

MINISTERUL AGRICULTURII, DEZVOLTĂRII REGIONALE ȘI MEDIULUI

UNIVERSITATEA AGRARĂ DE STAT DIN MOLDOVA

FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ

Departamentul Siguranța Alimentelor și Sănătate Publică

Cu titlu de manuscris

CZU : 619:616-002.3:636.7/.8

VIȘTIANU VLADIMIR

**Tema: CERCETĂRI MICROBIOLOGICE PRIVIND SPECIILE
MICROBIENE IMPLICATE ÎN PATOLOGILE ABCESELOR
LA ANIMALELE DE COMPANIE**

Specialitatea 841.1 – Medicină Veterinară

TEZĂ DE ABSOLVIRE A STUDIILOR SUPERIOARE INTEGRALE

„Se admite spre susținere”

Conducător științific:

Șef interimar departament:

Golban Rita,

Osadci Natalia,

Dr., conf.univ.

Dr., conf. univ.,

_____ (semnătura)

_____ (semnătura)

_____ (data)

Autor: Viștianu Vladimir

_____ (semnătura)

CHIȘINĂU, 2022

CUPRINS

ADNOTARE.....	4
LISTA ABREVIERILOR.....	5
ÎNTRUDUCERE.....	6
1. EVALUAREA LITERATURII ÎN DOMENIU.....	8
1.1 Cauzele, patogenia și simptomatologia abceselor.....	8
1.2 Persistența și localizarea frecventă a abceselor la animalele de companie.....	11
1.3. Specii microbiene implicate frecvent în patologia abceselor.....	15
1.4. Mecanismele rezistenței microorganismelor implicate în abcese la substan- țele antibiotice.....	25
2. PARTEA SPECIALĂ.....	32
2.1. Metode și materiale de investigare.....	32
2.2. Metoda efectuării preparatelor prin fixare, etalare și colorare.....	53
2.3. Metoda pasajelor pe medii de cultură uzuale, speciale și de diferențiere.....	33
2.4. Metodele bacteriologice de determinare a speciilor microbiene frecvent implicate în patologia abceselor.....	33
2.5. Metodele microbiologice de cercetare a sensibilității microorganismelor la substanțele antibiotice.....	35
3. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	38
3.1. Aprecieri microbiologice de laborator a prelevatelor din abcese diferite Localizări la animalele de companie.....	38
3.2. Cercetări microbiologice privind izolarea și diferențierea speciilor microbiene izolate din abcese diferite localizări la animalele de companie.....	42
3.3. Evaluări a sensibilității la substanțele antibiotice a speciilor microbiene izolate din abcese investigate.....	43
4. CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI.....	48

5. BIBLIOGRAFIE.....	49
6. ANEXE.....	52
Anexa 1. Declarația privind asumarea răspunderii.....	52
Anexa 2. CV al autorului.....	53
Anexa 3.....	54
Anexa 4.....	55

ADNOTARE

Viștianu Vladimir „Cercetări microbiologice privind speciile microbiene implicate în patologiile abceselor la animalele de companie”.

Cercetările la tema tezei de absolvire a studiilor superioare integrale au fost efectuate în incinta laboratorului de microbiologie a Departamentului Siguranța alimentelor și Sănătatea Publică a Universității Agrare de Stat din Moldova, facultatea de medicină veterinară.

Structura tezei include: 3 compartimente, introducere, adnotare, evaluarea literaturii în domeniu, partea specială, material și metode de studiu, concluzii și recomandări practice, bibliografie, anexe.

Teza este expusă pe 55 pagini bibliografice, include 3 tabele și 13 figuri.

Bibliografia enumeră 38 surse bibliografice, 4 anexe.

Cuvinte-cheie: abcese, microorganisme, animale de companie, patologii, substanțe antibiotice, frotiuri, culturi microbiene.

Domeniul de studiu. Teză de absolvire a studiilor superioare integrale în medicină veterinară.

Scopul și obiectivele lucrării: investigarea de laborator microbiologică a implicării unor specii microbiene privind patologiile abceselor la animalele de companie.

Obiectivele tezei au constituit: efectuarea unor evaluări microbiologice a patologiilor abceselor la animalele de companie.

Evaluările de laborator microbiologice au fost efectuate pe prelevate de abcese din regiunile corporale a animalelor de companie depistate și interpretarea rezultatelor de laborator după indicii incidenței speciilor microbiene depistate.

Semnificația teoretică. Constă în aprecierea investigațiilor de laborator microbiologice a prelevatelor din abcese, relevarea speciilor declanșatoare și aprecierea acestora după unele caracteristici de evaluare a caracteristicilor acestora

Noutatea științifică. Din punct de vedere științific au fost studiate și justificate speciile mai frecvente implicate în patologia abceselor la canine și feline, antibiograma și dinamica acestor patologii microbiene.

Valoarea aplicativă a lucrării. Au fost studiate și relevate rezultate aplicative microbiologice a speciilor animalelor de companie, valorificate drept patologii de diverse etiologii.

LISTA ABREVIERILOR

G – geloză

B – bulion

E - Endo

L – Levine

RA – Rezistență Antimicrobiană

TS – Tulpină Sensibilă

MC- Medii Cultură

MRSA - Meticilină Rezistentă Staphylococcus Aureus

PLFR – Poliformismul Lungimii Fragmentelor Restricției

SCN – Stafilococ Coagulazo Negativ

CMI – Concentrație Minimă Inhibitorie

CMB – Concentrație Minimă Bacteriană

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standardisation

ÎNTRUDUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate. Patologiile abceselor la animalele de companie sunt tot mai actuale și frecvent întâlnite în ultimul timp. Acestea se prezintă sub formă de colecții de puroi în spații tisulare bine determinate, de obicei produse de infecția bacteriană.

Numeroase microorganisme pot produce abcese, iar *Staphylococcus aureus* și *Staphylococcus epidermidis* sunt cei mai cunoscuți în afecțiunile cu abcese la animalele de companie. Microorganismele pot intra în țesuturi prin implantare directă (ex. traumatism penetrant cu un obiect contaminat); diseminarea unei infecții persistente, prin contiguitate, diseminarea prin calea limfaticelor sau vaselor sanguine dintr-o locație depărtată; sau migrarea dintr-o zonă în care există flora microbiană către o zonă adiacentă sterilă din cauza deplasării barierelor naturale (ex. perfoarea unui viscer abdominal care determină un abces intraabdominal).

Abcesele pot începe în zona de celulită sau de țesut compromis în care se acumulează leucocitele. Prin fragmentarea progresivă de către puroi sau necroză a celulelor înconjurătoare abcesul se extinde. Țesutul conjunctiv puternic vascularizat poate înconjura atunci țesutul necrotic, leucocitele și fragmentele peretelui abcesului și limitează diseminarea ulterioară.

Factorii predispozanți ai formării abcesului sunt diminuarea mecanismelor de apărare ale glandei (mecanismele diminuate leucocitare), prezența corpiilor străini, obstrucția drenajului normal (în tracturile urinar, biliar sau respirator), ischemia sau necroza tisulară, hematomul sau acumularea excesivă de fluid în țesut și traumatismul. Semnele și simptomele abceselor cutanate și subcutanate sunt durerea, căldura, umflarea, sensibilitatea la atingere și înroșirea. Abcesele superficiale pot avea un punct. Febra poate apărea, mai ales însoțită de celulită. Pentru abcesele profunde sunt tipice durerea și sensibilitatea locală, ca și simptome sistemice, mai ales febra, ca și anorexia, scăderea în greutate și oboseala. Manifestarea de bază a unor abcese este anomalia funcțională de organ.

Aceste afecțiuni prezintă caracteristici clinice și imagistice importante. Afecțiunile necrotico-purulente în circa 45% cazuri sunt primare ca rezultat al răspândirii hematogene a infecției, iar în 55% - secundare traumatismelor, tumorilor sau inflamațiilor cu localizare urogenitală sau gastrointestinală; spectrul microbian cauzativ fiind predominat de *Staphylococcus aureus*. Pe lângă aceste specii o implicație frecventă prezintă streptococii și bacteriile coliforme. Totodată unele abcese pot fi determinate de bacteriile anaerobe *Bacteroides*, streptococi anaerobi, *Clostridium* și *Fusobacterium*.

Afecțiunile implicate prin abcese de diverse proveniențe prezintă varietăți de locații importante. Această inflamație purulentă este de obicei cauzată de una din bacteriile piogene (producătoare de puroi): *Trueperella*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* și *Staphylococcus*. Abcesele formate la animale conțin în general material cremos alb, verde sau galben, în timp ce, din cauza temperaturii corporale ridicate a păsărilor, abcesele lor au, în general, un exsudat cazeos

(brânzător), sunt delimitate și sunt nedureroase. Un abces poate fi acut sau cronic, focal sau multiplu și poate varia în dimensiune de la dimensiuni microscopice la dimensiuni nelimitate.

S-a demonstrat științific, că abcesele se găsesc la animale, păsări și reptile în toată America de Nord. În Michigan, abcesele sunt de obicei observate la cerbul cu coadă albă, dar s-au înregistrat cazuri și la numeroase specii de păsări și mamifere.

Problema implicării microorganismelor frecvent întâlnite *Staphylococcus aureus* și *Staphylococcus epidermidis* și a tratamentului acestor afecțiuni este mereu actuală și în continuă evoluție. Cu toate progresele înregistrate prin măsuri igienice, cu toate succesele în antibioticoterapie și chimioterapie, aceste patologii la animalele de companie rămân unele din cele mai frecvente infecții și constituie aproximativ de la 20-60%.

Scopul cercetărilor a constituit: cercetarea particularităților microbiologice privind implicațiile unor specii bacteriene frecvent depistate în afecțiunile cu abcese la animalele de companie în diverse regiuni corporale ale acestora și interpretarea datelor obținute după valorile cantitative microbiologice.

Obiectivele investigațiilor au constituit:

- Aprecierea microflorei microscopice pe frotiuri;
- Aprecierea microflorei prin însămânțări pe medii nutritive microbiologice;
- Aprecierea tulpinilor microbiene după criteriile microbiologice;
- Aprecierea antibiogramei;

Noutatea științifică. A fost relevată prin date confirmante microbiota abceselor în diferite prelevate la animalele de companie investigate și prelevarea speciilor privind incidența acestora.

Importanța teoretică. Cercetările de laborator clasice privind microflora speciilor identificate a corelat cu unele studii din literatura de specialitate din domeniul patologiilor abceselor la animalele de companie.

Valoarea aplicativă a lucrării. Cercetările microbiologice efectuate pe tematica acestei teze a determinat unele prevalări a microflorei bacteriene a abceselor la animalele de companie investigate și concomitent a demonstrat unele diferențieri a speciilor de microorganisme ca agenți etiologici.

Aprobarea rezultatelor. Cercetările pe tematica abordată au fost studiate în cadrul Departamentului Siguranța alimentelor și sănătate publică a facultății de Medicină Veterinară a UASM.

Sumarul compartimentelor tezei. Teza de absolvire a studiilor superioare integrale constă din compartimentele: adnotare, lista abrevierilor, introducere, evaluarea literaturii în domeniu, partea specială, material și metode de studiu, cercetări proprii, rezultate și discuții, concluzii și recomandări, bibliografie surse științifice citate. Lucrarea este expusă pe 55 pagini text de bază, 4 anexe, 3 tabele și 13 figuri și 38 surse bibliografice.

BIBLIOGRAFIE

1. Abd El Rahman A, El Kholy Y, Shash RY. 2021. Correlation between mazEF Toxin-Antitoxin System Expression and Methicillin Susceptibility in *Staphylococcus aureus* and Its Relation to Biofilm Formation. *Microorganisms*. Oct, 31;9(11):2274. doi:10.3390/microorganisms9112274. PMID: 34835399 Free PMC article.
2. Abtin A., Jain R., Mitchell A.J., Roediger B., Brzoska A.J., Tikoo S., Cheng Q., Ng L.G., Cavanagh L.L., von Andrian U.H., Hickey M.J., Firth N., Weninger W. 2014. Perivascular macrophages mediate neutrophil recruitment during bacterial skin infection. *Nat Immunol.* 15:45–53. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
3. Baron, E., Tenover F. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* diagnostics: state of the art. *Expert Opin. Med. Diagn.* 6: 585-92.
4. Becker B., Cooper M. A. 2013. Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS Chemical Biology.* 8(1):105–115. [PubMed].
5. Bergmann R., Sagar V., Nitsche-Schmitz D. P., Chhatwal G. S. 2012. First detection of trimethoprim resistance determinant *dhfrG* in *Streptococcus pyogenes* clinical isolates in India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2012;56(10):5424–5425. [PMC free article] [PubMed].
6. Bergmann R., van der Linden M., Chhatwal G. S., Nitsche-Schmitz D. P. 2014. Factors that cause trimethoprim resistance in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 58(4):2281–2288. [PMC free article] PubMed.
7. Bjorkeng E. K., Hjerde E., Pedersen T., Sundsfjord A., Hegstad K. 2013. ICES_{slu}, a 94-kilobase mosaic integrative conjugative element conferring interspecies transfer of VanB-type glycopeptide resistance, a novel bacitracin resistance locus, and a toxin-antitoxin stabilization system. *Journal of Bacteriology.* 195(23):5381–5390. [PMC free article] [PubMed].
8. Bowen A. C., Lilliebridge R. A., Tong S. Y., Baird R. W., Ward P., McDonald M. I., et al. 2012. Is *Streptococcus pyogenes* resistant or susceptible to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Journal of Clinical Microbiology.* 50(12):4067–4072. [PMC free article] [PubMed].
9. Brenciani A., Tiberi E., Morroni G., Mingoia M., Varaldo P. E., Giovanetti E. 2014. ICES_{sp1116}, the genetic element responsible for *erm(B)*-mediated, inducible erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes*, belongs to the TnGBS family of integrative and conjugative elements. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 58(4):2479–2481. [PMC free article] [PubMed].
10. Brook I. 2013. Penicillin failure in the treatment of streptococcal pharyngotonsillitis. *Current Infectious Disease Reports.* 15(3):232–235. [PubMed].
11. Brown, A., et al. 2013. *Staphylococcus aureus* Colonization: Modulation of Host Immune Response and Impact on Human Vaccine Design. *Front Immunol.* 4: 507.
12. Buiuc D. 2003. *Microbiologie medicală-Ghid pentru studiul și practica medicinei.* Ediția a VI-a. Editura Gr. T. Popa, Iași.
13. Cattoir V., Giard J. C. 2014. Antibiotic resistance in *Enterococcus faecium* clinical isolates. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 12(2):239–248. [PubMed].

14. Cattoir V., Leclercq R. 2013. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 68(4):731–742. [PubMed].
15. Cho J.S., Guo Y., Ramos R.I., Hebroni F., Plaisier S.B., Xuan C., Granick J.L., Matsushima H., Takashima A., Iwakura Y., Cheung A.L., Cheng G., Lee D.J., Simon S.I., Miller L.S. 2012. Neutrophil-derived IL-1 β is sufficient for abscess formation in 11immunity against *Staphylococcus aureus* in mice. *PLoS Pathog*. 8:e1003047. [PMC free article] [PubMed] .
16. Dantes R., Mu Y., Belflower R., Aragon D., Dumyati G., Harrison L.H., Lessa F.C., Lynfield R., Nadle J., Petit S., Ray S.M., Schaffner W., Townes J., Fridkin S., 2013. Emerging Infections Program–Active Bacterial Core Surveillance MRSA Surveillance Investigators National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, United States, *JAMA Intern Med*. 173:1970–1978. [PubMed].
17. Dashtbani-Roozbehani A, Brown MH. *Antibiotics* (Basel). 2021. Dec 7;10(12):1502. doi: 10.3390/antibiotics10121502.PMID: 34943714 Free PMC article. Review.
18. Fiț N. *Microbiologie generală*. 2015. Cluj-Napoca: Editura AcademicPres, 248 p.
19. Golban R. *Microbiologie generală*. 2015. Curs de prelegeri, UASM, Chișinău: uasm.moodle.md, pp.125-128, 4,5 c.a. <https://moodle-uasm.isa.utm.md/course/view.php?id=321>
20. Golban R. *Microbiologie specială*. 2015. Curs de prelegeri, UASM, Chișinău: uasm.moodle.md, pp.80-84, 4,5 c.a. <https://moodle-uasm.isa.utm.md/course/view.php?id=321>
21. Golban R. The immunological aspects regarding the importance of the phagocytic indices at ovines. În *Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+)*, USAMV Iași, *Medicină Veterinară*, 2019, vol. 62, partea I, p. 72-76., 0,52 c.a. ISSN L-1454-7406.
https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/31651/golban_72-76.pdf?sequence=1
22. Golban R. The importance of the bacterial cultures used in production of cheeses. În *Revista: Lucrări științifice. Seria Medicină Veterinară (categoria B+)*, USAMV Iași, *Medicină Veterinară*, 2019, vol. 62, partea I , p. 67-71., 0,52 c.a. ISSN. L-1454-7406.
https://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/31648/golban_67-71.pdf?sequence=1&isAllowed=y
23. Golban A., Golban R. The competitiveness of rabbit meat produced in Republic of Moldova. În *Revista: Scientific papers Series „Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development”*, *Lucrări științifice. USAMV București*, 2020, vol. 20, Issue 2 , p. 255-259., 0,52 c.a., Print ISSN 2284-7995, E-ISSN 2285 – 3952.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20203349999>
<https://repository.utm.md/handle/5014/34063>
24. Ko Y.P., Kuipers A., Freitag C.M., Jongerius I., Medina E., van Rooijen W.J., Spaan A.N., van Kessel K.P., Hook M., Rooijackers S.H. 2013. Phagocytosis escape by a *Staphylococcus aureus* protein that connects complement and coagulation proteins at the bacterial surface. *PLoS Pathog*. 9:e100381.
25. Kolaczowska E., Kubes P. 2013. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 13:159–175.

26. Kraker M.E., Jarlier V., Monen J.C., Heuer O.E., van de Sande N., Grundmann H. 2013. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect.* 19:860–868.
27. Krishna S., Miller L.S. 2012. Innate and adaptive immune responses against *Staphylococcus aureus* skin infections. *Semin Immunopathol.* 34:261–280. [PMC free article] [PubMed].
28. Mahey N, Tambat R, Chandal N, Verma DK, Thakur KG, Nandanwar H. *Microbiol Spectr.* 2021. Dec 22;9(3):e0095121. doi: 10.1128/Spectrum.00951-21. Epub 2021 Dec 15. PMID: 34908453 Free PMC article.
29. Magill S.S., Edwards J.R., Bamberg W., Beldavs Z.G., Dumyati G., Kainer M.A., Lynfield R., Maloney M., McAllister-Hollod L., Nadle J., Ray S.M., Thompson D.L., Wilson L.E., Fridkin S.K. 2014. Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med.* 370:1198–1208. [PMC free article] [PubMed].
30. Malachowa N., Kobayashi S.D., Braughton K.R., Whitney A.R., Parnell M.J., Gardner D.J., Deleo F.R. 2012. *Staphylococcus aureus* leukotoxin GH promotes inflammation. *J Infect Dis.* 206:1185–1193.
31. Podnos, Y. D., Jimenez, J. C. & Wilson, S. E. 2002. Intraabdominal sepsis in elderly persons. *Clinical Infectious Diseases* 35, 62–8.
32. Prabhakara R., Foreman O., De Pascalis R., Lee G.M., Plaut R.D., Kim S.Y., Stibitz S., Elkins K.L., Merkel T.J. 2013. Epicutaneous model of community-acquired *Staphylococcus aureus* skin infections. *Infect Immun.* 81:1306–1315.
33. Ray G.T., Suaya J.A., Baxter R. 2013. Microbiology of skin and soft tissue infections in the age of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 76:24–30.
34. Rigby K.M., DeLeo F.R. 2012. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. *Semin Immunopathol.* 34:237–259.
35. Rice L. B. Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to beta-lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. 2012. *Mayo Clinic Proceedings.* 87(2):198–208. [PMC free article] [PubMed].
36. Sockett D.C., Valley Ann. 2006. Antimicrobial susceptibility testing, Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, April 14.
37. Swartz N. Morton. 2000. Minireview: Impact of antimicrobial agents and chemotherapy, from 1972 to 1998, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*
38. Todar K. 2002. Antimicrobial agents used in treatment of infectious disease, *Textbook of Bacteriology, Wisconsin-Madison.*