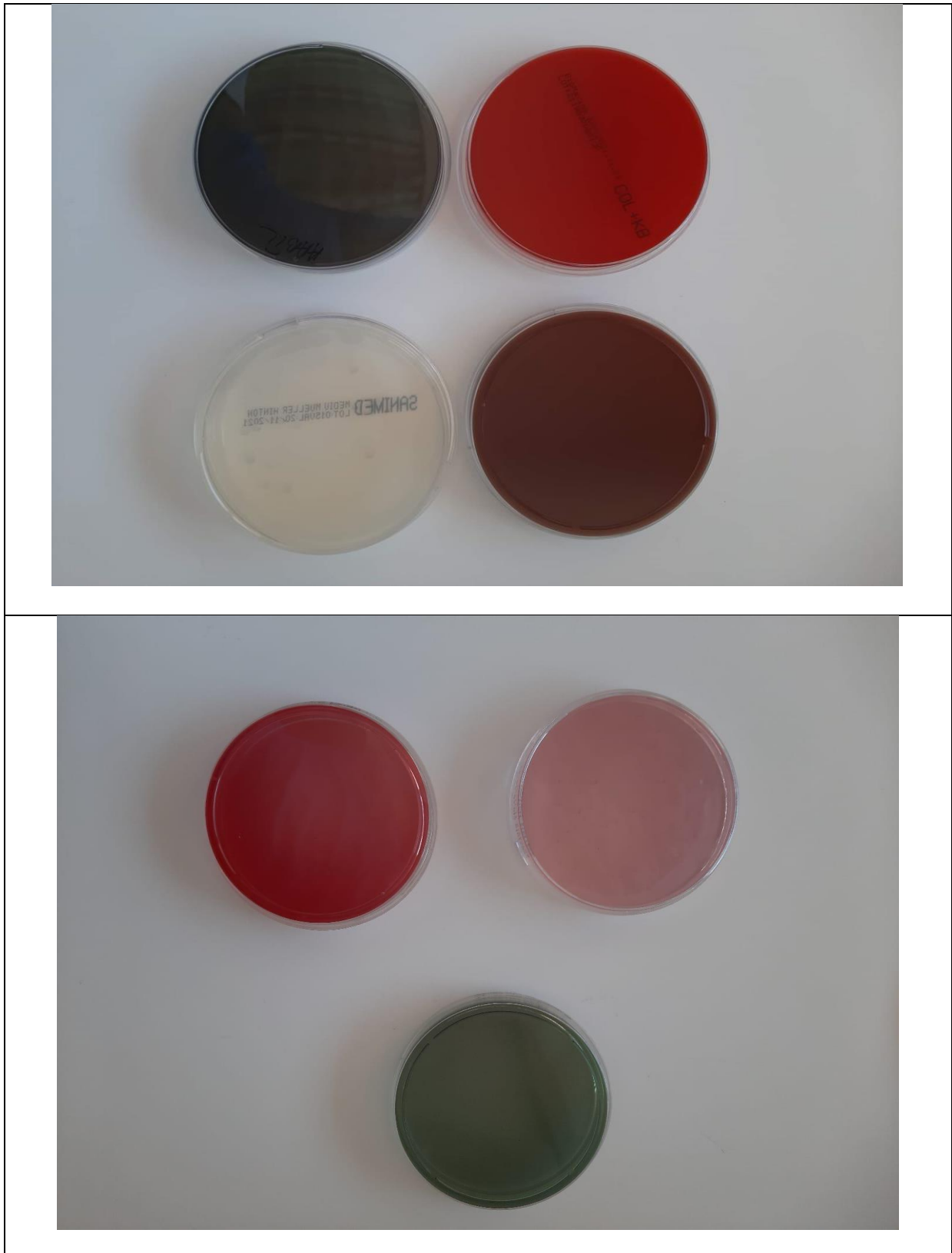
II.3 Medii de cultură

Mediile de cultură sunt **substraturi solide, semisolide sau lichide**, în / pe care pot fi cultivate **bacterii în vitro**. Mediile folosite pentru bacterii se numesc **medii acelulare**.

Mediile de cultură se clasifică în funcție de mai multe criterii dar cea mai importantă clasificare se referă la utilizarea acestora.

După scopul utilizării, mediile de cultură se împart în:

- 1) **Medii de izolare**: sunt mediile pe care sunt însămânțate produsele recoltate de la pacient în vederea obținerii unei culturi bacteriene. După mecanismele prin care contribuie la izolarea bacteriilor, se împart în 3 categorii:
 - a) **Medii elective**: conțin nutrienți care **favorizează dezvoltarea unei specii bacteriene în defavoarea altora** astfel reușindu-se izolarea speciei potențial agent al infecției excluzându-se bacteriile din flora normală.
 - b) **Medii selective**: conțin un agent antimicrobian ce **omoră bacteriile** din flora normală și **nu afectează** specia potențial patogenă.
 - c) **Medii de îmbogățire**: conțin agenți selectivi și electivi, fiind **favorizată** dezvoltarea bacteriei potențial patogenă, bacteriile din flora normală fiind **inhibate sau excluse**.
- 2) **Medii de transport**: permit **păstrarea bacteriilor** fără alterarea proprietăților acestora pe **perioade scurte de timp**.
- 3) **Medii de conservare**: permit **păstrarea bacteriilor** fără alterarea proprietăților acestora pe **perioade lungi de timp** (săptămâni, luni, ani)
- 4) **Medii diferențiale**: permit stabilirea genului sau speciei bacteriene și conțin un substrat (o proteină, un glucid, o substanță chimică) ce suferă modificări datorate metabolismului bacterian.
- 5) **Medii cu destinație specială**: cel mai des utilizat este mediul Muller-Hinton folosit pentru antibiogramă.



10. Diferite medii de cultură aceluare (mediul Istrati-Meiert, geloză-sânge, mediul cromogen UTI, geloză-chocolat, mediul McConkey, mediul AABTL)

GRILA II.3

- 1) In câte categorii se împart mediile de izolare?
 - a) 2 categorii
 - b) 3 categorii
 - c) 4 categorii
 - d) 5 categorii
- 2) Pe ce perioadă de timp permit mediile de transport păstrarea bacteriilor?
 - a) Perioade lungi de timp
 - b) Perioade scurte de timp
 - c) Nu permit păstrarea bacteriilor
 - d) Toate variantele sunt greșite
- 3) Ce mediu se utilizează pentru efectuarea antibiogramei?
 - a) Geloză chocolat
 - b) Sabouraud
 - c) Geloză sânge
 - d) Muller-Hinton
- 4) Din ce categorie de medii fac parte mediile de îmbogățire?
 - a) De izolare
 - b) De transport
 - c) De conservare
 - d) Cu destinație specială
- 5) Ce conțin mediile electivă?
 - a) Anumiți nutrienți ce favorizează specia potențial patogenă
 - b) Anumiți nutrienți ce favorizează flora normală a produsului
 - c) Agenți antimicrobieni ce favorizează specia potențial patogenă
 - d) Agenți antimicrobieni ce favorizează flora normală a produsului

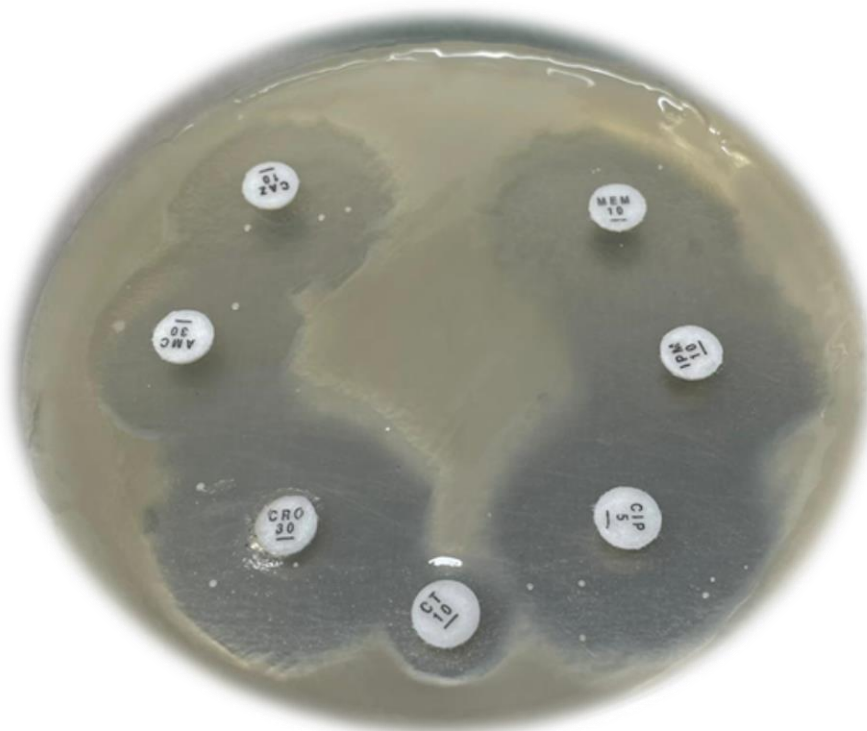
II.4 Antibiograma

Antibiograma este o tehnică folosită frecvent în laboratorul de microbiologie și este utilizată pentru a testa *in vitro* sensibilitatea sau rezistența bacteriilor care sunt potențiali agenți ai unor infecții la antimicrobiene din diferite clase. Aceasta reprezintă ultima etapă a diagnosticului bacteriologic, etapă fundamentală, fiindcă permite orientarea terapiei cu antibiotice.

Pentru efectuarea tehnicii, se utilizează un mediu lipsit de efecte antagonice cu antibioticele, **mediul Muller-Hinton** iar antibioticele testate sunt variabile în funcție de germenii izolați și sunt recomandate de ghiduri pentru antibiograme (CLSI, EUCAST).

Rezultatele antibiogramei se raportează utilizând calificative (S = sensibil, IS = intermediar sensibil, R = rezistent) referitoare la comportamentul *in vitro* al bacteriilor la antibioticele testate.

Pot fi detectate, tot prin intermediul acestei tehnici, unele fenotipuri speciale de rezistență (MRSA, ESBL, CRE, HLAR, VRE).



11. Antibiograma difuzimetrică la Enterobacteriaceae

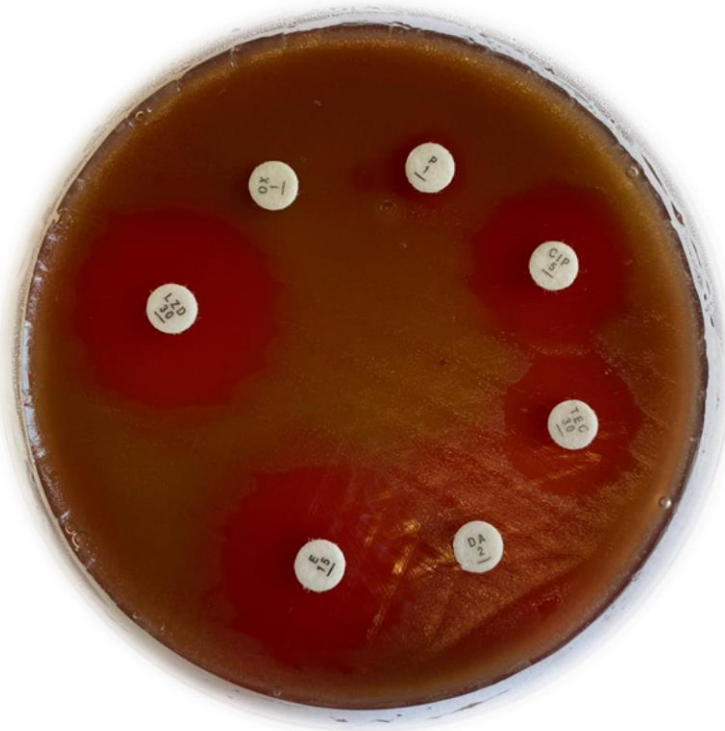


12. Antibiograma difuzimetrică la *Pseudomonas aeruginosa*



13. Antibiogramă difuzimetrică la *Staphylococcus aureus* MRSA

Pentru testarea sensibilității la substanțe antimicrobiene a speciilor bacteriene cu pretenții nutritive crescute, fastidioase, nu se poate utiliza mediul Muller-Hinton ca atare ci se adaugă în compoziția acestui circa 5% sânge de berbec pentru a-i crește valoarea nutritivă. Mediul Muller-Hinton este izoton cu sângele prin urmare acest lichid biologic poate fi adăugat în mediul folosit pentru antibiograma difuzimetrică a bacteriilor fastidioase: *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp.



14. . Antibiograma difuzimetrică la *Enterococcus* species

Dacă dotările laboratorului de analize bacteriologice permit, testarea sensibilității la antibiotice a bacteriilor izolate din produsele recoltate se poate realiza și prin metode cantitative, care permit și măsurarea CMI = concentrație minimă inhibitorie, mărin­d fiabilitatea rezultatelor.



15. Metoda microdiluțiilor pentru testarea la colistin (metodă cantitativă)



16. Metoda automată VITEK 2 COMPACT (metodă cantitativă)

GRILA II.4

- 1) Ce este adevărat referitor la antibiogramă?
 - a) Este rar folosită în laborator
 - b) Este prima etapă a diagnosticului bacteriologic
 - c) Permite testarea comportamentului bacteriilor față de antibiotice
 - d) Niciuna din cele de mai sus
- 2) Care este metoda semicantitativă de antibiogramă?
 - a) Metoda difuzimetrică
 - b) Metoda diluțiilor
 - c) Metoda automată
 - d) Niciuna
- 3) Care este ghidul pentru standardizarea antibiogramei?
 - a) CLSI
 - b) VRE
 - c) ESBL
 - d) Toate de mai sus
- 4) Care este fenotipul special de *Staphylococcus aureus*?
 - a) MRSA
 - b) CRE
 - c) HLAR
 - d) VRE
- 5) Care este un fenotip îngrijorător de rezistență la *Enterococcus*?
 - a) MRSA
 - b) VRE
 - c) ESBL
 - d) CRE

III. Noțiuni de bacteriologie medicală

III.1. Genul Staphylococcus

Ordinul: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Specii principale: Staphylococcus aureus

Morfologie: au diametrul de 0,8-1μm, sunt **coci sferici**, gram **pozitivi**, ce apar pe frotiuri izolați, grupați în diplo, în lanțuri scurte sau în „**ciorchine de strugure**”, nesporulați, incapsulați uneori.

Tip respirator: sunt aerobi, facultativ anaerobi.

Mobilitate: sunt imobili.

Pretenții nutritive: sunt reduse.

Cultivare „in vitro”: se dezvoltă pe medii aceluare.

Condiții optime: 30-37°C, aerobioză.

Rezistența la antibiotice: în spitale sunt de temut tulpinile MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus).

Răspândire: sunt ubicvitari.

Patogenitate: pot fi patogeni sau condiționat patogeni.

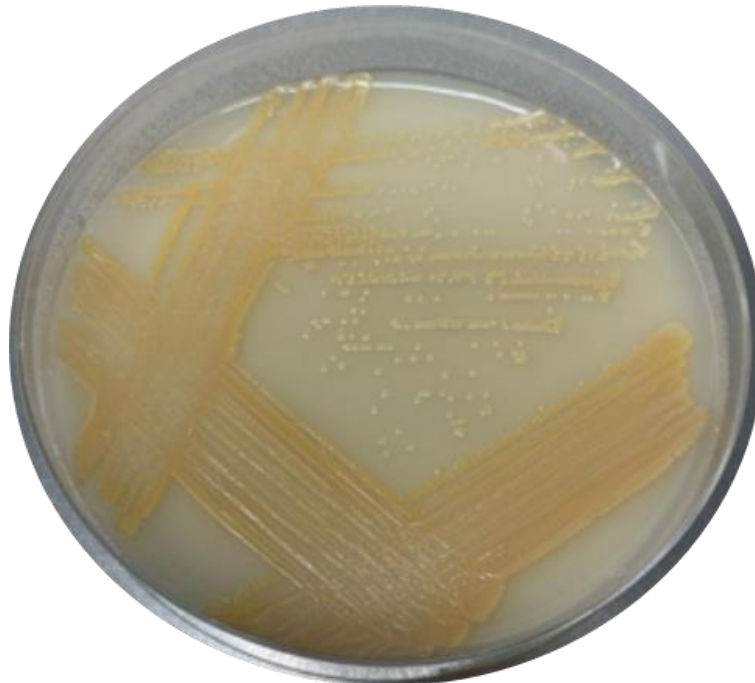
Caractere de cultură: coloniile sunt de talie medie, de 2-3 mm, cremoase, opace, albe la majoritatea speciilor, pigmentate în galben auriu la S. aureus.

Teste de identificare în laborator:

- *Identificare biochimică:* reacția catalazei (+ la genul Staphylococcus), reacția coagulazei (+ la S. aureus), fermentarea manitei (+ la S. aureus).
- *Identificare serologică:* teste de detecție a polizaharidului A, proteinei A, clumping factor.



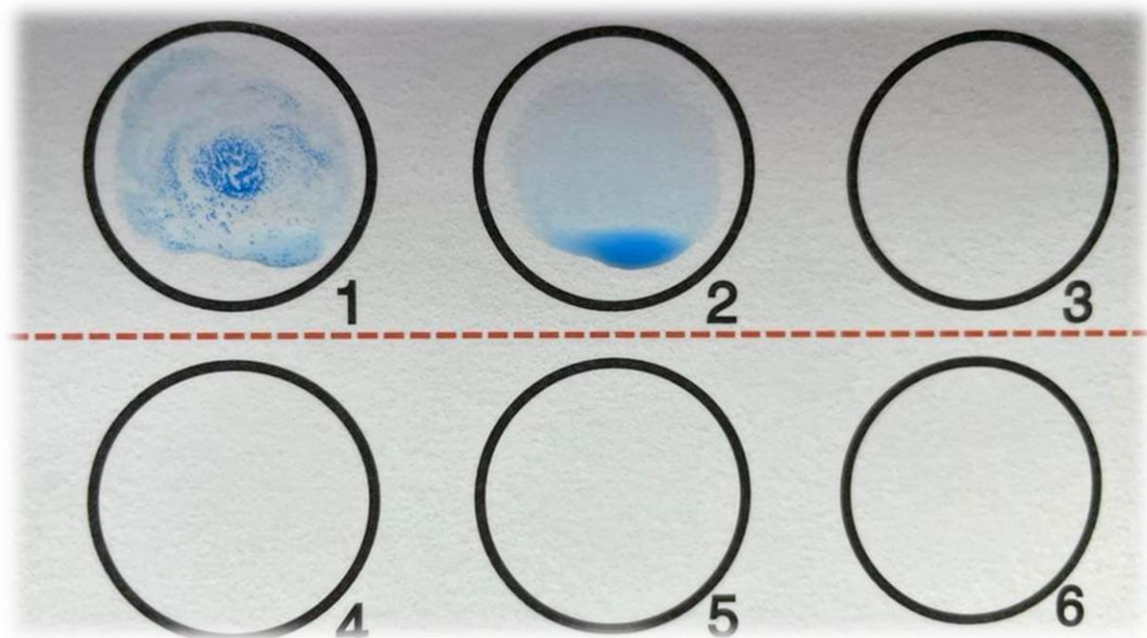
17. Cultură de *Staphylococcus aureus* pe geloză-sânge



18. Cultură de *Staphylococcus aureus* pe mediu cromogen



19. Culturi de *Staphylococcus* pe mediul selectivo-diferențial Chapman



20. Test de latexaglutinare pentru *S. Aureus*



21. Cultură de stafilococi coagulază negativi pe geloză-sânge



22. Cultură de stafilococi coagulază negativi pe mediu cromogen

GRILA III.1

- 1) Bacteriile din genul *Staphylococcus* sunt:
 - a) Bacili cu capete rotunjite
 - b) Coci sferici
 - c) Coci reniformi
 - d) Bacili cu capete retezate
- 2) Care este gruparea specifică a stafilococilor?
 - a) Pereche cu aspect de „bob de cafea”
 - b) Grămadă cu aspect de „ciorchine de strugure”
 - c) Nu se grupează
 - d) Răspunsurile „a” și „b” sunt corecte
- 3) Pigmentul speciei tip a genului *Staphylococcus* colorează coloniile în:
 - a) Alb
 - b) Brun roșcat
 - c) Roșu viu
 - d) Galben auriu
- 4) Este adevărat referitor la reacția coagulazei în cazul stafilococilor?
 - a) Este pozitivă la *S. aureus*
 - b) Este pozitivă la tot genul
 - c) Este negativă la *S. aureus*
 - d) Este negativă la tot genul
- 5) Coloniile de *Staphylococcus* sunt:
 - a) cremoase
 - b) vâscoase
 - c) mucoide
 - d) gelatinoase

III.2. Genul Streptococcus

Ordinul: Lactobacillales

Familia: Streptococcaceae

Specii principale: Streptococcus pyogenes

Morfologie: au diametrul de 0,8-1 μm , sunt **coci sferici sau ovalați, izolați** sau **grupați în diplo sau lanțuri**, gram **pozitivi**, nesporulați, uneori cu capsulă.

Tip respirator: sunt aerobi, facultativ anaerobi.

Mobilitate: sunt imobili.

Pretenții nutritive: sunt crescute.

Cultivare „in vitro”: este posibilă pe medii aceluare.

Condiții optime: 30-37°C, aerobioză sau 5-10% CO₂

Rezistența la antibiotice: S. pyogenes are sensibilitate 100% la antibiotice. Alte specii necesită antibiograma.

Răspândire: în anumite nișe ecologice.

Patogenitate: sunt patogeni sau condiționat patogeni.

Caractere de cultură: coloniile au dimensiuni foarte mici, chiar punctiforme, nehemolitice sau capabile să producă, în funcție de specie, pe mediile de cultură cu sânge, diferite tipuri de hemoliză:

- β -hemoliză: hemoliză circulară, totală (grupurile Lancefield A, C, G);
- α' -hemoliză: hemoliză circulară, incompletă, cu tentă verzuie (S. viridans, S. pneumoniae);
- α -hemoliză: hemoliză circulară, incompletă (unele specii din grupul B).

Teste de identificare:

- *Identificare biochimică / alte proprietăți:* reacția la bacitracină (+ la grupul A); testul CAMP (+ la grupul B), pigmentogeneza pe geloză Columbia (+ la grupul B), reacția la optochin (+ la S. pneumoniae).
- *Identificarea serologică:* teste (aglutinări) pentru stabilirea grupului serologic Lancefiels.



23. Cultură de *S. pyogenes* pe geloză-sânge și reacția la bacitracină



24. Cultură de *S. pneumoniae* pe geloză-sânge și testul la optochin

GRILA III.2

- 1) Bacteriile din genul *Streptococcus* sunt:
 - a) Coci sferici
 - b) Coci ovalari
 - c) Cocobacili
 - d) Bacili rotunjiți la capete
- 2) Din punct de vedere al proceselor de respirației, *Streptococcus* spp. sunt:
 - a) Strict aerobi
 - b) Strict anaerobi
 - c) Anaerobi aerotoleranți
 - d) Aerobi facultativ anaerobi
- 3) Sensibilitatea la penicilină a speciei *S.pyogenes* este de:
 - a) 50%
 - b) 100%
 - c) 20%
 - d) 10%
- 4) Coloniile de *Streptococcus* au de obicei dimensiuni:
 - a) De câțiva mm
 - b) De câțiva cm
 - c) Punctiforme
 - d) Nu se văd cu ochiul liber
- 5) Pentru *S. pneumoniae*, reacția la optochin este:
 - a) Pozitivă
 - b) Negativă
 - c) Nu se utilizează la acești germeni
 - d) Pot exista reacții încrucișate

III.3. Genul Enterococcus

Ordinul: Lactobacillales

Familia: Enterococcaceae

Specii principale: Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium

Morfologie: au dimensiuni de 0,8-1 μ m, sunt **coci ovalari izolați** sau **grupați în diplo sau lanțuri scurte**, nesporulați, necapsulați.

Tip respirator: sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi.

Mobilitate: sunt imobili.

Pretenții nutritive: sunt relativ crescute.

Cultivare „in vitro”: este posibilă pe medii aceluare.

Condiții optime: 30-37°C, aerobioză.

Rezistența la antibiotice: se recomandă monitorizarea în spitale a tulpinilor HLAR (High Level Aminoglycoside Resistant) și VRE (Vancomycin Resistant Enterococcus).

Răspândire: sunt germeni ubicvitari.

Patogenitate: sunt condiționat patogeni.

Caractere de cultură: formează colonii de dimensiuni medii, gri, apte de a produce pe medii cu sânge β -hemoliză, α -hemoliză sau colonii nehemolitice.

Teste de identificare:

- *Identificare biochimică / alte proprietăți:* de rutină se utilizează testul bilă-esculină bazat pe proprietatea de a se dezvolta în medii cu săruri biliare și pe faptul că enterococii pot hidroliza esculina.
- *Identificarea serologică:* teste (aglutinări) pentru stabilirea grupului serologic Lancefiels – se încadrează în grupul D.



25. Cultură de Enterococcus pe geloză-sânge



26. Testul bilă-esculină

GRILA III.3

- 1) Cum se grupează pe froiuri cocii din genul *Enterococcus*?
 - a) În diplo
 - b) În lanțuri
 - c) Variantele „a” și „b” sunt corecte
 - d) Nu se grupează
- 2) Cum se scrie corect denumirea științifică a speciei:
 - a) *Enterococcus Faecalis*
 - b) *Ent. faecalis*
 - c) *Enterococcus faecalis*
 - d) *Enterococ fecal*
- 3) Din ce grup serologic Lancefield fac parte enterococii:
 - a) Grup A
 - b) Grup B
 - c) Grup C
 - d) Grup D
- 4) Care sunt condițiile optime de creștere a genului *Enterococcus*?
 - a) 50°C, anaerobioză
 - b) 20°C, umiditate
 - c) 39°C, aerobioză
 - d) 30-37°C, aerobioză
- 5) Care este testul folosit de rutină pentru identificarea *Enterococcus* spp.?
 - a) Testul la bacitracină
 - b) Testul la optochin
 - c) Testul coagulazei
 - d) Testul bilă esculină

III.4. Genul Neisseria

Ordinul: Neisseriales

Familia: Neisseriaceae

Specii principale: Neisseria meningitidis, Neisseria gonorrhoeae

Morfologie: au dimensiuni de 0,6-1µm, sunt **coci reniformi, izolați** sau **in diplo**, perechea având aspect de „**bob de cafea**”, sunt nesporulați, de obicei incapsulați, cu dispunere intracelulară.

Tip respirator: sunt germeni strict aerobi.

Mobilitate: în general sunt imobili.

Pretenții nutritive: sunt crescute în cazul speciilor patogene.

Cultivare „in vitro”: este posibilă pe medii acelulare.

Condiții optime: 30-37°C, aerobioză, umiditate.

Rezistența: foarte redusă.

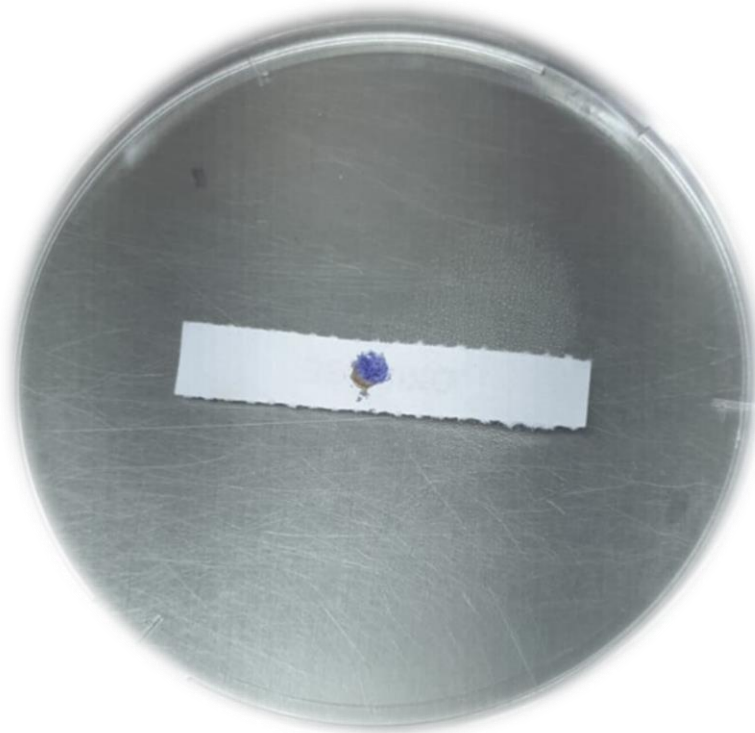
Răspândire: este ubicvitară.

Patogenitate: speciile de importanță medicală sunt condiționat patogene dar există și specii nepatogene în cadrul genului.

Caractere de cultură: de obicei coloniile au dimensiuni de 0,5-2 mm, sunt umede, translucide, lucioase, gri, nehemolitice și nepigmentate; unele specii implicate rar în infecții umane pot forma colonii opace, pigmentate în galben sau cenușiu-gălbui.

Teste de identificare:

- *Identificare biochimică / alte proprietăți:* de rutină se utilizează reacția oxidazei care este pozitivă pentru toate speciile de neisseria.
- *Identificarea serologică:* teste de latexaglutinare pentru determinarea serogrupurilor.



27. Reacția oxidazei

GRILA III.4

- 1) Din genul *Neisseria* fac parte următoarele specii:
 - a) *Neisseria meningitidis*
 - b) *Neisseria gonorrhoeae*
 - c) Răspunsurile corecte sunt „a” și „b”
 - d) Toate variantele sunt greșite
- 2) Tipul de respirație pentru genul *Neisseria* este:
 - a) Anaerob
 - b) Aerob
 - c) Strict aerob
 - d) Niciunul de mai sus
- 3) Gruparea adoptată pe frotiu de bacteriile din genul *Neisseria* este:
 - a) Pereche cu aspect de „bob de cafea”
 - b) Grămadă cu aspect de „ciorchine de strugure”
 - c) Dispunere în „litere chinezești”
 - d) Lanțuri cu aspect de „ bambus”
- 4) Ce nu caracterizează coloniile de *Neisseria* spp. patogene?
 - a) Sunt cremoase
 - b) Sunt nepigmentate
 - c) Sunt nehemolitice
 - d) Sunt de obicei translucide
- 5) Ce culoare dobândește cultura de *Neisseria* spp. la reacția oxidazei?
 - a) Negru
 - b) Roșu
 - c) Violet
 - d) Albastru

III.5. Familia Enterobacteriaceae

Ordinul: Enterobacteriales

Genuri principale: Escherichia, Proteus, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Yersinia.

Morfologie: au dimensiuni de 2-3 μm , toate speciile incluzând **bacili Gram negativi cu extremități rotunjite, izolați**, nesporulați; capsula este prezentă doar la Klebsiella species.

Tip respirator: sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi.

Mobilitate: pot fi mobile sau imobile.

Pretenții nutritive: sunt reduse la majoritatea speciilor.

Cultivare „in vitro”: este posibilă pe medii acelulare.

Condiții optime: 30-37°C, aerobioză dar și anaerobioză.

Rezistența la antibiotice: tulpinile nosocomiale pot dobândi multirezistență; îngrijorătoare sunt fenotipurile ESBL + (Extended Spectrum Beta Lactamases) și mai ales CRE (Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae).

Răspândire: este ubicvitară.

Patogenitate: pot fi patogene sau condiționat patogene.

Caractere de cultură: coloniile sunt mari, de circa 5-6 mm, mucoide sau gelatinoase, gri-albicioase, de obicei nehemolitice pe medii cu sânge (excepție face Escherichia coli care poate produce inconstant β -hemoliză).

Teste de identificare:

- *Identificare biochimică:* fermentarea glucozei și lactozei (mediul TSI), producerea de hidrogen sulfurat (mediul TSI), producerea de urează, utilizarea citratului ca sursă de carbon (mediul Simmons).
- *Identificarea serologică:* pentru serotipurile de Salmonella, Shigella, Escherichia coli enteropatogene.



28. Cultură de E.coli pe geloză-sânge



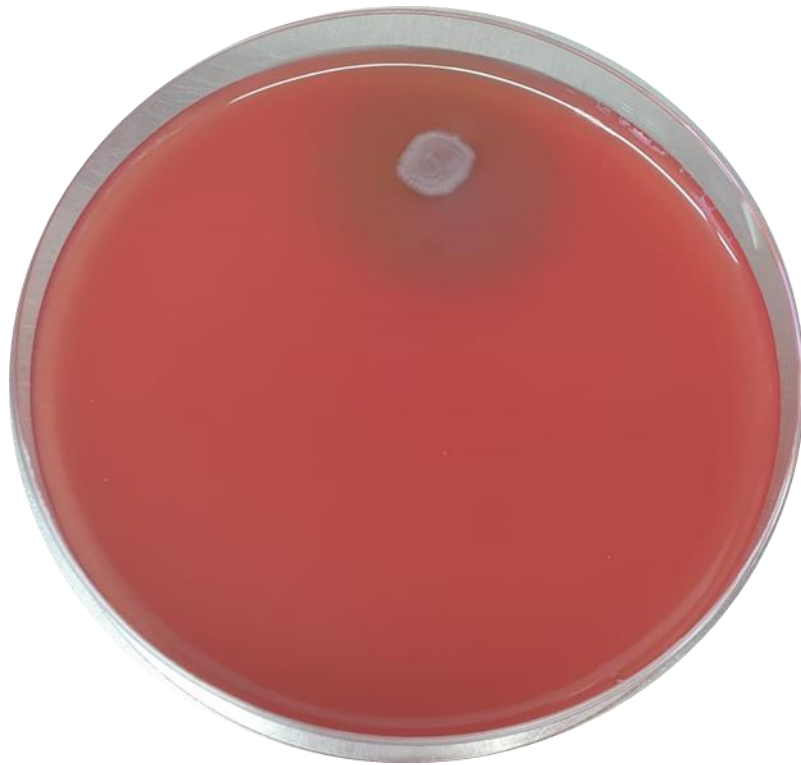
29. Cultură de Enterobacteriaceae pe mediu lactozat (mediul MacConkey)



30. Testul ureazei(negativ, pozitiv)



31. Testul citratului de sodiu pe mediul Simmons(negativ, pozitiv)



32. Fenomenul de migrare la *Proteus* sp.

GRILA III.5

- 1) Nu sunt genuri din familia Enterobacteriaceae?
 - a) Proteus spp.
 - b) Shigella spp.
 - c) Neisseria spp.
 - d) Klebsiella spp.
- 2) Care este genul din familia Enterobacteriaceae care prezintă de obicei capsulă?
 - a) Proteus spp.
 - b) Shigella spp.
 - c) Enterobacter spp.
 - d) Klebsiella spp.
- 3) Bacteriile din familia Enterobacteriaceae sunt:
 - a) Bacili gram negativi
 - b) Bacili gram pozitivi
 - c) Coci gram pozitivi
 - d) Coci gram negativi
- 4) Referitor la fenomenul de migrare, nu este adevărat:
 - a) Apare la Proteus spp.
 - b) Se datorează mobilității bacteriene
 - c) Se formează valuri concentrice
 - d) Apare pe medii selectivo-diferențiale
- 5) La ce genuri de Enterobacteriaceae se folosește identificarea serologică?
 - a) Klebsiella
 - b) Enterobacter
 - c) Proteus
 - d) Salmonella

III.6. Genul *Pseudomonas*

Ordinul: Pseudomonadales

Familia: Pseudomonadaceae

Specii principale: *Pseudomonas aeruginosa*

Morfologie: au dimensiuni de 2-3 μm /0,5-0,6 μm , sunt **bacili scurți, Gram negativi, cu capete ușor rotunjite**, nesporulați, necapsulați.

Tip respirator: sunt aerobi, facultativ anaerobi.

Mobilitate: au 1-3 cili polari.

Pretenții nutritive: sunt reduse.

Cultivare „in vitro”: este posibilă pe medii acelulare.

Condiții optime: 37°C, aerobioză.

Rezistența la antibiotice: au rezistență naturală la multe antibiotice, pot să dobândească relativ rapid rezistență la altele, mai ales tulpinile nosocomiale.

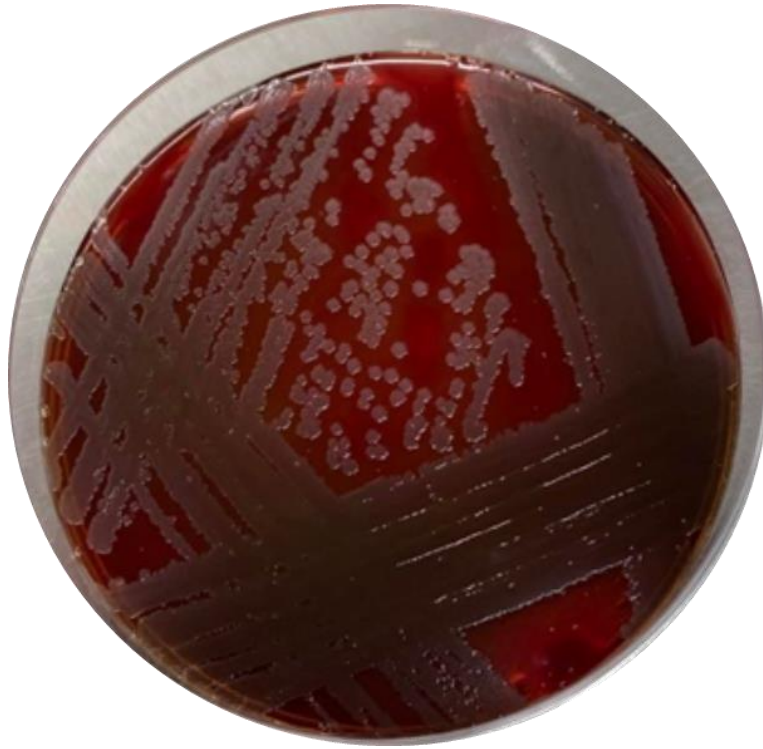
Răspândire: este ubicvitară.

Patogenitate: sunt germeni condiționat patogeni.

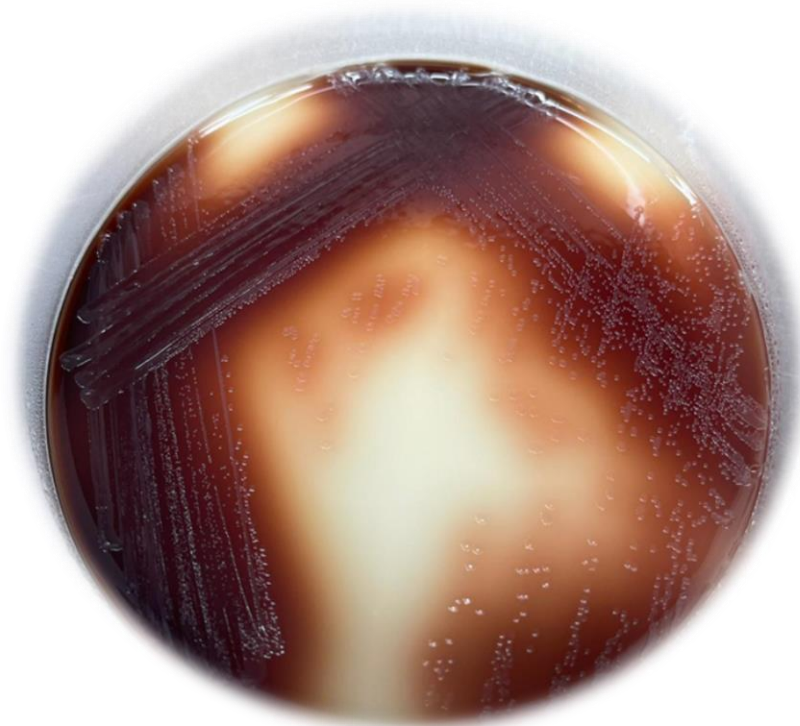
Caractere de cultură: coloniile au forme diferite și mărimi medii, prezintă reflex metalic, sunt fluorescente, se pigmentează în diferite culori și produc β -hemoliză pe mediile cu sânge.

Teste de identificare:

- *Identificare biochimică:* fermentarea glucozei și lactozei (mediul TSI), producerea de hidrogen sulfurat (mediul TSI), producerea de urează, utilizarea citratului ca sursă de carbon (mediul Simmons).
- *Identificarea serologică:* nu are aplicație practică.



33. Cultură de *Pseudomonas aeruginosa* pe geloză-sânge



34. Cultură de *P.aeruginosa* pe mediul cromogen UTI

GRILA III.6

- 1) Ce germeni include specia *Pseudomonas aeruginosa*?
 - a) Bacili gram negativi
 - b) Bacili gram pozitivi
 - c) Coci gram pozitivi
 - d) Coci gram negativi
- 2) Care este testul pozitiv la *Pseudomonas aeruginosa*?
 - a) Testul oxidazei
 - b) Testul coagulazei
 - c) Fermentarea glucozei
 - d) Fermentarea lactozei
- 3) Ce nu este caracteristic pigmentogenezei *P. aeruginosa*?
 - a) Pigmentarea coloniilor în galben auriu
 - b) Pigmentarea coloniilor în galben-verzui
 - c) Pigmentarea coloniilor în brun-roșcat
 - d) Pigmentarea coloniilor în verde albastrui
- 4) Nu este adevărat referitor la comportamentul față de antibiotice al *P. aeruginosa*:
 - a) Poate dobândi rapid rezistență la unele antibiotice
 - b) Are rezistență naturală la unele antibiotice
 - c) Poate dobândi foarte rar rezistență la antibiotice
 - d) Nu are rezistență naturală la niciun antibiotic
- 5) La ce specie de *Pseudomonas* se folosește identificarea serologică?
 - a) *P. aeruginosa*
 - b) Bacilul piocianic
 - c) Orice specie
 - d) Nicio specie

IV. Bibliografie

1. **Figura 1-** Zacharias Janssen (1585-1632) - primul microscop
 - Wikipedia, Zacharias Janssen, disponibil la:
https://en.wikipedia.org/wiki/Zacharias_Janssen
 - Research Gate, The first microscope designed by Hans and Zacharias Janssen, disponibil la:
https://www.researchgate.net/figure/The-first-microscope-designed-by-Hans-and-Zacharias-Janssen_fig2_317086271
2. **Figura 2-** Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) – primele descrieri ale microorganismelor (protozoare, bacterii, levuri)
 - Wikipedia, Antonie van Leeuwenhoek, disponibil la:
https://en.wikipedia.org/wiki/Antonie_van_Leeuwenhoek
3. **Figura 3-** Louis Pasteur (1822-1895) – părintele microbiologiei
 - Wikipedia, Louis Pasteur, disponibil la:
https://en.wikipedia.org/wiki/Louis_Pasteur
4. **Figura 4-** Robert Koch (1843-1910)
 - Wikipedia, Robert Koch, disponibil la:
https://ro.wikipedia.org/wiki/Robert_Koch
5. **Figura 5-** Alexander Fleming (1881-1955)
 - Wikipedia, Alexander Fleming, disponibil la:
https://ro.wikipedia.org/wiki/Alexander_Fleming
6. **Figura 6-** Cultura mixtă - bacteriană și fungică (Penicillium)
<https://www.timetoast.com/timelines/the-discovery-of-penicillin>
7. **Figura 7-** Părțile componente ale unui microscop optic
 - Math Fandom, Microscop, disponibil la:
<https://math.fandom.com/ro/wiki/Microscop>
8. **Figura 8-** Lamă și lamelă: poză realizată în cadrul Spitalului Clinic de copii Brașov

9. **Figura 9-** Frotiuri colorate Gram

- I lieve ok, Stick-uri și cocci în frotiu: cauzele aspectului, norma, disponibil la:

https://ro.iliveok.com/health/stick-uri-si-cocci-frotiu-cauzele-aspectului-norma_129293i15945.html

10. **Figura 10-** Diferite medii de cultură: poză realizată în cadrul Spitalului Clinic de copii Brașov

11. **Figurile 11-34:** poze realizate în cadrul Spitalului Județean Brașov

12. **Idomir M.E.**, Bacteriologie generală, Editura C2Design, Brașov, 2004. ISBN 973-8424-22-4

13. **Idomir M.E.**, Microbiologie și parazitologie generală pentru colegii medicale, Editura Universității Transilvania Brașov, 2004, ISBN: 9736354156

14. **Idomir M.E.**, Bacteriologie specială, Editura Universității Transilvania Brașov, 2004, ISBN: 9736354148

15. **Idomir M.E.**, Vademecum de bacteriologie medicală, Editura Universității Transilvania Brașov, 2007, ISBN. 9789736359422

16. **Idomir M.E.**, Microbiologie generală-Note de curs, Reprografia Universității Transilvania Brașov

17. **Idomir M.E.**, Bazele practice ale bacteriologiei medicale, Brașov, Editura C2 design, Brașov, 2004, ISBN 973-8424-26-7

Materialul a fost realizat în cadrul proiectului VIZUAL-LIFE
obținut prin competiția “Fii în centru!” organizată de
Universitatea Transilvania din Brașov

Diana Puiu

