

FELICIA TOMA SĂCĂREA

Şef de lucrări

**Disciplina de Microbiologie-Virusologie-Parazitologie
Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
Medic primar medicină de laborator
Doctor în științe medicale**

**BACTERIOLOGIE
MEDICALĂ**



- 2006 -

Am scris această carte cu dragoste, pentru toți cei dornici de cunoaștere.

Le mulțumesc în mod special aceluia care m-a sprijinit, de aproape sau de departe: părinților mei, întreaga grație, fiicei mele și soțului sincere mulțumiri pentru răbdare și înțelegere.

Dascălilor mei de peste ani, Omagiu. Studenților mei de azi, Îndemn.

Felicia Toma Săcărea

Cuprins

Cuprins	3
Coci gram pozitivi, aerobi	5
GENUL STAPHYLOCOCCUS	5
Staphylococcus aureus.....	5
Genul Streptococcus	12
Streptococcus pneumoniae	22
GENUL enterococcus	26
Coci gram pozitivi, anaerobi	31
GENUL Peptostreptococcus și genul peptococcus.....	31
Coci gram negativi, aerobi	36
Genul Neisseria.....	36
Coci gram negativi, anaerobi.....	44
GENUL veillonella	44
Cocobacili gram negativi, aerobi.....	45
GENUL acinetobacter.....	45
Genul Bordetella	49
Genul Brucella	57
Genul Francisella	64
Genul Pasteurella	69
Genul Haemophilus.....	72
genul gardnerella.....	80
GENUL legionella	83
GENUL moraxella	87
Bacili gram pozitivi, aerobi, nesporulați	90
Genul Corynebacterium	90
Genul arcanobacterium	94
Genul erysipelothrix.....	96
Genul listeria.....	98
Genul nocardia.....	102
Bacili gram pozitivi, aerobi, sporulați.....	104
Genul Bacillus	104
Bacili gram pozitivi, anaerobi, nesporulați	111
Genul lactobacillus.....	111
Genul actinomyces.....	113
Genul mobiluncus	114
genul BIFIDOBACTERIUM	115
genul EUBACTERIUM.....	115
genul PROPIONIBACTERIUM.....	115
Bacili gram pozitivi, anaerobi, sporulați	116
Genul Clostridium.....	116
Clostridium tetani.....	117
Clostridium botulinum	120

Clostridiile gangrenei gazoase.....	123
alte boli cauzate de specii din genul clostridium.....	126
Bacili gram negativi.....	127
Familia Enterobacteriaceae	127
Genul escherichia-shigella.....	131
genul Escherichia.....	132
Genul Shigella	139
Genul Salmonella.....	143
Genul Yersinia	150
Genul Citrobacter.....	157
Genul Klebsiella	160
Genul Enterobacter	164
Genul Hafnia.....	166
Genul Serratia	168
Genul Proteus.....	170
Genul Providencia.....	173
Genul Morganella	174
Genul pseudomonas	175
pseudomonas aeruginosa.....	176
Bacili Gram negativi anaerobi.....	181
Genul bacteroides.....	181
Genul porphyromonas.....	182
Genul prevotella.....	183
Genul fusobacterium	184
Bacili Gram negativi încurbați	185
genul vibrio.....	185
vibrio cholerae	186
genul Helicobacter	191
genul campylobacter	196
Spirochete.....	201
genul treponema.....	201
genul borrelia.....	206
genul leptospira.....	210
Bacterii neclasificabile prin colorația Gram.....	215
Genul mycobacterium	215
Bacterii fără perete celular	221
Genul mycoplasma și genul ureaplasma	221
Bacterii intracelulare.....	224
Genul chlamydia	224

Coci gram pozitivi, aerobi

GENUL STAPHYLOCOCCUS

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Germenii din genul *Staphylococcus* sunt coci Gram-pozitivi, dispuși în grămezi neregulate, aerobi facultativ anaerobi, imobili, nesporulați, catalazo-pozitivi.

Grupe de interes medical:

- Stafilococi coagulazo-pozitivi
 - o *Staphylococcus aureus*
- Stafilococi coagulazo-negativi:
 - o Grupul *Staphylococcus epidermidis* cu speciile:
 - *S.epidermidis sensu stricto*
 - *S.auricularis*
 - *S.capitis*
 - *S.hominis*
 - *S.lugdunensis*
 - *S.haemolyticus*
 - *S.warneri* etc.
 - o Grupul *S. saprophyticus* cu speciile:
 - *S.saprophyticus*
 - *S.xylosus*
 - *S.cohnii*
 - o Grupul *S. intermedius* cu speciile:
 - *S.scheleiferi* etc.
 - o Grupul *Staphylococcus simulans* cu speciile:
 - *S.simulans* etc.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Staphylococcus aureus

Colonizează nările și colonul de unde poate contamina tegumentul. Există starea de purtători sănătoși de *Staphylococcus aureus* fiind întâlnit mai ales portajul nazal, în proporție de 10-40% în colectivități și până la 40-70% în spital. Rezervorul principal de este reprezentat de mamifere și păsări care contaminatează mediul. Suportul material al transmiterii este reprezentat de sol, nisip marin, apa de mare și apa dulce, plante, fructe, alimente, îmbrăcăminte, mobilier, covoare, praful și aerul din încăperi.

Stafilococii coagulazo-negativi

Colonizează nările și tegumentul, componenți ai florei cutanate normale care se constituie în barieră de apărare antimicrobiană. Stafilococii coagulazo-negativi sunt un rezervor de plasmide de rezistență (plasmide R) transferabile la *S. aureus* și la alți coci Gram pozitivi.

S.epidermidis este omniprezent pe tegumente în timp ce ceilalți SCN au tropism pentru anumite biotopuri:

- *S.capitis* pentru scalp și conductul auditiv extern;
- *S.auricularis* pentru conductul auditiv extern;
- *S.hominis* pentru zona axilară, inghinală, membre, tălpi.

Caractere morfotintoriale

Stafilococii sunt coci Gram-pozitivi, nesporulați, necapsulați. Pe frotiu efectuat din cultură pe mediu solid stafilococii apar dispuși în grămezi neregulate asemănătoare cu ciorchinii de strugure. Pe frotiul efectuat din cultură în mediu lichid sau din produs patologic stafilococii sunt dispuși extracelular, în lanțuri scurte, perechi sau coci izolați.

Caractere de cultură

Sunt germeni nepretențioși care pot fi cultivați pe medii nutritive simple, pe medii complexe ca și pe medii hiperclorurate (Chapman). Mediile se incubează timp de 18-24 ore, la temperatura de 35-37°C, în aerobioză.

Crește sub formă de colonii „S” pe medii solide; în medii lichide produce tulburare uniformă cu depozit moderat la fundul tubului.

Stafilococii produc pigment nedifuzibil, care colorează doar colonia bacteriană nu și mediul de cultură, de culoare galben-auriu (*S.aureus*), albă (*S.epidermidis*) sau galben-citrin (*S.saprophyticus*). Pigmentogeneza (caracter variabil) este mai intensă la temperatura camerei și în prezența oxigenului.

Pe mediile cu sânge apare hemoliză beta (datorată hemolizinei alfa) sau „cald-rece” (datorată hemolizinei beta).

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt germeni catalazo-pozitivi, oxidazo-negativi. Fermentează glucoza, manitolul, lactoza, zaharoza etc. cu producere de acid. Hidrolizează proteinele animale native: hemoglobina, fibrina, cazeina, gelatina etc., descompun fosfolipoproteinele.

Rezistența față de factorii fizici, chimici, biologici

Stafilococii sunt rezistenți față de condițiile din mediul extern. Rezistă în culturi, la frigider câteva luni; în puroi uscat—2-3 luni. Sunt relativ rezistenți la antiseptice și dezinfectante (30' la alcool 70%; 10' la fenol 2%), la radiații gamma, la acțiunea coloranților (violet de gențiană, fuxina acidă, verde malachit etc.). Pot fi distruși în 60 minute la temperatura de 60°C, sunt sensibili la bacteriofagi, la radiațiile UV.

Următoarele produse au efect bacteriostatic asupra tulpinilor de stafilococ: suc de lămâie, măr, ananas, caise, piersici, ciocolată, cacao.

Stafilococii sunt DEOSEBIT DE REZISTENȚI LA ANTIBIOTICE !!! Peste 95% din stafilococi sunt rezistenți la penicilină. Tulpinile de stafilococi rezistente la meticilină (oxacilină) sunt tulpini polirezistente exteriorizând rezistență concomitentă față de cefalosporine, eritromicină, clindamicină. Sunt încă sensibili

la vancomicină deși în unele țări (Franța) au fost semnalate deja tulpini rezistente și față de acest antibiotic de rezervă.

Structura antigenică:

Structuri antigenice legate de corpul celular:

1. Capsula, alcătuită din acid glucozaminuronic, prezentă la *S. aureus*, mai ales „in vivo”; este un caracter genotipic fapt susținut de faptul că tulpina încapsulată dă naștere spontan la variante necapsulate. Conferă o mai mare rezistență tulpinilor producătoare prin asigurarea protecției față de fagocitoză.

2. Polizaharidul A care este acid teichoic, prezent la *Staphylococcus aureus*, induce formarea de anticorpi iar după infecții repetate este responsabil de reacțiile de sensibilizare. Este de asemenea receptor pentru bacteriofagi.

3. Polizaharidul B, tot acid teichoic, a fost identificat la *S. epidermidis*;

4. Proteina A (proteina Cowan), prezentă la toate tulpinile de *Staphylococcus aureus*, este imunogenă inducând producerea de anticorpi specifici. Interacționează nespecific cu porțiunea Fc a Ig G cauzând:

- anafilaxie locală și sistemică la animale;
- reacții urticariene la om;
- activarea complementului urmată de generarea de factori chemotactici;

- inhibarea activității opsonizante a anticorpilor;
- proliferarea limfocitelor B umane etc.

5. Factor de agregare (clumping factor): este coagulaza legată pe suprafața celulei bacteriene (receptor pentru fibrinogen). Este prezent la tulpinile de *Staphylococcus aureus* necapsulate și fixează fibrinogenul determinând aglutinarea cocilor.

6. Adezinele: proteine de suprafață specifice: receptori pentru laminină, fibronectină, collagen cu rol în :

- fixarea pe proteinele matriciale ale celulei-gazdă;
- invazia țesuturilor
- rezistența la fagocitoză

Structuri antigenice extracelulare:

1. Exoproteine: sunt proteine accesorii, imunogene, sintetizate pe medii la sfârșit de fază exponențială/început de fază staționară. În țesut pot fi sintetizate pe tot parcursul fazei exponențiale.

2. Coagulaza liberă este o proteină extracelulară cu rol de enzimă care coagulează plasma citratată (formează cu protrombina complexul numit stafilotrombină). Contribuie la localizarea și persistența infecției prin crearea unui strat protector de fibrină în jurul stafilococilor, strat care îi protejează față de fagocite. De asemenea coagulaza liberă intervine în formarea trombilor cauzatori de tromboflebită supurată.

3. Hidrolaze:

- Stafilokinaza – produsă prin conversie lizogenică, lizează cheagul de fibrină convertind plasminogenul în plasmină.

- Nucleaza – are activitate endo- și exonucleazică asupra ADN și ARN;

- Hialuronidaza – hidrolizează mucopolizaharidele tisulare ceea ce imprimă caracterul de invazivitate tulpinilor producătoare.

- Lizostafina – enzimă produsă de *Staphylococcus simulans*.

4. Lipaze – contribuie la supraviețuirea stafilococului la nivelul dermului. Au rol important în mecanismul de producere al furunculelor.

5. Hemolizine: stafilococul produce 4 tipuri de hemolizine care diferă prin mecanismul lor de acțiune și prin specificitatea acțiunii asupra hematiilor de diferite proveniențe. În patologia umană sunt mai frecvent implicate hemolizinele α și δ .

- α -hemolizina (α -toxina) este responsabilă de hemoliza beta de pe mediul cu sânge. Este principala hemolizină secretată de *Staphylococcus aureus* și principalul factor de patogenitate al acestei specii bacteriene. Are afinitate pentru hematiile de iepure, dar nu și pentru cele umane. Are ca receptor celular specific o sialglicoproteină legarea α -toxinei de aceștia fiind urmată de producerea porilor membranari responsabili de liza celulei. Produce spasme ale mușchilor netezi vasculari, administrarea intravenoasă este urmată de decesul animalului de laborator iar inocularea intradermică determină dermonecroză. Are rol în generalizarea infecțiilor stafilococice și apariția bacteriemiei, respectiv a septicemiei.

- β -hemolizina (sfingomielinaza): este produsă de 10-20% din stafilococii umani. Fiind o sfingomielinază acțiunea asupra hematiilor depinde de concentrația acestora în sfingomielină. Este deci activă pe hematiile de oaie, bou, om, cobai pe care le lizează. Pe mediu cu sânge este responsabilă de hemoliza de tip „cald-rece”. Are acțiune citotoxică pentru culturi de celule, leucocite, macrofage iar pentru animalele de laborator este toxică în doze mari.

- γ -hemolizina este de natură proteică, lizează hematiile de iepure, om, oaie neavând efect asupra hematiilor de cal sau de pasăre. Acțiunea ei este inhibată de colesterol și lipide, iar pe mediul de cultură, de agar și de polimeri sulfati.

- δ -hemolizina este o hemolizină produsă de majoritatea tulpinilor de *Staphylococcus aureus*. Mai este secretată de *S.epidermidis* și de *S.lugdunensis*. Are efect citopatic pe leucocite și în culturi de celule, asigură supraviețuirea intrafagocitară și are acțiune dermonecrotică.

6. Exotoxine pirogene: sunt toxine cu activități patogene cum ar fi:

- efecte imunosupresoare
- efect mitogen la nivelul limfocitelor T supresoare
- cresc toxicitatea endotoxinelor germenilor Gram negativi
- au efect piretogen prin stimularea producerii de interleukină 1.

În categoria exotoxinelor piretogene sunt incluse:

- enterotoxinele stafilococice elaborate de aproximativ 50%-90% din tulpinile de *Staphylococcus aureus*. Se cunosc în prezent 7 tipuri serologice de enterotoxine (A, B, C1, C2, C3, D, E), o tulpină de *Staphylococcus aureus* putând produce una sau mai multe tipuri de enterotoxină. Mai frecvent implicate în patologia umană sunt enterotoxinele A și D, iar enterotoxina B intervine, probabil, în patogenia sindromului șocului toxic stafilococic și a enterocolitei stafilococice post-antibioterapie. Sunt rezistente la acțiunea sucurilor digestive și la temperatura de fierbere.

- Toxina sindromului șocului toxic (TSST-1) elaborată de 15% din tulpini.

- exotoxine piretogene A și B produse de un număr mai mic de tulpini.

7. Leucocidina: are acțiune citolitică numai asupra polimorfonuclearelor și macrofagelor de om și iepure, inhibă chemotactismul leucocitelor. Este elaborată de 2% dintre tulpinile de stafilococ și de majoritatea tulpinilor de *Staphylococcus aureus* implicate în infecții dermonecrotice. Este alcătuită din 2 componente: componenta F și S. Conferă tulpinilor producătoare rezistență la fagocitoză.

8. Exfoliatina (toxina epidermolitică) este o proteină termolabilă, sensibilă la pH-ul acid, produsă de 5% din tulpinile de *Staphylococcus aureus*. Se prezintă sub forma a 2 variante antigenice: ETB codificată de un plasmid și ETA codificată cromozomial. Acționează la distanță de focarul infecțios și sunt cauza „sindromului pielii opărite”.

Răspuns imun

Imunitatea este asigurată de anticorpi antistafilococici specifici formați față de produșii extracelulari și față de antigenele legate de corpul bacterian. Titrul anticorpilor este scăzut și lipsește corelația între cantitatea de anticorpi din ser și starea de imunitate sau receptivitate a organismului. Titrul de anticorpi nu influențează evoluția spre vindecare a pacientului. Dintre persoanele vaccinate cu vaccin anti-stafilococic (anatoxină, vaccin polivalent, autovaccin) doar 50% dezvoltă o rezistență imună specifică.

Caractere de patogenitate

Stafilococii aurii sunt patogeni prin virulență și/sau toxinogeneză elementele de natură antigenică legate sau nu de corpul bacterian, amintite anterior, constituind de fapt și factori de patogenitate ai germeului.

Adezina de suprafață a tulpinilor de *S.saprophyticus* este o lactozamină care se leagă de un receptor oligozaharidic aflat pe suprafața celulelor uroepiteliale.

S.epidermidis, cauza principală a infecțiilor de proteză își datorează afinitatea față de materialul din care sunt confecționate aceste proteze următorilor factori:

- comensal al tegumentelor, mucoaselor și al diferitelor cavități este prezent în cantitate mare în aceste biotopuri, ceea ce facilitează contaminarea materialului protetic;
- tulpinile izolate din infecții produc o microcapsulă polizaharidică numită „slime” care favorizează aderența *S.epidermidis* la suprafața implantului. În acest „slime” se formează microcolonii cu creștere lentă, apărute de acțiunea antibioticelor și cu atât mai mult de cea a macrofagelor;
- posedă adevine de suprafață capabile să formeze legături covalente cu fibronectina cu care organismul uman îmbracă suprafața implantului (biofilm).

PROCESUL INFECȚIOS STAFILOCOVIC

Stafilococul aurii este implicat mai frecvent în infecții ale tegumentelor și mucoaselor cu potențial de generalizare și cu formare de puroi (infecții supurative). Datorită prezenței unor adevine, a acidului lipoteichoic și a proteinei A stafilococul aurii aderă la mucoase, epitelii, endotelii după care se multiplică, elaborează și eliberează enzimele și/sau toxinele amintite anterior, cu apariția unor sindroame caracteristice.

Stafilococul auriu, germen oportunist, poate deveni patogen fie prin multiplicare și invazivitate cauzând procese infecțioase de tip invaziv, fie prin multiplicare și toxigenitate cauzând toxiinfecții.

PROCES INFECȚIOS DE TIP INVAZIV:

Foliculita – infecția foliculului pilos;

Furuncul – abces în jurul foliculului pilos;

Carbuncul (furuncul antracoid) – extinderea infecției la mai multe unități pilosebacee și la țesutul celular subcutanat;

Hidrosadenită – infecția glandei sudoripare;

Panarițiu – infecție peri- sau subunghială;

Mastită – infecția glandei mamare;

Impetigo – infecție a epidermei, mai ales la copii mici, localizată pe față sau pe membre;

Infecții ale plăgilor chirurgicale, mușcate, tăiate;

Angina stafilococică ce se poate complica cu otite, mastoidite, sinusite etc.;

Infecții urinare, uretrită, cistită, pielonefrită;

Anexite, infecții uterine post-abortum;

Bacteriemie, septicemie, focare septicemice metastatice – apărute în urma diseminării de la nivelul focarului de infecție primar cu constituirea de metastaze septicemice viscerale:

- pulmonar – pleurezie, pneumonie;
- renal;
- osos, articular - osteomielita, artrite septice;
- meningo-cerebral;
- aparat cardio-vascular
 - endocard – endocardita stafilococică (mortalitate 50%);
 - pericard, endoteliu vascular.

Deosebit de periculoasă este infecția stafilococică cu localizare nasogeniană (stafilococia malignă a feței) din cauza riscului de apariție a tromboflebitei faciale cu extindere endocraniană prin intermediul sinusului cavernos;

TOXIINFECȚII DE ETIOLOGIE STAFILOCOCICĂ

Toxiinfecția alimentară stafilococică. Se datorează ingestiei enterotoxinei termorezistente (rezistă 30 minute la 100°C) elaborată în aliment de tulpini enterotoxigene de *Staphylococcus aureus*. Este suficientă o cantitate foarte mică de enterotoxină pentru a declanșa simptomele. Sursa de stafilococ o reprezintă omul (furuncul, sinusită, rar portaj asimptomatic) și animalul cu mastită, furunculoză. Alimentele mai frecvent incriminate sunt: lactate, carne, ouă, pește, produse de patiserie, maioneze etc. Debutul este brusc, după o latență de 1-3 ore (3-6 ore), fără febră, cu colici abdominale, grețuri, vărsături, diaree apoasă. Refacerea este spontană și completă în 1-2 zile prin eliminarea toxinei din organism.

Leziuni de natură toxică cutanate:

- „sindromul pielii opărite stafilococice”, cunoscut și sub denumirea de boala exfoliativă generalizată (boala Ritter), este necroza de origine toxică (toxina exfoliativă) a epidermului. Apare inițial eritem perioral care se extinde apoi la tot corpul. Apariția bulelor mari cu lichid clar este urmată de

ruperea straturilor superficiale ale epidermei. Vindecarea are loc la intervale de 10 zile de la apariția anticorpilor protectori.

- Impetigo bulos este forma localizată a bolii Ritter.
- Sindrom de șoc toxic stafilococic (STTS): hipertermie, hipotensiune, vărsături, diaree, mialgii, conjunctivită, insuficiență hepatică și renală acută, rash scarlatiniform, descuamarea tegumentelor palmare și plantare, stare de șoc. Inițial apariția acestui sindrom a fost legată de utilizarea tampoanelor intravaginale ca mai apoi să se identifice și după infecții ale plăgilor chirurgicale, după osteomielite, abcese, pneumonii stafilococice postgripale etc.

Stafilococii coagulază negativi (SCN) sunt patogeni oportuniști, caracter apărut în decursul ultimelor decenii ca urmare a utilizării pe scară largă a unui număr tot mai mare de proceduri medicale invazive (sonde, catetere) și a inserțiilor protetice (valve cardiace, proteze vasculare, proteze articulare etc.).

Unele tulpini de SCN au capacitatea de a forma un biofilm (microcolonii și glicocalix) pe suprafața electronegativă a corpurilor străini, factor de patogenitate care favorizează dezvoltarea infecției cu aceste microorganisme.

S.epidermidis are cel mai înalt potențial patogen dintre SCN fiind agentul etiologic major al infecțiilor nosocomiale. A fost izolat de la pacienți cu bacteriemie, mediastinită, infecții articulare, infecții urinare, cistite, uretrite, pielonefrite etc. Este un germen periculos pentru pacienții din secțiile de chirurgie cardio-vasculară, dializă, nou-născuți, ortopedie pe de o parte prin infecțiile de *pace-maker*, de greafă vasculară, de valve protezate, ale protezelor articulare etc. și prin spectrul de rezistență față de antibiotice pe de altă parte.

S.saprophyticus este frecvent agent etiologic al infecțiilor de tract urinar la femei tinere, uretritelor negonococice, prostatitelor, infecțiilor de plagă, septicemiilor.

S.haemolyticus poate cauza endocardite, septicemii, peritonite, infecții de tract urinar, de plagă chirurgicală, infecții ale oaselor și articulațiilor.

S.lugdunensis colonizează cateterele, tuburile de dren cauzând endocardite pe proteze valvulare sau chiar pe valve indemne, septicemii, infecții ale protezelor vasculare, infecții cutanate și ale plăgilor, abcese cerebrale, peritonite etc.

S.schleiferi colonizează cateterele, tuburile de dren cauzând empiem cerebral, bacteriemie, infecții de cateter, infecții de plagă etc.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsul de examinat variază în raport cu sindromul clinic: puroi, spută, materii fecale, probe de alimente, sânge, urină etc. Din prelevatele necontaminate se realizează frotiuri colorate Gram și examinate la microscopul optic.

Izolarea stafilococului se face pe geloză-sânge, sau pe mediul hiperclorurat pentru produsele intens contaminate. La baza identificării izolatelor stau caracterele morfo-tinctoriale, de cultură, a testului catalazei și coagulazei.

Pentru investigații epidemiologice este necesară efectuarea lizotipiei.

TRATAMENT

În infecțiile minore nu este necesară antibioterapia sistemică fiind suficient drenajul chirurgical al leziunii, aplicații topice cu acid fusidic, bacitracină etc.

Pentru purtătorii asimptomatici de *Staphylococcus aureus* care lucrează în domeniul sanitar, de alimentație, în colectivități de copii este indicată aplicarea în

cavitatea nazală anterioară a pomezilor antistafilococice de tipul MUPIROCIN pentru a preîntâmpina răspândirea stafilococului patogen în anturajul lor.

În infecțiile severe este necesară antibioterapia condusă după antibiogramă cu doze mari de antibiotic pentru a asigura concentrația bactericidă a antibioticului în focar înaintea selectării de clone rezistente.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Rezervorul de infecție este constituit de omul bolnav sau de purtătorul sănătos de *Staphylococcus aureus*.

Transmiterea se realizează:

- Direct – prin picături nazo-faringiene;
- Indirect – prin aer, praf, obiecte, mână, insecte.

Poate pătrunde în organism pe orice cale, în funcție de poarta de intrare constituindu-se și patologia specifică.

Profilaxia:

- Generală – măsuri de strictă asepsie, antisepsie, igienă individuală, aplicarea măsurilor de decontaminare, dezinfecție și sterilizare în unitățile sanitare.
- Specială – eradicarea portajului nazal de *Staphylococcus aureus* a personalului sanitar și a pacienților spitalizați, cu precădere în secțiile de risc: terapie intensivă, chirurgie cardiovasculară, săli de operație, de pansamente etc.
- Specifică – imunizarea activă cu anatoxină stafilococică, vaccin antistafilococic polivalent, autovaccin ce conferă un anumit grad de protecție la aproximativ 50% din cei imunizați.

GENUL STREPTOCOCCUS

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE. CLASIFICARE

Streptococii sunt coci sferici, pretențioși nutritiv, Gram-pozitivi, care formează perechi sau lanțuri în cursul diviziunii celulare. Sunt immobili și nesporulați, unele specii au capsulă. Cresc bine la presiuni reduse ale oxigenului, unele specii chiar în prezența de 5% CO₂. Sunt catalază și oxidază negativi, majoritatea sunt hemolitici. Descompun glucoza cu formare de acid lactic și fără eliberare de gaz.

Clasificarea familiei Streptococcaceae a suferit numeroase și repetate remanieri în special după aplicarea metodelor de biologie moleculară.

Clasificarea streptococilor se poate face pe baza mai multor criterii:

- a) morfologia coloniilor și .hemoliza produsă pe agar sânge;
- b) specificitatea serologică a substanțelor specifice de grup și de tip;
- c) reacțiile biochimice;
- d) rezistența la factori fizici și chimici;
- e) diferite caracteristici ecologice.

În activitatea curentă se impune utilizarea a 2 criterii de clasificare: aspectul hemolizei pe agar-sânge și clasificarea antigenică Lancefield. O viziune

comprehensivă asupra streptococilor este obținută prin coroborarea datelor referitoare la aspectul hemolizei, caracteristicile antigenice Lancefield și aspectele filogenetice intragen.

După **aspectul hemolizei** pe geloza sânge streptococii se clasifică în următoarele categorii:

1. streptococi β -hemolitici: zonă clară de hemoliză completă în jurul coloniei, apărută ca efect al acțiunii hemolizinelor produse de germen;
2. streptococi α -hemolitici: zonă de hemoliză verzuie, incompletă datorată producerii de peroxid de hidrogen;
3. streptococi α' : zonă de hemoliză alfa înconjurată de o zonă îngustă de beta-hemoliză;
4. streptococi nehemolitici.

Clasificarea antigenică a fost introdusă de Rebecca Lancefield (1933) și are drept criteriu de clasificare prezența polizaharidului C în peretele celular. Acest polizaharid este un antigen cu specificitate de grup fiind prezent la toate grupele de streptococi cu excepția grupei D la care este înlocuit cu acid glicerol-teichoic.

Conform clasificării Lancefield streptococii se împart în următoarele categorii:

1. streptococi grupabili încadrați în 20 grupe serologice notate cu A – H și K – W;
2. streptococi negrupabili, care nu au antigenul de grup, unde se încadrează *Streptococcus pneumoniae* și majoritatea streptococilor comensali ai mucoasei oro-faringiene și bucale.

În raport cu **patogenitatea** streptococii se împart în:

1. streptococi patogeni
2. streptococi condiționat sau accidental patogeni.

Un alt criteriu de clasificare al streptococilor este cel **filogenetic** realizat pe baza analizelor efectuate prin metode ale biologiei moleculare, conform cărui s-au conturat 6 grupări de specii în cadrul genului *Streptococcus*. Amintim în cadrul acestor grupuri filogenetice doar speciile cu implicații în patologia umană:

I. Grupul piogenic

1. *S. pyogenes*.

Este singura specie a grupului Lancefield A. Cei mai mulți streptococi care conțin antigenul de grup A sunt streptococi piogeni care au ca habitat organismul uman și care de obicei sunt sensibili la bacitracină. Sunt beta-hemolitici (produc în mod caracteristic zone largi de hemoliză clară în jurul unor colonii punctiforme). Starea de portaj naso-faringian este prezentă la 10-30% din oameni. Streptococul piogen este principalul patogen uman asociat cu invazia locală sau sistemică și cu dezordini imunologice poststreptococice. A fost izolat ca agent etiologic al unor afecțiuni grave:

- infecții respiratorii: faringite, angine;
- infecții tegumentare: erizipel, impetigo;
- infecții ale țesuturilor moi: fasceite necrozante, celulite;
- febră puerperală;
- scarlatină;
- sindrom de șoc toxic;
- complicații supurative prin propagarea infecției;
- complicații non-supurative: febră reumatică, glomerulonefrită acută, coree, eritem nodos.

2. *S. agalactiae*.

Apartține grupului B Lancefield. Au ca habitat organismul bovinelor, cărora le cauzează mastită, și al omului. Sunt membri ai florei normale din tractul genital feminin (1-40% dintre femei) fiind posibil și portajul faringian (12%) sau intestinal. Reprezintă o cauză importantă de pneumonie, sepsis și meningită apărute la nou-născuți. La adulți au fost implicați în infecții post-partum, infecții ale tegumentului, țesuturilor moi, osteomielite apărute la adulți cu imunodeficiențe (diabet, neoplasme, infecție HIV/SIDA). Sunt considerați beta-hemolitici deși produc de fapt o α hemoliză tradusă prin zone de hemoliză care sunt doar puțin mai extinse decât coloniile (1-2 mm în diametru). Unele tulpini sunt chiar nehemolitice. Streptococii de grup B hidrolizează hipuratul de sodiu și dau o reacție pozitivă în testul CAMP.

3. Streptococi grupele C, G.

Streptococcus equi (cai, măgari), *Streptococcus dysgalactiae* (porci, bovine, om), *Streptococcus canis* (variate animale), produc hemoliză beta pe mediul cu sânge, pot cauza angine, infecții grave ale pielii și țesuturilor moi, pneumonii, bacteriemii, meningite, endocardite, artrite septice deși implicarea lor etiologică în afecțiuni umane este încă neclară.

Streptococcus porcinus (porc), specie cu testul CAMP pozitiv, beta-hemolitică, a fost izolat rar în infecții umane din sfera genitală.

Sunt identificați prin reacții cu antiser specific pentru grupele C sau G.

II. Grupul anginosus

Cuprinde specii care au ca habitat organismul uman: *Streptococcus anginosus* (grup G, C, A), *Streptococcus constellatus* (grup C), *Streptococcus intermedius* (grup G). Coloniile sunt mici, pulverulente, înconjurate de zonă îngustă de hemoliză α sau β . Fac parte din microbiota orală, intestinală, genitală. Determină infecții purulente ale cavității bucale, tractului digestiv și genito-urinar, ale căilor respiratorii superioare, tegumentului, țesuturilor moi și osului. *Streptococcus anginosus* de grup C a fost izolat ca agent etiologic al faringitelor.

III. Grupul mitis

Reunește specii rezidente ale cavității bucale și oro-faringiene ale omului, cunoscute și sub numele generic de „streptococi viridans” pentru că sunt α hemolitice: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis* etc. Prin leziuni ale mucoasei bucale (ex: extracții dentare) pătrund în sânge cauzând endocardită subacută la pacienți cu leziuni ale endocardului valvular sau cu disfuncții ale dinamicii sanguine cardiace. Rareori pot cauza meningită, pneumonie, septicemie.

Tot în grupul mitis este încadrat și ***Streptococcus pneumoniae***. Pneumococii sunt alfa-hemolitici, creșterea lor este inhibată de optochină și coloniile sunt distruse de bilă și săruri biliare. Pentru a-i marca semnificația clinică vom trata separat această specie de streptococ.

IV. Grupul salivarius

Cuprinde *Streptococcus salivarius* și *Streptococcus vestibularis*, specii rezidente ale cavității bucale și oro-faringelui, accidental patogene, cu implicații clinice asemănătoare cu cele ale streptococilor viridans.

V. Grupul bovis

Are în componență 3 specii găzduite în microbiota intestinală a animalelor dintre care *S.bovis* prezintă interes medical. *S.bovis* este izolat de la bovine, ovine, porci, câini, porumbei de la care se poate transmite accidental la om. Face parte din streptococii de grup D. Aparține florei normale a colonului. Ocazional produce endocardită subacută sau bacteriemie la pacienții cu leziuni ale colonului. Sunt nonhemolitici, PYR-negativi și dau o reacție pozitivă la bilă-esculină.

VI. Grupul mutans

Reunește specii care au ca habitat omul și unele animale (hamsteri, șobolani, maimuțe). Importanță în patologia umană au speciile *Streptococcus mutans* și *Streptococcus sobrinus*, rezidente în gură, implicate în formarea plăcii dentare și în cariogeneză. Sunt izolate rar de la pacienți cu endocardită subacută.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt larg răspândiți în natură, găzduiți de om și diverse animale. Unii fac parte din microbiota indigenă a tractului respirator, digestiv și genital; alții sunt asociați cu afecțiuni umane importante datorate parțial infecției streptococice și parțial răspunsului imun al gazdei.

Caractere morfotinctoriale

Streptococii sunt coci gram-pozitivi, sferici sau ovoidali, cu diametrul de circa 1μm. Se divid într-un plan perpendicular pe axa lor lungă și sunt aranjați în lanțuri a căror lungime variază și este condiționată de factori de mediu.

Unii streptococi elaborează o capsulă polizaharidică comparabilă cu cea pneumococică. Cele mai multe tulpini din speciile de grup A, B și C produc capsule din acid hialuronic. Capsulele sunt mai evidente în culturile tinere și împiedică fagocitoza. Pili streptococici sunt acoperiți de acid lipoteichoic și au rol în aderență.

Caractere de cultură

Cei mai mulți streptococi cresc pe medii solide și formează colonii mici, cu diametrul de 1-2 mm. Streptococul piogen beta-hemolitic de grup A, formează colonii punctiforme.

Tulpinile necapsulate formează colonii S („glossy”), mici, rotunde, opace, strălucitoare.

Speciile care produc material capsular deseori dau naștere coloniilor mucoide (de tip M), rotunde, strălucitoare, cu tendință la confluare. Acestea devin colonii „matt” adică turtite, cu suprafața mamelonată, contur neregulat (colonii R) datorită lizării acidului hialuronic capsular.

Cei mai mulți streptococi sunt aerobi, facultativ anaerobi. Necesitățile nutritive variază mult în funcție de specie. Streptococii implicați în patologia umană sunt în general germeni pretențioși, necesitând o varietate de factori de creștere, motiv pentru care se cultivă pe geloză-sânge cu sânge de berbec sau de cal.

Pe acest mediu streptococii se pot diferenția în funcție de capacitatea de a produce hemoliză:

- beta-hemoliză:

- o distrugerea completă a eritrocitelor cu eliberarea de hemoglobină;

- reprezintă un caracter util în identificarea streptococilor piogeni - colonii mici, de tip S, înconjurate de o zonă clară de hemoliză, cu un diametru mult mai mare decât diametrul coloniei;

- **alfa-hemoliză (sau hemoliză viridans):**

- liza incompletă a eritrocitelor cu formarea de pigment verde;

- **hemoliză α' :**

- hemoliza incompletă fără nuanță verzuie.

În cazul în care streptococii nu produc hemoliză sunt clasificați drept streptococi gamma.

Caractere biochimice

Unul dintre caracterele biochimice importante este reprezentat chiar de producerea hemolizei. Alte caractere biochimice utile și în identificarea streptococilor sunt: sensibilitatea la vancomicină, la bilă, hidroliza esculinei, toleranța la sare, hidroliza L-pyrolidonyl- β -naphthylamidă (PYR), sensibilitatea la bacitracină, la optochină și la sulfametoxazol-trimetoprim, producerea unei proteine difuzibile care acționează sinergic cu beta-hemolizina stafilococică determinând liza completă a hematilor din mediul de cultură (testul CAMP) etc.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Pot supraviețui în secreții faringiene uscate, la temperatura camerei și întuneric timp de câteva săptămâni. Streptococul piogen este distrus în 30 de minute la 56°C c ăldură umedă. Deoarece nu sunt sensibili la acțiunea coloranților de tipul trifenil-metan, cristalul violet poate fi utilizat în mediile selective. Este sensibil la antisepticele și dezinfectantele uzuale.

Structură antigenică și caracterele de patogenitate

Streptococii hemolitici pot fi divizați în grupe serologice (peste 18 grupe serologice notate cu literele mari ale alfabetului, A-U), anumite grupe putând fi subdivizate în tipuri pe baza următoarelor structuri antigenice:

- polizaharidul C, prezent în structura peretelui multor streptococi, stă la baza grupărilor serologice (grupele Lancefield A-U). Specificitatea serologică a carbohidratului specific de grup este determinată de un aminozahar, care pentru streptococii de grup A este rhamnosă-N-acetylglucozamină, pentru grupul B rhamnosă-glucozamină polizaharid etc. Induce apariția anticorpilor implicați în reacții imunologice încrucișate față de țesut conjunctiv și glicoproteine cardiace.

- proteina M, care reprezintă cel mai important factor antigenic și de patogenitate pentru streptococul beta-hemolitic din grupul A. Are specificitate de tip. Deoarece sunt aproximativ 100 tipuri de proteină M, o persoană poate face infecții repetate cu S. pyogen de grup A de diferite tipuri. Proteina M a fost identificată și la streptococi din grupul G.

Are structură asemănătoare miozinei. Proteina M apare ca o excrescență la nivelul peretelui celular. Are punct de plecare membrana citoplasmatică, străbate peretele bacterian, se proiectează la suprafața celulei. Filamentele ce proteină M împreună cu acizii lipoteichoici alcătuiesc o formațiune asemănătoare cu pili. Acidul lipoteichoic interacționează cu grupările hidrofobe ale celulei gazdă iar proteina M se atașează de receptorii specifici celulari, ambele elemente contribuind la aderența bacteriei de celula gazdă (factori de colonizare).

S-a dovedit experimental că atunci când proteina M este prezentă, streptococii sunt virulenți. Proteina M împiedică interacțiunea bacteriei cu celulele fagocitare prin repulsie electrostatică și prin blocarea căii alternative a

complementului ceea ce-i face pe streptococi capabili să reziste fagocitării de către leucocitele polimorfonucleare.

Streptococii de grup A lipsiți de proteina M sunt avirulenți.

Se pare că proteina M și probabil și alte antigene streptococice au un rol important în patogeniza febrei reumatice (reumatismului articular acut). Domeniile antigenice conservate din proteinele de clasă M (în special clasa I) reacționează încrucișat cu mușchiul cardiac uman.

Alte structuri antigenice sunt reprezentate de către:

- proteina asociată proteinei M (MAP) care:

- o are înrudiri imunologice cu țesutul cardiac;
- o este implicată în patogenia reumatismului articular acut și a carditei reumatismale

- substanța T, de natură proteică, permite diferențierea speciei în serotipuri distincte de serotipurile M, identificate prin aglutinarea cu antiser specific;

- factorul de opacifiere serică (FOS) – scindează apoproteina serică A₁ în 2 fragmente insolubile care determină opacifierea serului;

- proteina R, care este un antigen de suprafață;

- nucleoproteine (substanțe P) care probabil alcătuiesc cea mai mare parte din corpul streptococic;

- capsula de acid hialuronic – nu este antigenică pentru că are înrudiri cu acidul hialuronic al gazdei, dar intervine în virulență prin protecția față de fagocite și prin potențarea efectului proteinei M;

- peptidoglicanul – imunogen, este implicat în leziuni inflamatorii, induce leziuni cardiace;

- membrana citoplasmatică – reacționează încrucișat cu sarcolema fibrelor miocardice și cu membrana bazală a glomerulului renal;

- diferite toxine și enzime:

1. Streptokinaza (fibrinolizina) este factor de invazie care transformă plasminogenul în plasmină prevenind constituirea barierei de fibrină; poate fi utilă în tratamentul administrat intravenos în embolia pulmonară, tromboza arterială și venoasă și în infarctul miocardic acut. Este o structură antigenică produsă de streptococii de grup A, C, G;

2. Streptodornaza (dezoxiribonucleaza streptococică) depolimerizează ADN leucocitelor. S-au identificat 4 tipuri antigenice (A, B, C, D) tipul B fiind produs în cantitate mare de *S.pyogenes*. După infecții streptococice, în special după infecții ale pielii, apar anticorpi anti-DNAză;

3. Hialuronidaza scindează acidul hialuronic, o componentă importantă a substanței fundamentale din țesutul conjunctiv. Hialuronidaza ajută la răspândirea microorganismelor infectante;

4. Toxina eritrogenă solubilă, distrusă prin fierbere într-o oră, are 3 variante antigenice: A produsă de 80% din tulpini, B și C, care nu imunizează încrucișat. Toxina A și C sunt produse prin conversie lizogenică. Toxina eritrogenă este elaborată numai de streptococii din grupul A lizogenizați, ocazional și de streptococi din grup C, G;

5. Difosfopiridin nucleotidaza este o enzimă, elaborată și eliberată în mediu de anumite serotipuri nefritogene de *Streptococcus pyogenes*. Această substanță poate fi legată de abilitatea organismului de a distruge leucocitele.

6. Hemolizinele

Streptococul piogen beta-hemolitic de grup A elaborează două hemolizine:

a) streptolizina O, o toxină citolitică de natură proteică, antigenică, hemolitic activă în stare redusă (grupări -SH disponibile), dar inactivată rapid în prezența oxigenului. Are efect litic asupra hematiilor, acțiune cardiotoxică, leucotoxică, letală asupra animalului de experiență.

b) streptolizina S care nu este antigenică, este oxigen-stabilă. Are efect citolitic și leucotoxic. Este responsabilă de hemoliza beta de pe geloza-sânge.

Streptococcus agalactiae

Poate determina infecții neonatale și infecții la adult datorită următorilor factori de virulență:

- Capsula polizaharidică:
 - antigenică, determinând diferențierea Streptococcus agalactiae în serotipurile Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII;
 - are acțiune antifagocitară;
- Proteina B (factorul CAMP):
 - exoproteină;
 - completează liza hematiilor de oaie expuse hemolizei stafilococice sau alfa-lizinei produsă de Clostridium perfringens;
 - are efect antifagocitar;
- Hemolizina
- Hialuronidaza etc.

Răspuns imun

Rezistența împotriva infecției streptococice are specificitate de tip. Imunitatea față de infecția cu streptococi de grup A este legată de prezența anticorpilor specifici anti-proteina M care au efect opsonizant. Anticorpilor anti-proteină M persistă toată viața și pot fi identificați serologic.

În cazul infecției streptococice care duce la scarlatină imunitatea după boală este durabilă, menținându-se eventual pentru toată viața. Aceste persoane nu mai fac scarlatină dar pot prezenta angine cu diferite serotipuri M de streptococi producători de eritrotoxină reprezentând sursă de infecție pentru cei din jur.

În cursul infecțiilor streptococice apar anticorpi anti-streptolizină O, identificați prin teste serologice (reacția ASLO). Titrul anticorpilor poate fi util în diagnosticarea bolilor poststreptococice.

Anticorpilor anti-polizaharid C, anti-hialuronidază, anti-streptokinază, anti-streptodornaza etc. nu au rol protector dar pot fi utili în diagnosticul infecției streptococice recente la cei cu suspiciunea de reumatism articular acut sau glomerulonefrită acută.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Streptococii sunt potențial implicați într-o mare varietate de boli. În principal patogenitatea lor se datorează multiplicării și capacității de invazivitate. Proprietățile biologice ale microorganismelor infectante, natura răspunsului gazdei și poarta de intrare a infecției au o mare influență asupra tabloului patologic. Infecțiile streptococice ar putea fi grupate astfel:

Streptococcus pyogenes

Boli invazive datorate streptococilor piogeni

Tabloul clinic este determinat de poarta de intrare. În fiecare caz poate apărea o extindere rapidă și difuză a infecției de-a lungul căilor limfatice, însoțită de o supurație minimă. Infecția se poate extinde la nivel circulator. În această categorie se pot include:

- Erizipelul, apărut atunci când poarta de intrare este reprezentată de tegument, este o dermo-epidermită edematoasă însoțită de febră și stare toxică. Localizat la față, trunchi sau membre are evoluție favorabilă sub tratament cu penicilină și evoluție gravă în lipsa tratamentului.

- Febra puerperală care se dezvoltă în cazul unei infecții streptococice intrauterine. Este o infecție iatrogenă cu evoluție extrem de gravă, frecvent cu evoluție mortală.

- Sepsisul streptococic.

Boli localizate:

- Faringita streptococică, cea mai obișnuită infecție datorată streptococilor beta-hemolitici. Streptococii virulenți de grup A aderă la epiteliul faringian prin intermediul acidului lipoteichoic ce acoperă suprafața cililor. Fibronectina glicoproteinică a celulelor epiteliale servește probabil ca ligant al acidului lipoteichoic. Extinderea la nivel amigdalian și eventual la nivelul altor structuri poartă numele de angină streptococică. Boala se manifestă cu durere în gât, rinofaringită, amigdalită roșie și purulentă, ganglioni limfatici cervicali măriți și dureroși, febră mare. Există (în special la copiii mici) tendința extinderii infecției către urechea mijlocie, mastoidă și meninge. De menționat că 20% din infecții sunt asimptomatice.

- Scarlatina: dacă streptococii sunt lizogenizați, produc toxină eritrogenă și dacă pacientul nu are imunitate antitoxică apare erupția caracteristică din scarlatină. - pneumonia datorată streptococilor beta-hemolitici este rapid progresivă și severă; de obicei apare ca o complicație în urma unei infecții virale (de exemplu gripă sau pojar).

- Impetigo streptococic reprezintă o infecție locală a straturilor superficiale ale pielii, în special la copii. Se mai cunoaște și sub denumirea de „bube dulci”. Este foarte contagioasă, apare mai ales la copii sub 5 ani sub forma unor vezicule care devin pustule și apoi se acoperă cu cruste. Localizarea leziunilor este cu precădere pe față și extremități unde persistă timp îndelungat în lipsa unui tratament adecvat.

Endocardita infecțioasă

Poate evolua acut sau subacut.

În cazul endocarditei acute, în cursul bacteriemiei streptococii pot coloniza valvele cardiace normale sau lezate anterior. Distrugerea rapidă a valvelor conduce frecvent la un deznodământ fatal în zile sau săptămâni, în lipsa tratamentului antibiotic corespunzător și uneori a protezării valvulare.

Endocardita subacută implică mai frecvent valvele anormale (malformații congenitale, leziuni reumatice sau aterosclerotice).

Bolile poststreptococice

Cuprind reumatismul articular acut (RAA), glomerulonefrita acută poststreptococică (GNA), coreea Sydenham, eritemul nodos afecțiuni care se datorează sensibilizării la antigene streptococice și apariției de autoantigene.

După o infecție acută cu streptococi beta-hemolitici de grup A urmează o perioadă latentă de circa 1-4 săptămâni, după care se pot dezvolta bolile poststreptococice.

Glomerulonefrita acută (GNA) poate apărea la circa 3 săptămâni după infecția streptococică și anume după faringite cu serotipurile M 1, 3, 4, 25 sau după infecții cutanate cu serotipurile M în special dată de tipurile 12, 2, 49, 59-61. Glomerulonefrita se datorează unui mecanism de hipersensibilitate de tip III, prin producerea în exces de complexe imune antigen-anticorp cu fixare de complement, care circulă și se depun la nivelul membranei bazale glomerulare. În nefrita acută apar hematurie, proteinurie, edeme, hipertensiune arterială, retenție de uree; nivelul complementului seric este scăzut.

Reumatismul articular acut (febra reumatismală) reprezintă cea mai serioasă sechelă a infecției streptococice, deoarece duce la afectarea valvelor și a mușchiului cardiac. Apare după infecția faringiană netratată, mai ales la copii cu vârste cuprinse între 6-15 ani. Anumite tipuri de streptococi de grup A conțin antigene care reacționează încrucișat cu structuri din țesutul cardiac uman sau cu structuri de la nivelul ganglionilor bazali. În patogenia RAA sunt incluse toate tipurile de hipersensibilitate, în special cele de tip II (citotoxică) și de tip IV (mecanism celular/întârziat), dar și fenomene autoimune. Semnele și simptomele specifice din RAA includ febră, poliartrită migratorie nesupurativă și semne legate de inflamația la nivel endocardic, miocardic.

Tulpinile reumatogene aparțin serotipurilor M 1, 3, 5, 6, 12, 14, 18, 19, 24, 29, au afinitate pentru mucoasa faringiană și au receptori pentru anticorpi comuni cu țesutul cardiac.

Streptococcus agalactiae

Poate determina infecții neonatale, implicat fiind mai ales serotipul III datorită conținutului mare de acid sialic și infecții la adult.

Infecțiile nou-născutului:

- infecții precoce

Apar în primele 5 zile de viață ale nou-născutului contaminarea acestora fiind posibil intrauterin sau în timpul travaliului de la mame colonizate vaginal cu *Streptococcus agalactiae*. Sunt implicate serotipurile Ia, Ib, II, III. Copilul prezintă infecție pulmonară gravă, septicemie de multe ori cu evoluție gravă spre deces.

- infecții tardive

Apar începând cu prima săptămână după naștere până la vârsta de 3 luni, transmise de personalul de îngrijire sau de membrii familiei. Este implicat serotipul III și se manifestă ca meningită purulentă.

Infecțiile adultului:

Sunt afectate persoane tarate (diabetici, vârstnici) care pot prezenta meningite, endocardite, infecții urinare.

În timpul nașterii, la femeia colonizată vaginal cu *Streptococcus agalactiae* se poate instala o endometrită febrilă cu diseminare sanguină și localizare secundară endocardică sau meningeană.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

Streptococcus pyogenes

Diagnosticul de laborator este în mod uzual bacteriologic (direct) și include în mod necesar recoltarea și transportul (în maxim 2 ore) produsului patologic, cu examinarea microscopică a acestuia, cultivarea de obicei pe geloză-sânge și identificarea pe baza caracterelor morfologice, de cultură, biochimice și antigenice a microorganismelor din coloniile izolate. Antibiograma nu este necesară deoarece streptococii piogeni își mențin sensibilitatea la penicilină.

Microscopia este utilă în cazul prelevatelor normal sterile.

Izolarea se face pe agar-sânge, incubat apoi aerob 24 ore. Pentru prelevatele cu floră de asociație se folosesc medii selective prin azid de sodiu, cristal violet, trimetoprim-sulfametoxazol etc.

Identificarea pe baza caracterelor microscopice, culturale și biochimice trebuie completată cu cea serologică prin reacții de precipitare, latex-aglutinare, coaglutinare.

Diagnosticul serologic este util atunci când se presupune apariția unei stări de hipersensibilitate și pentru diagnosticul pozitiv al RAA sau al GNA. În ambele cazuri criteriile de diagnostic sunt mult mai complexe, dar includ și dovedirea prin metode de laborator a unei infecții streptococice în antecedente.

Metoda cea mai bine standardizată este dozarea anticorpilor anti streptolizină O (ASLO), pentru zona noastră geografică acceptându-se ca normal un titru de 200 (maxim 250) unități ASLO. Există teste serologice și pentru evidențierea prezenței și titrului anticorpilor față de alte structuri antigenice (de exemplu streptodornază, hialuronidază, streptokinază).

TRATAMENT

Tratamentul de elecție al infecțiilor cu *Streptococcus pyogenes* este penicilina iar pentru persoanele alergice la acest antibiotic pot fi utilizate eritromicina, claritromicina, azitromicina, cefalosporine dar sub controlul antibiograamei.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Așa cum am prezentat mai sus, mulți streptococi fac parte din flora microbiană umană normală și pot fi implicați patologic atunci când se stabilesc în zone ale corpului unde nu se găsesc în mod normal (de exemplu la nivelul valvelor cardiace).

Sursa de infecție în cazul streptococilor beta-hemolitici de grup A este de regulă o persoană purtătoare sau o persoană care are o infecție clinică ori subclinică. Transmiterea se realizează prin picături de secreție naso-faringiană, salivă, contact cu leziuni cutanate.

Pentru a preveni accidentele legate în special de contaminări și infecții streptococice în urma intervențiilor chirurgicale pe tractul respirator, gastrointestinal și urinar care conduc la apariția unei bacteriemii, la persoanele care prezintă probleme valvulare cardiace cunoscute se administrează antibiotice în scop profilactic.

Procedurile de control în ceea ce privește infecțiile streptococice sunt dirijate în principal spre sursa umană, constând în identificarea și terapia antimicrobiană precoce a infecțiilor respiratorii și cutanate cu streptococi de grup A și în profilaxia cu antibiotice antistreptococice la persoanele care au suferit un atac de RAA.

Pentru *Streptococcus agalactiae* sursa de infecție este umană transmiterea fiind realizată de la mamă la copil fie vertical fie orizontal iar la adulți prin contact apropiat, chiar și prin contact sexual. Profilaxia constă în depistarea colonizării vaginale cu *Streptococcus agalactiae* a gravidei urmată de vaccinarea acesteia cu vaccin polizaharidic capsular, administrare de ampicilină în perfuzie în timpul nașterii și de ampicilină nou-născutului în primele ore de viață.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Streptococcus pneumoniae, încadrat în grupul filogenetic al MITIS, este alfa-hemolitic, are ca habitat organismul uman. Se prezintă sub formă de coci Gram-pozitivi, alungiți, lanceolați, dispuși în diplo pe axul longitudinal, înconjurați de capsulă, nesporulați, immobili, aerobi și facultativ anaerobi. Creșterea lor este favorizată în atmosferă de 5% CO₂ la o temperatură de 37°C. *Streptococcus pneumoniae* este principalul agent patogen implicat în etiologia otitei medii și în alte infecții respiratorii, incluzând pneumonia.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Fac parte din flora normală a tractului respirator superior (în special bucală, nazală și faringiană), frecvența portajului oro-faringian fiind estimată la 30-70%. Poate coloniza și mucoasa genito-urinară sau intestinul.

Caractere morfotinctoriale

Sunt coci gram-pozitivi, alungiți, lanceolați, dispuși în general în diplo sau în lanțuri scurte. Tulpinile patogene prezintă capsulă ce înconjoară o pereche sau un lanț de pneumococi. Sunt immobili, nesporulați.

Caractere de cultură

Pneumococii sunt germeni pretențioși, care nu se dezvoltă pe medii simple. Necesită medii îmbogățite cu sânge, ser, lichid de ascită, glucoză. Sunt aerobi și facultativ anaerobi, multiplicarea lor fiind favorizată de o atmosferă de 5% CO₂ la o temperatură de 37°C.

Pe geloză-sânge formează colonii de tip R pentru tulpinile necapsulate sau de tip M pentru tulpinile încapsulate, înconjurate de o zonă de α-hemoliză

asemănătoare cu cea a tulpinilor de *Streptococcus viridans*. După 18-24 de ore coloniile mucoide vor prezenta în centru o deprimare ceea ce conferă aspect crateriform coloniei, datorită fenomenului de autoliză. În mediile de cultură lichide tulbură omogen mediul.

Caractere biochimice

Pneumococii elaborează enzime zaharolitice, proteolitice și lipolitice. Descompun zaharurile, glucoza fiind principala sursă de energie pentru pneumococ. Fermentarea inulinei reprezintă un caracter biochimic important, util în diferențierea pneumococilor de *Streptococcus viridans* care produce pe geloză-sânge același tip de hemoliză alfa dar nu fermentează acest zahar.

Produce enzime autolitice fenomen indus și accelerat de bilă, săruri biliare, acizi biliari. Testul numit și testul bilolizei este util în diferențierea pneumococilor de alți streptococi alfa-hemolitici care nu sunt lizați în prezența bilei.

Sunt sensibili la optochin (etil-hidrocupreină), sensibilitatea la această substanță fiind de asemenea utilă în identificarea și în diferențierea pneumococului de alți streptococi alfa-hemolitici.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Sunt germeni puțin rezistenți în condiții de uscăciune, la temperatura camerei, expuși razelor solare. La întuneric, în spută uscată pot supraviețui câteva luni.

Una dintre marile probleme terapeutice decurgând din dezvoltarea rezistenței la antibiotice o reprezintă apariția pneumococilor rezistenți la penicilină. Deseori se pot evidenția tulpini cu multirezistență la antibiotice. Acest tip de rezistență a fost descoperit cu aproximativ 30 ani în urmă; ulterior s-a înregistrat o răspândire a acestor tulpini, care sunt actualmente implicate într-o proporție importantă în cazurile de otită medie, afecțiune foarte frecventă la copii.

Structură antigenică

La nivelul peretelui există polizaharidul C care conține acid teichoic, polizaharid analog cu cel al grupului Lancefield dar antigenic distinct. Are specificitate de specie fiind comun tuturor pneumococilor.

S-a identificat și prezența unei proteine M, de suprafață, distinctă de proteina M a tulpinilor de *Streptococcus pyogenes*, caracteristică pentru fiecare tip. Aceste tipuri de pneumococ sunt distincte față de cele corespunzătoare polizaharidului C.

Cel mai important determinant antigenic și în și același timp caracter de patogenitate este capsula polizaharidică (antigenul K). Antigenul capsular polizaharidic are și el specificitate de tip, împărțind pneumococii în aproximativ 90 de serotipuri capsulare diferite care pot fi identificate prin reacția de umflare a capsulei cu seruri specifice anticapsulare polivalente și monovalente, (Neufeld).

Răspuns imun

Imunitatea față de infecția pneumococică are specificitate de tip și depinde atât de anticorpii opsonizanți anticapsulari, cât și de funcția fagocitelor. Vaccinarea induce producerea de anticorpi față de polizaharidul capsular.

Caractere de patogenitate

Streptococcus pneumoniae este un germen condiționat patogen care poate deveni patogen prin virulență (multiplicare și invazivitate).

Virulența pneumococilor depinde de **prezența capsulei polizaharidice** care conferă rezistența la fagocitoză și permite invazivitatea.

Alt factor de patogenitate este o lizină asemănătoare streptolizinei O, numită **pneumolizină**, eliberată prin autoliza celulei bacteriene. Are efecte hemolitice, leucolitice, dermonecrotice. Își pierde activitatea prin oxidare, este inactivată ireversibil de colesterol și este imunogenă pe durata infecției.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Pneumococul este o bacterie condiționat patogenă, 40-70 % din oameni fiind la un moment dat purtători de pneumococi. Din acest motiv mucoasa respiratorie normală are un grad important de rezistență naturală față de pneumococ.

La apariția infecției concură atât factorii de patogenitate ai tulpinii de pneumococ cât și factorii care predispun gazda la infecție. Dintre aceștia din urmă ar fi de menționat:

- anomalii constituționale sau dobândite ale tractului respirator ca infecții virale, alergii locale, obstrucții bronșice, afectări ale tractului respirator datorate unor substanțe iritante etc.;
- intoxicația cu alcool sau droguri, care deprimă activitatea fagocitară și reflexul de tuse;
- malnutriția, debilitatea generală, hiposplenismul sau deficiențele sistemului complement.

În majoritatea infecțiilor pneumococice există o fază inițială bacteriemică, atunci când acest microorganism poate fi izolat în hemocultură.

În raport cu localizarea infecției pneumococice pot cauza:

- infecții acute ale tractului respirator inferior:
 - bronșită
 - pneumonie
- infecții ale cavităților conectate ale tractului respirator
 - sinusită
 - otită medie acută
 - mastoidită
- alte infecții
 - peritonită
 - meningită
 - endocardită
 - conjunctivită etc.

Pneumonia pneumococică este mai frecventă la adult, se însoțește edem alveolar și exsudat fibrinos, cu hematii și leucocite la nivelul scizurilor.

În exsudat se identifică numeroși pneumococi care pot ajunge în torentul sanguin prin căile de drenaj limfatic pulmonare. Simptomele frecvente sunt: frison, febră, tuse cu expectorație ruginie, junghi toracic.

Aspectul radiologic este caracteristic atunci când este prins un singur lob și constă într-o opacitate cu aspect triunghiular, cu baza la periferie și vârful către mediastin (pneumonie francă lobară). Deși cel mai frecvent este interesat un singur lob, pot fi afectați și 2 sau 3 lobi pulmonari.

La copii apare mai frecvent otita medie acută pneumococică, meningita purulentă și peritonita primitivă.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

Se bazează pe izolarea și identificarea bacteriei din produsul patologic sau pe depistarea antigenului polizaharidic capsular.

Diagnosticul pneumoniei pneumococice este clinic, radiologic și bacteriologic (direct). În diagnosticul de laborator bacteriologic sunt deosebit de importante etapele de recoltare și transportul cât mai rapid al sputei la laborator.

Examinarea microscopică este foarte importantă pentru că trebuie să demonstreze calitatea produsului patologic și să realizeze o identificare prezumtivă a microorganismului implicat pe baza aspectului de diplococi lanceolați, Gram pozitivi, capsulați. Sputa examinată microscopic nu trebuie să conțină celule epiteliale scuamoase de contaminare oro-faringiană și să fie bogată în fibrină, macrofage alveolare și polimorfonucleare care să fie asociate cu cel puțin 10 perechi de coci lanceolați, Gram pozitivi, capsulați.

Izolarea bacteriei se face pe geloză sânge, după cultivare și obținerea coloniilor izolate realizându-se identificarea pe baza caracterelor morfologice, de cultură, biochimice, antigenice și testarea sensibilității la antibiotice. Este semnificativă clinic izolarea a cel puțin 10^6 UFC/ml spută.

Se poate testa patogenitatea tulpinii izolate prin inoculare intraperitoneală la șoarece.

Utilizarea reacției de umflare a capsulei cu seruri specifice imune ce conțin anticorpi anti-capsulari poate grăbi identificarea pneumococilor în spută, în serul sanguin sau în urină.

TRATAMENT

Streptococcus pneumoniae prezenta o foarte mare sensibilitate la penicilină până în anul 1967. Modificările apărute la nivelul unor structuri enzimactice au condus la scăderea afinității penicilinelor pentru acestea și la apariția rezistenței joase iar din 1977-1978 a rezistenței înalte la penicilină.

Tulpinile rezistente la penicilină pot prezenta rezistență și la alte antibiotice, incluzând macrolide, rifampicina, cefalosporine, cloramfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim, clindamicină, tetraciclină, etc.

Antibiograma este astăzi strict necesară în infecțiile pneumococice, testarea sensibilității față de penicilină fiind realizată cu microcomprimate de oxacilină de 1 $\mu\text{g/ml}$. Diametrul zonei de inhibiție ≥ 20 mm corespunde tulpinilor sensibile față de penicilină în timp ce diametrul ≤ 19 mm definește tulpini rezistente. Aceștia din urmă li se determină CMI care pentru tulpini cu nivel scăzut de rezistență la penicilină este de 0,1-1 $\mu\text{g/ml}$ iar pentru cele cu nivel înalt de rezistență are valoare > 2 $\mu\text{g/ml}$. Tulpinile cu rezistență înaltă la penicilină prezintă asociat multirezistență față de antibiotice și corespund anumitor serotipuri capsulare de pneumococ: 6, 9, 14, 19, 23, serotipuri care sunt cuprinse în vaccinurile disponibile actualmente.

EPIDEMIOLOGIE. PROFILAXIE. CONTROL

Infecțiile pneumococice evoluează endemic iar în colectivitățile închise epidemic, de obicei în paralel cu o epidemie de gripă.

Așa cum s-a menționat anterior, există un număr important de persoane purtătoare de pneumococi virulenți, aceștia fiind de fapt sursele de infecție cu

Streptococcus pneumoniae și nu bolnavul. Transmiterea se realizează pe cale aeriană.

La adulți, serotipurile capsulare 1-8 sunt responsabile pentru aproximativ 75% din cazurile de pneumonie pneumococică și pentru mai mult de jumătate din cazurile fatale care urmează unei bacteriemii pneumococice; la copii, cel mai frecvent sunt implicate serotipurile capsulare 6, 14, 19 și 23.

Actualmente este posibilă imunizarea cu polizaharide capsulare specifice, vaccinurile disponibile conținând 14 sau, după 1983, 23 de antigene capsulare ce corespund serotipurilor circulante într-un teritoriu. Aceste vaccinuri pot oferi o protecție de circa 90% împotriva pneumoniei bacteriene și sunt indicate pentru imunizarea copiilor, persoanelor în vârstă, pacienților imunodeprimați.

Vaccinurile antipneumococice au o imunogenicitate redusă la copiii mai mici de 2 ani și la pacienții cu limfom Hodgkin și conțin antigene capsulare cuplate cu o proteină purtătoare extrasă din membrana externă a meningococului.

În plus, sunt de dorit evitarea factorilor predispozanți, stabilirea promptă a diagnosticului și instituirea precoce a antibioterapiei corespunzătoare tulpinii izolate și identificate.

GENUL ENTEROCOCCUS

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Germeii din genul *Enterococcus* sunt coci Gram-pozitivi, ovali sau coco-bacili, dispuși izolat, în perechi sau lanțuri scurte. Sunt aerobi facultativ anaerobi, imobili, nesporulați, catalazo-negativi, oxidazo-negativi.

Enterococii au fost inițial incluși în grupa D Lancefield a genului *Streptococcus*. În 1984, pe baza diferențelor genetice, prin hibridarea ADN-ADN, genul *Enterococcus* s-a separat din genul *Streptococcus*. În prezent genul *Enterococcus* cuprinde 19 de specii dintre care 3 sunt mai frecvent implicate în patologia umană: *E.faecalis*, *E.faecium* și *E.durans* (tabel).

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt componenți ai florei comensale a tractului digestiv și genito-urinar, al omului și animalelor de unde ajung în mediul extern. Pot fi prezenți de asemenea în tractul biliar ceea ce atestă capacitatea lor de a supraviețui la concentrații mari de bilă. Supraviețuiesc în apă, sol, alimente, insecte.

Caractere morfotinctoriale

Sunt coci sferici, ovalari sau coco-bacilari, Gram pozitivi, dispuși în diplo, lanțuri scurte sau izolat. Sunt imobili, necapsulați, nesporulați.

Caractere de cultură

Cresc pe medii suplimentate cu 5% sânge de berbec, incubate aerob la 37°C, cu limite ale temperaturii de creștere între 10°C și 45°C.

Pentru izolarea enterococilor din produse patologice contaminate se folosesc medii de cultură selective: agar bilă-esculină-azid sau agar Columbia cu supliment de colistin și acid nalidixic.

Pe mediile solide formează colonii de tip S α -, β - sau nehemolitice.

Pe agar cu bilă-esculină-azid formează colonii alb-cenușii cu halou negru iar pe mediile selective cu antibiotic coloniile sunt mai mici.

Caractere biochimice

Sunt bacterii catalază și oxidază negative. Cresc în bulion îmbogățit cu 6,5% NaCl, hidrolizează esculina în prezența a 40% bilă sau săruri biliare, produc pyrrolidonyl-arylamidază, leucinaminopeptidază.

Pe baza fermentării manitolului, sorbozei, sorbitolului și a capacității de hidroliză a argininei, enterococii sunt clasificați în 5 grupe în cadrul cărora speciile se diferențiază în funcție de fermentarea arabinozei, rafinozei și zaharozei (tabel I).

Grupa I, cuprinde 5 specii diferențiate pe baza fermentării arabinozei, rafinozei și a utilizării piruvatului;

Grupa II cu 5 specii identificate pe baza producerii de pigment, a mobilității și a capacității de a tolera teluritul;

Grupa III cu 3 și 2 variante specii recunoscute pe baza utilizării piruvatului și a fermentării arabinozei, rafinozei și zaharozei;

Grupa IV cuprinde 2 specii diferențiate pe baza producerii de pigment și a fermentării sorbitolului;

Grupa V cu 1 specie și 3 variante cuprinde tulpini care nu descompun arginina.

Structură antigenică

Toate speciile din genul *Enterococcus* posedă un antigen de suprafață care corespunde serogrupului D în clasificarea Lancefield a streptococilor.

Caractere de patogenitate

Patogeneza infecțiilor cauzate de enterococi este puțin cunoscută. În patogenitatea tulpinilor de enterococ sunt implicați următorii factori de virulență:

- Hemolizina / bacteriocina

Este o proteină codificată plasmidic cu acțiune litică pe hematiile umane. Acționează ca bacteriocină asupra altor coci Gram pozitivi.

- Factorul de agregare

Este o proteină de suprafață, codificată plasmidic, care determină agregarea enterococilor. Poate media aderența enterococilor la celulele epiteliului urinar conferind tulpinilor capacitatea de a cauza infecții urinare. Poate iniția aderența la țesutul endocardic tulpinile care posedă acest factor fiind cauzatoare de endocardită.

- Gelatinaza

Este o peptidază extracelulară similară elastazei produsă de *Pseudomonas aeruginosa*. A fost identificată la un număr mare de tulpini de enterococ izolate de la pacienți cu endocardită și de la pacienți spitalizați.

- Acidul lipoteichoic

Tulpinile de enterococ ce posedă acidul lipoteichoic determină un răspuns inflamator exagerat din partea gazdei.

E. faecium poate avea un înveliș subțire de carbohidrat care conferă tulpinii rezistență la fagocitoză.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Germeii din genul *Enterococcus* au o capacitate deosebită de a supraviețui în variate condiții adverse.

Sunt foarte rezistenți la antibiotice ceea ce pune probleme deosebite în mediul de spital transformându-i în importanți agenți etiologici ai infecțiilor nosocomiale.

Prezintă două feluri de rezistență:

1. rezistență intrinsecă, de nivel scăzut, mediat de gene cromozomale, netransferabilă altor bacterii;
2. rezistență dobândită, de nivel înalt, mediată de plasmide și transpozoni, transferabilă altor bacterii.

Enterococii sunt în mod natural rezistenți la cefalosporine, sulfamide, lincosamide, aztreonam, clindamicină, trimetoprim-sulfametoxazol și față de dozele uzuale de aminoglicozide.

Au o mare capacitate de a dobândi rezistență față de unele antibiotice: rezistență de nivel înalt față de aminoglicozide, penicilină și vancomicină.

Au toleranță față de antibioticele cu acțiune pe peretele celular (penicilină, vancomicină) care doar le inhibă nu le distrug.

Față de penicilină au dezvoltat 2 mecanisme de rezistență: prin beta-lactamază și prin modificarea afinității proteinei de legare a penicilinei (PLP5). Penicilinele de semisinteză au efect bacteriostatic asupra enterococilor.

Rezistența dobândită față de vancomicină are implicații serioase asupra tratamentului și controlului infecțiilor cauzate de tulpini de enterococ vancomicino-rezistent (VRE).

Se cunosc 5 fenotipuri de rezistență la vancomicină codificate genetic: VanA, VanB, VanC, VanD, VanE cele mai frecvente fiind primele două.

Fenotipul VanA manifestă rezistență de nivel înalt față de vancomicină și teicoplanină, este mediat de transpozonul Tn 1546. Acesta conține 7 gene și este prezent mai ales la *E. faecium*.

Fenotipul VanB este rezistent la vancomicină și sensibil la teicoplanină. Este mediat de transpozonul Tn 1547 prezent la *E. faecium* și *E. faecalis*.

Fenotipul VanC prezintă rezistență de nivel scăzut față de vancomicină, este sensibil la teicoplanin. Este mediat de 2 gene cromozomale: *vanC*₁ prezentă constitutiv la *E. gallinarum* și *vanC*₂ prezentă constitutiv la *E. casseliflavus*. Aceste gene sunt netransferabile.

Fenotipul VanD și VanE sunt descrise la un număr mic de tulpini de enterococ.

Posibilitatea transferării genelor de rezistență de la *Enterococcus* la *Staphylococcus aureus* (posibilă *in vitro* dar nesemnălată în clinică) crește importanța acțiunilor de limitare a circulației tulpinilor de enterococ vancomicino-rezistent.

Tabel I. Grupe fenotipice de enterococi (după Facklam, 1998 citat de D.Buiuc, M.Neguț, 1999)

Grup / Specii	manitol	sorboză	sorbitol	arginină	arabinoză	rafinoză	telurit	mobilitate	pigment	zaharoză	piruvat	Hemoliză pe sânge berbec
Grupa I												
<i>E.avium</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	
<i>E.malodoratus</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	
<i>E.raffinosis</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	
<i>E.pseudoavium</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
<i>E.saccharolyticus</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	
Grupa II												
<i>E.faecalis</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	NH
<i>E.faecium</i>	+	-	V	+	+	V	-	-	-	+	-	
<i>E.casseliflavus</i>	+	-	V	+	+	+	-	+	+	+	V	
<i>E.mundtii</i>	+	-	V	+	+	+	-	-	+	+	-	
<i>E.gallinarum</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	
Grupa III												
<i>E.durans</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	β
<i>E.hirae</i>	-	-	-	+	-	V	-	-	-	+	-	
<i>E.dispar</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	
<i>E.faecalis</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	
<i>E.faecium</i>	-	-	-	+	+	V	-	-	-	+	-	
Grupa IV												
<i>E.sulfureus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
<i>E.cecorum</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	
Grupa V												
<i>E.casseliflavus</i>	+	-	V	-	+	+	V	+	+	+	V	
<i>E.gallinarum</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	
<i>E.faecalis</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	
<i>E.columbae</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	

PATOGENIE. BOALA LA OM

Enterococii sunt bacterii condiționat patogene care pot fi implicați etiologic în:

- Infecții ale tractului urinar, nosocomiale (15%) sau comunitare, la pacienți cu uropatii obstructive, mai frecvent la bărbați vârstnici;
- Ocupă locul al III-lea în etiologia endocarditei subacute
- Bacteriemie la vârstnici sau la pacienți cu imunitatea deprimată;
- Infecții mixte (asocieri cu enterobacterii sau bacterii anaerobe) ale plăgilor chirurgicale sau ale ulcerelor de decubit, peritonite, infecții biliare, abcese intraabdominale.

Specia mai frecvent implicată în patologia umană este *E.faecalis* (90%) urmată de *E.faecium* (8%). Ocazional au fost izolați din infecții umane tulpini de *E.raffinosis*, *E.durans*, *E.casseliflavus*, *E.avium*.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice din care poate fi izolat enterococul sunt urina, materiile fecale, secreții din plăgi etc. semnificația clinică a prezenței enterococilor în prelevatele patologice trebuie stabilită cu grijă dată fiind ușurința cu care contamenează prelevatele.

Examenul microscopic este util pentru prelevatele în mod curent sterile.

Izolarea bacteriei se face pe agar cu sânge de berbec sau pentru prelevatele contaminate pe medii selective: agar bilă-esculină-azid sau medii cu supliment selectiv colistin+acid nalidixic pe care sunt inhibate bacteriile Gram negative.

Identificarea se face pe baza caracterelor microscopice, biochimice.

Identificarea preliminară se face pe baza următoarelor reacții pozitive: testul la bilă-esculină; toleranța la 6,5% NaCl, producerea de pyrrolidonyl-arylamidază, leucinaminopeptidază, sensibilitate la vancomicină.

Identificarea definitivă are la bază caracterele fenotipice:

- fermentarea zaharurilor utilă în încadrarea în grupe și pentru identificarea speciilor în cadrul grupei;
- hidroliza argininei;
- testul toleranței la telurit;
- testul mobilității;
- pigmentația;
- utilizarea piruvatului din mediul de cultură.
- Identificarea unor markeri epidemiologici care permit tiparea și subtiparea tulpinilor de enterococ:
 - Metode clasice: bacteriocinotipia, lizotipia, antibiotipia, serotipia;
 - Metode moleculare: determinarea profilului plasmidic, analiza endonucleazei de restricție a ADN-genomic, analiza profilului de macrorestricție prin electroforeză în câmp pulsat.

Obligatoriu, după izolarea și identificarea tulpinii de enterococ se efectuează antibiograma testând antibiotice beta-lactamice, aminoglicozide, glicopeptide etc. este indicată determinarea CMI și a producerii de beta-lactamază în vederea conducerii unui tratament eficient care să ducă la vindecarea pacientului și totodată să evite selectarea de tulpini rezistente.

TRATAMENT

Tratamentul infecțiilor cauzate de enterococi este indicat a se face sub controlul antibiogramei dată fiind rezistența acestora față de acțiunea substanțelor antibacteriene.

În infecțiile urinare poate fi utilă nitrofurantoina sau fluorochinolonele.

Este utilă asocierea unui antibiotic cu acțiune asupra peretelui celular cu un aminoglicozid datorită efectului sinergic și bactericid al acestei asociații.

Pentru tulpinile vancomicino-rezistente sunt disponibile 2 antibiotice noi, quinuprisin/dalfopristin și linezolid, deși s-au semnalat deja tulpini rezistente și față de aceste substanțe antimicrobiene.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție o constituie omul sau animalul colonizat sau cu infecții cauzate de enterococi. Transmiterea se realizează indirect prin intermediul suporturilor materiale: obiecte contaminate, aer, apă, sol.

Fiind germeni oportuniști cauzează infecții numai în anumite condiții printre factorii de risc încadrându-se: spitalizarea prelungită, manevre invazive terapeutice sau exploratorii, intervenții chirurgicale pe tractul digestiv, urinar, deficiențe ale sistemului imun, uzul irațional de antibiotice etc.

Ca măsuri de prevenire a infecțiilor cu enterococi, în special cu enterococ vancomicină rezistent este necesară o activitate de supraveghere susținută care să aibă în vedere:

- Depistarea tulpinilor VRE printr-un screening de rutină a tulpinilor de enterococ izolate;
- Decontaminarea suprafețelor;
- Izolarea pacienților cu infecții cauzate de VRE etc.

Coci gram pozitivi, anaerobi

GENUL PEPTOSTREPTOCOCCUS ȘI GENUL PEPTOCOCCUS

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Genul Peptostreptococcus cuprinde numeroase specii: Peptostreptococcus magnus, Peptostreptococcus asaccharolyticus, Peptostreptococcus anaerobius, Peptostreptococcus prevotii, Peptostreptococcus micros, Peptostreptococcus hydrogenalis, Peptostreptococcus tetradius (fosta Gaffkya anaerobia) etc. Este unicul gen al grupeii cociilor Gram pozitivi anaerobi implicat în infecții clinice.

Genul Peptococcus cuprinde o singură specie: Peptococcus niger.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Peptostreptococcus spp. face parte din flora normală a organismului uman fiind prezent în cavitatea bucală, tractul intestinal, vagin, uretră și pe tegument.

Este izolat cu frecvență mare din toate produsele patologice prelucrate și poate fi implicat în infecții ale diferitelor situsuri ale macroorganismului alături de alte microorganisme aerobe sau anaerobe.

Peptococcus niger este găzduit în aria ombilicală și vaginală.

Caractere morfotinctoriale

Peptostreptococcus spp. și Peptococcus se prezintă sub formă de coci Gram pozitivi de diferite dimensiuni. Peptostreptococcus magnus are diametrul cel mai mare în timp ce Peptostreptococcus micros este cel mai mic, prezentând tendința de a se dispune în lanțuri scurte. Peptostreptococcus anaerobius, Peptostreptococcus productus au formă ovalară și sunt dispuși în diplo sau în lanțuri.

Peptococcus niger cuprinde coci Gram pozitivi așezați în grămezi.

Caractere de cultură

Pentru a putea cultiva germenii din genul Peptostreptococcus și Peptococcus pasul cel mai important este recoltarea și transportul rapid și corect al produsului patologic la laborator. Produsele patologice trebuie obținute obligatoriu necontaminate având în vedere prezența cocilor anaerobi în flora normală a organismului uman. Importantă este de asemenea tehnica de cultivare și mediile de cultură utilizate. Nerespectarea acestor condiții duce la obținerea unor rezultate false și la concluzia greșită conform căreia infecția ar fi cauzată doar de bacterii aerobe.

Cresc lent pe toate mediile neselective incubate 48 de ore la 37°C, în anaerobioză. Sunt inhibitate pe mediile selective care conțin vancomicină. Coloniile sunt mici, de tip „S”, opace, alb-cenușii, nehemolitice cu unele variații în raport cu specia.

Peptococcus niger cultivă greu coloniile apărând după 96 de ore de la însămânțare. Sunt mici, de tip „S”, lucioase, negre sau măslinii devenind cenușii după expunere la aer.

Caractere biochimice și de metabolism

Identificarea completă a germenilor din genul Peptostreptococcus și Peptococcus este dificilă din cauza dificultăților de cultivare. Pentru încadrarea în gen sunt necesare teste biochimice și metode cromatografice de identificare.

Peptostreptococcus spp. sunt catalază negativi, descompun fermentativ zaharurile (cu unele excepții care sunt azaharolitice), descompun peptonele și aminoacizii cu formare de acid acetic și butiric, mai rar acid caproic, izocaproic și lactic.

Peptococcus niger este catalază pozitiv și azaharolitic, descompune peptonele și aminoacizii cu eliberare de acid butiric și caproic.

Rezistența față de factorii fizici, chimici, biologici

Marea majoritate a tulpinilor din genul Peptostreptococcus și Peptococcus sunt încă sensibile față de cloramfenicol, metronidazol, rifampicină, vancomicină, fluorochinolone de ultimă generație.

Sunt rezistenți față de peniciline prin producerea de proteine care leagă antibioticele beta-lactamice. După tratamentul cu clindamicină au fost izolate tulpini care prezentau rezistență indusă față de macrolide-lincosamide.

Caractere de patogenitate

Patogenitatea tulpinilor din genurile Peptostreptococcus și Peptococcus este asigurată de următorii factori:

- Capsula;

- Hialuronidaza – prezentă la tulpinile implicate în boala parodontală;
 - Enzime proteolitice – produse de tulpini implicate în infecții supurative ale țesuturilor moi. Au fost identificate collagenaze și gelatinaze la tulpini de *Peptostreptococcus micros* și *Peptostreptococcus magnus*;
 - Proteina L produsă ca structură de suprafață de unele tulpini de *Peptostreptococcus magnus* afectează funcția imunoglobulinelor umane prin capacitatea lor de a se lega de lanțul K al domeniului variabil al acestora.
- Peptococcus niger* este probabil nepatogen.

Procesul infecțios

Infecțiile având *Peptostreptococcus* spp. ca etiologie sunt mai frecvente în țările în curs de dezvoltare unde tratamentul este inadecvat sau chiar neglijat, pot apare la orice vârstă, pot avea orice localizare și cel mai frecvent sunt asociate cu alte bacterii aerobe sau anaerobe. Specia cel mai frecvent izolată din infecții umane este *Peptostreptococcus magnus* care de cele mai multe ori este izolat în cultură pură.

Afinitatea diferitelor specii de peptostreptococ pentru țesuturi este redată în tabelul II.

Peptostreptococcus poate cauza infecții cu localizare variată: sistem nervos central, cap, gât, torace, abdomen, regiune pelviană, tegument, țesuturi moi (tabel III).

În infecțiile tractului respirator peptostreptococii sunt asociați cu coci Gram pozitivi aerobi și anaerobi și cu streptococi microaerofili: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp.

În infecțiile tractului digestiv sunt în general asociați cu *E.coli*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium* spp.

Infecțiile din sfera pelviană la femeie sunt cauzate cel mai frecvent de *Peptostreptococcus* spp. în asociere cu *Prevotella bivia* și *Prevotella disiensis*. În urma avortului septic se pot instala infecții cu coci Gram pozitivi anaerobi asociați cu streptococi microaerofili, infecții care sunt adesea asociate cu bacteriemie.

Tabel II. Afinitatea speciilor de *Peptostreptococcus* pentru situsuri din organismul uman

Localizare	Specia
Infecții ale cavității bucale	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
Infecții ale tractului respirator	<i>Peptostreptococcus magnus</i> , <i>P.micros</i>
Infecții ale tegumentului și țesuturilor moi	<i>Peptostreptococcus magnus</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> , <i>P.vaginalis</i> , <i>P.anaerobius</i>
Abcese ale organelor interne	<i>Peptostreptococcus magnus</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i>
Infecții ale tractului intestinal	<i>Peptostreptococcus magnus</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
Infecții ale tractului genito-urinar feminin	<i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P.anaerobius</i> , <i>P. prevotii</i> , <i>P. magnus</i> , <i>P. micros</i> , <i>P. vaginalis</i> , <i>P. tetradius</i>
Infecții ale oaselor, articulațiilor, infecții ale ulcerelor de gambă și plantă	<i>Peptostreptococcus magnus</i> , <i>Peptostreptococcus prevotii</i> , <i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> , <i>P.vaginalis</i> , <i>P.anaerobius</i>

Cele mai frecvente cauze de bacteriemie cu *Peptostreptococcus* spp. sunt infecțiile oro-faringelui, ale tractului respirator inferior, tractului genital feminin, ale pielii și țesuturilor moi și infecțiile abdominale. Factorii predispozanți pentru bacteriemie includ afecțiunile maligne, ulcerările, imunodepresia, intervențiile stomatologice, intervențiile chirurgicale recente pe tubul digestiv sau în sfera genitală.

Sunt mai frecvent întâlnite la pacienți care prezintă o serie de factori predispozanți cum ar fi: intervenții chirurgicale, imunodeficiență, afecțiuni maligne, diabet zaharat, terapie cu antiinflamatoare steroidiene, prezența unor corpi străini, tulburări de circulație etc.

Tabel III. Localizarea infecțiilor cauzate de *Peptostreptococcus* spp.

Localizare	Formă clinică
sistem nervos central	empiem subdural, abces cerebral (ce apar ca și complicații ale infecțiilor urechii, mastoidei, sinusurilor, dinților)
tract respirator superior	abcese periodontale, parotidită purulentă, abcese peritonsilare și retrofaringeale, sinusită cronică, mastoidită cronică
infecții pleuropulmonare	pneumonia de aspirație, abces pulmonar, mediastinită
infecții intraabdominale	peritonită, abces hepatic, abces splenic
infecții ale zonei pelviene feminine	endometrită, abces pelvian, abces al glandelor Bartholin, infecții postoperatorii în sfera pelviană
sistem osos	osteomieliță, artrită
infecții ale pielii și țesuturilor moi	infecții ale arsurilor, gangrena necrozantă, fasciită necrozantă, ulcer de decubit, abcese de sân, rect sau anus etc.
bacteriemie	endocardită, abces paravalvular, pericardită

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Fiind germeni foarte pretențioși peptostreptococii sunt greu de izolat adesea fiind scăpați din vedere. Izolarea lor necesită metode speciale de recoltare și transport a produsului patologic ca și medii și metode speciale de cultivare.

Sunt preferate produsele patologice lichide sau fragmente de organe recoltate prin puncție. Metoda cea mai indicată de recoltare este cea prin aspirație utilizarea prelevatelor pe tampon fiind contraindicată.

Produsele biologice recoltate din situsuri normal sterile (sânge, articulații, cavitate peritoneală, lichid cefalo-rahidian) sunt recoltate după antisepsia prealabilă a tegumentului.

Urina este recoltată prin puncție suprapubiană. Colecția sinusurilor maxilare este recoltată prin puncție via *fossa canina* sau *meatul nazal inferior*.

Alte produse patologice utilizate în diagnostic sunt colecțiile abceselor sau ale plăgilor adânci, recoltate prin puncție, aspirate transtraheale, țesut pulmonar recoltat prin puncție-biopsie, colecția recoltată prin puncția fundului de sac Douglas etc.

Probele din tractul respirator inferior sunt aproape întotdeauna contaminate cu floră indigenă. De aceea utilă este recoltarea lichidului de spălătură bronșică și cultura cantitativă a acestuia.

Transportul materialului recoltat trebuie să fie cât mai urgent, în recipiente care să asigure anaerobioza. Există dispozitive care asigură un mediu lipsit de oxigen prin generarea unui amestec de bioxid de carbon-hidrogen-azot, atmosferă controlată prin prezența unui indicator. Prelucrarea produselor recoltate trebuie efectuată în maximum 30 minute de la recoltare urmând etapele:

- frotiu Gram – aduce informații preliminare asupra tipurilor de microorganisme prezente, asupra terapiei de primă intenție și servește ca un control de calitate al produsului recoltat;

- inocularea mediilor de cultură bogate nutritiv, prereduse, proaspăt turnate care vor fi incubate 48 de ore în condiții de anaerobioză;

- teste enzimatic rapide care permit identificarea după 4 ore de incubare: gaz-lichid cromatografie, PCR etc.

- frotiu Gram din cultură;

- teste biochimice pentru identificarea la nivel de gen sau specie;

- antibiograma – este indicată pentru izolatele din situsuri normal sterile, pentru tulpinile izolate din hemoculturi, endocardite, infecții ale osului, articulațiilor sau craniului, infecții de proteză, abcese cerebrale și se efectuează prin metoda microdiluțiilor în agar/bulion sau utilizând E-teste. Agenții față de care se testează tulpinile de *Peptostreptococcus* sunt: penicilină, penicilină+inhibitor de betalactamază, clindamicină, cloramfenicol, cefalosporine de generația a II-a, noile chinolone, metronidazol, carbapenem.

TRATAMENT

Terapia inadecvată a infecțiilor cauzate de *Peptostreptococcus* spp. poate duce la agravarea infecției.

Ca prim pas se impune toaleta chirurgicală a focarului infecțios cu asigurarea unei circulații corespunzătoare și a unei bune oxigenări a țesuturilor, drenarea colecțiilor purulente etc.

Cultivarea dificilă a peptostreptococilor, rezistența marcată față de antibiotice ca și etiologia polimicrobiană a infecției complică tratamentul.

În alegerea tratamentului antimicrobian se ține cont de:

- o rezultatele antibiogramei;
- o să acopere concomitent atât flora aerobă cât și flora anaerobă prezentă la locul infecției;

- o toxicitatea antibioticului;

- o activitatea bactericidă;

- o efectele asupra florei normale a organismului uman;

- o se preferă tratamentul parenteral terapiei orale;

Durata tratamentului este de 6 – 8 săptămâni.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Măsurile de prevenire și control în infecțiile cauzate de *Peptostreptococcus* și *Peptococcus* constau în:

- antibioterapie profilactică în intervențiile chirurgicale intraabdominale pentru a preveni infecțiile anaerobe;
- aspirarea secrețiilor orale, igiena cavității bucale, menținerea unui pH gastric scăzut la pacienții cu afecțiuni neurologice pentru a preveni aspirarea florei orale;
- irigarea plăgilor, debridarea țesuturilor necrotice, drenarea colecțiilor purulente, asigurarea unei bune circulații pentru prevenirea infecțiilor cutanate și ale țesuturilor moi.

Coci gram negativi, aerobi

GENUL NEISSERIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Numele genului Neisseria provine de la cel care a descris pentru prima dată germenul cauzator al gonoreei, medicul german A.L.S. Neisser.

Familia Neisseriaceae include mai multe genuri: Neisseria, Moraxella, Acinetobacter, Kingella.

În genul Neisseria, speciile importante pentru patologia umană sunt N. meningitidis (meningococul) și N. gonorrhoeae (gonococul).

Celelalte Neisserii sunt componente ale microbiotei indigene a mucoasei buco-faringiene, uro-genitale și conjunctivale, au virulență limitată afectând gazde imunocompromise, cauzând:

- Meningită – N.lactamica; N.mucosa; N.flava;
- Endocardită – N.mucosa; N.sicca; N.subflava; N.cinerea; N.elongata;
- Septicemie – N.lactamica; N.subflava;
- Osteomielită, artrită, sinuzită, otită medie, bronhopneumonie, conjunctivită etc.

CARACTERE GENERALE

Habitat

N. lactamica a fost evidențiată la 3-40% din persoanele sănătoase, la nivel nazal sau faringian. A fost izolată mai frecvent la copii decât la adulți.

Moraxella catarrhalis: 40-50% din copiii de vârstă școlară sănătoși adăpostesc această bacterie ca și componentă a florei normale a tractului respirator superior. Poate fi implicată și într-o serie de infecții (bronșite, pneumonii, sinuzite, otite, conjunctivite), în special la gazde cu deficiențe ale capacității de apărare.

N. gonorrhoeae se poate găsi la nivelul mucoaselor genitale la gazdele infectate (indiferent dacă infecția este sau nu simptomatică).

N. meningitidis a fost izolată la persoane sănătoase de la nivel nazal sau faringian. Portajul rinofaringian reprezintă sursa epidemică majoră și poate fi punctul de plecare al meningitei. La pacienții cu meningită meningococică, germenul se multiplică în lichidul cefalorahidian (LCR).

Microorganismele prezentate mai sus au necesități nutritive complexe și se pot dezvolta la anumite temperaturi.

Data fiind implicarea în patologia umană în continuare vor fi prezentate doar două dintre speciile enumerate, respectiv *N. gonorrhoeae* și *N. Meningitidis* care sunt specii strict parazite pentru om.

Caractere morfotinctoriale

Atât meningococul cât și gonococul sunt coci gram-negativi, reniformi (cu fețele adiacente aplatizate; aspect de boabă de cafea). Sunt dispuși în diplo, ocazional formează tetrade.

Sunt imobili, înconjurați de o structură capsulară comună, cu o structură de polifosfat sau polizaharid-polifosfat (în cazul meningococului), situație în care capsula este mai evidentă. În funcție de structura capsulei există mai multe serogrupuri.

Excepție face *N. elongata* care apare ca bacil fin, scurt, cu dispoziție în perechi sau lanțuri scurte.

Caractere de cultură

Neisseriile sunt bacterii strict aerobe. *N. meningitidis* și *N. gonorrhoeae* au nevoie în vederea izolării de medii de cultură îmbogățite cu hemină, extract de levură, autolizat de ficat etc., cum ar fi mediul Hyl sau Thayer-Martin. Necesitățile nutritive sunt mai mari în cazul gonococului, meningococul poate cultiva și pe geloză-sânge. Creșterea este influențată negativ de uscăciune și de prezența acizilor grași. Temperatura optimă de incubare este de 35-37°C. Atmosfera umedă suplimentată cu 3-10% CO₂ este necesară creșterii. Coloniile apar în 24-48 de ore, mai rapid în cazul meningococului.

Gonococul produce colonii de tip S, cu dimensiuni de 0,5-1 mm sau colonii de tip M, nepigmentate, transparente sau opace. Pe aceeași placă pot apărea până la cinci tipuri de colonii (T1-T5), ceea ce poate facilita identificarea. Placa este eliminată în cazul în care nu se dezvoltă colonii după 72 de ore.

Meningococul poate crește pe geloză-chocolat sau pe geloză-sânge, incubate în atmosferă umedă, în aerobioză suplimentată cu 5% CO₂. Coloniile de meningococ sunt de tip S, cu dimensiuni de circa 1 mm, transparente, nepigmentate. Tulpinile încapsulate (A, C) formează colonii de tip M (mucoide).

Caractere biochimice

Produc citocrom-oxidază, ceea ce reprezintă un test cheie în identificare.

Metabolizează diferiți carbohidrați, activitate care poate fi utilă în identificare. Spre exemplu, gonococul poate metaboliza glucoza, nu și maltoza, în timp ce meningococul metabolizează ambele zaharuri menționate.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Neisseriile implicate în patologia umană sunt foarte sensibile la uscăciune, lumină solară și la variații de temperatură, precum și la majoritatea antisepticelor și dezinfectantelor. Produc enzime autolitice.

Gonococul este o bacterie fragilă, sensibilă la temperaturi joase și la uscăciune. S-a adaptat la transmiterea intimă, sexuală. De menționat prezența anumitor plasmide implicate în rezistența la antibioticele beta-lactamice.

Meningococul este foarte sensibil în mediul extern fiind repede distrus la uscăciune și și la temperaturi joase.

Structură antigenică

La nivelul membranei externe Neisseriile au lanțuri zaharidice scurte, care alcătuiesc lipooligozaharidul (LOZ) denumit și endotoxină. În funcție de structura acestuia există mai multe serotipuri, 6 în cazul gonococului și 12 în cazul meningococului. Gonococii pot exprima simultan mai multe structuri antigenice diferite. Lipooligozaharidul se fragmentează în lipidul A, responsabil pentru toxicitate, și respectiv în oligozaharidul O.

Neisseria gonorrhoeae prezintă o remarcabilă heterogenitate antigenică. Își poate modifica structurile de suprafață evitând mecanismele de apărare ale gazdei. Ar mai fi de amintit următoarele structuri antigenice care în același timp sunt și factori de virulență ai bacteriei:

- pilii: au o structură proteică, intervin în atașarea la epiteliul mucoaselor umane. Protejează gonococul față de fagocitoză interferând efectul ucigaș al neutrofilelor. Sunt alcătuiți din pilină, o substanță de natură proteică. Există sute de tipuri de piline. Structura pililor diferă de la o tulpină la alta și chiar în cadrul aceleiași tulpini. Prezența pililor este asociată cu virulența;

- proteine prezente în membrana externă:

- porinele (proteina I, proteina POR), care formează canale în membrana externă. Fiecare tulpină prezintă un singur tip de porină care diferă de la o tulpină la alta. Acest lucru este util pentru serotiparea gonococilor fiind identificate astfel 16 serotipuri. Promovează supraviețuirea intracelulară;

- proteina II (OPA, proteina de opacitate) intervine în procesul de aderare a gonococului de celula țintă și a fost identificată la tulpinile care produc colonii opace;

- proteina care leagă fierul (iron binding protein) este similară ca greutate cu porinele; se exprimă atunci când aportul de Fe este insuficient.

- IgA₁ proteaza care distruge imunoglobulina A₁;

- capsula din polifosfat.

Neisseria meningitidis

Meningococul posedă structuri antigenice care permit încadrarea sa în serogrupe și serotipuri.

Antigenele capsulare, de natură polizaharidică, permit identificarea a 13 grupe serologice dintre care cele mai importante sunt grupele: A, B, C, X, Y și W135. Antigenul polizaharidic B este identic cu cel al tulpinilor de E.coli K₁ ceea ce explică reacțiile încrucișate cu seruri imune specifice.

Meningococul este de asemenea clasificat în serotipuri și imunotipuri pe baza diferențelor prezentate de proteinele membranei externe și a compoziției în oligozaharide a LOZ.

Atât pilii cât și proteinele membranei externe sunt prezente și în cazul meningococului, însă fără fenomenele de variație antigenică.

Răspuns imun

În **infecțiile cu gonococ** apare un răspuns imun, dar datorită fenomenelor de variație antigenică a pilinei și de variație de fază în expresia pilinei, nu există practic imunitate postinfecțioasă și aceeași persoană poate face infecții repetate iar vaccinurile elaborate sunt ineficiente.

Anticorprii formați ca răspuns la infecția gonococică sunt predominant IgG₃. Se formează anticorpi față de pilină, proteina Opa și LOZ, și în cantitate foarte mică față de proteina Por. Anticorprii anti-LOS activează complementul, eliberează componenta C_{5a} a acestuia care are efect chemotactic pentru neutrofile. Față de proteina Rmp se formează anticorpi IgG și anticorpi IgA₁ secretori.

În cazul **meningococului**, imunitatea este mediată în primul rând de răspunsul imun umoral. Imunitatea mediată celular este asigurată de anticorpi anticapsulari, antilipooligozaharid și antimembrană externă, care apar după infecții subclinice sau chiar și datorită stării de portaj asimptomatic. Acțiunea bactericidă necesită prezența complementului, persoanele cu deficit al sistemului complement (mai ales componentele C₆-C₉) prezentând un risc foarte mare pentru infecția meningococică.

Nou-născuții sunt protejați în primele 6 luni de viață de anticorprii de tip IgG proveniți de la mamă.

Caractere de patogenitate

În cazul ambelor microorganisme, patogenitatea se datorează existenței factorilor care permit atașarea de celulele gazdei, multiplicării la poarta de intrare și respectiv capacității de invazivitate. Prezența capsulei și a lipooligozaharidului contribuie în mod diferențiat (mai important în cazul meningococului) în patogenia bolilor produse.

Neisseria gonorrhoeae

Factorii de virulență ai gonococului și acțiunile lor biologice sunt redată în tabelul IV.

Meningococul dispune de pili care permit atașarea de celulele epiteliului nazo-faringian. Alți factori de virulență ai meningococului sunt redați în tabelul V.

Meningococul poate supraviețui intracelular în absența imunității umorale.

PATOGENIE ȘI PATOLOGIE SPECIFICĂ. PRINCIPALELE AFECȚIUNI PRODUSE

Neisseria gonorrhoeae

Datorită apariției tulpinilor de gonococ rezistente la antibiotice și existenței unui număr important de infecții asimptomatice (în special la femei), infecțiile gonococice continuă să reprezinte o problemă importantă de sănătate publică inclusiv în țările cu o economie dezvoltată.

Tabel IV. Factorii de virulență ai *Neisseria gonorrhoeae* (după B.T.Buiuc)

Factorul de virulență	Efectul biologic
Pilina	Proteină; Mediază atașarea la epiteliul mucoaselor umane (epiteliul vaginal, al trompelor uterine, cavitatea orală) Interferă efectul ucigaș al neutrofilelor
Proteina Por (proteina I)	Porină Promovează supraviețuirea intracelulară prin împiedicarea fuziunii fagolizozozmilor în neutrofile
Proteina Opa (proteina II)	Proteina de opacitate Mediază atașarea fermă la celulele eucariote
Proteina Rmp (proteina III)	Proteina modificabilă prin reducere Protejează alte antigene de suprafață (proteina Por, LOS) de acțiunea bactericidă a anticorpilor
Proteine de legare a transferinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian
Proteine de legare a lactoferinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian
Proteine de legare a hemoglobinei	Mediază achiziționarea de fier pentru metabolismul bacterian
LOS	Lipooligozaharid Activitate de endotoxină
Proteaza IgA₁	Distruge IgA ₁ Nu este cunoscut rolul în virulență

Tabel V. Factorii de virulență ai *Neisseria meningitidis*

Factorul de virulență	Efectul biologic
Pilii	De natură proteică; Mediază atașarea la receptorii specifici de pe celulele columnare non ciliate din nazo-faringe
Capsula polizaharidică	Rol antifagocitar; bacteria se poate multiplica intracelular, migrează apoi în spațiile subepiteliale.
Endotoxina LOS	Lipooligozaharid Activitate de endotoxină Mediază manifestările clinice: afectarea epitelului vascular, coagularea intravasculară diseminată etc.
Proteaza IgA₁	Presupus factor de virulență

După pătrunderea în organismul receptiv, gonococul se atașează de mucoasa genito-urinară sau oculară, penetrează în celule și se multiplică, traversează celulele spre spațiul subepitelial unde produce local o supurație acută. Atașarea gonococului de celulă se realizează prin intermediul pililor (tulpinile fără pili sunt avirulente). Atașarea strânsă de celulă și apoi pătrunderea în celulă este mediată de proteina Opa. Proteina Por protejează gonococul fagocitat de omorârea intracelulară inhibând formarea fagolizozomului. LOZ stimulează răspunsul inflamator și eliberarea de interferon α , responsabil de majoritatea simptomelor asociate cu infecția gonococică.

În timp se poate produce o invazie tisulară care poate conduce la instalarea unor fenomene inflamatorii cronice și la apariția fibrozei, în special în cazurile netratate. Boala se numește gonoree sau blenoragie.

Mai frecvent, la bărbați apare uretrita gonococică manifestată prin secreție galben-verzuie, cremoasă, dureri la micțiune. În lipsa tratamentului, aceasta poate afecta prin invazie epididimul și printr-o eventuală fibroză poate determina apariția de stricturi uretrale.

La femei, gonoreea se localizează endocervical, dar se poate extinde la nivelul uretrei, vaginului, glandelor Bartholin, trompelor uterine cu posibilitatea apariției unor fibroze și obstrucții care conduc la sterilitate. La fete apare vulvo-vaginită.

Simptomele caracteristice sunt: scurgere vaginală, disurie și dureri abdominale. Infecția netratată se poate complica pe cale ascendentă (salpingită, abces tubo-ovarian, boală inflamatorie pelvină) ceea ce poate avea ca urmare sarcina extrauterină sau sterilitate.

Dacă mama are gonoree și nou-născutul se naște pe cale naturală, va apărea oftalmia gonococică (ophtalmia neonatorum) care este prevenită prin instilații de soluție de nitrat de Ag 1% în sacul conjunctival al nou-născutului.

Alte boli asociate cu *N.gonorrhoeae* sunt gonoreea ano-rectală și faringita.

Rareori gonococul poate disemina pe cale sanguină (bacteriemie), cu apariția unor leziuni dermice, artrite, tenosinovite gonococice, mai rar endocardită, excepțional meningită gonococică.

Neisseria meningitidis

Meningococul reprezintă una din primele trei cauze de meningită infecțioasă la adulți alături de *Haemophilus influenzae* și *Streptococcus pneumoniae*. Contagiozitatea este mare, dar se estimează că meningita meningococică apare la 1/1000 din persoanele contaminate. Acest lucru se datorează:

- inhibiției acțiunii bactericide a serului prin fragmente blocante de IgA;
- absenței anticorpilor bactericizi specifici de grup și de serotip IgM și IgG;
- deficitelor congenitale în sinteza factorilor C₅-C₈ ai complementului.

Sucesiunea fenomenelor implicate în producerea meningitei sunt următoarele: colonizarea mucoasei respiratorii, invazia locală, bacteriemia, favorizată de prezența capsulei care protejează bacteria de fagocitoză, invazia meningeală, alterarea barierei hemato-encefalice, inflamația în spațiul subarahnoidian și creșterea presiunii intracraniene. Apariția vasculitei cerebrale și scăderea fluxului sanguin la nivel cerebral reprezintă factori de agravare. Activarea mai multor cascade inflamatorii (în special datorită eliberării unor cantități importante de endotoxină) pot conduce la instalarea unui sindrom de coagulare intravasculară diseminată și la o evoluție nefastă spre deces.

Infecția meningococică este asociată cu următoarele tablouri clinice:

- meningita cerebro-spinală (epidemică)
- septicemia (meningococemia)
- alte sindroame: rino-faringita, otita medie, conjunctivita infecției ale tractului respirator inferior, pericardita, artrita, etc.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

In gonoree, recoltarea produsului patologic se realizează diferențiat în funcție de vârstă, sex și de practicile sexuale ale individului infectat. La femei, recoltarea se va face de la nivelul colului uterin iar la bărbați, recoltarea se va face de la nivelul uretrei, eventual utilizând un tampon steril uretral, introdus cu blândețe circa 2 cm în uretra anterioară.

Este imperios necesar transportul foarte rapid la laborator, în condiții care să permită supraviețuirea microorganismului. Ar fi de preferat inocularea imediată pe mediul de cultură.

Microscopia frotiului colorat cu albastru de metilen este o metodă sensibilă și specifică pentru depistarea infecției gonococice la bărbat cu uretrită purulentă. Este lipsită de sensibilitate și specificitate la cei asimptomatici ca și în depistarea cervicitei gonococice la femei.

Observarea unor perechi de coci gram-negativi, în „boabă de cafea”, intra și extraleucocitari pe frotiului colorat Gram are valoare diagnostică.

Prezența gonococului poate fi detectată direct în produsul patologic, utilizând fie o tehnică de tip ELISA, fie sonde nucleotidice (ADN) care ar putea hibridiza cu ARNr extras din celulele microbiene. Sondele de acizi nucleici comerciale pentru depistarea gonococilor sunt specifice, sensibile și rapide rezultatul fiind obținut în 2 – 4 ore, dar au dezavantajul că nu pot monitoriza rezistența față de antibiotice.

Cultivarea gonococilor este indicat să fie făcută în paralel pe 2 medii, unul selectiv și unul neselectiv pentru a se depista tulpini de gonococ sensibile la vancomicină.

Identificarea preliminară a gonococului pe baza izolării de diplococi gram negativi, oxidază pozitivi este urmată de identificarea biochimică.

După apariția tulpinilor rezistente la penicilină antibiograma a devenit necesară, la fel ca și testarea producerii de beta-lactamază.

În meningita meningococică, datorită gravității bolii care poate evolua spre deces sau poate produce sechele, diagnosticul este urgent.

De importanță maximă este recoltarea produsului patologic înainte de orice terapie antibiotică și transportul rapid al lichidului cefalo-rahidian către laborator. Este de preferat realizarea însămânțarea produsului patologic "lapatul bolnavului" chiar dacă pentru concentrarea germeilor este necesară centrifugarea LCR.

În sedimentul LCR se remarcă reacția inflamatorie intensă cu polimorfonucleare și perechi de coci gram-negativi intra și extraleucocitar.

Cultivarea se realizează de geloză-sânge sau geloză chocolat iar identificarea meningococilor pe baza caracterelor biochimice.

Detectarea antigenelor direct în produsul patologic prin latex aglutinare, coaglutinare sau contraimmunoelectroforeză utilizând seruri polivalente anti-A, C, Y, W -135 și respectiv seruri monovalente anti-B (care pot fi utile și în identificarea „încrucișată” a antigenului K₁ al E.coli) nu are mare sensibilitate și specificitate.

Majoritatea tulpinilor de meningococ au rămas sensibile la penicilină. Totuși, realizarea antibiogramei poate fi utilă, orientând continuarea tratamentului.

TRATAMENT

Dacă înainte penicilina era antibioticul de elecție în tratamentul infecției gonococice, astăzi au părut tulpini rezistente prin producere de β -lactamaze de tip TEM codificate de gene plasmidice sau cu rezistență mediată cromozomal. Aceasta din urmă se extinde și la tetraciline, eritromicină, aminoglicozide, de aici reieșind necesitatea efectuării antibiogramei cel puțin pentru cazurile care nu răspund la terapie. Ca o regulă generală este de reținut necesitatea tratamentului partenerilor sexuali. Pentru tulpinile de gonococ sensibile se poate utiliza penicilina, având ca alternativă spectinomycină sau ceftriaxonă. Se recomandă ceftriaxonă în doză unică eventual în asociere cu doxicilina sau azitromicina.

În **meningita cu meningococ** pot fi utile penicilina G, ceftriaxonă, cefotaximul sau cloramfenicolul. Rezistența la penicilină prin β -lactamaze este excepțională în timp ce rezistența produsă prin alterări genetice ale proteinelor de legare a penicilinei este în creștere. În meningită tratamentul este mai complex, avându-se în vedere posibilele complicații.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este reprezentată de om, bolnav simptomatic sau asimptomatic în cazul gonoreei, purtător sănătos în cazul meningitei cu meningococ.

Omul este singura gazdă naturală pentru **gonococ**. Prezența acestuia pe mucoasa uretrală, pe endocolul uterin sau pe mucoasa faringiană nu este

interpretată niciodată ca stare de portaj ci ca infecție asimptomatică pentru că există riscul de apariție a complicațiilor ascendente sau de tip bacteriemic. Infecția gonococică se transmite în majoritatea cazurilor pe cale sexuală și mult mai rar de la mamă la nou-născut (în timpul nașterii) sau prin intermediul unor obiecte. Receptivitatea este generală.

Omul este singura gazdă naturală pentru **meningococ** care poate coloniza nazo-faringele persoanelor sănătoase inducând starea de portaj. Infecția meningococică se transmite de obicei pe cale aeriană (picături Flügge) în condițiile unui contact apropiat. Contagiozitatea este mare, însă factori care țin de microorganism și de gazdă fac ca raportul între purtători și bolnavi să fie de circa 1000/1. Receptivitatea este mai mare la copii sub 5 ani, la pacienți cu deficiențe ale factorilor complementului, la persoane instituționalizate.

Profilaxie specifică nu există, chimioprofilaxia este inefficientă, mijloacele de a ține sub control infecția gonococică fiind educația sexuală, depistarea, tratarea și supravegherea infectaților și a contactilor acestora.

Sterilizarea preventivă a purtătorilor cu rifampicină este utilă doar pentru contactii din familie și cei din colectivități închise în cazul apariției unor cazuri de meningită. Vaccinarea este posibilă doar pentru serogrupurile A, C, Y și W135.

Coci gram negativi, anaerobi

GENUL VEILLONELLA

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Cuprinde următoarele specii de coci Gram negativi anaerobi:

- *Veillonella alcalescens* subsp. *alcalescens*
- *Veillonella alcalescens* subsp. *criceti*
- *Veillonella alcalescens* subsp. *dispar*
- *Veillonella alcalescens* subsp. *ratti*
- *Veillonella atypica*
- *Veillonella caviae*
- *Veillonella criceti*
- *Veillonella dispar*
- *Veillonella montpellierensis*
- *Veillonella parvula*
- *Veillonella parvula* subsp. *atypica*
- *Veillonella ratti*

CARACTERE GENERALE

Habitat

Speciile de Veillonella fac parte din flora normală a cavității bucale. Nu sunt patogene dar adesea sunt confundate în laborator cu tulpini de Neisseria. Cel mai adesea se izolează Veillonella parvula.

Caractere morfotinctoriale

Sunt coci mici, Gram negativi dispuși în diplo asemănători cu Neisseria spp. Sunt immobili, nesporulați.

Caractere de cultură

Cultivă în condiții de strictă anaerobioză. După 48 de ore de incubare la 37°C formează colonii transparente sau opac-albe, nehemolitice.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt inerte biochimic. Ocazional unele tulpini pot fi catalază pozitive, oxidază pozitive.

Cocobacili gram negativi, aerobi

GENUL ACINETOBACTER

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Genul Acinetobacter cuprinde 19 specii dintre care, mai frecvent implicate în patologia umană sunt: Acinetobacter baumannii, Acinetobacter Iwoffii, Acinetobacter junii, Acinetobacter haemolyticus. Acinetobacter calcoaceticus are ca habitat solul iar Acinetobacter johnsonii face parte din flora normală a organismului.

Germenii din genul Acinetobacter fac parte din grupul cocobacililor gram negativi nefermentativi. Sunt strict aerobi, catalază pozitivi, oxidază negativi, nepigmentogeni.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Acinetobacter este un germen ubicuitar în sol și în apele de suprafață. Face parte din microbiota flotantă a tegumentului, este prezent în nazofaringe, orofaringe, colon, vagin. În spital, tulpini de Acinetobacter au fost izolate de pe instalații tehnico-sanitare, aparate de climatizare, mâna personalului, în instalațiile de apă etc. A fost izolat de asemenea din sputa, secrețiile tractului respirator,

urina, plăgile pacienților spitalizați. Sunt frecvent izolați în industria alimentară a cărnii.

Caractere morfotinctoriale

Sunt 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. Sunt imobili, frecvent capsulați. Pe frotiul colorat gram adesea pot fi confundați cu *Haemophilus influenzae*.

Caractere de cultură

Este un germen nepretențios, cultivă pe medii uzuale. În funcție de specie, cresc la temperaturi cuprinse între 10-35°C, acesta constituind un caracter de identificare a speciei de *Acinetobacter*.

Coloniile sunt de tip „S”, rotunde, netede, convexe, lucioase sau mate, nepigmentate. Unele specii produc hemoliză beta pe geloza sânge.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt germeni catalază pozitivi, oxidază negativi, nu reduc nitrații. În funcție de capacitatea de a descompune sau nu zaharurile se identifică speciile de *Acinetobacter*.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Acinetobacter spp. supraviețuiește timp îndelungat în mediul de spital, în special pe suprafețe umede, echipamente respiratorii de terapie intensivă, pe pielea umană. Rezistă timp de 6 zile pe hârtia de filtru uscată.

Acinetobacter baumannii este un microorganism multirezistent față de antibiotice.

Structura antigenică

Peretele și membrana celulară a tulpinilor de *Acinetobacter* au compoziție asemănătoare cu majoritatea germenilor gram negativi.

Din punct de vedere al structurilor capsulare se diferențiază 28 de serovaruri capsulare de *Acinetobacter*.

Răspuns imun

Sunt încă foarte multe necunoscute legate de statusul imun în infecțiile cauzate de *Acinetobacter* spp.

Caractere de patogenitate

Acinetobacter spp. este un microorganism cu virulență scăzută care poate totuși cauza infecții fie singur fie în asociere cu alte microorganisme a căror virulență o poate exacerba. Infecțiile mixte în care este implicat și *Acinetobacter* spp. au evoluție mai severă decât cele în care *Acinetobacter* este unic factor etiologic.

Virulența bacteriei, deși scăzută, este asigurată de:

- capsula polizaharidică (protecție față de fagocitoză, aderența de celulele epiteliale)
- prezența endotoxinei
- producerea de enzime care modifică lipidele tisulare
- prezența fimbriilor care asigură adeziunea de celulele epiteliale

- abilitatea de a obține fierul necesar creșterii în organismul uman.

Majoritatea izolatelor de *Acinetobacter* provenite de la pacienți spitalizați, în special cele provenite din tractul respirator sau urinar sunt mai degrabă tulpini de colonizare decât agenți etiologici ai infecției.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Acinetobacter spp. este un microorganism care colonizează pacienții spitalizați în unități de terapie intensivă, în special cei intubați, cu multiple linii intravenoase sau dispozitive de monitorizare, cu drenaje chirurgicale sau cu catetere urinare.

Infecțiile cu *Acinetobacter* sunt rare, apar ca infecții oportuniste, adesea nozocomiale. *Acinetobacter baumannii* este cel mai frecvent implicat în infecții umane totalizând 2/3 din totalul infecțiilor cauzate de germeni din genul *Acinetobacter*, urmat de *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter haemolyticus* implicate etiologic în 5% din infecții.

Deși infecțiile cauzate de *Acinetobacter* spp. sunt rare, atunci când apar interesează sisteme cu conținut mare de fluide: tractul respirator, urinar, lichidul peritoneal. Formele clinice de manifestare a infecției cu *Acinetobacter* spp. sunt: pneumonii nosocomiale, infecții asociate cu dializa peritoneală efectuată în ambulator, bacteriuria de cateter.

Prezența tulpinilor de *Acinetobacter* în secrețiile pacienților intubați reprezintă, cel mai frecvent, o stare de colonizare cu acest microorganism apărută ca urmare a unor tratamente antibiotice față de care bacteria este rezistentă. Pneumonia cu *Acinetobacter* spp. apare ca izbucnire nosocomială fiind de obicei asociată cu utilizarea de echipamente sau fluide contaminate cu tulpini de *Acinetobacter*.

Cele mai frecvente entități clinice având ca etiologie specii de *Acinetobacter* sunt: infecții respiratorii, infecții ale plăgilor și arsurilor, bacteriemii, infecții de cateter, meningite, infecții ale tractului urinar, endocardite la cei cu proteze valvulare, peritonită la cei cu dializă peritoneală, infecții oculare.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele examinate pentru diagnosticul unei eventuale infecții cu *Acinetobacter* spp. sunt: exectorații, aspirat bronșic, puroi, urină, sânge, catetere, tuburi de dren etc.

Un aspect important al diagnosticului de laborator este acela de a face distincție între colonizare și infecție. Pentru aceasta este necesară izolarea aceleiași tulpini de *Acinetobacter* din prelevări repetate, confruntarea culturilor cu examenul microscopic al produsului patologic examinat.

Pentru identificarea de gen se urmărește creșterea pe agar Mac Conkey, creșterea și hemoliza pe geloza sânge, caracterul strict aerob, temperatura optimă de creștere, producerea de catalază și oxidază.

Pentru identificarea de specie se folosesc caracterele de cultivare și biochimice referitoare la temperatura de creștere, acidifierea glucozei, hidroliza gelatinei, hemoliza, auxonograma (tabel VI)

Tabel VI. Caractere de diferențiere a speciilor de Acinetobacter de interes medical (după D. Buiuc, M. Neguț 1999)

Caracterul	A.calcoaceticus	A.baumanii	A.haemolyticus	A.junii	A.johnsonii	A.lwoffii	A.radioresistens
Creștere la:							
44°C	-	+	-	-	-	-	-
41°C	-	+	-	+	-	-	-
37°C	+	+	+	+	-	+	+
Acidifierea glucozei	+	+	d	-	-	-	d
Hidroliza gelatinei	-	-	+	-	-	-	-
Hemoliza	-	-	+	-	-	-	-
Utilizarea:							
DL-lactat	+	+	-	+	+	+	+
DL-4-aminobutirat	+	+	+	d	d	d	+
Trans-aconitat	+	+	d	-	-	-	-
Citrat	+	+	+	d	+	-	-
Glutarat	+	+	-	-	-	-	+
Aspartat	+	+	d	d	d	-	-
Azelat	+	+	-	-	-	+	+
Beta alanină	+	+	-	-	-	-	-
L-histidină	+	+	+	+	-	-	-
D-malat	-	+	+	+	d	d	-
Malonat	+	+	-	-	d	-	+
Histamină	-	-	-	-	-	-	-
L-fenilalanină	+	d	-	-	-	-	+
Fenilacetat	+	d	-	-	-	+	+

Acinetobacter baumanii poate fi încadrat în:

- biotipuri: Studiindu-se prin auxonogramă capacitatea de utilizare ca unică sursă de carbon a 6 substraturi s-au identificat 17 biovaruri (biotipuri) de Acinetobacter baumanii, dintre care biovarurile 1, 2, 6, 9 sunt mai frecvent implicate în infecții nosocomiale. Substraturile testate sunt: levulina, citraconat, L-fenilalanină, fenilacetat, 4-hidroxibenzoat, L-tartrat;

- serotipuri: Prin reacții de aglutinare cu seruri de iepure s-au identificat 20 de serovaruri „O” (serotipuri) iar cu ajutorul anticorpilor marcați fluorescent s-au identificat 28 serovaruri „K”;

- lizotipuri: Sensibilitatea față fagi (un prim grup de 21 și un grup adițional de 14 fagi) a permis identificarea de lizovaruri (lizotipuri) de Acinetobacter baumanii. Lizotipia este utilă în infecțiile nosocomiale.

Metodele genetice de identificare (ribotipia, electroforeza în câmp pulsatil, profilul plasmidic) sunt utile în discriminarea tulpinilor implicate în infecții nosocomiale.

TRATAMENT

Acinetobacter baumannii este în mod natural multirezistent la antibiotice prin producere de beta-lactamaze și enzime de inactivare a aminoglicozidelor. Puține sunt antibioticele eficiente în infecțiile cauzate de Acinetobacter spp.: meropenem, imipenem, piperacilin-tazobactam, amikacin. Tratamentul trebuie făcut obligatoriu doar în cazurile de infecție documentată cu Acinetobacter spp. și sub controlul strict al antibiograamei.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Profilaxia infecțiilor cauzate de Acinetobacter spp. constă în respectarea riguroasă a igienei în spital, a regulilor de asepsie și antisepsie în special în unitățile sanitare care adăpostesc persoane cu imunitatea afectată, unde se aplică un număr mare de proceduri invazive de diagnostic și tratament, unde se administrează doze mari de antibiotice față de care Acinetobacter este rezistent (favorizând în acest fel colonizarea pacientului cu aceste tulpini).

GENUL BORDETELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Numele genului omagiază bacteriologul belgian J. Bordet care împreună cu Gengou, au izolat agentul etiologic al tusei convulsive în 1906.

Genul Bordetella cuprinde cocobacili Gram negativi asemănători celor din genul Haemophilus, strict aerobi, imobili sau mobili cu flageli peritrichi.

Specia tip este reprezentată de *B. pertussis* agentul etiologic al tusei convulsive. În afară de *B. pertussis*, din cele 6 specii ale genului, prezintă interes medical și *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. holmesii* (tabel VII).

Tabel VII. Date sintetice asupra speciilor de Bordetella

	<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Bordetella avium</i>	<i>Bordetella hinzii</i>	<i>B. holmesii</i>
mobilitate	-	-	+	+	+	-
afinitate tract respirator	+	+	+	+	+	-
gazdă	om	om	câine, pisică, cal, curcan, cobai, șobolan, șoarece porc,	curcani și alte păsări		
citotoxina traheală	+	+	+	+	-	-
toxina dermo necrotică	+	+	+	+	-	-
pili	+	+	+	+	-	-
adenilat ciclaza	+	+	+	-	-	-

hema glutinina filamen toasă	+	+	+	-	-	-
pertractina	+	+	+	-	-	-
toxina pertussis	+	-	-	-	-	-
factor colonizare trahee	+	-	-	-	-	-
boala	tuse convulsivă	tuse convulsivă	rinită atrofică, brohopneumonie la porc	coriza curcanilor		

BORDETELLA PERTUSSIS

CARACTERE GENERALE

Habitat

Bordetellele colonizează ciliile epitelului respirator al mamiferelor. Cu toate că se consideră că nu are capacitate invazivă studii recente au demonstrat prezența bacteriei în interiorul macrofagelor alveolare. Este un patogen al omului și al primatelor superioare nici un alt rezervor nefiind încă identificat.

Caractere morfologice

Pe frotiurile din prelevate patologice sau din primoculturi, *B. pertussis*, este un cocobacil gram negativ, cu dimensiunea de 0,5 μm / 0,5-2 μm, dispus izolat sau în perechi, mai rar în lanțuri scurte. Există specii imobile (*B.pertussis*, *B.parapertussis*, *B.holmesii*) și specii mobile (*B.avium*, *B.hinzii*, *B.bronchiseptica*).

Atunci când este recent izolat prezintă capsulă, în primele ore de cultivare prezintă pili atașați de peretele bacterian care după 24 ore se pot găsi în mediul de cultură.

Prin treceri succesive pe medii de cultură microorganismul devine pleomorf, bacilar sau filamentos, lipsit de capsulă și pili, dispus izolat sau în pereche, foarte rar în lanțuri.

Se colorează bipolar; prezintă incluziuni metacromatice la colorația cu albastru de toluidină.

Caractere de cultură

Este o bacterie pretențioasă nutritiv fiind cultivată pe medii îmbogățite cu sânge. Poate crește pe medii sintetice care conțin săruri, aminoacizi, factori de creștere (nicotinamida).

Cultivarea se realizează greu, *B. pertussis* fiind inhibată acizi grași, peroxizi organici etc. fapt care împiedică dezvoltarea bacteriei pe mediile uzual folosite în diagnosticul bacteriologic. Pentru cultivare necesită:

- nicotinamidă sau acid nicotinic
- substanțe nutritive – aminoacizi, vitamine
- agenți reductori – ioni de fier, glutatoin
- săruri minerale – cloruri, fosfați
- neutralizanți ai substanțelor inhibitoare – amidon, cărbune activat
- sânge.

Cel mai cunoscut mediu de cultură care oferă condițiile necesare cultivării este mediul Bordet-Gengou (agar, macerat de cartof, 30% sânge defibrinat de iepure, glicerol și penicilină sau cefalexină). Temperatura optimă de incubare este de 35-37°C.

După 3-6 zile de incubare la 37°C în atmosferă umedă și 10% CO₂ se pot dezvolta colonii de tip S mici, convexe, ușor transparente, cu strălucire metalică, foarte aderente, înconjurate de un halou de hemoliză care în lumina transmisă oblic seamănă cu picăturile de mercur.

La izolare este necesar mediul Bordet-Gengou, însă prin treceri repetate coloniile pot crește și pe geloză-sânge sau pe geloză simplă. În subculturi microorganismul se va dezvolta mai rapid, coloniile vor fi mai opace și vor apărea modificări morfologice (pleomorfism), alterări structurale, virulența lor fiind scăzută.

Pentru că mediul Bordet-Gengou este eficient doar 1-7 zile de la preparare, unii autori recomandă utilizarea unei geloze cu cărbune activat și sânge de cal pe care cultura apare mai repede.

Caractere biochimice

Are metabolism strict respirator niciodată fermentativ. Temperatura optimă de dezvoltare este de 35-37°C. Caracterele biochimice și de metabolism utilizate în identificarea speciilor de Bordetella sunt redate în tabelul VIII.

Acțiunea factorilor fizici, chimici

Rezistența în mediul extern este scăzută: rezistă maximum 2 ore la temperatura camerei, lumina solară o distruge în 60 de minute, iar la 55°C este distrusă în 30 de minute. Este puțin rezistentă la acțiunea dezinfectantelor uzuale și este sensibilă la acțiunea macrolidelor, ampicilinei, amoxicilinei, cotrimoxazolului.

Structura antigenică

Structura antigenică este foarte complexă incluzând:

- o hemaglutinină fimbrială de natură proteică;
- aglutinogene de suprafață (K);
- endotoxina.

În afară de aceste antigene mai există și o serie de substanțe active cu rol important în patogenia bolii:

- a) toxina pertussis;
- b) adenilatciclaza calmodulin-dependentă;
- c) toxina letală (dermonecrotică);
- d) citotoxina traheală;

Tabel VIII. Caractere biochimice și de metabolism utile pentru identificarea speciilor de Bordetella (după D. Buiuc, M. Neagu, 1999)

Caractere ^a	Bordetella pertussis	Bordetella parapertussis	Bordetella bronchiseptica	Bordetella avium	Bordetella hinzii	Bordetella holmesii
creșterea pe:						
agar Bordet-Gengou (zile)	3-6	1-3	1-2	2	2	2
agar Regan-Lowe (zile)	3-6	2-3	1-2	1-2	2	2
agar Mac Conkey	-	+	+	+	+	+
agar cu peptonă:						
creșterea	-	+	+	+	+	+
pigment brun	-	+	-	-	-	+
beta-hemoliză	+	+	v	v	?	-
mobilitate	-	-	+	+	+	-
catalaza	v ^b	+	+	+	+	+
oxidaza	+	-	+	+	+	-
asimilarea citratului	-	v	+	v	+	-
reducerea nitraților	-	-	+	- ^c	-	-
ureaza	-	- (24h)	+	-	v	-

^a simboluri: + = ≥90% tulpini pozitive; v = 11-89% tulpini pozitive; - = ≥90% tulpini negative; ? = rezultat necunoscut

^b 70% tulpini pozitive

^c test pozitiv în mediu cu ser sanguin

Răspuns imun

După infecție apar titruri înalte de anticorpi anti-toxina pertussis și anti-hemaglutinina fimbrială de tip IgA secretori care sunt protectori. Anticorpul format față de componentele toxinei pertussis previn colonizarea celulelor epitelului ciliat oferind protecție efectivă.

Titul anticorpilor anti-toxina pertussis persistă timp îndelungat, posibil pe tot parcursul vieții, fiind corelați cu imunitatea față de o nouă îmbolnăvire. La eliminarea bacteriei din plămân intervine și imunitatea mediată celular.

Pentru că subunitatea S₃ a toxinei pertussis este capabilă să se lege de suprafața fagocitelor și pentru că hemaglutinina filamentoasă se atașează de integrina CR₃ a fagocitelor (receptorul pentru fracțiunea C_{3b} a complementului) s-a speculat că bacteria se leagă preferențial de fagocite pentru a facilita propria ei înglobare. Rolul unei astfel de fagocitari „auto-inițiată” nu este clar. În orice caz sunt dovezi că Bordetella pertussis poate utiliza acest mecanism pentru a pătrunde și a persista în interiorul fagocitelor ca parazit intracelular ceea ce ar explica de ce imunitatea în tusea convulsivă se corelează mai bine cu prezența limfocitelor citotoxice T decât cu a anticorpilor antibacterieni.

Caractere de patogenitate

B. pertussis este patogenă în special prin localizare, multiplicare și toxinogeneză. Factorii de patogenitate sunt reprezentați de factorii de aderență și toxine.

a) Factorii de aderență

- fimbriile

- aglutinogenele de suprafață (K) – de natură proteică. Există aglutinogene specifice de gen și de specie. Datorită implicațiilor epidemiologice, ar fi de menționat că microorganismul are capacitatea de a-și modifica serotipul *in vitro*;

- hemaglutinina filamentoasă (FHA) – este o proteină mare (220 kDa) care formează structuri filamentoase la suprafața bacteriei și asigură adezivitatea la cilii epitelului respirator legându-se de terminațiile galactoză ale sulfatidelor prezente pe suprafața celulelor ciliate. Este codificată de locusul genetic *bvg* (Bordetella virulence genes) și este unul din factorii de virulență ai acestei bacterii. Mutățiile apărute la nivelul genelor structurale codante pentru hemaglutinina filamentoasă reduc abilitatea de colonizare a microorganismului.

- toxina pertussis

b) Toxinele

- endotoxina – situată la nivelul peretelui celular, antigen comun germenilor Gram negativi, care contribuie și el la lezarea celulelor epitelului respirator. Este de natură lipopolizaharidică și exteriorizează următoarele efecte: inducție de interleukină-1 (IL-1) care are efect pirogen, activarea complementului, efect histaminosensibilizant, hipotensiune arterială etc.

- citotoxina traheală - codificată de gene din afara locusului *bvg*, inhibă sinteza ADN în celulele ciliate, are efect citotoxic și determină imobilitatea cililor. Nu este de natură proteică deci nu este o exotoxină. Este un fragment de peptidoglican care omorâă celula ciliată, stimulează eliberarea de citotoxine IL-1 determinând astfel instalarea febrei.

- toxina dermonecrotică (letală) – este o proteină cu greutatea moleculară de 102 kDa alcătuită din 4 subunități. Este responsabilă de inflamația și necroza locală. Are acțiune vasoconstrictoare ceea ce determină necroze ischemice predominant pulmonare.

- adenilatciclaza calmodulin dependentă – are funcție dublă: de enzimă și de toxină. Determină hipersecreție de mucus apos, inhibă macrofagele alveolare, permeabilizează epiteliul respirator pentru toxina pertusis. Este o proteină de 45 kDa, responsabilă de zona de hemoliză care înconjoară colonia bacteriană pe mediul cu sânge. Este activă numai în prezența moleculei regulatoare a eucariotelor numită calmodulin, deci este activă doar în celulele eucariote.

- toxina pertussis - factor major de virulență, dar și cel mai important antigen și imunogen. Mediază aderența și stadiul de toxemie. Este implicată în procesul de aderență la epiteliul traheal. Este o proteină cu greutate moleculară de 150 kDa. Este o exotoxină bacteriană de tip A+B formată din 6 subunități.

Componenta A formată din subunitatea S_1 este o ADP ribozil-transferază. Polipeptidul A este responsabil de: sensibilizarea la histamină, hipersecreția de insulină și activarea adenilat-ciclazei membranare.

Componenta B este alcătuită din 5 subunități (S_2 , S_3 , S_5 și două subunități S_4) se leagă de carbohidrații specifici de pe suprafața celulei gazdă. Polipeptidul B asigură legarea de receptori membranari fiind și mitogen nespecific pentru limfocitele T citotoxice și T supresoare.

Componentele S_2 și S_3 funcționează ca adevărate intervenind în legarea bacteriei de celula gazdă. Utilizează receptori celulari diferiți: S_2 se leagă specific

de lactosilceramide (un glicopeptid) prezent pe celula epitelială ciliată în timp ce S₃ se leagă de o glicoproteină prezentă mai ales pe fagocite.

Toxina pertussis este transportată de la locul de cantonare al Bordetellei pertussis spre celulele și țesuturile susceptibile ale gazdei. După legarea componentei B a toxinei de celula gazdă, subunitatea A străbate membrana citoplasmatică a celulei prin mecanism direct pătrunzând în citoplasmă. Aici se leagă de proteina Gi de la nivelul membranei celulare, o inhibă ceea ce are ca urmare o stimulare a adenilatciclazei și respectiv o creștere a sintezei de AMPc.

Dintre efectele negative care se datorează sintezei de toxină pertussis putem enumera:

- alterarea activității hormonale: creșterea producerii de insulină urmată de hipoglicemie;
- sensibilizarea la histamină cu creșterea permeabilității capilare, hipotensiune, șoc;
- reducerea activității macrofagelor;
- diminuarea răspunsului imun umoral ceea ce favorizează infecții secundare;
- limfocitoza.

Producerea factorilor de virulență este sub control genetic prin activitatea operonului *bvg* care acționează prin 2 mecanisme:

- variația de fază care duce la pierderea factorilor de virulență și a unor factori de membrană;
- modulare fenotipică, reversibilă, adaptativă care apare ca răspuns la factorii de mediu (temperatură, substanțe chimice etc.).

Referitor la modificările antigenice care apar în cursul cultivării, s-a descris la *Bordetella pertussis* variația de fază.

Faza I se întâlnește la tulpinile izolate din produse patologice cultivate pe medii îmbogățite. Sunt tulpini în formă de S, virulente, capsulate cu mare capacitate imunogenă. Vaccinurile se prepară folosind culturi în faza I. Factorii de virulență sunt codificați genetic:

- o Cinci factori sunt codificați de locusul genetic *bvg*: hemaglutinina filamentoasă, toxina pertussis, adenilatciclaza, dermatoxina necrotică și hemolizina;
- o Doi factori codificați de gene din afara locusului *bvg*: fimbriile și citotoxina traheală.

Fazele II și III sunt intermediare.

Faza IV se întâlnește la tulpini care se pot multiplica pe medii obișnuite. Au aspectul caracteristic formelor R. Sunt degradate antigenic, nu produc toxină și nu prezintă nici alți factori de patogenitate.

PATOGENIE. BOALA LA OM

B. pertussis este patogenă numai pentru om. Boala cauzată se numește tuse convulsivă (tuse măgărească), boală cu evoluție ușoară la adult dar cu rată de mortalitate mare la copil până la introducerea vaccinării obligatorii.

Transmiterea se realizează în special pe cale aeriană prin picături nazofaringiene eliminate într-un acces de tuse. Contagiozitatea este maximă în primul stadiu de boală și la începutul stadiului al doilea (de tuse paroxistică).

După o incubanță de 7-10 zile, încep manifestările clinice care evoluează în două faze.

Primul stadiu este acela de colonizare al epiteliului respirator, în care manifestările clinice sunt asemănătoare cu cele ale unei afecțiuni respiratorii ușoare (febră, strănut, tuse). Microorganismul aderă de epiteliul respirator prin fimbrii, mecanismele de aderență implicând intervenția hemaglutininei filamentoase și a toxinei pertusis. Se multiplică rapid, interferează cu activitatea mucociliară normală, apar primele manifestări clinice care se agravează treptat.

În această fază catarală care durează 10 zile pacientul este foarte contagios, elimină prin tuse un număr foarte mare de microorganisme. Diagnosticul de laborator bacteriologic este posibil prin prelevări cu tampon steril de la nivelul faringelui sau prin metoda "plăcilor tușite". Gravitatea și durata bolii pot fi reduse dacă se face tratament antimicrobian corect, în caz contrar simptomele se agravează treptat.

Faza a doua a (paroxistică) este stadiul toxemic, cu accese de tuse paroxistică, accese de multe ori tipice (pot fi până la 30 accese pe zi, mai frecvente în timpul nopții). Accesul se poate termina cu vomă și cu aspirarea vomismentelor. Pot apărea cianoză, convulsii, anxietate, edem palpebral, congestie palpebrală.

La o parte dintre pacienți nu apar aceste accese paroxistice.

Pe parcursul stadiului toxemic apare și limfocitoza periferică caracteristică, precum și hipoglicemia.

Datorită obstrucției bronhiolilor mici cu dopuri de secreții mucoase precum și datorită tusei și inspirului amplu, pot apărea o serie de complicații pulmonare. Uneori apar și complicații la nivelul sistemului nervos central, care pot fi foarte grave (encefalita pertusis).

În această fază Bordetella pertussis este rareori izolată de la pacient iar tratamentul antibiotic nu influențează progresia bolii.

Faza a doua durează 2-4 săptămâni și este urmată de convalescență, care se întinde pe durata a 2-3 săptămâni.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator poate fi bacteriologic sau imunologic.

Diagnosticul bacteriologic se poate realiza la bolnav în timpul fazei catarale și în prima parte a fazei paroxistice precum și la pacienții asimptomatici și contacți. Produsele patologice recoltate sunt: exsudat nazofaringian, spută, picături de secreție traheobronșică eliminate în timpul tusei.

Recoltarea secreției traheobronșice poate fi realizată prin metoda "plăcilor tușite": Se expune o placă Petri cu mediul Bordet-Gengou (cu adaos penicilină) la aproximativ 20 cm în fața gurii bolnavului în timpul accesului de tuse.

Recoltarea se poate realiza și cu ajutorul tamponului din alginat de calciu pentru exsudatul nazofaringian, bumbacul inhibând dezvoltarea microorganismelor.

Din produsul patologic se efectuează un frotiu colorat Gram și un frotiu tratat cu anticorpi fluorescenți. Imunofluorescența are o sensibilitate de numai

50%, este limitată atât de rezultatele fals pozitive cât și de cele fals negative, dar are ca avantaj rapiditatea diagnosticului.

Coloniile apar pe mediul de cultură în 3-6 zile, maxim 12 zile. Coloniile suspecte se repică pe mediul Bordet-Gengou și apoi se trece la identificarea lor pe baza caracterelor morfologice, de cultură și biochimice – mobilitatea, catalaza, oxidaza, utilizarea citratului, reducerea nitraților, ureaza.

Se trece la identificarea serologică prin reacții de aglutinare pe lamă utilizând seruri specifice pentru identificarea serovarurilor ca markeri epidemiologici.

Se poate face identificarea rapidă a Bordetellei prin metode neconvenționale, direct din prelevatul patologic prin reacția de imunofluorescență directă sau cu sonde de acizi nucleici sau amplificare genică cu amorse specifice genei care codifică toxina pertussis, dar aceste metode sunt costisitoare.

Diagnosticul serologic este de o mai mică importanță datorită faptului că o creștere semnificativă a anticorpilor aglutinanți sau precipitanți se realizează abia din a treia săptămână de boală, acest fapt având mai multă importanță pentru studiile epidemiologice, decât pentru diagnosticarea bolii.

TRATAMENT

Antibioticul de elecție este eritromicina atât pentru tratament cât și pentru profilaxie. Administrarea eritromicinei în faza catarală duce la blocarea multiplicării microorganismului, reduce gravitatea simptomelor și are valoare profilactică diminuând perioada în care pacientul este contagios.

Dacă nu se poate administra eritromicină este indicat cotrimoxazolul.

Antibioticoterapiei i se asociază tratamentul simptomatic constând în oxigenare, hidratare, administrare de sedative și aspirarea secrețiilor.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Boala evoluează endemic cu o periodicitate de 3-5 ani și sezonabilitate de primăvară.

Izvorul de infecție este exclusiv uman reprezentat de bolnavul cu forme tipice sau atipice de boală. Contagiozitatea este foarte mare, 30-90% din contacti receptivi putând face boala.

Transmiterea se realizează prin picături-nucleosoli.

Receptivitatea este naturală, generală, de la naștere. Multe cazuri apar înaintea vârstei de 5 ani, însă majoritatea cazurilor grave apar înaintea vârstei de un an. Boala este mai puțin periculoasă la adulți, dar la copii rata mortalității este destul de mare. Frecvența bolii a scăzut după 1930 odată cu introducerea vaccinării.

La noi în țară vaccinarea este obligatorie utilizându-se vaccinul DTP care conține anatoxină difterică, anatoxină tetanică și vaccin corpuscular pertussis inactivat.

În prezent se utilizează următoarele vaccinuri antipertussis:

- vaccin corpuscular inactiv (suspensie de Bordetella pertussis)
- vaccin acelar – combinații de componente purificate ale B.pertussis și toxoidul pertussis.

GENUL BRUCELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Brucella* cuprinde mai multe specii care infectează animalele și se pot transmite omului. Se menține clasificarea în 6 specii acceptate de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, ed. a 9-a:

Brucella melitensis cu 3 biogrupe (capre, oi), *Brucella abortus* cu 7 biogrupe (vite), *Brucella suis* cu 5 biogrupe (porci), *Brucella canis* (câini), *Brucella neotomae* (șobolan), *Brucella ovis* cu câte un biogrup. *Brucella maris* este a șaptea specie din genul *Brucella* care reunește tulpinile izolate de la mamifere marine.

Primele trei sunt principalele specii patogene și pentru om iar a patra este posibil implicată în patologia umană.

Cu toate acestea, rezultatele testelor de hibridizare ADN-ADN au demonstrat că tulpinile de *Brucella* au omologie de peste 90%, deci aparțin unei singure grupe genomice. Această observație contrazice existența celor 6 specii de *Brucella* care ar fi de fapt biovaruri ale unei singure specii: *Brucella melitensis*.

Brucelele sunt cocobacili gram negativi, care se colorează frecvent bipolar, eventual prezentând capsulă. Sunt imobili, nesporulați, strict aerobi, catalază pozitivi, oxidază negativi, relativ inactivi metabolic. Nu produc acizi din carbohidrați pe mediile care conțin peptonă. Sunt strict paraziți pentru animale, caracteristic localizați intracelular.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt patogeni primari ai multor animale habitatul principal al brucellelor fiind reprezentat de organismul infectat. Germenii pot rezista și în mediul datorită unor mecanisme care le asigură persistența (posibilitatea transformării în condiții nefavorabile în forme L).

Caractere morfotinctoriale

Sunt cocobacili gram-negativi, imobili, nesporulați, izolați sau mai rar prezenți în grămezi neregulate. Se colorează bipolar. În produsul patologic sunt prezenți special intracelular. Cu tehnici speciale de colorare se poate evidenția o capsulă fină. În culturi vechi prezintă un mare grad de polimorfism.

Caractere de cultură

Sunt bacterii pretențioase, toate speciile având cerințe nutritive complexe. Pentru cultivarea lor este nevoie de medii îmbogățite cu substanțe nutritive (aminoacizi, proteine serice, glucoză, săruri, vitamine, factori de creștere etc.), de un pH de 6,8 și o temperatură de 34°C.

Microorganismele sunt aerobe facultativ anaerobe. *Brucella abortus* necesită la prima izolare o atmosferă cu 5-10% CO₂.

Cresc lent, mai ales la prima cultivare. Coloniile, inițial de tip S, devin vizibile după 2 sau mai multe zile. Trecerea de la forma S la forma R este însoțită de scăderea virulenței.

Pentru hemoculturi se folosește curent mediul bifazic Castaneda. Hemocultura trebuie supravegheată minimum 3-4 săptămâni. Mediul lichid este tulburat uniform.

Caractere biochimice

Au activitate metabolică scăzută. Posedă oxidază, produc catalază și descompun în mod variabil ureea, utilizează carbohidrați, dar nu produc hidrogen sau gaz în cantități suficiente pentru clasificare. Descompunerea zaharurilor este lentă și nu poate fi decelată pe medii de cultură uzuale pentru că acidifierea este mascată de producerea de amoniac. Nu utilizează citratul și nu produc indol sau acetil-metil-carbinol (reacția Vogues-Proskauer negativă).

Identificarea unor specii sau în cadrul speciei a unor biotipuri are la bază o serie de teste convenționale (clasificarea Huddleson) (tabel IX).

Tabel IX. Clasificarea Huddleson

	Necesită CO ₂	Produce H ₂ S	Urează	Creștere pe mediu cu		Aglutinare cu anticorpi	
				tionină	fucsina	anti-A	anti-M
B.abortus	+	+	+	-	+	+	-
B.melitensis	-	-	+	+	+	-	+
B.suis	-	++	+	+	-	±	±

Rezistența față de factorii fizici și chimici

Rezistența în mediul extern este mare, mai ales dacă sunt protejate de un strat de material organic. În țesuturile fetale infectate eliminate pot rezista săptămâni de zile. Supraviețuiesc 2-3 luni în gunoiul de grajd, 3-60 zile în brânzeturi, 15-40 de zile în pulberi. Sunt moderat sensibile la temperatură și aciditate, sunt sensibile la dezinfectantele uzuale. Pasteurizarea laptei le distruge.

Doi coloranți, fucsina și tionina au acțiune bacteriostatică diferită asupra celor 3 specii de Brucella: tionina inhibă creșterea speciei B.abortus, fucsina inhibă B.suis. Creșterea tulpinilor de B.melitensis nu este influențată de nici unul dintre cei doi coloranți.

Au sensibilitate diferită față de acțiunea bacteriofagilor ceea ce permite identificarea diferitelor tulpini de Brucella prin lizotipie.

Structură antigenică

Brucella are o structură antigenică relativ complexă. Posedă antigene de natură lipopolizaharidică numite A și M prezente în proporții diferite la speciile de Brucella.

Brucella abortus are ca determinantul major de suprafață antigenul A și determinant minor antigenul m. *Brucella melitensis* are determinantul major de

suprafață antigenul M și determinant minor antigenul a. *Brucella suis* are ambele antigene în cantitate egală.

Celelalte specii de *Brucella* sunt lipsite de aceste antigene.

În practica de laborator s-a observat că anticorpii anti-*Brucella* dau reacții încrucișate cu *Yersinia enterocolitica* O:9, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* și mai rar cu *E.coli* O:157 și cu unele tulpini de *Salmonella*. Acest lucru se datorează existenței unui antigen de suprafață L asemănător cu antigenul Vi de la *Salmonella*. antigenului K prezent la tulpinile capsulate, lipolizaharidului (antigenul O, endotoxina) prezent la nivel parietal.

Antigenul O diferă de cel al altor germeni Gram-negativ prin compoziția în acizi grași și prin faptul că este strâns legat de proteine, formând împreună un complex, ceea ce îi determină o activitate biologică distinctă.

Răspuns imun

Bruceleza acută, la fel ca și administrarea de vaccinuri cu tulpini vii atenuate, determină un răspuns imun atât umoral cât și celular.

În principiu, o dată cu apariția semnelor și simptomelor se pot detecta anticorpi, dar prezența lor nu previne bacteriemia și nici reinfecția (care este relativ frecventă). În primele săptămâni ale infecției acute crește titrul anticorpilor de tip IgM care poate persista în infecția cronică sau chiar după terapia antimicrobiană, pe durata a 2 ani. După 3 săptămâni de la debutul bolii apar anticorpi IgG, ating valoarea maximă după 6-8 săptămâni și persistă pe durata infecției latente. După stadiul acut al brucelezei apar anticorpi blocanți de tip IgA care interferează activitatea aglutinantă a anticorpilor IgM și IgG. Anticorpii blocanți persistă mulți ani în infecția cronică și latentă.

Brucelele sunt fagocitate de macrofage, distruse cu eliberarea de antigene și endotoxine dar pot la fel de bine să se multiplie rapid în interiorul fagocitelor, *Brucella* fiind o bacterie „facultativ intracelulară”.

Imunitatea mediată celular este esențială în rezistența față de o nouă îmbolnăvire. Răspunsul imun celular este în mod cert necesar pentru eradicarea brucelelor situate intracelular. Limfocitele T stimulează activitatea bactericidă a macrofagelor care distrug bacteriile în interiorul unui granulom specific. În unele cazuri *Brucella* rezistă și persistă în interiorul macrofagelor ducând la reactivări ale bolii cu instalarea unei stări de hipersensibilizare întârziată caracteristică pentru forma cronică a brucelezei.

Caractere de patogenitate

Caracterele de patogenitate se manifestă prin capacitatea germenilor de a se multiplica și de a invada organismul. Nu s-au detectat exotoxine și nu s-au pus în evidență constituenți antifagocitari capsulari sau ai peretelui celular care să fie implicați în patogenitatea *Brucellei*. Endotoxina (antigenul O, LPZ) este implicată în patogenitate.

În schimb tulpinile de *Brucella* prezintă rezistență față de distrugerea de către polimorfonucleare explicabilă prin faptul că nu are loc stimularea metabolismului oxidativ și se inhibă degranularea neutrofilelor, precum și descărcarea enzimelor din granulații.

Pare să existe un factor de patogenitate neprecizat, produs numai *in vivo*, care ajută supraviețuirea intracelulară. Serul animalelor receptive conține o globulină și o lipoproteină care favorizează creșterea formei S (virulente) a

bacteriei. Aceste elemente lipsesc din serul altor specii ceea ce le face nereceptive față de infecția cu *Brucella*.

Cele mai patogene specii sunt *Brucella melitensis*, urmată de *Brucella suis* și de *Brucella abortus*.

Brucellele sunt microorganisme parazite pentru o serie de animale sau pentru om, capabile să determine infecții acute, cronice sau infecții inaparente. Dintre animalele de laborator, cobaiul pare să fie animalul cel mai constant sensibil. Cronicizarea depinde de capacitatea de multiplicare în celule fagocitare.

Au afinitate pentru placenta și țesuturile fetale ale animalelor receptive având capacitatea de a metaboliza un hidrocarbonat (eritritol) prezent în aceste structuri. La animalele gestante provoacă avort, după care infecția se localizează la nivelul glandei mamare, *Brucella* eliminându-se timp îndelungat prin lapte.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Bruceleza este o zooantroponoză. La animale bruceleza are evoluție asimptomatică, cu afectarea aparatului genital la femelă însoțită de avort și cu leziuni testiculare la mascul. Boala este caracteristică pentru ovine, caprine, bovine, porcine dar poate afecta și alte animale domestice care vor prezenta simptomatologie necaracteristică. În formele latente de infecție caprele, oile sau vacile elimină *Brucella* prin lapte. *Brucella* este eliminată și prin urină, secreții produse de sarcină (placentă, lichide fetale, avortoni).

Bruceleza este o boală specifică animalelor, omul contaminându-se accidental. Poarta de intrare este tractul digestiv sau tegumentul lezat, mai rar bacteria pătrunzând prin conjunctivă sau pe cale respiratorie.

De la poarta de intrare, microorganismul trece în ganglionii limfatici regionali unde se multiplică, apoi prin ductul toracic ajung în sânge răspândindu-se și localizându-se în sistemul reticulo-endotelial al organelor parenchimatose și ale sistemului osos. Aici, ca patogeni intracelulari, declanșează o reacție inflamatorie cu constituirea de noduli granulomatoși cu tendință de abcedare.

Incubația este în medie de 2-3 săptămâni (maxim 1-6 săptămâni), însă uneori pot trece câteva luni între momentul infectării și apariția fenomenelor clinice.

Debutul este de obicei insidios, manifestat prin astenie, indispoziție, cefalee, artralгии, febră moderată, transpirații abundente.

În perioada de stare simptomele sunt polimorfe, bruceleza fiind una din bolile extrem de greu de recunoscut clinic. Febra ondulantă (care crește în cursul după amiezei și scade în timpul nopții) însoțită de frisoane are mai mult o valoare istorică, în realitate, curba febrilă are un aspect variabil: ondulantă, neregulată, remitentă și intermitentă. Transpirațiile abundente nocturne, cu un miros caracteristic, astenia, durerile sub diverse forme reprezintă elemente comune în cursul bolii.

S-au descris circa 200 de semne clinice care pot apare în bruceleză.

Durata bolii poate fi de 3-4 săptămâni, dar cel mai frecvent depășește 3 luni, ajungând în formele cronice la ani de zile. În formele cronice diagnosticul se stabilește foarte dificil. În formele cronice ale bolii, din focarele de infecție se descarcă periodic germeni în torentul sanguin unde sunt prezenți anticorpi bactericizi anti-*Brucella*. Distrugerea unui număr mare de microorganisme în urma reacțiilor antigen-anticorp cu eliberarea de endotoxină poate cauza stări de șoc endotoxinic.

Forme clinice ale brucelozei umane:

➤ forma inaparentă: infecția este depistată doar prin determinarea anticorpilor specifici, fără nici un semn clinic de boală;

➤ forma septicemică: incubatie 2-3 săptămâni, debut insidios. În perioada de stare se instalează febra, transpirațiile abundente, astenie, artralgiile, mialgiile toate cuprinse denumirea de „febră ondulantă sudoro-algică”. Se asociază hepatosplenomegalie și adenopatii. Investigațiile de laborator evidențiază neutropenie și se pot evidenția anticorpi specifici. În acest stadiu hemocultura sau medulocultura permit izolarea bacteriei;

➤ formele localizate – apar după o formă inaparentă sau septicemică de boală. Localizările pot fi multiple dar mai frecvent sunt afectate osul și articulațiile: spondilită lombo-sacrată, sacro-ileită, artrite. Se mai întâlnesc afectări neuro-psihice, pulmonare, hepatice, splenice, cutanate, meningo-encefalită, orhită, endocardită;

➤ recăderi sau forme cu evoluție prelungită – semnele clinice sau afectările locale persistă peste 1 an, tratamentul antibacterian este inefficient, hemocultura sau serodiagnosticul sunt adesea pozitive. Este greu de diferențiat recăderea de formele trenante la persoanele cu risc profesional de contaminare;

➤ forma cronică – fără un tablou clinic caracteristic, cu manifestări polimorfe: subfebrilitate prelungită (săptămâni, luni, ani), astenie, artralgiile, transpirații, cefalee, tulburări neuro-psihice, splenomegalie. Hemocultură și serodiagnosticul sunt negative. Intradermoreacția este pozitivă stabilind diagnosticul etiologic al manifestărilor clinice.

Formele cele mai grave apar ca urmare a infecției cu *Brucella melitensis*, urmată de infecția cu *Brucella suis*, *Brucella abortus* și respectiv *Brucella canis*.

Brucella melitensis determină „febra de Malta” sau „febra ondulantă”, o infecție severă cu bacteriemie bine exprimată, granuloamele formate la nivelul organelor parenchimatose evoluând spre cazeificare și abcedare.

Brucella abortus și *Brucella canis* determină forme ușoare de boală, frecvent inaparente, fără complicații supurative ale granuloamelor iar *Brucella suis* determină forme cronice de bruceloză caracterizate prin supurații ale granuloamelor.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

În realizarea diagnosticului se pornește de la aspecte clinice și epidemiologice, însă diagnosticul de laborator este esențial, reprezentând unica metodă certă de diagnostic.

Metodele de diagnostic amintite au utilitate în raport cu stadiul de evoluție al bolii (tabel X).

În cadrul diagnosticului bacteriologic, **produsele patologice** sunt reprezentate de sânge, măduvă osoasă, material recoltat prin puncție hepatică, splenică sau ganglionară, urină, bilă, lapte, materiale necroptice etc., în funcție de localizarea procesului infecțios.

Tabel X. Utilitatea metodelor de diagnostic în funcție de stadiul bolii

Stadiul bolii	hemocultură	Wright	roz bengal	RFC	IFi	IDR
acut	+++	+	+/-	+/-	+/-	-
subacut	+	+++	+++	+++	+++	+
cronic	-	+/-	+/-	+/-	+	+++

Legendă:

RFC - reacția de fixare a complementului;

IFi - reacția de imunofluorescență indirectă;

IDR - intradermoreacția

I. Diagnosticul direct

1. Microscopia directă și chiar colorația imunofluorescentă rămâne frecvent negativă.

2. Izolarea bacteriei impune utilizarea mediilor speciale, bogate în substanțe nutritive, a mediilor bifazice pentru hemoculturi. Pentru produsele patologice bogate în floră de asociație mediile sunt suplimentate cu amestecuri selective. Incubarea se face aerob în atmosferă de 10% CO₂, timp de 10 zile (3 săptămâni pentru hemoculturi), timp în care culturile sunt urmărite zilnic.

3. Identificarea bacteriei se bazează pe caracterele de cultură, pe aspectul microscopic al culturii, pe teste biochimice preliminare și pe aglutinarea pe lamă cu seruri anti-brucella forma S:

- o fermentarea glucozei și lactozei prin metode clasice;
- o producerea de oxidază;
- o hidroliza semicantitativă a ureei.

Testele specifice de identificare sunt efectuate în laboratoare speciale:

- o producere de H₂S;
- o necesitatea CO₂;
- o creșterea în prezența tioninei și fucsinei bazice;
- o aglutinarea cu antiseruri monospecifice;
- o sensibilitatea la fagul „Tbilisi”;
- o sonde ADN.

II. Diagnosticul indirect

1. Diagnosticul serologic cuprinde aglutinarea pe lamă (Huddleson, reacție calitativă, de screening) care trebuie confirmată prin cuantificarea aglutininelor anti-Brucella în tuburi (reacția de aglutinare Wright). Se prelevează cantitatea necesară de sânge înaintea efectuării intradermoreacției cu brucelină/melitină. Fiecare reacție utilizată în serodiagnostic identifică anumite categorii de anticorpi și de aceea rezultatele obținute pot fi discordante.

În primele săptămâni ale infecției crește titrul anticorpilor de tip IgM. Acest titru rămâne ridicat în infecția cronică și poate persista până la 2 ani chiar după tratamentul antimicrobian eficient.

Anticorpii de tip IgG apar la 3 săptămâni de la infecție, ajung la valori maxime la 6-8 săptămâni și persistă pe toată durata infecției latente.

După stadiul subacut al infecției, persistând ani de zile în infecția cronică și latentă, apar anticorpi tip IgA (anticorpi blocanți) care interferează activitatea aglutinantă a anticorpilor IgM și IgG. Din acest motiv după stadiul acut al brucelozei diagnosticul serologic este dificil întrucât se obțin deseori rezultate fals negative prin reacția Wright. Anticorpii tip IgA se evidențiază prin testul de blocare sau testul Coombs.

Reacția Wright este o reacție de aglutinare în tuburi care evidențiază anticorpii aglutinanți de tip IgG și IgM. Este prima reacție care devine pozitivă ??? dar se negativează repede.

Este pozitivă doar în faza acută a bolii. Un titru ≥ 80 este semnificativ. Pot apărea „reacții fals pozitive” sau „fals negative”.

Reacțiile „fals pozitive” se datorează reacțiilor încrucișate cu *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae*.

Posibilitatea unor reacții „fals negative” impune determinarea anticorpilor blocanți care apar la unii pacienți, în special în faza cronică a infecției. Sunt IgA și IgG care se fixează la nivelul situsurilor antigenice fără a determina aglutinare. Pentru a exclude un rezultat „fals negativ”, în tuburile negative se adaugă o picătură de martor pozitiv în eprubeta de reacție. Dacă nu se produce aglutinare înseamnă că sunt prezenți anticorpi blocanți fixați pe celula bacteriană și astfel reacția de aglutinare este inhibată.

Reacția cu antigen tamponat este un test rapid, simplu și specific de aglutinare pe lamă, în mediu acid, utilizând o suspensie de *Brucella* inactivată și colorată cu roz bengal. Prin această reacție se evidențiază anticorpi de tip IgG. Devine pozitivă mai târziu dar este mai sensibilă și rămâne mai mult timp pozitivă comparativ cu reacția Wright.

Reacția de fixare a complementului este dificil de efectuat.

Imunofluorescența indirectă detectează tardiv anticorpi anti-*Brucella* comparativ cu reacția Wright. Este foarte utilă în diagnostic întrucât prin această reacție sunt detectați anticorpi specifici în fazele în care alte teste serologice s-au negativat.

2. Intradermoreacția la brucelină/melitină permite testarea sensibilității de tip întârziat. Se inoculează intradermic, pe fața anterioară a unui antebraț, 0,1 ml filtrat de cultură de *B.abortus*/*B.melitensis* iar la celălalt antebraț se inoculează 0,1 ml bulion care s-a utilizat la obținerea brucelinei/melitinei (martor). Rezultatul testului se citește după 24-48 de ore. Lipsa reacției la testul martor permite citirea rezultatului. Prezența eritemului și a edemului la locul inoculării filtratului de cultură indică o reacție pozitivă. Intradermoreacția este pozitivă în formele cronice de boală uneori fiind unicul semn pozitiv al infecției.

TRATAMENT

Tratamentul brucelozei este dificil din cauza localizării intracelulare a microorganismului. Trebuie deci administrat un antibiotic activ pe *Brucella* care în același timp să penetreze intracelular. Cicinele, rifampicina, cotrimoxazolul, fenicolii îndeplinesc aceste cerințe.

Brucella poate fi sensibilă la tetraciclină sau ampicilină. Se poate administra o asocieră de antibiotice.

Ameliorarea simptomatologiei se poate produce în câteva zile de la începerea tratamentului. Totuși, datorită localizării intracelulare a germenului, tratamentul trebuie să fie prelungit (mai multe săptămâni). Sunt posibile recăderi chiar și sub antibioterapie. În bruceloza cronică sau latentă antibioterapia este ineficientă.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de microorganisme din genul *Brucella* este reprezentată de animalele bolnave. Transmiterea infecției la om se realizează prin ingestia de lapte sau de produse contaminate provenite de la animalele bolnave, prin contactul cu țesuturile avortului, bălegar, pulberi, ape contaminate cu *Brucella* la nivelul leziunilor tegumentare, la nivelul conjunctivei sau prin inhalarea aerosolilor contaminați cu *Brucella*, degajați în cursul avortului. Bruceloza este în principal o boală profesională, apărând la lucrătorii din sectorul zootehnic, veterinari, fermieri, măcelari etc.

Elementul esențial pentru eliminarea brucelozei umane este eradicarea bolii la animale. Acest lucru s-ar putea realiza folosind un vaccin viu atenuat, care determină imunitate și prin sacrificarea animalelor bolnave. În unele țări vaccinarea animalelor este interzisă pentru că împiedică diagnosticarea serologică a bolii: testele serologice vor evidenția anticorpii post-vaccinali.

Între metodele de prevenire a infecției umane cu *Brucella* se pot aminti și pasteurizarea laptelui, evitarea contactului cu produsele animale contaminate și aplicarea măsurilor de protecție a personalului aflat la risc pentru contractarea bolii. Personalul expus riscului infecției are obligația de a purta echipament de protecție: măști, mănuși, șorțuri, cizme de cauciuc.

Vaccinarea selectivă a personalului care vine în contact cu animalele se poate realiza cu vaccin viu atenuat. Multe țări nu au acceptat vaccinarea la om ci doar un control serologic și prin IDR la personalul expus infecției.

GENUL FRANCISELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Francisella tularensis, agentul etiologic al tularemiei, a fost izolată în 1911 de Mac Coy și Chapin în regiunea Tulare din California. A fost descrisă pentru prima dată în 1907 la om și în 1912 la rozătoare. În 1919 Edward Francis descrie, în SUA, primele cazuri de tularemie umană. Numele genului amintește de Edward Francis care a studiat bacteria și boala iar numele speciei derivă de la Tulare Country, California.

Microorganismele din genul *Francisella* sunt minusculi cocobacili Gram negativi, la limita vizibilității cu microscopul optic, aerobi, facultativi anaerobi, pleomorfi, imobili, fără pili, cu o capsulă fină de natură lipidică.

Produc tularemia, o boală infecțioasă a unor specii de animale (mai ales rozătoare), care poate fi transmisă accidental pe diferite căi la om. Tularemia este o zooantroponoză. Specia *Francisella tularensis* reprezintă singura specie a genului importantă pentru patologia animală și umană și singura specie dintre cele 3 ale genului care a fost izolată în România.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Are largă răspândire în natură. A fost izolată de la mamifere, păsări, artropode, animale domestice, precum și din apă, noroi sau fecalele animalelor.

F. tularensis infectează animalele sălbatice și domestice: iepuri, șobolani, șoareci, popândăi, hârciogi, bizami, veverițe etc., păsările, este prezent și la unele căpușe, muște de animale și țânțari. *Francisella* poate persista 2-3 ani în organismul căpușei, ele pot transmite microorganismul transovarian. Din acest motiv, în focarele de infecție căpușele joacă un rol important în transmiterea bacteriei.

Caractere morfotinctoriale

Pe frotiurile din produs patologic, colorate Gram bacteria este greu de observat. *F. tularensis* este un cocobacil gram negativ, foarte mic. Se colorează relativ slab, adesea bipolar.

Este de preferat colorația Giemsa care evidențiază cocobacili colorați bipolar, capsulați, grupați în mici grămezi.

Depistarea și identificarea rapidă a *F. tularensis* în prelevatele patologice de la animale se poate realiza cu colorația imunofluorescentă.

Microscopul electronic a pus în evidență și elemente mai mici de 0,1 μ , sub posibilitățile de rezoluție ale microscopului optic, care pot trece prin filtrele uzuale pentru sterilizare bacteriologică.

Caractere de cultură

Este greu de cultivat, numai pe medii speciale, cu gălbenuș de ou coagulat (McCoy) sau cu cisteină-glucoză-sânge la temperatura de 37°C, în condiții de aerobioză. La prima inoculare coloniile cresc lent, devin vizibile după 2-10 zile. Se Coloniile sunt de tip S, mici, transparente și ușor de emulsionat.

Caractere biochimice

F. tularensis este catalază pozitiv și oxidază negativ, oate fermenta unii carbohidrați sau alcoolii fără producere de gaz. Pentru că prezintă o activitate biochimică redusă, testele biochimice nu prezintă importanță în diagnosticul curent.

Rezistența față de factorii fizici și chimici

În mediul extern *F. tularensis* poate fi distrusă la 45°C, precum și de antisepticele uzuale. Este rezistentă la frig și la congelare. În apă, noroi, în carcasele de animale în putrefacție poate persista mai multe săptămâni. Supraviețuiește în apă sau noroi pentru că poate supraviețui și se poate înmulți în interiorul amoebelor. Muștele pot purta agentul patogen circa 14 zile, iar căpușele 2-3 ani.

Structura antigenică

Tulpinile de *F. tularensis* sunt omogene antigenic, dar genul poate fi împărțit în două biovaruri: A sau *tularensis* prezent exclusiv în America de Nord și B sau palaeartica, mai puțin virulent, circulat în Europa, Asia, America.

Capsula conține lipopolizaharide și carbohidrați iar în peretele tulpinilor de *F.tularensis* există o serie de antigene printre care antigenul somatic O (endotoxina).

Unele antigene al tulpinilor de *Francisella tularensis* au structuri proteice înrudite cu antigenele aglutinante ale tulpinilor de *Brucella* și de *Yersinia enterocolitica* O:3.

Caractere de patogenitate

Cu toate că factorii responsabili pentru patogenitatea *F. tularensis* nu sunt foarte bine definiți, capsula și endotoxina par a fi implicate în patogenitatea bacteriei. Este o bacterie facultativ intracelulară.

„Marea infecțiozitate a bacteriei face din *Francisella tularensis* o potențială armă biologică”

Răspuns imun

Imunitatea după infecție persistă toată viața.

Este asigurată de anticorpii aglutinanți care apar după 7-10 zile de la debutul bolii, cresc până la un nivel maxim, se mențin la titru ridicat pe toată durata bolii. În convalescență scad rămânând la valori constante ani de zile dar fără efect protector.

Francisella tularensis are capacitatea de a supraviețui intracelular ceea ce explică recăderile și cronicizarea bolii chiar în prezența unor titruri ridicate de anticorpi.

Imunitatea celulară reprezintă modalitatea principală de apărare față de infecție, este de durată și înalt protectivă..

PATOGENIE. BOALA LA OM

Tularemia este o boală specifică animalelor transmisibilă ocazional la om.

F. tularensis are o infecțiozitate foarte mare. Doza infectantă este de numai 50 de microorganisme infecția instalându-se după penetrarea tegumentelor sau mucoaselor sau după inhalarea acestei cantități de microorganisme. Cel mai adesea contaminarea se realizează printr-o soluție de continuitate tegumentară.

La poarta de intrare are loc multiplicarea microorganismului, clinic manifestă prin eritem, papulă, pustulă, ulceratiune.

Infecția se propagă pe cale limfatică (limfangită) prinzând ganglionii limfatici regionali, care se măresc și încep să supureze (adenită) cu formarea bubonului tularemic. Microorganismele se pot multiplica intracelular, supraviețuind mult timp în monocite sau în alte celule ale organismului.

Pe cale limfatică bacteria este deversată în sânge (bacteriemie tranzitorie), diseminată în organism, cu formarea de focare în diferite organe parenchimatose (plămâni, ficat și splină) unde apar leziunile caracteristice - noduli granulomatoși care se pot necroza sau cazeifica.

Boala poate evolua sub următoarele forme clinice:

- forma ulcero-ganglionară este cea mai frecventă. Este asociată cu leziuni cutanate eritematoase sau veziculare, sindrom pseudogripal. Pacientul prezintă adenopatie cu localizare brahială, submaxilară care fisulizează. Alte manifestări clinice sunt reprezentate de: frison, febră, cefalee, greață, vărsături, afectarea stării generale, în lipsa unui tratament corespunzător se poate ajunge la delir și comă;

- forma tifoidică;
- pneumonia tularemică;
- forma oculoganglionară – bacteria pătrunde prin conjunctivă, cauzând conjunctivita unilaterală cu adenită preauriculară;
- tularemia orofaringiană – manifestată prin stomatită, faringită, tonsilită cu adenopatie cervicală;
- forma intestinală – cu dureri abdominale, diaree, vomismente.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator bacteriologic este dificil, cu mari riscuri de infectare a personalului de laborator. Manipularea produselor biologice infectate și a tulpinilor de *Francisella tularensis* izolate este periculoasă. De aceea diagnosticul bacteriologic direct în tularemie se practică în laboratoare speciale, cu dotări de securitate antiepidemică, de către personal instruit, care are obligația de a purta echipament special de protecție, mască și mănuși.

Diagnosticul direct

Pentru diagnosticul bacteriologic produsele patologice sunt raclatele din ulcerele cutanate, aspiratul ganglionar, spălătura gastrică, sputa, sângele. Recoltarea acestora trebuie făcută cât mai repede după ridicarea suspiciunii de tularemie întrucât după supurarea bubonului bacteria dispare rapid și nu mai poate fi depistată.

Pentru examinare microscopică se procedează la colorație imunofluorescentă.

Izolarea pe medii de cultură nu este o metodă sensibilă de diagnostic. Cultivarea germenului este dificilă. Mediile de cultură rămân adesea sterile chiar dacă produsul patologic este inoculat în mediu în condiții optime. Dacă se reușește izolarea tulpinii de *Francisella* pe cultură, identificarea se realizează prin reacție de aglutinare pe lamă cu ser imun specific sau prin inoculare la animal de laborator.

Mai utilă este inocularea percutană a produsului recoltat la șoarece sau cobai. Animalele vor fi sacrificate după 6-10 zile, autopsiate. Bacteria se evidențiază pe frotiuri din sânge, pe amprente din splină, ficat, peritoneu colorate cu colorația Giemsa. Se poate face și izolarea bacteriei pe medii de cultură speciale.

Diagnosticul serologic se poate practica și în laboratoarele unde nu se pot realiza condițiile de securitate antiepidemică sau când nu se poate realiza izolarea bacteriei pe mediul de cultură.

Se practică aglutinarea în tuburi, hemaglutinarea sau reacții de tip ELISA.

Din a 7-a zi de boală pot fi depistați anticorpi anti-*Francisella tularensis* de tip aglutinine care ating un nivel maxim la 4-8 săptămâni și pot persista în titruri dozabile timp de mai mulți ani.

Suspiciunea de tularemie este susținută de titruri de peste 1:80. Titruri între 1:20 și 1:80 sunt decelate mulți ani după infecție.

Confirmarea infecției tularemice se face prin prelucrarea a două probe se sânge recoltate la interval de 2 săptămâni, în vederea evidențierii prezenței anticorpilor, a titrurilor și a evoluției lor în dinamică. O creștere a titrului de cel puțin 4 ori la a doua recoltare confirmă o infecție recentă.

Un titru mai mare de 1:160 la un singur ser recoltat în convalescență poate sugera diagnosticul în context clinic și epidemiologic.

Trebuie reținută posibilitatea unor reacții încrucișate cu *Brucella* sau cu *Yersinia enterocolitica* O:3.

Diagnosticul se mai poate clarifica prin intradermoreacția la tularină care se pozitivează după a 5-a zi de boală. Această reacție depistează sensibilitatea de tip întârziat care persistă ani de zile la foștii bolnavi.

TRATAMENT

Aminozidele, ciclilinele, cloramfenicolul, fluorochinolonele sunt active *in vitro* pe tulpinile de Francisella.

Antibioticul de elecție este streptomina. Gentamicina pare a fi la fel de eficace. Pot apărea recăderi. Pot fi folosite și tetraciclina și cloramfenicolul, dar recăderile sunt mai frecvente, mai ales dacă tratamentul este întrerupt prematur. Multiplicarea intracelulară a *F. tularensis* creează dificultăți în vindecarea tularemiei.

Tratamentul antibiotic **precoce** este eficient în timp ce antibioticoterapia aplicată în stadiul tardiv, după abcedarea bubonului nu mai are sens. În această fază este indicat tratamentul chirurgical al leziunii.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE ȘI CONTROL

Tularemia există în multe țări, cu precădere în emisfera nordică evoluând sporadic sau în epidemii.

Sursa de infecție o constituie animalele sălbatice și domestice infectate cu *F. tularensis*. Afectează iepurii de casă și sălbatici, rozătoarele sălbatice mici, căprioara, porcul mistreț. Animalele domestice cum ar fi câinele și pisica sunt doar purtătoare ale bacteriei. Transmiterea germeului între animale se realizează prin intermediul căpușelor, înțepăturii de insecte, canibalismului.

Infecția umană este accidentală, transmiterea agentului patogen de la animalul bolnav la om se face printr-una din următoarele căi:

- contactul direct cu animalele
 - bolnave sau cu produsele lor (jupuire, tranșare), agentul pătrunzând ușor prin tegumente sau mucoase;
 - după mușcătura de animal;
- pe cale digestivă, prin ingestia de apă sau alimente contaminate;
- prin intermediul unor artropode hematofage: căpușe, muște, țânțari, ploșnițe;
- pe cale respiratorie, prin aerosoli (foarte rar).

Boala are caracter profesional survenind la persoane care vin în contact cu animalele bolnave: vânători, paznici de vânătoare, muncitori forestieri, pădurari, agricultori, crescători de animale, măcelari. În unele țări 90% din cazurile de tularemie apar prin contact cu iepurii sălbatici infectați.

Boala apare mai frecvent în perioada sezonului de vânătoare dar persistă și în afara acestei perioade. Această situație se explică prin braconaj dar și prin manipularea de carne de vânat congelată întrucât Francisella este rezistentă la congelare.

Pentru că nu există un control al circulației acestei bacterii în natură, singura metodă nespecifică de profilaxie constă în evitarea contaminării. Ca profilaxie specifică se poate face imunizare prin administrarea intradermică a unui vaccin viu atenuat la persoanele cu risc crescut. Persoanele vaccinate nu sunt protejate complet dar în caz de infecție vor face o formă mai ușoară de boală. Răspunsul imun umoral persistă 3-5 ani iar cel celular ani de zile după vaccinare.

GENUL PASTEURELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Pasteurella* cuprinde specii responsabile de boli ale animalelor, transmise ocazional omului. Aceste bacterii au un istoric interesant, o taxonomie în continuă schimbare și o patogenie complexă.

În 1879 Toussaint și apoi Pasteur au reușit să cultive „bacilul holerei găinilor” demonstrând etiologia microbială a bolii. Louis Pasteur este cel care a identificat una din speciile genului ca agent etiologic al holerei găinilor preparând un vaccin împotriva acestei maladii. Pentru aceasta, în 1887 Trevisan propune ca genul din care face parte bacteria respectivă să se numească *Pasteurella*.

Microbii din genul *Pasteurella* sunt cocobacili Gram negativi, pleomorfi, imobili, nesporulați.

Specia tip este reprezentată de *P. multocida*. Interes medical prezintă și *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella ureae*.

PASTEURELLA MULTOCIDA

CARACTERE GENERALE

Habitat

P. multocida poate fi izolată de la nivelul căilor aero-digestive superioare al animalelor sălbatice și domestice, importante surse de infecție pentru om fiind pisica și câinele. Persoanele care vin în contact strâns cu aceste animale pot fi purtătoare nazo-faringiene ale bacteriei.

Caractere morfotinctoriale

Este un cocobacil Gram negativ, colorat bipolar, imobil, nesporulat, poate fi capsulat.

Caractere de cultură

Bacteria se dezvoltă la 37°C pe medii de cultură obișnuite în aero-anaerobioză. Sunt aerobi facultativ anaerobi. Creșterea este stimulată dacă mediul conține și sânge sau ser. Pe agar coloniile sunt de tip S, mici, rotunde, neuniforme, bombate, semitransparente, cu opalescență albăstruie. Pe geloză-sânge coloniile sunt mici, cenușii, nehemolitice. După repicare coloniile pot deveni de tip R. Tulpinile de origine umană, capsulate, formează colonii mari, mucoide, de tip M.

Caractere biochimice

P. multocida posedă oxidază, catalază și nitrat-reductază dar nu produce lizin-decarboxilază și nici arginin-dezaminază.

Fermentarea zaharurilor este corelată cu tipul antigenic și cu originea tulpinii. Fermentează glucoza, zaharoza, xyloza, arabinoza și manitolul, nu și

maltoza. Acțiunea asupra lactozei este variabilă, în funcție de tulpină. Nu poate utiliza citratul ca unică sursă de carbon.

Descompune proteinele cu producere de indol și nu cu eliberare de H₂S. Nu posedă urează și gelatinază.

Rezistența în mediul extern

Este o bacterie sensibilă. Este distrusă în 15 minute sub acțiunea fenolului 0,5% și în câteva minute prin încălzire la 60°C.

Structură antigenică

Prezintă antigene somatice și capsulare.

Pasteurella prezintă lipopolizaharide, componente ale membranei externe, care se comportă ca endotoxină constituind antigenul somatic O.

Polizaharidele capsulare antigenice au permis clasificarea în 5 serotipuri capsulare (A, B, D, E, F) pe baza unei reacții de hemaglutinare indirecte. Tulpinile implicate în patologia umană aparțin tipului A sau, mai rar, serotipului D. Variantele M ale serotipurilor A și D, formatoare de colonii mucoase pe mediul de cultură, posedă o capsulă de acid hialuronic ce va masca prezența altor antigene.

Răspuns imun

Pasteurella multocida este o bacterie cu dezvoltare intracelulară cu precădere. Probabil cei mai importanți anticorpi apăruți în cursul infecției sunt anticorpii opsonizanți.

Caractere de patogenitate

P. multocida este patogenă în special prin multiplicare și invazivitate. Factorul de virulență este reprezentat de capsulă care, inhibând fagocitarea germenilor, permite invadarea organismului gazdă. Unele tulpini de P. multocida produc o citotoxină dermonecrotică.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Este patogen pentru animalele cu imunitatea scăzută omul infectându-se accidental. Microorganismul are capacitatea de a se multiplica atât intra-, cât și extracelular.

Infecțiile umane cu P. multocida se încadrează în trei grupe generale:

1. pasteurelloza de inoculare – apare după mușcătura, zgârietura sau lingerea unei plăgi preexistente de către un animal infectat, cel mai adesea pisică sau câine. Poarta de intrare este frecvent cutanată, excepțional oculară. Se manifestă ca infecții locale, celulite, abcese, uneori osteomielite etc. localizate, în ordinea frecvenței, la membrele superioare, inferioare și la nivelul capului (mai ales la copii). La 24 de ore de la rănire apar manifestări inflamatorii locale, intense, însoțite de dureri vii, limfangită, adenopatie epitrochleană, axilară, poplitee sau crurală în funcție de localizarea leziunii. Semnele locale scad în intensitate în câteva ore dar adenopatiile regionale persistă câteva săptămâni. Viderea este *ad integrum*, fără sechele. În cazul mușcăturilor profunde poate apare osteită sau artrită supurată.

2. infecții ale căilor respiratorii – sunt frecvente la persoane care trăiesc împreună cu animalele. Aceste persoane pot prezenta angine, rinofaringite, sinuzite, bronșite, pneumonii, abcese pulmonare, pleurezii etc.;

3. infecții sistemice – se referă la septicemia urmată de atingeri viscerale. Apar frecvent la persoanele debilitate de o boală de bază: ciroză etilică, insuficiența hepatică, leucemie, cancer, imunodepresie.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este **bacteriologic** și cuprinde etapele clasice ale diagnosticului direct.

Recoltarea produsului patologic: aspirat sau chiuretaj din plaga mușcată, puroi sinusal, spută, exsudat pleural, lichid cefalo-rahidian, sânge pentru hemocultură.

Examenul frotiului din produs patologic evidențiază mici cocobacili Gram negativi polimorfi, nesporulați, eventual colorați bipolar.

Cultivarea se poate realiza pe medii solide sau lichide, simple sau îmbogățite cu 5% sânge de berbec, incubate 72 de ore la 37°C în atmosferă de 3-5% CO₂. Coloniile apar în 24-48 de ore. Sunt mici, strălucitoare, uneori mucoase.

Identificarea bacteriei se face în continuare pe baza caracterelor morfologice, de cultură, biochimice și antigenice.

O metodă rapidă și sensibilă de izolare și totodată de certificare a virulenței tulpinii este inocularea produsului patologic la șoarece care va dezvolta o infecție cu efect letal în 24 de ore.

Diagnosticul serologic nu are valoare.

Intradermoreacția la pasteurelină evidențiază o reacție de sensibilizare specifică după 8-10 zile de la infecție. Este utilă în formele subacute sau cronice ale infecției.

TRATAMENT

Majoritatea tulpinilor animale de *Pasteurella* sunt rezistente la antibiotice.

Tulpinile umane prezintă rareori farmacorezistență, cele mai multe fiind sensibile la betalactamine, cicliline, imidazoli, fluorochinolone. Ca alternativă terapeutică pot fi utilizate macrolidele și aminozidele deși sunt mai puțin eficiente. Pentru afecțiunile sistemice sunt utile fluorochinolonele.

Pe lângă tratamentul antibiotic corect, este necesar tratamentul local al plăgii.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Pasteurella multocida poate fi identificată în tractul respirator sau gastrointestinal al animalelor sau păsărilor. Germenul determină pneumonii sporadice sau epidemice, precum și septicemii la vaci, oi, porci și holera aviară la găini, curcani, rațe. Infecția se răspândește cel mai frecvent după mușcături de animale. Limitarea contactului cu animalele domestice sau sălbatice rămâne principalul mijloc de a împiedica infecțiile cu *Pasteurella*. Tratamentul local al zonei mușcate este foarte important.

PASTEURELLE CU INTERES MEDICAL

1. Pasteurella haemolytica: cauzează rar infecții umane fiind mai frecvent izolată din tractul respirator al vitelor, cailor, oilor, porcilor, păsărilor. Cauzează pneumonie la vite și oi și holeră la găini și curcani.

2. Pasteurella dagmatis: găzduită de animale, determină infecția plăgilor mușcate de câine sau pisică. Poate cauza endocardită.

3. Pasteurella ureae: este izolată mai frecvent din căile respiratorii ale omului, mai rar ale animalelor. Ocazional cauzează peritonite, meningite, septicemii, pneumonii.

4. Pasteurella canis și Pasteurella stomatis fiind prezente în orofaringele câinilor și/sau al pisicilor infectează plăgile mușcate de aceste animale.

GENUL HAEMOPHILUS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul Haemophilus reunește un grup larg de cocobacili polimorfi, imobili, nesporulați, Gram negativi, aerobi și facultativ anaerobi și carboxifili.

Le place să crească pe medii cu sânge pentru că aceste medii le oferă doi factori de creștere de care multe specii de Haemophilus au strictă nevoie:

- factorul X (hemina, feroprotoporfirina) – component termostabil, rezistă 45 minute la 120°C, este prezent în sânge și în derivatele sale cu hemină;

- factorul V – component termolabil, rezistă 15 minute la 90°C. Eliberat din hematii, este distrus repede de pirofosfataza și ADN-aza prezente în sângele de om, oaie, capră, bovină. Este alcătuit din coenzime din clasa dehidrogenazelor care sunt prezente în globulele roșii, în țesuturile animale și vegetale și în majoritatea bacteriilor (stafilococ, enterococ, E.coli, levuri etc.). În componența sa intră:

- o fie din nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) sau diphosfonucleotid (DPN) sau coenzima I
- o fie din nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) sau triphosfonucleotid (TPN) sau coenzima II

Specia care necesită pentru creștere numai factorul V primește la denumire prefixul „para” (H.parainfluenzae).

Mediile de cultură care permit izolarea tulpinilor de Haemophilus trebuie să conțină, în funcție de specie, fie factor X, fie factor V fie ambii factori în concentrații cuprinse între 0,5 – 25 mg/ml de mediu, în funcție de specia de Haemophilus. Pentru că sângele proaspăt conține o DNA-ză și pentru că factorul V este prezent intraglobular și nu va putea migra în mediu, este necesară încălzirea moderată a sângelui (75°C). La această temperatură DNA-za este distrusă, eritrocitele se rup și eliberează hemina care este termostabilă și factorul V care rezistă la temperaturi de până la 90°C.

Mediile utilizate pentru izolarea speciilor de Haemophilus sunt:

- geloza ciocolată;
- geloza Fildes – obținută prin adăugarea în mediu a „extractului Fildes” (extract care conține factorii X și V eliberați din sângele de berbec prin digestie peptică) este un mediu transparent;
- geloza Levinthal;
- Haemophilus Test Medium (HTM) etc.

Unele bacterii cum este *Staphylococcus aureus* produc o cantitate mare de NAD. Se poate obține o cultură de *Haemophilus* pe geloza sânge (care furnizează factorul X) de-a lungul unui striu de cultură de *Staphylococcus aureus* care furnizează factor V. Acest fenomen se numește satelitism.

Pentru a împiedica dezvoltarea microorganismelor de contaminare mediile pot fi suplimentate cu substanțe antibiotice: bacitracină, vancomicină, lincomicină, oxacilină etc.

Din punct de vedere medical sunt importante speciile pe care omul le adăpostește în patru ecosisteme: faringe, cavitatea bucală, placa dentară și sporadic intestinul și aparatul uro-genital.

Haemophilus influenzae este, de departe, specia cel mai frecvent implicată în infecții umane, în special la copii.

Celelalte specii izolate de la om sunt comensale oportuniste care pot fi implicate ocazional în infecții din sfera oto-rino-laringiană sau, la pacienți imunodeprimați, în septicemie sau endocardită: *Haemophilus aegyptius*, *H. ducreyi*, *H. haemolyticus*, *H. parainfluenzae*, *H. aphrophilus*, *H. parahaemolyticus*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis*, *H. paraphrohaemolyticus*.

Haemophilus ducreyi și *Haemophilus aegyptius* sunt patogeni ai mucoaselor genito-urinară respectiv conjunctivală și nu au fost izolați de la persoane sănătoase.

Haemophilus nu se găsește liber în natură.

Clasificarea speciilor de *Haemophilus* ține cont de exigențele de creștere și de caracteristicile biochimice (tabel XI).

Tabel XI. Clasificarea speciilor de *Haemophilus* (după A.Decoster, 2005)

Specia	Factor X	Factor V	oxidaza	catalaza	ureaza	indolul
<i>H. influenzae</i>	+	+	+	+	(+)	(+)
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+	+	(+)	+ sau -
<i>H. parainfluenzae</i>	-	+	+	+ sau -	(-)	
<i>H. paraphrophilus</i>	-	+	+	-	-	-
<i>H. segnis</i>	-	+	-	-	-	-
<i>H. aphrophilus</i>	+	-	-	+	-	-
<i>H. haemoglobinophilus</i>	+	-	+	(+)	-	+
<i>H. ducreyi</i>	+	-	-	-	-	-

Legendă: +/- = caracter pozitiv/negativ la toate tulpinile; (+)/(-) = caracter pozitiv/negativ la majoritatea tulpinilor.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

A fost considerat **GREȘIT** ca agentul etiologic al gripei în pandemia de gripă din anii 1890-1892. Numele bacteriei amintește permanent această **ASOCIERE GREȘITĂ**: haima = sânge; philios = iubitor; influenza = gripă (bacterie iubitoare de sânge care determină gripa). A fost observat în 1890 și izolat în 1892 de Pfeiffer motiv pentru care se mai numește și „bacilul lui Pfeiffer”.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Colonizează mucoasa tractului respirator uman la 75% din copii și la 40% din adulți. Poate coloniza și mucoasa conjunctivală precum și tractul genital la 30-80% din persoanele sănătoase.

Caractere morfologice

În produsul patologic germenii sunt prezenți sub formă de cocobacili Gram negativi, mici (1-1,5 / 0,3 μm) sau bacili scurți, dreți, cu capete rotunjite, uneori dispuși în lanțuri scurte.

Pe frotiul efectuat din culturi în medii bogate, la 6-8 ore, predomină formele cocobacilare, care au și capsulă. Pe frotiul din culturile vechi bacteria se caracterizează prin pleomorfism; se pierde capsula ceea ce crează probleme de diagnostic diferențial microbiologic.

Caractere de cultură

Se cultivă pe mediile amintite mai sus, Haemophilus influenzae necesitând pentru inițierea creșterii 5-10% CO_2 , atmosferă umedă, temperatură de 35-37° C, și un pH = 7,6. Durata incubării este minim 24-48 de ore. Prezintă fenomenul de satelitism.

Pe geloză chocolat crește sub formă de colonii cenușii, opace sau transparente, netede, cu margini bine delimitate asemănătoare cu picăturile de rouă (de condens), care ating 1-3 mm abia după 36-48 ore. Tulpinile capsulate formează colonii mucoide cu tendință de confluare.

Pe geloză-sânge cu infuzie de inimă-creier apar colonii mici, rotunde, convexe, de tip S, care în primele 24 ore prezintă irizații puternice, caracteristice. Nu apare hemoliză.

Pe mediile transparente (geloza Fildes, geloza Levinthal, mediul HTM etc.) coloniile sunt rotunde, convexe sau conice, transparente sau albastru-verzui.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt germeni aerobi - facultativ anaerobi și carboxifili. Posedă o catalază și o oxidază, 70% din tulpini sunt indol pozitive. Fermentează slab și inconstant carbohidrații: descompune glucoza, maltoza, xiloza, nu descompune lactoza și zaharoza. Pe baza unor teste biochimice specia a putut fi împărțită în 8 biotipuri numerotate de la I la VIII. Biotipul I este cel mai frecvent izolat.

Ațiunea agenților fizici, chimici și biologici

Este foarte sensibil în mediul extern. Prin uscare sunt omorâți rapid, în spută pot rezista până la 48 de ore. Sunt distruși de dezinfectanții obișnuiți sau de menținerea timp de 30 minute la 56°.

Tulpinile izolate pot fi conservate prin liofilizare sau prin menținerea la -70°C.

Referitor la efectul antibioticelor asupra tulpinilor de *Haemophilus influenzae* este de remarcat emergența tulpinilor rezistente la ampicilină prin producerea de beta-lactamază. Rezistența față de tetraciclină, cloramfenicol, kanamicină este adesea asociată cu cea față de ampicilină și prin testarea concomitentă a acestor 4 antibiotice au fost identificate 12 fenotipuri de rezistență. Este sensibil față de penicilinele A asociate cu un inhibitor de beta-lactamază, față de cefalosporinele de generația a doua și a treia, de fluorochinolone și de gentamicină. Puține tulpini sunt rezistente față de cotrimoxazol. Lincozaminele sunt ineficiente iar macrolidele sunt inconstant eficace.

Structură antigenică

Tulpinile de *Haemophilus influenzae* prezintă ca structuri antigenice capsula, fimbriile (pili), lipopolizaharidul și proteinele membranei externe.

Tulpinile virulente prezintă o capsulă polizaharidică care are o compoziție diferită, în funcție de tipul serologic. Există 6 tipuri antigenice capsulare (serovaruri) notate de la a la f. Tipurile (a-f) se pot diferenția prin reacții de umflare a capsulei și de imunofluorescență folosind seruri specifice. Cel mai răspândit și mai patogen este tipul b, la care antigenul este poliribozil-ribitol-fosfat (PRP) și prezintă înrudiri antigenice cu *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *E.coli* K₁ (majoritatea microorganismelor din flora normală a tractului respirator nu prezintă capsulă).

Alte structuri de suprafață prezente la *Haemophilus influenzae* sunt antigenice și pot fi utile în studiile epidemiologice pe baza lor identificându-se subtipuri în sânul serovarurilor.

Haemophilus influenzae de tip b izolat din nazo-faringe prezintă fimbrii în timp ce izolatele din lichid cefalorahidian și din sânge nu prezintă pili.

Antigenele somatice sunt reprezentate de cel puțin două proteine: substanța M, un antigen de suprafață labil și substanța P, care constituie o parte însemnată a corpului bacterian.

Endotoxina (antigenul O) se poate extrage de exemplu din culturi realizate în mediu lichid, dar natura ei antigenică nu este foarte clară.

Răspunsul imun

La nou născuți și la sugarii sub 3 luni există o stare de imunitate, ei posedând anticorpi proveniți de la mamă. După această vârstă, concentrația de anticorpi scade. Corelația între anticorpii bactericizi anti-capsulari (care contribuie la realizarea lizei dependentă de complement și care stimulează fagocitoza) și rezistența la infecții majore cu *Haemophilus influenzae* există, însă nu este foarte clar în ce măsură acești anticorpi pot duce singuri la instalarea imunității. Macroorganismul nu poate împiedica instalarea stării de comensalism dar se opune generalizării infecției prin anticorpii anti-capsulari cu efect opsonizant și prin sistemul complement. Anticorpii de tip IgA secretorii asigură imunitatea la nivelul mucoaselor.

Pacienții fără anticorpi anti-capsulari, deficienți de complement și splenectomizați sunt predispuși infecțiilor cu Haemophilus influenzae.

Anticorpii anti-capsulă apar în urma infecției naturale, a vaccinării sau a transferului pasiv de anticorpi materni.

Caractere de patogenitate

Haemophilus influenzae este patogen prin multiplicare și invazie. Principalii factori de virulență sunt polizaharidele capsulare, pili de adeziune și IgA proteazele.

Rolul esențial în patogenitatea tulpinii îl are prezența capsulei care îi conferă caracterul invaziv, iar din cele șase tipuri, tipul b apare în circa 90% din cazurile severe de infecție cu Haemophilus influenzae. Are rol în colonizare și este factor major al virulenței protejând bacteria de fagocitoză și de liza mediată prin complement.

Pentru tulpinile capsulate, în special cele de tip b, adezinele mediază colonizarea orofaringelui și a epitelului respirator cu H. influenzae. Componentele peretelui bacterian afectează funcția cililor, bacteriile sunt translocate prin celulele epiteliale și endoteliale, pătrund în torentul sanguin. În absența anticorpilor opsonizanți specifici față de capsulă, apare bacteriemie cu diseminare meningeală, articulară, renală.

Prezintă adezine de suprafață, filamentoase, care sunt importante pentru colonizare dar nu conferă caracter invaziv tulpinii.

Endotoxina are un rol redus în patogenitate. Rolul antigenelor somatice urmează să fie clarificat.

Tulpinile din tipul antigenic b produc bacteriocine.

IgA proteazele sunt enzime produse de Haemophilus influenzae, capabile să cliveze IgA. În acest fel tulpinile de Haemophilus influenzae reduc apărarea locală a mucoaselor infectate. Enzime asemănătoare sunt identificate și la alte specii de Haemophilus ca și la alte bacterii: Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Neisseria gonorrhoeae.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Haemophilus influenzae este o bacterie piogenă responsabilă de variate infecții cu evoluție severă în special la copii. Se disting 2 categorii de afecțiuni:

- afecțiuni acute însoțite de bacteriemie, cauzate de tulpini invazive, capsulate de Haemophilus influenzae (în special serovar b, biotip I);
- afecțiuni acute sau cronice, fără bacteriemie, provocate de tulpini necapsulate.

Boala debutează ca o rinofaringită acută, probabil în asociere cu o infecție virală la nivelul tractului respirator, urmată de epiglotită, laringotraheită, otită, sinuzită, mai rar de pneumonie dar și de meningită acută purulentă la copiii mici preșcolari. Prin extensie locală pot fi afectate sinusurile sau urechea medie.

Dacă microorganismul pătrunde în torentul sanguin, pe această cale poate infecta meningele. Ocazional infecția cu H. influenzae poate duce la o laringotraheită obstructivă fulminantă care necesită traheotomie sau intubare promptă a copilului respectiv.

În infecțiile cauzate de Haemophilus influenzae la copil sunt implicate aproape întotdeauna tulpini capsulate aparținând serotipului b, biotip I.

- meningita – Este mai frecventă la copii mici (3-30 luni). Este precedată de infecții ale căilor respiratorii superioare sau oto-rino-laringologice, urmate de stare septicemică.
 - epiglotita – Este mai frecventă la copii mari (2-7 ani). Debutează brusc, are un tablou clinic impresionant cu semne generale de septicemie și grave dificultăți respiratorii.
 - stări septicemice – Caracterizate prin temperatură ridicată, frisoane însoțite sau nu de semne de localizare a infecției: artrită, otită, pericardită, pneumonie etc.
 - infecție neonatală generalizată – Se datorează contaminării nou-născutului în timpul nașterii și are evoluție severă.
- Tulpinile necapsulate de *Haemophilus influenzae* au fost izolate din diferite infecții: otite medii acute, infecții bronhopulmonare, conjunctivite.
- La adult tulpinile izolate din infecții sunt de obicei necapsulate, cauzând:
- infecții respiratorii – Sunt cele mai frecvente, *Haemophilus influenzae* determinând instalarea unei bronhopneumonii pe fondul unei bronșite cronice sau a unei pneumonii adesea însoțită de bacteriemie.
 - meningită – La adult meningita cu *Haemophilus influenzae* este rară și apare în special la persoane cu vârste înaintate.
 - Mai rar pot fi identificate diverse localizări ale infecțiilor cu *Haemophilus influenzae* la adult: articular, osos, oto-rino-laringologic, ocular, genito-urinar. Importante sunt infecțiile puerperale sau localizările vaginale ale bacteriei care pot cauza infecții ale nou-născutului.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Pentru diagnosticul de laborator al infecțiilor cauzate de *Haemophilus influenzae* se recoltează sânge, LCR, spută, lichid recoltat prin puncție intraarticulară, secreții otice care trebuie transportate urgent la laborator.

Examenul direct al produsului patologic fie sub forma unui frotiu colorat Gram fie după colorație imunofluorescentă poate optimiza diagnosticul.

Un diagnostic rapid poate fi obținut prin evidențierea antigenelor solubile prezente în LCR, ser, urină cu ajutorul testului de latexaglutinare. Pentru realizarea unui diagnostic rapid al meningitei cu *Haemophilus*, se poate face contraimmunoelectroforeza pornind de la LCR.

Pentru cultivare este de preferat însămânțarea produsului patologic imediat după recoltare, germeul fiind foarte sensibil în mediul extern. Se folosește geloza chocolat sau un mediu selectiv cu antibiotice, se incubează la 36°C timp de 24-48 de ore. Coloniile sunt mici, albe sau cenușii, mucoase dacă tulpina este capsulată.

Identificarea se face pe baza morfologiei și a exigențelor de creștere. Se practică testul de satelitism sau se pot utiliza discuri impregnate în factor V, factor X, și asociere de factor V+X. *Haemophilus influenzae* nu va crește în jurul discului V+X.

Studiul caracterelor biochimice (producerea de indol, ornitindecarboxilaza, ureaza) permit încadrarea în biotipuri iar reacțiile de aglutinare pe lamă cu seruri imune specifice stabilesc serotipul tulpinii sau prezența capsulei.

În final se realizează testarea sensibilității la antibiotice (antibiograma).

TRATAMENT

Multe din tulpini sunt sensibile la ampicilina, deși 25% produc β lactamaze sub control plasmidic și din 1980 este cunoscută rezistența la ampicilină prin modificarea proteinelor de legare a penicilinelor ceea ce determină creșterea CMI pentru toate β -lactaminele. Multe din tulpini sunt susceptibile la cloramfenicol. Importanța tratamentului bine derivă din faptul că peste 90% din copiii cu meningită cu Haemophilus influenzae netratată decedează și sunt posibile implicări ulterioare neurologice și intelectuale.

Infecțiile grave sunt tratate parenteral cu ceftriaxon sau cefotaxim. Tratamentul celorlalte tipuri de infecții este util să se facă sub controlul antibiogramelor și al detectării beta-lactamazelor.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Rezervorul de infecție pentru Haemophilus influenzae este strict uman. Haemophilus influenzae tip b are ca rezervor de infecție bolnavii sau purtătorii sănătoși de la care se transmite pe cale aeriană, prin picături Flügge, interuman.

Infecțiile sub vârsta de 2 luni sunt extrem de rare, copilul fiind protejat de anticorpii materni, dar peste această vârstă copilul este „obligatoriu” contaminat dată fiind rata mare a portajului asimptomatic de Haemophilus influenzae în populație.

Receptivitatea este generală boala fiind dependentă de vârstă și de factori legați de gazdă: deficit de complement, splenectomie, imunosupresie, alcoolism, boli pulmonare cronice etc.

Infecțiile cu Haemophilus influenzae sunt mai frecvente iarna, în colectivități închise sau aglomerate, cu condiții de igienă precare.

Profilaxia specifică se realizează prin vaccinare sau/și în anumite situații prin chimioprofilaxie (rifampicină).

HAEMOPHILUS DUCREYI

Haemophilus ducreyi este agentul patogen al șancrului moale, maladie veneriană specific umană, frecventă în zonele tropicale și subtropicale. Deși este întâlnită în toată lumea, boala are incidență mică în țările industrializate. Incidența raportată poate fi pusă sub semnul întrebării ținând cont de dificultatea diagnosticului bacteriologic al infecției.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Este strict patogen pentru specia umană, găsindu-se uneori în leziunile bolnavului. Se dezvoltă intra- și extracelular, este facultativ anaerob.

Caractere morfologice

Este un bacil scurt, Gram negativ, colorat bipolar, dispus în perechi sau lanțuri paralele.

Caractere de cultură

Crește optim pe medii care au factorul X, pe geloză chocolat cu adaos de vancomicină și polimixină, pe geloza cu sânge de iepure și ser fetal de vițel, incubate la 33-35°C și în atmosferă de 10% CO₂. Este un germen facultativ

anaerob. Coloniile apar târziu, după 72 de ore, sunt mici, netede, cenușii, lucioase, înconjurate de hemoliză beta pe geloza sânge.

Acțiunea agenților fizici și chimici.

Prezintă sensibilitate la acțiunea căldurii, uscăciunii și dezinfectanților obișnuiți. Este sensibil la ampicilină, cloramfenicol, rifampicină, biseptol, eritromicină dar poate dezvolta rezistență față de antibiotice.

Structură antigenică

Toate tulpinile posedă un antigen identic cu capacitate sensibilizantă precum și antigenul O.

PATOGENITATE. BOALA LA OM

Este strict patogen pentru om cauzând șancrul moale, o boală cu transmitere sexuală. Haemophilus ducreyi produce o toxină cu efect citocid care pare a fi responsabilă de manifestările toxice ale infecției.

După 5-7 zile de la contactul sexual infectant, în regiunea genitală apare inițial o papulă sensibilă, cu eritem în jur, care se transformă în pustulă și apoi în eroziune care ulcerează. Leziunile sunt dureroase, înconjurate de eritem și edem. Leziunea sângerează ușor la atingere. Șancrul poate fi singular (mai ales la bărbat) sau multiplu (în special la femeie), fiind raportate până la 10 ulcerații la un pacient.

Ganglionii regionali, unilateral, sunt măriți, dureroși și pot supura. Nu sunt depășite limfaticile învecinate. Diagnosticul diferențial trebuie făcut cu sifilisul, infecția cu herpes simplex, limfogranulomatoza veneriană.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsul patologic destinat examenului bacteriologic se obține prin raclarea secreției de sub marginea șancrului și prin recoltarea de puroi din abces.

Pe frotiul din produs patologic Haemophilus ducreyi apare ca bacili fini, gram negativi, dispuși în perechi sau lanțuri asemănate cu „bancurile de pești”, frecvent în asociere cu alte microorganisme piogene.

Cultivarea în vederea izolării este relativ dificilă: crește slab pe geloza ciocolată, necesită doar factor X, crește mai bine pe medii agarizate suplimentate cu 20-30% sânge de iepure și 5% ser fetal de vițel. Incubarea se face la 33°C, în prezența a 10% CO₂, în atmosferă cu 90-95% umiditate. Coloniile apar după 72 de ore, pe geloza ciocolată sunt mici, cenușii, plate, netede, lucioase iar pe geloza sânge sunt înconjurate de hemoliză beta. Identificarea se face pe baza caracterelor metabolice, a producerii de indol, urează și ornitindecarboxilază, necesitatea factorilor de creștere. Este indicată efectuarea antibiogramelor.

În diagnosticul șancrului moale se mai poate folosi reacția în lanț a polimerazei (PCR) și imunofluorescența indirectă cu anticorpi monoclonali dar aceste metode nu sunt la îndemâna fiecărui laborator.

IMUNITATE

Există răspuns imun umoral și celular de scurtă durată dar nu există imunitate față de reinfecție.

TRATAMENT

În șancrul moale se poate utiliza ceftriaxonă, ciprofloxacin, biseptol sau eritromicină pentru o perioadă de 2 săptămâni.

GENUL GARDNERELLA

Cuprinde o singură specie, *Gardnerella vaginalis* (fostă *Haemophilus vaginalis*).

GARDNERELLA VAGINALIS

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Gardnerella reunește cocobacili Gram variabili, imobili, nesporulați, facultativ anaerobi (există și tulpini anaerobe), catalază, oxidază, urează și indol negativi. Au un metabolism fermentativ lent cu formare de acid acetic.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Este o bacterie prezentă în vaginul a 5% din fetele virgine și a 14 – 69% din femeile active sexual. Poate fi izolată din flora uretrei anterioare a partenerilor sexuali ai femeilor cu vaginoză bacteriană. A fost izolată rar din flora ano-rectală a adulților heterosexuali și a copiilor, din sperma cuplurilor sterile și din orofaringe.

Caractere morfologice

Pe frotiul din cultură aspectul morfotinctorial apare diferit în funcție de compoziția mediului și vârsta culturii. Din cultura de 24 de ore pe geloză sânge apare ca bacili fini Gram variabili sau cocobacili. Sunt bacterii imobile. Pe agar *Gardnerella vaginalis* apare ca bacili scurți, Gram negativi (nu apar forme filamentoase!) iar pe mediul cu amidon are aspect polimorf, cu corpul bacterian striat.

În hemocultura de 48 de ore și în cultura tânără de pe medii cu ser apar frecvent forme Gram pozitive.

Studiile referitoare la ultrastructura peretelui bacterian au arătat că acesta este similar cu al bacteriilor Gram **pozitive** cu mențiunea că este mult mai subțire pentru că stratul de peptidoglican este mai slab reprezentat.

Pe frotiul efectuat din scurgerea vaginală a femeilor cu vaginoză se evidențiază așa-numitele „clue-cells” – Gardnerella aderă și acoperă marginea celulelor epiteliale care apar ca celule cu margini neclare, cu aspect granular. Sunt considerate indicatorul cel mai relevant al vaginozei bacteriene.

Alături de aceste „celule cu cuie” este prezentă pe frotiu floră de asociație mixtă constând din:

- Bacili sau cocobacili Gram negativi: Prevotella, Porphyromonas;
- Bacili sau cocobacili Gram variabili: Gardnerella vaginalis;
- Lactobacili aproape absenți.

Caractere de cultură

Crește pe medii speciale, incubate la 35-37°C în atmosferă de 5% CO₂. Tulpinile strict anaerobe trebuie incubate într-o atmosferă de 85% N₂, 10% H₂ și 5% CO₂. Mediile trebuie să conțină acid folic, acid nicotinic, adenină, biotină, niacină, tiamină, triptofan, baze purinice și pirimidinice. Nu trebuie să conțină factorul X (hemina) sau factorul V (NAD) ci doar un factor existent în stroma hematiilor.

Pentru o bună izolare din produsele patologice polimicrobiene, în mediul de cultură se adaugă suplimente alcătuite din 2-3 substanțe selective: acid nalidixic, amfotericină, colistin, gentamicină.

Este sensibilă la polianetol sulfonat de sodiu (anticoagulant) care nu trebuie să fie prezent în mediile pentru hemocultură.

După 24 de ore apar colonii mici cu diametrul sub 0,5 mm, înconjurate de hemoliză beta pe agar cu sânge de om sau de iepure și nehemolitice pe agar cu sânge de berbec. Coloniile sunt mai bine vizibile după 48 ore de incubare și au aspecte diferite în funcție de mediul de cultură.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt bacterii aerobe deși există și tulpini anaerobe. Sunt catalază, oxidază, urează și indol negative. Au un metabolism fermentativ lent cu formare de acid acetic. Pe baza producerii de lipază, beta-galactozidază și a hidrolizei hipuratului de sodiu se pot identifica 8 biotipuri de G. vaginalis dintre care biotipurile 1, 5, 6 sunt cele mai frecvente. Biotiparea este utilă pentru studiile epidemiologice.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Gardnerella vaginalis este considerat patogen genito-urinar implicat etiologic în vaginoza bacteriană deși rolul ei etiologic este controversat. La gravide vaginoza bacteriană poate duce la nașteri premature, la ruptura prematură a membranelor, la corioamniotită.

Poate fi implicată și într-o serie de afecțiuni extragenitale: materne, neonatale, ale tractului uro-genital la femeie și urinar la bărbat, în infecții supurative, bacteriemii, septicemii.

Vaginoza bacteriană reunește manifestările clinice datorate disbiozei vaginale de etiologie neprecizată. Se caracterizează prin înlocuirea lactobacililor

cu germeni ca *G. vaginalis* și cu bacterii anaerobe ca *Mobiluncus*, *Bacteroides*, pacientele respective având frecvent și micoplasme în secreția vaginală.

Clinic femeia prezintă scurgeri vaginale alb-cenușii, omogene, cu miros de pește stricat.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice pentru diagnosticul de laborator sunt: secreția vaginală, secreția uretrei anterioare la bărbat, sânge etc. în funcție de localizarea infecției.

Un test rapid de diagnostic al vaginozei bacteriene (la patul pacientei) constă în tratarea secreției vaginale proaspăt recoltate cu KOH 10%. În caz de vaginoză se va detecta miros de pește.

Recoltarea secrețiilor se face cu 2 tamponane de bumbac, sterile: unul pentru frotiu și unul pentru însămânțare.

Din secreția vaginală a femeilor cu vaginoză bacteriană se efectuează preparat umed și frotiu.

Pe preparatul umed se vizualizează celulele epiteliale exfoliate, cu margini neclare, cu aspect granular datorat aderenței numeroaselor bacterii pe suprafața lor.

Frotiul nu se fixează la flacăra pentru că fixarea termică alterează morfologia celulelor. Este de preferat fixarea cu metanol absolut timp de 5-10 minute pentru a prezerva morfologia celulelor și a leucocitelor. Pe frotiul Gram se văd „clue-cells” și alte microorganisme (vezi caractere morfologice).

Dacă însămânțarea produsului recoltat nu se poate face imediat unul din tamponanele de recoltare se introduce în mediul de transport Amies din care se vor face treceri pe medii speciale în interval de 24 de ore.

Pentru izolarea *G.vaginalis* sunt utilizate medii speciale: agarul HBT (human Blood Tween 80) sau agarul PSD (Peptone Starch Dextrose), Columbia agar selectiv, agar Vaginalis etc. Condițiile de incubare și caracterele de cultură au fost redate mai sus.

Identificarea speciei este dificilă și impune utilizarea a cel puțin 3 teste cu valoare maximă. Se poate face biotiparea, tipizarea cu metode de biologie moleculară sau identificare cu truse „API Coryne”.

Tot pentru identificare se poate folosi testul inhibiției difuzimetrice cu microcomprimate de:

- 50 μg metronidazol – care o inhibă;
- 5 μg trimetoprim – care o inhibă;
- 1 mg sulfonamidă – inhibiție absentă.

„Gold standard”-ul de diagnostic al vaginozei bacteriene este examenul direct al secreției vaginale și nu izolarea *G. vaginalis* întrucât aceasta poate fi prezentă și pe mucoasa vaginală a femeii sănătoase. Izolarea este costisitoare și aproape inutilă, fără a fi decisivă.

TRATAMENT

Metronidazolul este considerat antibioticul de elecție pentru vaginoza bacteriană și pentru tratamentul sistemic al infecțiilor extravaginale cauzate de flora asociată vaginozei bacteriene.

Infecțiile sistemice având *G. vaginalis* ca singur agent etiologic pot fi tratate cu ampicilină, amoxicilină pentru că nu au fost identificate încă tulpini producătoare de beta-lactamază. Nu este recomandată efectuarea antibiogramei pentru *G. vaginalis*.

GENUL LEGIONELLA

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Familia Legionellaceae cuprinde peste 42 de specii încadrate în 64 serogrupe. Dintre acestea, doar 20 de specii au fost izolate din infecții umane. *Legionella pneumophila* este responsabilă de 90% din cazurile de legioneloză, urmată de *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dunoffii*, *Legionella longbeachae* etc.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Nu face parte din flora saprofită umană izolarea ei din produsele patologice umane fiind asociată cu boala. Nu a fost izolată niciodată în pământ uscat, în apa de mare sau la animal.

Se dezvoltă în apele dulci: lacuri, râuri, noroaie ca și în bazinele și rezervoarele de apă artificiale, în rețeaua de canalizare unde trăiește în simbioză cu componenții microbiocenozelor respective. A fost izolată în apa menajeră fiind asociată cu temperatura scăzută a apei calde (sub 55°C), temperatură insuficientă pentru distrugerea bacteriei.

Poate infecta și se poate replica în organismul protozoarelor care trăiesc în bazinele de apă sau în sistemul de alimentare cu apă (*Acanthamoeba*, *Hartmannella* spp.). În interiorul amibelor, nu sunt distruse de enzimele lizozomale și se replică în fagozom. *Legionella* supraviețuiește în amibe ceea ce îi permite să persiste în natură și să se răspândească prin intermediul chisturilor de amibe.

Colonizarea și multiplicarea *Legionellei* în bazinele de apă artificiale este favorizată de: temperatura de 25-42°C; stagnarea apei; sedimente; prezența protozoarelor rizopode sau flagelate în bazinele respective.

Caractere morfotinctoriale

Germenii din genul *Legionella* sunt bacili gram negativi, mici, cu forme filamentoase în culturile vechi. Se colorează greu cu colorațiile obișnuite fiind mai ușor de evidențiat prin impregnare argentică. În funcție de temperatură, pot avea

sau nu flageli care să le asigure mobilitatea. Sunt nesporulați, necapsulați, strict aerobi.

Caractere de cultură

Sunt bacterii strict aerobe care cultivă numai pe medii suplimentate cu L-cisteină, săruri de fier, diverși aminoacizi și factori de creștere. Mediul de cultură trebuie să aibă un pH exact de 6,9. Pentru cultivare este foarte bun mediul BCYE (buffered charcoal yeast extract α -cetoglutarat) ai cărui componenți îi stimulează creșterea. Mediile trebuie incubate la 35°C în atmosferă îmbogățită cu CO₂.

Crește lent, coloniile apar după 3-5 zile de la inoculare. Coloniile sunt rotunde, netede, au luciu roșu-albastru-verzui, au caracter filamentos. Jocul luminii pe suprafața lor le face să pară „colonii cu aspect neregulat”.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt bacterii catalază pozitive, slab oxidază pozitive. Sunt incapabile să descompună prin fermentare sau oxidare zaharurile, nu produc nitrat-reductază și nici urează. Sunt strict aerobe și necesită medii îmbogățite pentru cultivare.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Sunt relativ rezistente în mediul extern. Rezistă:

- un an în apa de robinet, la 4°C;
- patru luni în apa distilată;
- 30 minute la pH de 4,2;
- în apele reziduale clorinate din sistemul de alimentare cu apă la o concentrație scăzută de clor.

Sunt sensibile la acțiunea dezinfectantelor uzuale: fenoli, compuși cuaternari de amoniu și a celor pe bază de clor.

Sunt rezistente la peniciline și la unele cefalosporine prin producere de beta-lactamază. Sunt sensibile la macrolide, flurochinolone.

Sunt sensibile la uscăciune. În rezervoarele de apă, protozoarele rizopode și ciliate le ingeră fără a le distruge, protejându-le în mediile sărace nutritiv ca și de uscăciune.

Structura antigenică

Legionella pneumophila are următoarele antigene:

- lipopolizaharidul (LPS), bogat în acizi grași, are activitate similară cu endotoxina bacteriilor gram negative. Porțiunea sa polizaharidică constituie antigenul „O” pe baza căruia s-au identificat 15 serogrupe de Legionella pneumophila din care serogrupul 1 este divizat prin anticorpi monoclonali în subtipuri;

- proteina majoră a membranei externe (MOMP - major outer membran protein) are specificitate de specie dar este comună tuturor serogrupelor de Legionella pneumophila;

- antigenul flagelar “H” are specificitate de tip.

Au fost identificate 50 serogrupe de Legionella pneumophila dintre care serogrupurile 1, 4, 6 sunt în principal cauzatoare de infecții umane.

Răspuns imun

Imunitatea este asigurată în principal de imunitatea mediată celular fapt care explică de ce bacteria a fost izolată mai frecvent de la pacienți imunodeprimați. Limfocitele T activate produc limfokine care stimulează activitatea

antimicrobiană a macrofagelor împiedicând astfel replicarea intracelulară a bacteriei.

Imunitatea mediată umoral joacă un rol secundar în apărarea anti-Legionella. Anticorpii au rol modest în imunitate, sunt anticorpi opsonizanți. Apar la 7 zile de la debutul bolii, ating nivel maxim după o lună, se mențin 2-3 luni după care dispar.

Caractere de patogenitate

Sunt bacterii facultativ intracelulare. Tulpinile de Legionella pneumophila au diferite grade de virulență în funcție de prezența sau absența unor structuri. Sunt patogene prin:

- glicocalix – un înveliș dispus distal peretelui bacterian prezent la unele tulpini (slime). Prin structura sa fibrilară asigură protecția bacteriei. Funcționează ca ligand la mucoasa respiratorie sau la suprafețe inerte (mase plastice, cauciuc, sticlă, metal);
- flagelii – care mediază aderența de celulele pulmonare ca prim pas în inițierea infecției. Tulpinile care nu dispun de flageli nu cauzează îmbolnăvire;
- endotoxina lipopolizaharidică;
- exotoxine- insuficient studiate;
- proteaze.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Legionella pneumophila este implicată etiologic în pneumonii cu evoluție severă.

Sursele de contaminare sunt, cel mai adesea, instalațiile de distribuție a apei, în special a celei calde: robinete, dușuri, bazine de balneoterapie, ape termale, fântâni, sistemele de climatizare, turnurile de răcire a apei iar în mediu de spital barbotoarele de umidificare a oxigenului, echipamentele de tratament prin aerosoli.

Poarta de intrare este tractul respirator și mai rar plăgile. Transmiterea se realizează prin inhalarea aerosolilor contaminați fie cu bacteria fie cu amibe infectate, proveniți din instalațiile de aer condiționat, din nebulizatoare, turnuri de răcire a apei, dușuri etc. Ajunge în alveolele pulmonare, pătrunde în macrofage și în monocite unde supraviețuiesc și se multiplică provocând distrugerea acestor celule. Se instalează o alveolită purulentă extensivă.

Legionella cauzează:

- pneumonie severă – numită și „boala legionarilor”. A fost diagnosticată pentru prima dată în 1976 la a 58-a convenție anuală a Legiunii Americane când s-au îmbolnăvit 182 persoane din care 29 au decedat. Un an au durat cercetările până când McDade a izolat și identificat noua bacterie care a fost numită Legionella pneumophila. S-a dovedit transmiterea bacteriei prin sistemul de climatizare al hotelului din Philadelphia unde avea loc reuniunea. Analizele retrospective au scos în evidență epidemii de pneumonie anterioare acestui episod, dar cu manifestări clinice similare. S-a izolat bacteria și dintr-un produs patologic stocat din 1943. Perioada de incubație a bolii este de 8-10 zile după care apare febră de peste 40°C, tuse seacă sau productivă, cefalee, letargie, encefalopatie, diaree apoasă, greață, vomă, dureri abdominale, mialgii, stare de rău, manifestări psihice etc. La examenul clinic pacientul prezintă febră,

hipotensiune, bradicardie, tahipnee, murmur vezicular estompat, agitație. Pacientul decedează prin detresă respiratorie și insuficiență renală;

- boala non-pneumonică – este numită și „febra de Pontiac”. Este cauzată de *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, *Legionella feelei*, *Legionella anisia*. Este o formă mai blândă de pneumonie, cu o perioadă de incubație mai scurtă, cu debut acut, cu febră, mialgii, cu evoluție autolimitată;

- infecții extrapulmonare – în special infecții ale plăgilor chirurgicale, sunt cauzate de *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul bacteriologic este esențial dar dificil.

Se prelevează spută, exsudate bronhopulmonare recoltate prin puncție transtraheală sau prin aspirație endobronșică, probe de biopsie pulmonară, lichid de spălătură bronhoalveolară, exsudate seroase, sânge, puroi.

Se utilizează imunofluorescența directă care dă rezultate corespunzătoare și rapide dacă este practică pe prelevate de calitate utilizând seruri imune specifice de *Legionella pneumophila* serogrup 1. De menționat că pot apărea reacții încrucișate cu *Pseudomonas* spp., *Bordetella* spp., *Bacteroides* spp.

Se mai pot examina secțiuni histopatologice colorate cu impregnație argentică.

Cultivarea germenului, metodă de referință, este dificilă și se face doar la cererea expresă a medicului curant.

Diagnosticul indirect se practică prin reacții de imunofluorescență indirectă, reacția de microaglutinare, teste ELISA. Semnificație diagnostică are seroconversia sau dinamica semnificativă a anticorpilor în seruri pereche. Diagnosticul serologic are și el limite în sensul că anticorpii apar tardiv, creșterea lor semnificativă necesită 4-8 săptămâni, și aproximativ 20-30% din pacienți nu dezvoltă răspuns imun umoral.

O modalitate de diagnostic cu sensibilitate și specificitate bună constă în detectarea antigenului de natură lipopolizaharidică pe care 80% din pacienți îl excretă prin urină începând din zilele 1-3 de boală. Detectarea se poate face prin metode radioimune (RIA), ELISA, teste de latexaglutinare. Avantajele testului constau în simplitate și rapiditate, în recoltarea mai ușoară a urinei decât a sputei și în persistența antigenului în urină și la pacienții aflați sub tratament antibiotic. Antigenul urinar poate rămâne pozitiv luni de zile după vindecarea episodului acut.

Altă modalitate de diagnostic ar fi reacția în lanț a polimerazei (PCR) aplicată probelor de urină, ser, lichidului de spălătură bronșică dar nu este la îndemâna oricărui laborator.

TRATAMENT

Antibiograma nu este utilă în tratamentul legionelozelor datorită dificultăților de cultivare a bacteriei și a ritmului lent de creștere. De asemenea, datorită localizării intracelulare a microorganismului rezultatele antibiogramei nu corespund cu eficiența tratamentului *in vivo*.

Macrolidele, rifampicina, fluorochinolonele sunt active *in vivo* având mare capacitate de penetrare intracelulară și efecte bactericide.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este apa din rezervoarele naturale sau artificiale, apa din instalațiile de aer condiționat, din nebulizatoare, din turnurile de răcire, din sistemul de alimentare cu apă etc. Transmiterea se realizează prin inhalarea de aerosoli contaminați. Nu există transmitere interumană.

Receptivitatea este generală, mai mare la persoane care prezintă anumiți factori de risc: vârsta peste 50 de ani, imunodeprimați (prin neoplazii, infecție HIV, corticosteroizi), fumători, alcoolici, boli cronice pulmonare sau cardiace, diabet zaharat, sexul masculin, boli renale sau hepatice, intervenții chirurgicale etc.

Boala este mai frecventă în lunile de vară când funcționează intens instalațiile de aer condiționat. De asemenea sunt frecvente infecțiile nosocomiale care apar prin aspirație, prin intermediul aparatului de susținere a respirației, a materialelor clătite cu apă de robinet, a nebulizatoarelor, umidificatoarelor etc.

Profilaxia constă în controlul și dezinfectia apei din rezervoare și în furnizarea apei calde menajere la temperaturi mari care să distrugă *Legionella*, clorinarea corespunzătoare a apei, utilizarea apei sterile pentru spălarea anumitor instalații etc.

GENUL MORAXELLA

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Pe baza studiilor de secvențiere a ARNr 16S și de hibridare a ADN s-a constituit o nouă familie: Moraxellaceae în care au fost incluse genurile *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter*.

Genul *Moraxella* reunește două subgenuri: *Moraxella* și *Branhamella*. În subgenul *Moraxella* au fost incluse 6 specii din care patogene pentru om sunt: *M.lacunata*, *M.osloensis* și *M.nonliquefaciens*. Subgenul *Branhamella* cuprinde o singură specie, oportunistă, *B. catarrhalis*, care a fost cunoscută și sub numele de *Micrococcus catarrhalis*, *Neisseria catarrhalis*. În prezent se folosește numele de *Moraxella catarrhalis*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germenii din genul *Moraxella* colonizează mucoasele omului și animalelor fiind localizați în special în tractul respirator superior.

În primul an de viață un procent de 28-100% din copii vor avea tractul respirator colonizat cu *M. catarrhalis*, procent care scade la 1-10% la adulți. Transmiterea se realizează pe cale aerogenă prin picături naso-faringiene.

M.osloensis este o specie comensală a tractului genital.

Caractere morfotinctoriale

Speciile de *Moraxella* sunt cocobacili gram negativi, dispuși în diplo sau în lanțuri scurte, asemănători cu *Neisseriile*. Nu prezintă cili, spor sau capsulă.

M.osloensis poate îmbrăca aspectul de bacili foarte subțiri, uneori cu aspect filamentos.

Caractere de cultură

Strict bacterii strict aerobe. Sunt pretențioase nutritiv necesitând medii îmbogățite, geloză șocolat și o temperatură de incubare de 35°C. *Moraxella catarrhalis* este nepretențioasă, crește și pe medii simple la temperatura camerei.

Coloniile sunt mici, de tip „S”, nehemolitice pe geloză sânge.

Pe mediul cu ser coagulat *Moraxella lacunata* formează colonii „S” care se afundă în mediu datorită acțiunii enzimelor proteolitice.

Caractere biochimice și de metabolism

Speciile din genul *Moraxella* sunt azaharolitice, oxidază și catalază pozitive.

Moraxella catarrhalis este azaharolitică: nu descompune zaharoza, glucoza, maltoza și lactoza. Este oxidază pozitivă, catalază pozitivă, produce DN-ază, reduce nitrații/nitriții, hidrolizează tributirina.

Structura antigenică

Componentele antigenice ale tulpinilor de *Moraxella catarrhalis* față de care se formează anticorpi sunt: proteinele peretelui celular, lipooligozaharidele și proteinele membranei externe.

Răspuns imun

Anticorpii față de *Moraxella catarrhalis* se formează treptat, cu vârsta, titrul de IgG crescând pe durata copilăriei. Răspunsul imun față de proteinele membranei externe aparțin subclasei IgG₃.

Caractere de patogenitate

Cu toate că este considerat în continuare ca germen oportunist, *Moraxella catarrhalis* posedă o endotoxină de natură lipopolizaharidică asemănătoare cu cea a speciilor de *Neisseria* care pare a avea rol în procesul patologic. Unele tulpini de *Moraxella catarrhalis* sunt patogene prin:

- pili/fimbrii care asigură aderența la epiteliul respirator
- producerea unei structuri proteice care conferă rezistență față de acțiunea complementului
- exprimarea unor proteine specifice fixatoare de fier care acționează ca receptori pentru transferină și lactoferină.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Speciile de *Moraxella* implicate în patologia umană sunt condiționate patogene determinând infecții cu evoluție ușoară:

- *M.lacunata* determină conjunctivite, keratite.
- *M.nonliquefaciens* cauzează bronhopneumonii.
- *M.osloensis* este implicată etiologic în septicemii, meningite, osteomielite, artrite seprice.
- *M.catarrhalis* este un agent etiologic comun al otitei medii sau a sinusitei, ocazional a laringitei. A fost izolată de la pacienți cu traheobronșită sau pneumonie, pacienți care sufereau de afecțiuni pulmonare cronice. La pacienți

imunodeprimați poate cauza bacteriemie sau meningită. Bacteriemia poate conduce la focare locale de infecție cum ar fi osteomielită sau artrită septică. *M. catarrhalis* poate fi de asemenea asociată cu infecții nosocomiale. Mai rar poate cauza oftalmia neonatală, conjunctivită, keratită, infecții urinare, infecții ale plăgilor.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Majoritatea infecțiilor cauzate de *Moraxella catarrhalis* la copii sunt localizate la nivelul tractului respirator superior (incluzând otita, sinusita) iar la adulți la nivelul tractului respirator inferior. Produsele patologice prelucrate vor fi: secreții din urechea medie și/sau naso-faringe, spută, aspirat sinusal, transtraheal sau transbronșic, sânge, lichid peritoneal, secreții din plăgi, urină.

Izolarea tulpinilor de *Moraxella catarrhalis* din produsele patologice recoltate de la copil trebuie documentată bine pentru a avea semnificație clinică cunoscut fiind procentul mare de copii colonizați în tractul respirator cu această bacterie. În schimb, la adult, toate culturile pozitive au importanță clinică.

Pe frotiul din produs patologic se evidențiază diplococi Gram negativi. Confirmarea diagnosticului se face pe baza izolării germenului în cultură. Pe geloza sânge sau geloza șocolat, după 48 de ore de incubare, apar colonii mici, opace, nehemolitice care alunecă pe suprafața mediului dacă sunt împinse cu ansa.

Identificarea se face pe baza caracterelor biochimice: lipsa activității zaharolitice, testul superoxol, testul producerii DN-azei, testul de reducere a nitraților/nitriților.

Sunt disponibile teste rapide de identificare a tulpinilor de *Moraxella catarrhalis* care au la bază capacitatea bacteriei de a hidroliza tributirina spre deosebire de *Neisseria* spp. care nu au această capacitate.

Diagnosticul serologic al infecțiilor cu *Moraxella catarrhalis* nu se practică.

TRATAMENT

Moraxella spp. este sensibilă la acțiunea penicilinelor, cefalosporinelor, aminoglicozidelor, rifampicinei etc.

Trebuie menționat că specia *Moraxella catarrhalis* este rezistentă la penicilină prin producere de beta-lactamaze tratamentul indicat fiind cel cu cefalosporine orale rezistente la beta-lactamaze sau cu asocieri de antibiotice cu inhibitori de beta-lactamază.

Bacili gram pozitivi, aerobi, nesporulați

GENUL CORYNEBACTERIUM

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Difteria este descrisă încă din antichitate de Hippocrate. În 1821 Bretonneau face descrierea clinică a bolii, diferențiind difteria de alte infecții ale tractului respirator. În 1883 Klebs a identificat, în exsudatul membranos al pacienților cu difterie, agentul responsabil pe care Loeffler reușește să-l cultive în 1884. În 1888 Roux și Yersin demonstrează rolul toxinei în patogeneza bolii. În 1890, Behring descoperă antitoxina iar în 1923 Ramon produce anatoxina difterică. În anul 1970 este precizat mecanismul molecular de acțiune al toxinei.

Bacilii din genul *Corynebacterium* se definesc ca bacili mici sub formă de măciucă: *coryne* = măciucă; *bakterion* = baston mic.

Genul cuprinde bacili gram-pozitivi, ușor încurbați, măciucați, așezați sub formă de litere sau în palisade, nesporulați, necapsulați, immobili, aerobi și facultativ anaerobi.

În genul *Corynebacterium* se distinge grupul *Corynebacterium diphtheriae* care include specia cea mai importantă *Corynebacterium diphtheriae* (bacilul difteric), și *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Habitatul este strict uman, *Corynebacterium diphtheriae* fiind prezent în tractul respirator superior uman la 3-5% din persoanele sănătoase, precum și la nivel tegumentar.

Caractere morfotinctoriale

Corynebacterium diphtheriae se prezintă ca bacil gram pozitiv, neramificat nesporulat, necapsulat, imobil. Bacteria are adesea formă de măciucă și se prezintă sub formă de grămezi asemănătoare cu palisada, cu pachete de ace cu gămălie, cu literele alfabetului latin (V, L) sau cu literele chinezești.

Unele tehnici de colorare (Del Vecchio, Neisser) evidențiază granulații metacromatice în interiorul corpului bacterian (granulații Babeș-Ernst).

Aceste aspecte morfologice sunt destul de caracteristice permițând diferențierea de corynebacteriile comensale (bacili difterozii) care sunt mai scurți și mai groși.

Caractere de cultură

Se poate multiplica în aerobioză sau anaerobioză, bacilul difteric cere prezența a numeroși factori de creștere (a fierului în special) dezvoltându-se mai bine pe medii îmbogățite cu proteine animale (ou, ser, sânge).

Mediul Loeffler cu ser coagulat este mediul clasic utilizat pentru izolarea *Corynebacterium diphtheriae*. Coloniile se dezvoltă în 8-12-18 ore, sunt colonii R, alb-gălbui, lucioase, bombate iar aspectul pe frotiu este cel caracteristic.

Mediul cu geloză, sânge, cistină și telurit (Gundel-Tietz) este selectiv prin teluritul de potasiu care inhibă dezvoltarea majorității bacteriilor prezente în rino-faringe. Pe acest mediu *Corynebacterium diphtheriae* crește sub formă de colonii negre datorită reducerii teluritului la telur metalic.

După aspectul coloniilor deosebim 3 tipuri de *Corynebacterium diphtheriae*, cu grade diferite de patogenitate:

- tipul gravis produce colonii nehemolitice, mari, cu suprafață granulară, gri-negre, în "margaretă", cu margini crenelate (colonii R);

- tipul mitis produce colonii hemolitice, convexe, cu margini circulare, negre, de tip S;

- tipul intermedius produce colonii nehemolitice, mici, cu margini circulare, negre, cu suprafața granulară (S-R).

Mediul Tinsdale (agar, ser, cistină, telurit, tiosulfat) este de asemenea selectiv. Producerea de H₂S prin descompunerea cistinei imprimă o culoare brună mediului din jurul coloniei negre de *Corynebacterium diphtheriae*.

În cursul diagnosticului unei infecții cu bacil difteric este necesară utilizarea mediului de îmbogățire OCST (ou-cisteină-ser-telurit).

Caractere biochimice și de metabolism

Corynebacterium diphtheriae este un bacil catalază pozitiv, urează negativ. Descompune glucoza, dextrina, nu descompune zaharoza. Reduce nitrații, descompune cistina cu eliberare de H₂S, reduce sărurile de telur la telur metalic, produce bacteriocine.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Rezistența în mediul extern este medie. Persistă timp îndelungat (5 săptămâni), ferit de uscăciune și lumină, mai ales pe lenjerie, în fragmente din falsele membrane, praf. Pe mediile de cultură, la temperatura camerei este viabil timp de 2 săptămâni.

Este distrus de căldura umedă (10 minute la 58°C; 1 minut la 100°C), alcool sau antiseptice uzuale, precum și de antibiotice (eritromicină, penicilină, clindamicină etc.), de elecție fiind eritromicina.

Structura antigenică

Corynebacterium diphtheriae posedă antigene „O” polizaharidice, comune tuturor tulpinilor și antigene proteice de suprafață „K” cu specificitate de tip. S-au identificat, prin reacții de aglutinare, 13 tipuri de *Corynebacterium diphtheriae* gravis, 4 tipuri de intermedius și 40 de tipuri de mitis. Cu toate acestea nu s-a putut elabora o clasificare serologică satisfăcătoare, în diagnostic nefiind practicate identificările serologice.

Corynebacterium diphtheriae produce bacteriocine care permit tiparea tulpinilor.

Cea mai importantă structură antigenică este reprezentată de toxina difterică, identică la toți bacilii difterici toxigeni.

Răspuns imun

Răspunsul imun în difterie este umoral. Anticorpilor antimicrobieni, specifici de tip, nu oferă protecție. Anticorpilor antitoxină neutralizează toxina, au caracter protector dacă titrul lor atinge valoarea de 0,03 UA/ml.

Statusul imun post-boală sau post-vaccinare se apreciază prin dozarea titrului de anticorpi antitoxici prin reacții ELISA (protector la peste 0,03 uA/ml) sau prin hemaglutinare pasivă (titru protector peste 1/640).

Caractere de patogenitate

Bacilul difteric poate fi patogen prin multiplicare la poarta de intrare și toxinogeneză.

Toxina difterică este aceeași pentru toate tulpinile producătoare. Este o exotoxină de natură proteică constituită dintr-un lanț polipeptidic termolabil cu greutatea moleculară de 62 kDa. Exotoxina are 2 fragmente:

- fragmentul A (24 kDa) care constituie suportul pentru activitatea toxică
- fragmentul B (38 kDa) care permite fixarea de receptorul celular și pătrunderea fragmentului A.

După fixarea toxinei de receptorul celular, fragmentul A clivat de enzimele membranare pătrunde în celulă prin endocitoză. În citoplasma celulei, activat, fragmentul A desfășoară activitate enzimatică de ADP riboxilază care, în prezența NAD-ului celular, inhibă factorul de elongare 2 necesar constituirii lanțurilor polipeptidice. În acest fel este blocată sinteza proteinelor celulare.

Exotoxina difterică este produsă doar de tulpinile care posedă gena „tox+” purtată de bacteriofagul temperat β . Gena „tox+” este inhibată de un represor prezent pe cromozom, activ în prezența fierului.

Exotoxina difterică poate afecta toate celulele organismului, în primul rând ale inimii (miocardită), nervilor (demielinizare) și rinichilor (necroză tubulară).

PATOGENIE. BOALA LA OM

Boala este specifică omului, se numește difterie și se manifestă prin leziuni locale datorate colonizării țesuturilor și prin leziuni generale, la distanță, datorate acțiunii exotoxinei.

Poarta de intrare a bacilului difteric poate fi reprezentată de tractul respirator (faringe, nas), de leziuni tegumentare sau, mai rar, de mucoasa genitală.

Corynebacterium diphtheriae nu are capacitate invazivă. Se multiplică la poarta de intrare unde cauzează o inflamație locală. În același timp, în cazul tulpinilor infectate cu bacteriofagi „tox+” începe sinteza toxinei.

Toxina elaborată local induce apariția unei "structuri" compuse din fibrină, leucocite, eritrocite, celule epiteliale respiratorii moarte și bacterii, respectiv „falsa membrană” de culoare gri-maronie, foarte aderentă de țesutul subiacent. Încercarea de a îndepărta falsa membrană duce la sângerări la nivelul submucoasei prin ruperi de capilare.

Falsa membrană poate să apară la nivel amigdalian, faringian, nazal, genital, sau se poate extinde, acoperind faringele, obstrucționând arborele traheobronșic.

La adăpostul falsei membrane, bacilul își continuă multiplicarea și sinteza de toxină care difuzează pe cale sanguină și conduce la apariția unor tulburări la

distanță: tulburări de ritm cardiac, miocardită, dificultăți vizuale, de vorbire, de înghițire etc.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Difteria este o toxiinfecție, iar fixarea toxinei pe celulele "țintă" este practic ireversibilă, astfel încât decizia instituirii tratamentului trebuie luată rapid.

Diagnosticul bacteriologic este util numai pentru confirmarea suspiciunii de difterie și în scopuri epidemiologice, deoarece tratamentul specific se instituie fără întârziere, fără a aștepta finalizarea diagnosticului bacteriologic.

Diagnosticul de laborator al difteriei necesită evidențierea unei tulpini toxigene de *Corynebacterium diphtheriae*.

Prelevatele prelucrate de la purtători sunt secreția faringiană, nazală recoltate cu câte un tampon și însămânțate în mediul de îmbogățire OCST.

De la bolnav se îndepărtează falsă membrană și se șterge suprafața subiacentă (în falsă membrană bacilii nu sunt viabili) cu 3 tampoane: unul pentru frotiu, unul pentru mediul de îmbogățire și unul pentru mediul Loeffler.

Examinarea frotiului realizat din produsul patologic colorat Gram și cu albastru de metil este rareori concludent dar poate ridica suspiciunea de difterie dacă se evidențiază bacili gram pozitivi cu morfologie și dispoziție spațială asemănătoare bacilului difteric.

Însămânțarea trebuie făcută rapid, pe un mediu de îmbogățire și pe mediul Loeffler. Pe acesta din urmă, bacilul difteric crește repede fiind foarte importantă examinarea culturilor la 6, 12 și 18 ore. Diagnosticul poate fi realizat mai rapid atunci când se obțin culturi din care, după circa 4-6 ore, se obțin frotiuri care se colorează imunofluorescent.

Repicarea coloniilor suspecte se face pe medii îmbogățite, conținând telurit pentru a inhiba flora de asociație. Identificarea tulpinilor de *Corynebacterium diphtheriae* ține cont de caracterele culturale și biochimice amintite mai sus.

Evidențierea producerii de exotoxină de către tulpina de *Corynebacterium diphtheriae* izolată se face prin:

- inoculare la animal de laborator. Se inoculează unui cobai, subcutan, o suspensie de bacil difteric. Dacă tulpina este producătoare de exotoxină animalul moare în 48-72 de ore prezentând un edem alb, moale, gelatinos la locul inoculării, cu adenopatie satelită și hipertrofia cu congestie hemoragică a capsulelor suprarenale.

Inocularea toxinei nu produce modificări locale ci doar modificările la distanță, fiind de asemenea letală.

- reacția clasică de imunoprecipitare, testul Elek;
- toxicitatea pe linii de celule Vero – celulele eucariote vor muri sub acțiunea toxinei elaborată de tulpina de *Corynebacterium diphtheriae*;
- reacția de amplificare genică (PCR) – rezultatul poate fi obținut în 6 ore de la cultivarea bacilului difteric.

TRATAMENT

Pentru că antitoxina neutralizează numai toxina difterică circulantă, decizia administrării de ser antidifteric trebuie luată urgent. Seroterapia este cu atât mai eficace cu cât este utilizată mai precoce.

Antibioticele sunt indicate, deoarece prin distrugerea microorganismului nu se mai produce toxină, poate apărea o ameliorare locală, iar contagiozitatea scade.

Pot fi necesare diferite măsuri suplimentare, dintre care ar fi de menționat utilitatea traheotomiei sau traheostomiei în cazul obstruării prin falsele membrane.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Difteria este o boală strict umană. *Corynebacterium diphtheriae* nu se găsește în mediul extern și nici la animale, deci singurul izvor de infecție este omul (purător cronic, bolnav sau infectat inaparent), singura modalitate de transmitere a infecției este interumană.

Transmiterea se realizează prin picături-nucleosoli, prin secreții și exsudate, obiecte sau alimente contaminate.

Receptivitatea (în lipsa vaccinării) este mai mare până la vârsta de 6-8 ani. Imunitatea transplacentară oferă protecție 3-6 luni.

Prevenirea nespecifică se realizează prin izolarea și tratarea cu antibiotice a surselor.

Pentru profilaxia specifică se aplică vaccinarea antidifterică utilizându-se anatoxina purificată: exotoxina difterică supusă acțiunii concomitente a formolului și căldurii pierde puterea toxică menținându-și capacitățile antigenice. Copiii sunt imunizați activ cu trivaccinul DTP și apoi cu bivaccinul DT, vaccinare care permite de regulă obținerea unor nivele protective de anticorpi antitoxici suficiente timp de aproximativ 15 ani. Cu toate acestea colonizarea bacteriană respiratorie sau cutanată rămâne posibilă. Pentru menținerea unui nivel de protecție este necesară revaccinarea la interval de 10 ani începând cu vârsta de 24 de ani.

Boala este practic dispărută în țările dezvoltate dar în țările cu standard general scăzut, la grupe sociale paupere, mortalitatea este încă de 5-10%. Chiar și în Franța, în ultimii ani, s-au semnalat rare cazuri de infecții sistemice, septicemice, osteo-articulare, vaginale cu *Corynebacterium diphtheriae*. Azi difteria se consideră o boală reemergentă.

GENUL ARCANOBACTERIUM

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Arcanobacterium* cuprinde o singură specie de germeni gram pozitivi, *Arcanobacterium haemolyticum*, specie care înainte era numită *Corynebacterium haemolyticum*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Arcanobacterium haemolyticum face parte din flora comensală a tractului respirator superior.

Caractere morfotinctoriale

Arcanobacterium haemolyticum este un bacil gram pozitiv, subțire, neregulat calibrat, cu dispoziție în V. Pe frotiul din culturi vechi, prin fragmentarea bacililor, germele apare sub formă de coci mici, neregulați. Nu prezintă cili.

Caractere de cultură

Crește greu pe medii uzuale. Cultivă pe medii cu sânge sau ser sanguin. Sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi creșterea fiind favorizată de atmosfera suplimentată cu CO₂ și de o temperatură de incubare de 37°C.

După 24 de ore de incubație coloniile sunt mici, punctiforme, rotunde, untoase, înconjurate de o zonă îngustă de hemoliză beta. La 48 de ore coloniile sunt mai mari, de aproximativ 1 mm diametru.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt germeni catalază negativi, descompun fermentativ carbohidrații cu eliberare de acid din glucoză, galactoză, zaharoză, fructoză, lactoză, maltoză, dextrină. Nu eliberează acid din arabinoză, xiloză, ramnoză, celobioză, melibioză, zaharoză, rafinoză, dulcitol, glicerol, sorbitol, inozitol. Nu hidrolizează esculina, cazeina și gelatina, nu produce indol și urează. Majoritatea tulpinilor reduc nitrații.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Arcanobacterium haemolyticum poate cauza următoarele afecțiuni:

- faringite, angine eritemato-pultacee însoțite de adenite submaxilare, latero-cervicale și erupții cutanate de tip scarlatiniform; poate fi asociat cu *Streptococcus pyogenes*;
- infecții ale plăgilor chirurgicale în asociere cu *Staphylococcus* spp. și cu *Haemophilus influenzae*;
- infecții ale plăgilor traumatice în asociere cu alte bacterii;
- infecții tubo-ovariene în asociere cu fusobacterii.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Pentru că izolarea *Arcanobacterium haemolyticum* se face din produse patologice bogate în floră de asociație, este necesară utilizarea de medii selective prin adaos de antibiotice (mupirocin, aztreonam, amfotericina B etc.) sau medii selective prin adaos de 3,5% NaCl la geloză Columbia + 5% sânge defibrinat de berbec. Identificarea bacteriei se face pe baza caracterelor de cultură, morfotintoriale, a imobilității. Se utilizează următoarele teste de identificare:

- testul CAMP inversat – îngustarea zonei de hemoliză determinată de beta-lizina stafilococică;
- descompunerea fermentativă cu eliberare de acid a glucozei, galactozei, fructozei, lactozei, maltozei și dextrinei;
- lipsa eliberării de acid din arabinoză, xiloză, ramnoză, celobioză, melibioză, zaharoză, rafinoză, dulcitol, glicerol, sorbitol, inozitol;
- reducerea nitraților;
- hidroliza esculinei, cazeinei și gelatinei;
- producerea de indol și urează.

TRATAMENT

Cel mai eficient antibiotic este eritromicina.

GENUL ERYSIPELOTHRIX

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul cuprinde o singură specie *Erysipelothrix rhusiopathie*, specie foarte răspândită în natură, izolată în 1883 de L.Thuiller și Pasteur în sângele porcilor bolnavi de rujet. Este agentul etiologic al infecției numite "erizipelul lui Rosenbach" descrisă în 1909 de F.J.Rosenbach și a unor infecții la animale.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Este o bacterie larg răspândită în natură, prezentă mai ales în materiile organice aflate în descompunere, în gunoiul de grajd. A fost izolat ca și bacterie comensală sau patogenă de la o mare varietate de animale, principalul rezervor fiind porcul. Gazdele naturale (crustacee, pești, păsări, mamifere) contaminatează solul, apele de suprafață și reziduale.

Caractere morfotinctoriale

Este un bacil fin, gram pozitiv, nesporulat, necapsulat, neciliat, cu tendință de creștere filamentoasă. La colorația gram se poate decolora ușor ceea ce face ca pe frotiu să apară gram negativ. Este dispus izolat, în perechi sau lanțuri scurte, de multe ori fiind confundat cu *Listeria*.

Caractere de cultură

Este facultativ anaerob și carboxifil în primocultură, aerob prin subcultivare, pretențios nutritiv. Crește lent pe geloză sânge sau pe geloză șocolat, în atmosferă îmbogățită cu 5-10% CO₂, la 35-37°C. Poate crește pe medii cu telurit de potasiu coloniile fiind mici și negre.

Crește sub forma coloniilor de tip S, mici, rotunde, convexe, lucioase, transparente. Pe geloză cu sânge de oaie produce hemoliză de tip α. Creșterea este mult îmbunătățită dacă se adaugă glucoză, ser de cal, acid oleic în compoziția mediului de cultură.

În subculturi poate prezenta colonii R, mari, plate, cu contur neregulat.

Caractere biochimice și de metabolism

Prezintă o slabă activitate fermentativă. Nu produce catalază, oxidază, urează, indol, nu reduce nitrații, nu crește pe mediul cu citrat. Nu descompune esculina. Pe mediu TSI fermentează glucoza, lactoza și produce H₂S.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Este un germen foarte rezistent, în formă uscată poate persista câțiva ani. Rezistă la sărare, afumare, acidifiere. Este distrus prin fierbere.

Erysipelothrix rhusiopathie este rezistent față de aminozide, biseptol, polimixine, glicopeptide, inclusiv față de vancomicină. Prezintă sensibilitate față de penicilina G care constituie de altfel antibioticul de elecție în tratament.

Structura antigenică

Bacteria prezintă trei antigene: 2 termolabile și unul termostabil. Pe baza structurii antigenice au fost identificate 26 serotipuri notate cu cifre arabe. Tulpinile care nu reacționează cu serurile imune cunoscute au fost incluse în serotipul N.

Răspuns imun

Anticorpii umorali care apar în cursul bolii nu contribuie la confirmarea diagnosticului serologic al erisipeloidului Rosenbach.

Caractere de patogenitate

Erysipelothrix rhusiopathie devine patogen prin multiplicare și invazivitate. Ca factori ai virulenței prezintă:

- adezina de suprafață cu proprietăți antifagocitare;
- hialuronidaza;
- neuraminidaza.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Infecțiile umane apar la persoane care vin în contact cu animale bolnave sau cu produse alimentare de origine animală, contaminate. Poarta de intrare o reprezintă discontinuități ale tegumentului: plăgi tăiate, înțepate. La om mai pot apare infecții după contactul cu carne contaminată (carne de pește).

Au fost descrise două tipuri de infecții:

1. forma cutanată: erisipeloidul Rosenbach – caracterizat prin reacția inflamatorie, eritematoasă a tegumentului însoțită de limfadenită. Manifestările clinice includ durere, edem și un eritem caracteristic care se extinde periferic cu o zonă centrală clară.

2. forma septicemică, mai rară, cu endocardită.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele biologice prelucrate pentru diagnosticul bacteriologic al infecției cu Erysipelothrix rhusiopathie provin din leziunile tegumentare: lichid vezicular, biopsie profundă a pielii, ser fiziologic injectat și reaspirat din leziune. Se mai practică și hemocultura în formele sistemice.

Diagnosticul bacteriologic constă în cultivarea bacteriei, izolarea în cultură pură, identificarea pe baza caracterelor morfologice și biochimice.

TRATAMENT

Tratamentul de elecție pentru infecțiile cauzate de *Erysipelothrix rhusiopathie* este penicilina G.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție o reprezintă gazda naturală de origine animală.

Erisipeloidul Rosenbach este considerat o boală profesională întrucât apare la persoane care vin în contact direct cu animalul bolnav: medici veterinari, zootehniști, măcelari, pescari, piscicultori, agricultori etc.

Nu există profilaxie specifică. Profilaxia nespecifică este aceea a tuturor zoonozelor transmise prin contact direct.

GENUL LISTERIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul cuprinde 7 specii: *Listeria monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.inocua*, *L.welchimeri*, *L.seeligeri*, *L.grayi*, *L.murrayi* dintre care doar primele 2 specii sunt patogene.

Cea mai importantă specie este *Listeria monocytogenes*, specie care deși produce rar infecții acestea sunt grave, cu atingeri meningiene mai ales la nou-născuți și vârstnici sau la adulți cu imunitate deprimată.

A fost descrisă pentru prima dată în 1926 fiind considerată o „curiozitate bacteriologică” până în anii '50.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Este prezentă peste tot în natură: la nivelul solului, plantelor, animalelor și omului. Infectează animale domestice (mai ales ovine) și sălbatice, păsări, reptile, pești, crustacee. Poate fi izolată din alimente, cu precădere din brânzeturi.

Caractere morfotinctoriale

Listeria monocytogenes este un bacil gram pozitiv, necapsulat, nesporulat. Prezintă flageli peritrichi în special la temperatura de 20°C.

În culturi tinere are aspect pleomorf: forme cocoidale, cocobacilare și bacilare pleomorfismul fiind și mai accentuat în culturi bătrâne. Poate fi dispus în perechi sau lanțuri scurte.

Pe frotiul din produs biologic poate fi dispus izolat, intra- sau extra-celular.

Caractere de cultură

Crește pe medii uzuale sau complexe, speciale, suplimentate cu sânge, glucoză, lichid de ascită, în atmosferă de 5-10% CO₂ sub formă de colonii de tip S, mici, rotunde, convexe, transparente, în picătură de rouă. Pe geloza sânge coloniile sunt înconjurate de o zonă de hemoliză de tip β, discretă.

Este o bacterie aerobă, facultativ anaerobă care se multiplică la temperaturi cuprinse între 3-47°C. Deși temperatura optimă de dezvoltare este 20-30°C se poate dezvolta și la 2°C, în culturile inițiale, temperatura scăzută favorizând multiplicarea *Listeriai*. Cultura degajă un miros de lapte acidulat.

Listeria monocytogenes exprimă mobilitatea numai la 25°C și o reprimă la 37°C.

Caractere biochimice și de metabolism

Este o bacterie catalază pozitivă, oxidază negativă. Are activitate fermentativă redusă și puțin specifică: fermentează glucoza cu producere de acid dar fără eliberare de gaz. Hidrolizează rapid esculina. Nu lichefiază gelatina, nu produce indol, urează și H₂S, nu reduce nitrații. Testul CAMP în prezența stafilococului este pozitiv.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Este un germen foarte rezistent în condițiile mediului extern. Poate supraviețui săptămâni sau luni de zile și se poate multiplica în produse alimentare, vegetale, furaje, sol, ape de suprafață, pe obiecte. Multiplicarea este favorizată de temperatura de 18 - 20°C și de o umiditate de 25 - 35%. Este viabilă 1-2 ani în sol, bălegar, 3 ani la temperatura camerei, 1 an în apă.

Rezistă la diferiți agenți chimici: la formol 2,5% rezistă 20 de minute.

Este inactivată la temperaturi ridicate. Este distrusă la 55°C abia după o oră iar la 80°C abia după 5 minute. Deci pasteurizarea laptelui poate fi inefficientă pentru distrugerea bacteriei.

Este sensibilă la pH-ul acid fiind distrusă prin acidifierea laptelui.

Este sensibilă la acțiunea bacteriofagilor ceea ce permite diferențierea izotipurilor de *Listeria monocytogenes*: 25 izotipuri pentru tulpinile serovarului 1 și 119 izotipuri pentru serovarul 4.

Structura antigenică

Listeria monocytogenes prezintă 15 tipuri de antigene somatice care sunt acizi teichoici ai peretelui bacterian (de la I la XV) și 5 tipuri de antigene flagelare H (A, B, C, D). Combinarea acestor două tipuri de antigene definește 17 serovaruri diferite de *Listeria monocytogenes*. Clasificarea serologică se face numai în laboratoare de referință și are utilitate epidemiologică.

Listeria monocytogenes produce o hemolizină (listeriolizină) care induce formarea de anticorpi anti-listeriolizină.

Răspuns imun

În listerioză răspunsul imun mediat umoral nu are efect protector.

Predomină răspunsul imun mediat celular. Citokinele determină migrarea macrofagelor spre locurile de infecție unde se constituie granuloame în interiorul cărora bacteria este distrusă. Starea de rezistență față de infecție este asigurată de limfocitele T cu memorie.

Caractere de patogenitate

Microorganismul este patogen prin multiplicare, invazivitate și producerea de hemolizine.

Listeria monocytogenes este o bacterie care se multiplică intracelular pătrunzând în celula gazdă prin fagocitoză. În interiorul fagozomului eliberează listeriolizina care distruge membrana vacuolară eliberând astfel bacteria în citoplasma celulei unde se multiplică activ. Provoacă polimerizarea actinei celulare deplasându-se spre membrana citoplasmică. Determină formarea de exvaginări ale acestei membrane cu formarea de pseudopode în interiorul celulelor vecine. În acest fel are loc infectarea celulelor din aproape în aproape.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Listeria monocytogenes este descrisă adesea ca o bacterie oportunistă, cauzând infecții la persoane imunodeprimite dar poate la fel de bine să atace și organisme perfect sănătoase.

Pătrunde în enterocite unde se multiplică, trece prin mucoasa intestinală în sistemul limfoid al intestinului, este preluată de macrofagele sanguine, pătrunde în fagocitele hepatice și splenice unde se multiplică și invadează parenchimul din jurul capilarelor sanguine. Trece din nou în sânge și cu ocazia celei de a doua invazii ajunge la sistemul nervos central cauzând encefalită sau meningită, la endocard, la placentă.

Boala se numește listerioză și este întâlnită deopotrivă la animal și la om.

La animal, afectează în special erbivorele care se contaminatează prin consum de furaje contaminate. Animalul poate prezenta septicemie sau meningită (letale), avort sau naștere prematură, mai ales la oi și vaci. După eliminarea produsului de concepție animalul rămâne purtător asimptomatic găzduind bacteria în glandele mamare și uter, eliminând-o prin lapte.

Omul se contaminatează accidental prin alimente, apă sau contact cu avortonul sau secrețiile animalului bolnav.

Cele mai frecvente cazuri apar la nou-născuți care sunt contaminați transplacentar. În primele ore după naștere micuțul prezintă septicemie cu multiple localizări secundare, cu atingere neuro-meningeană. Dacă infecția nou-născutului are loc la naștere manifestările clinice apar după 12 zile sub forma unei meningite. Mortalitatea atinge valori mari iar sechelele sunt frecvente.

La gravide listerioza este frecvent inaparentă, eventual cu manifestări de tip gripal, febră inexplicabilă, simptome urinare, digestive sau chiar icter tranzitoriu. Cel mai adesea diagnosticul este retrospectiv, în urma nașterii unui copil infectat, a nașterii premature a copilului infectat sau a unui avort spontan.

La copilul mare și la adult listerioza se manifestă ca o menigo-encefalită și mai rar ca septicemie.

Alte forme de manifestare a listeriozei sunt: conjunctivita; uretrita cronică; pneumonia; angina listeriană însoțită de adenopatie cervicală, hepato-splenomegalie, monocitoză.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este în primul rând bacteriologic și se bazează pe izolarea și identificarea microorganismului din produse biologice (în special din sânge sau din LCR) și din alimente.

Izolarea se poate realiza pe medii uzuale dar se preferă cele cu sânge pentru a determina hemoliza. Mediul de cultură poate deveni selectiv prin adăugarea de acid nalidixic, în special în cazul prelucrării de produse polimicrobiene.

Identificarea are la bază caracterele morfologice, tinctoriale, de cultură și biochimice. Se poate apela la serotipare cu seruri aglutinante specifice.

Imunofluorescența directă poate evidenția cocobacili intra și extracelulari.

Se poate practica diagnosticul serologic prin reacția ELISA.

!! Prezența *Listeria monocytogenes* în urina femeii gravide, indiferent de cantitate impune luarea măsurilor de prevenire a listeriozei fetale

TRATAMENT

Listeria monocytogenes este sensibilă față de majoritatea antibioticelor. Este rezistentă natural față de lincozamine. Cefalosporinele și noile chinolone sunt puțin active. Tratamentul etiologic se poate face cu penicilină, ampicilină sau cu penicilină asociată cu un aminoglicozid.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție pentru animale este reprezentată de rezervorul abiotic: furaje și apă contaminate, solul, noroiul iar transmiterea este fecal-orală.

Rezervorul de infecție pentru om este reprezentat de:

- mamifere domestice sau sălbatice: bovine, ovine, caprine, porcine, rozătoare, vulpi;
- păsări;
- crustacee;
- pești.

Omul se contaminează accidental de la animal:

- prin contact direct cu animalele bolnave, parturiente, boala având un caracter de boală profesională pentru veterinari;
- prin consum de alimente contaminate cu secreții sau excreții: produse lactate, brânzeturi, pateuri, produse din carne tocată, legume. Prezența bacteriei în alimente este facilitată de capacitatea bacteriei de a se dezvolta la temperaturi joase, chiar și în condițiile păstrării la frigider a alimentelor;
- pe cale aeriană, conjunctivală, cutanată;
- prin ectoparaziți

Poarta de intrare o reprezintă rino-faringele și tubul digestiv.

Transmiterea interumană a infecției cu *Listeria monocytogenes* este:

- transmiterea materno-fetală care se poate realiza prin propagare directă transplacentară, în travaliu sau postpartum;
- prin transplant renal.

Nu există profilaxie specifică. Profilaxia nespecifică presupune evitarea contactului cu animale bolnave, evitarea consumului de produse alimentare provenite de la animale bolnave, evitarea consumului de salate de raci sau homari, spălarea fructelor și a legumelor etc.

GENUL NOCARDIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Nocardia* cuprinde actinomicete aerobe cu răspândire ubicuitară ca saprofiți ai solului, apei și ai materiilor organice în descompunere.

Au fost identificate peste 12 specii dintre care mai frecvent implicate în patologia umană sunt: complexul *N.asteroides* (*N.asteroides* sensu stricto, *N.farcinica*, *N.nova*), *N.brasiliensis* și mai rar *N.otitidiscaviarum*, *N.transvalensis*, *N.pseudobrasiliensis*, *N.seriolae*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germenii din genul *Nocardia* sunt răspândiți ubicuitar ca saprofiți ai solului, apei dulci sau marine și ai materiilor organice în descompunere.

Caractere morfotinctoriale

Nocardia este un germen gram variabil (frecvent gram pozitiv), care pe frotiul din produs patologic sau din cultură ca și pe preparatele de țesut apar ca filamente subțiri, ramificate, care se fragmentează în cursul manipulării dând naștere la forme bacilare sau cocoide.

Sunt slab acido-alcoolo-rezistente. Pot fi colorate cu metoda Ziehl-Neelsen cu condiția să nu se insiste pe timpul de decolorare cu alcool acidulat.

Caractere de cultură

Sunt greu cultivabile din următoarele considerente:

- în produsele patologice păstrate prin refrigerare nocardiiile își pierd viabilitatea;
- în țesuturi nocardiiile pot suferi alterări structurale și funcționale care prelungesc timpul de adaptare al bacteriei la condițiile de mediu;
- flora de asociație invadează mediul de cultură, lucru valabil mai ales pentru spută; decontaminarea chimică și fluidifierea sputei omoară nocardiiile.

Se pot cultiva pe medii cu infuzie de cord, infuzie cord-creier, agar Sabouraud glucozat, agar sânge, agar șocolat sau Loewenstein dacă prelevatele nu sunt contaminate.

Pentru prelevatele cu floră de asociație se folosesc medii selective (agar DST Oxoid, agar BCYE Oxoid sau Merck).

Mediile se incubează aerob, la 37°C. Coloniile apar după 48 de ore, sunt mici, înconjurate de o discretă zonă de hemoliză beta (*N.brasiliensis*, *N.otitidiscaviarum*) sau de hemoliză alfa.

Nocardiiile formează hife vegetative ramificate care cresc pe suprafața și în profunzimea mediilor agarizate. Din această cauză, după 3-4 zile coloniile devin aderente de mediu, mai mari, netede sau granulare, neregulate, încrețite.

Unele specii de *Nocardia* produc pigment:

- carotenoid – care colorează colonia în galben, portocaliu, roz, roșu;
- difuzibil – care colorează colonia și mediul de cultură de la gălbui la brun.

În mediile lichide Nocardia formează un depozit membranos lăsând mediul clar și o peliculă superficială groasă, uscată, pigmentată pe care se dezvoltă hife aeriene ce se extind pe pereții tubului.

Dacă după o incubare de 48 de ore mediul de cultură însămânțat rămâne steril, incubarea de prelungeste la 14 zile la temperatura de 37°C sau la 21 de zile la 25°C pentru a permite adaptarea microorganismului la mediul de cultură oferit.

Caractere biochimice și de metabolism

Nocardia este sensibilă la acțiunea lizozimului, descompune oxidativ unele zaharuri. Pentru identificarea speciilor de Nocardia se utilizează o serie de teste:

- hidroliza cazeinei, tirozinei, xantinei, hipoxantinei, gelatinei, amidonului;
- eliberarea de acid din glucoză și ramnoză;
- producerea de arilsulfatază;
- creșterea la temperaturi diferențiate.

PATOGENIE. BOALA LA OM

La animal nocardia cauzează mastită la bovine și sporotrichoid la cabaline. Nocardioza este boala cauzată la om de germenii din genul Nocardia. Boala poate avea evoluție acută, subacută sau cronică cu următoarele forme de manifestare clinică:

1. Nocardioza cutanată primară se manifestă ca:

- celulită sau abces;
- sporotrichoid - infecție limfo-cutanată;
- mycetom – infecție subcutanată.

2. Nocardioza pulmonară care se manifestă ca o pneumonie cu evoluție acută, subacută sau cronică instalată în special la pacienți imunocompromiși.

3. Formele diseminate de nocardioză pot implica orice organ cel mai frecvent fiind afectat creierul sau meningele.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator presupune izolarea în cultură a germenului din produsul patologic: secreții din tractul respirator, lichid de spălătură broncho-alveolară, biopsie pulmonară transbrohială, biopsii cutanate, aspirate din abces.

Evidențierea bacteriei pe frotiul din produs patologic ridică suspiciunea de nocardioză.

Bacteria cultivă greu, are creștere lentă coloniile apărând pe mediul de cultură după 3-5 zile de la însămânțare.

Când pacientul este suspectat de nocardioză pulmonară sau diseminată este obligatorie efectuarea hemoculturii.

TRATAMENT

Sulfonamidele reprezintă prima linie de tratament în nocardioză: sulfadiazina, biseptolul. Pentru pacienții cu alergii la sulfonamide tratamentul trebuie efectuat în funcție de rezultatele antibiogrammei deși există o serie de inconveniente:

- antibiograma este dificil de efectuat, nu este standardizată;

- rezultatele antibiogramei nu se corelează în totalitate cu rezultatele terapiei *in vivo*.

Alternativa pentru tratamentul parenteral o reprezintă carbapenemele, cefalosporinele de generația a III-a, amikacina. Pentru terapia orală se recomandă minociclina, augmentinul.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Nocardia poate pătrunde în organism prin traumatisme ale tegumentului, pe cale aerogenă, pe cale digestivă.

Bacili gram pozitivi, aerobi, sporulați

GENUL BACILLUS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Germeii din genul *Bacillus* sunt germeni ubicuitari datorită faptului că sporiile conferă o rezistență crescută la factorii de mediu. Se găsesc în sol (principalul rezervor), în apa mării, în apa dulce, pe plante. Se găsesc de asemenea în produsele alimentare și medicamentoase, chiar și în cele care poartă inscripția „sterilizate”, datorită termorezistenței sporilor bacterieni.

Germeii din genul *Bacillus* se prezintă sub formă de bacili lungi, sporulați, Gram pozitivi, cei mai mulți mobili, cu cili peritrichi, cu sau fără capsulă. Sunt aerobi facultativ anaerobi, oxidază pozitivi și majoritatea catalază pozitivi.

Genul aparține familiei Bacillaceae, este foarte heterogen, cuprinde un număr foarte mare de specii (cel puțin 36), dintre care în patologie sunt mai frecvent implicate *B. anthracis*, *B. cereus* și *B. subtilis*.

Un mod artificial dar convenabil de organizare a membrilor genului *Bacillus* este acela de încadrare în grupe ecofiziologice cum ar fi:

- specii alcalofile: *B. alcalophilus*, *B. pasteurii* care au pH-ul optim de dezvoltare de 8 sau pentru unele tulpini chiar de 11;
- specii halofile: *B. pantothenicus*, *B. pasteurii*. Unele tulpini cresc la concentrații de 10% NaCl;
- specii psihrofile: *B. globisporus*, *B. insolitus*, *B. marinus*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*;
- specii termofile, cu limita temperaturii maxime de 65°C: *B. acidocaldarius*, *B. stearothermophilus*;

- specii care reduc nitriții în nitrați: *B.azotoformans*, *B.cereus*, *B.licheniformis*, *B.pasteurii*, *B.stearothermophilus*;
- specii fixatoare de azot: *B.macerans*, *B.polymyxa*;
- specii producătoare de antibiotice: *B.brevis* (gramicidina, tyrotricina), *B.cereus* (cerexin, zwittermicina), *B.licheniformis* (bacitracina), *B.polymyxa* (polimixina, colistina), *B.subtilis* (polimixina, subtilina, mycobacilina), *B.pumilus* (pumulina), *B.laterosporus* (laterosporina). Antibioticele secretate de diferite specii din genul *Bacillus* au un spectru larg de activitate antimicrobiană. Bacitracina, pumulina, laterosporina, gramicidina sunt active pe bacterii Gram pozitive. Colistina și polimixina au eficiență asupra bacteriilor Gram negative în timp ce mycobacilina și zwittermicina sunt antifungice. Producerea de antibiotic este însoțită de oprirea creșterii formei vegetative și a sporulării;
- specii patogene pentru insecte și larve: *B.larvae*, *B.popilliae*, *B.lentimorbis*, *B. thuringiensis*. *B.larvae* (pentru albine), *B.popilliae* (pentru cărăbuși, gândaci), *B.lentimorbis* (pentru cărăbuși, gândaci) sunt patogeni invazivi, sporulează în larvele insectelor, sunt catalază negativi, nu cresc în bulion nutritiv, necesită tiamină ca factor de creștere. *B.thuringiensis* produce cristale proteice parasporale toxice pentru *Lepidoptera*, poate sporula în larvele insectelor dar și pe plante sau în sol. Sporii unor specii entomo-patogene sunt utilizați sub formă de pulbere care se răspândește pe suprafața apelor stătătoare pentru a distruge larvele de țânțari.
- specii patogene pentru animale: *B. anthracis* și *B.cereus*. *B.alvei*, *B.megaterium*, *B.coagulans*, *B.laterosporus*, *B.subtilis*, *B.sphaericus*, *B.circulans*, *B.brevis*, *B.licheniformis*, *B.macerans*, *B. thuringiensis*, *B.pumilus* au fost, rareori, izolați din infecții umane.

Genul *Bacillus* cuprinde două specii cu importanță medicală: *B. anthracis*, agentul cauzal al antraxului, și *B. cereus*, agentul cauzal al unor toxiinfecții alimentare.

Celelalte specii de *Bacillus* (se numesc antracoizi) pot cauza o mare varietate de procese infecțioase fiind în prezent recunoscute tot mai des ca patogeni umani.

„Cărbunele” este cunoscut încă din antichitate. Din 1780, Chabert a descris boala la animal insistând asupra culorii negre a organelor provenite de la animalul bolnav. În 1785, Chaussier a observat „pustula maligna” la om. În 1825, Barthelemy a reușit să transmită infecția la animalul sănătos prin inoculare de sânge provenit de la bolnav. În anii 1850, Davaine descoperă în sângele animalelor bolnave „bastonașe mici” pe care după 13 de ani (1863) le identifică drept agenți etiologici ai bolii. În 1876 Koch reușește să cultive bacilul cărbunos căruia îi descrie sporii iar în 1881, Pasteur demonstrează rolul etiologic al bacteriei și eficiența unui vaccin constituit dintr-o tulpină cu virulența atenuată. Proprietățile toxigene ale bacilului cărbunos au fost recunoscute abia în 1954.

BACILLUS ANTHRACIS

CARACTERE GENERALE

Habitat

Bacillus anthracis este agentul etiologic al unei zoonoze care afectează ierbivorele (vite, oi, cai, catări, capre). Bacillus anthracis se găsește în țesuturile și umorile animalelor bolnave. Este eliminat în mediu prin dejecțiile acestora contaminând elementele de mediu extern. Pe sol condițiile fiind nefavorabile germenul sporulează, supraviețuind astfel zeci de ani. Sporii sunt extrem de rezistenți, rezervorul principal pentru B. anthracis fiind reprezentat de sol.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram pozitivi, mari (3-5 μm lungime/1-1,2 μm grosime), cu capetele tăiate drept sau ușor concave, imobili. Pe frotiurile din țesuturile animalelor bolnave apar dispuși în lanțuri scurte sau în perechi înconjurați de o capsulă unică. Pe frotiurile din cultură bacilii sunt dispuși în lanțuri paralele și sunt sporulați. Sporul, format numai în prezența oxigenului, are diametrul egal sau mai mic decât grosimea bacilului, este oval și este dispus central.

Caractere de cultură

Este o bacterie aerobă facultativ anaerobă, nepretențioasă nutritiv, se dezvoltă pe medii simple, la 35-37°C. Limitele de temperatură la care se poate dezvolta sunt foarte largi: 12-40°C. Sporularea are loc la temperatura camerei.

Pe mediul cu agar formează colonii relativ mari (2-3 mm diametru), alb-cenușii, de tip R, rugoase. Examine la stereomicroscop, periferia coloniilor are aspect de șuvițe de păr împletit, aspect ce a fost denumit „cap de medusa”.

Pe geloza sânge nu produce hemoliză.

În bulion, lasă mediul limpede și formează flocoane care se depun la fundul eprubetei.

Din punct de vedere genotipic și fenotipic B. anthracis este asemănător cu B. cereus și B. thuringiensis de care se poate diferenția pe baza caracterelor cuprinse în tabelul XII.

Caractere biochimice

Este o bacterie catalază pozitivă. Are activitate proteolitică, lichefiază gelatina dar nu produce urează. Fermentează unele zaharuri (glucoza, maltoza, zaharoza). Produce acetyl-metil-carbinol (reacția Vogues-Proskauer pozitivă) proprietate utilă în clasificarea speciilor de Bacillus. Reduce nitrații, hidrolizează cazeina, este indol negativ.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Rezistența formelor vegetative este similară cu a celorlalte bacterii, fiind distruse de exemplu în 30 de minute la 60°C c ăldură umedă.

Sporii sunt deosebit de rezistenți la acțiunea acizilor, dezinfectantelor, radiațiilor, temperaturilor înalte (rămân viabili și după fierbere timp de câteva ore). Supraviețuiesc câteva săptămâni în dezinfectantele pe bază de fenol. La temperaturi de -5°C pot rezista până la 10 ani. S-a reușit germinarea sporilor păstrați la întuneric și la temperatura camerei după mai mult de 30 ani.

Sunt distruși la temperatura de fierbere în circa 10 minute și prin autoclavare.

În frotiuri fixate și colorate nu își pierd viabilitatea.

Tabel XII Caractere diferențiale ale tulpinilor de *B. anthracis*, *B. cereus* și *B. thuringiensis*

Caracteristici	B.anthraxis	B.cereus, B.thuringiensis
tiamina ca factor de creștere	+	-
hemoliza pe geloza cu sânge de berbec	-	+
creștere pe agar cu cloralhidrat	-	+
sensibilitatea la penicilină prin:		
inhibiția creșterii	+	-
testul șiragului de perle	+	-
producerea de capsulă	+	-
mobilitatea	-	+
sensibilitate la fagul gamma	+	-

Structură antigenică

Bacillus anthracis posedă diverse structuri antigenice:

- o componente ale complexului exotoxinic (componenta B): Exotoxina este determinată plasmidic (plasmidul pOX₁) constă dintr-un amestec de trei proteine imunogene: factorul edematos și factorul letal care formează componenta A a toxinei; antigenul protectiv (componenta B), capabil să inducă producerea de anticorpi.

- o antigenul capsular polipeptidic (antigenul K): Toate tulpinile virulente formează un singur tip de antigen polipeptidic capsular (poli-D-glutamat). Producerea antigenului capsular este codificată de plasmida pOX₂ a cărei transfer la tulpini necapsulate este posibil prin transducție.

- o antigenul somatic polizaharidic din peretele celular, responsabil de reacția de precipitare în inel care are loc în prezența anticorpilor specifici (reacția Ascoli).

Răspuns imun

Infecția cu bacilul antraxului este urmată de apariția de anticorpi față de componenta B a exotoxinei, anticorpi care împiedică endocitarea factorilor edematogen și letal. În felul acesta este suprimată activitatea toxică a complexului.

Apar de asemenea anticorpi și față de polipeptidul capsular.

Caractere de patogenitate

Este patogen prin virulență (capsula) și prin toxigeneză (exotoxina cărbunoasă).

Formarea capsulei este codificată plasmidic (plasmidul pOX₂); are proprietăți antifagocitare, protejează microorganismul de anticorpii litici și pare să aibă un rol important în patogenitate în primele faze ale constituirii focarului infecțios.

În fazele avansate și terminale ale bolii patogenitatea tulpinii de *B.anthraxis* este asigurată de exotoxina cărbunoasă. Producerea exotoxinei este mediată de o

plasmidă termolabilă, pOX₁, care determină formarea a trei proteine termolabile, antigenic distincte, componente ale exotoxinei, grupate astfel:

- **Componenta A** alcătuită din 2 părți cu efecte distincte:
 - o factorul edematogen (FE; factorul I): este o adenilat-ciclază a cărei efecte biologice includ edemul local și inhibiția funcțiilor polimorfonuclearelor, procese mediate de AMPc.
 - o factorul letal (FL; factorul III) este responsabil de efectele letale ale exotoxinei.
- **Componenta B** a exotoxinei este factorul (antigenul) protector (AP; factorul II). Se numește antigen protector pentru că induce experimental formarea de anticorpi antitoxici protectori la cobai. Inițiază pătrunderea factorului letal și a celui edematogen în celulele care determină moartea acestora, mecanismul fiind însă necunoscut.

Pierderea plasmidelor pOX₁ sau pOX₂ care codifică producerea exotoxinei respectiv formarea capsulei atrage după sine pierderea patogenității.

PATOGENIE ȘI PATOLOGIE SPECIFICĂ

Infecția cauzată de *Bacillus anthracis* se numește antrax, cărbune sau popular dalac.

Boala la animal afectează în special mamiferele ierbivore și unele păsări. Se manifestă ca o septicemie rapid mortală cu edem hemoragic al mucoaselor și cu eliminarea de sânge negru prin orificiile naturale.

La om, în funcție de localizarea manifestărilor clinice vorbim despre:

a). **Antraxul cutanat**, forma cea mai frecventă la om, este cunoscută sub numele de "pustulă malignă". Apare după contactul direct cu animalul bolnav sau cu obiecte contaminate. Este o boală cu caracter profesional cele mai expuse fiind persoanele care vin în contact cu animalele bolnave: fermieri, veterinari, personalul din abatoare etc.

Leziunea apare la nivelul unui traumatism sau a unei abraziuni cutanate cu localizare mai frecventă pe față, gât, membre superioare iar la hamali pe fața posterioară a toracelui. Prin soluția de continuitate a tegumentului pătrund sporiile bacteriei, germinează, celulele vegetative se multiplică rezultând un edem gelatinos local.

După o perioadă de incubație de 2-5 zile, la locul inoculării apare o papulă care se transformă în veziculă. Lichidul din veziculă, inițial seros, transparent devine hemoragic. Vezicula se sparge în cele din urmă, lăsând locul unei cruste de culoare neagră, înconjurată de o zonă de edem considerabilă. Periferia crustei este înconjurată de o coroană de noi vezicule cu conținut clar sau hemoragic care vor avea aceeași evoluție. În această fază boala este curabilă.

Netratată, infecția poate disemina pe cale limfatică sau sanguină, determinând septicemie mortală. Bacteria este prezentă în toate organele mai ales în splină care este negricioasă și plină de bacili.

Există și forme grave de antrax cutanat în care predomină edemul care deformează complet zona anatomică interesată, forme numite „edem malign”.

b). **Antraxul pulmonar**, datorat inhalării de praf conținând spori de *Bacillus anthracis*, este o pneumopatie acută adesea mortală. Se manifestă inițial prin simptome ușoare și nespecifice, similare cu cele ale unei infecții de căi aeriene superioare. După 1-3 zile apar semne de insuficiență respiratorie acută (febră,

dispnee, hipoxie, hipotensiune), care evoluează spre septicemie, meningită, edem pulmonar hemoragic, decesul putând surveni în 24 de ore.

Are caracter de boală profesională fiind întâlnită mai frecvent la lucrătorii din industria lânii, a pânsei, a pielăriei, la cei care confecționează obiecte din os sau la cei care folosesc praful de oase pentru obținerea cleiului sau a gelatinei.

Răspândirea sporilor prin inhalare și gravitatea antraxului pulmonar au făcut din *Bacillus anthracis* o armă bacteriologică de temut.

c). **Antraxul gastrointestinal** datorat consumului de carne insuficient preparată termic, provenită de la un animal infectat. Este forma de antrax întâlnită foarte rar astăzi fiind mai frecventă în zonele deșertice. Este analog antraxului cutanat doar că leziunile apar pe mucoasa intestinală. Manifestările clinice sunt variabile și includ febră, greață, vărsături, dureri abdominale, diaree sanguinolentă cu deshidratare și uneori ascită formată brusc. Rata mortalității este foarte crescută în această formă de boală.

d). **Forma septicemică** de antrax poate fi primitivă sau o complicație a uneia din formele clinice enumerate mai sus. Este însoțită de afectare meningeală, apare mai frecvent la imunodeprimați și este mortală.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Prelevatele patologice indicate pentru diagnosticul antraxului variază în raport cu forma clinică de boală: exsudat vezicular, spută, materii fecale, lichid cefalo-rahidian, sânge pentru hemocultură.

Se fac frotiuri din produs patologic, colorate Gram sau cu albastru de metilen.

Izolarea bacteriei în cultură pură presupune inocularea prelevatelor pe geloză simplă sau geloză sânge, iar în cazul produselor contaminate pe medii cu polimixină, EDTA și acetat de thaliu pentru inhibarea florei de asociație (chiar și a celei sporulate). Pentru inhibarea florei de asociație din prelevatele policontaminate este recomandată încălzirea acestora la 80°C.

Identificarea tulpinilor de *Bacillus anthracis* în sensul diferențierii de antracoizi se face pe imobilitatea tulpinii, absența hemolizei și patogenitatea pentru șoarece.

Prin reacția Ascoli sau prin tehnici imunoenzimatică se poate identifica antigenul polizaharidic termostabil în extracte tisulare.

Diagnosticul serologic constă în demonstrarea anticorpilor prin metoda fluorescentă directă, este posibil dar nu este util.

TRATAMENT

Bacillus anthracis este sensibil la o gamă largă de antibiotice: penicilină, eritromicină, tetraciclină. Cu toate acestea este bine să ne asigurăm că tulpina izolată nu este producătoare de β-lactamază. Cloramfenicolul poate fi de asemenea util în terapia acestei afecțiuni. Antibioticoterapia trebuie să fie precoce și asociată în formele severe cu serul anticărbunos.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Antraxul este o boală specifică animalelor. Păsările sunt rezistente față de infecția cu *Bacillus anthracis* cu excepția struților și rațelor. Dintre mamifere

ierbivorele (ovine, caprine) sunt cele mai predispuse la infecție, cea mai frecventă formă a bolii fiind cea digestivă. Boala are evoluție hiperacută animalul decedând în interval de 1 oră până la 2-3 zile de la ingestia alimentului contaminat, semnele caracteristice fiind hemoragiile prin gură, nări, anus. Laptele poate deveni de asemenea hemoragic.

Bacillus anthracis poate fi patogen și pentru unele insecte și larvele lor.

Contaminarea solului cu spori din excretele și din cadavrele animalelor bolnave, rezistența sporilor care rămân viabili zeci de ani întrețin lanțul epidemic al antraxului. Animalele se contaminatează pășcând pe pășunile contaminate cu spori de *Bacillus anthracis*. Infecția nu se transmite direct de la animal bolnav la animal sănătos.

Boala la animal este rar observată în Europa. Apare mai frecvent în India, Africa, Orientul Mijlociu, America de Sud.

Omul se contaminatează accidental venind în contact cu animalul bolnav sau cu carne, oase, piele, blană, păr, excremente provenite de la animalul bolnav. Antraxul uman este de obicei o boală cu caracter profesional, apărând de exemplu la îngrijitorii de animale, la ciobani, lucrătorii din abatoare, măcelari, tăbăcari, blănari etc.

Profilaxia la animale este posibilă prin vaccinare cu vaccinuri atenuate și prin sacrificarea animalelor bolnave. Cadavrele de animale moarte din cauza infecției carbunoase se îngroapă la mare adâncime, acoperite cu var nestins sau mai bine se incinerează.

Lucrătorii din sectorul veterinar și din alte sectoare cu risc crescut pentru antrax pot fi imunizați cu un vaccin preparat din antigenul capsular protectiv. Este de asemenea importantă aplicarea măsurilor de igienă în aceste locuri de muncă, pentru a păstra incidența bolii la un nivel scăzut.

În spital sunt suficiente măsurile standard întrucât nu există transmitere inter-umană a infecției carbunoase.

Un vaccin pentru administrare umană este disponibil în SUA unde este produs în cantități mici administrarea lui fiind limitată și totodată obligatorie pentru soldați.

BACILI ANTRACOIZI

Bacillus cereus

Este o bacterie prezentă în mediul extern, contaminând orezul, legumele, fructele uscate, brânzeturile. Este recunoscut ca agent etiologic al toxiinfecțiilor alimentare începând din anul 1955.

Caracterele microscopice și de cultivare sunt asemănătoare cu ale *B.anthraxis* cu mențiunea că este mobil și pe medii cu sânge produce β-hemoliză.

Izolarea din prelevatele polimicrobiene se face pe mediul cu manitol, gălbenuș de ou, polimixină și roșu fenol, pe care se poate evidenția absența fermentării manitolului și producerea de lecitinază.

Este implicat în toxiinfecții alimentare iar la pacienți imunodeprimați poate cauza infecții ale plăgilor, pneumonii, pleurezii, endocardite, septicemii, meningite, infecții respiratorii, mionecroze și ocazional infecții oculare. Antibioticul de elecție este vancomicina, deși *B.cereus* este sensibil la o gamă largă de antibiotice.

Poate cauza 2 tipuri de toxiinfecții alimentare datorită faptului că bacilul produce 2 toxine diferite (una termostabilă și una termolabilă) fiind necesară o contaminare masivă a alimentului (peste 10^5 germeni/gram aliment):

1. toxiinfecție alimentară care are o perioadă scurtă de incubație (1-6 ore) după care apar grețuri, vomismente, colici abdominale, eventual diaree, simptome care persistă 8-10 ore. Este cauzată de enterotoxina termostabilă preformată în aliment. Din punct de vedere clinic seamănă mult cu toxiinfecția alimentară stafilococică.

2. toxiinfecție alimentară cu perioadă lungă de incubație (8-16 ore), cu colici abdominale, diaree apoasă, grețuri, manifestări care durează 12 ore. Manifestările clinice se datorează unei enterotoxine termolabile care activează adenilat-ciclaza intestinală ceea ce determină creșterea secreției intestinale. Seamănă mult cu toxiinfecția alimentară cauzată de *Clostridium perfringens*.

Bacillus subtilis

Are același habitat ca și *B.cereus*. Cuprinde bacili mici, Gram pozitivi, mobili, dispuși izolat sau în lanțuri scurte. Coloniile pe mediul solid sunt mari, de tip R, încojurate de β -hemoliză.

Cauzează toxiinfecții alimentare, bacteriemie, septicemie, endocardită, infecții respiratorii, tratamentul eficace fiind cel cu vancomicină, clindamicină, imipenem.

Bacili gram pozitivi, anaerobi, nesporulați

GENUL LACTOBACILLUS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Lactobacillus* cuprinde bacili gram pozitivi, fini, alungiți sau polimorfi. Sunt germeni nesporulați și în cea mai mare parte imobili. Nu posedă catalază iar sensibilitatea față de oxigenul atmosferic este variabilă.

Foarte rar este patogen fiind izolat din endocardite sau din supurații bucale sau pulmonare

Sunt recunoscute 56 de specii de *Lactobacillus* clasificate în 3 grupe:

- obligat heterofermentative
- facultativ heterofermentative
- obligat homofermentative

CARACTERE GENERALE

Habitat

Unii lactobacili fac parte din flora normală a

- cavității bucale: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. salivarius*;
- intestinului: *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*;
- vaginului (bacil Döderlein): *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. cellobiosus*, *L. jensenii*.

Sunt prezenți în produsele lactate fiind utilizați pe scară largă în industria agro-alimentară datorită puterii lor de fermentare.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili mari, Gram pozitivi, uneori dispuși în lanțuri. Nu prezintă spori și nici cili.

Caractere de cultură

Cultivă în condiții anaerobe sau microaerofile și în prezența CO₂, la pH 5-6. Cultivă lent, pe medii care conțin diferiți factori de creștere: extract de carne și de levură, peptonă, carbohidrați fermentabili. Incubarea mediilor însămânțate se face fie în anaerobioză fie în atmosferă de 90% N₂ și 10% CO₂. Temperatura de incubare este de 37°C pentru tulpinile umane și de 28-30°C pentru tulpinile saprofite din alimente. Coloniile apar după 2-3 zile de incubare, sunt mari, rotunde, convexe, albe.

Caractere biochimice și de metabolism

Este catalază și oxidază negativ. Descompun zaharurile fermentativ. Multe specii din genul *Lactobacillus* fermentează glucoza în lactoză. Descompun glucoza cu eliberare de acid lactic.

Diferențierea speciilor cu semnificație clinică se face pe baza unor teste care urmăresc creșterea la diferite temperaturi, la concentrația de 4% NaCl, fermentarea carbohidraților.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Multe specii de *Lactobacillus* fac parte din flora vaginală normală. Prin capacitatea lor de a elibera acid lactic din glucoză creează un pH acid care inhibă creșterea majorității microorganismelor implicate etiologic în infecții uro-genitale.

Lactobacillus este în general nepatogen pentru om, cauzând rareori infecții. Foarte rar este patogen fiind izolat din endocardite, din supurații bucale sau pulmonare, meningite, infecții ale tractului urinar. În aceste cazuri este necesară identificarea corectă și argumentarea semnificației clinice a izolatului.

TRATAMENT

Este rezistent față de vancomicină. Rarele infecții cauzate de specii de *Lactobacillus* pot fi tratate cu doze mari de penicilină asociată cu gentamicină.

GENUL ACTINOMYCES

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Sunt bacterii de formă filamentoasă, adesea confundate cu levurile comensale ale florei bucale sau digestive. Fac parte din flora comensală bucală și intestinală. Sunt bacili Gram pozitivi ramificați, nesporulați, neciliați., microaerofili sau strict anaerobi.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germeii din genul Actinomyces fac parte din microbiota căilor aerodigestive superioare. Reprezintă 20% din bacteriile salivei și limbii, 35% din germeii crevaselor gingivale și 40% din cei ai plăcii dentare. Cele mai frecvente specii componente ale microbiotei orofaringiene sunt: A. israelii, A.naelslundii, A.viscosus, A. odontolyticus și A. meyeri. În criptele amigdaliene se identifică A. israelii, A.naelslundii.

Sunt de asemenea, în cantități mai mici, componente ale microbiotei tractului genito-urinar și digestiv.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram pozitivi polimorfi:

- pe frotiurile din cultura pe geloză sânge apar ca filamente ramificate care prin fragmentare dau naștere la bastonașe măciucate cu aspect diferimorf sau forme cocobacilare;
- pe frotiul din produs patologic apar ca filamente Gram pozitive așezate radial. Capetele lor prezintă formațiuni piriforme Gram negative care înconjoară filamentele ca o coroană.

Caractere de cultură

Cultivă pe agar- infuzie cord-creier- sânge incubat

- anaerob, la 37°C, timp de 21 de zile pentru speciile anaerobe;
- aerob, la 25°, 30° și 37°C, timp de 14 zile pentru speciile aere

Cresc pe medii cu sânge sau ser incubate în anaerobioză și în prezența CO₂. Coloniile apar lent, după 3-4 zile.

Coloniile sunt mari, pigmentate, rugoase, aderente de mediu.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt catalază, indol, urează, lipază și DN-ază negativi, atacă zaharurile fermentativ (glucoza, zaharoza, lactoza, maltoza).

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Actinomicetele sunt sensibile la acțiunea antibioticelor beta-lactamice, macrolidelor, vancomicinei, tetraciclinelor, cloramfenicolului. Sunt rezistente la aminoglicozide.

Caractere de patogenitate

Microorganismele din genul Actinomyces nu sunt virulente. Ele necesită o breșă în integritatea tegumentului sau a membranelor mucoase, prezența țesuturilor devitalizează pentru a invade structurile profunde cauzând îmbolnăvire.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Actinomicoza este infecția cu evoluție subacută sau cronică ce se caracterizează printr-o reacție inflamatorie supurativă și granulomatoasă.

Actinomyces israeli formează, post-traumatic, abcese localizate în special în regiunea cervico-facială: actinomicoza. Abcesele sunt delimitate de țesut de granulație și de țesut fibros, conțin puroi cu granule actinomicotice de culoare galbenă („granule de sulf”). Aceste granule nu sunt altceva decât colonii tisulare de actinomicete.

În afara acestei localizări actinomicoza se poate localiza la nivel toracic și abdominal iar la femei este întâlnită actinomicoza pelviană.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Se recoltează aseptice puroiul din fistulă sau țesutul de granulație care conține grăunții actinomicotici. Examinarea microscopică se poate face pe preparat nativ sau pe frotiu colorat Gram, Ziehl-Neelsen sau cu hematoxilină-eozină.

Însămânțarea se face pe medii speciale care vor fi incubate anaerob și în atmosferă de 5% CO₂ la 37°C. Coloniile apar greu cultură fiind urmărită 6 – 21 zile. Sunt colonii de tip „R”, aderente de mediu care formează colonii fiice.

Se poate realiza serodiagnosticul decelându-se anticorpii prin RFC. Se poate practica de asemenea intradermoreacția pentru depistarea stării de alergie specifică.

Complementar se poate efectua examenul histologic al materialului biptic.

TRATAMENT

Pentru tratamentul actinomicozei se poate folosi penicilina G, tetraciclina, cloramfenicolul, macrolidele asociate cu drenajul chirurgical al leziunii.

GENUL MOBILUNCUS

Genul Mobiluncus cuprinde bacili strict anaerobi, mobili, încurbați. La colorația Gram apar adesea Gram negativi deși peretele lor are structura bacteriilor Gram pozitive. Sunt agenți etiologici ai vaginitelor adesea în asociere cu alte microorganisme anaerobe sau cu Gardnerella spp. prezența lor în flora vaginală este marker de vaginoză. Tratament eficace al acestor afecțiuni se poate face cu ampicilină sau eritromicină.

GENUL BIFIDOBACTERIUM

Membrii genului Bifidobacterium sunt bacili sub forma unor bastonașe măciucate, Gram pozitivi, anaerobi, imobili, catalază negativi.

Speciile din genul Bifidobacterium sunt considerate nepatogene pentru om, 10 din speciile genului fiind componente ale microbiotei intestinale umane. Fac parte din flora intestinală a nou-născuților hrăniți cu lapte de mamă, au efect protector față de infecțiile digestive și față de cancerul de colon.

Singura specie patogenă a genului este Bifidobacterium dentium, componentă a microbiotei intestinale.

GENUL EUBACTERIUM

Germenii din genul Eubacterium nu au importanță în patologia umană fiind componenți ai microbiotei intestinale. Cu toate acestea pot cauza infecții oportuniste.

Eubacterium lentum și Eubacterium limosum sunt patogeni oportuniști izolați din infecții respiratorii adesea în asociere cu alte microorganisme, endocardite, infecții ale plăgilor.

GENUL PROPIONIBACTERIUM

Propionibacterium acnes este comensal al pielii colonizând glandele sebacee. Este un contaminant frecvent al hemoculturilor.

Este întâlnit mai frecvent în infecții tegumentare alături de alți germeni (acnee juvenilă) și mai rar este izolat din infecții grave (meningită, osteomieliță, endocardită).

Pe frotiu apar în grămezi iar bastonașele au tendință de ramificare. Crește bine pe agar sânge în anaerobioză sau microaerofilie. Este catalază și indol pozitiv.

Este rezistent la imidazoli dar sensibil la beta-lactamine.

Bacili gram pozitivi, anaerobi, sporulați

GENUL CLOSTRIDIUM

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Reunește bacili Gram pozitivi, majoritatea prezentând cili peritrichi. Sunt germeni anaerobi, foarte puține specii fiind aerotolerante.

Sunt bacili sporulați, sporul fiind ovalar sau rotund, dispus central, subterminal sau terminal. Sporul este termorezistent, mai mare decât corpul bacteriei pe care îl deformează.

Sunt catalază negativi, unele specii fermentează zaharurile altele nu.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt prezenți în intestinul animalelor și al omului, de unde, eliminați cu materiile fecale ajung pe sol. Datorită endosporilor supraviețuiesc timp îndelungat, unele specii chiar multiplicându-se în sol.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram pozitivi sau Gram variabili, cu capetele rotunjite, cu corpul bacterian deformat de endosporul mai mare decât corpul bacteriei. Unele specii prezintă capsulă.

Caractere de cultură

Pot fi cultivate pe medii uzuale, incubate la 37°C, în anaerobioză. Cresc lent, sub formă de colonii S (unele specii au caracter invaziv). Pe geloza sânge majoritatea speciilor produc hemoliză beta.

Identificarea speciilor din genul Clostridium se face pe baza caracterelor biochimice și de metabolism: fermentarea zaharurilor și identificarea metaboliților finali rezultați, elaborarea de enzime proteolitice, coagularea și acidifierea laptelui turnesolat etc.

Rezistența la agenți fizici, chimici, biologici

Formele vegetative de Clostridii nu sunt foarte rezistente în mediul extern în timp ce spori au o rezistență marcată (tabel XIII)

Tabel XIII. Rezistența sporilor de Clostridium la acțiunea diferiților agenți fizici și chimici

Agentul fizic/chimic	Timp de supraviețuire
fierbere	5 minute
105°C, c ăldură umedă	30 minute
glutaraldehida, dezinfectanți pe bază de halogeni	2-3 ore
formaldehidă, derivați fenolici	4-5 zile
mediul extern, ferți de raze solare, de umezeală	zeci de ani

Dintre speciile genului, interes medical prezintă

- Clostridium tetani agentul cauzal al tetanosului;
- Clostridium botulinum agentul cauzal al botulismului;
- Clostridiile gangrenei gazoase :
 - C.perfringens
 - C.hstolyticum
 - C.septicum
 - C.oedematiens
- Clostridium difficile agentul cauzal al unor sindroame diareice post-antibioterapie sau al enterocolitei pseudomembranoase.

CLOSTRIDIUM TETANI

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE.

Sunt germeni strict anaerobi sporulați, necapsulați, mobili, cu cili peritrichi, care se pot identifica pe sol (germeni telurici). Clostridium tetani reprezintă o specie patogenă prin exotoxinele neurotrope elaborate.

CARACTERE GENERALE.

Habitat.

În stare vegetativă sunt prezenți în intestinul omului și al animalelor de unde, cu materiile fecale, ajung în mediul extern (pe sol) unde sporulează. Sporii sunt foarte rezistenți.

În mediul spitalicesc poate contamina bandaje, ața chirurgicală, pudra de talc, lenjeria etc.

Caractere morfotinctoriale

Este un bacil mare, cu capetele rotunjite, Gram pozitiv, cu cili peritrichi. În prezența oxigenului formează un spor sferic terminal, mai mare decât diametrul celulei bacteriene, care conferă germenului aspectul de băț de chibrit, băț de tobă, ac de gămălie.

Caractere de cultură

Cresc pe medii simple, în condiții de de strictă anaerobioză, la temperatura de 37°C. Coloniile pe geloză sângelui apar după 48 de ore, sunt colonii rotunde, 4-6 mm diametru, mate, de tip S, înconjurate de o zonă pufoasă și de o zonă îngustă de β-hemoliză.

Caractere biochimice

Elaborează o hemolizină, o exotoxină neurotropică, proteaze, gelatinaze, etc.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Formele vegetative sunt distruse de expunerea timp de 15-20 de minute la temperaturi de 55-60°C și de substanțe dezinfectante.

Sporii rezistă la temperatura de 100°C, dar sunt distruși prin autoclavare la 120°C și 1 atm, timp de 30 de minute și la Poupinel timp de 1 oră la 180°C. În mediul extern, în condiții de uscăciune sporii rămân viabili zeci și chiar sute de ani.

Structură antigenică

Prezintă antigene flagelare de tip H, antigenul somatic O din peretele bacterian și o exotoxină cu structură proteică. Toți bacilii tetanici elaborează un singur tip de toxină, codificată plasmidic.

Răspuns imun.

Răspunsul imun constă în producerea anticorpilor antitoxinici care nu sunt utili din punct de vedere al protecției și nici în scop diagnostic.

Caractere de patogenitate

Cl. tetani este patogen prin:

- multiplicare la poarta de intrare unde rămâne cantonat neavând capacitate de invazivitate;
- prin toxinogeneză - produce o exotoxină neurotropică numită tetanospasmină;
- prin producerea unei hemolizine oxigen labile numite tetanolizină.

Tetanolizina (asemănătoare structural și funcțional cu streptolizina O) are acțiune litică asupra unui număr mare de celule: polimorfonucleare, macrofage, eritrocite, fibroblaști etc. Este inhibată reversibil de oxigen și reactivată de tioglicolat și cisteină, efectul ei toxic și letal fiind neutralizat de steroli. Rolul tetanolizinei în producerea și progresia tetanosului nu este pe deplin elucidat.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Sporii de Clostridium tetani pătrund în organism prin intermediul unor plăgi numite „tetanigene”: plăgi adânci care asigură anaerobioză, cu țesut zdrobit. Sporii pătrund în aceste plăgi cu pământ, obiecte (inclusiv instrumente medicale, materiale sanitare) contaminate cu spori.

Sporii germinează, forma vegetativă care ia naștere elaborează cei 2 factori de virulență:

- tetanolizina, care produce liza hematiilor unor specii animale;
- tetanospasmina, care are următoarele acțiuni:

a) inhibă eliberarea acetilcolinei, interferând astfel cu activitatea sinapsei neuromusculare;

b) inhibă neuronii spinali postsinaptici, blocând eliberarea unor mediatori inhibitori și determinând spasme musculare generalizate, hiperreflexie și convulsii.

Neuronii motori spinali sunt de obicei inhibați de către glicină și acidul γ -aminobutiric. Tetanospasmina blochează eliberarea acestor mediatori, influxul nervos nu mai este blocat ceea ce determină excitarea exacerbată neuronilor motori spinali, cu apariția de spasme severe și dureroase ale musculaturii striate (paralizie spastică). Toxina poate ajunge la nivelul SNC pe 2 căi: retrograd prin propagare pe cale axonală de la poarta de intrare sau pe cale sanguină. Pacientul este conștient.

Clinic, la 4-5 zile de la contaminare apar spasme ale musculaturii din zona contaminată, apoi ale mușchilor masticatori, manifestate prin trismus și facies de tip „risus sardonius”. Orice stimul extern precipită un atac de tetanos. Moartea se poate produce prin asfixie.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator al tetanosului nu este un diagnostic de rutină. Gravitatea bolii și necesitatea aplicării rapide a unui tratament eficace impun stabilirea precoce a diagnosticului pe baze clinice. Diagnosticul bacteriologic de cele mai multe ori se practică post-mortem.

Diagnosticul este clinic, epidemiologic și bacteriologic.

Produsul patologic este constituit de puroiul de la nivelul plăgii, țesutul excizat de la poarta de intrare.

Se realizează frotiuri colorate cu albastru de metil sau prin colorația Gram.

Se realizează cultivarea în strictă anaerobioză. Bacteria se identifică pe baza caracterelor biochimice și prin demonstrarea toxigenității.

Pentru testarea capacității tulpinii de a produce toxină se inoculează intramuscular, la șoarecele alb, cultură în bulion. Apariția la 24 – 48 de ore de la inoculare a unei paralizii spastice la membrul inoculat și extinderea ei la restul grupelor musculare demonstrează capacitatea de toxinogeneză a tulpinii bacteriene.

Ca martor se folosește un alt șoarece alb care primește în prealabil anti-toxină tetanică fiind apoi inoculat cu cultura bacteriană. Acest animal va rămâne sănătos datorită neutralizării toxinei de către anticorpii specifici.

Antibiograma nu este necesară, sensibilitatea la penicilină fiind păstrată.

TRATAMENT

Tratamentul constă în administrarea în paralel a serului antitoxic și a antibioticoterapiei. Antibioticele administrate vor distruge bacteriile cantonate la poarta de intrare iar anticorpii specifici vor neutraliza toxina. La tratamentul specific se asociază administrarea anatoxinei tetanice.

Tratamentul trebuie realizat de urgență administrându-se ser antitetanic înainte de fixarea toxinei în țesut. Se impune de asemenea toaleta chirurgicală a plăgii tetanigene.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este reprezentată de om și animale care elimină prin dejecte formele vegetative de *C.tetani*. Transmiterea se face prin intermediul pământului contaminat cu spori. Poarta de intrare este o plagă contaminată cu pământ ce conține spori de bacili tetanici.

Profilaxia specifică constă în vaccinarea obligatorie în copilărie cu trivaccin anti-diftero-tetano-pertusis. Vaccinarea de bază este urmată de rapeluri necesare obținerii unei imunități solide.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Sunt germeni strict anaerobi, sporulați, necapsulați, patogeni prin producerea de exotoxine neurotrope.

CARACTERE GENERALE

Habitat.

Este prezent în intestinul omului și al animalelor în stare vegetativă de unde se elimină în mediul extern o dată cu materiile fecale. După eliminare în mediul extern, pe sol, sporulează unele specii putându-se chiar multiplica. Sporii sunt foarte rezistenți, la adăpost de radiațiile solare și de umezeală supraviețuind zeci de ani.

Caractere morfo-tinctoriale

Sunt bacili mari (3,0-20,2 μm / 0,6-1,4 μm), Gram pozitivi, ciliați peritrichi, necapsulați. Prezintă spor ovalar, situat central sau subterminal, mai mare decât diametrul bacteriei. Bacteria este deformată de spor, luând aspect de bărcuță.

Caractere de cultură

Pot fi cultivate pe medii uzuale cu condiția incubării la 37°C în strictă anaerobioză. După 1-2 zile formează colonii de tip S, mari, fimbriate, transparente, înconjurate de o zonă pufoasă iar pe mediile cu sânge coloniile sunt înconjurate de hemoliză beta.

Caractere biochimice

Produc enzime care descompun glucoza cu eliberare de acid, produc lipază, gelatinază, lecitinază. Diferențierea tipurilor de *C.botulinum* se face pe baza reacțiilor de descompunere a maltozei, zaharozei, a hidrolizei esculinei și a descompunerii proteinelor cu eliberare de indol.

Rezistența față de factori fizici, chimici, biologici

Formele vegetative nu sunt foarte rezistente la factorii de mediu: sunt distruse la temperaturi de 60°C după 15-20 de minute precum și de dezinfectante.

Sporii sunt termorezistenți. Sunt distruși prin:

- autoclavare la 120°C, timp de 30 de minute, la presiunea de 1 atmosferă ;
- menținerea în Poupinel timp de 1 oră la 180°C.;
- expunere la glutaraldehidă și dezinfectanți pe bază de halogeni timp de 2-3 ore;
- expunere la formaldehidă și derivați fenolici timp de 4-5 zile.

Structura antigenică

Prezintă antigene flagelare de tip H, antigene la nivelul peretelui precum și antigene solubile (exotoxine).

Clostridium botulinum produce 8 tipuri antigenice de exotoxine, notate de la A la H. Toxinele A, B, E, F sunt codificate cromosomal, toxinele C și D sunt codificate de un profag iar toxina G este codificată plasmidic.

A fost identificată și o toxină G (al șaptelea tip de exotoxină botulinică), cu codificare plasmidică.

Toxinele botulinice sunt rezistente la aciditatea gastrică și sunt termolabile.

Răspuns imun

Apare un răspuns imun umoral cu producerea de anticorpi antitoxină, ineficient din punct de vedere al protecției și al diagnosticului.

Caractere de patogenitate

Nu se multiplică în organism ci în alimente unde produce o exotoxină care este distrusă prin fierbere la 100°C, timp de 20 minute.

Este patogen prin toxinogeneză. Elaborează exotoxine cu neurotropism față de sistemul nervos periferic. Toxinele A, B, E sunt mai comune la om, în zona noastră geografică. Toxina botulinică este cea mai puternică otrăvă cunoscută; doza letală pentru om este de 1-2 mg.

Clostridium botulinum are 3 grupe de tulpini caracterizate prin temperatura optimă de cultivare, caracterele biochimice, rezistența sporilor la temperaturi înalte, exotoxinele produse:

Grupa I

- tulpini care produc enzime proteolitice
- au sporii cei mai termorezistenți
- produc un singur tip de exotoxină (A, B sau F)
- cauzează toxiinfecții alimentare și botulismul plăgilor.

Grupa II

- temperatura optimă de creștere este de 20-30°C
- tulpini non-proteolitice
- tulpini care atacă zaharurile
- au cei mai sensibili spori la acțiunea temperaturilor înalte
- produc neurotoxine de tip B, E sau F termosensibile
- sunt incapabile să colonizeze intestinul

- nu cauzează botulism al plăgilor
- rar implicați în toxiinfecții alimentare cauzate de consumul conservelor fără o nouă prelucrare termică sau insuficient prelucrate termic: pește, produse alimentare marine, carne conservată prin sare.

Grupa III

- tulpini proteolitice
- produc toxine de tip C și D
- nu cauzează botulism uman

PATOGENIE. BOALA LA OM

Botulismul apare prin ingestia de alimente care conțin toxina preformată, fiind deci o toxiinfecție alimentară de tip toxic. Exotoxina botulinică acționează la nivelul sinapselor și a joncțiunii neuro-musculare unde inhibă eliberarea de acetilcolină. Aceasta are ca urmare paralizia flască a întregii musculaturii.

Forme clinice de botulism:

1. Toxiinfecția alimentară botulinică:

Apare în urma ingerării conservelor de legume, zarzavaturi, fructe, carne, alimente păstrate prin sărare sau afumare, mezeluri, cârnați care sunt consumate fără o nouă prelucrare termică. După ingerarea alimentului, toxina se resoarbe la nivel intestinal, ajunge în circulație, iar pe această cale este vehiculată și se localizează la nivelul plăcilor neuromotorii față de care are afinitate. Aici împiedică eliberarea de acetilcolină, determinând o paralizie flască. Paralizia apare la 18-24 ore de la ingestie, începe la extremitatea cefalică afectând mușchii globilor oculari, se manifestă prin diplopie sau paralizie bulbară (imposibilitate de înghițire și de vorbire). Paralizia are evoluție descendentă, ajungând până la paralizia musculaturii respiratorii ceea ce duce la moarte. Bolnavul rămâne conștient până aproape de exitus. Mortalitatea în botulism este mare.

2. Botulismul infantil

Este urmarea formării toxinei botulinice prin germinarea la nivel intestinal a sporilor ingerați. Manifestările clinice sunt similare cu cele ale toxiinfecției alimentare cu toxina preformată. Botulismul neo-natal se pare că apare la sugarii (sub 6 luni) care consumă miere de albină contaminată cu spori de *C. botulinum* producător de toxină A sau B; mortalitatea în botulismul neo-natal este foarte mare.

3. Botulismul plăgilor

Apare rar și poate fi suspectat atunci când pacientul acuză diplopie și disfagie și nu pot fi implicate alimentele drept sursă pentru toxina botulinică. Boala afectează persoanele care folosesc droguri injectate intravenos, cele cu leziuni traumatice contaminate cu pământ sau gravidele la care s-a efectuat o cezariană.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

În toxiinfecția botulinică primează diagnosticul clinic.

Diagnosticul de laborator urmărește în principal stabilirea tipului de exotoxină produs de *C. botulinum* (toxinotipie).

Produsele patologice recoltate sunt serul de la pacient, probe de materii fecale și probe de alimente.

Probele de alimente și de materii fecale sunt însămânțate în 2 tuburi cu mediu lichid pentru anaerobi. Unul din tuburi este menținut la 80°C timp de 10

minute (pe baie de apă) pentru ca formele vegetative să se distrugă. Ambele tuburi sunt incubate în condiții de strictă anaerobioză timp de 4 zile. Supernatantul culturilor este apoi inoculat intraperitoneal la șoarece. O parte din animale vor primi după 10 minute, injectabil, antitoxină botulinică. Animalele sunt urmărite 4 zile. Animalele neprotejate de antitoxină mor.

Evidențierea exotoxinei în prelevatele de ser se face tot prin testul de neutralizare *in vivo* inoculând serul (prelevat steril) intraperitoneal la șoarece și procedând în continuare la fel ca în cazul prelevatelor contaminate (materii fecale, alimente).

Se poate încerca identificarea toxinei botulinice și printr-o reacție de tip ELISA.

TRATAMENT

Se administrează ser antibotulinic inițial polivalent apoi, după identificarea tipului de exotoxină produs se administrează ser specific monovalent. Se poate administra ser trivalent (A,B,E) prompt i.v., cu precauțiile seroterapiei, în condiții susținere a funcțiilor vitale.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Botulismul apare în întreaga lume, fiind asociat în principal cu consumul de conserve preparate în casă: conserve de fructe, legume, pește, carne. De asemenea sunt incriminate și alimentele conservate prin sărare, afumare, mierea de albine contaminată cu spori de *C.botulinum*.

În botulismul plăgilor sunt incriminate leziunile traumatiche cauzate de obiecte murdare cu praf sau pământ.

Botulismul poate să apară și în urma contaminării în laborator prin manipularea toxinei botulinice în vederea toxinotipiei sau în scop de cercetare.

Este nespecifică și constă în prelucrarea termică adecvată a alimentelor conservate.

CLOSTRIDIILE GANGRENEI GAZOASE

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Clostridiile gangrenei gazoase sunt bacili Gram pozitivi, anaerobi, sporulați, prezenți în pretutindeni în natură, mai ales în solurile cultivate. Nu au fost găsite în deșertul Africii de Nord (Sahara). Au fost identificate peste 150 specii de Clostridii dar numai 6 sunt capabile să declanșeze gangrena gazoasă:

denumire actuală	denumire veche	implicare etiologică
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Clostridium welchii</i>	80 – 90% din cazuri
<i>Clostridium novyi</i>	<i>Clostridium oedematiens</i>	40% din cazuri
<i>Clostridium septicum</i>		20% din cazuri

Clostridium histolyticum	10% din cazuri
Clostridium bifermentans	10% din cazuri
Clostridium fallax	5% din cazuri

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt germeni ubicuitari fiind prezenți cu precădere în solurile cultivate. Au fost izolați ca și componenți ai microbiotei colonului, tegumentului, vaginului. Formele vegetative eliminate din organism sporulează contaminând solul care devine astfel sursa principală de Clostridii.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili mari (1μ / $6-10\mu$), Gram-pozitivi care formează endospori în condiții de anaerobioză. Endosporii sunt mai mari decât diametrul bacililor, sunt localizați central sau terminal. Cu excepția speciei *C. perfringens* care este încapsulat și imobil ceilalți reprezentanți ai genului implicați în gangrena gazoasă sunt mobili prezentând cili peritrichi.

Caractere de cultură

Clostridiile gangrenei gazoase cresc pe medii simple în strictă anaerobioză. Celulele vegetative sunt ucise de expunerea la oxigen în timp ce sporii sunt capabili să supraviețuiască lungi perioade în aerobioză. Se pot folosi:

- mediul VF
- agar sânge suplimentat cu glucoză, extract de levură, vitamina K1 etc.

Pe medii cu sânge produc hemoliză. *C. perfringens* produce hemoliză de tip cald-rece: o primă zonă de hemoliză care apare la termostat va fi înconjurată de o a doua zonă de hemoliză mai largă, după menținere la gheață.

Coloniile speciilor mobile sunt rotunde, convexe, transparente, invazive iar în coloana de agar moale coloniile sunt pufoase sau dendritice.

C. perfringens fiind imobil formează colonii fără caracter invaziv, de tip „S” iar în coloană de agar moale cresc sub formă de colonii lenticulare.

Caractere biochimice

Toate speciile implicate în gangrena gazoasă au un metabolism strict fermentativ. Sunt catalază negativi. Speciile producătoare de α -toxină opacifiază mediul cu geloză, glucoză și gălbenuș de ou prin descompunerea lecitinei.

Rezistența față de factori fizici și chimici

Formele vegetative sunt mai sensibile la acțiunea factorilor fizici, chimici. Sunt distruse de dezinfectantele uzuale și de temperatura de $55-60^{\circ}\text{C}$ la care să fie expuse timp de 15-20 minute.

Formele vegetative sunt sensibile la antibiotice: sunt 100% sensibile la penicilină asociată cu metronidazol, la eritromicină, clindamicină, cloramfenicol. Toate speciile de *Clostridium* sunt rezistente la colistin și sensibile la vancomicină (test de identificare).

Sporii sunt rezistenți supraviețuind timp îndelungat pe sol. Sunt distruși prin autoclavare la 120°C timp de 30 minute sau la Poupi nel la 180°C timp de 1 oră.

Structura antigenică

Antigenele germenilor din genul Clostridium sunt:

- antigene somatice (parietale);
- antigene capsulare K (C.perfringens);
- antigene flagelare H (C. histolyticum, C. septicum, C. novyi și C. sporogenes);
- antigene solubile (exotoxine).

Răspuns imun

În cursul infecției organismul uman sintetizează anticorpi tip anti-toxină, anticorpi fără eficiență în cursul bolii.

Caractere de patogenitate

Clostridiile gangrenei gazoase sunt patogene prin multiplicare, invazivitate și toxinogeneză. Germenii se multiplică la poarta de intrare.

Țesutul sănătos este invadat prin acțiunea unor exotoxine eliberate de Clostridii care acționează ca antigene solubile histo-toxice. Astfel de toxine sunt: lecitinaze, colagenaze, fibrinolizine, hialuronidaze, hemaglutinine, hemolizine.

Alfa-toxina eliberată de majoritatea speciilor de clostridii ale gangrenei gazoase are acțiune litică asupra hematiilor, miocitelor, fibroblastelor, trombocitelor și a leucocitelor. De asemenea scade capacitatea de agregare a trombocitelor împiedicând formarea trombului.

Kappa-toxina produsă de Clostridium perfringens este o colagenază care distruge țesutul conjunctiv favorizând extinderea necrozei în țesut sănătos.

Theta-toxina are efecte distructive directe asupra vaselor, cauzează citoliză, hemoliză, degenerarea leucocitelor și distrugerea polimorfonuclearelor. Aceste efecte asupra leucocitelor explică răspunsul inflamator minim al organismului față de infecție.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Clostridiile gangrenei gazoase determină gangrena gazoasă, o infecție a țesuturilor moi, a musculaturii scheletale, cu mortalitate ridicată. Pentru această afecțiune se mai utilizează sinonimul „mionecroză clostridiană”.

Afecțiunea apare după traumatisme, intervenții chirurgicale pe tractul gastrointestinal sau genitourinar, după avorturi, amputații, injecții, arsuri termice sau electrice etc.

Pentru apariția infecției sunt necesare 2 condiții:

- pătrunderea sporilor clostridieni în țesut;
- anaerobioza sau cel puțin o presiune scăzută de oxigen de maximum 30%.

Aceste specii sunt strict anaerobe creșterea lor fiind inhibată de o tensiune de 70% a oxigenului dar există unele specii aerotolerante care se pot multiplica la o valoare a tensiunii de oxigen de până la 30%.

Perioada de incubație este de 12 – 24 de ore cu limite maxime de 1 oră – 6 săptămâni după care microorganismele se transformă în formă vegetativă, se înmulțesc și eliberează exotoxinele cu acțiune locală și sistemică.

Efectele locale includ necroza musculară, a țesuturilor moi, tromboza vasculară. În cursul metabolismului formele vegetative fermentează zaharuri cu eliberare de gaz. Apare astfel edemul dur, crepitant.

Efectele sistemice constau în hemoliză severă urmată de hipotensiune arterială cauzatoare de necroza tubilor renali cu instalarea insuficienței renale.

Infecția clostridiană se caracterizează printr-un slab răspuns inflamator adesea lipsind colecția purulentă.

Procesul de mionecroză evoluează cu o viteză de 2 cm / oră.

Toxicitatea sistemică și șocul însoțit de blocare renală devin fatale în 12 ore.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul gangrenei gazoase este clinic. Diagnosticul de laborator este cel care doar confirmă diagnosticul clinic.

Diagnosticul bacteriologic constă în examene microscopice, culturi în anaerobioză și identificări pe baza caracterelor biochimice.

Testele minimale necesare identificării Clostridiilor lecitinază pozitive sunt: mobilitatea, fermentarea glucozei, producerea de lipază, urează, hidroliza gelatinei și esculinei, digestia cărnii.

Testele minimale necesare identificării Clostridiilor lecitinază negative sunt: mobilitatea, fermentarea zaharurilor (glucoză, maltoză, lactoză, zaharoză, salicină, manitol), producerea de lipază, indol, hidroliza gelatinei și esculinei, digestia cărnii.

TRATAMENT

Tratamentul instituit de urgență constă în administrarea de ser antigangrenos, toaleta chirurgicală a plăgii cu eliminarea țesuturilor devitalizate și cu expunerea la oxigen. Se administrează antibiotice (penicilină).

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este reprezentată de om și animale, care elimină germenii pe sol prin dejecte.

Transmiterea se realizează prin pământ contaminat cu spori iar poarta de intrare în organism este o plagă cutanată.

Profilaxia se realizează prin tratamentul corespunzător al plăgilor adânci, contaminate cu pământ.

ALTE BOLI CAUZATE DE SPECII DIN GENUL CLOSTRIDIUM

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Clostridium perfringens este implicat în toxiinfecții alimentare cauzate de consumul de carne de pasăre semipreparată, refrigerată apoi reîncăzită pentru a fi servită. Contaminarea cărnii se face cu spori ce Clostridium perfringens prezenți în

intestinul păsării. Semiprepararea alimentului nu distruge sporii dar realizează diminuarea potențialului redox necesar dezvoltării, multiplicării bacteriei și eliberării de exotoxină în aliment. Este o enterotoxină proteică termorezistentă care este parte componentă a sporului și care este eliberată o dată cu germinarea. Își exercită acțiunea în ileon inhibând transportul glucozei, alterând epiteliul intestinal, provocând acumularea proteică în lumenul intestinal.

Simptomele toxiinfecțiilor alimentare cauzate de *C.perfringens* sunt: diaree apoasă, crampe abdominale, apar la 8-24 de ore după ingestie și persistă 24 de ore

Diagnosticul de laborator presupune identificarea bacteriei în alimente.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Bacil Gram pozitiv sporulat anaerob, recunoscut în 1978 ca agent etiologic al colitei pseudomembranoase care apare în marea majoritate a cazurilor după antibioterapie prelungită. Factorul principal de virulență este reprezentat de 2 toxine: toxina A sau enterotoxina și toxina B sau citotoxina care induc leziuni. Este afectată mucoasa colonului și a rectului caracteristică fiind apariția la nivelul mucoasei intestinale a unui infiltrat inflamator și a unor false membrane fibrinoase, aderente. Simptomul principal este diareea apoasă sau mucoasă, rareori sanguinolentă.

Cele mai frecvente cazuri apar în mediul spitalicesc în unitățile cu spitalizări prelungite, cu pacienți vârstnici și cu tratamente antibiotice susținute. Sporii colonizează foarte repede mediul de spital și sunt greu de eradicat fiind rezistenți la dezinfectantele obișnuit utilizate în spital.

Portajul intestinal de *C.difficile* este mic: 0-3%. La nou-născut portajul de *C.difficile* este frecvent: 20-70% în primele săptămâni de viață diminuând progresiv până la valori asemănătoare cu ale adultului la vârsta de 3-4 ani. Motivele pentru care simptomatologia este absentă nu sunt cunoscute.

Diagnosticul bacteriologic constă în evidențierea bacteriei și a prezenței toxinelor în materiile fecale.

Tratament: oprirea antibioterapiei. Tratament cu metronidazol sau vancomicină.

Prevenire: izolare, decontaminarea mediul la externare.

Bacili gram negativi

Familia Enterobacteriaceae

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Familia Enterobacteriaceae este o familie largă de bacterii incluzând mulți dintre cei mai familiari agenți patogeni sau condiționat patogeni, cum ar fi Salmonella, Shigella, Escherichia coli. În urma studiilor genetice aceștia au fost plasați în Proteobacteria având propriul ordin, Enterobacteriales. Multe bacterii ale acestei familii fac parte din microbiota intestinului uman sau animal, altele sunt prezente în apă, pe sol, pe plante etc. Clasificarea științifică a enterobacteriilor este următoarea:

Regn: Bacteria, Phylum: Proteobacteria, Classa: Gamma Proteobacteria, Ordin: Enterobacteriales, Familia Enterobacteriaceae. Genul, Specia.

Taxonomia Familiei Enterobacteriaceae cuprinde peste 30 de genuri și 120 specii. Cele care prezintă importanță clinică, în proporție de 95%, sunt grupate în 10 genuri, după cum urmează:

Genul Citrobacter:

Citrobacter freundii
Citrobacter amalonaticus
Citrobacter diversus
Citrobacter farmeri
Citrobacter youngae
Citrobacter braakii
Citrobacter werkmanii
Citrobacter sedlakii

Genul Enterobacter

Enterobacter aerogenes
Enterobacter agglomerans
Enterobacter cloacae
Enterobacter sakazakii
Enterobacter gergoviae

Genul Escherichia:

EPEC = enterotoxigenic E.coli
EIEC = enteroinvasive E.coli
EPEC = enteropathogenic E.coli
EHEC=enterohaemorrhagic E.coli
EaggEC=enteroaggregative E.coli
UPEC=uropathogenic E. coli
NMEC=neonatal meningitis E.coli

Genul Serratia:

Serratia marcescens
Serratia liquefaciens
Serratia rubidaea
Serratia odorifera
Serratia plymuthica
Serratia ficaria
Serratia fonticola

Genul Klebsiella

Klebsiella pneumoniae
Klebsiella oxytoca

Genul Hafnia

Hafnia alvei

Genul Morganella:

Morganella morganii

Genul Providencia:

Providencia alcalifaciens
Providencia rettgeri
Providencia stuartii

Genul Proteus:

Proteus mirabilis
Proteus vulgaris

Genul Salmonella:

Salmonella enterica

Genul Yersinia:

Yersinia enterocolitica
Yersinia pestis
Yersinia pseudotuberculosis.

Genul Shigella:

Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella boydii
Shigella sonnei

CARACTERE GENERALE

Habitat

Enterobacteriile au fost evidențiate în flora intestinală normală, unele în flora tractului respirator superior, în apă, pe sol, pe plante etc.

Enterobacteriile sunt responsabile de o mare parte a infecțiilor nosocomiale.

Ele pot fi împărțite în două mari categorii:

- saprofite, condiționat patogene (E. coli spp., Klebsiella spp., Enterobacter spp. etc.)
- patogene (Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia spp.).

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram-negativi, cu dimensiuni de 0,3-1,0 x 1,0-6,0μm, ciliați sau neciliați, nesporulați, cu sau fără capsulă.

Caractere de cultură

Enterobacteriile sunt germeni nepretențioși, cresc pe medii simple. Sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi care necesită, pentru o creștere optimă, temperaturi de 22-37°C. Pe mediile neselective, formează colonii de culoare gri (excepționând Serratia marcescens, de culoare roșie), de tip „S”, „M” (excepție Proteus spp., fenomen de cățărare). Pe geloză-sânge, unele specii determină hemoliză β.

Caractere biochimice și de metabolism

Enterobacteriile sunt catalazo pozitive și oxidazo negative. Sunt bacterii chemoautotrofe având ambele tipuri de metabolism: respirator și fermentativ. În urma fermentării glucozei se formează acid cu sau fără gaz. Unele enterobacterii utilizează fermentativ lactoza.

Structura antigenică

Membrii **Familiei Enterobacteriaceae** au o structură antigenică complexă.

Antigenul somatic O (endotoxina) reprezintă unitățile terminale repetitive polizaharidice ale lipopolizaharidului (LPS) din peretele bacteriilor Gram-negative. LPS mai este format dintr-un miez (core), similar la toate bacteriile Gram-negative, și lipidul A, prezent la toate enterobacteriile, care este responsabil de activitatea toxică a acestora în organismul gazdă. Antigenul somatic „O” este termostabil, rezistent la alcool. Poate fi detectat prin reacții de aglutinare. Determină, în organismul gazdă, formarea de anticorpi tip IgM.

Antigenul H (flagelar) este de natură proteică determinând, în organismul gazdă, formarea de anticorpi tip IgG care imobilizează bacteria, ceea ce duce la atenuarea virulenței acesteia. Se găsește la nivelul flagelilor. Este denaturat de alcool 50° și temperatură de 70°C. Poate fi evidențiat prin reacții de aglutinare.

Antigenul K (capsular) este de natură polizaharidică și este prezent la bacteriile capsulate. Asigură bacteriilor rezistența la fagocitoză și caracterul de invazivitate. Prezența acestuia duce la inaglutinabilitate în reacțiile de evidențiere a antigenului somatic O.

Antigenul Vi (de virulență), de natură polizaharidică, îl întâlnim la Salmonella serovar Typhi. Este un antigen de înveliș, mascând antigenul somatic

O. Este implicat în scăderea complementului seric, apariția leucopeniei și asigură tulpinilor de Salmonella capacitatea de a se multiplica în macrofag. Poate fi evidențiat prin reacții de aglutinare.

Enterobacteriile pot fi identificate datorită prezenței antigenelor O, H, K și Vi, clasificate în serogrupe și în cadrul acestora în serotipuri.

Pe lângă aceste antigene mai amintim și exotoxina care este reprezentată de toxina Shiga.

Caractere de patogenitate

Enterobacteriile sunt microorganisme care se găsesc în mediul înconjurător și/sau au evoluat pentru a alcătui flora normală intestinală. Totuși, unii membri au necesitat în plus informație genetică asigurată prin intermediul plasmidelor, transpozoniilor și bacteriofagilor, ceea ce a dus la apariția unor factori de patogenitate, aceste tulpini devenind patogene. Informația genetică adițională poate fi codată cromozomial sau extracromozomial.

Factorii de patogenitate pot fi grupați după cum urmează:

1. Adezine. Enterobacteriile prezintă pili (fimbrii) care asigură aderarea la mucoase, permițând bacteriilor colonizarea și multiplicarea. Acești pili se împart în 4 tipuri. Tipul 1 de pili sunt manozo-sensibili. Ei se leagă de celula gazdă în același locus ca și D-manoză. Sunt importanți în colonizarea normală a tractului gastro-intestinal.

Alți pili sunt manozo-rezistenți și nu se leagă de celula gazdă în același locus cu D-manoză.

Tipul 2 de pili sunt importanți factori de virulență, ajutând microorganismele să determine afecțiuni în afara zonei lor normale de acțiune.

Există câteva tipuri de fimbrii, printre care amintim pilii P, adezinele X, ambele fiind asociate cu E.coli uropatogene, și BFP („bundle-forming pili”), care participă la atașarea de celula gazdă a unei tulpini patogene de E.coli.

2. Invaziile sunt proteine care acționează local distrugând sau invadând celula gazdă și/sau facilitând creșterea și răspândirea agentului patogen. Yersinia enterocolitica posedă o astfel de proteină de suprafață, numită invazină.

3. Toxinele produse de unele Enterobacterii se împart în două categorii: exotoxine și endotoxine.

Exotoxinele sunt, după cum urmează:

- toxina Shiga (Shigella), codificată cromozomial, inhibă sinteza de proteine în celula gazdă ducând la moartea acesteia;

- toxina Shiga-like (Shigella și unele tulpini de E. coli), codificată bacteriofagic, are același mecanism ca și toxina Shiga;

- toxina LT – termic labilă (E.coli), codificată plasmidic, are efect similar cu exotoxina vibriunii holerice, determinând o secreție crescută de Cl⁻, Na⁺, H₂O;

- toxina ST – termic stabilă (ETEC), peptidă codificată plasmidic, este analogă unei proteine hormonale (guanylina) legându-se de același receptor ca aceasta (Guanylate ciclaza C), determinând secreție de Cl⁻;

- alfa-hamolizinele, sunt citotoxine (E.coli);

- beta-hamolizinele, legate de celulă, inhibă fagocitoza și chemotaxia leucocitelor.

Endotoxinele (antigenul O) sunt de natură lipopolizaharidică. Sunt responsabile de instalarea:

- febrei,
- activării căii alternative a sistemului complement (C3a, C5a),
- efectelor asupra sistemului circulator; leucopenia, vasodilatația, scăderea circulației periferice, microhemoragii, peteșii, hipotensiune,
- efectelor de coagulare sangvină (CID, tromboze, trombocitopenie),
- afectării metabolismului și a funcțiilor hepatice,
- scăderii sideremiei,
- hipoglicemiei,
- citotoxicității,
- necrozei de organ
- șocului endotoxic.

4. Achiziția de fier. În organismul uman fierul nu se găsește liber, în formă nelegată. Gazda umană produce o serie de proteine cu afinitate mare de legare a fierului, acestea găsindu-se în țesuturi și pe suprafața mucoaselor (transferina, lactoferina, feritine, mioglobina și hemoglobina). Acest mecanism de legare a fierului reprezintă și o cale de control a creșterii bacteriene. Enterobacteriile, având nevoie de fier pentru creștere și dezvoltare, au mai multe mecanisme de a-l acapara, cele mai importante dintre acestea fiind:

- capturarea fierului de la transferină/lactoferină;
- folosirea Hem-ului rezultat în urma distrucției tisulare
- producerea de siderofori speciali (enterobactin, aerobactin) care acționează competitiv cu proteinele de legare a fierului. Acești siderofori chelează fierul, formând complexul siderofor-fier care este apoi transportat în celula bacteriană prin receptori specifici din membrana externă. Acești transportori servesc, de asemenea, ca receptori pentru bacteriofagi și loc de legare pentru colicin.

5. Structurile capsulare. Principala funcție a capsulei este să apere microorganismul de fagocitoză. Dintre structurile capsulare amintim:

- antigenul K la E.coli, de natură proteică, cu rol în colonizare, diminuează opsonizarea și fagocitoza. Antigenul K1, este similar structurilor self, slab imunogen. Capsula de tip K1 a E.coli previne activarea căii alternative a sistemului complement.

- antigenul K la Klebsiella este un antigen capsular.
- antigenul Vi la Salmonella typhi.

6. Plasmidele codifică rezistența la antibiotice și caracterele de virulență ale enterobacteriilor.

7. Antioxidanții sunt compuși care protejează microorganismul de distrugerile ce pot apare în prezența radicalilor liberi de oxigen.

Este important de reținut că o enterobacterie patogenă poate să nu prezinte toți factorii de virulență.

GENUL ESCHERICHIA-SHIGELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Pe baza datelor obținute în urma studiilor de hibridare ADN-ADN și a caracteristicilor fenotipice speciile de Escherichia și Shigella sunt cuprinse într-un singur gen care poartă încă ambele denumiri: genul Escherichia-Shigella.

În continuare, din considerente practice cele două genuri vor fi prezentate separat.

GENUL ESCHERICHIA

Genul Escherichia reunește specii prezente în intestinul uman evidențiate pentru prima dată în 1885 de germanul Theodor Escherich în onoarea căruia s-a dat numele genului. Au fost considerate bacterii comensale ale intestinului gros până în 1935 când s-a demonstrat rolul etiologic jucat de o tulpină de Escherichia coli implicată într-un episod de diaree la nou-născuți.

Genul Escherichia grupează 5 specii:

- E. coli cu 2 biovaruri: normal și inactiv;
- E. blattae;
- E. fergusonii;
- E. hermanii;
- E. vulneris.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Habitatul natural al E. coli este tractul gastrointestinal al animalelor cu sânge cald și al oamenilor. În intestinul omului E. coli reprezintă flora dominantă a intestinului gros având un rol important în menținerea unei fiziologii normale a acestuia și în sinteza unor proteine din grupul B și K. Eliminat în mediul extern cu materiile fecale contaminează apa, solul, alimentele etc.

Prezența constantă a tulpinilor de E.coli în intestinul uman și animal și în materiile fecale au făcut din această bacterie indicatorul de poluare fecală a mediului, în special a apei.

Caractere morfotinctoriale

Escherichia coli este un bacil Gram negativ care prezintă uneori forme filamentoase. Majoritatea speciilor prezintă cili peritrichi și sunt necapsulate. Există însă tulpini de Escherichia coli imobile, unele prezentând capsulă.

Caractere de cultură

E.coli este un germen bine adaptat mediului său de viață. Nu este pretențios. Crește pe medii simple în care glucoza este singurul constituent organic. Este un germen aerob, facultativ anaerob care poate avea deopotrivă metabolism fermentativ sau respirator. Pe medii solide crește sub formă de colonii de tip „S” iar în mediul lichid determină tulburare uniformă și inel aderent pe peretele tubului.

Caractere biochimice și de metabolism

E. coli fermentează glucoza și alți carbohidrați cu producere de acid și gaz. Majoritatea tulpinilor sunt oxidază negative, sunt capabile să reducă nitriții în nitrați.

Nu produc urează, nu descompun proteinele cu formare de H_2S , nu folosesc citratul ca unică sursă de carbon. Descompun lactoza cu eliberare de acid, descompun proteinele cu formare de indol, dau reacția roșu-metil pozitivă.

Unele tulpini, de obicei cele implicate în infecții urinare, determină hemoliză beta pe geloza sânge.

Tulpinile de *Escherichia coli* care posedă plasmidul „col” eliberează colicine, substanțe toxice pentru alte tulpini bacteriene.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Este o bacterie rezistentă în mediul extern. Este distrusă de antisepticele și dezinfectantele uzuale precum și de coloranți ca verde de malachit, cristal violet.

Are o capacitate deosebită de adaptare la modificările de mediu cum ar fi prezența unor minerale, modificări de pH, temperatură, osmolaritate.

Poate sesiza prezența sau absența unor substanțe chimice sau gaze în mediul său de viață și, cu ajutorul cililor, se poate apropia sau îndepărta de acestea.

Poate de asemenea să devină imobilă și să producă fimbrii de adeziune care să-i permită aderarea de substratul specific.

Ca răspuns la modificările de temperatură sau osmolaritate își modifică dimensiunea porilor prin modificări ale porinelor constitutive ale membranei externe. Astfel își poate mări dimensiunea porilor pentru a acumula moleculele mari de nutrienți sau pentru a elimina substanțele inhibitoare.

Posedă un mecanism complex de reglare a metabolismului celulei bacteriene care îi permite să-și asigure o viață ușoară: sintetizează doar acele enzime necesare utilizării compușilor din mediu. Va opri sinteza enzimelor necesare obținerii unor metaboliți atunci când aceștia sunt prezenți în mediu de unde îi poate folosi ca atare.

Este un microorganism care dezvoltă rezistență față de substanțele antibacteriene prin elaborarea de enzime care hidrolizează betalactaminele (penicilinaze, cefalosporinaze) sau prin mutații care afectează porinele devenind astfel rezistente față de aminoizide.

Structura antigenică

Tulpinile de *Escherichia coli* posedă următoarele structuri antigenice:

- antigenul „O” sau antigenul somatic. Este antigenul cu specificitate de grup care corespunde poliozidelor fixate pe lipopolizaharidele peretelui bacterian. Este termostabil și acido-alcool-rezistent. Prin reacții de aglutinare au fost identificate 180 de serogrupe antigenice „O”. Multe serogrupe „O” ale tulpinilor de *Escherichia coli* prezintă reacții încrucișate cu antigene ale unor tulpini de *Klebsiella*, *Salmonella*, *Providencia*, *Vibrio*; iar altele sunt comune cu grupul *Shigella*.

- antigenul „H” sau antigenul flagelar. Prezent doar la tulpinile ciliate, este format dintr-o proteină specifică numită flagelină. Are specificitate de tip, este termolabil și este inactivat de alcool. Prin reacții de aglutinare au fost evidențiate, greu, 56 de serotipuri „H”:

- antigenul „K” sau antigenul capsular. Este de natură polizaharidică, are specificitate de tip, a fost identificat la tulpini uropatogene de Escherichia coli și la tulpini implicate în cazuri de meningită neo-natală (antigen K-1). Determină O-inaglutinabilitatea tulpinilor care-l posedă. Se cunosc 103 antigene K.

- Antigenul B, cu diferitele sale variante, este un antigen de suprafață.

- Antigenele de aderență (adezine, pili, fimbrii), de natură proteică.

Pe baza antigenelor O, H și K au fost identificate peste 700 de serotipuri de E.coli. Serotipia este utilă în identificarea acelor tulpini implicate în procese patologice umane.

Caractere de patogenitate

În cadrul speciei se disting numeroase variante care exprimă caractere de patogenitate, variante numite patovaruri, patotipuri. Escherichia coli este patogenă prin virulență și/sau toxigenitate. Determinanții de patogenitate sunt variați (tabel XIV). În funcție de determinanții de patogenitate pe care îi au tulpinile de Escherichia coli pot cauza diferite afecțiuni.

Tulpinile uropatogene de Escherichia coli posedă următorii factori de patogenitate:

- fimbriile P sau PAP
- fimbrii tip 1
- siderofori
- hemolizine alfa și beta
- antigenul K

Tulpinile de Escherichia coli implicate în cazuri de meningită neonatală sunt patologice prin:

- antigenul capsular K-1
- siderofori
- endotoxină

Factorii de patogenitate ai tulpinilor diareigene de Escherichia coli au fost exemplificați în tabelul XV.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Enterobacteriile din Genul Escherichia sunt, în marea majoritate, saprofite sau condiționat patologice. Cu toate acestea există patotipuri (fenotipuri patologice) de Escherichia coli implicate în patologia umană:

- patotipuri diareigene
- patotipuri uropatogene
- alte patotipuri

Membrii acestui gen pot determina infecții intestinale și extraintestinale.

Infecții intestinale

Infecțiile intestinale, sau enterocolitele infecțioase, sunt determinate de cele cinci patotipuri diareigene recunoscute, fiecare având subgrupe serologice și determinând manifestări clinice distincte:

- ETEC (enterotoxigenic Escherichia coli);
- EPEC (enteropathogenic Escherichia coli);
- EHEC (enterohaemorrhagic Escherichia coli);
- EIEC (enteroinvasive Escherichia coli);
- EAaggEC (enteroaggregative Escherichia coli).

Tulpinile **ETEC** afectează toate categoriile de vârstă deși reprezintă etiologia majoră a diareei copiilor și turiștilor în țările cu sanitație deficitară, numită și „diareea turiștilor”. Sursa de infecție este reprezentată de om și animal iar calea de transmitere o reprezintă alimentele și apa contaminate. Odată pătrunsă pe cale orală, ETEC colonizează intestinul subțire și elaborează o serie de enterotoxine care determină creșterea secreției de apă și electroliți în lumenul intestinal (toxina TL) și inhibarea absorbției de lichid intestinal (toxina TS). După o incubatie de 24-72 de ore se instalează simptomele: diaree apoasă fără febră, colici abdominale, grețuri, vărsături. Tulpinile ETEC aparțin serogrupelor O 6, 8, 15, 20, 25, 63, 78, 80, 85, 115, 128, 139.

Tulpinile **EPEC** induc o diaree apoasă asemănătoare cu cea din infecțiile cu ETEC afectând cu precădere copiii. EPEC nu produce enterotoxine TL sau TS ci doar cantități mici de toxină Shiga-like cu efect enterotoxic și citotoxic. Prin intermediul adezinelor Bfp se leagă de epiteliul intestinal la nivelul colonului determinând distrugerea microvilozităților cu răspuns inflamator, fără semne de invazie. Ca urmare se instalează malabsorbția, diareea apoasă, persistentă acompaniată de febră și vărsături. Tulpinile EPEC aparțin serogrupelor O 26, 55, 86, 111, 119, 125, 126, 127, 128, 142.

Tulpinile **EAaggEC** au capacitatea de a adera agregativ de celulele mucoasei intestinale cauzând diaree fără fenomene invazive sau inflamatorii. Este patogenă prin fimbrii de adeziune, enterotoxina agregativă codificată plasmidic și prin hemolizina asemănătoare celei sintetizate de tulpinile uropatogene. Tulpinile de Escherichia coli enteroagregative sunt asociate cu diareea apoasă, persistentă instalată la copii mici.

Tulpinile **EIEC** aderă la celulele epiteliale ale colonului cu ajutorul unor adezine non-fimbriale. Sunt patogene prin invazivitate: penetrează și se multiplică în interiorul enterocitului pe care îl distrug. Nu produc enterotoxină. Sunt apropiate din punct de vedere biochimic și antigenic de Shigella. Afectează adulții și copiii care vor prezenta colici abdominale, febră, scaune diareice muco-sanguinolente asemănătoare celor din dizenterie. Tulpinile EIEC aparțin serogrupelor O 28, 112, 124, 136, 143, 144, 147, 152.

Tulpinile **EHEC** sunt reprezentate în principal de serotipul O₁₅₇H₇, ca și de tulpini aparținând serotipurilor O₂₆ și O₁₁₁. Aceste tulpini au fost recent recunoscute ca agenți etiologici ai sindromului hemolitic și uremic asociat consumului de ???

Prin intermediul intiminei aderă de celulele epiteliului colonului. Aceste tulpini sunt moderat invazive patogenitatea lor fiind datorată în principal producerii unei toxine „Shiga-like” numită și vero-toxină a cărei sinteză este stimulată de deficiența de fier. Toxina este responsabilă de răspunsul inflamator local intens produs de tulpinile EHEC și de anemia hemolitică, trombocitopenia și insuficiența renală acută determinate de lezarea endoteliului capilarelor. Scaunele diareice cu puțin lichid, mult sânge și mucus conținând polimorfonucleare sunt însoțite de febră, grețuri, vărsături și colici abdominale.

Tabel XIV. E.coli: determinanți de patogenitate

Determinanți de patogenitate		Observații
clasa	determinantul	
Adezine	CFA I / CFA II	*pili cu afinitate pentru receptorii specifici de pe suprafața intestinului subțire; *prezenți la ETEC
	intimina (adezină non-fimbrială)	*proteină a membranei externe *asigură aderarea EPEC și EHEC de membrana enterocitului
	fimbrii P (PAP – pyelonephritis-associated pili)	*sunt fimbrii de tip 2; *asigură aderarea la celulele epitelului urinar; *se leagă de antigenul P al hematiilor; *sunt prezente la UPEC;
	fimbrii tip 1	*asigură aderarea la uroepiteliu; *rol în agregarea E.coli de manosil-glicoproteina prezentă în urină; *prezente la UPEC;
	Bfp (bundle-forming pili)	*pili de tip 2, polari; *interconectează bacteriile între ele în microcolonii asigurând stabilitatea acestora la nivelul respectiv; *cresc eficiența formării leziunilor în urma efectului de aderare-distruge a enterocitelor; *prezente la EPEC;
	fimbriile K88 și K99	*pili de tip 1 *asigură aderarea ETEC la celulele enterale.
Invazine	hemolizine	*proteine citotoxice ce se inseră în membrana celulei gazdă (pori) cauzând moartea acesteia; *lizează eritrocitele, limfocitele, inhibă fagocitoza și chemotaxia neutrofilelor
	siderofori	*rol în achiziția de fier necesar replicării bacteriei;
	invazine „Shigella-like”	
Mobilitate/chemotaxie	flagelii	
Toxine	toxina TL	*termic labilă; citotoxică; *acțiune similară toxinei holerice: secreție crescută de apă și electroliți în lumenul intestinal; *produsă de ETEC, codificată plasmidic;
	toxina TS	*termic stabilă; citotoxică; *determină secreție crescută de Cl ⁻ în lumenul intestinal; *produsă de ETEC; codificată plasmidic;
	toxina „Shiga-like” (VERO-toxina)	* bacteriofag codificată *efect similar cu toxina Shiga: inhibă sinteza de proteine în celula gazdă care moare; *produsă de EHEC;
	EAST	* toxina enteroagregativă stabilă termic; *elaborată de EAggEC, induce secreția de Cl ⁻ în intestin
	endotoxina	*comună tuturor enterobacteriilor;
	Factori cu rol antifagocitar	capsula antigenul K; LPS;
Factori protectori la reacția bactericidă a serului	LPS antigenul K	organite de natură proteică sau lipopolizaharide care asigură colonizarea, împiedică legarea anticorpilor sau complementului de corpul bacterian, împiedică fagocitoza;
Factori protectori față de răspunsul imun	capsula; antigenul K; LPS; variația antigenică;	
Factori genetici ai patogenității	schimb de material genetic prin transducție și conjugare; plasmide pentru factorii de virulență și producerea toxinelor; plasmidul R;	

Legendă: CFA – colonization factor antigen; EPEC – enteropatogen E.coli; EHEC – enterohemoragic E.coli; ETEC – enterotoxigen E.coli; UPEC – uropatogen E.coli; LPS- lipopolizaharide

Tabel XV. E.coli diareigen: factori de patogenitate

Patotipul diareigen	Factor de patogenitate		Simptome
ETEC	fimbrii de adeziune	*codificate plasmidic *specificitate de specie -K88 – porc -K99 – vițel, miel -CFA I / CFAll - om	*copii *adulti *diareea călătorilor *fără inflamație *fără febră
	enterotoxine	*codificate plasmidic *TL (cholera-like); *TS	
	nu au caracter invaziv		
EPEC	adezină non-fimbrială	intimină	*copii *diaree apoasă
	enterotoxină	similară cu cea produsă de Shigella (Shiga-like)	*fenomene inflamatorii reduse
	moderat invazivă		*fără febră
EAggEC	enterotoxina	EAST (enteroagregative heat-stable toxin)	*copii mici
	hemolizina	asemănătoare ce cea produsă de UPEC	*diaree apoasă, persistentă
	fimbrii GVVPQ	asigură aderența agregativă de celulele epiteliale ale intestinului subțire, inhibând absorbția apei din lumenul intestinal.	*fără inflamație *fără febră
	nu au caracter invaziv		
EIEC	adezine non-fimbriale	probabil proteină a membranei externe	*diaree muco-sanguinolentă
	au caracter invaziv		*inflamație severă *febră
EHEC	adezine		*copii
	toxina	VERO-toxină (Shiga-toxină)	*colită
	moderat invazivă		hemoragică *răspuns inflamator intens *uremie hemolitica

Infecții extraintestinale

- infecții urinare

Tulpinile uropatogene de Escherichia coli (UPEC) sunt responsabile de 90% din infecțiile tractului urinar. Sunt afectate cu precădere femeile tinere, active sexual, colonizate inițial în intestin cu tulpini UPEC. Tulpinile uropatogene aparțin serotipurilor O 1,2,4,6,7,16,18,75 și serotipurilor K 1,2,3,12,13 care posedă adezine ce permit aderența de epiteliul urinar.

- infecții intra-abdominale

Escherichia coli este responsabilă de supurații peritoneale, biliare, apendiculare, genitale. Tulpinile respective au proprietăți antifagocitare, au acțiune citotoxică asupra polinuclearelor și posedă sisteme de captare a fierului.

- bacteriemie

Este cauzată de tulpini de Escherichia coli cu mare capacitate invazivă. Aceste tulpini posedă siderofori, citotoxine, capsulă și lipopolizaharide care asigură protecția față de acțiunea bactericidă a serului.

- șoc endotoxinic

Apare în urma distrugerii masive de celule de Escherichia coli eliberându-se brusc o cantitate mare de endotoxină ceea ce determină sindromul de răspuns inflamator sistemic provocat de eliberarea masivă de interleukină-1 și factor de necroză tisulară (TNF). Pacientul prezintă febră, hemoragii, colaps circulator.

- meningita neonatală

Este cauzată de tulpini de Escherichia coli care sintetizează antigenul capsular K-1, tulpini care din naso-faringe sau din tractul intestinal ajung în torrentul sanguin și pe această cale la meninge.

- infecții nosocomiale

Apar datorită răspândirii infecției de către personalul medical sau prin instrumentarul medical la pacienți care prezintă factori predispozanți: diabet, traumatisme, boli pulmonare cronice etc.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este bacteriologic și se bazează pe identificarea tulpinilor de Escherichia coli în variate produsele patologice: sânge, urină, materii fecale, bilă, puroi, exsudate, lichid cefalo-rahidian, alimente, vărsături, probe de organe recoltate de la cadavru.

Diagnosticul de laborator presupune cultivarea pe medii pentru enterobacterii. Identificarea pe baza caracterelor biochimice se completează cu serotipia pentru tulpinile EPEC și EHEC.

În ser, lichid cefalo-rahidian sau urină poate fi identificat antigenul K-1 prin reacții de latexaglutinare realizându-se astfel un diagnostic rapid mai ales la nou-născut sau sugar. Există însă posibilitatea unor reacții încrucișate cu antigenul de grup B al meningococului.

Se pot evidenția de asemenea adezinele datorită capacității lor de a aglutina hematiile umane sau animale.

Efectul citotoxic al verotoxinei produse de E. coli O₁₅₇:H₇ se studiază pe culturi monostrat Vero, verotoxina ducând, după intrarea ei în celule, la rotunjirea și separarea celulelor între ele.

Procedeele ELISA se pot folosi pentru detectarea unei proteine de pe membrana exterioară a celulelor EIEC (antigen marker pentru virulență), dar și la evidențierea altor serotipuri de E. coli prin detectarea antigenelor specifice de grup, de tip și a exotoxinelor.

Capacitatea invazivă a tulpinilor EIEC este studiată prin testul Sereny pe cobai sau pe culturi de celule HeLa.

Materiile fecale mai pot fi examinate și prin imunofluorescență.

Prin reacții de hibridizare și PCR se pot identifica diferite tulpini de E. coli.

TRATAMENT

Tratamentul infecțiilor cu *Escherichia coli* se face în raport cu localizarea infecțiilor și în conformitate cu rezultatele antibiogramei.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este omul și animalul suportul material al transmiterii fiind reprezentat de apă, alimente, obiectele de spital, jucării, muște etc.

Poarta de intrare este variată (tract digestiv, respirator, urinar, genital etc. determinând și tipul de infecție care se instalează.

Profilaxia infecțiilor cu *Escherichia coli* presupune respectarea igienei colective, personale, alimentare.

GENUL SHIGELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Shigella*, numit astfel după microbiologul japonez Shiga care a descoperit aceste bacterii acum 100 de ani, reunește patru specii:

- *Shigella dysenteriae* (Grup A)
- *Shigella flexneri* (Grup B)
- *Shigella boydii* (Grup C)
- *Shigella sonnei* (Grup D)

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germenii din grupul *Shigella* sunt bacterii strict adaptate omului, întotdeauna patogene. Sunt întâlnite în intestinul și materiile fecale ale bolnavilor, convalescenților precum și la purtătorii aparent sănătoși. Singurele animale care pot fi gazde accidentale sunt primatele captive care vin în contact cu oamenii.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram negativi, neciliați, necapsulați și nesporulați.

Caractere de cultură

Sunt bacterii aerobe, facultativ anaerobe care se dezvoltă bine la 37°C pe medii slab și moderat selective și diferențiale (Istrati – Meitert, ADCL). Formează colonii S, lactozo-negative, transparente.

Caractere biochimice și de metabolism

Ca toate enterobacteriile reduce nitrații la nitriți, sunt oxidazo-negative, fermentează glucoza, dar fără producere de gaz. Nu produc indol, excepția fiind

Shigella flexneri care este indol pozitivă. Speciile Shigella nu formează hidrogen sulfurat, nu descompune lactoza, nu metabolizează urea și nu folosesc citratul ca unică sursă de carbon. Sunt germeni imobili care fermentează doar câțiva carbohidrați și numai câteva tulpini decarboxilează ornitina. După prezența sau absența fermentației manitei, shigelele pot fi împărțite în două mari subgrupe biochimice:

- Grupul manito-pozitiv (grupele B,C,D);
- Grupul manito-negativ (grupul A, Sh. dysenteriae).

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Speciile din genul Shigella rezistă în praf uscat (10 zile), în ape la 7-10°C (9 zile), pe lenjerie (două săptămâni), în alimente 1-2 săptămâni, în gheață 2 luni. Sunt inactivate în 10 minute la 50-60°C. Sunt germeni sensibili la antagonismul microbial și la bacteriofagi specifici.

Structura antigenică

Antigenul somatic O stă la baza împărțirii în patru grupe antigenice și subdiviziunii acestora în serotipuri:

- Grupul A: Shigella dysenteriae (12 serotipuri)
- Grupul B: Shigella flexneri (6+2 serotipuri)
- Grupul C: Shigella boydii (18 serotipuri)
- Grupul D: Shigella sonnei (1 serotip care prezintă două faze antigenice

S și R).

Unele tulpini posedă capsulă (antigenul K). Acest antigen nu este utilizat în tipizarea serologică a genului Shigella, dar pot interfera cu determinarea antigenului somatic O (inaglutinabilitate – O).

Alte antigene ale tulpinilor Shigella sunt:

- Exotoxina termolabilă exprimată de Shigella dysenteriae serotip 1
- ShET 1 și ShET 2;
- Invasiion Plasmid Antigens (Ipa);
- Proteina InterCellular Spread (Ics);

Răspuns imun

Rolul protectiv al răspunsului imun al organismului împotriva antigenelor descrise este neclar. În general este neprotectiv; totuși unele studii controlate pe voluntari adulți au arătat că o infecție anterioară cu Shigella flexneri protejează împotriva reinfecției cu serotipul omolog (cu o eficacitate de 70%).

După administrare de vaccin Shigella dysenteriae, imunoglobulinele de tip A vor reacționa cu tulpina omologă, imunitatea în dizenterie având un caracter predominant local, la nivelul colonului, cu o durată de 6-12 luni.

Caractere de patogenitate

Virulența Shigellei constă exclusiv în multiplicarea ei în epiteliul colonului gazdei umane. Factorii de virulență sunt codificați plasmidic și au funcții identice la toate speciile Shigella (tabel XVI).

PATOGENIE. BOALA LA OM

Mecanismul patogenic al shigelozei este complex, implicând: prodromul diareic enterotoxic și / sau citotoxic; inflamația colonului mediată de citokine;

necroza epiteliului colonului. Shigeloza este o boală diareică acută care apare ca urmare a infecției pe cale orală cu *Shigela* spp.

Microorganismul ingerat de celulele M din plăcile Peyer, străbate aceste celule, este depozitat în spațiul subepitelial unde este fagocitat de macrofage. Fagozomii macrofagelor sunt apoi degradați și Shigelele intracelulare induc eliberarea de interleukină-1 care determină un aflux al leucocitelor polimorfonucleare. În urma apoptozei macrofagelor infectate bacteriile vor fi eliberate spre suprafața bazolaterală a enterocitelor adiacente. Bacteriile infectează enterocitele prin endocitoză iar apoi vacuolele endocitice vor fi degradate. Shigelele intracelulare se atașează de actina complexului jonțional enterocitic, se multiplică și se răspândește în enterocitele învecinate prin inducerea polimerizării actinei. Astfel filamentele de actină propulsează bacteria din citoplasmă în celula epitelială adiacentă, evitând efectiv imunitatea umorală mediată prin anticorpi. În final enterocitele infectate mor, rezultând necroza epiteliului care împreună cu răspunsul inflamator constituie leziunile shigelozei.

În cazul infecției cu *Shigella dysenteriae* 1 avem în vedere efectele exotoxinei (toxina Shiga), acestea fiind de trei tipuri: neurotoxic, citotoxic și enterotoxic.

- Efectul enterotoxic constă în aderarea toxinei Shiga de receptorii intestinului subțire și blocarea absorbției electroliților, glucozei și aminoacizilor din lumenul intestinal.

- Efectul citotoxic constă în inhibarea sintezei proteinelor, cauză a morții celulare, leziunilor microvasculare a intestinului și a hemoragiei locale. Astfel se explică apariția abceselor parietale în ileonul terminal, apoi a necrozei, ulcerăției și hemoragiei.

- Efectul neurotoxic are ca semne febra și crampele abdominale.

Shigeloza este o boală diareică acută, cu evoluție autolimitantă datorită capacității regenerative a epiteliului intestinal. Apare după 2-5 zile de la ingestia a 100-1000 de bacterii. Debutul este brusc cu febră, diaree apoasă, colici abdominale intense. În perioada de stare pacientul are 30-40 scaune nefecaloide, cu mucus, puroi și sânge. În urma acestora poate să apară deshidratarea. Tenesmele rectale, starea generală alterată sunt de asemenea simptome importante ale dizenteriei.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este bacteriologic. Produsele patologice sunt materiile fecale emise spontan sau recoltate cu sonda Nelaton de la pacienți în perioada de stare a bolii și în convalescență. Transportul produsului patologic de face în mediul Cary-Blair iar însămânțarea este recomandat să se efectueze cât mai curând după recoltare.

Tabel XVI. *Shigella* spp.: factori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
Invasion Plasmid Antigens B și C (Ipa B și C)	*se pot evidenția în serul pacienților covalenți; *face posibil contactul cu celulele M ale gazdei; Ipa B mediază liza vacuolelor endocitozei în celulele epiteliale sau în macrofage; Ipa C cauzează eliberarea de citokine (IL-1) și apoptoza macrofagelor;
InterCellular Spread A și B (Ics B și C)	* proteină secretată de polii a două celule fiice de <i>Shigella</i> , atunci când are loc multiplicarea microorganismului în citoplasma celulei infectate; *Ics A determină polimerizarea filamentelor de actină cu formarea cozii de actină ce asigură împingerea <i>Shigellei</i> în membrana plasmatică a celulei gazdă. Protruzia rezultată deformează membrana plasmatică a celulei învecinate; *Ics B lizează membrana plasmatică asigurând răspândirea bacteriană intercelulară
Toxina Shiga	*este exprimată de <i>Shigella dysenteriae</i> tip 1; * citotoxină care inhibă sinteza proteinelor în celula M; *are efect enterotoxic doar pe ansa intestinală (de iepure) ligaturată; *cauzează distrucție capilară și hemoragie focală care exacerbează dizenteria; *este asociată cu sindromul uremico-hemoragic;
Enterotoxina ShET 1	*este codificată cromozomial *se întâlnește în serul convalescenților sau al voluntarilor infectați cu <i>S. flexneri</i> 2a;
Enterotoxina ShET 2	*codificată plasmidic *se întâlnește la 80% din tulpinile de <i>Shigella</i> ;

Prima izolare se face pe medii slab sau moderat selective și diferențiale (Istrati-Meiert, ADCL) care se incubează la 37°C, 18-24 de ore. Coloniile transparente, lactozo-negative, sunt însămânțate pe mediile diferențiale TSI, MIU, Simmons pentru identificarea biochimică prezumptivă a tulpinii izolate. Confirmarea se realizează prin teste de aglutinare cu seruri specifice de grup și de tip.

Unele biotipuri de *E. coli* ale florei normale intestinale sunt foarte asemănătoare *Shigella* spp. (sunt imobile, lactozo-negative), diagnosticul diferențial realizându-se prin abilitatea shigelei de a decarboxila lizina.

Metodele rapide de identificare a speciilor de *Shigella* sunt reacțiile de hibridizare și PCR. Prin ELISA, folosind seruri cu anticorpi monoclonali, se pot identifica proteinele Ipa. Aceste tehnici experimentale de diagnostic sunt importante pentru studiul epidemiologic al infecțiilor entero-invazive, dar sunt mult prea greu de realizat ca examen de rutină în laboratoarele clinice.

TRATAMENT

Fiind o boală autolimitantă, tratamentul antibiotic al dizenteriei este necesar în cazurile severe de boală, la pacienții vârstnici și la copii. Tratamentul antibiotic se va face conform antibiogramei, reducându-se durata bolii de la aproximativ 5-7 zile până la aproximativ 3 zile și perioada excreției de *Shigella* în covalență.

EPIDEMIOLOGIE . PREVENIRE. CONTROL

Omul reprezintă rezervorul de *Shigella* spp., primarele captive putând fi gazde doar accidental. Bacteria este eliminată în mediul extern prin materiile fecale ale indivizilor infectați contaminând apa, alimentele, solul. Muștele pot contribui la răspândirea agentului patogen din materiile fecale pe alimente. Transmiterea este directă, fecal-orală. Poarta de intrare este tractul digestiv, prin consum de apă, alimente contaminate, prin înot în ape contaminate. Speciile cel mai frecvent întâlnite sunt *S. dysenteriae* și *S. flexneri*, fiind și cele mai virulente. Ca și în alte infecții intestinale, metodele cele mai eficiente pentru controlul dizenteriei bacilare sunt controlul și siguranța rezervelor de apă, controlul standardizat al sanitației generale, igiena alimentară, comunitară și personală.

Profilaxia specifică constă în administrarea orală a vaccinului dizenteric viu „Vadizen”, constituit dintr-o suspensie de bacili *S. flexneri* 2a (varianta apatogenă – T32), imunitatea durând 6-12 luni.

GENUL SALMONELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Salmonella* aparține familiei Enterobacteriaceae și cuprinde o singură specie *Salmonella enterica*. Această specie cuprinde peste 2300 serotipuri diferențiate pe baza antigenelor somatice O și flagelare H. Subspeciile acestea sunt

- *Salmonella enterica* (subsp. I)
- *Salmonella salamae* (subsp. II)
- *Salmonella arizonae* (subsp. IIIa)
- *Salmonella diarizonae* (subsp. IIIb)
- *Salmonella houtenae* (subsp. IV)
- *Salmonella bongori* (subsp. V)
- *Salmonella indica* (subsp. VI)

Aceste subspecii sunt la rândul lor divizate în serovaruri (exemple *Salmonella* serovar Typhimurium, *Salmonella* serovar Enteritidis, *Salmonella* serovar Typhi, *Salmonella* serovar Paratyphi, *Salmonella* serovar Cholerae suis etc.).

CARACTERE GENERALE

Habitat

Principalul habitat al salmonelilor este tractul intestinal al oamenilor și animalelor.

Toate serovarurile de *Salmonella enterica* subspecia *enterica* sunt parazite pentru om și mamifere, în timp ce celelalte subspecii se întâlnesc preponderent la păsări și animale cu sânge rece. Cele două surse majore, omul și animalele, vor determina poluarea solului, apelor reziduale, apelor de suprafață în care pot

supraviețui de la câteva luni până la câțiva ani de zile, dacă condițiile de temperatură, umiditate și pH sunt favorabile. În mediul înconjurător ele doar supraviețuiesc, multiplicarea lor nefiind semnificativă. Majoritatea serovarurilor nu au specificitate de gazdă cu excepția serovarurilor Typhi și Paratyphi cu specificitate pentru om, serovarul Abortus ovis pentru ovine, serovarul Typhisuis pentru porci, serovarul Gallinarum și serovarul Pullorum pentru păsări.

Salmonellele ubiquitare cauzează diverse simptome clinice, de la infecții asimptomatice până la sindroame typhoid-like la copii sau la animale cu înaltă susceptibilitate (șoareci). La persoanele adulte salmonellele ubiquitare sunt în marea majoritate responsabile de toxiinfecțiile alimentare.

Caractere morfotinctoriale

Salmonella spp. sunt bacili Gram – negativi, nesporulați, prezentând flageli peritrichi care asigură mobilitatea (cu excepția salmonellelor imobile S. gallinarum și S. pullorum), necapsulați.

Caractere de cultură

Salmonella, enterobacterie aerobă, facultativ anaerobă, poate crește foarte ușor pe majoritatea mediilor de cultură. Pe mediile selective și diferențiale care conțin săruri biliare determină colonii lactozo – negative de tip S. Producerea de H₂S, evidențiată prin apariția unei pete de culoare neagră în centrul coloniilor, face ca acestea să se numească colonii „în ochi de pisică”. Pe mediul Wilson – Blair formează colonii opace, rugoase, cu margini neregulate, negre, cu luciu metalic. Mediile de îmbogățire pentru Salmonella sunt mediile selenit azid de sodiu și bulion Müller - Kauffmann, pe acestea dezvoltându-se prompt în 24 de ore și chiar mai rapid la 40°C. După 24-48 de ore pot vira în cărămiziu culoarea mediului cu selenit cu sau fără depozit și pot duce la decolorarea mediului Müller – Kauffmann.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt bacterii lactozo – negative; prin fermentarea glucozei duc la formare de acid și gaz. S. typhi este singura specie care produce doar acid, fără gaz. Fermentează cu eliberare de acid și gaz, manitolul, maltoza și sorbitolul; nu se formează acid în mediile care conțin adonitol, sucroză, salicină și lactoză. Speciile de Salmonella nu formează indol și urează, descompun proteinele cu eliberare de H₂S și folosesc citratul ca unică sursă de carbon.

Testul cu roșu – metil este pozitiv; testul Voges – Proskauer este negativ; decarboxilează lizina și ornitina. Nu cresc pe mediul cu cianuri de potasiu, nu hidrolizează gelatina și nu dezaminează fenilalanina și triptofanul.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Salmonellele sunt germeni rezistenți; în solul pășunilor pot supraviețui până la 200 de zile, în apă câteva luni. În alimente supraviețuiesc între 10 și 180 de zile, în pulberile de ouă 4 ani. Sunt sensibile la căldură fiind distruse în 5 minute la 100°C; dezinfectantele le distrug în 30-120 de minute. Sunt sensibile la acțiunea cloramfenicolului, streptominei, tetraciclinei, ampicilinei etc. și a bacteriofagilor specifici. Din ce în ce mai frecvent se identifică tulpini care prezintă plurirezistență la antibiotice, acestea fiind implicate în infecțiile nozocomiale.

Structură antigenică

Structura antigenică a salmonelelor permite definirea a peste 2300 de serotipuri. Ca toate enterobacteriile, genul *Salmonella* prezintă trei tipuri importante de antigene, antigenul somatic, cel de suprafață și antigenul flagelar, acestea având aplicații în diagnostic sau identificare.

Antigenul somatic O, alcătuit din fracțiuni antigenice, este rezistent la căldură și alcool. Prin studiile de cross-absorbție s-au individualizat 67 de structuri antigenice diferite care sunt folosite pentru identificare serologică. Antigenele O etichetate cu același număr sunt înrudite, deși nu sunt întotdeauna identice antigenic. Pot fi tipuri distincte O (exemplu O:35), sau antigene O parțiale (care prezintă un număr de antigene parțiale, exemplu O:4,5,12). Salmonelele care nu posedă secvența completă de unități repetitive a polizaharidului – O se numesc „rough” datorită coloniilor R pe care le determină. Sunt în general avirulente sau puțin virulente în comparație cu tulpinile „smooth” care posedă secvența completă de unități repetitive a polizaharidului O. De asemenea antigenul O prezintă specificitate de grup, ceea ce duce la încadrarea salmonelelor în serogrupe, notate cu litere majuscule, fiecare grupă conținând multe serovaruri.

Antigenele de suprafață (înveliș) ale unor serovaruri de *Salmonella* sunt frecvent observate și la alte genuri ale bacteriilor enterice (*E. coli* și *Klebsiella*). Antigenele de suprafață ale salmonelelor pot masca antigenul O, determinând inaglutinabilitate O în reacțiile serologice. Antigenul Vi este un antigen specific de suprafață întâlnit doar la trei serovaruri *Salmonella*: Typhi, Paratyphi C, Dublin. Este asociat virulenței și invazivității determinând leucopenie, scăderea nivelului complementului seric și capacitatea de multiplicare intrafagocitară. Reprezintă și substratul de fixare al bacteriofagilor.

Antigenele flagelare H sunt proteine labile termic situate la nivelul cililor. Se cunosc peste 50 de antigene H care pot de asemenea să fie subtipate ca antigene parțiale. Fenomenul de variație de fază se întâlnește la multe tipuri *Salmonella*, astfel putând să-și schimbe tipul de specificitate al flagelilor cu un altul. Antigenele H se pot prezenta sub una sau sub ambele forme: faza 1 și/sau faza 2. Unele serovaruri de *Salmonella enterica* (serovar Enteritidis, Typhi) produc flageli care au întotdeauna aceeași specificitate antigenică, antigen H monofazic. Totuși, majoritatea serovarurilor *Salmonella* pot produce alternativ flageli cu două specificități antigenice H diferite, antigen H difazic. Astfel serovarul Typhimurium poate produce flageli cu antigenul i sau antigenul 1,2. Unele serovaruri pot avea chiar și antigen H trifazic. Prin transducție unele tulpini au pierdut antigenul H, devenind imobile. Antigenul H este notat cu o singură cifră, o literă mică a alfabetului sau cu litera „z” urmată de un sufix.

LPS (lipopolizaharidul) bacteriilor din genul *Salmonella*, ca și la alți bacili Gram-negativi, este conținut de învelișul celular. Eliberat după liza bacteriană, funcționează ca endotoxină și poate fi important și în determinarea virulenței microorganismelor. Acest complex macromolecular endotoxinic conține trei componente:

- o pătură polizaharidică - O externă, responsabilă de specificitatea O și determinarea virulenței microorganismului;
- o porțiune mijlocie, R core, antigen comun tuturor enterobacteriilor, determină producerea de anticorpi care protejează împotriva infecțiilor provocate de bacterii Gram – negative care au o structură asemănătoare a miezului LPS sau pot modera efectul lor letal;
- o pătură internă lipidică, lipidul A.

Endotoxina, poate juca un rol important în patogeneza multor manifestări clinice: febra, activarea complementului seric, activarea kininelor, activarea sistemelor de coagulare, scăderea contractilității miocardului și alterarea funcțiilor limfocitelor. Endotoxina circulantă poate fi responsabilă, în parte, pentru multe manifestări ale șocului septic ce poate apărea în infecții sistemice.

Răspuns imun

După infecția cu *Salmonella* serovar Typhi și *Salmonella* serovar Paratyphi apar în circulație anticorpi circulanți anti-O, anti-H, anti-Vi asigurând imunitate pe viață.

După gastroenterite cu *Salmonella*, imunitatea dobândită lipsește de obicei, boala evoluând foarte rapid, nu este timp pentru apariția răspunsului imun. Pe perioada acestor afecțiuni anticorpii anti-R acționează împotriva altor infecții Gram – negative. Anticorpi secretori sau ai mucoasei tip IgA protejează intestinul împotriva salmonelilor.

Caractere de patogenitate

Patogenitatea salmonelilor este datorată factorilor de virulență. Adezinele și toxinele sunt adevărații factori de virulență ai salmonelilor (tabel XVII).

Tabel XVII. *Salmonella* spp.: factori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
Enterotoxinele	*tulpinile de <i>Salmonella</i> pot produce enterotoxinele termo-labilă (LT), termo-stabilă (ST), ale căror efecte nu au fost elucidate
Verotoxina (toxina Shiga-like)	*citotoxină implicată în invazia și distrucția tisulară; *înrudită dar distinctă de cele produse de <i>E. coli</i> spp. sau <i>Shigella</i> spp.
Antigenul Vi	*adezină produsă de trei serovaruri Typhi, Paratyphi C și Dublin; *asociată cu virulența microorganismelor;
Fimbrii	*produse de tulpini ale genului <i>Salmonella</i> .

PATOGENIE. BOALA LA OM

Infecțiile *Salmonella* la om variază în funcție de serovar, de tulpină, de doza infectantă, de natura alimentelor contaminate și de statusul imunitar al gazdei. Anumite serovaruri sunt foarte patogene pentru oameni; unele tulpini ale aceluiași serovar pot prezenta patogenitate diferită. Pacienții imunocompromiși și cei cu boli hematologice sunt mai susceptibili la infecția cu *Salmonella* decât adulții sănătoși.

Salmonelozele includ 5 sindroame:

- gastroenterite;
- febre enterice;
- septicemie;
- infecții focale;

Gastroenteritele determinate de serovaruri *Salmonella*

Salmonelozele care determină enterite se găsesc atât la om cât și la animale, salmoneloză fiind o zoonoză. Salmonelozele netifoidice pot determina enterite, infecții localizate, septicemie, mecanismele lor de patogenitate fiind următoarele:

- atașarea și supraviețuirea intracelulară datorate antigenelor de suprafață;
- invazivitatea: salmonelele penetrează mucusul, aderă și invadează enterocitele ileonului și ajung astfel și în țesutul subepitelial; microorganismele sunt internalizate în vacuole endocitice în care se multiplică;
- limitarea infecției la nivelul tractului gastro-intestinal de către polimorfonucleare; totuși microorganismele se pot răspândi pe cale hematogenă și către alte locuri din organism;
- răspunsul inflamator mediază eliberarea de prostaglandine, stimulând AMPc și activând secreția de fluid în lumenul intestinal ceea ce determină apariția scaunelor diareice;
- distrucția epitelială apare spre finalul bolii;
- efectul exotoxinelor LT, ST nu s-a identificat încă, pe când citotoxina este implicată în invazia și distrucția celulară.

Germeii pătrund pe cale digestivă și dacă sunt ingerați într-un număr mai mare de 10^5 pot declanșa boala la adultul sănătos. Aciditatea gastrică face parte din mecanismul de apărare a organismului față de aceste bacterii fiind responsabilă de distrugerea majorității germeilor ingerați. Contaminarea masivă se realizează prin ingestia alimentelor în care germeii s-au multiplicat ca într-un mediu de cultură. Contaminarea poate să mai aibă loc și de la persoană la persoană pe cale fecal-orală. Nou născuții și copii mici sunt mult mai sensibili la infecție care poate fi indusă de ingerarea unui număr mic de bacterii.

Incubația durează de la câteva ore până la o zi, microorganismele multiplicându-se în epiteliul intestinal, provoacă un sindrom inflamator intestinal cu diaree mucopurulentă și sangvinolentă. La debut diareea este însoțită de grețuri și vărsături; febra, colicile abdominale, mialgiile și cefalea sunt simptome frecvent întâlnite în perioada de stare a bolii. La nou născuți deshidratarea poate duce la o stare de toxicoză gravă.

În general este o boală benignă. În mod normal nu apare septicemia, aceasta survenind excepțional ca o complicație la persoanele imunocompromise. Sunt posibile localizări extraintestinale: meningita cu Salmonella la copii, osteite etc.

În convalescență persoanele care au fost infectate cu serovaruri non-tifoidice de Salmonella prezintă contagiozitate 3 luni de zile.

În țara noastră marea majoritate a salmonelelor care determină gastroenterite sunt reprezentate de serovarurile Typhimurium și Enteritidis.

Salmoneloze majore (febre enterale) – febra tifoidă, febrele paratifoide

Serovarurile Typhi și Paratyphi sunt agenți etiologici ai febrei enterice, patogenitatea lor fiind datorată:

- antigenelor de suprafață care joacă rol în atașarea și supraviețuirea intracelulară: antigenul Vi și variantele „smooth” și „rough” ale serovarurilor Typhi și Paratyphi;
- invazivității, microorganismele trecând prin enterocitele regiunii ileocecale și infectând sistemul limfatic regional, iar apoi pe cale sangvină infectând și alte părți ale sistemului reticulo-endotelial;
- fagocitării microorganismelor de către macrofage și monocite; în interiorul acestora salmonelele supraviețuiesc, sintetizează peste 40 de proteine ca răspuns la fagocitare, se multiplică și sunt transportate către ficat, splină și măduvă osoasă unde continuă să se replice;

- reintrării în curentul sangvin, în timpul celei de a doua săptămâni, cauzând bacteriemia și infectând tractul biliar și alte organe; endotoxemia determină creșterea și menținerea febrei;

- colonizării vezicii biliare (săptămânile 2-3 de boală) și reinfectării tractului intestinal; apar simptome diareice și posibile necroze ale plăcilor Peyer;

- endotoxina poate fi responsabilă de febra sau leziunile enterice întâlnite în febra tifoidă.

Calea de pătrundere este digestivă, transmiterea fiind realizată de la persoană la persoană. Nici un animal nu este rezervor de infecție pentru aceste serovaruri. După ingerarea a 10^3 salmonele urmează o perioadă de incubare lungă de 1-3 săptămâni timp în care microorganismele traversează mucoasa intestinală și invadează plăcile Peyer. De aici germeii trec în circulația limfatică apoi în cea sangvină determinând etapa septicemică a bolii. Tabloul de septicemie se caracterizează prin febră crescută care se poate acompania de stare generală alterată, prostație, obnubilare. Mortalitatea este crescută în aceste cazuri.

Pe lângă simptomatologia generală avem o simptomatologie digestivă la acești bolnavi reprezentată de anorexie, colici abdominale, constipație sau diaree. Simptomatologia digestivă este datorată agresiunii intestinale, hepatice și asupra vezicii biliare.

Plăcile Peyer pot să ulcereze și să ducă la perforație intestinală și peritonită.

Eliberarea endotoxinelor joacă un rol important în patogenia bolii de unde și pericolul administrării unei doze foarte mari de antibiotic prin care se riscă provocarea unei distrugerii bacteriene masive, deci eliberarea în cantitate foarte mare de lipopolizaharide ale membranei externe bacteriene, ducând la instalarea șocului endotoxic. După vindecarea bolii pacientul poate rămâne purtător biliar de germeni timp de aproximativ un an de zile.

Septicemiile apar asociate infecțiilor oricărui organ sau sistem de către serovaruri Salmonella.

Dintre infecțiile focale mai frecvente sunt artrita reactivă aseptică postenteritică și sindromul Reiter care au fost raportate după aproximativ 3 săptămâni de la debutul enteritelor cu Salmonella spp. la indivizi cu sistem de histocompatibilitate HLA B27. Artrita septică poate surveni ulterior sau o dată cu septicemia și este foarte greu de tratat. După cum am mai precizat, în cazul infecțiilor cu salmonele netifoide mai pot apare meningite (la copii), osteite etc.

Salmonella serovar Dublin provoacă infecții extraintestinale sau complicații septicemice.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este bacteriologic. În salmoneloze coprocultura este pozitivă din primele ore ale infecției. După evidențierea coloniilor lactozonegative pe mediile selective și diferențiale și după creșterea bacteriilor în mediile de îmbogățire pentru Salmonella, caracterele biochimice fac posibilă punerea diagnosticului prezumptiv, diagnosticul de certitudine realizându-se prin reacții de aglutinare cu seruri specifice polivalente și monovalente.

În febrele enterale diagnosticul de laborator se realizează din produsele patologice recoltate de la bolnavi în funcție de stadiul afecțiunii. În prima săptămână recoltăm sânge pentru hemocultură; în a doua recoltăm materii fecale și bilă, sângele fiind folosit pentru hemocultură și pentru reacții serologice; în a

treia săptămână, pe lângă cele amintite, se recoltează lichid duodenal și urină; din a patra săptămână se recoltează doar sânge pentru diagnostic serologic (reacția Widal). Hemocultura este pozitivă din prima săptămână a bolii iar coprocultura este pozitivă după câteva zile de la debutul bolii, ea putând rămâne pozitivă și în convalescență (purători biliari de salmonele tifoidice).

TRATAMENT

În enterite terapia de suport pentru prevenirea deshidratării și refacerea echilibrului electrolitic, controlul durerii, al grețurilor și vărsăturilor este de primă intenție. Se evită antibioterapia pentru a prevenii prelungirea fazei de purtători a acestor pacienți.

În formele severe sau la pacienții imunocompromiși care riscă apariția complicațiilor antibioticele sunt indicate, dintre cele mai folosite fiind ampicilina sau cotrimoxazolul. Oricum antibioterapia trebuie să fie în conformitatea cu antibiograma, unele tulpini prezentând plurirezistență la antibiotice, în aceste cazuri noile chinolone putând fi indicate.

În infecțiile nozocomiale la pacienții imunocompromiși se pot întâlni și tulpini de *Salmonella* plurirezistente la antibiotice.

În febrele enterice spitalizarea și administrarea intravenoasă de antibiotice trebuie să se realizeze cât mai repede posibil. Cloramfenicolul, ampicilina și cotrimoxazolul sunt antibioticele clasice folosite. Și în aceste cazuri florochinolonele pot fi utilizate. Rezistența la antibiotice poate surveni și la serovarurile Typhi și Paratyphi.

Purtătorii de *Salmonella* serovar Typhi în vezica biliară vor suferi intervenție chirurgicală de îndepărtare a acesteia însoțită de tratament cu ampicilină. Această cale de tratare a purtătorilor prezintă o eficacitate de 85%.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Salmonelozele fiind zoonoze, contaminarea prin alimente este modul principal de transmitere a salmonelelor non-tifoidice. Cele mai importante rezervoare animale sunt găinile, curcanii, porcii și vacile; se pot întâlni ca rezervoare și alte animale domestice și sălbatice. Datorită capacității salmonelelor de a supraviețui în ouă, pulberi de ouă, carne crudă și produse animaliere incomplet preparate termic, produsele animale reprezintă cel mai important vehicul de transmitere, toxiiinfecțiile alimentare fiind cele mai frecvente salmonelozes.

Epidemiologia febrei tifoide sau a altor febre enterice implică în primul rând răspândirea de la persoană la persoană, deoarece aceste microorganisme nu au ca rezervor semnificativ animalele. Contaminarea cu scaune umane este principala modalitate de răspândire, iar cel mai frecvent vehicul este apa contaminată. Ocazional alimentele contaminate datorită mânărilor lor de către purtători de serovar Typhi pot fi un vehicul. Amprentele plasmidice ADN și lizotipia prin bacteriofagi a salmonelelor izolate sunt puternice unelte epidemiologice în studiul cazurilor de salmoneloză și în găsirea sursei de infecție a acestora.

În febrele tifoide și salmonelozes netifoidice, mai sunt implicați alți doi factori epidemiologici importanți. Primul este reprezentat de purtătorul uman asimptomatic. Aproximativ 3% din persoanele infectate cu serovar Typhi și 0,1% a celor cu salmonele netifoidice devin purtători cronici. Starea de purtător poate să dureze de la câteva săptămâni până la un an. Deci rezervoarele de infecție

existente sunt atât umane cât și animale. Copiii devin foarte rar purtători cronici ai agenților febrei tifoide. Al doilea factor este folosirea de antibiotice în alimentația animalelor precum și folosirea lor, fără discriminare, la oameni, ceea ce duce la creșterea rezistenței la antibiotice a salmonelelor.

Salmonelozele reprezintă o problemă majoră de sănătate publică datorită numărului mare și variat de rezervoare animale, existenței purtătorilor umani și animali și lipsei unor programe internaționale de control a salmonelelor.

Salmonellele sunt greu de eradicat, datorită rezervoarelor importante de infecție reprezentate de oameni și animale. Prin reducerea purtătorilor animali se poate reduce semnificativ expunerea umană. Aceasta se poate realiza prin măsuri care includ schimbarea practicilor de tăiere a animalelor pentru a reduce contaminarea de pe carcasele acestora; protejarea de contaminare a proceselor de prelucrare a alimentelor; asigurarea unui program de învățare a practicilor igienice pentru personalul care manevrează alimentele în abatoare, fast-food-uri, cofetării, restaurante; prepararea și refrigerarea adecvată a alimentelor în restaurante și case; un program guvernamental de supraveghere a bolilor enterice.

Vaccinurile sunt valabile pentru febra tifoidă și sunt parțial eficiente, în special la copii.

Nici un vaccin nu este valabil pentru salmonelozele netifoidice. Se continuă cercetările în această arie prin acordarea unei importanțe mari înțelegerii mecanismelor imunitare a infecțiilor enterice.

GENUL YERSINIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Bacteriologul francez Alexandre Yersin a izolat pentru prima dată bacteria cauzatoare a epidemiei de pestă din Hong Kong de la sfârșitul secolului al XIX-lea. Genul care a primit numele în onoarea acestui bacteriolog japonez cuprinde enterobacterii cocobacilare, colorate bipolar, ciliate în funcție de temperatură, nepretențioase nutritiv.

Genul *Yersinia* aparține familiei Enterobacteriaceae și cuprinde 11 specii, dintre care 3 sunt patogene pentru om:

- *Yersinia pestis*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- *Yersinia enterocolitica*.

Sunt agenți etiologici ai unor zoonoze. Se transmit accidental la om. *Yersinia pestis* este agentul patogen al pestei bubonice și pestei pulmonare, pe când *Yersinia pseudotuberculosis* și *Yersinia enterocolitica* pot determina gastroenterite severe cu formare de abces local și deces prin peritonită.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Speciile din genul *Yersinia* au ca rezervor rezervoarele, păsările, mamiferele domestice de unde se răspândesc în mediul înconjurător contaminând solul, alimentele. Sunt prezente în organismul vectorilor: purecele de șobolan, purecele uman.

Caractere morfotinctoriale

Yersinia pestis se prezintă ca un bacil gros, Gram-negativ, colorat bipolar, neciliat, nesporulat. In vivo și pe mediile bogate, la 37°C, *Yersinia pestis* dezvoltă capsulă.

Yersinia pseudotuberculosis este bacterie polimorfă care se poate prezenta sub formă de cocobacil sau bacil, Gram-negativă, colorată bipolar, cu cili peritrichi la 24°C și imobilă la 37°C.

Yersinia enterocolitica este un cocobacil cu capetele rotunjite, Gram negativ, cu cili peritrichi la 28°C, neciliat la 37 °C, necapsulat.

Caractere de cultură

Toate speciile de *Yersinia* sunt aerobe, tolerante la concentrații de sare de peste 5%, capabile să se dezvolte în limite largi de temperatură (4-43°C) multiplicându-se și la temperatura frigiderului. Pe mediile lichide creșterea este vizibilă după 48 ore, observându-se:

- peliculă și depozit floconos abundent, restul mediului rămânând clar pentru ***Yersinia pestis***;
- depozit, iar mediul este tulburat progresiv de la fundul eprubetei pentru ***Yersinia pseudotuberculosis***;
- tulburare uniformă a mediului pentru ***Yersinia enterocolitica***.

Pe geloză simplă cresc toate speciile de *Yersinia* astfel:

- ***Yersinia pestis*** formează colonii mici de 0,1-0,2 μm după 24 ore de incubare și de 1-2 mm la 48 de ore, rotunde, cu marginile ușor franjurate, la început gri cu centrul gălbui și bombat asemănate cu o „pălărie chinezească”;
- ***Yersinia pseudotuberculosis*** determină formarea de colonii mici, translucide, cenușii-gălbui;
- ***Yersinia enterocolitica*** colonii S, mici.

Pe mediile slab selective *Yersinia* spp. dezvoltă colonii „S” lactozo-negative, translucide. Nu se dezvoltă pe medii moderat sau înalt selective.

Caractere biochimice

Yersiniile sunt bacterii aerobe, oxidazo-negative, care fermentează glucoza, trehaloza, sorbitolul, ramnoza numai cu producere de acizi, nu și de gaz. Nu fermentează lactoza, nu produc H₂S, lizindecarboxilază sau fenilalanindezaminază. Nu folosesc citratul ca unică sursă de carbon și nu scindează malonatul; produc urează și β-galactozidază. Sunt imobile la 37°C.

Yersinia pestis este imobilă, indol negativă, urează negativă, lactozo- și manito-pozitivă. Nu fermentează zaharoza.

Yersinia pseudotuberculosis este mobilă la temperatura camerei, nu fermentează zaharoza, indol negativă. Reacția cu roșu-metil și reacția catalazei sunt pozitive.

Yersinia enterocolitica cuprinde tulpini mobile la temperatura camerei, zaharozo-pozitive. Reacțiile cu roșu-metil și reacția catalazei sunt pozitive. Producerea de indol este variabilă, pe când cea de ornitindecarboxilază este constantă acestei specii.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Yersinia pestis este distrusă în 5 minute la 55°C și imediat în fenol 5%. În dejectele ectoparaziților supraviețuiește luni de zile. Este sensibilă la streptomycină, tetraciclină și cloramfenicol.

Yersinia pseudotuberculosis este sensibilă față de lumina soarelui și uscăciune. La 56°C moare în 30 minute. Fenolul 1% o omorâă în câteva minute. Prezintă sensibilitate la streptomycină, cloramfenicol și neomicină.

Yersinia enterocolitica are o rezistență asemănătoare speciei *Yersinia pseudotuberculosis*. În plus rezistă la temperaturi de refrigerare (+/- 4°C). Este sensibilă față de streptomycină, cloramfenicol, tetraciline, polimixina B, colistin sulfat etc.

Structura antigenică

Yersinia pestis prezintă un antigen de înveliș termolabil și un antigen somatic termostabil.

► Antigenul de înveliș (F1), sau antigenul capsular, este termolabil, se pierde când microorganismul crește in vitro sau în insecta vector. Este constituit din 3 fracțiuni antigenice:

- Antigenul A este un complex format dintr-o proteină și un lanț polizaharidic, solubil, imunogen, anticorpii formați față de această fracțiune oferind protecție;
- Antigenul B este un polizaharid solubil, cu specificitate de specie, anticorpii formați nu oferă protecție;
- Antigenul C este un polizaharid insolubil, nonimunogen.

► Antigenul somatic O este termostabil și prezintă următoarele fracțiuni antigenice:

- Antigenul 1: este antigen de virulență a cărui compoziție nu se cunoaște, oferă protecție;
- Antigenul 3: are specificitate de specie, structură asemănătoare cu antigenul F1 dar oferă protecție;
- Antigenul 4: este o proteină termostabilă, nonimunogenă;
- Antigenul 5: este o proteină termostabilă, nu oferă protecție;
- Antigenul 8: este o polipeptidă termic-labilă cu funcție de toxină, nu oferă protecție;
- Antigenul V: este o proteină asociată virulenței, inhibând fagocitoza, oferă protecție;
- Antigenul W: este o proteină, oferă protecție;
- Antigenul Rough: este un polizaharid termostabil, nu oferă protecție.

Yersinia pseudotuberculosis prezintă un antigen flagelar și un antigen somatic. Sunt cunoscute 6 serotipuri principale, cel mai frecvent fiind serotipul I. Are înrudiri antigenice cu *Y. pestis* și unele salmonele.

Yersinia enterocolitica are antigene somatice O termostabile și antigene flagelare H termolabile. Această specie poate fi subdivizată antigenic în cel puțin 43 serotipuri pe baza a 57 de antigene somatice O și 20 antigene flagelare H. Cele mai frecvente serovaruri ale acestei specii sunt *Y. enterocolitica* O₃ și *Yersinia enterocolitica* O₉.

Răspuns imun

În pestă mecanismele răspunsului imun sunt foarte complexe implicând o combinație de factori umorali și celulari. Față de ***Yersinia pestis*** organismul uman formează de anticorpi specifici anti-înveliș care acționează ca opsonine față de microorganismele virulente permițând fagocitoza și distrucția lor rapidă la locul inițial de infecție. Unii indivizi posedă titruri înalte de anticorpi formați față de antigenele V și W. Gazda coalescentă prezintă imunitate de scurtă durată față de o reinfecție. Vaccinurile de *Y. pestis* omorâtă induc într-o oarecare măsură o protecție a gazdei.

Pentru celelalte două specii nu s-a demonstrat existența răspunsului imun.

Caractere de patogenitate

Factorii de patogenitate comuni ai speciilor de *Yersinia* implicate în infecții umane sunt:

- proteinele din membrana externă (Yops = *Yersinia* Outer Proteins) sunt codificate de gene prezente pe plasmidul pYV, sintetizate la 37°C, corespund antigenelor V și W, inhibă migrarea polimorfonuclearelor și fagocitoza, au efect citotoxic;
- proteina P1 codificată de gene prezente pe plasmidul de virulență pYV, asigură aderarea bacteriei de celulele eucariote;
- chelatori de fier.

Patogenitatea ***Y. pestis*** constă în migrarea pe cale limfatică de la locul de inoculare la nodulii limfatici regionali și în răspândirea pe cale sanguină la splină, ficat, plămâni unde determină leziuni hemoragice. Factorii de virulență ai *Y. pestis* sunt

- antigenul de înveliș F1: capsulă glicoproteică sintetizată numai la temperatura de 37°C, cu efect antifagocitar și imunogen;
- antigenele V și W;
- coagulaza care intervine în formarea de microtrombi;
- activator al plasminogenului care asigură invazivitatea bacteriei și cu rol antifagocitar.

Patogenitatea speciei ***Y. pseudotuberculosis*** constă în aderarea și traversarea epitelului intestinal de către aceste microorganisme, precum și în migrarea lor la nodulii limfatici mezenterici adiacenți și determinarea unor reacții inflamatorii la nivelul acestora.

Infecția primară a țesutului intestinal cu ***Y. enterocolitica*** este precedată de adeziunea și invazia celulelor epiteliale care căpтуșesc lumenul intestinal. Invaziile sunt codificate plasmidic și cromozomal. Nivele sideremice ridicate au fost înregistrate frecvent la pacienți, ceea ce prezintă importanță în creșterea virulenței tulpinilor speciei *Y. enterocolitica*. Marea majoritate a tulpinilor izolate produc o enterotoxină termostabilă, sintetizată la temperaturi sub 30°C, efectul acesteia nu prezintă importanță deosebită în definirea virulenței.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Yersinia pestis este, în primul rând, un agent patogen al rozătoarelor, oamenii fiind gazde accidentale infectate prin mușcătura puricilor de șobolan (*Xenopsyla cheopis*). De la gazda infectată, puricele ingeră, odată cu prânzul sangvin, microorganisme viabile care vor pătrunde în tractul său intestinal. Purecele poate rămâne infectat mai multe săptămâni. Bacteriile se multiplică *in situ* suficient astfel încât să-i blocheze proventriculul, iar câteva dintre microorganisme să poată fi regurgitate în următoarea plagă produsă prin mușcătura sa, realizându-se astfel transferul infecției la o nouă gazdă. Cât timp se dezvoltă în gazda nevertebrată, *Y. pestis* își pierde învelișul capsular astfel că la locul inoculării în noua gazdă microorganisme sunt necapsulate. O mare parte dintre acestea sunt fagocitate și omorâte de polimorfonucleare neutrofile care ajung la locul infecției în număr mare. Un număr mic de bacili sunt preluați și de către macrofagele tisulare, care nu pot să-i distrugă dar le asigură protecție astfel încât microorganismele își pot resintetiza capsula și alte antigene de virulență. Recapsulate, bacteriile omoară macrofagele și sunt eliberate în spațiul extracelular unde pot rezista, de data aceasta, fagocitozei. Infecția rezultată se răspândește rapid către nodulii limfatici regionali. Aceste mecanisme se produc în perioada de incubație care durează 3-6 zile. La nivelul nodulilor limfatici de releu determină leziuni caracteristice: ganglionii devin tumefiați, moi, foarte calzi și hemoragici, aspect caracteristic bubonului negru, responsabil de numele acestei afecțiuni. Pesta bubonică poate evolua în două direcții. Bubonul poate să fistulizeze iar puroiul de la acest nivel se poate scurge curățându-se plaga. Acest stadiu local este vindecabil în totalitate, iar bolnavul este mai puțin contagios. Dacă bariera ganglionară este rapid distrusă, iar infecția se răspândește prin curentul sangvin (septicemie) are loc o afectare substanțială a ficatului, splinei și plămânilor. Ca rezultat, pacientul dezvoltă o pneumonie bacteriană secundară, severă, eliminând un număr mare de microorganisme viabile prin spută și prin picăturile Flügge. Acești pacienți sunt extrem de contagioși pentru personalul medical. Un procent de 90% din pacienții netratați vor muri, decesul survenind în mai puțin de 24 ore după instalarea simptomelor clinice. În condițiile aglomerărilor, malnutriției și infestării mari cu ectoparaziți epidemia de pestă bubonică se poate dezvolta, va predomina forma pulmonară care este mult mai dificil de controlat și care prezintă o mortalitate de 100%. Propagarea infecției se face, de această dată, rapid de la om la om prin inhalarea particulelor încărcate cu germeni ducând la apariția pestei pulmonare primare, fără să se mai treacă prin stadiul de bubon.

Y. pseudotuberculosis este foarte virulentă pentru porcușorii de guinea, putând declanșa izbucniri devastatoare de pseudotuberculoză în coloniile din crescătorii, înregistrându-se o foarte înaltă rată a mortalității. Odată apărută, această infecție este imposibil de eliminat. În afară de rozătoare (porcușori de guinea, cobai, iepure, șoarece), mai poate determina pseudotuberculoză la animale domestice (cal, câine, pisică) și la diferite păsări. În organele animalelor infectate se evidențiază formațiuni cazeoase, nodulare și adenopatie.

În organismul uman pătrunde pe cale digestivă, originea contaminării fiind probabil alimentară. Microorganismele penetrează apoi epiteliul porțiunii terminale a ileonului, ajung în plăcile Peyer și în ganglionii limfatici ai regiunii ileo-cecale unde produc o adenită reticulară, caracterizată prin noduli mari și cazeoși, leziuni asemănătoare tuberculozei intestinale. Poate să se instaleze un sindrom pseudoapendicular, manifestare principală care poate să apară mai ales la copii și adolescenți. Pe lângă aceasta, foarte rar, poate surveni și septicemia, mai ales la

pacienții cirofici și diabetici. Infecția cu bacilul *Y. pseudotuberculosis* se poate manifesta, în unele cazuri, sub forma unui eritem nodos sau a unei infecții urinare.

Infecția orală cu serotipurile patogene pentru om ale speciei *Y. enterocolitica* se poate manifesta clinic prin mai multe tipuri de patologie.

Enteritele provocate de această specie, sunt asemănătoare enteritelor salmonelozice, cu diaree severă, frecvent acompaniată de subfebrilitate și dureri abdominale. Au o alură trenantă și sunt în general benigne, apar mai ales la copii mici, sub 5 ani.

Alte manifestări clinice cauzate de *Y. enterocolitica* sunt:

- sindrom al fosei iliace drepte în paralel cu o adenită mezenterică asemănătoare celei provocate de *Y. pseudotuberculosis* și ileită terminală;
- abcese ale colonului și peritonită;
- septicemiile sunt rare în cazul infecțiilor cu *Y. Enterocolitica*;
- eritem nodos sau o piodermită complică, uneori, un episod abdominal și o simptomatologie generală, întâlnindu-se mai ales la femei;
- meningitele sunt precedate de septicemie și apar foarte rar;
- colecistita poate să apară în unele cazuri;
- artritele reactive aseptice postenteritice sunt observate la indivizi cu sistem de histocompatibilitate HLA B27.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Infecțiile cu *Yersinia pestis* trebuie diagnosticate cât mai rapid, datorită extraordinarei virulențe a acestui microorganism. Diagnosticul de laborator se face în laboratoare speciale cu nivel 3 de protecție.

La pacienții cu pestă pulmonară, sputa conține un număr mare de cocobacili Gram-negativi. Hemoculturile sunt pozitive, iar biopsia nodulilor limfatici arată un infiltrat masiv de celule inflamatorii împreună cu numeroși cocobacili extraintestinali. Se mai pot recolta conținutul vezicular, puroiul, fragmente de organe (ficat, splină), ectoparaziți etc. Identificarea germenului se bazează pe studiul caracterelor morfotinctoriale, de cultură, biochimice, antigenice și biologice. Cele mai utile procedee de identificare sunt aglutinarea cu antiser specific și reacția de imunofluorescență față de componenta F1, antigenul capsular. În focare se fac studii epidemiologice prin lizotipie, bacteriocinotipie și tipare prin metode genetice.

Virulența tulpinilor de *Y. pestis* izolate poate fi apreciată în funcție de rata de creștere sau eliminare a microorganismelor în splină, după inocularea intravenoasă a șoarecilor. Tulpinile cele mai virulente se multiplică logaritmic fără fază inițială lag, ajungând la proporții letale în 2-3 zile. Animalele infectate vor prezenta o septicemie progresivă și vor deceda în urma apariției pneumoniei hemoragice. Tulpinile mai puțin virulente încep să se multiplice *in vivo* numai după o perioadă inițială lag, iar această inițială încetinire a creșterii acordă gazdei timp să dezvolte un răspuns imun defensiv eficient.

În infecțiile cu *Y. pseudotuberculosis*, germenii pot fi identificați în ganglionii mezenterici, care pot fi recoltați în urma unei intervenții chirurgicale. Sunt foarte rar evidențiați în coprocultură. În cazurile rare de septicemie și infecții urinare se recoltează sânge pentru hemocultură, respectiv urină pentru urocultură. Identificarea germenului se bazează pe proprietățile morfologice, biochimice,

antigenice. Evidențierea aglutininelor se face cu ajutorul reacției de aglutinare în tub. Tiparea serologică se efectuează în cazurile în care testele biochimice incriminează serotipul I al acestei specii, iar serul anti-Y. pseudotuberculosis tip I nu confirmă acest lucru. Tiparea prin metode genetice este o unealtă epidemiologică.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor cu *Y. enterocolitica* necesită recoltarea de produse patologice ca: ganglioni mezenterici, materii fecale, sânge, lichid cefalorahidian etc. Identificarea agentului patogen se face urmărind caracterele morfologice, de cultură, biochimice. Este indicat ca mediile, pe care se studiază reacțiile biochimice ale acestei specii, să fie incubate la temperaturi de 22°C-25°C. Cu ajutorul testelor ELISA se pot diferenția tulpinile care prezintă patogenitate pentru om de cele nepatogene.

Identificarea tipurilor antigenice se realizează prin reacții de aglutinare pe lamă și în tub cu seruri anti – *Yersinia enterocolitica* O3 și anti – *Yersinia enterocolitica* O9. Lizotipia și mijloacele genetice de tipare se folosesc în scop epidemiologic, ribotipia și analiza PCR dovedindu-se a fi metodele cele mai eficiente pentru tiparea *Y. enterocolitica*.

TRATAMENT

Antibioticele ca tetraciclina și cloramfenicolul sunt eficiente în tratamentul pestei. Antibiograma este totuși obligatorie.

Antibiograma se impune și în tratamentul afecțiunilor determinate de *Y. pseudotuberculosis*, aceasta dovedindu-se sensibilă mai ales la tetraciclina, cloramfenicol, streptomycină și neomicină.

Tratamentul infecțiilor cu *Y. enterocolitica* se face cu antibiotice, conform antibiogramei, cele față de care prezintă frecvent sensibilitate fiind cloramfenicolul, neomicina, kanamicina.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Yersinia pestis are ca rezervoare principale de infecție rozătoarele sălbatice (șobolanul de câmp, cobaiul sălbatic, spermofilul, veverița, iepurele etc) iar vectorii sunt puricii acestora. În mediul urban rezervorul principal de infecție este șobolanul iar vectorul este puricele de șobolan (*Xenopsyla cheopsis*). În proventriculul și stomacul puricilor, în praf, precum și în dejectele sau produsele animaliere microorganismele supraviețuiesc timp îndelungat. Interuman bacteria este transmisă prin *Pulex irritans*, sau mai frecvent prin picături Flügge în faza prodromală ori acută a pestei pulmonare.

Pesta bubonică, sau Moartea Neagră, a fost una dintre epidemiile care au chinuit omenirea, străbătând Europa și Asia sub formă de pandemii devastatoare în timpul Evului Mediu. Această afecțiune pare a fi responsabilă de moartea a o treime din populația globului, în acel moment. Apoi, din motive necunoscute, pesta bubonică a încetat brusc a mai fi o boală pandemică, iar în Europa și în America de Nord nu s-au mai înregistrat epidemii mari de mai bine de un secol. În diferite puncte de pe glob se înregistrează, totuși, cazuri de pestă: în Extremul Orient, Africa Orientală, America de Sud, California. Ocazional, tulpinile de *Y. pestis* izolate se dovedesc a fi foarte virulente în studiile experimentale pe animale de laborator. Această schimbare epidemiologică a frecvenței bolii este probabil

datorată îmbunătățirii controlului rozătoarelor, precum și a folosirii insecticidelor împotriva vectorilor-insecte. În ceea ce privește vaccinarea, vaccinul cu tulpină vie atenuată asigură o imunitate temporară.

Yersinia pseudotuberculosis este un agent patogen al rozătoarelor și pasărilor, trăind în tractul digestiv al acestora. Se poate izola din materiile fecale ale animalelor infectate. De asemenea se admite că are o largă răspândire în natură: apă, sol, furaje, alimente contaminate.

Yersinia enterocolitica a fost izolată din tractul intestinal al păsărilor, broaștelor, peștilor etc. Această specie s-a putut izola și în materiile fecale ale vitelor, oilor și porcilor. Pot supraviețui și în produsele lactate contaminate cu materiile fecale ale animalelor infectate. Este frecvent întâlnită în diferite ecosisteme, cum ar fi solul, vegetația, lacurile, râurile, pâraurile și izvoarele.

Este agent patogen al vitelor, oilor, porcilor și păsărilor. Majoritatea animalelor infectate își revin după afecțiunea primară și rămân purtători sănătoși. Microorganismele sunt eliminate în număr mare odată cu materiile fecale ale purtătorilor și pot contamina apa și produsele lactate. Totuși porcii sunt foarte des (50%) purtători ai serotipurilor întâlnite și la oameni. Cele mai frecvente serovaruri implicate în infecțiile umane în Europa sunt *Yersinia enterocolitica* O3 și O9. Pacienți cu deficiențe ale factorilor complementului, persoanele instituționalizate sunt mai susceptibile la infecția cu *Y. enterocolitica*.

Un număr tot mai mare de izbucniri ale acestei infecții au fost raportate în ultimii ani, mai ales în anotimpurile reci. Acest fapt a determinat apariția speculațiilor că *Y. enterocolitica* este mult mai activă, din punct de vedere clinic, în zonele cu climă rece, ipoteză care a pornit și de la observarea creșterii activității metabolice a microorganismelor la temperaturi de 22°C-25°C.

Măsurile profilactice pentru ***Y. pseudotuberculosis*** și ***Y. enterocolitica***, ca și în alte infecții intestinale, constau în controlul apei, controlul standardizat al sanitației generale, igiena alimentară, comunitară și personală.

GENUL CITROBACTER

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Citrobacter* (Familia Enterobacteriaceae) cuprinde 8 specii a căror diferențiere este clară:

- *Citrobacter freundii*,
- *Citrobacter diversus*,
- *Citrobacter amalonaticus*,
- *Citrobacter farmeri*,
- *Citrobacter youngae*,
- *Citrobacter braakii*,
- *Citrobacter werkmanii*,
- *Citrobacter sedlakii*,

În plus s-au identificat încă 3 specii care nu posedă caracteristici generale specifice genului, ceea ce nu a putut face posibilă nominalizarea lor. Toate speciile nominalizate au fost evidențiate în patologia umană, mai ales la imunocompromiși, iar primele două specii sunt cele mai frecvent întâlnite.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Speciile de *Citrobacter* trăiesc în apă, sol, ocazional în alimente sau fac parte din flora normală a tractului intestinal al omului și animalelor. Pot fi întâlnite și în apa distilată sau deionizată folosite în mediul intraspitalicesc.

Caractere morfotinctoriale

Speciile genului *Citrobacter* sunt bacili Gram-negativi, ciliați peritrichi, necapsulați, nesporulați.

Caractere de cultură

Citrobacter spp. sunt bacterii aerobe, facultativ anaerobe, cu caracteristici de cultivare asemănătoare genurilor *Salmonella* și *Proteus*. Pe mediile selective și diferențiale, cu bilă sau cu săruri biliare, determină formarea de colonii tip S, lactozo-negative, de culoarea mediilor. Speciile care nu produc H₂S pot fi diferențiate de *Salmonella* spp. și *Proteus* spp. care formează colonii „ochi de pisică” datorită producerii de H₂S.

Caractere biochimice și de metabolism

Izolarea pe medii diferențiale și selectiv diferențiale face posibilă evidențierea caracterelor biochimice, precum și diferențierea lor de genurile *Salmonella* și *Proteus*. Sunt bacterii care nu fermentează lactoza. Glucoza, în schimb, este fermentată cu eliberare de acid și gaz. Zaharozo-negative sunt *Citrobacter werkmanii*, *Citrobacter sedlakii*, iar cele malonat-negative *Citrobacter farmeri* și *Citrobacter braakii*. Speciile care nu produc H₂S sunt *Citrobacter diversus*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter sedlakii*, iar cea care nu produce indol este *Citrobacter werkmanii*.

Sunt bacterii mobile care nu produc lizindecarboxilază și fenilalanindezaminază, dar fermentează dulcitolul și celobioza. Produc β-galactozidază, folosesc citratul ca unică sursă de carbon și nu descompun ureea. Pot crește și pe mediile cu cianură (testul Braun).

Rezistența față de factori fizici și chimici

Sunt bacterii sensibile la antiseptice și dezinfectante. Multe tulpini ale acestui gen sunt frecvent rezistente la cefalosporine de primă generație, uneori și la cele de generație mai nouă.

Structură antigenică

Citrobacter spp. sunt enterobacterii care posedă antigen somatic O și antigen flagelar H cu ajutorul cărora s-a putut face diferențierea serovarurilor. *Citrobacter freundii* prezintă 40 de antigene somatice O specifice de grup și 90 de

antigene H cu specificitate de tip, ceea ce duce la împărțirea speciei în 107 serovaruri; *Citrobacter diversus* are o schemă antigenică reprezentată de 14 antigene O și 7 antigene H.

Unele serotipuri prezintă antigen Vi asemănător dar nu identic cu cel al tulpinilor de *Salmonella enterica* serovar Typhi. Serogrupurile O5 și O29 ale speciei *Citrobacter freundii* au în schema antigenică și antigen de virulență (Vi).

Răspuns imun

Anticorpi anti-O și anti-H nu au rol protectiv.

Caractere de patogenitate

Citrobacter spp. prezintă o serie de factori de virulență amintiți în tabelul XVIII.

Tabel XVIII. *Citrobacter* spp.: factori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
Antigenul Vi antigenul de virulență	*prezent la serogrupurile O5 și O29 a speciei <i>C. freundii</i> *asociat virulenței și invazivității *determină leucopenie, scăderea nivelului complementului seric și capacitatea de multiplicare intrafagocitară; *reprezintă substratul de fixare al bacteriofagilor; *maschează antigenul O, determinând inaglutinabilitate O în reacțiile serologice;
Pili tip 2	*favorizează afecțiunile în afara zonei lor normale de acțiune;
Enterotoxine termostabile sau termolabile	*rolul lor în infecțiile enterale nu este clar

PATOGENIE. BOALA LA OM

Citrobacter spp. sunt bacili care pot face parte din flora normală intestinală. Infecțiile cu aceste bacterii apar mai ales la persoanele care prezintă factori de risc de infecție (imunocompromiși, bolnavi oncologici, pacienți cu tratament imunosupresor, bătrâni, copii mici, persoane spitalizate etc.). Aceste microorganisme pot cauza septicemii, infecții pulmonare, infecții urinare, meningite etc.

Citrobacter freundii suprainfectând soluțiile perfuzabile, poate determina bacteriemie nosocomială cu diseminări în variate locuri în organism, precum și septicemie nosocomială. Poate provoca enterite, având o intensă activitate citotoxică și a fost izolat și în unele cazuri de toxiiinfecții intestinale. A fost izolat și evidențiat ca agent suprainfectant în infecții ale tractului respirator și urinar.

Citrobacter diversus a fost evidențiat ca agent etiologic al septicemiilor, infecțiilor urinare, foarte rar producând enterocolite. Meningita neonatală cu această specie, foarte rară, se asociază frecvent cu abces cerebral, deces, iar la supraviețuitori cu retardare mintală. *C. diversus* poate fi agent microbial suprainfectant al infecțiilor tractului respirator și urinar.

Alte specii ale genului (*C. amalonaticus*, *C. farmeri*, *C. youngae*) au fost izolate din infecții nosocomiale ale tractului respirator sau urinar.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice recoltate în infecțiile cu *Citrobacter* spp. sunt reprezentate de sânge, LCR, urină, materii fecale, spută, probe de control epidemiologic intraspitalicesc etc.

Diagnosticul de laborator se bazează pe caracterele de cultură, biochimice și antigenice ale acestor microorganisme. *Citrobacter freundii* izolat din materiile fecale poate fi confundat cu *Salmonella enterica* serovar Typhi, deoarece au în comun caractere biochimice și antigenice, specia genului *Citrobacter* putând aglutina cu serurile polivalente și cu cele anti-Vi specifice salmonelilor. În infecțiile urinare se realizează greu diagnosticul de laborator diferențial între *E. coli* și *C. diversus*.

Tiparea serologică se face numai în centre specializate. Schemele de tipare fagică și bacteriocinică sunt unelte epidemiologice.

TRATAMENT

Tratamentul acestor infecții se face pe baza antibiogramei și în funcție de localizarea infecției.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sunt, în general, germeni oportuniști. Factorii predispozanți importanți ai acestor infecții sunt: vârstele extreme (bătrânii și copii mici), statusul imunologic compromis, tumorile solide, mediul intraspitalicesc, soluțiile perfuzabile suprainfectate din fabricație etc. În cadrul infecțiilor nosocomiale, se observă un risc crescut la pacienții colonizați intestinal cu aceste microorganisme față de cei necolonizați. Infecția se poate propaga pe cale directă sau indirectă, portajul pasiv pe mâinile personalului medical fiind cel mai incriminat factor de transmitere al infecțiilor nosocomiale.

La bovine, rar, poate determina mastite, laptele fiind alimentul cel mai incriminat în izbucnirile de toxiinfecții alimentare cu aceste microorganisme.

Controlul infecțiilor nosocomiale reprezintă principalul pas în profilaxia afecțiunilor determinate de *Citrobacter* spp.

GENUL KLEBSIELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Membrii genului *Klebsiella* sunt bacili Gram-negativi, încadrați în tribul *Klebsiellae* al familiei *Enterobacteriaceae*. Acest gen cuprinde 7 specii importante din punct de vedere medical:

- *Klebsiella pneumoniae*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella ozaenae*

- *Klebsiella rhinoscleromatis*
- *Klebsiella terrigena*
- *Klebsiella ornithinolytica*
- *Klebsiella planticola*

Primele patru specii enumerate sunt mai des implicate în patologia umană. Sugestia cercetătorilor de a considera *K.pneumoniae*, *K. ozaenae* și *K. rhinoscleromatis* ca subspecii ale *K. pneumoniae* nu este acceptată de microbiologi și clinicieni, aceștia tratându-le ca și când ar fi specii separate.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Speciile genului *Klebsiella* sunt foarte răspândite în natură (sol, ape de suprafață, plante) și frecvent fac parte din flora normală a tractului gastrointestinal, a tractului respirator superior și a tegumentelor umane și animale.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili nesporulați, neciliați, Gram-negativi, scurți și groși, cu capete rotunjite, dispuși în diplo. În produsele patologice apar sub formă de cocobacili, înconjurați de capsulă.

Caractere de cultură

Nu sunt germeni pretențioși, crescând foarte bine pe mediile de cultură convenționale. Sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi. Temperatura optimă de creștere este de 37°C, dar pot crește și la temperatura camerei. Pe geloză simplă determină formarea de colonii foarte bombate, alb-cenușii, lucioase, cu aspect mucos (colonii tip M). Se observă deseori apariția de variante ale tipului de colonie: tipul S și tipul R (colonii plate și uscate). Pe mediile slab selective își păstrează aspectul mucoid al coloniilor, iar mediile moderat selective induc formarea de colonii cu caracter mucoid mai puțin pregnant decât cel de pe celelalte medii.

Caractere biochimice

Fermentează lactoza, zaharoza și glucoza cu eliberare de acid și gaz. Nu produc indol, cu excepția tulpinilor de *K. oxytoca*. Produc urează, acetil-metil carbinol, folosesc citratul ca unică sursă de carbon, dar nu descompun proteinele cu eliberare de H₂S.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Tulpinile de *Klebsiella* sunt omorâte de căldura umedă (la 55°C în 30 minute). La temperatura camerei și la întuneric pot supraviețui săptămâni și luni de zile. Unele tulpini pot prezenta o creștere a rezistenței la antiseptice și dezinfectante.

Klebsiella spp. este sensibilă la cefalosporinele de generația a III-a, floxacine, colimicină și gentamicină.

Structura antigenică

În genul *Klebsiella* sunt descrise 3 feluri de antigene: antigenul somatic O (întâlnit la formele smooth), antigenul somatic R (întâlnit la formele rough) și antigenul capsular K. Nu prezintă antigen flagelar H. În schema antigenică de

diagnostic se disting 5 grupe de antigene O și 77 de fracțiuni antigenice K. Unele tulpini izolate de la copii mici sau nou-născuți cu gastroenterită secretată o enterotoxină termostabilă.

Răspuns imun

În cadrul infecției cu tulpini patogene de *Klebsiella* apare un răspuns imun umoral și celular din partea gazdei, dar prezența capsulei protejează bacteriile de acțiunile acestora.

Caractere de patogenitate

Tulpinile genului *Klebsiella* sunt patogene prin virulență. Virulența lor este legată de prezența capsulei de natură polizaharidică, formată din D-glucoză, fucoză și acid uronic. și a fimbrilor (tabel XIX)

Tabel XIX. *Klebsiella* spp.: factori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
fimbrile	*cu proprietăți de adezine;
pili de sex	*implicați în transferul genetic prin conjugare, *mediază plasmidic factorii de virulență și cromozomic rezistența la antibiotice;
antigenul capsular K	* de natură polizaharidică; *cel mai important factor de virulență; *oferă protecție față de fagocitoză și față de activitatea bactericidă a anticorpilor;
enterotoxina termostabilă	*secretată de unele tulpini; *rolul în patogenia bolii nu este clar.

PATOGENIE . BOALA LA OM

Speciile *K. pneumoniae* și *K. oxytoca* sunt responsabile de majoritatea infecțiilor umane. Numărul infecțiilor cauzate de *K. pneumoniae* este mai mare decât cel al infecțiilor cauzate de *K. oxytoca*.

Principalele sindroame clinice întâlnite în infecțiile cu *Klebsiella* spp. sunt:

Pneumonia, în cea mai mare parte cauzată de *Klebsiella pneumoniae*, este cea mai frecvent întâlnită formă clinică a infecției cu *Klebsiella* atât în afara cât și în cadrul unităților de îngrijire a sănătății. Cel mai des survine la bărbați de vârste mijlocii și bătrâni cu boli debilitante ca alcoolism, diabet, afecțiuni pulmonare cronice. Debutul bolii este brusc cu febră, simptome pseudogripale, stare generală alterată, dureri nespecifice ale corpului, tuse productivă cu o cantitate mare de spută. Sputa are consistență gelatinoasă, de unde și denumirea „spută jeleu”, și prezintă urme de sânge. Frecvent, acest sindrom clinic, se complică cu formare de abcese și distrucție tisulară a plămânilor.

Infecțiile neonatale sunt determinate mai ales de *Klebsiella pneumoniae* și *K. oxytoca*, fiind frecvent asociate cu bacteriemie neonatală. Cele mai multe cazuri s-au înregistrat printre nou-născuții prematuri.

În infecțiile tractului urinar agentul cauzativ cel mai des întâlnit este *K. pneumoniae*, urmată de *K. oxytoca*. Infecțiile urinare cu *Klebsiella* sunt, din punct de vedere clinic, identice celor cauzate de agenții patogeni specifici acestei localizări. Ele apar, în marea majoritate, în urma cateterismului urinar și sunt infecții nosocomiale.

În spitalele sau sanatoriile în care îngrijirea medicală este de lungă durată, *Klebsiella* spp. este ocazional izolată din plăgi și abcese, fără să declanșeze simptome bolnavilor.

Diareea este determinată de unele specii considerate enterotoxigene. Acest sindrom se întâlnește la bolnavi imunocompromiși sau care sunt supuși unui tratament imunosupresor.

Rhinoscleromul este o afecțiune granulomatoasă cronică și distructivă a tractului respirator, produsă de *Klebsiella rhinoscleromatis*. Este endemică în Europa de Est și în America Centrală. Cel mai grav afectat este nazofaringele, dar mai poate afecta traheea, bronhiile, buzele și nasul. În unele cazuri, afecțiunea poate duce la producerea de diformități ale nasului. Afecțiunea este foarte rar fatală, doar când căile aeriene sunt blocate. Boala se transmite, de obicei, prin inhalarea directă a microorganismelor.

Ozena este produsă de *K. ozaenae* și caracterizată prin atrofia membranei mucoasei nazale, cu descărcare muco-purulentă, care tinde să se usuce sub forma unor cruste. Simptomele frecvente sunt congestia nazală și un miros urât al cavității nazale. Este o afecțiune mai frecvent întâlnită la bătrâni.

Studii recente au demonstrat că microorganismul poate determina și alte afecțiuni, incluzând infecțiile urinare, ale țesuturilor moi, ale urechii medii și chiar poate duce la instalarea septicemiei.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice, recoltate în funcție de localizarea infecției și stadiul bolii respective, sunt: sputa, sângele, materiile fecale, urina și puroiul. Acestea se însămânțează pe mediile de cultură neselective și selective, urmărindu-se caracterele de cultură. La identificarea coloniilor mucoase lactozo- pozitive, luăm în considerare rezultatele examenelor biochimice. Identificarea definitivă se realizează prin tiparea serologică realizând reacții de aglutinare, coaglutinare sau latexaglutinare cu seruri anti-K. Ca unelte epidemiologice sunt utile tiparea bacteriofagică, rezistotipia prin care se urmărește rezistența înaltă și multiplă a genului *Klebsiella* la antibiotice și tiparea prin metode genetice.

TRATAMENT

Aproape toți membrii acestui gen sunt rezistenți la antibiotice beta-lactamice: penicilină, ampicilină, amoxicilină. Sunt frecvent sensibile la acțiunea cefalosporinelor, ceea ce le recomandă ca tratament de primă intenție în infecțiile date de *Klebsiella* spp. Totuși, în ultimii ani, s-au izolat tulpini de *K. pneumoniae* rezistente la cefalosporine, rezistență datorată prezenței unui grup de enzime numit „β-lactamaze cu spectru larg”, prescurtarea cunoscută fiind „SKBLs”. Tulpinile de *K. pneumoniae* care produc SKBLs sunt notate SKBL-KP. Aceste

enzime au capacitatea de a inactiva cefalosporinele prin clivarea inelului β -lactamic al medicamentului. Genetic, producerea acestor enzime este codificată plasmidic.

Oricum, tratamentul infecțiilor cu *Klebsiella* spp. nu trebuie să fie empiric, ci bazat pe rezultatele antibiografe.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Infecțiile provocate de *Klebsiella* spp. sunt mult mai frecvente în instituțiile de îngrijire medicală (infecții nosocomiale) decât în afara acestora. Cele două specii întâlnite frecvent la noi în țară, *K. pneumoniae* și *K. oxytoca*, sunt considerate agenți patogeni oportuniști, asociați mai ales afecțiunilor tractului gastrointestinal și suprafețelor mucoase. În instituțiile de îngrijire medicală, infecțiile se transmit, în marea majoritate a cazurilor, prin intermediul mâinilor personalului medical.

Controlul apariției infecțiilor nosocomiale este foarte dificil. Grupurile intraspitalicești de control a infecțiilor agresive pot ajuta foarte mult la scăderea infecțiilor nosocomiale prin identificarea și controlul factorilor predispozanți, educația și instruirea personalului din spital. Pe lângă investigațiile potențialelor izbucniri infecțioase, se fac și controale de rutină a personalului, a pacienților și a mediului spitalicesc. Cea mai importantă măsură profilactică rămâne spălarea pe mâini a personalului medical după contactul cu fiecare bolnav.

Imunizarea activă sau pasivă nu se practică. Totuși, seruri hiperimune sau vaccinuri pentru *Klebsiella* spp. au un impact major asupra morbidității și mortalității prin infecții nosocomiale.

GENUL ENTEROBACTER

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Enterobacter* (Familia Enterobacteriaceae) cuprinde 14 specii, doar 7 fiind ocazional izolate din produsele patologice umane:

- *Enterobacter aerogenes*
- *Enterobacter agglomerans*
- *Enterobacter cloacae*
- *Enterobacter sakazakii*
- *Enterobacter gergoviae*
- *Enterobacter taylorae*
- *Enterobacter amnigenus*
- *Enterobacter asburiae*
- *Enterobacter hormaechei*.

Speciile cele mai frecvent întâlnite sunt primele cinci.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germenii aparținând acestui gen sunt răspândiți în natură (apă, sol, plante), în tractul intestinal al oamenilor și animalelor și ocazional îi întâlnim în alimente.

Caractere morfotinctoriale

Sunt cocobacili Gram-negativi, ciliați, nesporulați.

Caractere de cultură

Se dezvoltă repede pe mediile simple formând colonii S, mari (2-3 mm). Colonii R, rugoase, conopidiforme determină *E. agglomerans*, iar *E. aerogenes* colonii mari, mucoase, de tip M, lactozo-pozitive, asemănătoare celor de *Klebsiella* spp. *E. agglomerans* și *E. sakazakii* produc un pigment galben după 2-4 zile de la însămânțare.

Caractere biochimice și de metabolism

Speciile genului *Enterobacter* sunt germeni lactozo-pozitivi, zaharozo-pozitivi, glucozo-pozitivi cu eliberare de gaz (excepție făcând câteva biovaruri de *E. agglomerans*), ureazo-negativi. Nu produc fenilalanindezaminază, H₂S, indol iar lizindecarboxilază au doar două specii (*E. aerogenes* și *E. gergoviae*).

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt enterobacterii rezistente, putând supraviețui în apa distilată și deionizată în mediul intraspitalicesc, în soluții perfuzabile, sau chiar în apa utilizată în aparatele de hemodializă sau în cele folosite pentru terapia respiratorie. Sunt rezistente față de cefalosporinele de primă generație și față de unele de generație mai nouă. Prezintă o rezistență crescută la antiseptice și dezinfectante.

Structură antigenică

Structura antigenică a genului *Enterobacter* este reprezentată de antigenele somatice O cu specificitate de grup și de cele flagelare H specifice de tip, fiind cunoscute 79 de serotipuri de *Enterobacter*. În mod normal nu prezintă antigen K.

Răspuns imun

Apar anticorpi anti-O și anti-H care nu au rol protectiv.

Caractere de patogenitate

Patogenitatea tulpinilor de *Enterobacter* se datorează virulenței (tabel XX)

PATOGENIE. BOALA LA OM

Enterobacter spp. sunt germeni oportuniști. Cele mai implicate în patologia umană sunt speciile ***E. aerogenes*** și ***E. cloacae***. Ocazional, acestea pot determina infecții ale tractului respirator inferior, infecții ale tractului urinar, infecții ale plăgilor, gastroenterite la sugari și nou-născuți, bacteriemii datorate soluțiilor perfuzabile contaminate, uneori chiar septicemii. La pacienții oncologici și la cei cu tratament imunosupresor sau cu deficit congenital al sistemului imun, infecțiile evoluează frecvent spre deces.

E. cloacae a fost izolat și la pacienți cu sprue tropical (boala celiacă).

E. sakazakii a fost izolat de la bolnavi cu septicemie, meningită, enterocolită necrozantă. Deși cel mai frecvent sunt afectați copii, aceste tipuri de patologie sunt descrise și la adulți. Rata mortalității în aceste infecții este foarte mare (80%).

Tabel XX. *Enterobacter spp.* – factori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
Pili de tip 2	*favorizează afecțiuni în afara zonei lor normale de acțiune;
Enterotoxine	*izolate la nou-născuți și sugari cu gastro-enterite acute; *rolul lor în infecțiile enterale nu este clar;
Adezine	*cu rol în aderare și invazivitate.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice, în funcție de localizarea infecției, sunt: sputa, urina, exsudatul purulent al plăgilor, sânge, materii fecale, LCR etc.

Diagnosticul de laborator este bacteriologic bazându-se pe caracterele de cultură, biochimice și pe reacțiile de aglutinare. Tipările serologice, biochimice și genetice sunt de un real folos în identificarea definitivă. Pentru infecțiile nosocomiale cu *E. aerogenes* și *E. cloacae* se fac tipizări ce au la bază identificarea plasmidică.

TRATAMENT

Tratamentul se face în funcție de localizarea infecției ținându-se cont de rezultatele antibiogramelor.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sunt enterobacterii foarte rezistente și frecvent întâlnite în patologia nosocomială, factorii de risc ai infecțiilor fiind imunodepresia, vârsta fragedă, utilizarea diferitelor instrumente și dispozitive medicale contaminate, lipsa controlului riguros al soluțiilor perfuzabile și a alimentelor etc.

E. coli, *Klebsiella* și *Enterobacter* (numărul bacteriilor coliforme) sunt bacterii lactozo-pozitive pe a căror prezență se bazează studiul calității apei potabile.

Controlul infecțiilor nosocomiale reprezintă principalul pas în profilaxia afecțiunilor determinate de *Enterobacter spp.*

GENUL HAFNIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Hafnia* aparține familiei Enterobacteriaceae și este constituit dintr-o singură specie, *Hafnia alvei*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

S-a putut evidenția în ape poluate, în sol, materii fecale etc.

Caractere morfotinctoriale

Bacil Gram-negativ, necapsulat, nesporulat, ciliat.

Caractere de cultură

Crește cu ușurință pe mediile uzuale sub formă de colonii S, mai rar de tip R.

Caractere biochimice și de metabolism

Este o enterobacterie lactozo-negativă care fermentează glucoza cu producere de acid și gaz. Nu fermentează zaharoza. Nu produce indol, H₂S, urează, fenilalanindezaminază dar produc lizinalanindecarboxilază, ornitindecarboxilază, β-galactozidază. La 37°C se intensifică mobilitatea, activitatea fermentativă și decarboxilazică.

Structură antigenică

S-au descris 60 de fracțiuni antigenice O și 34 H, pe baza acestora realizându-se o schemă de serotipie cu utilizare restrânsă.

Răspuns imun

Aceste enterobacterii determină formare de anticorpi neprotectivi anti-O și anti-H.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Sunt enterobacterii care se izolează frecvent din materiile fecale umane, dar la care enteropatogenitatea nu este clar definită. Pot fi implicate în traheobronșite post-intubație sau în infecții ale tractului urinar.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Din produsele patologice recoltate (materii fecale, urină, spută), se izolează *Hafnia alvei*, iar diagnosticul prezumptiv se pune pe baza caracterelor morfotinctoriale, de cultură și biochimice ale acestor enterobacterii. Identificarea definitivă se face printr-o investigație cu teste extinse enzimatică pentru a face diagnosticul diferențial cu *Salmonella*, *Enterobacter* și *Serratia*.

TRATAMENT

Tratamentul se face conform antibiogramei și localizării infecției.

EPIDEMIOLOGIE. PROFILAXIE. CONTROL

Hafnia alvei face parte din categoria patogenilor ocazionali, factorii predispozanți având rol hotărâtor în patologia bolii (catetere urinare, canulă de intubație etc.).

Infecțiile sunt în marea majoritate nosocomiale, astfel măsurile care trebuie urmate sunt cele de prevenire și control a infecțiilor intraspitalicești.

GENUL SERRATIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul Serratia este o grupare de enterobacterii mobile care cuprinde 11 specii, 10 fiind izolate la om, din care cele mai frecvente sunt:

- Serratia marcescens
- Serratia liquefaciens
- Serratia rubidaea
- Serratia odorifera
- Serratia plymuthica
- Serratia ficaria
- Serratia fonticola.

Serratia marcescens este principalul exponent al genului.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germenii aparținând acestui gen sunt răspândiți în natură (apă, sol, plante), în tractul intestinal al oamenilor și animalelor și ocazional îi întâlnim în alimente.

Caractere morfotinctoriale

Sunt parvobacili, Gram-negativi, cu cili peritrichi.

Caractere de cultură

Sunt germeni nepretențioși, crescând bine pe medii simple. În bulion cresc foarte bine, determinând apariția unui inel roșu sau a unei pelicule la suprafața mediului. Pe geloză simplă determină formarea de colonii de tip S, rotunde, bombate, cu diametrul de 1-2 mm, care au consistență untoasă. După 48-72 ore de la însămânțare speciile S.marcescens, S.rubidaea, S.plymuthica produc un pigment roșu aprins. Pe geloză-sânge S.marcescens formează colonii hemolitice.

Caractere biochimice

Sunt enterobacterii mobile, lactozo-negative care fermentează glucoza cu eliberare de acid și de gaz în cantități mici. Speciile acestui gen produc proteaze, decarboxilaze, dezoxiribonucleaze, lipaze. Nu produc indol, H₂S, fenilalanindezaminază. Testul Voges-Proskauer și β-galactozidaza sunt pozitive. Specific speciei *S.odorifera* este producerea de miros putred.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt bacterii foarte rezistente atât față de antiseptice și dezinfectante cât și față de antibiotice.

Structură antigenică

Pe baza antigenelor O și H s-a întocmit o schemă antigenică ce cuprinde 70 serovaruri.

Răspuns imun

Se formează anticorpi neprotectivi anti-O și anti-H.

Caractere de patogenitate

Patogenitatea este datorată, probabil, unor pili de tip 2 și enterotoxinelor.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Cel mai frecvent implicată în patogenie este *S.marcescens*. Ea a fost semnalată ca agent etiologic ocazional în infecții urinare, enterocolite la nou-născuți și la sugari, septicemie, endocardită, infecții nosocomiale. Infecțiile nosocomiale sunt datorate cel mai frecvent utilizării de truse perfuzabile și catetere venoase (bacteriemii și septicemii), a echipamentelor de susținere a ventilației pulmonare și de realizare a traheostomiei (infecții ale tractului respirator), a cateterelor urinare și a containerelor pentru urină (infecții urinare) etc. contaminate cu *S.marcescens*. La pacienții oncologici și la cei imunodeprimați aceste infecții pot evolua rapid spre deces.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator se bazează pe izolarea din produsele patologice a tulpinilor genului *Serratia*, pe studiul caracterelor de cultură și a celor biochimice, precum și pe testarea serologică, bacteriofagică sau moleculară.

TRATAMENT

Tratamentul se realizează conform antibiogramelor, ținând cont de multirezistența la antibiotice a acestor microorganisme, de farmacocinetica antibioticelor și de localizarea infecțiilor.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Serratia spp., agent patogen ocazional, determină infecții în prezența unuia sau a mai multor factori predispozanți, infecțiile nosocomiale fiind mai frecvente decât cele apărute în afara spitalelor. Controlul infecțiilor nosocomiale, reprezintă principalul pas în profilaxia afecțiunilor determinate de *Serratia* spp.

GENUL PROTEUS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Proteus* (Familia Enterobacteriaceae) cuprinde trei specii cu importanță medicală:

- *Proteus mirabilis*
- *Proteus vulgaris*
- *Proteus penneri*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germeii din genul *Proteus* sunt ubicuitar răspândiți în natură, putându-se întâlni în sol, ape reziduale, ape de suprafață, în materiile organice în putrefacție, în tractul intestinal uman, în alimente și în produse patologice.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram-negativi, ciliați peritrichi sau lofotrichi. Sunt polimorfi: au variate forme, de la bastonașe scurte de 1-3 μm lungime, până la forme lungi filamentoase. Nu prezintă capsulă și nici spori.

Caractere de cultură

Nu sunt germeni pretențioși. Pe geloză simplă și pe geloză-sânge au caracteristica unică în familia Enterobacteriaceae de a invada mediul, fenomen numit „fenomen de cățărare”. „invazie”, „roire”. Din locul inoculării, valuri succesive de cultură migrează concentric până la marginea mediului sau până la întâlnirea cu vâlul migrator al altei colonii. Dacă coloniile migratoare aparțin aceleiași tulpini, valurile se intrică, formând o pânză continuă. Dacă ele aparțin unor tulpini diferite, chiar din aceeași specie de *Proteus*, migrările se opresc la o distanță de 1-2 mm, între ele trasându-se o linie de demarcație, fenomen cunoscut sub numele de „fenomen Dienes”. Acesta reprezintă un important marker epidemic. Pe mediile selective care conțin săruri biliare, dezoxicholat, morfină etc. *Proteus* crește sub formă de colonii S, netede, rotunde, translucide, lactozo-negative, de culoarea mediului, „în ochi de pisică” datorită producerii de H₂S, evidențiat prin apariția unei pete de culoare neagră în centrul coloniilor.

Caractere biochimice

Sunt germeni aerobi, facultativ anaerobi, care fermentează glucoza cu producere de acid și puțin gaz. Unele tulpini pot fermenta zaharoza. Nefermentarea lactozei este un indicator al patogenității. *Proteus vulgaris* este singurul care produce indol și care nu fermentează maltoza. Producerea de H₂S este obligatorie în cadrul acestui gen. Descompun ureea. Produc fenilalanindezaminază; specia *P.vulgaris* fiind singura care nu produce ornitindecarboxilază. *Proteus* spp. iau parte la procesele de putrefacție, pe de o parte prin folosirea oxigenului din mediu, favorizând dezvoltarea bacteriilor

anaerobe, și pe de altă parte prin sinteza de enzime proteolitice care descompun proteinele. Acest aspect se evidențiază pe mediul Löffler prin lichefierea mediului.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Rezistența față de factori fizici și chimici a tulpinilor de *Proteus* este similară rezistenței celorlalte enterobacterii. Poate rezista o perioadă mai îndelungată în unele soluții antiseptice, de detergenți, precum și în soluții perfuzabile, în cele care conțin glucoză putându-se multiplica la temperatura camerei, fapt ce explică difuzibilitatea bacteriilor în mediul spitalicesc. Rezistența la antibiotice a acestor bacterii este foarte mare.

Structură antigenică

Proteus spp. pot prezenta antigen somatic O, antigen flagelar H, pili și enterotoxine.

Antigenul somatic O prezintă specificitate de grup, fiind comun la *P.vulgaris* și *P.mirabilis*. Se cunosc 55 antigene somatice O.

Antigenul flagelar H, cu specificitate de tip, prezintă 31 de fracțiuni antigenice.

Anumite tulpini de *P.vulgaris* (OX-19, OX-2, OX-K) produc antigene asemănătoare antigenelor unor tulpini de *Rickettsia*. Aceste tulpini sunt folosite în testele de aglutinare (testul Weil-Felix) pentru decelarea anticorpilor serici produși împotriva *Rickettsia prowazeki*, agenții tifosului exantematic.

Proteus spp. nu prezintă antigen capsular (K).

Caractere de patogenitate

Patogenitatea *Proteus* spp. este determinată de factori de virulență (tabel XXI).

Tabel XXI. *Proteus* spp.: fFactori de virulență

Factorul de virulență	Efectul biologic
pili tip 1	*importanti în colonizarea normală a tractului gastro-intestinal;
pili tip 2	* importanti factori de virulență, *ajută microorganismele să determine afecțiuni în afara zonei lor normale de acțiune;
pili de sex	*implicați în transferul genetic prin conjugare, mediind plasmidic factorii de virulență și cromozomial rezistența la antibiotice;
factori fimbriari de colonizare	*rol în colonizarea bacteriilor;
enterotoxinele	*elaborate de tulpini implicate în producerea de gastroenterite la nou-născuți și copii mici; *importanța lor în infecțiile enterice nu este cunoscută.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Ca germeni condiționat patogeni, *Proteus* spp. pot declanșa, singuri sau în asociație cu alți agenți patogeni, infecții la diferite nivele ale organismului gazdă.

Cauzează infecții ale tractului digestiv: toxiinfecții alimentare și enterite la sugari și la copii mici. Infecțiile tractului respirator inferior, pneumoniile, sunt de

cele mai multe ori nosocomiale. Septicemiile apar mai ales la bătrâni. Ele pot fi însoțite sau urmate de peritonite, meningite etc. Meningita neonatală este o afecțiune foarte gravă a nou-născuților, iar dacă tulpinile incriminate aparțin speciei *P.mirabilis*, poate fi însoțită de abces cerebral. Pot suprainfecta plăgile chirurgicale sau pe cele arse (infecții nosocomiale) putând duce la apariția abceselor.

Infecțiile tractului urinar inferior sunt reprezentate de cistite. La pacienții cu litiază urinară, *P.mirabilis*, a fost izolat frecvent din urină, bacteriuria recurentă fiind o complicație nerezolvabilă la acești bolnavi. Capacitatea *Proteus* spp. de a descompune ureea joacă un rol foarte important în inducerea litiazei urinare. Ureaza hidrolizează ureea până la amoniac și dioxid de carbon. Alcalinizarea urinei prin creșterea nivelului amoniacului determină suprasaturarea magneziului-fosfat și a calciului-fosfat și cristalizarea lor formând calculi. Bacteriile din interiorul pietrelor sunt refractare la tratamentul antibiotic. Pietrele cu dimensiuni mari pot afecta funcția renală. Creșterea nivelului amoniacului în urină, datorată hidrolizării ureei în prezența ureazei, poate să producă și leziuni ale epiteliului tractului urinar.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este bacteriologic, diferențierea *Proteus* spp. de alte microorganisme făcându-se pe baza prezenței „fenomenului de cățărare”, caracterele de cultură, biochimice fiind importante în punerea diagnosticului prezumptiv de infecție cu *Proteus* spp. Diagnosticul definitiv este pus în urma:

- identificării biochimice cu setul lărgit de reacții, care se folosește în cazuri rare de atipii fenotipice ale izolatelor de *Proteus*;
- tipării serologice, care se bazează pe existența a 55 factori antigenici O și 31 H;
- lizotipiei;
- rezistotipiei, folosindu-se antibiotice din grupul β -lactamazelor, aminoglicozidelor și floxacinelor, studiindu-se diferitele grade și spectre de sensibilitate ale *Proteus* spp.

TRATAMENT

Tratamentul se face conform antibiogramei și localizării infecției.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Fiind germeni foarte răspândiți în natură, infecțiile cu acest microorganism depind de statusul imunologic al gazdei, de virulența tulpinilor incriminate, de controlul infecțiilor nosocomiale și a alimentelor.

GENUL PROVIDENCIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Providencia*, (Familia Enterobacteriaceae), cuprinde 5 specii dintre care 4 au fost izolate din prelevate umane, 1 specie fiind izolată doar de la animale.:

- *Providencia rettgeri*
- *Providencia stuartii*
- *Providencia alcalifaciens*
- *Providencia rustigianii*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Habitatul este prea puțin cunoscut, de la om au putut fi izolate cel mai frecvent din urină și materii fecale.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram-negativi, ciliați, necapsulați, nesporulați.

Caractere de cultură

Pe mediile de cultură formează de colonii de tip S.

Caractere biochimice și de metabolism

Din punct de vedere metabolic sunt foarte asemănătoare cu *Proteus* spp. diagnosticul diferențial fiind dat de lipsa migrării pe mediile de cultură simple, utilizării citratului ca unică sursă de carbon și de capacitatea de a scinda malonatul.

Izolate pe mediile selective și diferențiale, se vor dezvolta sub formă de colonii tip S, lactozo-negative. Fermentarea glucozei se face cu eliberare de acid în cantități foarte mici sau fără producere de gaz. Nu produc H₂S dar produc fenilalanindezaminază și indol. Numai unele specii pot produce urează (*P. rettgeri* și unele tulpini de *P. stuartii*).

Structură antigenică

Providencia spp. prezintă antigene somatice O, cu specificitate de grup și antigene flagelare H, cu specificitate de tip. *P. rettgeri* cuprinde 45 serovaruri datorită celor 34 fracțiuni antigenice O și 26 fracțiuni antigenice H. *Providencia stuartii* și *P. alcalifaciens* cuprind, împreună, 45 serovaruri datorate fracțiunilor antigenice O (62), respectiv H (30).

Răspuns imun

Răspunsul imun al gazdei se caracterizează prin formare de anticorpi anti-O și anti-H specifici și neprotectivi.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Speciile *P. rettgeri* și *P. stuartii* cauzează infecții extraintestinale, îndeosebi nosocomiale.

Localizarea infecțiilor la nivelul tractului urinar este cea mai frecvent întâlnită.

P. alcalifaciens este foarte rar izolată la om, și se poate implica în toxiinfecții alimentare sau diaree acută.

Cea mai rar izolată la om este *P. rustigianii*.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul prezumptiv se pune pe baza studiului caracterelor morfotinctoriale, de cultură și biochimice, confirmat prin reacții serologice .

TRATAMENT

Tratamentul se face conform antibiogramei și ținând cont de localizarea infecțiilor.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție provine, în marea majoritate, din mediul intraspitalicesc, infecțiile fiind de obicei nosocomiale. Apariția toxiinfecțiilor alimentare cu *P. alcalifaciens* este datorată manevrării necorespunzătoare a alimentelor.

GENUL MORGANELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Morganella* prezintă o singură specie, *Morganella morganii*, și aparține familiei Enterobacteriaceae.

CARACTERE GENERALE

Habitat

M. morganii are un habitat puțin studiat. La om se poate evidenția din materiile fecale, din urină și mai rar din sânge.

Caractere morfotinctoriale

Morganella spp. sunt bacili Gram-negativi, nesporulați, necapsulați, ciliați.

Caractere de cultură

Sunt germeni nepretențioși, pe geloză simplă formând colonii tip S. Nu prezintă fenomen de migrare, iar pe cele selective coloniile sunt de culoarea mediilor, lactoză negative.

Caractere biochimice și de metabolism

Bacili lactozo-negativi, care produc cantități scăzute de gaz la fermentarea glucozei și nu fermentează zaharoza. Nu produc H₂S, sunt indol-pozitivi, mobili, producători de fenilalanindezaminază. Nu produce lizindecarboxilază și nu utilizează citratul ca unică sursă de carbon.

Structură antigenică

Antigenele somatice O (34 fracțiuni) și antigenele flagelare H (25 fracțiuni) împart specia în serovaruri.

Răspuns imun

Elaborarea anticorpilor anti-O și anti-H neprotectivi.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Singura specie a genului, *Morganella morganii*, a putut fi izolată, la om, din urină în infecțiile urinare post-operatorii și din materii fecale. Rar poate determina infecții generalizate.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator este bazat pe caracterele morfotinctoriale, de cultură și biochimice putând fi confirmată, eventual, prin reacții serologice.

TRATAMENT

Tratamentul se face conform antibiogramei iar profilaxia constă tot în prevenirea și controlul infecțiilor nosocomiale.

GENUL PSEUDOMONAS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Pseudomonas* (Familia *Pseudomonaceae*) reunește bacili Gram negativi, nesporulați, cu unul sau mai mulți flageli polari, nepretențioși nutritiv, strict aerobi, oxidază pozitivi, incapabili să fermenteze glucoza, producători de pigment.

În genul *Pseudomonas* au fost incluse peste 60 de specii genul fiind în continuă remaniere taxonomică. Multe specii ale genului au fost reclasificate în alte 11 genuri.

Palleroni și colegii săi de la Universitatea din California clasifică speciile de *Pseudomonas* în cinci grupe pe baza omologiei ARN-ului ribozomal. După 1990

grupul I rămâne ca gen *Pseudomonas* în timp ce membrii celorlalte grupuri au fost sau vor fi reclasificați. În cele ce urmează, noile denumiri ale speciilor respective vor fi notate în paranteze.

Grupul I este cel mai cuprinzător și include:

- specii fluorescente: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas cichorii*, ultimele 2 specii fiind patogeni ai plantelor.

- specii nefluorescente: *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas mendocina*.

Pseudomonas aeruginosa este specia tip a genului, specia cel mai ușor de identificat, cea mai bine cunoscută din punct de vedere genetic, cel mai important microorganism oportunist al omului.

Pseudomonas fluorescens poate fi subdivizată pe baza a numeroase criterii taxonomice în biotipuri sau biovaruri.

Grupul II cuprinde specii patogene: *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia*, specie patogenă pentru plante, animale și accidental pentru om, *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *pseudomallei* și *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *mallei* patogen al animalelor și accidental al omului.

În grupul III de omologie ARNr sunt încadrate cinci specii: *Pseudomonas* (*Comamonas*) *acidovorans*, *Pseudomonas* (*Comamonas*) *testosteroni*, *Pseudomonas saccharophila*, *P. facilis*, *P. delafieldii*, *P. alboprecipitans*, *P. palleroni*.

Grupul IV este format din 2 specii, *P. diminuta* și *P. vesicularis* care, din punct de vedere al proprietăților pe care le exprimă, se apropie mai mult de *Gluconabacter*.

Grupul V a fost în cea mai mare parte inclus în genul *Xanthomonas*, mai cuprinde și speciile *P. geniculata*, *P. gardneri*. Spre deosebire de celelalte specii ale genului *Xanthomonas* care sunt patogene pentru plante, *X. maltophilia* este saprofit, izolat ocazional din mediul spitalicesc. În prezent genul *Xanthomonas* a primit o nouă denumire: *Stenotrophomonas*.

Tulpinile de *Pseudomonas* care nu au putut fi incluse în nici una din grupele de omologie ARNr fac parte din genurile *Sphingomonas*, *Chriseomonas*, *Flavimonas* și din grupul „*Pseudomonas* similare Grup-2”.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

CARACTERE GENERALE

Este numit și „bacilul piocianic” este specia izolată cel mai frecvent în laboratorul de bacteriologie.

Habitat

Comensal al tubului digestiv, este un microorganism ubicuitar, prezent în sol, pe plante. Este o bacterie căreia îi place apa. A fost izolată din apa de râu, de canal, de piscină, de mare, din apa potabilă, minerală, termală etc. Se găsește pe

vegetale, legume, fructe, flori. Contaminează produsele alimentare sau farmaceutice chiar dacă sunt stocate la frigider. Este din ce în ce mai frecvent izolat din mediul de spital de pe diferite suprafețe sau chiar de pe instrumente, dispozitive medicale, din soluții antiseptice, injectabile, produse medicamentoase sau cosmetice.

Caractere morfotinctoriale

Pseudomonas aeruginosa este un bacil fin, Gram negativ, dispus izolat, în perechi sau lanțuri scurte, nesporulat, prezentând un cil polar care îi conferă mobilitate.

Caractere de cultură

Este un germen nepretențios care poate crește și în apă distilată. Poate crește pe medii simple în strictă aerobioză. Temperatura la care se poate dezvolta variază în limite largi pentru tulpinile patogene: 5 - 42°C. După 24 ore de incubare dezvoltă colonii S, transparente. Atât colonia cât și mediul sunt pigmentate în verde-albăstrui, colonia având reflexe metalice. Cultura emană un miros aromat de tei, salcâm sau iasomie. Pe geloza-sânge cultura este înconjurată de o zonă largă de hemoliză beta. Pe medii lactozate coloniile sunt lactoză negative

Pentru identificare se folosesc medii care stimulează producerea de pigment: mediul King A pentru piocianină și mediul King B pentru pioverdina.

Pe medii lichide, *Pseudomonas aeruginosa* crește sub forma unei pelicule fine la suprafață sub care se acumulează un strat de pigment.

Caractere biochimice

Pseudomonas aeruginosa nu atacă fermentativ zaharurile dar poate descompune oxidativ glucoza determinând acidifierea mediului. Este oxidază pozitiv, descompune gelatina, nu produce indol, H₂S, urează. Sintetizează o serie de enzime (nitrat-reductază, arginin-dehidrogenază) în timp ce este deficitar în sinteza lizin-decarboxilazei, ornitin-decarboxilazei, ortonitrofenil-galactozei. Utilizează diferite substraturi ca unică sursă de carbon: glucoză, acid lactic, acid acetic, manitol, arginină, citrat, malonat etc.

Produce pigment alcătuit din 2 componente:

- piocianina de culoare verde-albăstruie, solubilă în cloroform;
- pioverdina, galben-verzuie, fluorescentă, solubilă în apă.

Există totuși 10% din tulpini care nu produc pigment și 1% din tulpini care produc un pigment roșu sau negru.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Este o bacterie rezistentă în mediul extern, supraviețuind mai multe luni de zile și chiar multiplicându-se în apă la temperatura mediului ambiant.

Produce bacteriocine care au efect bacteriostatic față de alte tulpini (piocine și aeruginocine).

Este rezistent și față de unele antiseptice și dezinfectante. Este sensibil la pH acid și la sărurile de Ag.

Este deosebit de rezistent față de antibiotice. Rezistența naturală față de antibiotice este datorată impermeabilității membranei externe și producerii unei beta-lactamaze inductibile. Rezistența dobândită apare prin 2 mecanisme care uneori au acțiune sinergică:

- Structura lipopolizaharidului membranelor este heterogenă, porinele membranei externe, al căror număr și dimensiuni variază, condiționează permeabilitatea pentru antibiotice.

- Posedă numeroase plasmide transferabile prin conjugare sau prin transducție și mare parte a tulpinilor sunt lizogene. Se explică astfel numeroasele variații genetice ale tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa*, în special în ceea ce privește polirezistența față de substanțele antibacteriene.

Este sensibil la acțiunea unui număr variabil de bacteriofagi.

Structură antigenică

Pseudomonas aeruginosa posedă un antigen somatic O, de natură lipopolizaharidică, termostabil, localizat în peretele bacterian. Acest antigen are 20 de variante față de 16 dintre ele fiind obținute seruri imune specifice (O:1 – O:16). Aceste seruri pot fi livrate și sub forma de seruri polivalente, fiecare grupând 4 antiseruri, notate cu litere majuscule A, C, E, F. Serotipurile O:6 și O:11 sunt cel mai frecvent izolate în laboratorul de bacteriologie medicală iar serotipul O:12 este foarte rezistent la antibiotice.

Antigenul flagelar H este de natură proteică.

Slime, substanța mucoidă extrasă din coloniile mucoase ale tulpinilor implicate în infecții ale tractului respirator la pacienți cu fibroză chistică este factor de adeziune.

Răspuns imun

Persoanele cu sistem imun integru se apără față de colonizarea cu *Pseudomonas aeruginosa* prin mecanisme nespecifice: fagocitoză și complement seric. Mijloacele apărării nespecifice pot fi depășite în urma ingestiei sau inoculării unei cantități mari de germen sau a unei tulpini foarte virulente. În aceste cazuri infecția se instalează și se generalizează înainte ca organismul să dezvolte un răspuns imun specific.

Imunitatea este asigurată de anticorpi anti-lipopolizaharidici, anti-proteaze și anti-toxici.

Caractere de patogenitate

Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* sunt patogene prin virulență și toxigenă. Este puțin virulent pentru organismul sănătos dar devine agresiv pentru cei imunodeprimați.

Virulența este asigurată de:

- capsulă. Are rol de adezină, împiedică pătrunderea antibioticelor în celula bacteriană, are rol antifagocitar;

- pili. Asigură adeziunea de substratul specific;

- lipopolizaharidul din peretele bacterian, are rol de endotoxină;

- sideroforii.

- Tulpinile patogene de *Pseudomonas aeruginosa* sintetizează numeroase substanțe difuzibile cu efect toxic:

- citotoxina de natură proteică, alterează leucocitele;

- hemolizine, glicolipide, fosfolipaza C care acționează sinergic;

- proteaze, elastaze, colagenaze care lezează țesuturile;

- exotoxina A, de natură proteică, sintetizată în cantități variabile în funcție de tulpină. Are structură și mod de acțiune similar toxinei difterice dar nu poate fi transformată în anatoxină. Inhibă sinteza proteică, lezează țesuturile, are acțiune de imunodeprimare;

- exotoxina S, mai puțin toxică, prezentă la tulpinile cu afinitate pentru țesutul pulmonar. Inhibă sinteza proteică și produce imunosupresie.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Este un germen condiționat patogen afectând cu precădere persoane cu sistemul imunitar în suferință. În funcție de poarta de intrare cauzează:

- infecții cutanate, consecință a băilor în ape poluate: foliculită, piodermită, intertrigo, otită externă;
- infecții cutanate apărute în mediul spitalicesc: infecții ale plăgilor chirurgicale, traumatice, ulcerose, a escarelor sau arsurilor;
- infecții iatrogene, datorate îngrijirilor medicale sau manevrelor instrumentare: otită medie sau externă, meningită, endocardită după chirurgie cardiacă, osteoartrită după injecții intraarticulare, infecții urinare după sondaj etc;
- bronhopneumopatii: frecvente la pacienți cu altă boală de bază (neoplasm, mucoviscidioză, leucemie, diabet zaharat etc);
- infecții digestive: enterite acute după tratamente antibiotice orale de lungă durată sau după consum de apă contaminată;
- infecții oculare: secundare intervențiilor chirurgicale sau instilării de colire contaminate, utilizării soluției de curățare a lentilelor de contact contaminate cu *Pseudomonas* spp. Evoluția infecției este gravă.

Etapele instalării procesului infecțios sunt colonizarea, invazia, diseminarea și difuzia toxinelor în organismul uman.

Colonizarea celulelor epiteliale ale tegumentului și mucoaselor se realizează prin intermediul adevizinelor, fimbriilor sau prin producerea de „slime” susținute de acțiunea citotoxinei și a factorului leucopeniant care asigură protecția germenului față de fagocitoză.

Invasia este asigurată de acțiunile unor factori ca proteaza, elastaza, hemolizina, exotoxina A care alterează țesutul, distrug complementul, imunoglobulinele și fibronectina. Fosfolipaza C are afinitate pentru țesutul pulmonar unde distruge surfactantul al cărui rol este acela de a se opune transsudării fluidelor capilare.

În faza de diseminare intervin exotoxina A și endotoxina de natură lipopolizaharidică cauzând uneori șocul septic cu evoluție deosebit de gravă.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

În practica medicală *Pseudomonas aeruginosa* este izolat dintr-o multitudine de prelevate: urină, materii fecale, spută, puroi, sânge, prelevate din mediul de spital etc.

Izolarea se poate face pe medii simple însă pentru prelevatele plurimicrobiene este indicat un mediul selectiv care să conțină cetrimid.

Pentru identificare este suficient aspectul coloniilor, prezența de pigment, mirosul caracteristic, oxidaza pozitivă, hemoliza beta. De reținut că 5-10% din tulpini nu produc pigment iar 1% produc pigment roșu sau negru!

Pentru identificarea de specie și pentru diferențierea biotipurilor se utilizează auxonograma (testul de asimilare a diferitelor substraturi ca sursă de carbon) pentru glucoză, acid lactic, acid acetic, manitol, arginină, citrat, malonat etc.

În cazul unor infecții nosocomiale cauzate de tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* este necesară identificarea elementelor fenotipice caracteristice tulpinii izolate, a „markerilor epidemiologici” ai tulpinii prin:

- serotipie. Se identifică serotipurile O prin reacții de aglutinare cu seruri imune specifice. Trebuie reținut că există tulpini (5-10%) pentru care nu putem utiliza serotipia acestea fiind tulpini de tip R, mucoase, non-aglutinabile sau poli-aglutinabile.
- lizotipie. *Pseudomonas aeruginosa* este sensibil la acțiunea unor bacteriofagi ceea ce permite identificarea lizotipurilor în cadrul speciei.
- bacteriocinotipie. Poate fi testată producerea de bacteriocine de către tulpina izolată folosind tulpină de referință cu sensibilitate cunoscută sau se poate testa efectul piocinei elaborate de o tulpină cunoscută asupra tulpinii izolate, necunoscute.
- biotipia. Caracterile care permit identificarea biotipurilor în cadrul speciei sunt: pigmentul, hidroliza gelatinei, asimilarea argininei, testul ortonitrofenil-galactozei (ONPG).
- antibiotipia. Rezultate identice ale antibiogramelor efectuate pentru tulpinile izolate din focarul de infecție este un bun marker de identitate al tulpinilor.

TRATAMENT

Pseudomonas aeruginosa este o bacterie renumită pentru extraordinara rezistență față de substanțele antibacteriene ceea ce pune serioase probleme terapeutice favorizând în același timp răspândirea bacteriei în mediul de spital. Tratamentul infecțiilor cauzate de *Pseudomonas aeruginosa* se face obligatoriu sub controlul antibiografei și întotdeauna cu o asociere de antibiotice.

Vaccinoterapia cu vaccin monovalent se aplică pacienților cu afecțiuni respiratorii cauzate de *Pseudomonas aeruginosa*. Vaccinul anti-piocianic polivalent asociat cu administrarea de ser hiperimun anti-piocianic este indicată pentru pacienții cu arsuri extinse.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Este un germen ubicuitar preferând în special mediile umede, astfel că solul, alimentele, apa, diferitele suprafețe, totul poate constitui sursă și în același timp suport material de transmitere pentru *Pseudomonas aeruginosa*.

Este o bacterie periculoasă în mediul spitalicesc pentru că aici există o mare aglomerare de persoane susceptibile la infecție și pe de altă parte sunt selectate tulpini virulente și foarte rezistente față de antibiotice. Principala sursă de *Pseudomonas aeruginosa* în spital este flora endogenă a bolnavului ca și elemente din mediu: apa din vaza de flori, plantele din ghiveci, apa din conducte, din umidificatoare, fructele și legumele consumate crude, chiar și soluțiile antiseptice sau dezinfectante. Calea de transmitere o reprezintă mâna, instrumentele sau dispozitivele medicale contaminate: sonde, catetere, canule, masca de oxigen etc.

Se impune o activitate susținută de prevenire a infecțiilor nosocomiale cu *Pseudomonas aeruginosa* prin măsuri de igienă generală și individuală, prin aplicarea corectă a măsurilor de dezinfecție, antisepsie și aseptie.

Profilaxia specifică este indicată pacienților de la terapie intensivă, de la secțiile de arși și se realizează cu:

- vaccin antipiocianic polivalent
- ser imun polivalent.

ALTE SPECII DE PSEUDOMONAS

Alte specii de Pseudomonas sunt saprofiți ai solului sau ai apei. Se întâlnesc în mediul de spital comportându-se ca și contaminanți sau condiționat patogeni pentru pacienții spitalizați. Sunt implicați în episoade de infecții nosocomiale: Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida, Burkholderia cepacia, Xanthomonas (Stenotrophomonas) maltophilia. Au fost izolate de la pacienți cu bacteriemie, septicemie, infecție de cateter intravenos, infecții brohopulmonare, meningite.

Sunt rezistente la antibiotice, dezinfectante și antiseptice.

Bacili Gram negativi anaerobi

GENUL BACTEROIDES

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul Bacteroides cuprinde mai multe specii: B.fragilis, B.thetaiotaomicron, B.distanosis, B.vulgatus, B.ovatus, B.uniformis.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Au ca habitat intestinul unde se găsesc în cantitate de 10^9 germeni / gram de materii fecale.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram negativi, mari, polimorfi, colorați bipolar, neciliați.

Caractere de cultură

Cultivă în strictă anaerobioză, la 37°C, pe medii cu sânge. Crește sub formă de colonii mari, bine delimitate, netede, lucioase, în general nehemolitice. Creșterea le este inhibată pe medii cu dezoxicolat dar este stimulată de bilă. Pe geloza-sânge cu bilă Bacteroides fragilis descompune sărurile biliare ducând la apariția unui precipitat cafeniu în jurul coloniei. Pe agarul bilă-esculină hidrolizează esculina determinând înnegrirea mediului

Caractere biochimice

Descompune fermentativ carbohidrații cu eliberare de acid și gaz metabolizii finali fiind acidul acetic și acidul succinic.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Produc beta-lactamază care inactivează penicilinele și cefalosporinele cu excepția cefamicinelor. Sunt sensibile față de metronidazol și clindamicină.

Caractere de patogenitate

Bacteroides fragilis este patogen prin:

- lipopolizaharidul cu specificitate de tip care are activitate endotoxică slabă;
- capsula polizaharidică ce are rol antifagocitar;
- enzime eliberate extracelular: proteinaze, colagenaze, fibrinolizina, fosfataze, hialuronidaze etc.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Sunt implicate în majoritatea infecțiilor cu germeni anaerobi cauzând afecțiuni pleuro-pulmonare, peritoneale, ginecologice, septicemice.

GENUL PORPHYROMONAS

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul Porphyromonas cuprinde specii anaerobe, comensale ale microbiotei intestinale și bucale dintre care mai cunoscute sunt: P.asaccharolytica, P.catoniae, P.endodontalis.

CARACTERE GENERALE

Habitat

P.asaccharolytica habitează colonul și vaginul în timp ce P.catoniae, P.endodontalis sunt componente ale microbiotei din crevasele gingivale.

Caractere morfotinctoriale

Se prezintă sub formă de bacili și cocobacili Gram negativi, neciliați, nesporulați.

Caractere de cultură

Pretențioase nutritiv, cultivă lent, în strictă anaerobioză producând un pigment brun sau negru care poate colora colonia, se poate dezvolta în jurul sau sub colonie în interval de 6-10 zile. După incubare la 37°C timp de 5-7 zile apar colonii de diferite dimensiuni, rotunde, cu margini bine delimitate, lucioase, umede

Caractere biochimice

Descompune fermentativ o serie de aminoacizi: aspartic, glutamic cu metaboliți finali acidul n-butiric, acetic și propionic.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt sensibile la amoxicilină, macrolide, clindamicină, fluorochinolone, metronidazol.

PATOGENIE. BOALA LA OM

P. asaccharolytica este implicată în infecții mixte legate de tractul intestinal inferior, infecții gangrenoase sau ulcere ale piciorului diabetic. *P. catoniae* intervine în boala parodontală iar *P. endodontalis* are rol în formarea plăcii dentare subgingivale, determină abcese periapicale severe, distructive.

GENUL PREVOTELLA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Germenii din genul *Prevotella*, componenți ai microbiotei bucale, produc pigment negru, sunt glucidolitice și sunt responsabile de infecții pleuro-pulmonare, gingivale, în sfera ORL sau pelvi-peritoneale. Specii mai frecvent întâlnite: *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Sunt componenți ai microbiotei bucale. *P. melaninogenica* se găsește în crevasele gingivale și în vagin. *P. intermedia* și *P. nigrescens* fac parte din microbiota colonului și a cavității bucale a omului și animalelor.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram negativi polimorfi predominând formele cocobacilare, neciliați, nesporulați.

Caractere de cultură

În strictă anaerobioză, după incubare la 37°C timp de 48 de ore, apar colonii de diferite dimensiuni, rotunde, cu margini bine delimitate, lucioase, umede. Unele specii produc un pigment brun sau negru care poate colora colonia, se poate dezvolta în jurul sau sub colonie. Hemoliza variază cu specia.

Creșterea este favorizată de hemină și menadionă și inhibată de concentrația de 6,5% NaCl, bilă, săruri biliare.

Caractere biochimice

Descompune fermentativ carbohidrații eliberând ca metaboliți finali acid acetic și succinic.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt, în marea majoritate, sensibile la benzilpenicilină și amoxicilină deși unele tulpini, prin secreția de beta-lactamază devin rezistente față de aceste substanțe antibacteriene. Sunt sensibile față de macrolide și metronidazol.

Structură antigenică

PATOGENIE. BOALA LA OM

P.melaninogenica este implicată în infecții endogene cu punct de plecare crevasele gingivale și vaginul. *P.intermedia* și *P. nigrescens* participă la inițierea și progresia parodontopatiilor marginale cronice.

GENUL FUSOBACTERIUM

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Fusobacterium* cuprinde specii strict anaerobe dintre care amintim: *F.necrophorum*, *F.nucleatum*, *F.naviforme*, *F.mortiferum*, *F.varium* etc.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Fusobacterium nucleatum, *F.periodonticum*, *F. alocis* și *F.necrophorum* au ca habitat cavitatea bucală a omului. *F.naviforme* și *F.gonidioformans* sunt componente ale microbiotei vaginale.

Alte specii de fusobacterii fac parte din flora tractului intestinal.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram negativi polimorfi: forme filamentoase, balonizate, fusiforme, cocobacilare. Nu prezintă cili sau spor.

Caractere de cultură

Cultivă în strictă anaerobioză, la 37°C, incubare timp de 48 de ore după care apare cultura ce emană un intens miros putid. Coloniile sunt:

- mari, turtite, opace, albe sau cenușii, margini neregulate, înconjurate de beta-hemoliză – *Fusobacterium necrophorum* subspecia *necrophorum*;
- mici, rotunde, margini regulate, cenușii, slab și tardiv beta-hemolitice - *Fusobacterium necrophorum* subspecia *funduliformis* sau alte specii;

Caractere biochimice

Descompune fermentativ carbohidrați, aminoacizi sau peptide eliberând în final acid n-butiric.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt sensibile la clindamicină, carbapeneme, metronidazol. Produc beta-lactamaze ceea ce le conferă rezistență față de antibioticele de tip beta-lactamic.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Fusobacterium nucleatum, *F. periodonticum*, *F. alocis* participă la formarea plăcii dentare. *F. nucleatum* este implicat în parodontite acute și cronice, abcese cerebrale, abcese hepatice, infecții ale țesuturilor moi faciale.

F. necrophorum a fost izolat din infecții ale țesuturilor moi periorale și din infecții în sfera genitală.

Bacili Gram negativi încurbați

GENUL VIBRIO

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Microorganismele din acest gen sunt bacili Gram negativi, încurbați în virgulă, mobili printr-un flagel polar, nesporulați, necapsulați, catalazo- și oxidazo-pozitivi. Se multiplică în mediu alcalin (pH 7-9) fiind organisme acvatice adaptate la variate salinități.

Sunt cunoscute 36 de specii de *Vibrio*, dintre care cel puțin 12 sunt patogene sau cu potențial patogen pentru om. Germenii din acest gen determină cel mai frecvent boli gastrointestinale dar și infecții invazive (septicemii cu punct de plecare necunoscut sau din plăgi suprainfectate), infecții ale plăgilor expuse la apă marină. Specii cu importanță medicală sunt

- *Vibrio cholerae*, agentul etiologic al holerei,
- *Vibrio parahaemolyticus*, determină infecții gastrointestinale, infecții ale plăgilor,
- *Vibrio vulnificus*, determină septicemie, infecții localizate ale plăgilor.

VIBRIO CHOLERAE

CARACTERE GENERALE

Habitat

Vibrionii sunt microorganisme acvaticice, putând supraviețui în ape marine sau ape dulci și formează o microfloră autohtonă a apelor sălcii, a lacurilor sărate, estuarelor și a apelor marine și oceanice din vecinătatea țărmurilor situate în zonele temperate și calde.

În apele dulci se pot găsi speciile non-halofile, ca *V. cholerae*, dar prezența lor este tranzitorie. În apele marine și estuariene, speciile halofile care tolerează concentrații crescute de NaCl persistă sub mai multe forme: forma liberă, forma epibiotică și forma dormantă. Forma liberă persistă atât timp cât apa le oferă concentrații optime de nutrienți necesari pentru creștere. Forma epibiotică reprezintă o asociere strânsă a vibrionilor cu matricea chitinoasă a zooplanctonului, scoicilor sau a copepodelor. Această asociere este favorizată de producerea de către vibrioni a chitinazei care poate descompune și recicla substanța organică planctonică. Forma dormantă este reprezentată de microvibrioni și celule viabile dar necultivabile și a fost demonstrată prin colorații imunofluorescente a probelor de mediu.

Caractere morfologice

Sunt bacterii cu formă de bastonașe relativ scurte (1,5 - 3 / 0,5μm), încurbate sau drepte, alteleori în formă de S, Gram negative, prezentând un flagel la unul dintre capete. Nu prezintă spori și nici capsulă.

Caractere de cultură

Vibrionii sunt bacterii aerobe. Cresc pe medii cu pH alcalin care au în componență săruri biliare. Pe apă peptonată alcalină vibrionii au o creștere rapidă, în 6 ore fac un văl fin la suprafață și tulbură mediul.

Pe mediile solide dau colonii de tip S, umede. Pe mediul TCBS descompun sucroza coloniile având culoarea galbenă. Pe geloză sânge variantele neholerigene produc în general colonii hemolitice. Dintre tulpinile holerigene, biotipul El Tor produce hemoliză beta.

Caractere biochimice și de metabolism

Vibrio cholerae este un germen aerob, oxidazo-pozitiv și catalazo-pozitiv. Descompune unele zaharuri (glucoză, manoză, sucroză și galactoză), este indol pozitiv, nu produce urează și H₂S

Acțiunea agenților fizici și chimici

Vibrio cholerae moare repede prin expunere la lumină, uscare și antiseptice. În scaunul bolnavilor rezistă câteva zile la frig. Rezistența sa în apă depinde de temperatură, pH, și prezența altor microorganisme. În zonele temperate se izolează din ape, sedimente, plancton, pește, moluște și crustacee în anotimpurile călduroase. Dacă temperatura apei nu scade sub 10°C se pot izola în toată perioada anului. În fructe, pește și alte viețuitoare marine rezistă 2 – 3 zile

la temperaturi de 20 - 30°C, iar în unt și înghețată mai multe zile. În lapte moare repede datorită mediului acid.

Structura antigenică

Vibrio cholerae posedă antigen flagelar H și un antigen somatic O. Antigenul flagelar H este comun tuturor vibriunilor.

Pe baza antigenului somatic O vibriunii au fost încadrați în mai multe serogrupe notate O₁-O₆ și O₁₃₉. Dintre acestea patogene (holerigene) sunt serogrupurile O₁ și O₁₃₉. Celelalte serogrupuri sunt neholerigene.

Serogrupul O₁ prezintă două biotipuri: clasic și El Tor, diferențiate pe baza unor proprietăți fiziologice și a sensibilității față de bacteriofagi. Tot serogrupul O₁ prezintă 13 factori antigenici notați cu litere mari de la A la M. Prin combinația acestor factori antigenici, biotipurile se subdivid în 3 serotipuri: Inaba (A+C), Ogawa (A+B) și Hikojima (A+B+C)

Răspunsul imun

În urma infecției holerică apar anticorpi față de:

- antigenul somatic O. Sunt considerați vibriocizi deoarece determină liza vibriunilor în prezența complementului seric. Titrul acestor anticorpi crește atingând un maxim la 10 zile de la infecție, apoi scade rămânând la un titru constant 2 – 7 luni. Prezența lor determină rezistență la reinfecții.

- antigenul flagelar H. Anticorpii antiflagelari determină imobilizarea vibriunilor.

- anticorpi antitoxici.

Cu toate că titrul anticorpilor virulicizi scade, totuși nu se observă foarte multe reinfecții. Acest lucru poate fi explicat prin prezența anticorpilor secretori de tip IgA. Aceștia acționează la nivelul mucoasei intestinale și nu necesită prezența complementului.

Imunitatea după vaccinare este parțială și durează numai 3-6 luni.

Caractere de patogenitate

Cel mai important caracter de patogenitate este reprezentat de producerea de **toxină** holerică. Aceasta este o enterotoxină de natură proteică. Este alcătuită din două subunități active A și 5 subunități de aderare. Subunitățile B se fixează de receptori specifici ai enterocitelor, permițând subunităților A să acționeze. Acțiunea lor constă în activarea adenilciclazei urmată de acumularea de AMPc în enterocite. Activarea sistemului adenilciclază/AMPc duce la inhibarea absorbției intestinale de sodiu și creșterea secreției de apă în lumenul intestinal. De asemenea crește eliminarea de potasiu și bicarbonat de sodiu. Urmarea acestei acțiuni este apariția unei diareei apoase cu pierdere masivă de electroliți.

Alți factori de patogenitate sunt mobilitatea și producerea de chemotaxine care permit vibriunilor să se îndrepte direct către suprafața enterocitelor.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Vibrio cholerae produce holera, o toxiinfecție alimentară caracterizată clinic prin diaree apoasă urmată de deshidratare gravă, colaps algid, alterarea profundă a stării generale, cu evoluție gravă și o mortalitate de 50 - 80% dacă nu este tratată și de 1 - 2% sub tratament. Boala poate evolua ușor sau chiar asimptomatic. Suportul material al transmiterii este apa și alimentele contaminate

(în special carnea viețuitoarelor acvatic), transmiterea prin contact cu persoane bolnave fiind mai rar întâlnită.

Bacteria pătrunde pe cale orală și dacă rezistă acidității gastrice va coloniza intestinul subțire dacă acesta oferă un mediu alcalin favorabil. Bacteria produce adevine și o enzimă, mucinaza. Adevinele permit aderarea ei directă de glicocalix iar mucinaza degradează parțial glicoproteina care formează glicocalixul. Mobilitatea și producerea de chemotaxine permit vibrionilor să se îndrepte direct către suprafața mucoasei intestinale. După aderare, pentru a produce boala, *V. cholerae* trebuie să secrete enterotoxina. Această toxină, prin activarea sistemului adenilciclază/AMP-ciclic, determină diaree apoasă cu pierdere de electroliți.

Vibrionii nu trec bariera intestinală deci infecția holerică este infecție intestinală localizată.

Elementul esențial în patogenia holerei este pierderea cantităților mari de apă (15-20 l/zi) și de electroliți. Aceasta determină o hemoconcentrație, creșterea vâscozității sanguine cu dificultăți în circulație. Pierderile de potasiu duc la hipotonie musculară accentuată, cu interesarea miocardului. Pierderile de baze determină acidoza metabolică. În cazurile grave apare și hiperbilirubinemia datorită hemolizei intravasculare produsă de toxină. Toate aceste modificări stau la baza apariției insuficienței circulatorii periferice însoțită de oligurie sau chiar de anurie și insuficiență renală.

După o incubatie de 6 ore până la 5 zile, debutul este brusc cu diaree apoasă cu scaune frecvente și neînsoțite de colici abdominale. Se descriu vărsături, febră și crampe musculare. În perioada de stare se disting trei stadii stadiul diareic, stadiul de colaps algid și stadiul de reacție. În stadiul diareic scaunele devin frecvente, apoase cu conținut fecaloid minim, cu aspect de lichid tulbure care conține granule albicioase, ca o zeamă de orez. Cantitatea de apă pierdută poate fi de 10-15 l/24 h. Apar semnele de deshidratare acută. Al doilea stadiu de colaps algid apare ca urmare a insuficienței circulatorii și se manifestă prin hipotensiune, puls imperceptibil, apatie, hipotermie și moarte prin șoc hipovolemic. Stadiul de reacție apare când boala evoluează spre vindecare. Boala poate evolua sub diferite forme: ușoare, abortive, medii, grave sau fulminante.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator al holerei se bazează pe izolarea și identificarea vibrionului holeric din materiile fecale. Confirmarea diagnosticului se face la nivelul laboratoarelor de referință.

Se recoltează materii fecale emise spontan care se însămânțează cât mai repede deoarece vibrionii sunt foarte sensibili la uscăciune. Dacă nu este posibil acest lucru se pot utiliza medii de transport cum ar fi mediul Carry-Blair sau apa peptonată alcalină. Aceasta se folosește și ca mediu de îmbogățire.

La examenul direct macroscopic aspectul scaunului este caracteristic: apos cu conținut fecaloid minim, reprezentat de granulații riziforme, ca zeama de orez.

Preparatul nativ din scaunul diareic caracteristic examinat la microscopul cu fond întunecat relevă mișcarea vie, de rostogolire caracteristică bacteriilor monoflagelate.

Izolarea se face inițial pe apă peptonată alcalină ca mediu de îmbogățire. După o incubare de 6 ore se vor face treceri pe medii selective: BSA și TCBS, geloză sânge alcalină. Incubarea se face în aerobioză, la 37°C, 24 de ore.

Pentru identificare se urmăresc caracterele microscopice, caracterele de cultură, se efectuează teste biochimice și se identifică cu seruri specifice.

Coloniile suspecte de la un bolnav cu scaune holeriforme se repică și se identifică printr-o reacție de aglutinare cu ser anti holeric O₁ și O₁₃₉.

Rezultatul pozitiv se comunică imediat medicului curant iar tulpina izolată se trimite pentru confirmarea diagnosticului la laboratorul de referință. Transportul tulpinilor se face în condiții bine stabilite pentru a evita contaminarea mediului și a altor persoane.

Cu toate că *V. cholerae* este sensibil la multe antibiotice se efectuează antibiograme pentru a urmări instalarea rezistenței.

TRATAMENT

Cea mai importantă măsură terapeutică o reprezintă compensarea rapidă a pierderilor hidroelectrolitice prin rehidratare intravenoasă. Când boala se ameliorează și există toleranță gastrică se poate trece la rehidratarea orală.

Medicația antimicrobiană se administrează în cure scurte, iar antibioticul se alege în funcție de rezistența la antibiotice a tulpinilor circulante în focarul endemic.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE ȘI CONTROL

Holera se cunoaște din 1817 când a apărut în India, Pakistan și Birmania, apoi s-a extins pe tot globul fiind descrisă prima pandemie. De atunci au fost descrise în total 7 pandemii. În prezent holera a rămas endemică în India și o parte din țările din Asia și Africa (Afghanistan, India, Cambodgia, Malaezia, Nepal, Sri Lanka) și apare sporadic în America de Nord, Australia și unele țări europene.

Rezervorul de infecție principal îl reprezintă omul bolnav, purtătorul convalescent și purtătorul sănătos. O altă sursă de infecție o reprezintă rezervorul extrauman, vibriunii supraviețuind în organismul sau cochilia unor viețuitoare marine cum ar fi unele specii de crustacei, moluște și pești.

Transmiterea infecției se face în principal prin consum de apă contaminată mai ales în zonele endemice, dar se poate face și prin consumul alimentelor marine insuficient tratate termic. Transmiterea se face pe cale fecal-orală prin contact direct interuman în condiții precare de igienă, ingerarea de apă și alimente contaminate, contactul cu diferite obiecte contaminate (veselă, rufărie). Muștele pot interveni în transmitere ca vectori.

Contagiozitatea bolii este mare mai ales când este provocată de biotipul El Tor, în condiții socio-economice precare.

Receptivitatea bolii este generală. S-au descris factori favorizanți ai îmbolnăvirii deoarece dintre persoanele infectate doar o parte dezvoltă boala. Factorii favorizanți sunt reprezentați de starea de subnutriție, hipoaciditatea gastrică. Sugarul alimentat la sân are o anumită rezistență la boală datorită anticorpilor materni și a riscului mai mic de a consuma apă contaminată.

Măsurile de profilaxie sunt cele nespecifice pentru bolile cu transmitere fecal-orală și măsuri specifice.

Măsurile nespecifice includ măsuri de ridicare a standardelor de educație sanitară, de igienă generală și alimentară; renunțarea la consumul alimentelor

marine în stare crudă dacă sunt recoltate din zone cunoscute că ar fi populate cu vibrioni; evitarea contaminării alimentelor gătite cu cele crude.

Măsurile specifice sunt reprezentate de vaccinare. În acest domeniu țara noastră are prima contribuție în pandemia din 1913, când pe teritoriul României s-a practicat pentru prima dată vaccinarea pe scară largă, care a dus la stingerea rapidă a epidemiei.

Primele vaccinuri au fost cu administrare parenterală cu eficiență mai redusă. În prezent se încearcă dezvoltarea vaccinurilor cu administrare orală, utilizând mai multe metode: vaccinuri corpusculare inactivate, vaccinuri vii obținute prin inginerie genetică.

Vaccinurile corpusculare inactivare cu administrare orală conferă o imunitate de 6 luni și se pot administra în zonele endemice. Vaccinurile vii cu administrare orală, obținute prin inginerie genetică par a fi o promisiune în creșterea eficienței vaccinării holerice.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS

V. parahaemolyticus este agentul etiologic al unor gastroenterite cu scaune sangvinolente ce apar după consumul de animale marine. De asemenea determină și infecții extraintestinale cum ar fi infecția plăgilor, otite, conjunctivite. Aceste infecții au un caracter profesional și apar la personalul care se ocupă cu transportul animalelor marine. Bacteria s-a izolat și din sânge.

Boala este mai frecventă în zonele de coastă ale mărilor și oceanelor, primele și cele mai multe cazuri fiind descrise în Japonia.

Diagnosticul bolii se suspectează pe baza semnelor clinice, a datelor epidemiologice (zona geografică, obiceiurile culinare din zonă). Diagnosticul se confirmă prin examene de laborator care urmăresc izolarea bacteriilor din materii fecale și din alimentele suspecte. Metodele de laborator sunt comune cu cele folosite pentru identificarea celorlalți vibrioni. *V. parahaemolyticus* se deosebește de *V. cholerae* prin faptul că este halofil și crește pe medii hiperclorurate.

VIBRIO VULNIFICUS

V. vulnificus produce două forme clinice de boală:

- septicemie primară care apare după ingerarea orală a bacteriei și are o rată mare de mortalitate

- o formă localizată de infecție a plăgilor care poată evolua spre necroză.

Boala are un caracter profesional fiind mai frecventă la persoanele care manevrează carnea de pește sau curăță bazinele de pești. Bacteria trăiește în apele și viețuitoarele marine din zonele calde.

Diagnosticul se confirmă prin izolarea bacteriei din sânge și puroi prin metode folosite pentru vibrioni. Se remarcă faptul că *V. vulnificus* este o specie halofilă și descompune lactoza.

GENUL HELICOBACTER

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Microorganismele din acest gen sunt bacili spiralați, Gram negativi, cu 4-6 flageli la un pol și sunt microaerofili. Pe baza acestor caractere au fost încadrați la început în genul *Campylobacter*. Mai recent, studii de taxonomie moleculară au pledat pentru încadrarea lor într-un gen nou, genul *Helicobacter*.

Germeii din genul *Helicobacter* au ca habitat natural omul și animalele care le găzduiesc în:

- stomac: *H.pylori*, *H.heilmanni*, *H.nemestrinae*, *H.acinonyx*, *H.mustelae*, *H.felis*, *H.bizzozeronii* etc;
- intestin: *H.cinaedi*, *H.fennelliae*, *H.canis*, *H.hepaticus*, *H.pullorum*, *H.bilis*, *H.muridarum* etc.

Importanță medicală o are *Helicobacter pylori* și mai puțin *Helicobacter heilmannii*. Evidențierea în 1982, prin examen microscopic și cultură a *H. pylori* în biopsiile de mucoasă gastrică a fost probabil cea mai importantă descoperire medicală de la sfârșit de secol, cercetările ulterioare demonstrând implicarea acestei bacterii în patogenia afecțiunilor gastroduodenale.

HELICOBACTER PYLORI

CARACTERE GENERALE

Habitat

H. pylori colonizează mucoasa gastrică, îndeosebi zona antrală, fiind deosebit de bine adaptat la condițiile ostile oferite de stomac. Odată stabilit în stomac poate persista o lungă perioadă de timp, chiar toată viața. Poate dispărea spontan odată cu instalarea gastritei atrofice ce determină dispariția receptorilor specifici.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacterii Gram negative, încurbate sau spiralate, prezentând 4-6 flageli localizați la un pol. La microscopul electronic pot avea forma literei S sau pot fi cocoide.

Caractere de cultură

Pentru cultivare se utilizează o gamă largă de medii care trebuie suplimentate cu sânge 10% și agenți antimicrobieni pentru a preveni contaminarea fungică și bacteriană. Plăcile se incubează 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.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt bacterii care cresc în condiții de microaerofilie, au metabolism respirator, nu cresc la 25°C, sunt oxidazo pozitive și nu descompun zaharurile.

Principala caracteristică biochimică este producerea de urează în cantități mari, descompunând ureea din mediu în 5-20 de minute. Testul ureazei este astfel principalul test screening în diagnostic.

Rezistența la agenți fizici și chimici

H. pylori are o rezistență scăzută în mediul extern, dar este rezistent la pH-ul acid din stomac.

Structura antigenică

H. pylori prezintă șase structuri antigenice: ureaza, proteinele de șoc termic (HSP B), lipoproteina 20, DnaK, metionin-sulfoxid-reductaza A și o proteină cu greutatea de 28 kDa bogată în cisteină.

Răspunsul imun

Împotriva bacteriei organismul secretă IgA și IgG. La majoritatea persoanelor infectate, datorită alterării mucoasei gastrice, IgA reprezintă un mecanism de apărare ineficient. De asemenea datorită localizării extracelulare a bacteriei, la suprafața celulei epiteliale, spre cavitatea stomacului, bacteria este ferită de acțiunea IgG.

Lipopolizaharidele din structura *H. pylori* determină producerea de autoanticorpi care vor determina și apoi accentua atrofia mucoasei gastrice. Acest eveniment se asociază cu scăderea titrului IgG.

Prezența *H. pylori* pe suprafața mucoasei gastrice se însoțește de prezența unui infiltrat inflamator format din limfocite, plasmocite, macrofage, polimorfonucleare.

Caractere de patogenitate

Factorii de patogenitate sunt reprezentați de enzimele și citotoxinele pe care le secretă bacteria. Acestea sunt:

- ureaza – asigură supraviețuirea bacteriei în mediul acid al stomacului prin neutralizarea acidității gastrice, stimulează chemotaxia neutrofilelor și producerea de citokine inflamatorii;
- fosfolipaza A și proteaza – digeră mucusul;
- proteina șocului termic – crește activitatea ureazei;
- factori de colonizare, adevine care mediază legarea la celula gazdă;
- flagelii care asigură penetrarea în mucusul gastric protejând bacteria de pH-ul acid;
- citotoxinele.

Citotoxinele sunt de două tipuri: vacuolizantă și asociată genei A. Citotoxina vacuolizantă determină apariția de vacuole în celulele mucoasei. Secreția ei este codificată de gena Vac A. Din motive necunoscute, 60% dintre tulpini nu secretă această citotoxină.

Citotoxina asociată genei A determină celulele gastrice să secrete factori chemotactici pentru neutrofile. Producerea ei este codificată de gena Cag A. 40% dintre tulpini nu secretă această toxină.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Cu toate că ulcerul gastric și gastrita cronică sunt afecțiunile cele mai studiate în legătură cu infecția cauzată de *Helicobacter pylori*, această bacterie pare a fi implicată și în afecțiuni extragastrice: limfom gastric tip MALTomas

(mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas), coronarite, reflux gastroesofagian, anemie feriprivă, boli dermatologice și reumatice.

La gazda susceptibilă, *Helicobacter pylori* cauzează gastrită cronică activă care poate duce la boală ulceroasă gastrică sau duodenală, cancer gastric, limfom MALTomas.

Normal mucoasa gastrică nu este colonizată cu bacterii, pH-ul acid distrugând bacteriile ajunse la acest nivel. Cu toate acestea *H. pylori* este capabil să colonizeze mucoasa gastrică, mai ales cea antrală. Trei factori fac posibilă colonizarea stomacului:

- producerea de urează în cantitate mare. Ureaza hidrolizează ureea cu eliberare de amoniac care tamponează pH-ul acid;
- forma spiralată și flagelii care permit traversarea stratului de mucus cu localizarea bacteriei la nivelul celulelor mucoasei gastrice unde pH-ul este neutru;
- prezența de adevine care realizează legarea specifică de celulele epiteliului gastric.

La persoanele receptive, după un scurt episod de gastrită acută, infecția cu *H. pylori* determină constant o inflamație cronică a mucoasei gastrice, care crește semnificativ riscul apariției ulcerului gastro-duodenal, a cancerului gastric și a limfomului gastric.

Gastrita cronică activă este caracterizată de prezența unui infiltrat inflamator bogat al mucoasei alcătuit din neutrofile, limfocite B și T, macrofage și mastocite. Uneori în lamina propria se constituie foliculi limfoizi care prin dimensiunea lor pot proemina spre lumenul gastric. De notat că bacteria nu invadează mucoasa gastrică. Contactul dintre bacterie și epiteliu determină eliberare de citokine care accentuează infiltratul inflamator.

Infecția cu *H. pylori* este probabil cea mai frecventă și persistentă infecție din lume afectând aproximativ jumătate din populația globului. Dintre persoanele infectate doar o mică parte au infecție simptomatică sau dezvoltă ulcer și cancer gastric. Acest fapt este datorat variabilității exprimării genelor ce codifică citotoxinele, rezultând astfel tulpini circulante cu virulență diferită. Deci în patogenia acestor boli gastroduodenale, prezența *H. pylori* este necesară dar nu suficientă.

Fără să se găsească o explicație concretă, s-a demonstrat că această bacterie este implicată în producerea altor boli ca: reflux gastroesofagian, anemie feriprivă, boli dermatologice, boli reumatice

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Posibilitățile de diagnostic sunt multiple, descriindu-se metode invazive ce permit evidențierea directă a *H. pylori* de la nivelul biopsiilor de mucoasă gastrică și metode neinvazive, indirecte.

Metodele invazive presupun efectuarea unei gastroscopii cu recoltarea mai multor fragmente de mucoasă gastrică. Prezența bacteriei în suc gastric este rar întâlnită, astfel încât examinarea acestui produs nu este utilă.

Conservarea probelor recoltate se face la 4°C pentru maximum 4 ore. Dacă se depășește acest interval se folosesc medii de transport în care proba poate fi menținută maximum 24 de ore.

Din fragmentul recoltat se efectuează testul ureazei, microscopie directă și cultivarea bacteriei.

Testul ureazei constă în decelarea ureazei produse de *H. pylori* prin plasarea fragmentului bioptic într-un mediu cu uree și roșu fenol ca indicator de pH. Ionii de amoniu rezultați din hidroliza ureei alcalinizează mediul și determină virarea culorii indicatorului. Testul se citește la 30 minute, o oră, 3 ore și 24 de ore. Specificitatea testului este de aproape 100% când virarea indicatorului este urmărită până la 4 ore. Când pozitivitatea testului este apreciată la 24 de ore pot fi înregistrate rezultate fals pozitive, mai ales la pacienții cu aclorhidie a căror mucoasă gastrică poate fi colonizată cu bacterii de origine orofaringiană producătoare de urează (stafilococi, *Proteus*, *Klebsiella*).

Pentru efectuarea testului pot fi folosite teste comerciale sau medii preparate în laborator.

Microscopia evidențiază *H. pylori* prin examinarea frotiului efectuat din fragmentul bioptic colorat Gram sau pe secțiuni histologică colorată Giemsa. *H. pylori* poate fi recunoscut după forma caracteristică de bacili încurbați în formă de virgulă sau luând aspectul de litera S, uneori spiralați, prezenți în stratul de mucus juxtaepitelial, în cripte sau atașați de suprafața celulelor epiteliale gastrice.

Sensibilitatea examenului microscopic depinde de experiența examinatorului, fiind considerată superioară testului ureazei. Specificitatea examinării nu este absolută deoarece la nivelul mucoasei gastrice se mai pot întâlni germeni din genul *Campylobacter* care au o morfologie asemănătoare. Efectuarea unui test de imunofluorescență ce utilizează anticorpi monoclonali anti-*H. pylori* permite identificarea corectă a speciei.

Cultivarea bacteriei necesită condiții speciale. Fragmentul bioptic recoltat se triturează și se omogenizează cu ser fiziologic. Două picături din omogenizat se însămânțează pe medii neselective și selective suplimentate cu sânge 10% și agenți antimicrobieni. Incubarea se face la 37°C în condiții de microaerofilie. Examinarea culturilor se va face zilnic din ziua a treia până în a șaptea zi, urmărindu-se apariția coloniilor mici, transparente de tip S. Identificarea se face în continuare prin examen microscopic și biochimic prin evidențierea producerii de urează.

Metoda este costisitoare și oferă rezultate relativ târziu dar are avantajul unei specificități de 100%. În plus permite testarea sensibilității la antibiotice, mai ales în cazurile de eșec terapeutic. Sensibilitatea metodei variază între 75-90% în funcție de corectitudinea transportului probelor, numărul de biopsii examinate, mediile utilizate.

Pentru diagnostic în laboratoarele care nu dispun de condiții de realizare a culturilor se acceptă folosirea numai a testului ureazei și a microscopiei.

Metodele neinvazive sunt tehnici indirecte care nu necesită examinarea endoscopică greu de suportat de către bolnav. Sunt descrise testul respirator cu uree marcată și diagnosticul serologic.

Testul respirator cu uree marcată se bazează pe prezența ureazei în stomac, atunci când *H. pylori* colonizează mucoasa gastrică. Testul constă în administrarea unei soluții de uree marcată cu ^{13}C (neradioactiv) sau ^{14}C (radioactiv), care sub acțiunea ureazei va elibera CO_2 marcat ce se va absorbi în circulație, apoi 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, în special, ca metodă de apreciere a eficacității tratamentului. De asemenea permite o depistare preendoscopică a infecției cu *H. pylori* la pacienții cu tulburări dispeptice, cu vârstă mai mică de 45 de ani. Peste această

vârsta, examenul endoscopic este obligatoriu, având în vedere frecvența cancerului gastric. Inconvenientul major al testului este dependența de echipamente speciale extrem de costisitoare, fiind accesibil doar laboratoarelor de referință.

Diagnosticul serologic evidențiază prezența anticorpilor specifici, de tip IgG. Tehnicile folosite sunt imunoenzimatic (ELISA) care au o specificitate bună, în funcție de natura antigenului folosit. În general specificitatea este de 85-95%, și sensibilitatea de 80-95%. Folosirea acestor teste este indicată doar în diagnosticul infecțiilor acute. Folosirea lor în evaluarea eficienței tratamentului nu este indicată deoarece titrul anticorpilor poate rămâne crescut chiar și 6 luni de la eradicarea infecției. Se mai pot folosi și tehnici de latexaglutinare, iar studii mai recente au dezvoltat o metodă calitativă Western-Blot.

Detectarea antigenelor *H. pylori* în materiile fecale este un test rapid imunocromatografic folosind anticorpi monoclonali. Are o specificitate înaltă de 98% și sensibilitate de 94%. Testul se poate folosi în stadiile inițiale ale infecției, dar are valoare și în aprecierea eficienței tratamentului. Metoda este recent introdusă în uz.

TRATAMENT

Se vor trata doar pacienții care au infecția diagnosticată sigur. Se folosește o triplă asociere: inhibitori de pompă de protoni (omeprazol), amoxicilină și macrolide (claritromicină), timp de 10-14 zile. O altă schemă acceptată este tot o triplă asociere de subsalicilat de bismut, metronidazol și tetraciclină.

O problemă serioasă o reprezintă rezistența bacteriei la macrolide, determinată de mutații punctiforme ale ADN-ului bacterian.

Nu este necesară respectarea unui regim alimentar deosebit pe durata tratamentului.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este reprezentată de om, calea de transmitere fiind cea fecal-orală și oral-orală. Pentru transmiterea infecției este necesar un contact strâns, afirmație susținută de apariția infecțiilor în colectivități familiale și parafamiliale și de rezistența scăzută a bacteriei în mediul extern. Nu a fost demonstrat nici un caz de transmitere directă de la animal la om, dar recent s-a dovedit că *H. pylori* poate coloniza mucoasa gastrică la pisici.

Receptivitatea este generală, considerându-se că infecția cu *H. pylori* este cea mai frecventă infecție de pe glob. Nu există diferențe între frecvența infecției în țările dezvoltate și cele în curs de dezvoltare, doar că în țările în curs de dezvoltare infecția apare de la vârste mai mici.

Datorită riscului degenerării infecției cu *H. pylori* în ulcer gastro-duodenal sau cancer gastric, o infecție diagnosticată trebuie întotdeauna tratată, iar pacientul trebuie avertizat în privința acestui risc.

HELICOBACTER HEILMANNII

Investigarea curentă a biopsiilor gastrice pentru infecția cu *H.pylori* a dus la descoperirea unei alte bacterii spiralate. Descrisă pentru prima dată în 1987 este denumită inițial *Gastrospirillum hominis*, pentru ca ulterior să fie inclusă în genul *Helicobacter* ca *Helicobacter heilmannii*.

Prevalența infecției este mult mai scăzută, comparativ cu *H. pylori*, fiind apreciată la 0,25-1,9% din persoanele care au efectuat gastroscopie. Forma spiralată, flagelii multipli bipolar și producerea de urează îi permit bacteriei să colonizeze mucoasa gastrică. Colonizarea este urmată de apariția unei gastrite cronice active.

Infecția este suspectată de a fi o zoonoză, deoarece bacterii necultivabile cu caractere morfologice și structurale asemănătoare au fost puse în evidență la câini, pisici, porci.

Diagnosticul etiologic este exclusiv microscopic prin recunoașterea bacteriei pe frotiul efectuat din fragmentul de biopsie gastrică colorat cu fucsină Gram. *H. heilmannii* se prezintă sub forma unor bacili spiralați, cu 4-8 spire strânse, regulate, dispuși mai ales în grupuri în stratul de mucus, la distanță de celulele epitelului gastric.

Testul ureazei preformate este inconstant pozitiv, deoarece enzima este produsă în cantitate mai mică.

Imposibilitatea de a fi cultivat *in vitro* nu a permis obținerea unor antigene pentru un eventual diagnostic serologic al infecției.

GENUL CAMPYLOBACTER

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Din punct de vedere morfologic genul cuprinde bacili Gram negativi, de formă spiralată, încurbată sau asemănătoare literei S, prevăzuți cu un singur flagel polar la una sau ambele extremități, care îi conferă o mișcare specifică în "zbor de musculiță". Necesită condiții speciale de cultivare: microaerofilie, medii speciale îmbogățite și o temperatură de creștere de 42-43°C, cu o incubare de 48-72 de ore.

Genul cuprinde mai multe specii: *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.fetus*, *C.lari*, *C.upsaliensis*, *C.hydrolyticus*, *C.showae*, *C. hyointestinalis*, dintre care primele 3 specii au importanță medicală mai mare.

C.jejuni și *C.coli* sunt implicate în numeroase episoade de toxiinfecție alimentară ce evoluează cu diaree sangvinolentă sau apoasă, mai ales la copii. Localizări sistemice, extraintestinale ale infecției apar la organisme imunocompromise. *C. fetus* este un germen oportunist la organisme imunodeprimite, fiind responsabil de boala abortivă la animale.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Germeni din genul *Campylobacter* sunt comensali în intestinul animalelor, în general păsări: pui, curcani, rațe, pescăruși (*C. lari*), dar și al mamiferelor:

bovine, ovine, câini și pisici. Germeii contaminatează laptele, alimentele și apa potabilă unde pot supraviețui mai multe săptămâni.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacili Gram negativi, de formă spiralată, încurbată sau asemănătoare literei S, prevăzuți cu un singur flagel polar la una sau ambele extremități. Nu sunt sporulați. În culturi mai vechi de 48 de ore se pot observa forme rotunjite de 0,5μm sau mai mari, denumite "corpi cocoizi", care sunt de fapt un stadiu de "degenerare" a bacteriilor datorită condițiilor de cultivare.

Examinarea preparatului nativ la microscopul cu fond întunecat evidențiază mișcarea caracteristică în "zbor de musculiță" datorată flagelului unipolar.

Caractere de cultură

Cresc în condiții de microaerofilie, la o temperatură de 42-43°C, pe medii speciale, selective. Mediile selective conțin factori nutritivi, sânge de cal sau de berbec și antibiotice ca agenți selectivi și inhibitori ai florei de asociație. Antibioticele folosite pot fi: vancomicină, trimetoprim, polimixină, cefalosporine. Sunt disponibile mai multe medii gata preparate: Skirow, Preston, Campy-agar.

Coloniile tipice sunt mici, de aproximativ 1 mm diametru, nehemolitice, cu tendința de curgere de-a lungul liniei de însămânțare, convexe, netede, translucide, incolore sau gri, cu aspect de picătură de miere.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt germeii care cresc în microaerofilie, la 42-43°C, oxidazo-pozitivi, catalazo-pozitivi. Nu produc urează. Lipsa producerii de H₂S pe mediul TSI și hidroliza hipuratului de sodiu, diferențiază C. jejuni de C. coli.

Acțiunea agenților fizici și chimici

Germeii supraviețuiesc în alimente în funcție de felul alimentului și de condițiile de păstrare a lui. Astfel în laptele de vacă crud supraviețuiește 3 săptămâni la 4°C și 3 zile la 25°C, la 60°C moare într-un minut. În brânzeturi nu se dezvoltă datorită acidității și conținutului în sare. În unele cărnuri, cum sunt carcacele de pasăre care sunt frecvent și bogat contaminate, bacteriile se multiplică dacă sunt păstrate la temperaturi înalte de 35-42°C. De asemenea bacteria supraviețuiește câteva luni sau săptămâni în carnea păstrată prin refrigerare sau congelare. Supraviețuirea bacteriei este mai lungă în carnea roșie păstrată în pachete vacuumate.

Campylobacteriile sunt sensibile la uscăciune și temperatura camerei.

C. jejuni este sensibilă la o serie de dezinfectanți ca hipocloritul de sodiu, fenol, alcool etilic, glutaraldehydă, monocloramină. Astfel clorinarea apei și-a găsit aplicare practică în prevenirea acestor infecții.

Sunt sensibili la eritromicină, macrolide, gentamicină, cloramfenicol, tetraciclină. Sunt rezistenți la trimetoprim, vancomicină.

Structura antigenică

Tulpinile de C.jejuni sunt diferite din punct de vedere antigenic, se disting cel puțin 42 de serotipuri bazate pe antigenele O termostabile. De asemenea proteinele flagelare sunt și ele de natură antigenică, putând fi folosite în serotipare.

Răspunsul imun

Infecția acută determină o imunitate de scurtă durată. Bolnavii prezintă în ser IgG, IgM și IgA specifice. IgA apar și în secrețiile intestinale. Persistența și gravitatea evoluției bolii la pacienții cu SIDA sau hipogamaglobulinemie ne sugerează că în prevenirea și vindecarea bolii intervine atât imunitatea umorală cât și cea mediată celular.

Caractere de patogenitate

Capacitatea patogenă a *C. jejuni* variază de la tulpină la tulpină și este determinată de mai mulți factori legați de bacterie sau de gazdă.

Factorii care determină caracterele de virulență sunt: producerea de toxine, structura suprafeței celulare, folosirea fierului în metabolismul bacteriei.

C. jejuni produce enterotoxină, citotoxină și endotoxină.

Enterotoxina este asemănătoare cu enterotoxina holerică și este produsă de 75% dintre tulpinile izolate de la bolnavi, în timp ce tulpinile izolate de la purtători asimptomatici nu o produc sau o produc în cantitate redusă. Este termolabilă, inactivându-se într-o oră la 56°C și într-o lună la 4°C. Este responsabilă de diareea de tip secretor și are efecte citopatice pe culturi de celule.

Citotoxina este o altă toxină produsă de *C. jejuni* și are efecte citopatice pe culturi celulare. Este mai tolerantă față de căldură dar este sensibilă la acțiunea tripsinei.

Endotoxina este lipidul A a lipopolizaharidelor din peretele celular, la fel ca la majoritatea bacteriilor Gram negative.

Lipopolizaharidele și proteinele majore ale membranei externe (structuri ale suprafeței celulare) sunt implicate în aderarea și invazia bacteriei în celula gazdă. Tot în acest proces de aderare și invazie un rol antifagocitar îl are microcapsula prezentă la unele specii (*C. fetus*).

C. jejuni supraviețuiește 6-7 zile în monocitele din sângele periferic, fenomen socotit ca o evaziune fagocitară și care contribuie la virulență.

Folosirea fierului de către bacteriile Gram negative este considerată ca un factor de virulență deoarece producerea toxinei este sporită când fierul este în exces. Tulpini care nu produc cantități detectabile de toxină, devin producătoare pe medii suplimentate cu fier.

Factorii de virulență amintiți pot fi codificați de plasmide.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Germeii ajung în organism pe cale orală prin consum de alimente sau apă contaminate sau prin contact cu animale bolnave sau purtătoare sănătoase. La homosexuali se descrie ca și modalitate de pătrundere a germenilor contactul sexual anal sau oral. Sunt descrise cazuri de infecție în urma nașterii în apă contaminată.

Variația simptomelor în enterita campylobacteriană se datorează mecanismelor diferite prin care tulpini diferite pot produce boala. Instalarea unei infecții enterice depinde de capacitatea bacteriei de a coloniza mucoasa intestinală. Mucusul intestinal reprezintă o barieră în pătrunderea majorității germenilor enterici. Campylobacteriile fiind foarte subțiri, foarte mobile și spiralate sunt capabile să penetreze această barieră vâscoasă. Colonizarea este ușurată și de stimuli chemotactici, prin mărirea mobilității bacteriilor selectate. *C. jejuni* se atașează de țesutul intestinal prin colonizarea mucusului și nu prin aderență. Un rol în atașarea bacteriei de celulele liniilor celulare îl au adezinele flagelare.

Ca și alte bacterii enteropatogene, *C. jejuni* poate produce boala prin mai multe mecanisme. Unul din mecanismele enterotoxigene constă în colonizarea, multiplicarea pe suprafața mucoasei intestinale și elaborarea de enterotoxină cu instalarea consecutivă a diareei apoase.

O altă cale este procesul invaziv prin care bacteria pătrunde în peretele intestinului subțire și al colonului. Apoi se multiplică intracelular și diseminează în și în afara mucoasei, dar leziunea rămâne superficială. Diareea în acest caz este cu scaune hemoragice care conțin și leucocite. Leziunea constă din infiltrate inflamatorii în lamina propria și din abcese în criptele mucoasei, asemănătoare cu cele din shigeloză sau salmoneloză.

După infecție apar anticorpi IgG și IgM în titru crescut, ceea ce sugerează contactul intim între bacterie și sistemul imun extraintestinal.

Infecția tipică cu *C.jejuni* se manifestă prin enterocolita acută cu dureri abdominale, diaree hemoragică, inflamarea stratului lamina propria și abcese criptice. Rareori apar complicații. Diareea este dizenteriformă fiind o diaree cu sânge, uneori apoasă. Diareea are o evoluție autolimitantă, vindecându-se spontan în 5-8 zile. S-au descris cazuri de diaree a călătorului la turiștii din sudul Asiei. La bărbați homosexuali poate determina rectocolită.

C. jejuni poate provoca și infecții extraintestinale ca pancreatită, colecistită, avort. În special la persoane imunodeprimite poate determina bacteriemii cu diseminări la distanță: artrită, sindrom Reiter, miocardită, meningoencefalită. Într-un număr mic de cazuri poate să apară sindromul hemolitic-uremic și purpura trombocitopenică.

Infecțiile sistemice apar mai frecvent la organisme imunodeprimite, forma comună de manifestare fiind de bacteriemie cu febră. La pacienții infectați cu HIV, infecțiile sunt mai frecvente, determinând diaree cronică sau recurentă. De asemenea bacteremiile și rezistența la antibiotice sunt mai frecvente.

S-a demonstrat legătura între infecțiile cu *C. jejuni* și sindromul Guillain-Barre. Acest sindrom este o neuropatie periferică caracterizată prin paralizie ascendentă manifestată prin slăbiciunea, pareză și chiar paralizia membrelor ca urmare a demielinizării inflamatorii și degenerării axonilor. La circa 2/3 din cazuri, simptomele sunt precedate de infecții intestinale și respiratorii. Mecanismul apariției sindromului ar consta în producerea de anticorpi împotriva lipopolizaharidelor de *C. jejuni*, care reacționează încrucișat cu gangliozidele sau alte structuri moleculare ale nervilor periferici.

C. fetus produce la om boli extradigestive: septicemii, meningite, abcese, infecții vasculare, avorturi. Germenul este considerat ca oportunist deoarece afectează organismele imunodeficiente sau debilitate.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Produsele patologice recoltate sunt materii fecale, vomismente, alimente (carne, lapte, produse lactate), mai rar sânge pentru hemocultură. Transportul produselor nu ridică probleme deoarece germenii din acest gen rezistă la temperatura laboratorului 3 zile și o săptămână la 4°C.

Izolarea se poate face prin îmbogățire prin membrane filtrante. Aceste membrane filtrante sterile se depun pe mediul de cultură (geloză chocolate), iar pe ele se depun două picături dintr-o suspensie groasă de materii fecale. Forma spiralată și mobilitatea speciilor de *Campylobacter jejuni* și *C. coli* permit traversarea membranei, pe când celelalte enterobacterii sunt reținute. După o oră

membrana se înlătură și plăcile vor fi incubate la 42°C în microaerofilie. Acest procedeu poate fi folosit numai la izolarea *Campylobacter* din materiile fecale.

Izolarea pe mediile selective (Skirrow, Campy agar) se va face din materii fecale și probe de alimente. Incubarea se face la 42-43°C, timp de 48-72 de ore în microaerofilie (O₂ 5%, N₂ 85%, CO₂ 10%). Identificarea se face pe baza coloniilor asemănătoare picăturilor de miere care au crescut în microaerofilie, la temperaturi de 42-43°C, examenului microscopic al coloniei, caracterului oxidazo-pozitiv și cercetarea altor caractere biochimice.

Examinarea unui preparat nativ la microscopul cu fond întunecat relevă prezența bacteriilor cu mișcări caracteristice datorate flagelului unipolar. Pe frotiurile colorate Gram se observă bacterii Gram negative cu formă caracteristică încurbată, spiralată.

Aceste bacterii nu produc urează. *C. jejuni* se diferențiază de *C. coli* prin faptul că nu produce H₂S pe mediul TSI.

Lizotipia se practică în situații epidemiologice speciale.

Este recomandată efectuarea antibiogrammei, deși majoritatea tulpinilor sunt sensibile la eritromicină.

TRATAMENT

În cazurile de diaree, în primul rând este necesară reechilibrarea hidroelectrolitică. Se încearcă o reechilibrare orală, iar în caz de eșec se trece la rehidratare parenterală.

Folosirea tratamentului antibiotic în diaree este controversată, deoarece boala are o evoluție autolimitantă. Administrarea eritromicinei este urmată de dispariția rapidă a germenilor din scaun, dar fără să scurteze evoluția bolii. Administrarea de antibiotice este indicată în următoarele cazuri: febră înaltă, diaree cu sânge, mai mult de 8 scaune pe zi, agravarea simptomelor sau persistența simptomelor mai mult de o săptămână. Antibioticul de elecție este eritromicina. Ca alternativă se pot folosi ciprofloxacina și teraciclina dar acestea nu se vor administra copiilor. Clindamicina și macrolidele de generație nouă (claitromicina, azitromicina) sunt folosite tot mai mult.

Se va evita administrarea de spasmolitice deoarece prelungesc perioada simptomatică.

Pacienților cu hipogamaglobulinemie și cu bacteriemii recurente determinate de *C. jejuni* li se va administra pe lângă tratamentul antibiotic și plasmă proaspătă congelată.

Pacienții cu infecții endovasculare determinate de *C. fetus* necesită un tratament de cel puțin 4 săptămâni. Antibioticul de primă alegere este gentamicina. O alternativă o reprezintă ampicilina sau cefalosporinele de generația a treia.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Infecțiile enterale cu *C. jejuni* sunt frecvente în toată lumea. Datorită dificultăților de izolare și neraportării tuturor cazurilor de boală există date precise referitoare la distribuția mondială a infecțiilor enterale.

Sursa de infecție o reprezintă rezervorul animal. Păsări și mamifere, de fermă sau sălbatice pot fi purtătorii sănătoși ai acestor germeni: pui, curcani, ciori, pescăruși, păsări acvatice migratoare, puii animalelor de companie, ovine, bovine,

porcine. Faptul că păsările reprezintă sursa cea mai importantă este explicat de temperatura corporală mai crescută a lor ce convine caracterului termotolerant al bacteriei. Din cauza rezervoarelor naturale extinse, *Campylobacter* poate contamina apele de suprafață și solul.

Transmiterea la om se face prin consum de apă, lapte sau alimente de origine animală contaminate sau prin contact cu animalele de apartament. Alimentul cel mai incriminat este laptele nepasteurizat, urmat de carnea de pasăre.

Foarte rar infecția se transmite de la om la om. La homosexuali germenii pot pătrunde în organism prin contact sexual anal sau oral. La aceștia sunt mai frecvente infecțiile cu germeni atipici.

Muștele din ferme și moluștele pot fi vectorii acestei infecții.

Receptivitatea este generală, infecțiile putând apărea la orice vârstă. Studiile arată un vârf al incidenței bolii la copiii sub un an și la grupa de vârstă 15-29 de ani. Totuși cele mai multe coproculturi pozitive se întâlnesc la adulți și copiii mari. Se pare că infecțiile sunt mai frecvente la sexul masculin decât la cel feminin.

Deși *Campylobacter* este o bacterie fragilă care se inactivează prin majoritatea procedeelor folosite pentru distrugerea agenților enteropatogeni din alimente, ea continuă să fie cauza unui număr mare de gastroenterite, necesitând aplicarea continuă a măsurilor de prevenire. Dintre acestea cele mai eficiente sunt clorinarea apei potabile, pasteurizarea laptelui, creșterea animalelor de fermă în condiții cât mai igienice, respectarea tehnologiilor și a igienei în timpul sacrificării animalelor și a prelucrării cărnii, controlul periodic al personalului care lucrează la prepararea și distribuirea alimentelor, prepararea separată a alimentelor de origine animală. Măsurile de educație sanitară a populației trebuie să includă informarea părinților asupra pericolului contactului copiilor cu animalele de companie bolnave, evitarea consumului de lapte proaspăt nepasteurizat și a cărnii insuficient preparată termic.

Ca măsură specifică s-a reușit prepararea unui vaccin care s-a dovedit eficient la animalele de experiență, fiind în prezent într-o fază precoce de testare pe voluntari umani.

Spirochete

GENUL TREPONEMA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Microorganismele din acest gen sunt bacterii spiralate, subțiri, foarte mobile. Sunt strict aerobe sau microaerofile și sunt foarte pretențioase nutritiv. Speciile patogene nici nu se cultivă pe medii artificiale.

Faptul că nu se pot cultiva face dificilă și clasificarea lor. Speciile definite până acum au fost descrise în funcție de patogenitate și habitat. Există specii patogene și specii care fac parte din flora normală a cavității bucale și a mucoaselor genitale.

Speciile patogene pentru om sunt *Treponema pallidum* cu trei subspecii: *pallidum*, agentul etiologic al sifilisului, subspecia *endemicum*, agentul etiologic al bejelului și subspecia *pertenue*, agentul etiologic al pianului.

Treponemele genitale sunt prezente în sebumul pliurilor genitale și se cultivă în condiții anaerobe. Treponemele orale sunt foarte numeroase în placa dentară, în pungile gingivale ale pacienților cu boală periodontală. Unele sunt cultivabile iar altele sunt necultivabile și au fost denumite generic PROS (pathogen-related oral spirochetes) pentru că apar asociate gingivitelor ulcerative și periodontitelor fiind absente la persoanele sănătoase.

TREPONEMA PALLIDUM

CARACTERE GENERALE

Habitat

T. pallidum are ca unică gazdă omul, nefiind izolată de la animale. În mediul extern nu rezistă fiind foarte sensibilă la uscăciune și la acțiunea dezinfectantelor.

Caractere morfotinctoriale

T. pallidum este o bacterie spiralată, cu spire regulate și cu capetele drepte. Este foarte subțire și relativ scurtă având lungimea de 2 – 20 μm și grosimea de 0,1 - 0,3 μm. Este foarte mobilă, mobilitatea fiindu-i asigurată prin mai multe fibre axiale periplasmice înfășurate în jurul protoplastului și inserate la extremitățile cilindrului protoplasmic prin corpii bazali. Mișcarea caracteristică se observă prin examinarea treponemelor la microscopul cu fond întunecat unde apar ca spirochete fine, cu 6 - 14 spire regulate (1,1 μm lungimea de undă și 0,3 μm amplitudine) capetele efilate, animate de mișcări grațioase de înșurubare, flexie și translație.

Caractere de cultură

T. pallidum nu se poate cultiva pe medii de cultură artificiale. Poate fi menținută în viață prin inoculări intratesticulare la iepure care dezvoltă o orhită sifilitică. În acest mod s-a păstrat în laboratoarele de referință tulpina Nichols de *T. pallidum* obținută în 1912 de la un pacient care a decedat de neurosifilis. Din această tulpină se prepară antigenele necesare diagnosticului serologic.

Caractere biochimice și de metabolism

Este un germen microaerofil pentru că nu poate fi cultivat *in vitro* caracterele biochimice nu sunt cunoscute.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Treponema pallidum este distrusă de uscăciune, de temperaturi de 42°C, de săruri de mercur și bismut, de antiseptice, dezinfectante. Este sensibilă față de antibioticele beta-lactamice, în special față de penicilină.

Treponema pallidum rămâne viabilă mai mulți ani în suspensia păstrată la -70°C.

Structura antigenică

Se diferențiază trei structuri antigenice importante:

- antigenul cardiolipinic. Este prezent la toate treponemele dar și la alte bacterii, la unele plante și în țesuturile animale, cum ar fi cordul de bou. Acest antigen determină formarea de anticorpi antilipoidici, denumiți în trecut și reagine;
- antigenul proteic Reiter. Are specificitate de gen și este prezent la toate treponemele, indiferent dacă sunt patogene sau nu. Împotriva lui se formează anticorpi antiproteici;
- antigenul specific numai pentru T. pallidum. Față de acest antigen se formează anticorpi antiproteici, antipolizaharidici și imobilizine.

Caractere de patogenitate

Treponema pallidum este patogenă prin multiplicare și invazivitate.

PATOGENIE. BOALA LA OM

T. pallidum este agentul etiologic al sifilisului venerian care se transmite prin contact sexual, direct cu leziunile ulcerative ale persoanei infectate. La gravidele infectate, în perioadele de bacteriemie, T. pallidum trece transplacentar determinând sifilisul congenital. S-au descris cazuri de transmitere parenterală a bolii prin inoculare directă în sânge.

Boala evoluează în mai multe etape: sifilisul primar, secundar, latent și terțiar.

În urma contactului infectant spirochetele pătrund în organism penetrând mucoasele sau epitelile ușor scarificate. După o incubatie de 3 săptămâni se dezvoltă leziunea primară, denumită șancru de inoculare. De obicei această leziune este unică și este localizată cel mai frecvent pe organele genitale. Au fost descrise și alte localizări ale leziunii: perianal, pe degete, în orofaringe, pe limbă, sau pe mameloane. Aspectul leziunii este de papulă care se ulcerează. Ulcerația este nedureroasă, cu marginile ridicate, indurate și baza netedă (șancru dur). La o săptămână apare și adenopatia regională dură, discretă, nedureroasă. Netratată leziunea se vindecă în 3-6 săptămâni, lăsând o mică cicatrice atrofică. În acest stadiu spirochetele se pot evidenția din exsudatul din șancru. Diseminarea hematogenă începe încă din acest stadiu, evidențiindu-se bacterii în țesutul limfatic încă din primele ore de la inoculare.

Sifilisul secundar apare la 4 - 10 săptămâni după apariția șancrului dacă pacientul nu urmează tratament. Se manifestă prin leziuni muco-tegmentare diseminate și de aspect variat dar care sunt infectante: eritem polimorf, nepruriginos care apare simetric pe trunchi, membre, palme și plante. Pe mucoase leziunile sunt caracteristice (condylomata lata) mari, turtite și foarte contagioase. Mai pot exista simptome sistemice ca de viroză și multiple afectări ale organelor (gastrită, hepatită, nefrită, meningită).

După manifestările clinice din sifilisul secundar urmează o perioadă de latență, sifilisul latent în care bolnavul este asimptomatic și necontagios, cu excepția transmiterii transplacentare sau prin sânge. Perioada de latență este variabilă și poate fi întreruptă de recăderi ale sindromului cutaneomucos din sifilisul secundar.

Sifilisul terțiar apare la 5 – 30% din pacienții netratați, după 1- 40 de ani (în medie 15 ani) de la infecția primară. Este de fapt un răspuns imun celular la infecție. Afectează sistemul cardiovascular (în special aorta) și sistemul nervos central. Leziunea histologică caracteristică este goma, o ulceratie necrotică ce poate să apară pe tot corpul dar și în ficat, oase sau testicule. Din aceste leziuni nu se mai evidențiază spirochete.

Sifilisul congenital poate avea debut precoce (până la 2 ani) sau tardiv (peste vârsta de doi ani). Sifilisul congenital precoce se manifestă asemănător cu sifilisul secundar al adultului. În sifilisul congenital tardiv predomină manifestările neurologice acompaniate de modificări caracteristice ale sistemului osos, ale dinților sau oculare.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator se bazează pe evidențierea treponemelor din leziunile din sifilisul primar și secundar și pe diagnosticul serologic în toate cele trei stadii.

Deoarece *T. pallidum* nu se cultivă pe medii artificiale, diagnosticul bacteriologic direct se rezumă la evidențierea spirochetelor prin examen microscopic direct.

În sifilisul primar recoltăm secreție din șancru. Leziunea se curăță cu ser fiziologic, se îndepărtează crustele, se scarifică ușor zona și exsudatul apărut se recoltează pe o lamă prin capilaritate sau aspirare fără a-l contamina cu hematii. Se examinează imediat deoarece treponemele sunt foarte sensibile în mediul extern.

În sifilisul secundar se recoltează exsudat din leziuni, biopsii. În sifilisul terțiar se recoltează lichid cefalorahidian, piese necrotice. În sifilisul congenital examinăm cordonul ombilical, placenta, aspiratul nazal, prelevatele din leziunile cutanate.

Deoarece treponemele sunt organisme foarte subțiri, care se colorează slab după metoda Gram, ele pot fi observate doar la microscopul cu fond întunecat sau prin colorații speciale.

Microscopia pe fond întunecat evidențiază treponemele ca spirochete fine, cu 6 - 14 spire regulate, cu capetele efilate, animate de mișcări grațioase de înșurubare, flexie și translație.

Colorațiile speciale ce pot fi folosite sunt: impregnarea argentică (folosită la colorarea preparatelor anatomopatologice), colorația Giemsa, colorația negativă cu tuș de China și imunofluorescența.

Deoarece la microscopia pe fond întunecat treponemele patogene pot fi confundate cu cele comensale de pe mucoasa genitală, iar colorațiile sunt greoaie și greu de interpretat datorită artefactelor, imunofluorescența rămâne metoda de referință deoarece colorarea se face cu globuline anti - *T. pallidum* marcate cu fluoresceină.

Diagnosticul serologic este cea mai utilizată metodă de diagnostic a sifilisului. Testele folosite pot fi nespecifice și specifice.

Testele serologice nespecifice utilizează antigenele netreponemice, cum ar fi cardiolipina extrasă din cordul bovin. Aceste teste evidențiază anticorpii antilipidici care apar în boala acută la 4 – 6 săptămâni de la infecție. Titrul crește în perioada de sifilis secundar ca apoi să scadă în perioada de latentă și în sifilisul terțiar. Tratamentul bolii determină scăderea titrului anticorpilor

Testele se folosesc astfel pentru urmărirea eficienței tratamentului și pentru triajul în masă al cazurilor nou apărute. Legislația sanitară prevede efectuarea obligatorie a acestor teste la căsătorie, angajare, gravide, examene de admitere, obținerea permisului de conducere.

Reacțiile care se utilizează în mod curent sunt **VDRL** (Venereal Diseases Research Laboratory), care este o reacție de floculare, reacția **Bordet-Wassermann**, care este o reacție de fixare a complementului și reacția **RPR** (Rapid Plasma Reagine) care este o reacție de aglutinare. În cazul triajului cazurilor noi se folosesc teste calitative iar pentru urmărirea eficienței tratamentului se folosesc teste cantitative.

Deoarece în reacții nu se folosesc antigene specifice pot apărea rezultate fals pozitive în boli imune, infecții virale sau bacteriene concomitente, imunizări recente sau în sarcină. Din acest motiv orice rezultat pozitiv trebuie confirmat printr-un test specific.

Testele serologice specifice utilizează antigene treponemice. Evidențiază anticorpii antiproteici, antipolizaharidici și imobilizinele. Testele se efectuează pentru confirmarea diagnosticului și nu au valoare în urmărirea eficienței tratamentului deoarece se mențin pozitive ani de zile.

Aceste teste sunt:

- reacția **FTA-Abs** (Fluorescent antibody absorption) care este o reacție de imunofluorescență indirectă,
- **testul TPHA** care este o reacție de hemaglutinare pasivă,
- **testul de imobilizare al treponemelor (TIT)** care evidențiază imobilizinele. Se efectuează utilizând o suspensie de treponeme patogene vii din tulpina Nichols care se pun în contact cu serul de cercetat. Se efectuează un preparat nativ care se examinează la microscopul cu fond întunecat. Treponemele apar strălucitoare și mobile. Dacă își încetinesc mișcările și devin imobile înseamnă că serul pacientului conține imobilizine și reacția este pozitivă.

Diagnosticul de laborator se poate completa cu analiza lichidului cefalorahidian (biochimică și VDRL), examen oftalmologic și cu examinări imagistice.

TRATAMENT

Tratamentul de elecție rămâne Penicilina G administrată parenteral. Schemele de tratament variază în funcție de stadiul bolii și de manifestările ei. La nevoie penicilina se poate înlocui cu alte antibiotice.

Pacienții trebuie urmăriți serologic și clinic pentru a aprecia eficiența tratamentului.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE ȘI CONTROL

Sifilisul este răspândit în toată lumea, fiind mai frecvent în marile aglomerări urbane. După un inițial declin în anii 40 după descoperirea penicilinei, în prezent incidența acestei boli este în creștere în toată lumea.

Sursa de infecție este omul bolnav în stadiu de sifilis primar sau secundar. Boala se transmite prin contact sexual, transplacentar și prin sânge infectat (transfuzii). Receptivitatea este generală, infecția existând la orice vârstă. O frecvență mai mare o întâlnim la persoanele active sexual cu vârste între 25 și 40 de ani.

Scopul principal al măsurilor de prevenire îl reprezintă limitarea răspândirii bolii. Se iau măsuri de profilaxie nespecifică pentru bolile cu transmitere sexuală: evitarea contactelor sexuale neprotejate, evitarea partenerilor multipli, anonimi, iar în cazul îmbolnăvirii, tratarea tuturor partenerilor sexuali.

Triajul în masă al cazurilor nou apărute și tratarea acestora reduce mult frecvența bolii în populație. Depistarea gravidelor și tratarea lor scade incidența sifilisului congenital.

GENUL BORRELIA

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Borreliile sunt spirochete groase, cu spire laxe, mobile. Sunt menținute în natură printr-un ciclu care implică animale sălbatice sau omul și artropode hematofage.

Clasificarea germenilor din genul *Borrelia* bazată inițial pe gazda naturală, vectorii implicați și patogenitate este perfectată prin metode de biologie moleculară. Diferențiem două specii de interes medical uman:

- *Borrelia recurrentis* agentul etiologic al febrei recurente
- complexul *Borrelia burgdorferi* agentul etiologic al bolii Lyme.

BORRELIA BURGDORFERI

CARACTERE GENERALE

Habitat

Specia este găzduită de variate păsări sălbatice și mamifere iar transmiterea se face prin căpușe *Ixodides* și probabil prin țânțari. Căpușele au un ciclu de viață de doi ani iar în acest timp au trei perioade în care se hrănesc cu sânge parazitând mamifere sălbatice. Astfel se pot infecta cu *Borrelia* spp. și pot transmite boala la alte animale, întreținând astfel rezervorul natural.

Caractere morfotinctoriale

Borrelia spp. sunt spirochete mai groase (0,2-0,5 μm grosime, 8–30 μm lungime) cu 3-10 spire laxe, cu capetele drepte și foarte mobile. Mobilitatea este asigurată prin mai multe fibre axiale periplasmice (7-20 de fibre la fiecare

extremitate) care le conferă mișcări de flexie, rotație și înșurubare. Această mișcare se observă pe preparatele native examinate la microscopul cu fond întunecat.

Caractere de cultură

Crește pe medii speciale sau poate fi izolată *in vivo*. Mediul folosit este mediul Kelly modificat care conține agenți reducători, N-acetilglucozamină, ser de iepure. Mediile se incubează în condiții de microaerofilie la 32°C. Se urmărește creșterea prin microscopie pe fond întunecat, la 3-4 zile, minimum 4-6 săptămâni. Dacă are loc multiplicarea bacteriei culoarea indicatorului virează dar mediul rămâne limpede și nu are sediment. Orice tulburare a mediului semnifică o contaminare cu alte bacterii.

Pentru cultivarea *in vivo* sunt folosiți șobolanii tineri, șoarecii, coloniile de căpușe și oul de găină embrionat.

Structura antigenică

Antigenele tulpinilor de *Borrelia burgdorferi* sunt reprezentate de aproximativ 80 de polipeptide, mai frecvent identificate fiind următoarele:

- proteinele majore ale suprafeței externe, rar detectate, numai la peste 6 luni de evoluție:

- o OspA – este o proteină heterogenă ceea ce a permis descrierea a 7 serotipuri;

- o OspB – prezentă numai la *Borrelia burgdorferi*

- proteina OspC, proteină heterogenă, joacă rol important în instalarea răspunsului imun precoce. Exprimarea ei depinde de temperatură (32-37°C) și de prezența substratului nutritiv reprezentat de sângele ființei parazitare. Este necesară infectării gazdei;

- proteinele de suprafață OspE și OspD care intervin în patogenitate având rol de adezine, ținte pentru anticorpii bactericizi, porine și receptori pentru moleculele solubile;

- proteina p39 asociată membranei, este specifică pentru *Borrelia burgdorferi*, este antigenică determinând apariția de anticorpi;

- proteina p41 (flagelina), este proteina structurală a endoflagelilor, nu este specifică de specie. Este un factor de patogenitate flagelii asigurând marea mobilitate a bacteriei chiar și în medii vâscoase cum este pielea. Induce apariția precoce a anticorpilor anti-*Borrelia*;

- proteina p60, proteinele de stress, HSP (heat shock proteins), localizate pe membrana externă, nu sunt specifice fiind prezente și la unele bacterii Gram negative. Din acest motiv în cursul diagnosticului serologic pot apare reacții „fals pozitive” pentru borrelioză Lyme deși în realitatea pacientul are infecție cu enterobacterii, micobacterii, cu *Legionella* spp. sau cu *Coxiella* spp. Proteina HSP a tulpinilor de *Borrelia burgdorferi* este puternic imunogenă determinând un răspuns imun puternic la pacienți cu boala Lyme cronică. Această proteină are aproximativ jumătate din aminoacizii componenți identici cu ai HSP-60 umane ceea ce face ca anticorpii anti-HSP-*Borrelia burgdorferi* să reacționeze încrucișat cu proteina HSP-60 umană dezvoltând astfel artrite inflamatorii autoimune.

- Complexul de proteine p100, p94, p83 are înaltă specificitate fiind implicat în răspunsul imun tardiv, din stadiul III al borreliozei Lyme.

Borrelia burgdorferi este capabilă să sufere variații antigenice și modificări în exprimarea proteinelor de suprafață ceea ce-i conferă posibilitatea de a eluda

răspunsul imun al organismului mamifer și explică marea varietate de manifestări clinice ale bolii.

Structurile antigenice al tulpinilor de *Borrelia burgdorferi* sunt codificate de gene prezente pe cromozomul bacterian (flagelina, HSP, p83) sau pe plasmide.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Boala Lyme apare după mușcătura de căpușă infectată. Apariția bolii este legată de timpul de expunere. Formele larvare sau nimfele sunt mai mici decât căpușa adultă, de aceea sunt mai greu de observat și parazitează mai mult timp organismul. După ce prin mușcătura infectantă au fost introduse în piele, borreliile difuzează local apoi în tot organismul localizându-se în final în variate situsuri cum ar fi sistemul nervos și articulațiile. Boala evoluează în trei stadii.

Primul stadiu se manifestă după o incubatie de 1-3 săptămâni și este reprezentat de modificările locale cutanate de la locul înțepăturii. Caracteristic este eritemul migrator de la locul mușcăturii. Acesta se întinde centrifug, sub formă inelară, zona centrală rămânând clară, palidă. Poate să fie însoțit de adenopatie și de semne generale.

Al doilea stadiu apare după săptămâni sau luni de la infecție prin diseminarea generală a borreliilor. Pot apărea multiple leziuni tegumentare sub formă de eritem inelar, afectare cardiacă cu miocardită, afectarea sistemului nervos cu paralizii de nervi cranieni și meningite cu lichid clar.

Al treilea stadiu de diseminare tardivă este dominat de manifestări articulare cronice, recidivante în special la articulațiile mari, mai frecvent afectat fiind genunchiul. În acest stadiu tegumentul este afectat sub forma acrodermatitei cronice atrofice.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

În boala Lyme numărul borreliilor în țesuturi și mai ales în umori este prea scăzut pentru a avea o șansă de reușită vreo metodă de microscopie.

Detectarea microscopică a *B. burgdorferi* în sângele pacienților cu boală Lyme nu a putut fi realizată. Diagnosticul microscopic este posibil prin colorații imunofluorescente ale secțiunilor tisulare. Se face biopsie de la marginea eritemului migrator la 4 mm de la margine, spre interiorul leziunii. Preparatul obținut se colorează imunofluorescent cu anticorpi policlonali sau monoclonali marcați. Tehnica are rezultate superioare colorației prin impregnație argentică.

B. burgdorferi se mai poate pune în evidență prin metode de biologie moleculară, prin reacția de amplificare genică.

Borreliile se mai pot evidenția din căpușa capturată de pe bolnav.

Izolarea borreliilor este de competența laboratoarelor de referință și nu intră în practica curentă a diagnosticului bacteriologic.

Diagnosticul serologic este cel mai utilizat în diagnosticul bolii Lyme. Primii anticorpi care apar sunt de tip IgM care prezintă un vârf la 6 săptămâni de la debut după care scad fiind înlocuiți de cei de tip IgG. Anticorpii pot persista mult timp de la tratament.

La pacienții cu suspiciune de boală Lyme se determină din ser sau/și din lichidul cefalorahidian prezența anticorpilor anti-borrelia printr-o metodă imunoenzimatică (ELISA) sau prin imunofluorescență. Un rezultat pozitiv ar trebui confirmat prin metode Western-blot. De asemenea trebuie excluse reacțiile

încrucișate cu antigenele treponemice, efectuându-se obligatoriu și reacția TPHA. Rezultate fals pozitive mai pot fi întâlnite în boli autoimune, artrite reumatoide.

TRATAMENT

Tratamentul este antibiotic și este curativ și profilactic fiind descrise diferite scheme de tratament în funcție de stadiul bolii. Antibioticele cel mai des folosite sunt cefalosporinele, betalactaminele asociate cu inhibitori de betalactamază, tetraciclinele.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Borrelioza Lyme este o zoonoză pasivă întrucât omul închide ciclul infecției fără să devină izvor de infecție. Boala nu este transmisă interuman decât de la mamă la făt, transplacentar.

Rezervorul potențial de infecție este foarte vast, diferit în funcție de zona de pe glob, fiind reprezentat de animale care pot fi gazde pentru agentul vector: mamifere mari sălbatice (cervidee, mistreți, vulpi), mamifere mari domestice (ovine, bovine, câini), animale mici (rozătoare), reptile, păsări.

Borrelia burgdorferi este transmisă de la un rezervor la altul prin intermediul căpușelor din genul *Ixodes* aflate în diferite stadii de dezvoltare (larvă, nimfă, adult) fiecare stadiu având un singur prânz hematofag.

Persoanele care prezintă factori de risc pentru borrelioza Lyme sunt persoanele care frecventează zonele unde se întâlnesc sursa de infecție și vectorul specific: silvicultori, muncitori forestieri, agricultori, vânzători, veterinari, excursioniști etc.

Receptivitatea este generală fiind mai frecvent afectați copiii sub 14 ani și adulții între 30-50 de ani. Imunitatea post-boală nu este de lungă durată.

Profilaxia nespecifică vizează evitarea mușcăturii de căpușă prin:

- evitarea zonelor din natură cu densități mari de căpușe;
- acoperirea suprafețelor cutanate accesibile căpușelor când se frecventează zone în care se știe că sunt astfel de căpușe: bocanci, jambiere, cămașă cu mâneca lungă și cu guler, haine deschise la culoare pentru a observa căpușă;
- autosupravegherea atentă a pielii și îndepărtarea urgentă a eventualelor căpușe.

În caz de mușcătură se îndepărtează cu atenție căpușă astfel încât să nu i se rupă piesele bucale, se spală bine zona cutanată cu apă și săpun, se antiseptizează cu alcool. Se controlează locul mușcăturii timp de 1 lună pentru a sesiza apariția unui eventual eritem.

Pentru profilaxia specifică au fost și sunt în derulare studii care urmăresc nivelul protecției induse de o serie de vaccinuri recombinante, monovalente sau mai nou se încearcă inducerea răspunsului imun prin administrare de plasmide ce codifică proteina de suprafață OspA.

GENUL LEPTOSPIRA

DEFINIȚIE. ÎNCADRARE

Leptospirele sunt spirochete subțiri, fine cu spire strânse și regulate și cu capetele încârligate. Sunt organisme mobile având o mișcare caracteristică de înșurubare și flexie. Sunt unice între spirochete deoarece pot fi cultivate pe medii artificiale. Pot pătrunde în organism prin tegumente și mucoase intacte sau ușor scarificate.

Genul *Leptospira*, în funcție de diferențele antigenice ale învelișului lipopolizaharidic care înconjoară peretele celular se împarte în două specii: *L. interrogans*, cu peste 200 de serovaruri patogene și *L. biflexa* cu peste 60 de serovaruri saprofite.

Taxonomia modernă bazată pe omologia ADN-ADN împarte leptospirele în 7 specii patogene și 3 specii saprofite.

Cele două clasificări ale leptospirelor se suprapun parțial. Organisme identice din punct de vedere serologic pot fi diferite genetic, iar organisme cu aceeași genetică pot face parte din grupuri serologice diferite.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Leptospira interrogans este găzduită de mamifere dar și de reptile și amfibieni. Gazdele se împart în trei categorii: de menținere, accidentale și de amplificare.

Gazdele de menținere poartă leptospirele în rinichi și posibil și în organele de reproducere, fiind aparent sănătoase. Doza infectantă este mică și infecția se transmite prin urină sau pe cale sexuală. Există o afinitate a serovarurilor pentru o anumită gazdă: *L. icterohaemorrhagiae* pentru șobolan, *L. canicola* pentru câini, *L. pomona* pentru porci, *L. grippityphosa* și *L. hebdomadis* pentru șoareci. Cele mai numeroase gazde de menținere sunt rozătoarele.

Gazdele accidentale sunt reprezentate de om sau animale domestice care se infectează prin elementele din mediu contaminate cu urina gazdelor de menținere sau a altor gazde accidentale. Doza infectantă este mare, portajul renal este de scurtă durată, infecția fiind manifestă clinic frecvent.

Gazdele de amplificare sunt gazde accidentale la care infecția se poate transmite epidemic. Aceste condiții sunt îndeplinite în crescătoriile de animale domestice unde acestea transmit infecția și către om și către gazdele de menținere.

Animalele contaminează prin urină apa, solul umed sau nămolul unde leptospirele pot supraviețui până la 42 de zile la întuneric, mediu cald și pH neutru sau ușor alcalin. *L. biflexa* trăiește în apele de suprafață.

Caractere morfotinctoriale

Leptospirele sunt spirochete subțiri, fine (lungime 6-20 μm, diametrul 0,1 μm) cu spire strânse și regulate și cu capetele încârligate. Sunt organisme mobile, având doi flageli periplasmici inserați subterminal, înfășurați într-un cilindru protoplasmic protector. Flagelii sunt inserați la capetele opuse ale corpului bacterian. Forma spiralată și dispoziția flagelilor îi permite să pătrundă în organism

prin tegumente și mucoase intacte și îi conferă mișcarea caracteristică de înșurubare, flexie dar cu deplasare redusă în spațiu.

Sunt bacterii Gram negative dar se colorează greu, de aceea pentru evidențierea lor pe frotiuri se poate folosi colorația Giemsa sau impregnația argentică.

Forma și mobilitatea caracteristică se observă pe preparate native la microscopul cu fond întunecat sau cu contrast de fază.

Caractere de cultură

Leptospirele sunt bacterii spiralate dar care se pot cultiva pe medii lichide sau semisolide suplimentate cu ser de iepure (mediul Korthof). Culturile se incubează la 28-30°C, la întuneric. Majoritatea speciilor patogene au nevoie de 6-14 zile de incubație sau chiar mai mult.

În mediu lichid, creșterea leptospirelor nu determină niciodată o turbiditate francă. Tulburarea mediului indică o contaminare bacteriană. Creșterea leptospirelor se urmărește prin microscopie pe fond întunecat la intervale de 3-5 zile. La nivelul mediilor semisolide creșterea leptospirelor determină apariția unui disc linear la 1-3 cm distanță de suprafață.

Caractere biochimice și de metabolism

Sunt ușor microaerofile, utilizează ca sursă de carbon acizii grași și alcoolii grași cu lanțuri lungi. Au un bogat echipament enzimatic: catalază, oxidază, hialuronidază, fosfolipază. Au slabă activitate ureazică, în special speciile patogene.

Rezistența față de agenții fizici, chimici și biologici

Sunt sensibile față de uscăciune, lumină solară, pH acid sau intens alcalin, temperatura sub 14°C sau peste 28°C astfel că în mediul extern leptospirele supraviețuiesc greu.

Sunt distruse de alcool, acizi, baze, cloramină. Sunt sensibile față de beta-lactamine.

Structura antigenică

Germenii din genul *Leptospira* au următoarele antigene:

- antigen somatic O. Are specificitate de gen fiind comun leptospirelor patogene și saprofite. Este situat în profunzimea învelișului bacterian din punct de vedere chimic fiind un complex lipo-polizaharido-poliipeptidic.
- antigene de suprafață. Au specificitate de grup și tip și sunt reprezentate de un complex polizaharido-poliipeptidic. Sunt imunogene, anticorpii specifici conferind protecție de grup și tip pe durată limitată.

Răspuns imun

În urma trecerii prin boală organismul uman sintetizează anticorpi față de antigenele de suprafață. Durata protecției este variabilă, de ordinul anilor și este specifică serotipului tulpinii infectante. Anticorpii formați sunt anticorpi aglutinanți, fixatori de complement și anticorpi litici. Ating un titru detectabil în ser la 4-6 zile de la debutul bolii, titrul este maxim în săptămânile 3-6 de boală după care scade treptat dispărând în decurs de câțiva ani.

Caractere de patogenitate

Leptospira interrogans este patogenă prin multiplicare și invazivitate. Mobilitatea și gradul de încovoiere a extremităților corpului bacterian conferă leptospirei puterea de penetrare a țesuturilor. Unele tulpini posedă un factor de virulență Vi.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Leptospiroza este zoonoza cu cea mai largă răspândire, afectând numeroase specii de mamifere domestice sau sălbatice. Boala la om este determinată cel mai frecvent prin contactul indirect cu apa sau solul contaminate cu urina animalelor infectate decât prin contact direct cu animalele purtătoare. Leptospirele pătrund în organismul uman prin tegumente și mucoase intacte sau ușor scarificate. Pot pătrunde prin conjunctivă, mucoasa nazală sau chiar prin plămâni (aerosoli). Leptospirele pot străbate placenta și pot provoca avort sau deces fetal ante-partum.

În gazdele susceptibile, prin intermediul sistemului limfatic, leptospirele ajung în sistemul circulator cauzând o leptospiremie urmată de răspândirea lor în toate organele. Organismul gazdă răspunde prin secreția de imunoglobuline opsonizante care determină eliminarea bacteriilor din sânge. Leptospirele vor rămâne viabile timp de săptămâni sau luni în țesuturile ferite de acțiunea anticorpilor: tubii renali, sistemul nervos central, camera anterioară a ochiului.

În boala acută leptospirele se multiplică în endoteliul vaselor mici determinând vasculite în orice sistem sau organ: rinichi, ficat, plămâni, piele, mușchi.

Posibilitatea afectării mai multor organe explică polimorfismul clinic al bolii, simptomatologia fiind reprezentată de asocierea de sindroame. Manifestările clinice ale bolii la om pot fi variabile, de la forme ușoare până la forme grave cu insuficiență renală sau hepatică.

Incubația este de 3-30 de zile, debutul fiind caracterizat de febră înaltă, grețuri, vărsături, tuse, dureri musculare și erupții tegumentare. În perioada de stare se pot descrie totuși două entități în funcție de apariția icterului: leptospiroza anicterică și leptospiroza icterică sau boala Weil. Forma anicterică are în general o evoluția autolimitată și se manifestă ca un sindrom pseudogripal. Forma icterică are o evoluție medie sau severă fiind asociată cu sindrom hemoragic, insuficiență renală. Alte sindroame pot fi asociate sau pot evolua singular: meningita cu lichid clar, șoc endotoxic, colecistită acută nelitiazică, pneumonie interstițială, sufuziuni conjunctivale, miocardită.

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

Leptospirele se pot evidenția în sânge în primele 5 zile de boală, în lichidul cefalorahidian între a 4-a și a 8-a zi de boală, iar din urină începând din ziua a 9-a de boală, timp de 6 săptămâni.

Examenul direct se poate face printr-un preparat nativ examinat la microscopul cu fond întunecat, frotiu colorat Giemsa sau prin impregnație argentică și metode imunofluorescente.

Pentru examinarea unui preparat nativ produsul patologic trebuie centrifugat fracționat, inițial la viteză scăzută astfel încât să se îndepărteze

elementele celulare și apoi la viteză mărită ca să se concentreze elementele bacteriene. La microscopul cu fond întunecat leptospirele apar ca filamente luminoase, regulat spiralate, cu capete încârligate, foarte mobile cu mișcări de înșurubare și de flexie, dar cu deplasare redusă în spațiu.

Impregnația argentică este o metodă laborioasă și uneori dificil de interpretat din cauza precipitatelor.

Imunofluorescența directă mărește specificitatea și sensibilitatea metodelor microscopice dar necesită anticorpi polivalenți anti-*Leptospira* marcați fluorescent.

Metodele de biologie moleculară câștigă tot mai mult teren în diagnosticul direct, fiind metode cu specificitate înaltă și sensibilitate similară microscopiei. Se folosește reacția de amplificare genică.

Izolarea bacteriei este de competența laboratoarelor de referință. Izolarea se face pe medii de cultură sau prin inoculare la animale de laborator.

Izolarea *in vitro* se face prin cultivare pe medii lichide sau semisolide suplimentate cu ser de iepure. Culturile se incubează la 28-30°C, la întuneric. Majoritatea speciilor patogene au nevoie de 6-14 zile de incubație sau chiar mai mult.

În mediu lichid, creșterea leptospirelor nu determină niciodată o turbiditate francă. Tulburarea mediului indică o contaminare bacteriană. Creșterea leptospirelor se urmărește prin microscopie pe fond întunecat la intervale de 3-5 zile. La nivelul mediilor semisolide creșterea leptospirelor determină apariția unui disc linear la 1-3 cm distanță de suprafață.

Izolarea se face din sânge în prima săptămână de boală. Șansele de izolare cresc dacă sângele se recoltează zilnic și se însămânțează o cantitate mică (1-2 picături de sânge la 5 ml de mediu) pentru a evita acțiunea factorilor inhibitori ai creșterii ce pot fi prezenți în sânge.

După prima săptămână leptospirele se pot izola din urină. De asemenea leptospirele mai pot fi cultivate din probe de țesuturi.

Izolarea *in vivo* se face prin inoculare intraperitoneală la cobaiul tânăr. Înainte de inoculare animalele sunt controlate serologic pentru eliminarea acelor care au anticorpi anti-leptospira. După inoculare animalele sunt urmărite și li se recoltează zilnic sânge pentru hemocultură prin puncție cardiacă. Din a 4-a zi se controlează apariția anticorpilor anti-leptospira. Post mortem sau la animalele sacrificate după 21 de zile se caută modificările macroscopice specifice ale organelor și se face organocultura.

Diagnosticul serologic se face prin teste de aglutinare microscopică. Antigenul folosit în reacție este reprezentat de o baterie de 8 serovariante (cele mai frecvent întâlnite) de leptospire provenite din culturi lichide de 4 - 7 zile. Pe lamă se amestecă antigenul cu diluții efectuate din serul bolnavului, după care se examinează la microscopul cu fond întunecat observându-se apariția aglutinatelor. Un titru de 1:800 asociat cu semne clinice sugestive poate susține diagnosticul de leptospiroză. Creșterea de cel puțin 4 ori a titrului în cazul serurilor recoltate la debut și în convalescență confirmă diagnosticul.

Alte teste serologice ce pot fi folosite sunt: reacția de aglutinare pe lamă (macroscopică), reacția de hemaglutinare indirectă, reacția de fixare a complementului, metode imunoenzimatice.

În diagnostic mai pot fi folosite alte teste de laborator care să evidențieze modificările sanguine date de afectarea diferitelor organe și sisteme (hemoleucograma, ureea, creatinina serică, bilirubina serică, transaminazele, teste

de coagulare). De asemenea investigațiile imagistice (ecografia, radiografia) pot evidenția afectarea organelor abdominale sau toracale.

TRATAMENT

Antibioterapia este principalul mijloc terapeutic în leptospiroză. Pentru formele necomplicate care nu necesită spitalizare se administrează doxicilină pe cale orală. În formele cu evoluție mai gravă se administrează penicilină G pe cale intravenoasă.

În formele grave, cu insuficiențe ale organelor, la tratamentul antibiotic se asociază și tratamentul suportiv. Urmărirea și tratamentul bolnavului cu leptospiroză gravă se face în echipă prin colaborarea între anestezist, infecționist, nefrolog și medic de laborator.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE ȘI CONTROL

Leptospiroza este probabil zoonoza cea mai răspândită în lume, cu incidență mai mare la tropice. Datorită posibilității de evoluție autolimitantă a bolii și a simptomelor necaracteristice multe cazuri rămân nediagnosticate.

Sursa de infecție o reprezintă animalele: rozătoarele, șobolanii, câinii, pisicile și mamiferele sălbatice care prin urină contaminează apa și solul. În mediu extern cald și la un pH neutru sau ușor alcalin leptospirele supraviețuiesc săptămâni sau luni. Transmiterea bolii la om se va face astfel indirect prin ape contaminate, leptospirele putând traversa tegumentele și mucoasele intacte. Expunerea în general este profesională la fermieri, medici veterinari, muncitorii din abatoare, agricultori, lucrătorii din orezării sau accidentală la înotători sau pescari amatori.

Măsurile de **profilaxie nespecifică** includ evitarea contactului cu animale bolnave sau cu soluri și ape contaminate. Pentru persoanele cu risc de expunere profesional se recomandă purtarea cizmelor de cauciuc, mănușilor și ochelarilor de protecție. O importanță deosebită o are respectarea măsurilor igienico-sanitare obișnuite: controlul înmulțirii rozătoarelor, decontaminarea suprafețelor infectate.

Măsurile de **profilaxie specifică** includ vaccinarea umană și animală. Animalele domestice se vaccinează pentru a preveni transmiterea bolii la alte animale sau la om. Vaccinarea umană este controversată și se aplică doar la persoanele cu risc înalt de a contacta boala, în focare endemice. Vaccinarea se face cu serovarurile endemice în zonă.

Chemoprofilaxia se aplică persoanelor cu risc temporar de expunere cum ar fi trupe militare care traversează zone endemice, călătorii în zone endemice și care presupun recreeri acvatice. Se administrează doxicilină pe cale orală, 250 mg pe săptămână, în doză unică.

Bacterii neclasificabile prin colorația Gram

GENUL MYCOBACTERIUM

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Familia Mycobacteriaceae are în componență un singur gen: Genul Mycobacterium. Genul Mycobacterium cuprinde următoarele specii:

- grupul „tuberculosis”
 - Mycobacterium tuberculosis
 - Mycobacterium africanum
 - Mycobacterium bovis
- grupul „mycobacteriilor atipice”
 - Mycobacterium kansasii
 - Mycobacterium marinum
 - Mycobacterium xenopi
 - Mycobacterium scrofulaceum
 - Mycobacterium fortuitum
 - Mycobacterium gordonae
 - Mycobacterium malmoense
 - Mycobacterium ulcerans
 - Mycobacterium avium-intracellulare
 - Mycobacterium chelonae
 - Mycobacterium abscessus
- Mycobacterium leprae

Germeii din genul Mycobacterium sunt bacili care nu cedează colorantul nici sub acțiunea combinată a acidului diluat și a alcoolului. Din acest motiv se numesc bacili „acido-alcool-rezistenți”. Această proprietate se datorează cantități mari de lipide și ceruri din peretele bacterian.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

CARACTERE GENERALE

Este agentul cauzal al tuberculozei, descoperit de Robert Koch în 1882. Deși neoficial se mai numește și „bacilul Koch” numele genului se datorează asemănării morfologice cu fungii microscopici filamentoși: *myces* = fung + *bakterion* = baston mic.

Habitat

Este un patogen strict uman deși poate infecta și animalele de companie: papagal, câine, pisică, maimuță.

Caractere morfotinctoriale

Mycobacterium tuberculosis se prezintă ca un bacil fin, ușor încurbat, cu dimensiuni de 2-5 μm lungime. Are structura peretelui asemănătoare cu a bacteriilor Gram pozitive dar cu conținut mare în lipide și ceruri. Se colorează greu cu colorația Gram. Pentru evidențierea pe frotiu se folosește colorația Ziehl-Neelsen.

Pe frotiul din cultură tulpinile patogene se dispun în șiruri paralele alcătuind corzi (cordoane).

Caractere de cultură

Cultivă lent întrucât timpul de generație este de 20 de ore. Este un germen aerob, se dezvoltă la 36°C, necesită medii de cultură speciale. Cel mai utilizat este mediul Loewenstein-Jensen care conține printre altele ou, cartof, asparagină, glicerină, săruri minerale, verde de malachit.

Coloniile apar în interval de 15-30 de zile și sunt de tip R: rugoase, cu suprafața zbârcită, uscate, conopidiforme asemănate cu firimiturile de pâine. Coloniile pot fi pigmentate crem-bej.

Pe mediul lichid *Mycobacterium tuberculosis* crește sub forma unei membrane groase, cu multe pliuri, care se ridică pe peretele flaconului de cultură.

Astfel de creștere pe medii de cultură o numim creștere eugonică (abundentă, optimă).

Caractere biochimice și de metabolism

Este o bacterie strict aerobă. Pe baza caracterelor biochimice pe care le prezintă *Mycobacterium tuberculosis* poate fi identificat în cadrul genului:

- produce acid nicotinic sau niacină
- produce nitrat-reductază, catalază, urează
- este sensibil față de pirazinamidă
- este rezistent față de hidrazida acidului tiophen-2-carboxilic

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Este sensibil la căldură, la lumina solară, la radiațiile UV și X, la acțiunea alcoolului de 70°. Rezistă la frig, desicație, antiseptice, dezinfectante și detergenți. În mediul extern, în produse patologice uscate, la adăpost de lumina solară supraviețuiește de la câteva luni la un an.

Este o bacterie care dezvoltă rezistență față de tuberculostatice prin mutații.

Structură antigenică

Constituenții peretelui celular induc apariția unui răspuns imun de tip celular și a unei hipersensibilități de tip IV. *Mycobacterium tuberculosis* prezintă la nivelul peretelui celular următoarele structuri antigenice:

- tuberculolipidele reprezentate de acizii micolici, ceruri și alcooli superiori. În peretele tulpinilor patogene se găsește un sulfo-lipid care induce dezvoltarea pe cultură sub formă de cordoane: „cord-factor”;

- tuberculoproteinele induc sensibilizare de tip anafilactic iar în asociere cu tuberculolipide induc răspuns imun predominant celular.
- polizaharidele induc formarea de anticorpi circulanți.

Răspuns imun

Imunitatea este indusă doar de bacteriile vii, nu este niciodată totală ci constituie o stare de „premuniție” adică o stare de rezistență față de o nouă infecție. Imunitatea în tuberculoză este mediată celular și dispăre după vindecarea microbiologică iar anticorpii decelabili nu au rol protector.

Starea de sensibilizare față de antigenele *Mycobacterium tuberculosis*, numită „alergie tuberculinică „ este evidențiată prin intradermoreacția la tuberculină, folosită în scop de diagnostic.

Caractere de patogenitate

Mycobacterium tuberculosis nu produce toxine.

Este patogen prin capacitatea sa de a se multiplica în organismul gazdă. Distrugerea bacteriei se soldează cu eliberarea de constituenți antigenici care induc o reacție imunitară de hipersensibilitate ce stă la baza transformării cazeoase. „Cord-factorul” prezent pe suprafața externă a *Mycobacterium tuberculosis* inhibă migrarea polimorfonuclearelor și induce formarea granulomului.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Boala cauzată de *Mycobacterium tuberculosis* se numește tuberculoză și se manifestă cel mai frecvent sub formă de:

- tuberculoză pulmonară
 - primoinfecție latentă
 - primoinfecție manifestă
 - forma cavitară comună
 - pleurezie
 - forme mediastinale
 - forme miliare
- tuberculoză extrapulmonară, care este rară și are localizări meningiene, renale, genitale, osoase, articulare, ganglionare, digestive

Este important din punct de vedere medical să se facă distincție între:

- infecția tuberculoasă: demonstrată prin virajul spontan al reacției la tuberculină;
- boala tuberculoasă: infecția cu manifestări patologice clinice sau radiologice, pulmonare sau extrapulmonare.

Bolnavul cu tuberculoză pulmonară, elimină bacilii tuberculoși prin spută și prin picăturile Pflügger. Aerosolii astfel contaminați cu *Mycobacterium tuberculosis* sunt inhalați, ajung în alveole unde bacilul este fagocitat de macrofage. O parte din bacili rămân pe loc altă parte este vehiculată pe cale limfatică spre ganglionii loco-regionali. *Mycobacterium tuberculosis* se multiplică, determină răspunsul imun care stă la baza formării leziunii caracteristice numită „tubercul”. Tuberculul se cazeifică: țesutul în care s-au dezvoltat bacilii suferă o necroză solidă cu apariția de „cazeum”. Tuberculul cazeos se ramolește, se formează caverna pulmonară care se înconjoară de un strat fibros. Din acest moment substanțele

antibacteriene vor ajunge greu în focarul infecțios. Diseminarea pe cale hematogenă este responsabilă de instalarea localizărilor extrapulmonare.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Diagnosticul de laborator al tuberculozei urmărește evidențierea, izolarea și identificarea *Mycobacterium tuberculosis*

Probele trebuie recoltate în mod repetat și înainte de începerea tratamentului antibacterian. În tuberculoza pulmonară se recoltează spută eliminată după un puseu de tuse sau la copii recoltată prin spălătură gastrică. Se pot recolta secreții bronșice în cursul bronhoscopiei, lichid de spălătură bronșică.

În tuberculoza extrapulmonară produsele recoltate depind de localizarea infecției: lichid cefalo-rahidian, urină, secreții vaginale, lichid de puncție etc.

Examenul microscopic al frotiului efectuat din produsul patologic se colorează cu metoda Ziehl-Neelsen și se examinează cu obiectivul de imersie. Pe fondul albastru al preparatului, *Mycobacterium tuberculosis* apare ca bacil fin, ușor încurbat, colorat uniform sau neuniform.

Cultivarea se face *in vitro* pe mediul Loewenstein-Jensen sau *in vivo* prin inocularea cobaiului.

Identificarea are la bază caracterele morfotinctoriale, apariția de cordoane pe frotiul din cultură, caracterele biochimice.

Având în vedere creșterea lentă a bacteriei, antibiograma se efectuează în paralel cu izolarea pentru a câștiga timp. Pentru că la un bolnav, în populația de *Mycobacterium tuberculosis* infectantă, pot exista tulpini mutante rezistente față de tuberculostatice, tulpini care pot cauza eșecul tratamentului, este necesară depistarea acestora.

În ultimii ani au fost dezvoltate metode rapide de diagnostic al tuberculozei:

- Sisteme bifazice de izolare și identificare care detectează *Mycobacterium tuberculosis* în 20 de zile.

- Sisteme respirometrice care constau în detectarea radiometrică sau fotometrică a CO₂ eliminat în metabolismul bacterian evidențiind creșterea bacteriană în 15 zile.

- Metode chimice, cromatografice de analiză a acizilor micolici din peretele bacterian permit identificarea de specie.

- Reacții de tip PCR aplicabile direct produsului patologic permit un diagnostic în câteva ore și au o mare sensibilitate.

- Metode de hibridare a ADN-ului și ARN-ului bacterian cu sonde marcate sau detectarea acidului tuberculo-stearic prin cromatografie gazoasă și spectrometrie de masă sunt metode rapide de identificare a tulpinii de *Mycobacterium tuberculosis*

Diagnosticul imunologic presupune detectarea stării de sensibilizare față de proteinele bacilului tuberculos prin intradermoreacții. Starea de alergie tuberculinică este prezentă la persoanele care au venit în contact cu *Mycobacterium tuberculosis* prin boală sau vaccinare.

Serodiagnosticul nu se practică fiind o metodă lipsită de specificitate și sensibilitate.

TRATAMENT

Tratamentul tuberculozei presupune administrarea de antibiotice antituberculoase: rifampicina, izoniazida, pirazinamida, etambutolul etc. Pentru a evita selectarea de mutante rezistente se impune efectuarea tratamentului cu asocieri de substanțe antibacteriene. Bolnavul va fi monitorizat clinic, radiologic și bacteriologic atât pe durata spitalizării cât și după externare.

Este necesară de asemenea chimiprofilaxia pentru contactii pacientului diagnosticat cu tuberculoză.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Sursa de infecție este exclusiv umană: omul bolnav cu leziuni deschise iar transmiterea este exclusiv interumană pe cale aerogenă, mai rar prin contact direct cu leziuni deschise. Receptivitatea este generală risc mare având extremele de vârstă, boli asociate, condiții precare de viață, boli imunodeprimante.

Pandemia de infecție cu HIV a favorizat recrudescența tuberculozei. Dacă după primo-infecție un procent de 3-5% din pacienți dezvoltă în cursul vieții boala tuberculoasă, la pacienții HIV pozitivi acest procent se ridică la 30%. Localizarea bolii este mixtă (pulmonară și extrapulmonară) și are evoluție severă la pacienții infectați HIV.

Profilaxia nespecifică a bolii constă în depistarea precoce a surselor de infecție, izolarea lor, tratarea, educația sanitară a populației.

Profilaxia specifică este realizată prin vaccinarea BCG care este obligatorie la noi în țară. Vaccinul conține o tulpină de *Mycobacterium bovis* care, după ce a fost subcultivată de 230 de ori de Calmette și Guerin pe mediul cu bilă și cartof, și-a pierdut capacitatea patogenă rămânând imunogenă. Vaccinul BCG (bacille Calmette-Guerin) se utilizează în profilaxia tuberculozei din 1921.

Tulpina vaccinală de *Mycobacterium bovis* crește pe mediul Loewenstein-Jensen în 2-4 săptămâni formând colonii rugoase, margini netede. Nu produce niacină, nitrat-reductază, este rezistentă la pirazinamidă și la cicloserină. Este catalază pozitivă și sensibilă la hidrazida acidului tiophen-2-carboxilic

MYCOBACTERIUM BOVIS, MYCOBACTERIUM AFRICANUM

Caractere de cultură

Mycobacterium bovis cultivă pe mediul Loewenstein-Jensen. Crește lent sau foarte lent, sărac (disgonic) sub formă de colonii S, mici, umede, nepigmentate.

Mycobacterium africanum are caractere intermediare între *Mycobacterium tuberculosis* și *Mycobacterium bovis*. Crește sub formă de colonii plate, rugoase.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Mycobacterium bovis este agentul cauzal al tuberculozei bovine la care induce mamita tuberculoasă sau tuberculoza pulmonară. Omul se contaminează fie prin consumul laptelui de vacă nefiert fie prin inhalarea de aerosoli eliminați de vitele cu afectare pulmonară.

Mycobacterium africanum este întâlnit în Africa de Vest și Centrală.

Ambele specii induc la om tuberculoza pulmonară care nu se deosebește din punct de vedere clinic de cea cauzată de *Mycobacterium tuberculosis*

MYCOBACTERII ATIPICE

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Sunt mycobacterii prezente în mediul înconjurător și în microbiota animalelor, oportuniste pentru organismul uman bolile cauzate fiind numite „micobacterioze”. În raport cu caracterele de cultivare micobacteriile atipice se împart în patru grupe:

Grupul I fotocromogen, produce pigment după expunere la lumină:

Mycobacterium kansasii
Mycobacterium marinum

Grupul II scotocromogen, produce pigment după expunere la lumină dar și când este incubată la întuneric:

Mycobacterium scrofulaceum
Mycobacterium gordonae

Grupul III noncromogen nu produce pigment:

Mycobacterium xenopi
Mycobacterium ulcerans
Mycobacterium avium-intracellulare
Mycobacterium malmoense

Grupul IV cu creștere rapidă, sub 7 zile de incubație:

Mycobacterium fortuitum
Mycobacterium chelonae

Habitat

Mycobacterium avium complex alcătuit din două specii (*M. avium* și *M. intracellulare*) a fost izolat din apa potabilă, din rețeaua de apă, din pește crud și brânzeturi.

Mycobacterium abscessus și *Mycobacterium chelonae* sunt prezente în apa de suprafață, în apa de canal, în gunoiul de grajd.

Mycobacterium gordonae este o micobacterie ubicuitară prezentă în sol, apă, lapte nepasteurizat. Este nepatogen pentru om fiind izolat de pe mucoasele umane, din urină sau lichid gastric.

Mycobacterium kansasii a fost izolat mai puțin din mediul înconjurător față de celelalte micobacterii atipice. A fost izolat din rețeaua de alimentare cu apă de unde, prin aspirare sau inoculare, pătrunde în organismul uman.

Mycobacterium marinum se găsește în apele dulci și sărate infectând persoanele care înoată prezentând traumatisme cutanate.

Sunt rezistente față de substanțele antituberculoase. Este necesară poli-chimioterapia pentru a evita selectarea mutantelor rezistente

PATOGENIE. BOALA LA OM

Sunt responsabile de afecțiuni cu diferite localizări în raport cu specia infectantă:

Mycobacterium kansasii, având ca rezervor apa și vitele induce afecțiuni respiratorii;

Mycobacterium marinum, prezent în apă și la pești, cauzează la om infecții cutanate ulcerative, noduli și abcese subcutanate;

Mycobacterium xenopi având ca habitat apa și păsările, afectează pacienți cu pneumopatii preexistente cauzând afecțiuni respiratorii similare tuberculozei;

Mycobacterium scrofulaceum, izolat din sol și din apă, este implicat în infecții ganglionare cauzând limfadenite cervicale la copii;

Mycobacterium fortuitum, *Mycobacterium chelonae* sunt agenți etiologici ai infecțiilor cutanate, abceselor subcutanate, mai rar a unor infecții diseminate. Au fost implicate în infecții nosocomiale ale plăgilor chirurgicale după chirurgie cardio-toracică sau după mamoplastii sursa de infecție fiind apa de robinet sau violetul de gențiană utilizat pentru marcarea tegumentului în chirurgia plastică. Alte infecții nosocomiale cauzate de cele două specii de *Mycobacterium* au apărut după implantarea unor dispozitive medicale, după utilizarea endoscoapelor sau după injecții.

Mycobacterium ulcerans izolat la om este implicat în ulceratii dermo-necrotice.

Mycobacterium avium-intracellulare are ca rezervor solul, apa, păsările, porcii și vitele. Induce la om infecții diseminate, în special la pacienți cu SIDA. La gazda imunocompetentă poate cauza infecții pulmonare, ganglionare, osteo-articulare;

Micobacteriile atipice afectează în special pacienții cu SIDA în stadii avansate.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Are la bază evidențierea bacteriei pe frotiu și prin cultură și identificarea pe baza morfologiei, acido-alcool-rezistenței, aspectelor pe cultură și caracterelor biochimice.

Identificarea rapidă utilizând sonde genetice este disponibilă pentru *Mycobacterium gordonae* și *Mycobacterium avium-intracellulare*. Rezultatele testelor de laborator trebuie interpretate cu grijă, în contextul clinic pentru a diferenția infecția de o simplă contaminare.

Bacterii fără perete celular

GENUL MYCOPLASMA ȘI GENUL UREAPLASMA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

Genul *Mycoplasma* și genul *Ureaplasma* fac parte din familia *Mycoplasmataceae*. Cuprind celule procariote fără perete bacterian, răspândite în natură, izolate de la animale, insecte și de pe plante. Majoritatea speciilor izolate de la om sunt comensale sau ocazional patogene. Diferența între cele două genuri

constă în sursa de energie utilizată: Mycoplasma utilizează glucoza în timp ce Ureaplasma utilizează ureea.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Din microbiota orală au fost izolate Mycoplasma orale și Mycoplasma salivarium. Ca patogen este prezentă în arborele respirator Mycoplasma pneumoniae.

La nivelul căilor genitale sunt izolate Ureaplasma urealyticum și Mycoplasma genitalium, hominis și fermentans.

Caractere morfotinctoriale

Sunt bacterii foarte mici, cu dimensiuni de 300 nm motiv pentru care nu pot fi evidențiate la microscopul optic. Nu au perete bacterian, citoplasma conține genomul și ribozomii iar membrana citoplasmatică trilaminată este bogată în lipide, glucide, glicolipide și proteine. Lipsa peretelui bacterian le conferă o foarte mare plasticitate și polimorfism. Apar ca forme filamentoase, bacilare, cocoide.

Caractere de cultură

Cultivarea este dificilă necesitând medii bogate în colesterol, extract de levură, precursori pentru sinteza de acizi nucleici. Crește lent, în atmosferă microaerofilă coloniile apar în câteva zile, sunt foarte mici, vizibile cu lupa. Coloniile au aspect de „ou prăjit”.

Mycoplasma hominis este facultativ anaerobă, crește pe medii speciale cu arginină, în 1-4 zile în timp ce Ureaplasma urealyticum crește pe medii cu uree. Coloniile ambelor specii sunt minuscule cu aspect de „ou prăjit”.

Caractere biochimice

Caracterele biochimice utile în identificarea germenilor din genul Mycoplasma și Ureaplasma sunt: fermentarea glucozei, hidroliza ureei și argininei.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Sunt germeni sensibili în mediul extern la variațiile de pH, temperatură și presiune osmotică, față de acțiunea agenților tensioactivi.

Sunt rezistente față de beta-lactamine.

Structură antigenică

Mycoplasmele posedă antigene specifice de grup și specie. Mycoplasma pneumoniae posedă următoarele antigene:

- antigene proteice din care proteina P1 cu rol de adezină este cea mai importantă;
- antigenul glicolipidic folosit în reacția de fixare a complementului
- determinanți antigenici comuni cu structuri ale organismului uman: mușchi, creier, plămâni, limfocite, hematii.

Răspuns imun

Imunitatea este asigurată de IgA secretorii, este tranzitorie, reinfecțiile sunt posibile.

Caractere de patogenitate

Mycoplasma pneumoniae este patogenă prin virulență asigurată de proteina P1 care o leagă de celula epitelială care în final este distrusă. Un alt factor de virulență este inhibitorul catalazei produs de *Mycoplasma pneumoniae*. Acesta împiedică descompunerea peroxidului de hidrogen care se formează în cursul metabolismului bacterian și celular. Acumularea peroxidului duce la distrugerea celulei epiteliale.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Mycoplasma pneumoniae este responsabilă de „pneumonia atipică” (Eaton) care poate să apară la orice vârstă dar afectează cu precădere copilul și adultul tânăr. După o incubatie lungă (15-20 zile) apar simptomele ce constau din febră, cefalee, mialgie, rahialgie, tuse seacă, persistentă. Convalescența este lungă. Sunt posibile complicații și localizări extrapulmonare: pleurezie, sinusită, miocardită, pericardită, infecții genitale.

Mycoplasmele și ureaplasmele genitale sunt adesea comensale. Pot cauza unele afecțiuni:

- la bărbat: uretrite non-gonococice mai rar prostatite sau epididimite;
- la femeie: vaginite, cervicite, salpingite, infecții urinare și pelviene;
- la nou-născut contaminat în cursul nașterii: infecție neonatală pulmonară cronică, meningită

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Pentru că este un patogen extracelular dar are o mare capacitate de aderare la suprafața celulelor produsele patologice recoltate vor conține celule recoltate prin periaj endobronșic, lavaj bronho-alveolar, grataj al mucoaselor etc.

În produs patologic se pot căuta antigenele bacteriene prin tehnici imunologice: imunofluorescență directă, imunoprecipitare, reacții imunoenzimatic.

Cultivarea este dificilă, necesită timp (5-21 zile), medii speciale și protocoale riguroase. Identificarea se face pe baza morfologiei coloniilor și a proprietăților biochimice și de metabolism.

Diagnosticul serologic este esențial în infecțiile cauzate de *Mycoplasma pneumoniae*. Se detectează anticorpii specifici prin imunofluorescență, ELISA sau imunoblot. Prezența IgM specifice sau creșterea titrului de anticorpi în seruri pereche recoltate la 15 zile interval sunt martorii unei infecții recente.

În infecțiile cauzate de micoplasmele și ureaplasmele genitale diagnosticul este exclusiv bacteriologic și presupune izolarea pe medii. Rezultatele trebuie interpretate atent pentru a stabili corect semnificația clinică a izolatelor.

TRATAMENT

În tratamentul infecțiilor cauzate de *Mycoplasma pneumoniae* sunt utile macrolidele, tetraciclinele, fluorochinolonele de ultimă generație.

Ureaplasma urealyticum este rezistentă față de tetracicline deci tratamentul eficient este eritromicina.

Mycoplasma hominis este rezistentă față de eritromicină și uneori față de tetraciline deci se tratează cu clindamicină și fluorochinolone

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Mycoplasma pneumoniae este implicată în infecții endemice cu sezonabilitate de toamnă-iarnă mai afectați fiind copii și adolescenții. Măsurile de profilaxie sunt impracticabile.

Infecțiile cu Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis și Ureaplasma urealyticum se transmit prin contact sexual deci profilaxia lor este cea a bolilor cu transmitere sexuală.

Bacterii intracelulare

GENUL CHLAMYDIA

DEFINIȚIE, ÎNCADRARE

În Ordinul Chlamydiales, familia Chlamydiaceae sunt incluse 2 genuri (Chlamydia și Chlamydophyla) cu patru specii din care 3 sunt patogene pentru om: Chlamydia trachomatis, Chlamydophyla psittaci, Chlamydophyla pneumoniae divizate în biovaruri și serovaruri care determină afecțiuni specifice.

CARACTERE GENERALE

Habitat

Chlamydia trachomatis are ca gazde omul, șoarecele și porcul. Chlamydophyla pneumoniae are ca gazde naturale omul și caii. Chlamydophyla psittaci este găzduită de:

- păsările sălbatice: pescăruși, egrete etc;
- păsări domestice: curcan, rață, găină;
- păsări de agrement: papagal, canar, pescăruș;
- mamifere: bovine, ovine, pisici.

Caractere morfotinctoriale

Bacterii mici, 0,2 μm , cocoide, paraziți intracelulari obligatorii cu perete rigid, multilaminat, asemănător ca structură cu cel al bacteriilor Gram negative.

În interiorul celulelor incluzia este înconjurată de o matrice bogată în glicogen. Din acest motiv, incluziile chlamydiene pot fi evidențiate pe frotiu prin colorare cu iod (Lugol).

Colorația Giemsa, mai frecvent utilizată permite diferențierea incluziilor tinere alcătuite din corpi reticulați care se colorează în albastru și a incluziilor mature în care predomină corpii elementari care se colorează în roșu.

Caractere de cultură

Cultivarea Chlamydiilor se face pe oul embrionat de găină care se inoculează în sacul vitelin, pe culturi de celule, pe culturi de organ. Creșterea bacteriei este evidențiată pe frotiu prin apariția incluziilor intracitoplasmice.

Rezistența față de factori fizici, chimici și biologici

Corpusculii elementari rămân infecțioși perioade lungi chiar și în condiții de uscăciune. Sunt inactivați de eter, săruri cuaternare de amoniu, fenol, căldură umedă.

Sunt sensibile față de rifampicină, cicliline, macrolide, fluorochinolone iar Chlamydia trachomatis este sensibilă în plus față de sulfamide.

Structură antigenică

Peretele bacterian conține următoarele structuri antigenice:

- antigenul specific de gen: de natură lipopolizaharidică, termostabil, fixator de complement. Este comun celor 3 specii și este prezent în toate stadiile de dezvoltare. Poate fi extras din peretele bacterian și este utilizat în serodiagnostic;

- antigenul cu specificitate de specie: de natură proteică, termolabilă, se numește „proteină majoră a membranei externe” (PMME). Este prezentă în toate stadiile de dezvoltare dar este specifică fiecărei specii de Chlamydia.

- Antigene cu specificitate de tip: de natură proteică, permit clasificare serovarurilor în cadrul speciei. Chlamydia trachomatis este subdivizată în 16 serovaruri, Chlamydia psittaci în 13 și Chlamydia pneumoniae într-un biovar.

Răspuns imun

Răspunsul imun constă în sinteza de anticorpi IgM, IgG și IgA față de antigene cu specificitate de gen, specie și tip care însă nu au putere protectoare.

Caractere de patogenitate

Sunt patogene prin:

- proteinele hsps = heat shock protein din învelișul chlamydian, care asigură pătrunderea bacteriei în celula gazdă;

- lipoproteina MIP = macrophage infectivity potentiator protein cu rol în virulența bacteriei.

PATOGENIE. BOALA LA OM

Ciclul de dezvoltare al speciilor de Chlamydia se desfășoară în celula gazdă, în interiorul unei vacuole provenită din invaginarea membranei celulare.

Chlamydia pătrunde în celulă prin fagocitoză sub formă de *corpi elementari* cu diametrul de 0,2 μm. Corpii elementari reprezintă forma extracelulară infecțioasă a chlamydiilor. După aderarea de receptorii celulari specifici, corpusculii elementari sunt fagocitați într-o vacuolă în interiorul căreia se transformă în *corpi intermediari*, apoi în *corpi reticulați* cu dimensiuni de 0,8-1 μm. Corpii reticulați reprezintă forma vegetativă neinfecțioasă a chlamydiilor. Se multiplică prin diviziune binară alcătuind o microcolonie sau incluzie în interiorul vacuolei de fagocitoză care va crește ca dimensiuni transformându-se într-o mare incluzie bazofilă. După 4-5 diviziuni, corpii reticulari suferă o maturare devenind

corpi intermediari apoi, din nou, *corpi elementari*. Ciclul ia sfârșit prin eliberarea noilor corpi elementari în urma lizării celulei gazdă după un interval de 48-72 de ore de la infectarea acesteia. Noii corpusculi elementari infecțioși eliberați vor contamina altă celulă.

Corpuri elementari sunt forme virulente dar odată intrați în celulă infecțiozitatea lor scade devenind nulă pentru corpuri reticulați.

Chlamydia trachomatis este un patogen exclusiv uman cauzând:

- trahomul, o infecție conjunctivală care are ca etiologie serovarurile (serotipurile) A, B, Ba, C;

- boli cu transmitere sexuală cauzate de 8 serotipuri notate de la D la K, implicate în:

- infecții cu localizare joasă: uretrite nespecifice și epididimite la bărbat, cervicite și uretrite la femeie;
- infecții cu localizare înaltă: prostatite, salpingite acute sau cronice, sterilitate tubară;
- localizări extragenitale: conjunctivite foliculare, conjunctivită cu incluzii, pneumonie, rinită sau otită la nou-născutul contaminat la naștere.

- Limfogranulomatoza inghinală veneriană (boala Nicolas-Favre) cauzată de serotipurile L1, L2, L2a, L3. Este o boală cu transmitere sexuală, cu incubatie de 10-15 zile. Pe gland, în vagin sau anus apare un șancru însoțit de poliadenopatie inghinală care fistulizează.

Chlamydomphila psittaci a fost izolată de la păsări, bovine, ovine omul fiind doar o gazdă ocazională, infectat accidental în special cu tulpini aviare. Cauzează psitacoza la papagal, canar și la om. Boala cauzată de *Chlamydomphila psittaci* la păsările sălbatice și la păsările de curte se numește ornitoză. Psitacoza umană se manifestă ca o brohopneumonie. Infecția gravidei cu tulpini ovine duce la avort.

Chlamydomphila pneumoniae este un patogen strict uman care poate cauza infecții la orice vârstă evoluția fiind mai gravă la pacientul adult sau bătrân. Rezervorul de infecție este uman, transmiterea aerogenă. Pot fi afectate succesiv sau izolat toate segmentele aparatului respirator: sinus, faringe, laringe (răgușeală), bronhii, parenchim pulmonar (pneumonie atipică). În prezent se derulează studii referitoare la posibila implicare a *Chlamydomphila pneumoniae* în etiologia aterosclerozei întrucât s-au izolat gene și antigene ale bacteriei în plăcile de ateroscleroză.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR

Chlamydia trachomatis

Pentru că bacteria se găsește intracelular este necesar ca prelevatul destinat diagnosticului de laborator să fie recoltat prin raclajul blând al mucoaselor pentru a recolta celule. Se examinează tamponul endouretral, din endocolul uterin, raclat conjunctival. De la nou născut se recoltează secreția nasofaringiană iar de la cazurile de limfogranulomatoză veneriană se examinează aspiratul ganglionar și puroiul din fistulă.

Pe frotiul colorat Giemsa sau cu iod se pot evidenția incluzii citoplasmice, într-o matrice albastră, care deformează nucleul. Se pot aplica tehnici de imunofluorescență directă care utilizează anticorpi monoclonali anti-*Chlamydia trachomatis*, marcați, pentru evidențierea corpusculilor elementari.

Izolarea se poate face pe culturi celulare Mac Coy sau HeLa.

Cele mai sensibile metode de diagnostic sunt cele de biologie moleculară: hibridizare ADN/ARN, PCR.

Diagnosticul serologic constă în evidențierea anticorpilor formați față de antigenele cu specificitate de gen, specie și tip prin reacții fixare a complementului, imunofluorescență, ELISA, Western blot. Prezența anticorpilor de tip IgM sau seroconversia este semn de infecție recentă. În infecțiile genitale se caută anticorpi de tip IgA a căror prezență denotă o infecție înaltă, activă.

Chlamydomphila psittaci

Pentru diagnosticul psitacozei/ornitozei folosim spută, tampon nasofaringian, sânge, țesut pulmonar examinate prin PCR.

În infecția umană cauzată de Chlamydomphila psittaci se determină prezența anticorpilor cu reacția de fixare a complementului în care se folosește antigenul specific de grup sau cu reacția de imunofluorescență indirectă.

Chlamydomphila pneumoniae

Se examinează tamponul faringian prin frotiu colorat imunofluorescent.

Se poate cultiva pe oul de găină embrionat sau pe culturi de celule efectul citopatogen constând în apariția de mici incluzii intracelulare, rotunde, caracteristice.

Serodiagnosticul presupune evidențierea anticorpilor cu ajutorul reacțiilor de imunofluorescență indirectă sau ELISA. Seroconversia apare la 3 săptămâni de la debutul bolii.

TRATAMENT

Tratamentul antibiotic al infecțiilor chlamydiene este prelungit și trebuie făcut cu antibiotice care au o bună penetrare celulară întrucât formele intracelulare sunt deosebit de rezistente.

În infecțiile genitale este util tratamentul cu azitromicină în monodoză sau cu o ciclină timp de cel puțin 5 zile, tratând ambii parteneri.

În conjunctivita cu incluzii se poate administra rifampicină iar în infecțiile oculare tetraciclină în aplicații locale și pe cale generală. Tratamentul trahomului se face pe durata a 4-8 săptămâni.

EPIDEMIOLOGIE. PREVENIRE. CONTROL

Trahomul este endemic în Asia, Africa, bazinul Mediteranei unde se transmite cu mâna, prosopul, batista contaminate, mai afectați fiind copiii. Celelalte infecții cauzate de Chlamydia trachomatis au ca rezervor pacienții cu infecție/leziuni genitale calea de transmitere fiind cea sexuală.

Chlamydomphila pneumoniae rezervorul de infecție este uman, transmiterea aerogenă, receptivitatea generală.

Pentru Chlamydomphila psittaci rezervorul de infecție este reprezentat de păsări care elimină bacteria prin materiile fecale. Omul se contaminează aerogen prin inhalarea pulberilor rezultate prin uscarea dejectelor de pasăre. Transmiterea interumană este rară.

Chlamydomphila pneumoniae se transmite interuman pe cale respiratorie.

Profilaxia infecțiilor cauzate de Chlamydia trachomatis presupune educația sanitară, sexuală, morală controlul medical periodic.

Bibliografie selectivă

1. Ali A., El-Solh, Mifue Okada, Celestino Pietrantonio, Alan Aquilina, Eileen Berbary: Procoagulant and fibrinolytic activity in ventilator-associated pneumonia: impact of inadequate antimicrobial therapy, *Intensive Care Med*, 2004, 30:1914–1920
2. Amsden GW: Tables of antimicrobial agent pharmacology. În: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Churchill Livingstone, Philadelphia, PA, 2000, 578–579
3. Andrzej Piekarowicz, Daniel C. Stein: Biochemical Properties of *Neisseria gonorrhoeae* LgtE, *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (23), 6410-6416
4. Appleman MD, Belzberg H, Citron DM, Heseltine PN, Yellin AE, Murray J, Berne TV: In vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000, 44:1035–1040
5. Barnes PF, Barrows SA: Tuberculosis in the 1990s, *Ann Intern Med*, 1993; 119: 400-410
6. Bass JB Jr, Farer LS, Hopewell PC: Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. American Thoracic Society and The Centers for Disease Control and Prevention, *Am J Respir Crit Care Med*, 1994, 149 (5): 1359-74
7. Beezhold DW, Slaughter S, Hayden MK, et al: Skin colonization with vancomycin-resistant enterococci among hospitalized patients with bacteremia, *Clin Infect Dis*, 1997; 24(4): 704-6
8. Bell Edward A: Quinupristin/dalfopristin: An interesting new antibiotics period, *Infect Dis Child*, 2000; 13(3): 53.
9. Berlau J., H. Aucken, H. Malnick, T. Pitt: Distribution of *Acinetobacter* Species on Skin of Healthy Humans, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1999, 18 :179–183
10. Bisno AL, Dismukes WE, Durack DT, et al: Antimicrobial treatment of infective endocarditis due to viridans streptococci, enterococci, and staphylococci. *JAMA* 1989; 261(10): 1471-7
11. Blaser MJ: *Campylobacter fetus*--emerging infection and model system for bacterial pathogenesis at mucosal surfaces, *Clin Infect Dis*, 1998, 27 (2): 256-8.
12. Bonadio WA: Group D streptococcal bacteremia in children. A review of 72 cases in 12 years, *Clin Pediatr (Phila)*, 1993, 32(1): 20-4.

13. Bootsma HJ, van Dijk H, Vauterin P: Genesis of BRO beta-lactamase-producing *Moraxella catarrhalis*: evidence for transformation-mediated horizontal transfer, *Mol Microbiol*, 2000, 36(1): 93-104
14. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, et al: Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance, *J Clin Microbiol* 1994, 32(5): 1148-53.
15. Bradley SJ, Wilson AL, Allen MC, et al: The control of hyperendemic glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. on a haematology unit by changing antibiotic usage, *J Antimicrob Chemother*, 1999, 43(2): 261-6.
16. Brown TJ, Yen-Moore A, Tyring SK: An overview of sexually transmitted diseases. Part I, *J Am Acad Dermatol*, 1999, 41 (4): 511-32
17. Buiuc D., Neaguț M.: *Tratat de Microbiologie clinică*, Editura Medicală, București, 1999
18. Buiuc D: *Microbiologie Medicală: ghid pentru studiul și practica medicinei*, Editura Gr.T.Popa, Iași, 2003
19. Calil R, Marba STM, von Nowakonski A, Tresoldi AT.: Reduction in colonization and nosocomial infection by multiresistant bacteria in a neonatal unit after institution of educational measures and restriction in the use of cephalosporins, *Am J Infect Control* 2001; 29:133-8.
20. Carlson P, Korpela J, Walder M, Nyman M: Antimicrobial susceptibilities and biotypes of *Arcanobacterium haemolyticum* blood isolates. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1999, 18 :915–917
21. Carlson P, Renkonen OV, Kontiainen S: *Arcanobacterium haemolyticum* and streptococcal pharyngitis, *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 1994, 26: 283–287
22. Carlson P., J. Korpela, M. Walder, M. Nyman: Antimicrobial Susceptibilities and Biotypes of *Arcanobacterium haemolyticum* Blood Isolates, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1999, 18 :915–917
23. Carmeli Y, Samore MH, Huskins C: The association between antecedent vancomycin treatment and hospital- acquired vancomycin-resistant enterococci: a meta-analysis, *Arch Intern Med*, 1999, 159(20): 2461-8.
24. Chang W.N., C.H. Lu, C.R. Huang, Y.C. Chuang: Community-Acquired *Acinetobacter* Meningitis in Adults, *Infection*, 2000; 28 (6): 395-397

25. Chang W.N., C.H. Lu, C.R. Huang, Y.C. Chuang: Mixed Infection in Adult Bacterial Meningitis, *Infection*, 2000; 28 (1):8–12
26. Chaudhry SI, Greenspan JS: Actinomycosis in HIV infection: a review of a rare complication, *Int J STD AIDS*, 2000, 11(6): 349-55
27. Chicin Gratiana, Nicoară Emilia, Roșca Adriana: Ghid de profilaxie și combatere a bolilor infecțioase pentru medicii de familie. Ed. Eurobit, Timișoara, 2000, ISBN 973-3441-81-X.
28. Chouabe S, Perdu D, Deslee G, et al: Endobronchial actinomycosis associated with foreign body: four cases and a review of the literature, *Chest*, 2002, 121(6): 2069-72
29. Chow JW, Kuritza A, Shlaes DM, et al: Clonal spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* between patients in three hospitals in two states, *J Clin Microbiol*, 1993, 31(6): 1609-11.
30. Christie C, Hammond J, Reising S, Evans-Patterson J: Clinical and molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in a pediatric teaching hospital, *J Pediatr*, 1994, 125 (3): 392-9.
31. Cieslak TJ, Eitzen EM Jr: Clinical and epidemiologic principles of anthrax, *Emerg Infect Dis*, 1999; 5 (4): 552-5
32. Coker Pamala R., Kimothy L. Smith, Martin E. Hugh-Jones: Antimicrobial Susceptibilities of Diverse *Bacillus anthracis* Isolates, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46 (12): 3843-3845
33. Cookson BD.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community: new battlefronts, or are the battles lost?, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000; 21: 398-403.
34. Cooper GS, Shlaes DM, Jacobs MR: The role of *Enterococcus* in intraabdominal infections: case control analysis, *Infect Dis Clin Practice*, 1993; 2: 332-9.
35. Couture-Tosi Evelyne, Hervé Delacroix, Târn Mignot, Stéphane Mesnage, Mohamed Chami, Agnès Fouet, Gervaise Mosser: Structural Analysis and Evidence for Dynamic Emergence of *Bacillus anthracis* S-Layer Networks, *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (23), 6448-6456
36. Coyle MB, Lipsky BA: Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects, *Clinical Microbiology Reviews*, 1990; 3 (3): 227-46

37. Cunha BA: Antibiotic Essentials. Antibiotic Essentials. Physicians Press, Birmingham, Michigan 2002.
38. Cunha BA: Bioterrorism anthrax: A clinical perspective (Part II). *Infect Dis Pract*, 2002; 26: 81-85.
39. Cunha BA: Zoonotic anthrax: A clinical perspective (Part I). *Infect Dis Pract* 2001; 25: 69-76.
40. Cunha CB: Anthrax: Ancient Plague, Persistent Problem. *Infect Dis Pract* 1999; 23(4): 35-9.
41. Czelusta A, Yen-Moore A, Van der Straten M: An overview of sexually transmitted diseases. Part III. Sexually transmitted diseases in HIV-infected patients, *J Am Acad Dermatol*, 2000, 43 (3): 409-32; quiz 433-6
42. de Champs Valerie Livrelli C., Di Martino P, Darfeuille-Michaud A, Forestier C, Joly B.: Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella* , *Enterobacter* , and *Serratia* clinical isolates involved in nosocomial infections, *J Clin Microbiol*, 1996; 34 :1963-9.
43. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ et al.: Survey of infections due to staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the Sentry Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, *Clin Infect Dis*, 2001; 32 (Suppl. 2): S114-S132.
44. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, et al: Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. *N Engl J Med*, 2000, 343 (26): 1925-32.
45. Dorman SA, Danos LM, Wilson DJ: Detection of chlamydial cervicitis by Papanicolaou stained smears and culture, *Am J Clin Pathol*, 1983, 79 (4): 421-5
46. Dougherty SH: Role of enterococcus in intraabdominal sepsis, *Am J Surg* 1984, 148 (3): 308-12.
47. Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, et al: Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection, *Clin Infect Dis*, 1995, 20 (5): 1126-33.
48. Efstratiou A, Engler KH, Mazurova IK, et al: Current approaches to the laboratory diagnosis of diphtheria, *J Infect Dis*, 2000, 181 Suppl 1: S138-45

49. Ehret JM, Judson FN: Susceptibility testing of *Chlamydia trachomatis*: from eggs to monoclonal antibodies, *Antimicrob Agents Chemother*, 1988, 32 (9): 1295-9
50. Engler KH, Efstratiou A: Rapid enzyme immunoassay for determination of toxigenicity among clinical isolates of corynebacteria, *J Clin Microbiol*, 2000, 38 (4): 1385-9
51. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP: Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gramnegative bacteria, *Ann Pharmacother*, 1999, 33:960–967
52. Frank U: Hospital outbreaks of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* bacteremic infections, *Clinical Microbiology and Infection*, 1999, 5, Supplement 3:32
53. Franziska Schaaff, Andrea Reipert, Gabriele Bierbaum: An Elevated Mutation Frequency Favors Development of Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46 (11), 3540-3548
54. Freedman A, Afonja O, Chang MW: Cutaneous anthrax associated with microangiopathic hemolytic anemia and coagulopathy in a 7-month-old infant, *JAMA*, 2002; 287: 869-874.
55. Fridkin SK, Edwards JR, Courval JM, et al: The effect of vancomycin and third-generation cephalosporins on prevalence of vancomycin-resistant enterococci in 126 U.S. adult intensive care units, *Ann Intern Med*, 2001, 135 (3): 175-83.
56. Friedlander AM: Anthrax: clinical features, pathogenesis, and potential biological warfare threat, *Curr Clin Top Infect Dis*, 2000; 20: 335-49
57. Gehanno P, Panajotopoulos A, Barry B: Microbiology of otitis media in the Paris, France, area from 1987 to 1997, *Pediatr Infect Dis J*, 2001, 20 (6): 570-3
58. Ghelardi Emilia, Francesco Celandroni, Sara Salvetti, Douglas J. Beecher, Myriam Gominet, Didier Lereclus, Amy C. L. Wong, Sonia Senesi: Requirement of *flhA* for Swarming Differentiation, Flagellin Export, and Secretion of Virulence-Associated Proteins in *Bacillus thuringiensis*, *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (23), 6424-6433,

59. Gonzales RD, Schreckenberger PC, Graham MB, et al: Infections due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* resistant to linezolid, *Lancet*, 2001, 357 (9263): 1179.
60. Goossens H: Spread of vancomycin-resistant enterococci: differences between the United States and Europe, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1998, 19 (8): 546-51.
61. Grabenstein JD: Anthrax vaccine: a review, *Immunol Allergy Clin North Am*, 2003, 23 (4): 713-30
62. Green M, Shlaes JH, Barbadora K, Shlaes DM: Bacteremia due to vancomycin-dependent *Enterococcus faecium*, *Clin Infect Dis*, 1995, 20(3): 712-4.
63. Green, Michael: Vancomycin resistant enterococci, *Adv Pediatr Dis*, 1998; 13: 257-277.
64. Gullberg RM, Homann SR, Phair JP: Enterococcal bacteremia: analysis of 75 episodes, *Rev Infect Dis*, 1989, 11 (1): 74-85.
65. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ: French and Portuguese ICU Study Groups: Antibiotic susceptibility among aerobic gramnegative bacilli in intensive care units in 5 European countries., *JAMA*, 1999, 281:67–71
66. Hand WL: *Haemophilus* species including chancroid. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone; 2000: 2380-2381.
67. Hardie JM, Whiley RA: Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*, *Soc Appl Bacteriol Symp Ser*, 1997; 26: 1S-11S.
68. Havlir DV, Barnes PF: Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection, *N Engl J Med*, 1999, 340: 367-73
69. Hoge CW, Adams J, Buchanan B, Sears SD: Enterococcal bacteremia: to treat or not to treat, a reappraisal, *Rev Infect Dis*, 1991, 13 (4): 600-5.
70. Hook EW 3rd, Smith K, Mullen C: Diagnosis of genitourinary *Chlamydia trachomatis* infections by using the ligase chain reaction on patient-obtained vaginal swabs, *J Clin Microbiol*, 1997, 35 (8): 2133-5
71. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC): Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Hospital

Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1995, 16 (2): 105-13.

72. Hunter MH, King DE: COPD: management of acute exacerbations and chronic stable disease, *Am Fam Physician*, 2001, 64 (4): 603-12

73. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC: Clinical practice. Latent tuberculosis infection, *N Engl J Med*, 2002, 347 (23): 1860-6

74. Jernigan JA, Stephens DS, Ashford DA: Industry-related outbreak of human anthrax, *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1657-1658.

75. Jernigan, JA, Stephens, DS, Ashford, DA: Bioterrorism-related inhalational anthrax: The first 10 cases reported in the United States, *Emerg Infect Dis*, 2001; 7: 933-943.

76. Johnson DM, Biedenbach DJ, Beach ML: Antimicrobial activity and in vitro susceptibility test development for cefditoren against *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Streptococcus* species, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2000, 37(2): 99-105

77. Kadirova R, Kartoglu HU, Strebel PM: Clinical characteristics and management of 676 hospitalized diphtheria cases, Kyrgyz Republic, 1995, *J Infect Dis*, 2000, 181 Suppl 1: S110-5

78. Kapfhammer Dagmar, Julia Blass, Stefan Evers, Joachim Reidl: *Vibrio cholerae* Phage K139: Complete Genome Sequence and Comparative Genomics of Related Phages, *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (23), 6592-6601

79. Karalus R, Campagnari A: *Moraxella catarrhalis*: a review of an important human mucosal pathogen, *Microbes Infect*, 2000, 2 (5): 547-59

80. Kaye D: Enterococci. Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility, *Arch Intern Med*, 1982, 142 (11): 2006-9

81. Kaye KS, Cosgrove S, Harris A, Eliopoulos GM, Carmeli Y.: Risk factors for emergence of resistance to broad-spectrum cephalosporins among *Enterobacter* spp., *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45:2628-30.

82. Khetsuriani N, Music S, Deforest A, Sutter RW: Evaluation of a single dose of diphtheria toxoid among adults in the Republic of Georgia, 1995: immunogenicity and adverse reactions, *J Infect Dis*, 2000, 181 Suppl 1: S208-12

83. Kim T, Oh PI, Simor AE: The economic impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2001; 22: 99-104.

84. Kirkpatrick BD, Harrington SM, Smith D, et al: An outbreak of vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit, *Clin Infect Dis* 1999, 29 (5): 1268-73.
85. Kolar M, Urbanek K, Latal T.: Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance, *Int J Antimicrob Agents*, 2001, 17:357-63.
86. Lalande V, Barbut F, Varnerot A, et al: Pseudo-outbreak of *Mycobacterium gordonae* associated with water from refrigerated fountains, *J Hosp Infect*, 2001, 48 (1): 76-9
87. Landman D, Quale JM: Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options, *J Antimicrob Chemother*, 1997, 40 (2): 161-70.
88. Lane HC, Fauci AS: Bioterrorism of the home front: A new challenge for American medicine, *JAMA*, 2001, 286: 2595-2597.
89. Lautenbach E, Bilker WB, Brennan PJ: Enterococcal bacteremia: risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1999, 20 (5): 318-23.
90. Lequerre T, Nouvellon M, Kraznowska K: Septic arthritis due to *Actinomyces naeslundii*: report of a case, *Joint Bone Spine*, 2002, 69 (5): 499-501.
91. Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EA, Manrique EI, Costa SF: Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, *Clin Infect Dis*, 1999, 28:1008–1011
92. Li WC, Chiu NC, Hsu CH: Pathogens in the middle ear effusion of children with persistent otitis media: implications of drug resistance and complications, *J Microbiol Immunol Infect*, 2001; 34: 190-4
93. Lieberman D, Lieberman D, Ben-Yaakov M: Infectious etiologies in acute exacerbation of COPD, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001, 40 (3): 95-102
94. Livornese LL Jr, Dias S, Samel C, et al: Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers, *Ann Intern Med*, 1992, 117 (2): 112-6
95. Low DE, Keller N, Barth A, Jones RN: Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, *Clin Infect Dis*, 2001, 32 Suppl 2: S133-45

96. Lucas GM, Lechtzin N, Puryear DW, et al: Vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bacteremia: comparison of clinical features and outcomes, *Clin Infect Dis*, 1998, 26 (5): 1127-33.
97. Mabeza GF, Macfarlane J: Pulmonary actinomycosis, *Eur Respir J*, 2003, 21 (3): 545-51.
98. Maki DG, Agger WA: Enterococcal bacteremia: clinical features, the risk of endocarditis, and management, *Medicine (Baltimore)*, 1988, 67 (4): 248-69.
99. Manfredi R, Nanetti A, Valentini R: *Moraxella catarrhalis* pneumonia during HIV disease, *J Chemother*, 2000, 12 (5): 406-11
100. Markou N, Apostolakis H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A, Alamanos I, Gregorakos L.: Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant gramnegative bacilli in critically ill patients, *Crit Care*, 2003, 7: R78–83
101. Martone WJ: Spread of vancomycin-resistant enterococci: why did it happen in the United States?, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1998, 19 (8): 539-45.
102. Masaru Komatsua, Masanori Aiharaa, Kouichi Shimakawaa, Mizuho Iwasakia, Yoko Nagasakaa, Saori Fukudaa, Shuji Matsuo, Yoshinori Iwatanib: Evaluation of MicroScan ESBL confirmation panel for Enterobacteriaceae-producing, extended-spectrum β -lactamases isolated in Japan, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2003, 46 125–130
103. Mayer TA, Bersoff-Matcha S, Murphy C: Clinical presentation of inhalational anthrax following bioterrorism exposure: Report of 2 surviving patients, *JAMA*, 2001, 286: 2549-2553.
104. McMichael JC: Progress toward the development of a vaccine to prevent *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* infections, *Microbes Infect*, 2000, 2 (5): 561-8
105. McMichael JC: Vaccines for *Moraxella catarrhalis*, *Vaccine*, 2000, 19 Suppl 1: S101-7
106. *Med Lett Drugs Ther*: Linezolid (Zyvox), *Med Lett Drugs Ther*, 2000, 42 (1079): 45-6.
107. Megran DW: Enterococcal endocarditis *Clin Infect Dis*, 1992, 15 (1): 63-71.
108. Mikucka A, Janicka G, Krawiecka D: Antibiotic-sensitivity of *Moraxella catarrhalis* isolated from clinical materials in 1997-1998, *Med Sci Monit*, 2000, 6 (2): 300-4

109. Miravittles M, Espinosa C, Fernandez-Laso E: Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. Study Group of Bacterial Infection in COPD, *Chest*, 1999, 116 (1): 40-6
110. Mishu B, Blaser MJ: Role of infection due to *Campylobacter jejuni* in the initiation of Guillain-Barre syndrome, *Clin Infect Dis*, 1993,17 (1): 104-8
111. Mishu B, Ilyas AA, Koski CL, et al: Serologic evidence of previous *Campylobacter jejuni* infection in patients with the Guillain-Barre syndrome, *Ann Intern Med*, 1993, 118 (12): 947-53
112. Moellering RC Jr: Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen, *Clin Infect Dis*, 1992, 14 (6): 1173-6.
113. Montecalvo MA, Jarvis WR, Uman J, et al: Infection-control measures reduce transmission of vancomycin-resistant enterococci in an endemic setting, *Ann Intern Med*, 1999, 131 (4): 269-72.
114. Montecalvo MA, Shay DK, Gedris C, et al: A semiquantitative analysis of the fecal flora of patients with vancomycin-resistant enterococci: colonized patients pose an infection control risk, *Clin Infect Dis*, 1997, 25 (4): 929-30.
115. Morris JG Jr, Shay DK, Hebden JN, et al: Enterococci resistant to multiple antimicrobial agents, including vancomycin. Establishment of endemicity in a university medical center. *Ann Intern Med*. 1995. 123 (4): 250-9.
116. Morrison D, Woodford N, Cookson B: Enterococci as emerging pathogens of humans, *Soc Appl Bacteriol Symp Ser*, 1997; 26: 89S-99S.
117. Murray BE, Singh KV, Markowitz SM, et al: Evidence for clonal spread of a single strain of beta-lactamase- producing *Enterococcus (Streptococcus) faecalis* to six hospitals in five states, *J Infect Dis*, 1991, 163 (4): 780-5.
118. Murray BE, Weinstock GM: Enterococci: new aspects of an old organism, *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, 111 (4): 328-34.
119. Murray BE: Vancomycin-resistant enterococcal infections, *N Engl J Med*, 2000, 342 (10): 710-21.
120. Murray BE: Vancomycin-resistant enterococci, *Am J Med* 1997, 102 (3): 284-93.
121. Nasser Salah, Amr Mabrouk, Ashraf Maher: Colonization of burn wounds in Ain Shams University Burn Unit, *Burns*, 2003, 29 229–233

122. Norris AH, Reilly JP, Edelstein PH, et al: Chloramphenicol for the treatment of vancomycin-resistant enterococcal infections, *Clin Infect Dis*, 1995, 20(5): 1137-44.
123. Oddie Sam, Nicholas D. Embleton: Risk factors for early onset neonatal group B streptococcal sepsis: case-control study, *BMJ*, 2002, 325:308
124. Ostrowsky BE, Trick WE, Sohn AH, et al: Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region, *N Engl J Med*, 2001, 344 (19): 1427-33.
125. Ostrowsky BE, Venkataraman L, D'Agata EM, et al: Vancomycin-resistant enterococci in intensive care units: high frequency of stool carriage during a non-outbreak period, *Arch Intern Med*, 1999, 159 (13): 1467-72.
126. O'Sullivan NP, Keane CT.: Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among nursing home residents, *J Hosp Infect*, 2000; 45: 206-210.
127. Ozumba UC, Jiburum BC. Bacteriology of burn wounds in Enugu, Nigeria. *Burns*, 2000; 26:178–80.
128. P. Owen: Prophylaxis for early onset group B streptococcal sepsis is not so effective in practice, *BMJ*, 2002; 325 (7371): 1037
129. Pasternak J, Bolivar R, Hopfer RL, et al: Bacteremia caused by *Campylobacter*-like organisms in two male homosexuals. *Ann Intern Med*, 1984, 101 (3): 339-41
130. Paterson D. L., Ko W. C., Von Gottberg A., Casellas J. M., Mulazimoglu L., Klugman K. P., Bonomo R. A., Rice L. B., McCormack J. G., Yu V. L.: Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, *J Clin Microbiol*, 2001, 39, 2206–2212.
131. Paterson, D. L.: Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs), *Clin Microbiol Infect*, 2000, 6, 460–463.
132. Patterson JE, Sweeney AH, Simms M, et al: An analysis of 110 serious enterococcal infections. Epidemiology, antibiotic susceptibility, and outcome, *Medicine (Baltimore)*, 1995, 74 (4): 191-200.

133. Perlman DM, Ampel NM, Schiffman RB, et al: Persistent *Campylobacter jejuni* infections in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV), *Ann Intern Med*, 1988, 108 (4): 540-6
134. Ponka A, Martio J, Kosunen TU: Reiter's syndrome in association with enteritis due to *Campylobacter fetus* ssp. *Jejuni*, *Ann Rheum Dis*, 1981, 40 (4): 414-5
135. Popa M.I.: *Microbiologie generală și microbiologie specială: nore de curs*, Editura Concept Publishing House, 1999
136. Principi N: Oral cephalosporins in the treatment of acute otitis media, *Clin Microbiol Infect*, 2000; 6 Suppl 3: 61-3
137. Quinn TC, Gaydos C, Shepherd M: Epidemiologic and microbiologic correlates of *Chlamydia trachomatis* infection in sexual partnerships, *JAMA*, 1996, 276 (21): 1737-42
138. Rafferty ME, McCormick MI, Bopp LH, et al: Vancomycin-resistant enterococci in stool specimens submitted for *Clostridium difficile* cytotoxin assay, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1997, 18 (5): 342-4.
139. Rahman MU, Hudson AP, Schumacher HR Jr: *Chlamydia* and Reiter's syndrome (reactive arthritis), *Rheum Dis Clin North Am*, 1992, 18(1): 67-79
140. Richard Facklam: What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes, *Clinical Microbiology Reviews*, 2002, 15 (4), 613-630
141. Robinson DA: Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk, *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1981, 16; 282 (6276): 1584
142. Roghmann MC, McCarter RJ Jr, Brewink J, et al: *Clostridium difficile* infection is a risk factor for bacteremia due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) in VRE-colonized patients with acute leukemia, *Clin Infect Dis*, 1997, 25 (5): 1056-9.
143. Ronald N. Jones, Douglas J. Biedenbach, Ana C. Gales: Sustained activity and spectrum of selected extended-spectrum β -lactams (carbapenems and cefepime) against *Enterobacter* spp. and ESBL-producing *Klebsiella* spp.: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (USA, 1997_/2000), *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2003, 21 1-7
144. Rosen T, Brown TJ: Genital ulcers. Evaluation and treatment, *Dermatol Clin*, 1998, 16 (4): 673-85,

145. Sabate M., Tarrago R., Navarro F., Miro E., Verge's C., Barbe J., Prats G.: Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain, *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44, 1970–1973.
146. Sarria J. C., F. Angulo-Pernett, R. C. Kimbrough, C. S. McVay, A. M. Vidal: Use of Intravenous Polymyxin B During Continuous Venovenous Hemodialysis, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004, 23: 340–341
147. Schmid GP: Chancroid and granuloma inguinale. In: Kelley W, ed. *Textbook of internal medicine*. 3rd ed. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 1997: 1670-1671.
148. Sethi S, Murphy TF: Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in 2000: a state-of-the-art review, *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14 (2): 336-63
149. Sharma M, Briski LE, Khatib R: Hepatic actinomycosis: an overview of salient features and outcome of therapy, *Scand J Infect Dis*, 2002; 34 (5): 386-91.
150. Shay DK, Maloney SA, Montecalvo M, et al: Epidemiology and mortality risk of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections, *J Infect Dis*, 1995, 172 (4): 993-1000.
151. Shlaes DM, Levy J, Wolinsky E: Enterococcal bacteremia without endocarditis, *Arch Intern Med*, 1981, 141 (5): 578-81.
152. Skov R.L., A.K. Sanden, V.H. Danchell, K. Robertsen, T. Ejlersen: Systemic and Deep-Seated Infections caused by *Arcanobacterium haemolyticum*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1998, 17 :578–582
153. Smego RA Jr, Foglia G: Actinomycosis, *Clin Infect Dis*, 1998, 26 (6): 1255-61; 1262-3.
154. Song W, Lee KM, Kang HJ, Shin DH, Kim DK.: Microbiological aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea, *Burns*, 2001, 27:136–9.
155. Stamm WE: *Chlamydia trachomatis* infections: progress and problems, *J Infect Dis*, 1999, 179 Suppl 2: S380-3
156. Stefanou J, Agelopoulou AV, Sipsas NV: *Moraxella catarrhalis* endocarditis: case report and review of the literature, *Scand J Infect Dis*, 2000; 32 (2): 217-8
157. Suppola JP, Kuikka A, Vaara M, Valtonen VV: Comparison of risk factors and outcome in patients with *Enterococcus faecalis* vs *Enterococcus faecium* bacteraemia, *Scand J Infect Dis*, 1998; 30 (2): 153-7.

158. Suppola JP, Volin L, Valtonen VV, Vaara M: Overgrowth of *Enterococcus faecium* in the feces of patients with hematologic malignancies, *Clin Infect Dis*, 1996, 23 (4): 694-7.
159. Suratt BT, Welsh CH: A 48-year-old smoker with cough and weight loss, *Chest*, 2000, 118 (1): 239-41
160. Swartz MN: Recognition and Management of Anthrax - An Update, *N Engl J Med*, 2001
161. Tain You-Lin, Ghi-Jen Lin, Tsang-Wee Cher: Microbiological spectrum of septicemia and peritonitis in nephrotic children, *Pediatr Nephrol*, 1999, 13: 835-837
162. Taylor DN, Blaser MJ, Echeverria P, et al: Erythromycin-resistant *Campylobacter* infections in Thailand, *Antimicrob Agents Chemother*, 1987, 31 (3): 438-42
163. Taylor DN, Blaser MJ: The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection, *Epidemiol Rev*, 1991; 13: 42-59
164. Taylor DN, McDermott KT, Little JR, et al: *Campylobacter* enteritis from untreated water in the Rocky Mountains, *Ann Intern Med*, 1983, 99 (1): 38-40
165. Taylor DN, Perlman DM, Echeverria PD, et al: *Campylobacter* immunity and quantitative excretion rates in Thai children, *J Infect Dis*, 1993, 168 (3): 754-8
166. Tee W, Mijch A: *Campylobacter jejuni* bacteremia in human immunodeficiency virus (HIV) - infected and non-HIV-infected patients: comparison of clinical features and review, *Clin Infect Dis*, 1998, 26 (1): 91-6
167. Terekhova Darya, Marina L. Sartakova, Gary P. Wormser, Ira Schwartz, Felipe C. Cabello: Erythromycin Resistance in *Borrelia burgdorferi*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46 (11), 3637-3640,
168. Tomecki: Chancroid and *Haemophilus ducreyi*: an update, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1997; 36 (5): 776.
169. Trick WE, Kuehnert MJ, Quirk SB, et al: Regional dissemination of vancomycin-resistant enterococci resulting from interfacility transfer of colonized patients, *J Infect Dis*, 1999, 180 (2): 391-6.
170. Tucker JB: Toxic terror: Assessing the terrorist use of chemical and biological warfare, MIT Press, Cambridge, Massachusetts 2000
171. Varon E, Levy C, De La Rocque F: Impact of antimicrobial therapy on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*,

and *Branhamella catarrhalis* in children with respiratory tract infections, *Clin Infect Dis*, 2000, 31 (2): 477-81

172. Waagner DC: *Arcanobacterium haemolyticum*: biology of the organism and diseases in man, *Pediatric Infectious Disease Journal*, 1991, 10 :933–939

173. Wagenlehner F.M.E., F.M. MacKenzie, K.J. Forbes, I.M. Gould: Molecular epidemiology and antibiotic resistance of *Enterobacter* spp. from three distinct populations in Grampian, UK; *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2002, 20 419-425

174. Wald ER: Microbiology of acute and chronic sinusitis in children and adults, *Am J Med Sci*, 1998, 316 (1): 13-20

175. Walker ES, Neal CL, Laffan E: Long-term trends in susceptibility of *Moraxella catarrhalis*: a population analysis, *J Antimicrob Chemother*, 2000, 45 (2): 175-82

176. Walker RI, Caldwell MB, Lee EC, et al: Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis, *Microbiol Rev*, 1986, 50 (1): 81-94

177. Wang CC, Celum CL: Global risk of sexually transmitted diseases, *Med Clin North Am*, 1999, 83 (4): 975-95,

178. Wang Xing-Guo, Bo Lin, J. Michael Kidder, Samuel Telford, Linden T. Hu: Effects of Environmental Changes on Expression of the Oligopeptide Permease (opp) Genes of *Borrelia burgdorferi* , *Journal of Bacteriology*, 2002, 184 (22), 6198-6206

179. Wassenaar TM, Blaser MJ: Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans, *Microbes Infect*, 1999, 1 (12): 1023-33

180. Weinberger M, Berg SL, Feuerstein IM, et al: Disseminated infection with *Mycobacterium gordonae*: report of a case and critical review of the literature, *Clin Infect Dis*, 1992, 14 (6): 1229-39

181. Weitzel S, Eichhorn PJ, Pandya AG: Nontuberculous mycobacterial infections of the skin, *Dermatol Clin*, 2000, 18(2): 359-77

182. Whiteside M, Moore J, Ratzan K: An investigation of enterococcal bacteremia, *Am J Infect Control*, 1983, 11 (4): 125-9.

183. Wichelhaus Thomas A., Boris Böddinghaus, Silke Besier, Volker Schäfer, Volker Brade, Albrecht Ludwig: Biological Cost of Rifampin Resistance from the Perspective of *Staphylococcus aureus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46, (11), 3381-3385,

184. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N.: Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region, *Clin Infect Dis*, 2001; 32 (Suppl. 2): S94-S103.
185. Yamasaki K., Komatsu M., Yamashita T., Shimakawa K., Ura T., Nishio H., Satoh K., Washidu R., Shohiro K., Aihara M.: Production of CTX-M-3 extended-spectrum β -lactamase and IMP-1 metallo β -lactamase by five Gram-negative bacilli: survey of clinical isolates from seven laboratories collected in 1998 and 2000, in the Kinki region of Japan, *J Antimicrob Chemother*, 2003, 51, 631–638.
186. Zeana C, Kubin CJ, Della-Latta P, Hammer SM: Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis successfully managed with linezolid: case report and review of the literature, *Clin Infect Dis*, 2001, 33 (4): 477-82
187. ***Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis, Advisory Committee on Immunization Practices: The role of BCG vaccine in the prevention and control of tuberculosis in the United States. A joint statement by the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis and the Advisory Committee on Immunization Practices, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1996, 45(RR-4): 1-18
188. ***American Thoracic Society: Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. American Thoracic Society, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2000, 49(RR-6): 1-51
189. Centers for Disease Control and Prevention: 1998 guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*, 1998, 47(RR-1): 1-111
190. ***Centers for Disease Control and Prevention: Preventing the Spread of Vancomycin Resistance--A Report from the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee prepared by the Subcommittee on Prevention and Control of Antimicrobial-Resistant Microorganisms in Hospitals, *Fed Regist*, 1994, 59 (94): 25758-63.
191. ***Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for the prevention and management of *Chlamydia trachomatis* infections, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1993; 42(RR-12): 1-39
192. ***Medical Section of the American Lung Association: American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis [published erratum

appears in Am Rev Respir Dis 1990 Dec;142 (6 Pt 1):1470], Am Rev Respir Dis, 1990 Sep; 142(3): 725-35

193. ***Medical Section of the American Lung Association: Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997, Am J Respir Crit Care Med, 1997, 156 (2 Pt 2): S1-25

194. ***New York City Department of Health and Mental Hygiene: Tuberculosis control. Bureau of Tuberculosis Control 2004; disponibil la adresa <http://www.ci.nyc.ny.us/html/doh/html/pub/pub.html>

195. ***The French Prevalence Survey Study Group. Prevalence of nosocomial infections in France: results of the nationwide survey in 1996, J Hosp Infect, 2000; 46: 186-193.

196. ***Todar's Online Textbook of Bacteriology, Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, 2002

197. ***Todar's Online Textbook of Bacteriology, Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, 2005