

Viorel ORDEANU

**Microbiologie generala si farmaceutica
- note de curs -**

CUPRINSUL

Modul A. Microbiologie generala	p.5
CURS 1	p.5
0. Introducere in microbiologia medicala	p.5
1. Caracteristicile celulei procariote	p.12
CURS 2	p.26
2. Morfologie bacteriana	p.26
3. Fiziologie bacteriana	p.34
CURS 3	p.47
4. Antibiotice, chimioterapice, sulfamide; mecanisme de actiune si de rezistenta	p.47
CURS 4	p.64
5. Bacteriofagul – structura, cicluri de evolutie	p.64
6. Genetica bacteriana – variabilitatea	p.66
CURS 5	p.69
7. Patogenitatea bacteriana – factori si mecanisme de patogenitate	p.69
Modul B. Bazele imunologiei	p.81
CURS 6	p.81
8. Imunitatea nespecifica	p.81
9. Imunitatea specifica	p.84
CURS 7	p.85
10. Antigenul	p.85
11. Anticorpi; definitie, structura, clase	p.86
CURS 8	p.91
12. Celule implicate in raspunsul imun umoral si celular; etapele raspunsului	p.91
13. Produse biologice de diagnostic, tratament si profilaxie	p.98
14. Starile de hipersensibilitate: I, II, III si IV	p.110
Modul C. Microbiologie speciala	p.119
CURS 9	p.119
15. Infectii cu coci gram-pozitivi si gram-negativi	p.119

CURS 10	p.141
16.Infectii cu micobacterii	p.141
CURS 11	p.159
17.Infectii cu enterobacterii; caracteristici generale, sindroame	p.159
CURS 12	p.171
18.Infectii cu bacili gram-pozitivi aerobi si anaerobi	p.171
CURS 13	p.175
19.Infectii cu spirochete	p.175
Modul D. Virusologie	p.182
CURS 14	p.182
20.Caracterele generale ale virusurilor	p.182
21.Infectia cu virusuri gripale, hepatitice si HIV	p.186
Modul E. Parazitologie	p.197
CURS 15	p.197
22.Caracteristicile si clasificarea parazitilor	p.197
23.Paraziti unicelulari; protozoare	p.200
24.Paraziti pluricelulari; viermi plati si cilindrici; entomologie	p.201
25. Micete: levuri si fungi; micotoxine	p.207

NOTA: planificarea este orientativa; conform uzantei, cursurile neefectuate din cauza vacantei sau a altor evenimente, se comaseaza cu urmatorul curs.

Modul A. Microbiologie generala

CURS 1

0. Introducere in microbiologia medicala

1. Caracteristicile celulei procariote

(Adam Andra, Albu Mihaela Alexandra, Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila" Facultatea de Farmacie An II grupa 1, 9.04.2009)

0. Introducere in microbiologia medicala

Obiectul microbiologiei. Microbiologia este stiinta care se ocupa cu studiul microorganismelor vii: bacterii, virusuri, ciuperci inferioare, alge unicelulare, protozoare etc., care din cauza dimensiunilor lor foarte mici nu pot fi vazute sau examinate cu ochiul liber, ci numai cu ajutorul microscopului. Exista sute de mii de specii care fac obiectul acestei stiinte, fiind incluse in toate regnurile: Monera, Protista, Micetalia, Vegetalia si Animalia.

In natura microorganismele sunt prezente pretutindeni: in aer, in apa, in sol, in alimente, si in organismul omului, animalelor si plantelor. Cele mai multe sunt inofensive pentru organismul uman, ba chiar unele specii sunt utile si sunt folosite in mod dirijat de catre om pentru diferite scopuri practice. Un numar redus de microorganisme sunt patogene, cca 720 de specii sau cca. 1.200 de specii (dupa diversi autori si/sau echipamente) determinand infectii la om sau animal, uneori deosebit de grave.

Ambele categorii de microorganisme, saprofite si patogene, in special bacterii si fungi, pot contamina medicamentele, mai ales pe acelea care nu sunt supuse unei sterilizari finale. Daca preparatul prin compozitia sa si modul defectuos de conservare, permite multiplicarea microorganismelor, acestea ii pot degrada treptat toate principiile active; iar daca bacteriile contaminate sunt patogene, ele pot declansa la bolnavul caruia ii sunt administrate, o veritabila infectie.

Boala iatrogena o notiune relativ noua aparuta in medicina, se refera la diferite complicatii, adesea de natura infectioasa care pot apare la bolnav, fiind provocate de actul medical (iatros=medic) si favorizate de numeroasele tehnici instrumentale utilizate in prezent, in scop de diagnostic sau tratament. Dar aceeasi notiune de boala iatrogena cuprinde de asemenea si infectiile aparute la bolnav dupa administrare de *medicamente contaminate* cat si *efectele secundare* determinate de componenta chimica a unor preparate farmaceutice, fapt pentru care J. Nitulescu (1972) propune termenul de *boala farmacogena* (boala determinata de medicament).

In conceptual microbiologiei farmaceutice moderne este absolut necesar sa se acorde o deosebita grija din punct de vedere al asepsiei pentru prepararea tuturor medicamentelor, indiferent de calea de administrare si sa fie pastrate in conditii corespunzatoare pana in momentul administrarii lor corecte.

Este evident ca nu se poate realiza o sterilizare perfecta a tuturor medicamentelor. In afara categoriilor de medicamente prevazute ca fiind

obligatoriu sterile de catre Farmacopeea Romana a X-a din 1993 si suplimentele sale (actuala), pentru celelalte grupe de medicamente, farmacistul trebuie sa-si ia toate masurile necesare pentru a limita pe cat posibil contaminarea cu microorganisme a medicamentului, prin igiena riguroasa si tehnica adecvata de asepsie si antisepsie fiecarui grup de medicamente.

Istoricul microbiologiei. Desi microbiologia ca stiinta a aparut abia in a doua jumatate a secolului XIX, actiunea bacteriilor a fost intuita inca din antichitate, prin bolile contagioase pe care le determinau si prin epidemiile care omorau mii si milioane de oameni. **Hippocrat** (400 i.e.n), considerat “parintele medicinei”, a emis atunci ipoteza transmiterii bolilor contagioase prin “miasme morbide” (aer contaminat) sau ape poluate. Bazat pe fapte de observatie si o intuitie deosebita, **Thucidide**, istoric antic grec, a fost primul care a aratat ca persoanele care au trecut printr-o boala infectioasa devin rezistente la aceasta si pot ingriji, fara pericol de contaminare, bolnavii din timpul epidemiei respective. Chiar din antichitate s-au instituit primele reguli elementare de igiena individuala si colectiva, ba mai mult, la unele popoare: chinezi, indieni, turci etc. de asepsie si antisepsie era cunoscuta variolarizarea, metoda de vaccinare in variola, cu material patologic uman.

In evul mediu, boli grave ca: holera, ciuma, variola, evoluau sub forma unor epidemii intinse, producand mari pagube materiale si nenumarate pierderi de vieti omenesti; in acea perioada masurile sanitare erau complet insuficiente si de aceea evul mediu a fost denumit “istoria marilor epidemii”. In aceasta perioada, **Fracastorius** a emis ipoteza ca bolile infectioase s-ar datora unor “germeni vii si invizibili” care pot trece de la un organism infectat la unul sanatos. Desi aceasta ipoteza a fost justa, ea nu a putut fi confirmata decat o data cu descoperirea si descrierea microbilor. Acest lucru a fost posibil o data cu progresele din domeniul fizicii si construirea microscopului.

Primele studii asupra microbilor au fost facute intre anii 1674-1676 de catre Antonie van **Leeuwenhoek** (1632-1723), negustor olandez, care avand pasiunea slefuirii lentilelor si-a construit un microscop propriu cu putere de marire de aproximativ 150 de ori. Cu ajutorul acestor lentile el a studiat o serie de produse ca: apa de rau, infuzia de fan, urina, tartrul interdentar, in care a observat microorganisme de diferite forme (sfere, bastonase, spirili) care se miscau, cresteau si se inmulteau, sip e care le-a denumit “animalicule”. Desi rezultatele studiilor sale au fost comunicate Societatii Regale de Stiinta din Londra, in scopul de a servi progresului stiintific, ele au fost urmate de o apriga polemica asupra originii acestor microorganisme. Unii cercetatori si reprezentantii Bisericii sustineau ca aceste fiinte ca si insectele si animalele de talie ceva mai mare, iau nastere spontan din materie nevie.

In opozitie cu acestia, alti cercetatori, mai clar vazatori, considerau ca microorganismele, ca orice organism viu se nasc din materie organica vie, deci din alt organism viu. Astfel, sustinatorii primei ipoteze, denumita si **teoria generatiei spontanee**, considerau ca viata poate aparea oriunde, in mod spontan, de la sine. Ca exemplu, filozoful englez Ross, considera ca “mustele se nasc din carne stricata iar soarecii din apa Nilului”. Aceasta ipoteza complet gresita a fost combatuta de Lazzaro **Spalanzani**, matematician si naturalist

italian, care a demonstrat experimental, ca un lichid supus fierberii si inchis ermetic se conserva indefinit, fara a permite dezvoltarea vreunui microorganism viu.

Intemeietorul microbiologiei ca stiinta este considerat inasa, pe buna dreptate, Louis **Pasteur** (1822-1895). Chimist de profesie, el a fost solicitat de industriasi francezi sa studieze procesul tehnologic al industriei berii si vinului, care evolua uneori defectuos. La inceput, fermentatia a fost considerata ca un simplu proces chimic: prin fermentatie alcoolica, zaharul se transforma in cantitati aproximativ egale de alcool si bioxid de carbon.

Leeuwenhoek a evidentiat la microscopul sau, din lichidul de preparare a berii, o levura pe care a descris-o din punct de vedere morfologic, de dimensiunile unei hematii, dar nu a facut raportul cauzal intre prezenta ei si fermentatie.

Lavoisier, in anul 1789, a recunoscut pentru prima oara importanta levurii in declansarea fenomenului chimic al fermentatiei. Rolul esential al levurii in procesul fermentativ a fost inasa demonstrat si studiat mai amplu de catre Cagniard **Latour** (1777-1859), care considera levurile organisme vii, de origine vegetala, fiind lipsite de mobilitate.

In aceeasi perioada, Pasteur a facut numeroase si aprofundate studii asupra fermentatiei lactice, butirice, acetice, alcoolice. El a aratat ca fiecare tip de fermentatie este determinat de un anumit tip de microorganism care este specific pentru fermentatia respectiva si ca modificarea randamentului sau a calitatii vinului a fost cauzata de patrunderea unor microorganisme straine, nedorite, in procesul fermentativ. El a demonstrat astfel, natura biologica si nespecifica a defectelor de fermentatie. Prin experientele sale din anii 1850, prin care a aratat eficienta sterilizarii pentru bacterii si fungi, forme vegetative si spori, el a combatut definitiv teoria generatiei spontanee. Studiind bolile viermilor de matase si apoi unele boli epidemice la om si la animale, el a ajuns la concluzia ca toate sunt determinate de microbi. Demonstrarea acestui adevar a avut drept urmare o dezvoltare vertiginoasa a microbiologiei in a doua jumătate a secolului XIX, descoperindu-se si studiindu-se numeroase bacterii, agenti etiologici ai celor mai variate boli contagioase. Astfel Pasteur a descoperit streptococul, microbul febrei puerperale (1879), apoi stafilococul (1880), *Clostridium septicum* (1887), iar mai tarziu agentul cauzator al holerei gainilor.

Apoi se descopera pe rand si alte bacterii: gonococul (Neisser, 1879), bacilul tific (Eberth, 1880), bacilul coli (Escherich, 1882), bacilul peștei (Yersin, 1894), *Treponema pallidum* (Schaudin, 1905) etc.

Tot in aceasta perioada Pasteur a observat ca o cultura microbiana care determina holera gainilor, prin invecinare era incapabila sa mai produca boala, inasa pasarile inoculate cu aceasta cultura deveneau rezistente, **imune** la o noua infectie. Prin aceasta mare descoperire, Pasteur a pus bazele stiintifice ale **vaccinarii**, demonstrand totodata ca proprietatile biologice ale microbilor nu sunt fixe, ele putand fi modificate sub influenta unor factori din mediul extern: caldura, uscaciune etc., bacteriile devenind inofensive si chiar folositoare pentru om. Pe baza acestei descoperiri el prepara **vaccinurile**: carbunos, rabic, holera gainilor, punand astfel in practica metoda imunizarii prin vaccinuri vii si atenuate, principiu deosebit de actual si in prezent.

Robert **Koch**, medic german (1843-1910), alaturi de Pasteur, a initiat **infecția experimentală** și a aratat condițiile necesare pentru reproducerea infecției la animalul sensibil. Koch a descoperit *bacilul tuberculozei* (1882) facând totodată studii valoroase asupra infecției tuberculoase. În anul 1883 a descoperit *vibrionul holerici*. Imaginând metoda cultivării pe medii solide (ser de bou coagulat) el a obținut pentru prima oară culturi microbiene în stare pură.

Cunoscând studiile lui Pasteur asupra bacteriilor, Joseph **Lister** (1827-1912) chirurg englez, aplică pentru prima oară în chirurgie, un **antiseptic**, *apa fenolată* (fenol 1-5%), pentru a preveni contaminarea post-operatorie a plagilor chirurgicale. Acest lucru a constituit un deosebit progres deoarece în acea perioadă infecțiile însoțeau inevitabil orice act operator; amputațiile și intervențiile pe abdomen erau practice imposibile, iar în maternități, mortalitatea femeilor prin infecții puerperale era de circa 25%.

În 1892 Dimitrie **Ivanovski** (1867-1920) a demonstrat o altă formă a materiei vii, aceea a virusurilor filtrabile, pe care le pune în evidență în mozaicul tutunului, punând astfel bazele **virusologiei** (numită inițial inframicrobiologie).

Ilia **Mecnikov** (1845-1916), cercetător rus, a descoperit rolul fagocitelor în procesul de apărare naturală antiinfecțioasă a organismului, creînd astfel primele noțiuni de **imunologie** (imunitate celulară).

Roux și **Yersin** în anul 1888 au pus în evidență la unele bacterii prezenta de **exotoxine** iar în 1890 Behring și Kitasato au demonstrat valoarea serului imun (seruri terapeutice) în tratamentul infecțiilor toxigene: tetanos, difterie etc. De asemenea, J. Bordet, Pfeiffer și Isaëff, Ehrlich, Durham, Grabar și alții au aratat rolul factorilor umorali în imunitate; s-au elaborat primele teorii asupra formării anticorpilor și s-au studiat **reacțiile antigen-anticorp**.

Twort (1915) și d'Herelle (1917) au descoperit **bacteriofagii**, virusuri care parazitează în mod specific bacteriile și care au aplicare în studiile de epidemiologie.

Dupa ce în anul 1909 **Ehrlich** a preparat primii **compusi arsenicali** utilizați cu succes în tratamentul sifilisului, în 1935, Gerhard Domagk a sintetizat o **sulfamidă** (crisoidin-sulfamidă sau prontosilul roșu), primul chimioterapic valoros cu acțiune antimicrobiană selectivă.

În anul 1928 Alexander **Fleming** a descoperit **penicilina**, primul antibiotic de biosinteză (natural), care a fost experimentat și purificat de către Florey și Chain, fiind pus în practică abia în anul 1941, cu rezultate excelente. Descoperirea penicilinei, produs netoxic și cu activitate selectivă asupra bacteriilor, a modificat mult evoluția și terapia bolilor infecto-contagioase, deschizând *era descoperirii unor noi antibiotice*.

În epoca contemporană s-au făcut cercetări aprofundate asupra structurii celulei bacteriene cu ajutorul microscopiei electronice, apoi studii detaliate de biochimie și genetică bacteriană, care au elucidat unele *mecanisme ale acțiunii antibioticelor asupra bacteriilor*.

În dezvoltarea microbiologiei au avut o contribuție importantă și numeroși cercetători români.

Victor **Babes** (1854-1926) este *fondatorul microbiologiei romanesti*. Impreuna cu Victor Cornil a scris **primul tratat de bacteriologie din lume**. El a descoperit peste 40 de microorganisme patogene (babesii). A studiat antagonismul bacterian si antibioza, fiind primul cercetator dupa Pasteur care a intuit importanta acestui antagonism pentru terapeutica medicala si a prevazut posibilitatea prepararii cu ajutorul microorganismelor a unor substante cu actiune antimicrobiana, antibioticele. Babes a fost primul care a studiat posibilitatea **imunizarii pasive**, cu ser provenit de la animale vaccinate, introducand pentru prima oara la noi in tara, seroterapia in difterie. Are o importanta contributie in studiul rabiei.

Ion **Cantacuzino** (1863-1934) este **intemeietorul scolii romanesti de microbiologie** si tot el a infiintat "Institutul de Seruri si Vaccinuri" de la Bucuresti dupa modelul Institutului Pasteur din Paris (actualul Institut National de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie si Imunologie "Cantacuzino", care face parte din reseaua Institutelor Pasteur). El a studiat holera, febra tifoida, scarlatina si tuberculoza, tara noastra fiind a doua din lume, care, la indemnul lui a folosit vaccinul BCG, in profilaxia tuberculozei.

Constantin **Levaditi** (1874-1953), elev al lui Babes si Mecinikov, are peste 750 de lucrari de bacteriologie (in special in sifilis) apoi in imunologie, chimioterapie si virologie.

Dimitrie **Combiescu** (1887-1961) si Constantin Ionescu- Mihaesti (1883-1962) au adus contributii valoroase la studiul diferitelor infectii: rickettsioze, poliomielita, tuberculoza. Mihai Ciuca (1883-1968), are lucrari importante in domeniul bacteriofagiei, salmonelozelor, difteriei si al malariei, contribuind la eradicarea ei. Alexandru Slatineanu (1873- 1939), a fost profesor la Iasi; a studiat epidemiologia tifosului exantematic, malaria, febra tifoida, tuberculoza, lepra. Petre Condrea (1888-1967), a adus contributii originale in domeniul imunologiei generale si la prepararea anatoxinelor (difterica si tetanica).

Obiectul si subdiviziunile microbiologiei

Microbiologia este o stiinta complexa care studiaza numeroase grupe de microorganisme microscopice: bacterii, virusuri, ciuperci inferioare, protozoare, si modul cum intervin acestea in diferite procese de fermentatie, de descompunere sau de sinteza in natura sau modul cum determina diferite infectii la om, animale, micete si plante.

In prezent, microbiologia si-a imbogatit si si-a largit considerabil continutul prin crearea unor noi stiinte ca : imunologia, biochimia bacteriana, citologia si genetica microbiana ceea ce a permis studii fundamentale valoroase in ceea ce priveste fenomenul de ereditate si variabilitate a microorganismelor cu importante aplicatii in practica medicala, de ex. preparare de noi vaccinuri.

Noile industrii biotehnologice, bazate pe procese fermentative, in special acelea care urmaresc producerea prin biosinteza de : antibiotice, vitamine si alte medicamente de origine microbiana, sunt deosebit de importante pentru **industria farmaceutica**. Interesand deopotriva biologia, medicina, farmacia, industria, agronomia, zootehnia, microbiologia are un vast camp de activitate cu numeroase aplicatii practice in fiecare din sectoarele amintite.

Microbiologia medicala: se ocupa cu studiul microorganismelor care determina la om infectii locale sau generale (boli infectioase transmisibile). Ea este o stiinta complexa care cuprinde urmatoarele subdiviziuni: bacteriologia = studiul bacteriilor, virologia = studiul virusurilor, micologia = studiul ciupercilor inferioare, protozoologia = studiul protozoarelor, fiind o ramura a parazitologiei etc.

Microbiologia veterinara cuprinde aceleasi subdiviziuni, ocupandu-se in special d microorganismele patogene pentru diverse specii animale domestice sau salbatice.

Microbiologia vegetala se ocupa cu microorganismele patogene pentru plante, fiind o ramura a fitopatologiei.

Microbiologia mediului extern se ocupa cu studiul microorganismelor adaptate conditiilor particulare in care traiesc: microbiologia apei, microbiologia aerului, microbiologia solului, microbiologia alimentelor.

Microbiologia industriala studiaza in general bacteriile utile, folosite de om in scopuri practice:

- in industria alimentara, anumite specii de bacterii sau levuri sunt utilizate pentru prepararea branzeturilor si altor preparate lactate ca de ex: iaurt, kefir etc. iar alte specii de microorganisme sunt utilizate pentru fabricarea painii, berii, otetului, vinului etc.;
- in industria textila, microorganismele sunt folosite pentru prelucrarea inului, canepii, iutei etc.;
- in industria pielariei, anumite specii microbiene sunt utilizate pentru tabacitul pieilor;
- in **industria farmaceutica** cea mai larga si importanta utilizare o au microorganismele in acest domeniu pentru producerea prin biosinteza a numeroase produse ca de exemplu: alcooli, acizi, vitamine, hormoni, aminoacizi, alcaloizi, antibiotice etc.

Microbiologia farmaceutica studiaza modul in care intervin microorganismele in procese variate care au loc in cursul fabricarii si/sau prepararii medicamentului, care este o preocupare importanta a farmacistului:

- a. Unele microorganisme sunt foarte importante din acest punct de vedere, fiind producatoare de **principii farmacodinamice**. Bacterii din genul Streptomyces, Bacillus, ciuperci din genul Penicillium, produc in cursul metabolismului lor, principii active cu actiune microbiana specifica, folosite in tratamentul bolilor infectioase (antibiotice). Alte microorganisme, dupa cum s-a aratat mai sus, produc prin biosinteza: vitamine, hormoni, acizi aminati etc.

Microorganismele exercita inasa si un **rol negativ** in diferitele sectoare ale microbiologiei farmaceutice, de exemplu:

- b. Microorganismele **fitopatogene**, pot imbolnavi planta in timpul vietii, alterand sau distrugand complet principiile active farmacodinamice. Aceste plante nu vor fi utilizate in practica farmaceutica.
- c. De asemenea fiecare planta trebuie recoltata intr-o anumita perioada, in raport cu elementul care se utilizeaza: frunze, flori, fruct, radacina, si conservata in cele mai bune conditii de ambalaj, temperatura si

uscaciune. In caz contrar, cand planta nu este colectata la timp sau pastrata in conditii necorespunzatoare, ea poate fi invadata de numeroase microorganisme, care prin procese de fermentatie o degradeaza pana la descompunere.

- d. Microorganisme de **alterare a medicamentelor**. Numeroase medicamente lichide sau solide, dar mai ales acelea care contin substante organice sau adaos de zaharuri, prezinta medii foarte prielnice pentru dezvoltarea microorganismelor, fapt care duce in cazul medicamentelor contaminate la alterarea lor. In consecinta, in prepararea medicamentelor trebuie sa se tina seama de conditiile de **asepsie** sau **sterilitate** in timpul prepararii care sa fie urmate in mod obligatoriu de o conservare corespunzatoare.
- e. Este foarte important pentru farmacist sa cunoasca **microorganismele patogene**, infectiile pe care le determina la om precum si masurile de profilaxie si tratament care trebuie instituite prin: seruri, vaccinuri, antibiotice etc.

Dupa cum reiese din cele expuse, majoritatea microorganismelor existente sunt:

1. **Utile**, fiind folosite de om in mod direct, in diferite industrii; aici se incadreaza microorganismele care traiesc libere in natura si realizeaza procesul important de descompunere al diferitelor substante organice moarte si efectueaza prima treapta in sinteza celor mai simple proteine vii, ce asigura continuitatea vietii pe pamant.

Dar un numar redus de microorganisme sunt:

2. **Daunatoare**, determinand boli infectioase, uneori sub forma de epidemii la om, animale si plante. De asemenea numeroase bacterii altereaza alimentele, medicamentele, degradeaza conductele de, tevilor si instalatiile din industria de medicamente, cauciucul, ambalajele de material plastic si sticla s.a.m.d.

Clasificarea microorganismelor. Din cauza dimensiunilor foarte mici si a structurii in general unicelulare, toate microorganismele, atat cele de origine animala cat si cele vegetale au fost la inceput incadrate la un loc, in regnul Protista (Haeckel, 1887). Unitatea structurala elementara este reprezentata in toate cazurile de catre celula, aceasta fiind capabila sa-si indeplineasca singura toate functiile vitale, datorita unui echipament enzimatic complex. **0. Notiuni de microbiologie medicala**

Pe baza diferentelor celulare observate la diferitii reprezentanti ai acestui mare grup heterogen, Chaten (1932) a stabilit ca exista:

- protiste superioare (cu celula eucariota),
- protiste inferioare (cu celula procariota) care au fost reclassificate in regnul Monera.

Celula eucariota, caracteristica organismelor pluricelulare evolute cat si protistelor superioare, se caracterizeaza prin aceea ca: nucleul este inconjurat de o membrana nucleara, diviziunea se face prin mitoză, prezenta de mitocondrii,

mobilitate amoeboida sau prin cili, ori absenta, peretele rigid absent la protozoare, celulozic la vegetale, chitinos la levuri.

Celula procariota, in care se incadreaza si bacteriile, spre deosebire de cea eucariota, se caracterizeaza prin: absenta membranei nucleare, prezenta unui singur cromozom, absenta mitozei, mitocondrii absente sau rudimentare (mezozomi), in general mobilitate prin cili, peretele rigid prezinta un complex mucopeptidic, cu aminoacizi specifici.

Microorganismele fiinte unicelulare, au dimensiuni sub limita vizibilitati. Se stie ca cel mai mic corp care poate fi vazut cu ochiul liber este de 100 μm , iar microorganismele au in general dimensiuni mult mai mici, de aceea pentru studiul lor este absolut necesara utilizarea microscopului.

1. Caracteristicile celulei procariote

Clasificarea organismelor vii

(Scurtu Alexandra, Sandulescu Horia, Facultatea de Farmacie, anul II, grupa 18, 8.04.2009)

Lumea vie este constituita dintr-o multime de indivizi biologici care se deosebesc intre ei. In cadrul acestei multitudini de indivizi, exista grupuri care prezinta caractere de asemanare morfologica, fiziologica etc. Un asemenea grup de indivizi, care se aseamana intre ei si care au stramosi comuni, formeaza o **specie**. Oricare dintre organismele vii face parte dintr-o specie. Fiecare specie are o denumire stiintifica. Denumirea stiintifica a speciei este in limba latina, este universala si este compusa din doua cuvinte. Primul cuvant al denumirii stiintifice se scrie intotdeauna cu litera mare, iar in text se scrie cu italice. Exemplu: omul *Homo sapiens*, euglena verde *Euglena viridis* etc.

Mai multe specii care se aseamana intre ele formeaza un **gen**. Genurile inrudite constituie o **familie**. Mai multe familii care prezinta caractere de asemanare formeaza un **ordin**. Ordinele sunt grupate in **clase**, iar clasele in incingaturi. **Incengatura** se mai numeste si filum. Filumurile (incengaturile) sunt grupate in cele cinci **regnuri**, care cuprind toate organismele vii: Monera (procariote); Protista (protiste); Fungi (ciuperci); Plantae (plante) si Animalia (animale).

Clasificarea in cele cinci regnuri se face in functie de doua criterii esentiale:

1. Dupa particularitatile structurale ale celulelor, in:
 - a. organisme procariote;
 - b. organisme eucariote, unicelulare si pluricelulare.
2. Dupa modurile de nutritie, in:
 - a. organisme autotrofe, producatoare de substanta organica;
 - b. organisme heterotrofe consumatoare;
 - c. organisme heterotrofe saprofitice.

Caracteristicile esentiale ale celor cinci regnuri:

REGNUL	TIP DE CELULA	MEMBRANA NUCLEARA	MITO-CONDRII	CLORO-PLASTE	PERETE CELULAR
MONERA	procariota	absenta	absente	absente	necelulozic

PROTISTA	eucariota	prezenta	prezente	prezente(la unele)	prezent la unele
FUNGI	eucariota	prezenta	prezente	absente	necelulozic-chitinos
PLANTAE	eucariota	prezenta	prezente	prezente	celulozic
ANIMALIA	eucariota	prezenta	prezente	absente	absent

Exemplu de clasificare: omul

Regnul: Animal

Filum: Cordate

Clasa: Mamifere

Ordinul: Primate

Familia: Hominide

Genul: Homo

Specia: Homo sapiens

Din exemplele anterioare se poate deduce faptul ca primul cuvant al denumirii stiintifice reprezinta genul, iar al doilea specia.

Procariote si eucariote. Speciile de organisme vii difera intre ele prin structura celulei sau al celulelor care constituie corpul lor. Dupa structura, se disting doua tipuri de celula, respectiv doua tipuri de organisme: procariote si eucariote.

Organismele **procariote** sunt organisme primitive. Ele sunt unicelulare si se caracterizeaza prin prezenta in celula a unui nucleu difuz, lipsit de membrana nucleara, numit nucleoid. De asemenea, in aceste celule lipsesc mitocondriile si cloroplastele. Reproducerea organismelor procariote se realizeaza prin diviziune directa. Au un singur cromozom. Unele dintre procariote, virusurile, mult mai simple, nu au structura celulara. Toate procariotele sunt grupate in regnul Monera.

Organismele **eucariote**, unicelulare sau pluricelulare, au celule in care nucleul prezinta membrana nucleara care il separa de citoplasma. Ele au mitocondrii si cloroplaste, iar in unele cazuri, pe langa membrana celulara, prezinta un perete celular rigid. Materialul genetic (ADN) este grupat intr-un numar variabil de cromozomi, intotdeauna par. Diviziunea celulara este complexa. Eucariotele sunt incluse in regnurile Protista, Fungi, Plantae si Animalia.

Regnul Monera cuprinde doua grupe distincte: procariote acelulare, virusurile si procariotele cu structura celulara, bacteriile.

Virusurile. Virusurile sunt o categorie aparte de agenti infectiosi, vizibili numai la microscopul electronic, deosebiti fata de toate celelalte organisme cunoscute. Nu cresc si nu se reproduce independent. Reproducerea virusurilor o realizeaza celulele procariote sau eucariote infectate, folosind ca model acidul nucleic viral (ADN sau ARN). Nu pot sa-si asigure energie necesara proceselor vitale, datorita lipsei enzimelor metabolice. Rezulta ca virusurile sunt in mod obligatoriu **parazite**. Un virus se poate afla in trei stari:

1. Starea de **virion** sau virus infectios matur. Virionul este constituit dintr-o molecula de acid nucleic ADN sau ARN care constituie genomul viral si un invelis proteic numit capsida. El este liber in afara unei celule vii si inactiv.
2. Starea de **virus vegetativ**. Aceasta este reprezentata de acidul nucleic viral patruns intr-o celula vie. In aceasta stare este infectios. Celula infectata produce virusuri pana la distrugerea sa.
3. Starea de **provirus**. Uneori, acidul nucleic viral se poate atasa la un cromozom al unei celule, ramanand in aceasta stare o perioada de timp nedefinita. Celula este purtatoare, pana la desprinderea acidului nucleic viral, moment in care se face trecerea de la starea de provirus la cea de virus vegetativ. Virusurile ataca bacterii (bacteriofagi), plante, ciuperci si animale. Exemple de viroze: la plante mozaicul tutunului; la animale pesta, febra aftoasa, turbarea; la om gripa, poliomielita, hepatite epidemice s.a.m.d. Includerea virusurilor intre organismele procariote este discutabila, datorita structurii lor acelulare.

Bacteriile sunt organisme procariote cu structura celulara simpla, incadrate in trei grupe: arhebacterii, eubacterii si cianobacterii.

Arhebacteriile sunt un grup restrans de bacterii care traiesc in medii lipsite de oxigen (anaerobe). Cele mai cunoscute sunt bacteriile metanogene (producatoare de gaz metan), bacteriile halofile (care traiesc in medii bogate in saruri) si bacteriile din apele termale.

Eubacteriile traiesc in toate mediile de viata: apa, aer, sol. Ele pot avea forma sferica (coci), forma de bastonas (bacili), de virgule (vibrioni), spiralata (spirili) etc., pot trai izolat sau pot forma colonii. Dupa modul de nutritie, acestea sunt:

- bacterii heterotrofe saprofite, care determina fermentatii (de exemplu: fermentatia lactica *Lactobacillus bulgaricus*);
- bacterii heterotrofe parazite pe plante si animale, care produc boli (tetanos, tuberculoza etc.);
- bacterii autotrofe fotosintetizatoare, care utilizeaza energia solara pentru producerea de substante organice;
- bacterii autotrofe chimiosintetizante, care utilizeaza energia chimica pentru producerea de substante organice;
- bacterii fixatoare de azot, care traiesc in simbioza cu radacinile plantelor leguminoase.

Cianobacteriile, numite inainte alge albastre-verzi, sunt organisme microscopice procariote, unicelulare, izolate sau reunite in colonii. Sunt autotrofe. Pigmentul asimilator caracteristic este ficocianina (kianos = albastru), care predomina fata de clorofila. In citoplasma celulelor se disting doua zone: una centrala - nucleoplasma si una periferica - cromatoplasma, cu pigmenti. Sunt raspandite in apele dulci si marine. Multe traiesc pe sol umed. Cele mai cunoscute sunt: *Chroococcus*, *Rivularia*, *Nostoc commune* (cleiul pamantului). Bacteriile se inmultesc prin **diviziune directa**. Procariotele se considera a fi primele organisme aparute pe Pamant.

Regnul Protista cuprinde organisme eucariote, unicelulare, solitare sau coloniale si pluricelulare, care nu prezinta organe. Cele mai multe traiesc in

mediul acvatic, dar sunt si unele protiste, care traiesc in mediul terestru, in locuri umede. Altele sunt parazite. La protiste apare reproducerea sexuata, prin gameti, alaturi de reproducerea asexuata, prin spori. Clasificare Dupa modul de nutritie, deosebim protiste autotrofe si protiste heterotrofe.

A. **Protiste autotrofe** sunt algele si euglenoficeele. Le putem considera ca fiind stramosii plantelor.

Filum Rhodophyta Algele rosii (rhodos=rosu) sunt in majoritate forme acvatice, pluricelulare, care traiesc fixate pe substrat. Sunt mai numeroase in marile si oceanele calde, la adancimi cuprinse intre 100 si 200 m. Rar depasesc 0,5 m lungime. Numele lor vine de la pigmentul asimilator rosu, ficoeritrina, care mascheaza clorofila in cromatofori. In absenta organelor, se evidentieaza o specializare a celulelor cu rol in sustinere, in nutritie si in depozitarea substantelor de rezerva. In Marea Neagra traieste *Ceramium rubrum*, alga rosie filamentoasa, ramificata. Alte alge rosii: *Porphyra*, *Gigartinna*, *Delesseria*. Din algele rosii se extrage **agar-agar** (geloza), folosit la medii de cultura in laboratoare.

Filum Phaeophyta- Alge brune Numele acestora este dat de pigmentul brun, fucoxantina, care predomina in cromatofori. Algele brune populeaza apele reci si temperate. Sunt alge pluricelulare de dimensiuni mari, care prezinta o diferentiere morfologica : rizoizi, comparabili cu radacina, cauloid, comparabil cu tulpina si filoid, comparabil cu frunza. Acestea nu sunt organe adevarate, dar contin celule specializate. Cele mai cunoscute alge brune sunt: *Fucus*, *Cystoseira*, *Laminaria* si *Sargassum*. Unele alge brune sunt utilizate in **industria farmaceutica** sau in alimentatie. Din altele se extrag iod si brom.

Filum Chlorophyta- Algele verzi (chloros= verde) sunt protiste unicelulare sau pluricelulare acvatice sau terestre. Cele mai multe (90%) traiesc in ape dulci. Cele unicelulare pot fi libere sau formeaza colonii. In apele dulci si salmastre, ele intra in componenta planctorului. Algele verzi pluricelulare sunt de obicei fixate la adancimi mici. Predomina clorofila, iar ca substanta de rezerva au amidon. Genurile de alge verzi prezinta diferite trepte de organizare, variind de la cele mai simple la cele mai complexe:

a) Unicelulare libere

Cu forma sferica- *Chlorella*, *Pleurococcus*;

Cu forma ovoida- *Chlamydomonas*.

b) Unicelulare coloniale: *Volvox aureus*.

c) Pluricelulare:

- filamentoase neramificate – *Ulothrix*, *Spirogyra*;
- filamentoase ramificate- *Cladophora*- (matasea broastei);
- ramificate cu aspect de planta – *Chara*.

Algele au luat nastere din procariote fotosintetizante si au evoluat in directii diferite. Dintre alge, clorofitele reprezinta o importanta faza evolutiva din care s-au diferentiat plantele terestre.

Filum Euglenophyta- Euglenoficeele sunt protiste unicelulare cu flegel (Fitoflagelate). Sunt raspandite in apele dulci, bogate in materii organice. Sunt printre speciile care traiesc in ape marine si salmastre. Reprezentantul cel mai cunoscut este *Euglena viridis*- euglena verde. Cromatoforii euglenoficeelor, de

forme diferite, contin clorofila, deci ele sunt organisme fotoautotrofe. Organitul celular, stigma, de culoare rosie, are rol in orientarea euglenei spre lumina. In conditii de intuneric, pot pierde clorofila, traird in mediu saprofit. Astfel de organisme, care in functie de mediu se hranesc atat autotrof, cat si heterotrof se numesc mixotrofe. Alte euglenoficee sunt *Phacus* si *Ascoglena*.

B. Protiste heterotrofe (stramosii animalelor)

Filum Oomycota – Oomicetele sunt protiste parazite obligatoriu. Ele ataca plante, carora le produc pagube mari. Cea mai cunoscuta specie este *Plasmopara viticola* care ataca frunzele, boabele si lastarii tineri si produce mana vitei de vie. Aceasta specie este unicelulara, plurinucleata si ramificata, parazita intercelular. Se hraneste din celulele invecinate prin haustori. Frunzele atacate se necrozeaza. Vara, in timpul ploilor, se inmulteste rapid prin spori flagelati, iar toamna se reproduce sexuat, rezultand spori de rezistenta peste iarna. Alte oomicete cunoscute sunt cele care produc putregaiul rasadurilor si mana cartofului. In unele sisteme de clasificare oomicetele sunt considerate *fungi*.

Filum Rhizopoda – Rizopodele sunt protiste unicelulare lipsite de o adevarata membrana celulara, fiind capabile, din aceasta cauza, sa emita pseudopode (picioare false). Pseudopodele sunt expansiuni ale citoplasmei cu rol in locomotie si nutritie. Unele traiesc libere pe fundul apelor marine si dulci, altele sunt parazite. Reprezentantul cel mai cunoscut este amiba *Amoeba proteus*. Aceasta se hraneste cu parameci, euglena, bacterii si alge, iar digestia este intracelulara. In conditii neprielnice se inchisteaza.

Entamoeba histolytica provoaca dizenteria tropicala la om. Foraminiferele si radiolariii sunt rizopode care au un schelet extern calcaros sau silicios. Dupa moartea lor, aceste schelete constituie depozite pe fundul apelor marine. Asa au luat nastere rocile biogene, de ex. creta.

Filum Zoomastigina – Zooflagelate Caracterele comune ale zoomastiginelor sunt: prezenta unuia sau mai multor flageli si nutritia heterotrofa. *Tripanosoma* traieste parazit in sangele oamenilor, producand boala somnului. Transmitatorul este musca tete. *Giardia Lamblia intestinalis* se localizeaza in canalele ficatului si in vezica biliara, producand inflamatii. Aceasta este raspandita in tarile calde unde paraziteaza animale, inclusiv omul, dar este frecventa si in tara noastra. *Mastigamoeba* prezinta atat flagel, cat si pseudopode, imbinand caracterele de rizopod cu cele de zooflagelat. *Codonosiga* si *Vorticella* sunt zoomastigine coloniale. La *Proterospongia*, in cadrul coloniei apare specializarea indivizilor: cei flagelati au rol in locomotie, iar cei neflagelati au rol in nutritie. Datorita nutritiei mixotrofe, euglena verde poate fi considerate ca forma de trecere intre fitoflagelate si zooflagelate.

Filum Ciliofora – Cilioforele (infuzorii) sunt protistele heterotrofe cele mai dezvoltate. Numele acestora vine de la faptul ca au corpul acoperit cu numerosi cili scurti cu ajutorul carora se deplaseaza rapid in mediul acvatic. Cel mai cunoscut reprezentant al increngaturii este parameciul (*Paramecium caudatum*), care traieste liber in apele dulci statatoare. Caracterile de superioritate ale ciliatelor, fata de celelalte protiste consumatoare, sunt urmatoarele:

- Ingerarea hranei se face prin citostom (gura celulara), componenta structurala specializata care apare pentru prima data;
- Eliminarea resturilor nedigerate se face printr-un por numit citoproct (anus celular);
- Vacuolele contractile, organite cu rol excretor, se formeaza in aceleasi locuri in celula;
- Prezinta doi nucleii: un nucleu mare (vegetativ) si un nucleu mic (cu rol in reproducere sexuata).

Regnul Fungi (micete sau ciuperci, aflate intre plante si animale)

Caracterizare generala. Ciupercile se caracterizeaza prin absenta pigmentilor asimilatori. Corpul ciupercilor este intotdeauna miceliul, alcatuit din filamente numite hife. La ciupercile superioare, palatia si piciorul sunt structura cu rol in reproducere. Peretele celular contine chitina. Miceliul nu este diferentiat in organe. In schimb, structurile cu rol in reproducere sunt complicate.

Cele mai multe ciuperci sunt saprofite. Acestea, alaturi de bacterii, contribuie la descompunerea organismelor moarte. Alte ciuperci saprofite produc fermentatii alcoolice sau sunt comestibile. Unele ciuperci sunt parazite. Ciclul reproductiv al acestora presupune existenta unor gazd intermediare.

Clasificare. Ciupercile sunt grupate in trei increngaturi: Zygomycetes, Ascomycetes si Basidiomycetes.

Filum Zygomycetes Zigomicetele sunt ciuperci inferioare, majoritatea saprofite. Cel mai important reprezentant este mucegaiul comun (*Mucor mucedo*), care traieste saprofit pe alimente dulci, pe care le altereaza descompunand glucidele complexe in substante simple. Miceliul este alcatuit dintr-o singura hifa unicelulara ramificata si plurinucleata, care se intinde pe alimente ca o pasla alba. Exista si specii parazite la om, ca de ex. *Rhizomucor parasiticus* care traieste in plamani si produce o falsa tuberculoza.

Filum Ascomycetes Ascomicetele sunt ciuperci saprofite sau parazite. Miceliul pluricelular este format din celule uninucleate. Organul de reproducere caracteristic este asca, in care se formeaza ascosporii. Ascomicetele saprofite sunt:

- Drojdia de bere (*Saccharomyces cerevisiae*), ciuperca unicelulara uninucleata microscopica, care, datorita enzimei zimaza, produce fermentatia alcoolica a berii sau dospirea painii;
- Drojdia vinului, care produce fermentatia vinului;
- *Penicilium notatum* traieste saprofit pe alimente bogate in glucide producand mucegaiul verde. Din unele specii inrudite se extrage penicilina; *Aspergillus niger* produce mucegaiul la fructe si uneori provoaca micoze la om;
- Zbarciogul, care traieste prin paduri si este comestibil.

Ascomicetele parazite: *Claviceps purpurea* care paraziteaza secara, producand boala "cornul secarei". O serie de ascomicete produc boli numite fainari la cereale, stejar, vita de vie.

Filum Basidiomycetes Bazidiomicetele (aprox. 25.000 de specii) sunt ciuperci evolute la care sporii sunt produsi in bazidii. Multe dintre

bazidiomicete traiesc saprofit in pamant, pe substante organice moarte pe care le descompun, iar altele traiesc parazit pe plante si animale.

Bazidiomicetele parazite sunt: Puccinia graminis, rugina graului, Ustilago maydis, taciunile zburator al porumbului, etc.

Bazidiomicetele saprofite, majoritatea ciuperci cu palarie, se impart in ciuperci comestibile si ciuperci otravitoare.

Dintre ciupercile comestibile enumeram: buretii galbeni (*Cantharellus cibarius*), hribul (*boletus edulis*), craitele (*Amanita caesarea*), vinetica (*Russula vesca*), etc.

Dintre ciupercile otravitoare, cele mai periculoase sunt: hribul tiganesc (*Boletus satanas*), palaria sarpelui (*Amanita muscaria*), etc.

Daca urmarim intr-un atlas genurile *Boletus* si *Amanita* din exemplele de mai sus, observam ca aceste au atat specii comestibile, cat si specii otravitoare, ceea ce explica accidentele frecvente in cazul consumului acestora.

Lichenii sunt o asociatie permanenta intre diferite specii de alge unicelulare si ciuperci (ascomicete sau bazidiomicete). Aceasta relatie de “ajutor reciproc” se numeste simbioza. Lichenii sunt raspanditi pe tot Globul, mai ales in medii aride (desert, tundra, stancarii alpine). Cei mai cunoscuti licheni sunt: *Xanthoria parietina* (lichenul galben), frecvent pe stanci si trunchiuri de copaci, *Usnea barbata* (matreata bradului) si *Cladonia rangiferina* (lichenul renilor), abundent in tundra, constituind hrana de baza a renilor. Lichenii pot fi “pionierii vegetatiei” in zonele montane.

Regnul Plantae

Caracterizare generala. Acest regn cuprinde organisme pluricelulare eucariote, adaptate la viata de uscat. Celulele au perete celulozic, uneori lignificat. In citoplasma exista vacuole si cloroplaste in care predomina pigmentii clorofilieni. Principalul mod de nutritie este fotosinteza. Plantele prezinta organe specializate pentru fixare – radacinile, pentru sustinere – tulpinile, pentru nutritie - frunzele si pentru reproducere – florile. Fiecare organ este constituit din tesuturi specializate: asimilatoare, de conducere, de aparare, de absorbtie, etc.

O importanta deosebita o au tesaturile de conducere, formate din vase lemnoase (xilem), care transporta apa cu substante minerale spre Frunze, si vase liberiene (floem), care transporta substantele organice in toata planta. Exista in jur de 270.000 de specii de plante.

Clasificarea plantelor:

- Filum Bryophyta – Muschi;
- Filum Pterophyta – Ferigi;
- Filum Coniferophyta – Conifere, Gimnosperme;
- Filum Antophyta – Angiosperme
 - Clasa Dicotyledonate;
 - Clasa Monocotyledonate.

Regnul	Caractere distinctive		Unitatea sistematica Increngatura	Exemple
Monera	procariote	-acelulare -celulare-saprofite sau parazite -autotrofe	Virusuri Eubacterii Cianobacterii	V.M.T. Bacilul Koch Nostoc
Protista	Eucariote -fara organe specializate	Autotrofe -unicelulare -pluricelulare	Euglenoficee Clorofite Clorofite Feofite Rodofite	Euglena Chlorella Spirogyra Laminaria Ceramium
		Heterotrofe parazite sau saprofite -unicelulare -pluricelulare	Oomicete Rizopode Zoomastigine Ciliofore Zoomastigine	Plasmopara Amoeba Tripanosoma Paramoecium Codonosiga
Fungi	Eucariote -fara organe specializate	Heterotrofe parazite sau saprofite	Zigomicete Ascomicete Bazidiomicete	Mucegaiul alb Penicilium Ciuperca de camp
Plantae	Eucariote -au tesuturi si organe specializate	Autotrofe fara flori -cu conuri Samanta neinchisa in fruct -cu flori Samanta inchisa in fruct	Briofite (muschi) Pteridofite (ferigi) Coniferofite (gimnosperme) Antofite (angiosperme)	Muschiul de pamant Feriga comuna Bradul Marul

Regnul Animalia

Regnul Animal – Metazoare. Caractere generale

Animalele sunt organisme eucariote pluricelulare. Celulele care le alcatuiesc corpul sunt lipsite de perete celular si de pigmenti fotosintetizanti. Celulele care au aceeasi structura si aceeasi functie sunt grupate in tesuturi, acestea alcatuiesc organe, care formeaza sisteme.

La formele superioare, sistemele de organe ajung la o complexitate structurala si functionala ce depaseste cu mult celelalte regnuri, asigurand functii de integrare in mediu si de reglare interna, precum si functii de nutritie si reproducere.

Nutritia animalelor este heterotrofa, folosind, direct sau indirect, substante organice preparate de catre plante prin fotosinteza. Digestia este de tip ingestiv, fiind realizata, de obicei, intr-o cavitate interna a corpului. Animalele se incadreaza astfel in categoria trofica a consumatorilor.

Majoritatea animalelor duc o viață activă, necesară cautării hranei, ceea ce a dus la dezvoltarea unor sisteme senzoriale și de deplasare complexe. Mișcarea întregului organism sau a părților sale componente (la formele fixate) se bazează pe existența unor fibre contractile, de tip muscular.

Reproducerea este de tip sexuată. Fecundată, externă sau internă, se realizează prin contopirea unui gamet masculin (♂) flagelat, mai mic și mobil, cu un gamet feminin (♀), imobil și mai mare.

Clasificarea animalelor:

Nevertebrate

Diploblaste:

- Filum Porifera (spongieri)
- Filum Cnidaria (celenterate)

Triploblaste:

1. protostomieni

- a. Filum Plathelminthes (viermi lăți)
- b. Filum Nematoda (viermi cilindrici)
- c. Filum Mollusca (moluste)
- d. Filum Annelida (viermi înelați)
- e. Filum Arthropoda (artropode)

2. deuterostomieni

- a. Filum Echinodermata (echinoderme)
- b. Filum Chordata (cordate)
 - 1) Urochordata (urocordate)
 - 2) Cephalocordata (cefalocordate)
 - 3) Vertebrata (**vertebrate**)

In concluzie, în toate regnurile există și microorganisme, dintre care unele pot fi patogene pentru macroorganisme, deci potențial și pentru om, atât prin contaminare și colonizare, care pot să ducă la infectare sau infestare, cât și prin produși de metabolism (toxine, excreții) sau prin reacții alergice, disconfort ori transport de agenți infecțioși (vectori) s.a.m.d.

Bacteriile din punct de vedere al microbiologiei și biotehnologiei farmaceutice

Sunt microorganisme unicelulare, cu structură simplă (procariota); au nucleu, citoplasmă și un perete rigid care le permite să-și mențină forma constantă. Nucleul este constituit dintr-un singur cromozom, detinatorul caracterelor genetice ale speciei, pe care le transmite la descendenți.

În componența bacteriilor pe lângă alți constituenți esențiali intră și doi acizi nucleici cu importanță deosebită în viața celulei: ADN (acid dezoxiribonucleic), prezent mai ales în nucleu și ARN (acid ribonucleic), prezent în mare măsură în citoplasmă.

Unele specii bacteriene pe lângă elementele esențiale (nucleu, citoplasmă, perete), posedă și elemente morfologice suplimentare: capsulă, spori, cili etc.

Bacteriile pot prezenta diferite forme (coci, bacili, spirili, spirochete etc.) dimensiunea lor fiind cuprinsă între 1-12 μm lungime / 0,5-0,8 μm grosime.

Inmultirea bacteriilor are loc prin diviziune directa, cu participarea activa a nucleului.

Numeroase bacterii traiesc saprofite în natura și se hranesc fie cu substante anorganice (autotrofe) sau din substante rezultate prin descompunerea materiei organice moarte (heterotrofe).

Foarte multe specii bacteriene sunt utilizate in industrie, inclusiv in industria farmaceutica, iar rolul lor este in crestere prin dezvoltarea domeniului Organismelor Modificate Genetic (OMG), care pot sa apartina oricarui regn si sa se combine teoretic cu material genetic provenit de la oricare regn.

Tabelul I : Bacterii gram pozitive utilizate in scopuri industriale (P.Simon, R.Meunier, 1970)

Morfologie	Familie	Gen	Aero- bioza	Utilizare industriala
Coci	Micrococcaceae	Sarcina	+	Industrie
		Micrococcus	+	“
Bacili	Lactobacillaceae	Streptococcus	+	Vaccin
		Leuconostoc	+	Dextran
		Lactobacil	+	Acid lactic
	Propioni- bacteriaceae	Propionibacterium	+	Cyanocolamina
		Corynebacteriaceae	Corynebacterium	±
	Bacillaceae	B.clostridium	-	Fermentare aceto- butilica
		Diverse specii de Bacilius	+	Transformari chimice

Tabelul II : Bacterii gram-negative utilizate in industrie (P.Simon, R.Meunier, 1970)

Morfologie	Familie	Gen	Aero- bioza	Utilizare industriala
Coci	Neisseriaceae	Neisseria	+	Utilizare
		Veillonela	-	industriala
Bacili	Brucellaceae	Brucella	+	Vaccinuri
		Haemophilus	+	Vaccinuri
		Pasteurella	+	Vaccinuri
		Escherichia	+	Enzime
	Enterobacteia- ceae	Salmonella	+	Vaccinuri
		Shigella	+	Vaccinuri
		Aerobacter	+	Vaccinuri
	Azotobacteriaceae	Serratia	+	Vaccinuri
		Azotobacter	+	Enzime

Rhizobiaceae	Rhizobium	+	Enzime
Nitrobacteriaceae	Nitrosomonas	+	Enzime
	Nitrobacter		+ Enzime
Thiobacteriaceae	Thiobacillus		+ Enzime
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	+	Enzime
	Acetobacter		+ Enzime
Bacili scurți	Vibrio	+	Enzime
apirili	Spirilaceae		
	Desulfovibrio	-	Enzime
	Spirillum		- Enzime

Numeroase specii bacteriene traiesc pe mucoasele și tegumentele omului sau animalelor ca saprofite sau comensale, iar un grup restrans sunt strict parazite, determinand la om și animal diferite infectii (bacterii patogene).

Datorita unor caractere particulare, unele grupe deși se încadrează în bacterii, fac trecerea spre alte categorii de microorganisme de ex : spirochetele, au caractere care le apropie de protozoare, sau actinomicetele, de ciupercile inferioare .

a. Actinomicetele, încadrate în ordinul Actinomycetales, fac trecerea spre clasa ciupercilor inferioare (mucegaiuri). Se mai numesc și bacterii mari sau „bacterii ramificate”, deoarece dimensiunea lor longitudinală ajunge până la 60-80 μm, iar diametrul transversal este redus (1 μm). Ele sunt imobile și gram-pozitive; prezintă un perete rigid ca la bacterii dar formează miceli ramificate (perpendiculare pe miceliul principal) cu celule de reproducere specializate (conidii), ca la fungi.

Grupa Actinomycetes cuprinde 3 genuri principale:

Actinomyces. bacterii gram-pozitive, neacidoalcoolarezistente, cu tendința de fragmentare în forme bacilare și cocoide; sunt anaerobe; nu formează conidii (ex: *Actinomyces israelii*).

Nocardia, încadrează bacterii asemanătoare cu *Actinomyces*, dar aerobe și frecvent acido-alcoolo-rezistente (ex: *Nocardia farcinica*).

Streptomyces, bacteriile posedă un miceliu vegetativ care nu se fragmentează în forme scurte; conidiile se formează în lanțuri pe hife aeriene (ex: *Streptomyces griseus*).

În natura actinomicetele se găsesc adesea în sol. Unele specii au capacitatea de a descompune substanțe organice dintre cele mai complexe cum ar fi: substanțe grase, parafine, fenoli, taninuri sau cauciucuri. În acest fel actinomicetele participă activ la degradarea medicamentelor pe care le contaminează, iar în natura ele acționează la descompunerea substanțelor organice din sol și namoluri.

Unele specii sunt patogene pentru om (*Actinomyces israelii* și *A. bovis*), determinând actinomicoza, o infecție cu caracter supurativ, localizată în special în regiunea capului și gâtului (puroiul caracteristic cu aspect granular).

Genul *Streptomyces* cuprinde numeroase specii utilizate în prepararea de antibiotice (*Streptomyces griseus* elaborează prin biosinteza, streptomicina).

Tabel III . Ordinul Actinomycetales (Waskmann, 1961)

Actynomycetes			Myco-	Micro-	Actino-
Actinomices	Nocardia	Streptomyces	bacterium	monospore	plane
Anaerobe	Raspancite	Foarte	Acidoalcoolo	Raspancite	Mobile.
Patogene	in sol . Unele	raspancita in	rezistente .	in sol .	Prezente in
(A.israelii, A. bovis)	specii utilizate in industrie (N.coralina)	sol . Mare importanta industrial	In general patogene (M. tuberculosis)		apele dulci .

Spirochetele, deși sunt bacterii, prezintă unele caractere care le apropie de protozoare și anume: spre deosebire de celelalte bacterii care au peretele rigid, spirochetele prezintă un perete elastic.

Studiata la microscop cu fond negru, bacteria apare ondulata cu numeroase spire și foarte mobilă. La microscopul electronic s-a pus în evidență la aceste bacterii un filament axial pe care este înfășurată citoplasma. Între membrana citoplasmatică și perete, spirochetele prezintă niște fibre contractile care explică mobilitatea lor accentuată, spre deosebire de celelalte bacterii, la care mișcarea este condiționată de prezența cililor.

4. Micoplasmele

Micoplasmele încadrate în ordinul Mycoplasmatales sunt microorganisme lipsite complet de perete rigid, fiind astfel extrem de polimorfe (sferice, filamentoase) și foarte sensibile la variațiile de presiune osmotică. Sunt imobile și gram-negativ. Dimensiunile micoplasmelor variază între 0,90 și 1 μm.

Ele pot fi cultivate pe medii artificiale cu adaos de substanțe proteice de origine animală (ser, lichid de ascită, extract de ficat), formând colonii mici, diferite de ale bacteriilor. În natură, ele pot duce o viață independentă, trăind ca saprofite în sol, ape de canal sau statatoare.

Unele specii de micoplasme sunt patogene pentru om și animale. Prima oară un asemenea microorganism a fost izolat de către Nocard în 1898, din pleuropneumonia bovidelor și a fost denumit PPLO, iar ulterior toate microorganismele cu proprietăți asemănătoare care s-au izolat din diferite infecții de la om sau animal au fost denumite „microorganisme asemănătoare cu PPLO” (pleuropneumoniae like organisms) sau după denumirea modernă, micoplasme (bacterii lipsite de perete).

Specii mai importante pentru patologia umană sunt: *Mycoplasma pneumoniae* care determină pneumonia atipică primară, considerată mult timp de origine virală și *Mycoplasma hominis* care a fost izolată la om din artrite reumatoide și uretrite negonococice (tropism pentru mucoasa genitală).

5. Rickettsiile

Rickettsiile, încadrate în ordinul Rickettsiales sunt microorganisme cu caractere intermediare care fac trecerea între bacterii și virusuri. Ele se aseamănă cu bacteriile deoarece conțin în compoziția lor ambii acizi nucleici, ARN și ADN, se înmulțesc prin sciziparitate, sunt sensibile la antibiotice dar ca și virusurile sunt strict parazite intracelulare. Tendința actuală este de a atașa rickettsiile exclusiv la bacterii deoarece ele prezintă o structură internă asemănătoare cu cea a bacteriilor și spre deosebire de virusuri posedă totuși o

oarecare activitate enzimatică. Ele sunt considerate în prezent bacterii obligator parazitare.

Rickettsiile sunt microorganisme polimorfe având aspect de bacili sau cocabacili (0,2-2 μm) și care se pot examina la microscopul fonic obișnuit numai după colorații speciale.

Fiind strict parazite se cultivă numai pe culturi de celule sau pot fi cultivate și menținute prin inoculare pe animale sensibile.

Unele infecții determinate de rickettsii de ex: febrele exantematice (caracterizate prin febră, exantem și stare tifică) pot fi transmise prin agenți vectori hematofagi: purice, păduche etc.

6. Virusurile

Virusurile fac parte din ordinul Virales și constituie o categorie specială de agenți infecțioși, cu dimensiuni foarte mici (10-300 pm), care spre deosebire de bacterii conțin în compoziția lor un singur acid nucleic: ARN (ribovirusuri) sau ADN (deoxiribovirusuri).

Datorită dimensiunilor extrem de mici, virusurile trec prin filtrele bacteriologice, sunt „filtrabile” și spre deosebire de bacterii sunt rezistente la antibiotice. Inițial, virusologia era numită « inframicrobiologie ».

Fiind complet lipsite de echipament enzimatic virusurile sunt dependente din punct de vedere metabolic de celulele pe care le parazitează ; de aceea ele sunt strict parazite intracelulare la organismele gazdă iar în laborator pot fi cultivate numai pe culturi de celule (țesut normal sau tumoral), apoi pe oul de găină embrionat sau prin inoculare la animale sensibile.

Virionul, virusul infecțios matur denumit și „unitate infecțioasă” este constituit din:

- genomul viral (nucleoid) reprezentat numai de ARN sau ADN, care conține informația genetică ;
- capsida de natură proteică monostratificată formată din numeroase unități structurale identice, reprezentate de molecule proteice numite „capsomere”, dispuse simetric; capsida mărește rezistența virusului în mediul extern și prin receptorii pe care îi posedă se atașează de celula gazdă pe care o parazitează.

În raport cu structura internă, fiecare categorie de virus prezintă forme morfologice caracteristice, de ex: forma cilindrică (virusul mozaicului tutunului), paralelipipedică (grupul variola vaccina), sferică (virusul gripal), sub forma de cireșă (bacteriofagul) etc.

Virusurile cu un nivel mai complex de organizare, prezintă la exteriorul capsidului un înveliș numit peplos, care la rândul său este alcătuit din unități structurale sferice, numite „peplomere”.

Peplosul, ca și capsida asigură fixarea virionului pe celulele parazitare și prin această ușurează transmiterea infecției la organismul gazdă.

Virusurile nu se găsesc niciodată saprofite. Fiind obligatoriu parazite intracelulare, ele determină diferite infecții la om și animale. Cele mai importante infecții virale la om sunt: variola, varicela, rujeola, gripa, hepatita epidemică, poliomielită, rabia etc.

Bibliografie:

1. BERGEY'S „Manual of Determinative bacteriology” 7th Ed., London, Balliere , Tyndall , Cox LTD. , 1957
2. DUCA EUGENIA ; „Curs de microbiologie” , 1973, V.1. , pp.9-19 .
3. NITULESCU J. ; Curs omagial tinut in septembrie 1972 : „Cateva consideratii asupra evolutiei medicinei contemporane”, Rev.Med.Chir., Iasi , 1973 .
4. SENEZ J.C. : ”Microbiologie generale” . Ed.Doin , 1968 , pp.16-122 .
5. SIMON P. , MEUNIER R. : ” Microbiologie industrielle et genie biochimique ” . Ed. Masson , Paris , 1970 , pp. 21-43 .
6. ZARNEA G. : „ Microbiologie generala” . Ed. didactica si pedagogica , Bucuresti , 1970 , pp.1-46 ; 108-112 .
7. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 2

2. Morfologie bacteriana**3. Fiziologie bacteriana**

MORFOLOGIA SI STRUCTURA INTERNA A BACTERIEI (“anatomia”).

(ALBU ELENA-MIRELA, ALBU OANA-CRISTINA, AN II, GRUPA 1, 09.04.2009)

A. MORFOLOGIE

Forma caracteristica a unei specii bacteriene este cel mai bine reprezentata de bacteriile tinere, rezultate dintr-o multiplicare, active in medii favorabile. Morfologia bacteriilor este in general un caracter stabil, care permite recunoasterea lor in cadrul cercetarilor de laborator.

Dupa forma celulei, bacteriile pot fi grupate in 5 mari categorii:

- coci;
- bacilli;
- vibrioni;
- spirili;
- spirochete.

1. Cocii au corpul sferic sau ovalar, diametrele celulei (longitudinal si transversal) fiind aproximativ egale.

Dintre acestia:

- are corpul sferic sau aproape sferic (stafilococul)
- are corpul usor ovalar (streptococul)
- varf de lance sau flacara de lumanare (pneumococul)
- aspect de boabe de cafea (meningococul)

2. Bacilii prezinta corpul alungit, cilindric ca un bastonas;

- unele bacterii au capetele rotunjite (enterobacteriile)
- alte bacterii au capetele taiate drept (*Bacillus anthracis*)
- alte bacterii au capetele maciucate (bacilul difteric)
- alte bacterii au capetele ascutite (bacilul fusiform)
- unele au corpul neregulat, granular (bacilul tuberculozei, bacilul difteric).

Cocobacilii sunt reprezentati de bacterii cu morfologie intermediara intre coci si bacilli; adesea se coloreaza bipolar, luand aspect de barcuta sau suveica (exemplu: cocobacilul pestei, tularemiei).

3. Vibrionii fac trecerea intre bacili si formele spiralate; sunt bacili incurbati sub forma de virgula (ex. Vibrionul holerici).

4. Spirilii sunt bacterii filamentoase, lungi, mobile datorita cililor, cu spire largi, neregulate.

5. Spirochetele sunt bacterii subtiri, flexuoase, foarte mobile, datorita fibrilelor contractile. Cuprind 3 genuri patogene pentru om:

- *Borrelia*, cu spire largi rigide neregulate, ex.: *Borrelia vincenti*;
- *Treponema*, *Treponema pallidum*, agentul etiologic al sifilisului posedă 10 – 14 spire regulate si capetele ascutite;

- *Leptospira*, prezinta morfologie asemanatoare *Tr. palladium*, cu deosebirea ca extremitatile bacteriei sunt intoarse sub forma de carlig.

Bacteriile pot fi asezate izolat sau daca dupa diviziune raman unite, ele prezinta o asezare caracteristica speciei, care usureaza recunoasterea lor in cadrul diagnosticului. Asezarea bacteriilor depinde de planurile dupa care se face diviziunea celulara, in cadrul fiecarei specii:

1. La coci se observa urmatoarele tipuri caracteristice de asezare a bacteriilor:

a) stafilococii se aseaza de obicei in gramezi neregulate care au fost comparate cu ciorchinele de strugure (*staphylos* = strugure), datorita planurilor de diviziune neregulate;

b) streptococii se dispun in lanturi, deoarece planurile de diviziune sunt paralele;

c) pneumococii se aseaza in diplo (cate doi) prinzandu-se prin fetele bombate la fel ca si meningococul sau gonococul care se privesc prin fetele plane sau concave (au un singur plan de diviziune)

d) tetrada se caracterizeaza prin aceea ca bacteriile sunt dispuse in tetrade (cate 4 elemente, datorita celor doua planuri de diviziune perpendiculare)

e) sarcina prezinta o dispozitie cubica (8 elemente cu 3 planuri de diviziune orientate in unghi drept).

2. La bacili numai unele specii au asezare caracteristica, de exemplu:

- bacilul Friedlander se grupeaza de obicei in perechi, elementele fiind asezate cap la cap (diplobacili);

- bacilul antraxului se aseaza in lanturi (streptobacili)

- bacilul difteric, mai ales in culturi se aseaza sub forma de litere chinezești sau aspect de litere mari de tipar, X, Y, Z;

- bacilul tuberculozei se dispune adesea caracteristic in produse patologice: cate doua elemente unite prin una din extremitati: V, Y;

- bacilul pseudodifteric, are in cultura asezarea caracteristica in palisade (mai multe elemente dispuse paralel).

Celelalte bacterii nu au o dispozitie caracteristica.

Aspectul morfologic al bacteriilor poate sa sufere o serie de modificari odata cu imbatranirea culturii, folosirea de medii neadecvate sau adaos de factori nocivi. In aceste conditii pot sa apara forme bacteriene degenerate, aberante, cu morfologie mult modificata, numite „forme de involutie”. Acest lucru poate fi evitat utilizand medii si conditii adecvate de cultivare pentru fiecare specie in parte, iar examinarea microscopica sa fie facuta pe preparate si culturi proaspete. In cazul culturilor, bacteriile vor fi examinate dupa 24 de ore de termostatare pentru majoritatea bacteriilor si dupa doua-trei saptamani pentru bacilul Koch.

B. STRUCTURA INTERNA A BACTERIEI

Ca orice celula vie, bacteriile poseda o compozitie chimica complexa. Ele sunt constituite din apa (70-85%), proteine cu componenta specifica, acizi aminati, lipide, zaharuri, saruri minerale, enzime si pigmenti.

Datorita dimensiunilor mici ale bacteriilor, organizarea interna a acestora a putut fi studiata recent cu ajutorul microscopului electronic, a microscopiei cu contrast de faza, a citogeneticeii bacteriene si prin metode de biochimie celulara.

S-a demonstrat astfel ca in mare, structura celulei bacteriene este asemanatoare cu aceea a celulelor organismelor superioare, fiind constituita in esenta, dintr-un nucleu diferentiat, citoplasma si perete celular.

Spre deosebire insa de celula eucariota a organismelor superioare, celula bacteriana are o structura mai simpla, procariota.

Celula bacteriana poate trai ca protoplast avand ca elemente morfologice nucleul si citoplasma inconjurate la exterior de membrane citoplasmatica. Sub aceasta forma, bacteria este viabila dar numai in medii hipertonic, bogate in substante nutritive de origine animala. De obicei, insa, protoplastul este inconjurat la exterior de un strat mai consistent – peretele bacterian.

1. **Peretele** inconjura protoplastul fiind plasat in afara membranei citoplasmatic.

Structura peretelui bacterian. Peretele bacterian este constituit dintr-un strat gros de 10-15 pm, relativ rigid, datorita unui complex mucopeptid, cu componenta specifica bacteriilor, care contine: acetyl-glucozamina si acid acetyl muramic (zaharuri aminate) si in plus lizina, adenina si acid diaminopimelic. Aceasta constituie structura de baza a peretelui bacterian, fiind prezenta in proportie de 80% in bacteriile gram-pozitive si numai 20% la bacteriile gram-negative. Restul componentei chimice este completata de asa numitele „structuri speciale” care la bacteriile gram-pozitive sunt constituite in mare parte de acizii teichoici, iar la cele gram-negative de lipopolizaharide (identice cu endotoxinele).

Peretele poate fi examinat numai dupa detasarea sa de protoplast care se obtine fie prin agitarea mecanica a bacteriilor cu perle de sticla, ultrasunete, distrugerea enzimatica a citoplasmei sau prin fenomenul de plasmoliza.

Examinat la microscopul electronic, peretele apare pe sectiune tristratificat la bacteriile gram-negative si dublu stratificat la cele gram-pozitive. Tot la microscopul electronic se observa ca suprafata peretelui este constituita din numeroase subunitati macromoleculare, sferice de aceeasi dimensiune, dispuse simetric.

Funcțiile peretelui:

a) peretele bacterian are rolul de a mentine constanta forma bacteriei si de a o proteja de actiune factorilor nocivi din mediul extern (ex. variatiile de presiune osmotica).

b) datorita structurii diferite a peretelui bacterian prin coloratia gram s-au diferentiat doua mari categorii de bacterii gram-pozitive si gram-negative.

c) fiind poros, peretele permite patrunderea substantelor nutritive solubile de o anumita dimensiune, pana la nivelul membranei citoplasmatic, avand un rol de transport pasiv in fenomenul de nutritie.

d) la unele bacterii pe suprafata peretelui exista numerosi receptori speciali, care permit fixarea fagilor specifici pe bacterie sau a unor substante chimice (medicamente, toxice, metaboliti etc.)

e) peretele intervine in mod activ in diviziunea celulara, formand elementul despartitor dintre cele doua celule fiice.

f) peretele celular prezinta totodata sediul unor antigene importante cum ar fi endotoxina bacteriilor gram-negative sau antigenul O (situat in zona profunda a peretelui) precum si antigenele specifice de virulenta ale streptococului.

Daca in mediile in care se dezvoltă bacteria lipsesc elementele esentiale necesare sintezei de perete sau intervine actiunea unor factori cum ar fi de ex.: lizozimul (enzima litica, activa asupra peretelui bacterian) sau antibiotice ca: penicilina, bacitracina, novobiocina etc. care actioneaza selectiv asupra structurii de perete, acesta nu se mai sintetizeaza sau este incomplet sintetizat.

Bacteriile cu perete deficitar denumite si „forme L” pot aparea in anumite conditii experimentale sau chiar in organism, in timpul tratamentului cu antibiotice sub forma de „protoplasti” (elemente complet lipsite de perete) sau „sferoplasti” (cu rest de perete). Ele au fost mult studiate si sunt in prezent inca in studiu, necunoscandu-se exact relatia lor cu micoplasmele, care sunt de asemenea fara perete, stabilizate in conditiile naturale ale mediului extern. In prezent se cunoaste doar faptul ca bacteriile cu perete deficitar ca si micoplasmele, sunt polimorfe, gram-negative si foarte sensibile la variatiile de presiune osmotica. Sferoplastii se cultiva in medii favorabile speciale (hipertonice sau ou embrionat) in care pot reveni la bacteria de origine, fenomen conditionat in mod obligatoriu de prezenta resturilor de perete. Spre deosebire de acestia, protoplastii nu se multiplica si nu revin la forma initiala si in final ei se lizeaza.

2. Membrana citoplasmatica este componentul structural care separa citoplasma de peretele celular. Are o structura lipoproteica si este formata din trei structuri. Ea delimiteaza la exterior protoplastul, fiind considerata o condensare a citoplasmei si are functie de bariera osmotica intre continutul celulei si mediul extern, regland schimburile nutritive in ambele sensuri: unele pasiv (apa si o parte din ionii liposolubili) si altele selectiv, cu ajutorul unor enzime speciale, numite permeaze.

Membrana citoplasmatica are deci rol in nutritia bacteriei dar tot la acest nivel sunt situate si numeroase enzime respiratorii. Ea intervine de asemenea si in diviziunea celulara, contribuind alaturi de perete, la formarea septului transversal.

3. Citoplasma bacteriana este un sistem coloidal complex sub forma vascoasa de gel, care contine apa, proteine, glucide, lipide si substante minerale. Aici au loc cele mai importante procese metabolice care intretin viata si asigura multiplicarea celulei. Cu ajutorul microscopului electronic s-au pus in evidenta la nivelul citoplasmei numeroase granulatii sferice denumite ribozomi.

Ribozomii sunt depozite de ARN, dispuse pe o retea reticulara fina (reticul ribozomial) care sunt fixate de membrana citoplasmatica. Ribozomii sunt sediul sintezei proteinelor specifice ale bacteriei.

In citoplasma se mai gasesc:

- **mezozomi**, corpusculi tubulari sau lamelari care par a fi invaginatii ale membranei citoplasmaticе si care fac legatura cu nucleul. Denumiti si „corpi membranosi” sau „condrioizi”, ei reprezinta sediul enzimelor respiratorii si al

unor enzime cu rol în nutriție. Se pare că ei participă în mod activ și la diviziunea celulară, alături de nucleu;

- **incluziunile**, sunt particule dense, granulare care constituie depozite de rezerva în citoplasma. Ele sunt formate din glicogen, amidon, sulf, polimetafosfat, denumit și volutina după specia *Spirillum volutans* la care această substanță se găsește în cantitate mare; granulațiile de volutina sunt prezente în număr mare numai la anumite specii bacteriene și se colorează metacromatic; ele au fost descrise pentru prima oară de Babes și Ernst la bacilul difteric;

- **vacuolele** sunt formațiuni de 0,3-0,5 μm situate la nivelul citoplasmei, care conțin apă și permit dizolvarea substanțelor nutritive.

4. Nucleolul. S-a crezut că bacteriile ar fi lipsite de nucleu sau că au un nucleu difuz. Apoi, prin tehnici speciale, hidroliza acida la cald (Robinov), pe cale enzimatică (Boivin) sau prin colorație cu pironina (Unna), s-a demonstrat că bacteriile posedă un nucleu simplu, bine diferentiat, constituit din acid dezoxiribonucleic (ADN). Studii la microscopul electronic au arătat că nucleul este lipsit de membrana nucleară (celula procariota) și este constituit din filamente foarte fine, dispuse sub formă de scul (înfășurat și supraînfășurat). Acesta este de fapt filamentul cromozomial unic, care desfășurat are forma aproape circulară, dar este repliat pentru a ocupa un spațiu foarte redus; pe cromozom sunt fixate genele determinante ale eredității.

Structura AND-ului bacterian. Nucleul este constituit din două lanțuri de polinucleotide, formate din numeroase mononucleotide care la rândul lor sunt constituite din două baze purinice: adenina și guanina și două baze pirimidinice: timina și citozina. Prin difracție cu raze X a ADN-ului cristalizat, Watson și Crick (1952) au stabilit că la bacterii, ca de altfel și la alte organisme, cele două lanțuri sunt înfășurate elicoidal în jurul unui ax central; cele două lanțuri sunt unite prin puncte de hidrogen și obligatoriu legăturile se fac stereotipic între adenina și timina, guanina și citozina de pe cele două lanțuri diferite. Baza purinică sau pirimidinică este legată întotdeauna de zahărul prezent în AND, dezoxiriboza, care la rândul său este legat de acidul fosforic.

Funcțiile nucleului. Nucleul detine la nivelul genelor toate caracterele speciei pe care le transmite, în mod ereditar, la descendenți. El are rol esențial în multiplicarea bacteriilor, care se face de obicei prin diviziune directă. Diviziunea nucleului începe prin clivajul longitudinal al cromozomului cu resintetizarea concomitentă a lanțului complementar. Odată clivajul terminat, în celulă sunt prezenți doi nuclei perfect identici, având aceeași structură. Deoarece această etapă precede diviziunea celulară se pot surprinde imagini de celule cu 2-4 nuclei, înainte de separarea masei citoplasmatică; în realitate este vorba de celulă în diviziune.

Unele specii bacteriene pot prezenta **elemente morfologice accesorii**, care pot lipsi în cadrul speciei, fără a afecta viabilitatea celulei.

5. Capsula este prezentă numai la unele specii bacteriene, este situată în afara peretelui bacterian. Dimensiunea ei variază în raport cu specia și condițiile de mediu, fiind în general considerată ca un produs de secreție a bacteriilor. Ea poate avea dimensiuni neînsemnate fiind abia vizibilă, microcapsula, alteleori

capsula este bine distincta putand fi evidentiata prin metode speciale de colorare sau tehnici imunologice; iar alteori exista o masa capsulara abundenta in care plutesc bacteriile. La unele bacterii capsulogene, coloniile capata un aspect macroscopic "mucos" datorita abundentei de mucopolizaharide. Capsula, de obicei de natura poliozidica este lipsita de structura, la unele specii bacteriene prezinta totusi o structura fibrilara sau reticulara; in unele cazuri ea poate fi discontinua. **Functii:** capsula protejeaza bacteriile de conditiile nefavorabile ale mediului extern si de actiunea fagocitelor din organism. La unele specii capsula este sediul unor antigene importante: antigen Vi la salmonele, antigen polizaharidic la pneumococ sau polipeptidic (glutamil-peptida) la bacilul antraxului, fapt care explica virulenta crescuta a bacteriilor incapsulate, care apartin acestor specii. Absenta capsulei la aceste bacterii se insoteste de obicei cu scaderea virulentei, si o intalnim la tulpinile vaccinale.

6. **Cilii** sunt denumiti si flageli, sunt prezenti numai la speciile bacteriene mobile. Se intalnesc mai frecvent la bacili (enterobacterii, anaerobi sporulati etc.) dar s-au descris cili si la unele specii de coci (enterococ). Cilii au rol in mobilitatea bacteriilor fiind considerate organe de locomotie. Cilii sunt de natura proteica, constituiti dintr-o substanta numita flagelina (asemanatoare miozinei din structura muschilor de la animale), cu proprietati contractile. Flagelina are o greutate moleculara mare si o stricta specificitate imunologica (antigen flagelar). Ei sunt formati din cel putin doua (de obicei 3-5) filamente rasucite elicoidal, formand un filament unic axial, inconjurat de o teaca. Cilii se insera pe o granulatia bazala situata in citoplasma, dupa care traverseaza peretele bacterian. **Clasificare:** Dupa asezarea lor fata de bacterie se deosebesc:

- cili peritrichi, numar mare care inconjoara bacteria
- cili lofotrichi, smoc de cili la unul sau la ambele capete
- cili amfitrichi, cate un cil la ambele capete
- cili monotrichi, un cil la un capat

La spirochete locomotia este realizata intr-un mod cu totul particular, realizandu-se cu ajutorul fibrilelor contractile.

7. **Fimbrii** (pili) La unele bacterii, in special bacilii gram-negativi in afara de cili mai prezinta o serie de apendice foarte numeroase, de natura proteica, mai scurte si mai drepte decat cilii denumiti fimbrii. Ei au rol in adeziunea bacteriei pe suporturi solide (medii de cultura, hematii, sticla etc.) avand dupa unii autori rol in hemaglutinare.

8. **Sporul** este o formatiune situata in interiorul celulei si apare numai la numite specii bacteriene (*Bacillus*, *Clostridium* etc.), sporogeneza fiind considerata in prezent o etapa fiziologica normala in evolutia bacteriilor sporulate. De obicei, sporul apare la bacteriile mature in faza de imbatranire sau in anumite conditii de mediu modificate.

Odata cu maturarea sporului din interiorul celulei, survine liza corpului bacterian. Sporul eliberat de forma vegetativa, poate rezista in mediu extern foarte mult timp (uneori zeci de ani); rezistenta sa este explicata prin continutul redus de apa si prin faptul ca sub forma de spor bacteria se afla intr-un repaus metabolic complet. Repus in conditii favorabile, sporul reproduce bacteria initiala cu toate caracterele speciei, nemodificate.

Sporul este constituit dintr-un nucleu inconjurat de sporoplasma, membrane si de o serie de straturi exterioare: cortex si invelisuri sporale.

Sporii pot fi rotunzi sau ovalari. Dupa asezare se pot diferentia:

- spori centrali care nu deformeaza corpul bacterian (genul *Bacillus*)
- spori situati central sau subterminal dar care prin dimensiunile lor deformeaza corpul bacterian (genul *Clostridium*)
- spori situati terminal care modifica morfologia bacteriei (genul *Plectridium*).

Sporul constituie forma de rezistenta a bacteriei in natura, in scopul perpetuarii speciei. Studii de data recenta demonstreaza ca la unele bacterii anaerobe (genul *Clostridium*) *toxigeneza* este conditionata de sporogeneza. Acest fapt este confirmat prin aceea ca mutantii atoxigeni ai acelorasi specii nu sporuleaza.

METODE DE CERCETARE A BACTERIILOR

Bacteriile dintr-un produs patologic sau cultura pot fi puse in evidenta numai cu ajutorul microscopului. Gradul de marire al microscopului este rezultatul puterii de marire a obiectivului inmultita cu aceea a ocularului. Claritatea imaginii depinde in special de puterea de rezolutie a obiectivului (capacitatea de a obtine imagini distincte pentru doua particule foarte apropiate). De ex. microscopul fonic (optic) are puterea de rezolutie de 0,2 μm ceea ce permite examinarea tuturor speciilor bacteriene.

Pentru a obtine imagini clare, luminoase atunci cand se utilizeaza pentru examinarea obiectivelor cu putere mare de marire se interpune intre lama si lentila obiectiv, ulei de cedru sau glicerina (obiectivul cu imersie). Microscopul cu imersie are o putere de marire cuprinsa intre 300 si 1.500 de ori.

Microscopul cu fond negru utilizeaza iluminarea laterala a preparatelor (pe baza fenomenului Tyndall) prin care particule foarte mici devin vizibile, stralucitoare pe un camp intunecat. Puterea de rezolutie este cuprinsa intre 0,2-0,35 μm .

Microscopul cu lumina ultravioleta permite studierea unor detalii structurale ale bacteriilor, puterea de rezolutie fiind sub valoarea de 0,1 μm (pana la 75 de pm).

Microscopul cu contrast de faza, bazat pe absorbtia diferita a luminii, datorita structurilor celulare diferite, microscop are o putere de rezolutie care permite studiul unor detalii structurale pe preparate de celule vii.

Microscopul electronic utilizeaza pentru formarea imaginii un fascicol de electroni puternic accelerati prin diferente de potential electric. Puterea de rezolutie de pana la 0,1 pm permite examinarea structurii bacteriene, a rickettsiilor precum si morfologia si structura virusurilor. Puterea de marire a microscopului electronic este cuprinsa intre 30.000 si 200.000 de ori.

In general prima etapa in studierea bacteriilor este:

1. **examinarea microscopica** a produselor patologice, alimente, medicamente (examen direct) care se poate face:

a) in **preparat umed** intre lama si lamela – pentru examinarea morfologiei dar mai ales a mobilitatii bacteriilor, fie cu microscopul fonic obisnuit (cu obiectiv uscat) sau cu acelasi microscop adaptat pentru examinarea pe fond

negru. Pentru observarea detaliata a morfologiei bacteriene, a asezarii lor sau a raportului fata de celulele organismului se utilizeaza examinarea la microscopul cu imersie dupa

b) **colorarea preparatelor**. Coloratiile pot fi simple in care se utilizeaza un singur colorant, iar bacteriile se coloreaza in aceeași culoare, sau coloratii duble care diferentiaza pe acelasi preparat specii bacteriene cu afinitate diferita pentru doi coloranti; in acest caz colorarea se face cu primul colorant urmat de decolorare la care unele specii rezista iar altele se decoloreaza; cel de-al doilea colorant actioneaza asupra bacteriilor decolorate, diferentiindu-le de primele (coloratia Gram, Ziehl-Neelsen).

Pentru punerea in evidenta a unor detalii de structura bacteriana: capsula, cili, spori se utilizeaza coloratii speciale. In afara de examenul morfologic, care permite stabilirea prezentei si formei bacteriilor dintr-un produs etapa urmatoare pentru examinarea bacteriilor este:

2. **Insamantarea** produsului pe medii de cultura respectand conditiile de exigenta nutritiva, temperatura, pH, izotonie, pentru bacteria pusa in evidenta, in examenul direct. Dupa 24 ore de mentinere a culturilor la incubator (pentru bacilul Koch minimum 2-3 saptamani), se urmareste aspectul macroscopic si microscopic al culturilor.

Aspectul macroscopic constituie un criteriu ajutorator in recunoasterea speciilor bacteriene, deoarece de multe ori bacteriile au aspecte caracteristice ale culturilor atat pe mediu lichid cat si solid (aspect diferit al coloniilor). Examenul macroscopic va fi completat in mod obligatoriu cu un examen microscopic.

Daca in produsul de examinat exista mai multe specii microbiene, atunci se va urmari:

3. **Izolarea bacteriilor**, iar bacteria sau bacteriile izolate vor fi studiate in scop de :

4. **Identificare prin:**

- teste biochimice
- teste serologice
- in unele cazuri tipare cu bacteriofag
- inoculare la animalul sensibil pentru a stabili daca specia izolata este patogena
- in acelasi scop teste „in vitro” sau pe animal pentru a demonstra daca bacteria elaboreaza toxine (toxinogeneza).

5. In cazul in care bacteria este izolata de la un bolnav si trebuie stabilit un tratament cu substante antibacteriene, se va testa *in vitro* sensibilitatea bacteriilor la diferite antibiotice si chimioterapice (**antibiograma**).

BIBLIOGRAFIE

1. BUROWS W.: “Textbook of Microbiology”, 18 th, Ed.W.B.Saunders Company, Philadelphia London, 1964, cap.3, pp.41-92.

2. DUBOS, R. J., HIRSCH, J.G.: “Bacterial and Mycotic Infections of Man”, 4 th Ed.Pitman Medical Publishing Co LTD London, 1965, cap.3, pp.43-72.

3. ZARNEA G.: “Microbiologie generala”, EDP Bucuresti, 1970, pp.108-156.

4. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

3. FIZIOLOGIE BACTERIANA:

respiratia, nutritia conditiile de cultivare ale bacteriilor. multiplicarea

Prin fiziologie bacteriana se intelege totalitatea proceselor biologice care au loc intr-o populatie microbiana, de la reactiile complexe de metabolism care asigura nutritia si respiratia bacteriei, pana la cresterea, multiplicarea si moartea bacteriilor.

Fiziologia bacteriana se deosebeste de aceea a organismelor superioare prin varietatea si intensitatea exceptionala a proceselor metabolice. Ca urmare a acestui fapt sin in conditii favorabile, bacteriile se pot dezvolta, creste si multiplica foarte repede in 12-24 ore; adesea multiplicarea este atat de intensa, incat substratul pe care actioneaza bacteriile este puternic modificat. De exemplu: 1 g *Micrococcus ureae* descompune peste 1 kg uree pe ora, iar 1 g bacterii lactice sunt capabile sa hidrolizeze in acelasi interval, aproximativ 15 kg de lactoza.

Metabolismul bacterian cuprinde totalitatea reactiilor biochimice care au loc in celula bacteriana si substratul nutritiv, pentru asigurarea tuturor functiilor sale biologice vitale. Bacteriile prezinta foarte numeroase tipuri metabolice care difera in raport cu specia sau chiar in cadrul aceleiasi specii, in functie de substratul nutritiv, fata de care bacteriile prezinta posibilitati deosebit de mari de adaptare. Metabolismul bacterian se realizeaza prin doua tipuri de reactii catalizate enzimatic:

1. reactii prin care celula isi furnizeaza energia necesara tuturor proceselor biochimice vitale (metabolism energetic) si

2. reactii de sinteza, prin care pe baza substantelor nutritive din mediu se sintetizeaza materia vie proprie, specifica celulei bacteriene (metabolism de sinteza).

Aceste doua tipuri de reactii sunt strans corelate intre ele si adesea se suprapun, deoarece degradarea substantelor nutritive care furnizeaza energia, asigura in acelasi timp si elementele necesare pentru biosinteza materialului propriu celular.

METABOLISMUL ENERGETIC (respiratia bacteriana)

In procesul de sinteza a constituentilor sai structurali, celula bacteriana are nevoie de energie care sa asigure in final cresterea si inmultirea bacteriilor. In raport cu sursa de energie utilizata, bacteriile se impart in foto- si chimio-sintetizante.

1. **Bacteriile fotosintetizante** sau fototrope, utilizeaza energia furnizata de lumina solara, dar procesul de fotosinteza la bacterii se deosebeste fundamental de acela al clorofilei de la algele unicelulare.

a. Bacteriile fotosintetizante autotrofe. In aceasta categorie se incadreaza grupa sulfo-bacteriilor purpurii si verzi, care utilizand energia furnizata de

lumina solara cu ajutorul pigmentilor fotosintetizanti, isi realizeaza sintezele pornind de la CO₂ si surse anorganice (de exemplu: H₂ molecular si compusi minerali de sulf). Aceste bacterii traiesc libere in natura, in apele statatoare sau termale sulfuroase, mai ales in anaerobioza (sub planctonul de alge acvatic).

b. Bacteriile fotosintetizante heterotrofe, sunt bacterii saprofite, purpurii nesulfuroase, in general anaerobe care utilizeaza ca sursa de energie lumina solara, iar pentru sinteza au nevoie si de structuri organice (de exemplu : alcoolii si acizii grasi).

2. **Bacteriile chimiosintetizante.** Aici se incadreaza majoritatea bacteriilor care utilizeaza ca sursa de energie procesele oxidative, pe seama substantelor chimice, prezente in substratul nutritiv.

a. Bacteriile autotrofe, isi obtin energia prin oxidarea unei substante anorganice: NH₃, NO₂, H₂S, Fe, S, H. Aceste bacterii prezinta o specializare deosebita asupra substratului din care isi elibereaza energia necesara si pe care il oxideaza; de aceea ele au primit denumirea de: fero-bacterii, hidrogen-bacterii, sulfo-bacterii etc.

b. Bacteriile heterotrofe folosesc drept surse de energie oxidarea aeroba sau anaeroba a unor substante organice care de multe ori reprezinta totodata si sursa lor de carbon. Substantele utilizate cel mai frecvent de catre aceste bacterii drept surse de energie sunt: glucidele, acizii grasi, alcoolii etc., care sunt degradati prin oxidare, pana la dioxid de carbon si apa.

3. **Bacteriile paratrofe**, fiind parazite obligatorii intracelulare, energia necesara reactiilor biochimice de sinteza este furnizata in totalitate de catre organismul gazda.

Orice proces chimic aerob sau anaerob prin care energia este pusa in libertate de catre celula bacteriana pentru a fi folosita la sinteza materialului celular, poarta numele de metabolism energetic sau in sens mai larg, respiratie bacteriana.

Respiratia se refera deci la toate reactiile producatoare de energie care au loc in celula si datorita carora celula traieste. De obicei aceste reactii sunt de oxidare cuplate intotdeauna cu reactii de reducere si constituie **potentialul de oxido-reducere celular**.

Tipul cel mai frecvent de respiratie la bacterii este **respiratia aeroba** (asemanatoare cu cea a organismelor superioare) in care substanta organica este oxidata in organism pana la dioxid de carbon si apa cu ajutorul oxigenului atmosferic. Prin oxidare se intelege transportul unui atom de H de la un donator la un acceptor. Cand acest ultim acceptor este O liber, au loc procese de oxigenare, iar bacteriile care pot trai in prezenta oxigenului atmosferic, se numesc aerobe.

Mai tarziu s-a constatat ca bacteriile pot avea si respiratie de tip anaerob, in care microorganismele nu au nevoie de oxigenul atmosferic pentru activitatea lor vitala. Aceste bacterii numite **anaerobe**, isi procura energia necesara din procesele de fermentatie care au loc in substratul nutritiv. In acest caz energia este eliberata prin dehidrogenare: pierdere de H, in absenta oxigenului atmosferic. Ultimul receptor de H in acest caz, poate fi orice substanta anorganica, cu exceptia O₂.

Deoarece prin oxidarea biologică se eliberează în final o cantitate mare de energie, respirația bacteriană este asigurată prin două mecanisme:

- a. eliberarea energiei sub formă fracționată și
- b. depozitarea energiei în scopul unei utilizări ulterioare.

a. Eliberarea fracționată a energiei (respirația propriu-zisă), se realizează prin intermediul unor succesiuni de reacții de oxido-reducere, catalizate de enzime respiratorii, care alcatuiesc așa numita **catena de respirație celulară**. Această acțiunează prin enzime numite dehidraze care includ trei categorii principale de enzime: piridinice, flavinice și sistemul citocromilor.

Pentru cele mai multe microorganisme aerobe, procesele de oxido-reducere pot funcționa prin intermediul a două sisteme enzimatice complete: sistemul citocrom-oxidazic și sistemul flavo-proteinic. În orice caz, există un lanț întreg de reacții chimice, catalizate enzimatic, fiecare treaptă a procesului respirator fiind asigurată de enzime diferite, specializate.

Faptul că energia se eliberează treptat, ea poate fi utilizată în mod continuu în procesele de degradare și sinteză a materialului celular.

b. Depozitarea energiei pentru utilizarea sa ulterioară se face prin înmagazinarea ei într-un compus organic de fosfor, reprezentat de **acidul adenozintrifosforic** (A.T.P., creându-se o legătură puternică, macroergică), care poate elibera, la nevoie, această energie cu multă ușurință, în interiorul celulei bacteriene.

În funcție de modul cum folosesc oxigenul molecular, microorganismele pot fi grupate în patru tipuri respiratorii:

-strict aerobe, care folosesc oxigenul molecular ca acceptor de hidrogen, în sistemul citocromic, deci ele au nevoie pentru a trăi în mod obligatoriu de oxigen;

-strict anaerobe, microorganisme care își procură energia necesară activității lor vitale din procesele de fermentație, în absența oxigenului liber. Dacă oxigenul ar fi prezent în mediu, el având rol de ultim acceptor de hidrogen, s-ar produce apă oxigenată, substanță toxică pentru bacterii. Această substanță la bacteriile aerobe este neutralizată de catalază, enzima care lipsește la bacteriile anaerobe. De aici explicația anaerobiozei și necesitatea eliminării oxigenului din mediile utilizate pentru cultivarea bacteriilor anaerobe;

-facultativ anaerobe, se dezvoltă în mod obișnuit în prezența oxigenului pe care îl utilizează dar se pot dezvolta și în absența lui. Aici se încadrează marea majoritate a bacteriilor, în special enterobacterii, bacterii lactice, levuri;

-micro-aerofile. Aceste microorganisme au nevoie de o cantitate de oxigen mai mică decât cea din aerul atmosferic, deoarece unele din enzimele lor sunt sensibile la condițiile de oxidare puternică.

METABOLISMUL DE SINTEZĂ (nutriția bacteriană)

Metabolismul de sinteză cuprinde totalitatea reacțiilor biochimice prin care celula bacteriană își furnizează materialele plastice necesare, pe care le transformă în substanțe specifice proprii.

În general bacteriile prezintă în condiții favorabile un metabolism foarte activ, iar în medii mai puțin adecvate ele au posibilități foarte largi de adaptare la substratul nutritiv. Astfel, speciile saprofite care trăiesc libere în natură, fiind

dotate cu un echipament enzimatic complex, pot supraviețui și chiar se multiplica pe suporturi nutritive foarte variate și uneori extrem de sărace (de exemplu: sulfat de cupru, sulfat de zinc, talc, caolin, parafine, vaseline, petrol, bumbac, cauciuc etc., pe care le degradează treptat).

În general, însă, pentru a-și desfășura funcțiile biologice normale, bacteria trebuie să gasească în mediul în care trăiește substanțele chimice care să-i satisfacă **necesitățile nutritive** și acestea sunt:

- surse de carbon;
- surse de azot;
- compusi organici pe care bacteria nu-i poate sintetiza și deci trebuie să-i gasească în mediu;
- ioni anorganici esențiali: C, N, O, H, P, S; numeroase bacterii mai necesită și: K, Mn, Mg, Fe, Zn, Cu etc.

Se știe că în natură bacteriile se comportă foarte variat, de la cel mai complet saprofitism până la parazitismul cel mai strict. În consecință și necesitățile metabolice vor fi foarte diferite în raport cu specia bacteriană și cu mediul în care trăiește.

Bacteriile se pot clasifica din punct de vedere al exigentelor nutritive în: bacterii autotrofe, care necesită pentru dezvoltare substanțe simple, anorganice; și bacterii heterotrofe, care necesită pentru metabolismul lor, substanțe mult mai complexe.

1. **Bacteriile autotrofe** sunt capabile să-și sintetizeze toți constituenții celulari pornind de la surse anorganice simple de C și N ca: CO_2 , NO_2 , NO_3 , NH_3 . Astfel, unele specii utilizează CO_2 ca unică sursă de carbon, iar NH_3 ca unică sursă de azot și apă.

Pentru sinteza ele își procură energia necesară fie din lumina solară (bacterii sulfo-purpurice), fie prin oxidarea unor compusi anorganici, folosind oxigenul.

Denumirea de **autotrofe** subliniază tocmai capacitatea lor de a se dezvolta în natură cu totul independent de materia organică. Datorită acestui fapt, trăind libere în natură și având un echipament enzimatic complex, ele sunt singurele bacterii care pot sintetiza materia organică (proprie celulei bacteriene) din substanțe anorganice. Bacteriile nitrificante și denitrificante din acest grup ajută la fertilizarea solului și la circulația materiei în natură.

2. **Bacteriile heterotrofe**, spre deosebire de cele autotrofe, necesită pentru metabolismul lor de sinteză compusi organici, care în majoritatea cazurilor le furnizează atât energia necesară, cât și sursa de carbon. Bacteriile heterotrofe prezintă numeroase tipuri metabolice, având exigente nutritive diferite în raport cu mediul de viață (saprofit sau parazit).

Cu cât bacteria este mai adaptată la viața de parazitism, în care caz are la dispoziție toate elementele pentru propriul său metabolism, în organismul gazdei, cu atât "in vitro" ea va avea exigente nutritive mai mari. Fiind mai puțin dotată enzimatic, ea devine astfel incapabilă să-și sintetizeze singura metabolită sa esențială. În acest caz, pentru cultivare, bacteriile heterotrofe au nevoie de adaos de substanțe nutritive de natură organică și factori de creștere (acele substanțe absolut necesare metabolismului unor bacterii heterotrofe pe care

bacteria nu le poate sintetiza singura.: acizi aminati, vitamine, substante purinice si pirimidinice). Cele mai importante tipuri metabolice ale acestor bacterii sunt:

a. bacterii care utilizeaza carbon organic si azot molecular atmosferic; aici se incadreaza bacteriile fixatoare de azot, care traiesc libere in natura, fiind raspandite in sol si apa, specii aerobe (*Azotobacter*) sau anaerobe (*Clostridium pasteurianum*) si alte specii "fixe" care traiesc in simbioza cu plantele leguminoase (*Rhizobium*).

b. bacterii care utilizeaza carbonul din surse organice si azotul din surse anorganice, si anume, carbonul este luat din substante polizaharidice, acizi organici, alcooli, lactati, iar azotul din amoniac sau saruri de amoniu;

c. bacterii care utilizeaza atat carbonul, cat si azotul din sursa organica; aici se incadreaza unele specii saprofite din mediul extern si intestin.

Numeroase specii heterotrofe au **exigente metabolice** si mai mari.

Astfel, bacilul tific necesita in mod obligatoriu un acid aminat si anume triptofanul; bacilul difteric are nevoie de doi acizi aminati: triptofan si cistina; streptococul piogen are nevoie de acid pantotenic etc.

Bacterii ca gonococul, hemofili, brucelele necesita adaos la mediile de cultura de sange, ser sanguin sau lichid de ascita. Cultivarea acestor bacterii este favorizata, de asemenea, si de prezenta CO₂ (10-15%), care prin reactia de decarboxilare participa in mod activ la metabolismul bacterian.

Nevoia de factori de crestere a unor microorganisme este atat de specifica, incat multiplicarea este direct proportionala cu prezenta aceluia factor in mediu, de exemplu, cu cantitatea unei anumite vitamine. Astfel de microorganisme sunt folosite in practica pentru dozarea microbiologica a vitaminelor.

3. **Bacterii hipotrofe**, sunt reprezentate de rickettsii, parazite obligatoriu intracelular care, datorita unui echipament enzimatic extrem de redus se dezvoltă numai pe seama materialelor nutritive oferite de organismul gazda.

Mecanismul nutritiei. Traind in conditii favorabile de mediu, pH, temperatura, bacteria utilizeaza substantele nutritive din substrat dupa ce le transforma cu ajutorul unor enzime exogene (elaborate si eliminate in afara celulei) denumite desmolaze, pana la produse care pot patrunde prin perete si membrana citoplasmatica in interiorul celulei bacteriene.

La acest nivel, in citoplasma bacteriana, au loc o serie de reactii chimice catalizate de enzime specializate, pentru a desavarsi desfacerea substantelor nutritive pana la elemente sau compusi simpli din care, printr-o noua serie de reactii biochimice, incepe sinteza materialului propriu celular. Aceasta sinteza se realizeaza treptat, in compusi din ce in ce mai complexi, pana se ajunge la compozitia specifica celulei bacteriene.

Toate procesele metabolice se desfasoara activ intre bacterie si substratul nutritiv care este intens modificat de enzimele bacteriene prin reactii biochimice complexe. In consecinta, orice substrat pe care ajung microorganismele si care permite dezvoltarea lor (inclusiv medicamentele), va suferi in final o degradare mai mult sau mai putin importanta, in raport cu componenta chimica a substratului si specia de bacterie contaminata. Pentru a ilustra mai bine acest lucru se va arata modul in care microorganismele pot degrada in natura sau in

produsele contaminate substante chimice complexe, de natura foarte diversa: proteine, glucide si grasimi.

1. Degradarea substantelor proteice din mediu. Proteinele reprezinta surse importante de N si C pentru metabolismul bacterian. Ele pot fi degradate intens de microorganisme proteolitice, ca de exemplu mucegaiuri: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, numeroase bacterii aerobe: *Bacillus*, *Pseudomonas*, anaerobe facultative: *Proteus*, *Serratia*, precum si bacterii sporulate strict anaerobe din genul *Clostridium*.

Microorganismele degradeaza substantele proteice prin procese complexe de oxidare si decarboxilare, in doua faze: proteoliza si putrefactia:

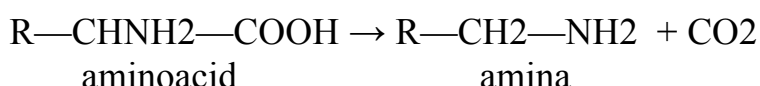
-proteoliza, in care actioneaza enzimele bacteriene speciale, proteinaze si peptidaze, in limite largi de pH (1,5-10,5) si prin care proteinele sunt scindate pana la aminoacizi; de exemplu gelatina si caseina sunt rapid degradate, lichefiate de bacteriile proteolitice;

-putrefactia reprezinta procesul de descompunere anaeroba a peptidelor rezultate din proteoliza, urmata de metabolizarea aminoacizilor constitutivi de catre bacterii si emanarea de acizi volatili cu miros dezagreabil.

Aminoacizii eliberati prin fenomenul de proteoliza, fie sunt asimilati ca atare in metabolismul de sinteza bacterian, fie sunt degradati in continuare prin reactii biochimice complexe de dezaminare, decarboxilare, reducere, dezaminare oxidativa etc.

Dezaminarea acizilor aminati are ca rezultat eliberarea de amoniac, care este apoi utilizat de bacterie ca sursa de azot.

Prin decarboxilare anaeroba a aminoacizilor, determinata de bacterii, se elibereaza gruparea —COOH , se formeaza CO_2 si amina corespunzatoare dupa reactia:



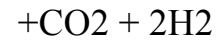
Reactia este catalizata enzimatic de decarboxilaze si reprezinta un mecanism important de formare a CO_2 la microorganisme.

Enzimele bacteriilor proteolitice (ribonucleaze, dezoxiribonucleaze) actioneaza specific asupra acizilor nucleici prin depolimerizare, determinand o degradare ireversibila.

2. **Degradarea glucidelor.** Aceste substante reprezinta sursa importanta de energie pentru microorganisme si furnizeaza in acelasi timp carbon, necesar pentru nutritia lor. Cea mai mare cantitate a rezervei de carbon este reprezentata de oligo-, dar mai ales de polizaharide, care intr-un prim stadiu sunt transformate sub actiunea microorganismelor, in monozaharide.

Degradarea lor se datoreste unor enzime numite diastaze (amilaze, maltaze) care actioneaza prin procese de oxidare si descompun, de exemplu, hexozele pana la CO_2 si H_2O sau actioneaza prin hidroliza si reducere:



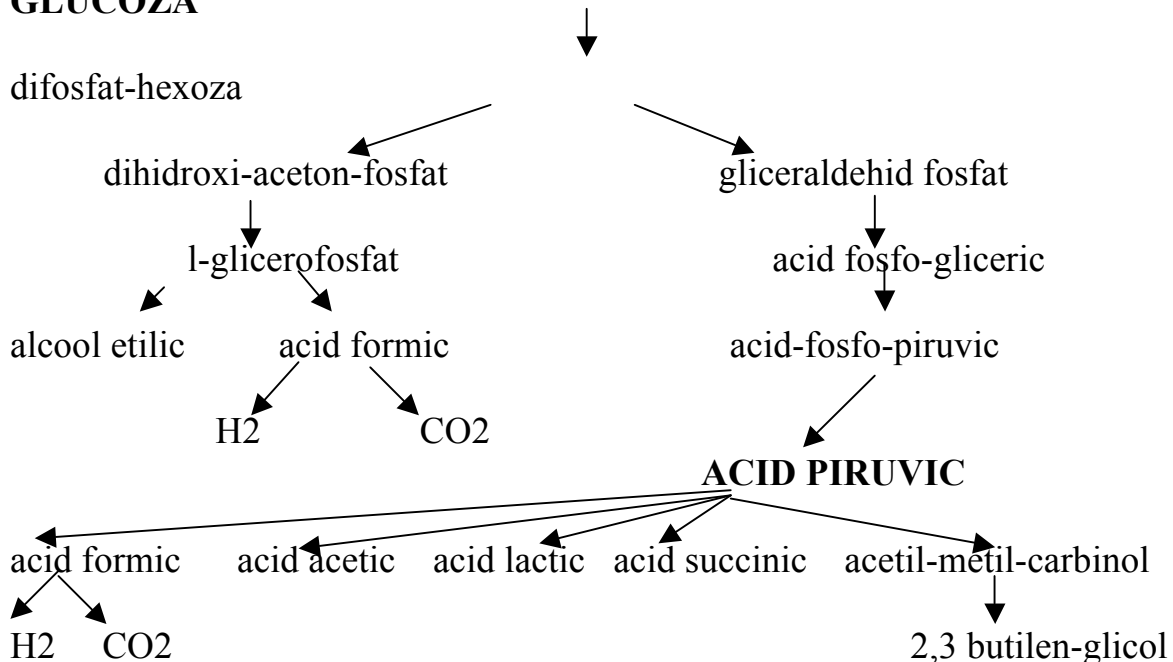


Fermentarea glucozei de catre bacilul coli.

Fermentatiile bacteriene se caracterizeaza printr-o puternica consumare a glucidelor cu transformarea incompleta a acestora, in stadii succesive. In timpul fermentatiilor bacteriene, dirijate enzimatic, se degaja o mare cantitate de energie.

a. Glucoza, de exemplu, poate fi descompusa pana la acid piruvic, care reprezinta o substanta importanta in metabolismul bacterian; in continuare, acidul piruvic urmeaza mai multe cai metabolice: prin decarboxilare aeroba, cu formare de acetaldehida evolueaza ca o fermentatie acetica (specifica microorganismului *Acetobacter*); in anaerobioza evolueaza in sensul fermentatiei alcoolice, specifice levurilor sau poate trece in acid lactic, in cadrul fermentatiei lactice.

GLUCOZA

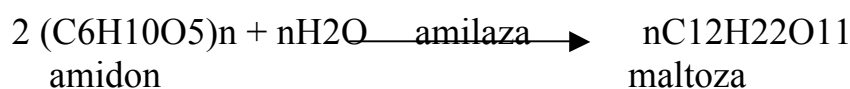


-Un alt mod de fermentare al glucozei de catre bacteriile din grupul coli-aerogenes-

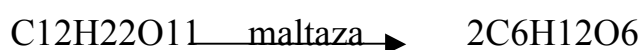
b. Dizaharidele sunt descompuse prin hidroliza si fosforilare cu ajutorul enzimelor adaptative: beta-galactozidaza si invertaze.

c. Polizaharide:

i) amidonul este degradat cu ajutorul enzimei amilaza in maltoza si apoi, in continuare, in glucoza:



in continuare:



maltoza

glucoza

Amidonul poate fi, de asemenea, degradat într-un mod cu totul particular de către *Bacillus macerans*, până la dextrine ciclice și glucoza.

ii) celuloza. Numeroase microorganisme pot acționa asupra celulozei. Sîu (1951) a stabilit o listă de aproximativ 150 microorganisme celololitice, aparținând unor grupuri foarte diverse dintre Eubacterii (*Bacillus*, *Bacterium*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Vibrio*), apoi bacterii din grupul Myxobacterii, Actynomycete și mucegaiuri, ca: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*.

iii) pectinele sunt degradate de microorganismele pectinolitice: numeroase mucegaiuri, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium glaucum*, apoi bacterii din genul *Erwinia*, *Clostridium*, specii pigmentate (*felsineum* și *roseum*) și nepigmentate (*Plectridium pectinovorum*).

Pectinele sunt polizaharide insolubile, cu greutate mare moleculară, formate dintr-un lanț liniar de acid poli beta -l: 4 galacturonic. Ele sunt degradate cu ajutorul a două enzime diferite: pectinesteraza, care hidrolizează grupările metilice și poli-galacturonidaza, care hidrolizează grupările glucozidice: l: 4 a lanțului.

În mari, există numeroase bacterii care degradează agar-agarul, alga marină superioară, prin hidroliză, iar în organismul uman, bacteriile patogene ca: stafilococi, streptococi sau agenții etiologici ai gangrenei gazoase, hidrolizează acidul hialuronic, favorizând astfel propagarea infecției în organism.

3. Degradarea microbială a substanțelor grase are loc prin elaborarea unor lipaze bacteriene extracelulare, care prin hidroliză scindează fosfolipidele, sterolii în glicerol și acizii grași (în special palmitic și stearic).

În continuare, glicerolul este descompus, iar acizii grași sunt oxidați de către bacterii, cum ar fi: stafilococii, bacilul tuberculozei, bacilii lactici etc.

CONDITII DE CULTIVARE A BACTERIILOR

Pentru a putea trăi și înmulți, bacteriile au nevoie, în afara de substanțe nutritive, și de o serie de alte condiții absolut necesare dezvoltării lor: o anumită temperatură, pH, presiune osmotică etc.

1. **Temperatura.** Orice specie bacteriană se dezvoltă între anumite limite de temperatură (maximă și minimă), însă activitatea sa cea mai intensă metabolică și inclusiv multiplicarea cea mai activă are loc la temperatura optimă pentru fiecare specie în parte. După temperatura optimă de dezvoltare, microorganismele se împart în:

a. microorganisme **mezofile**, în care se încadrează numeroase specii bacteriene, inclusiv cele patogene. Temperatura lor optimă de dezvoltare este de 37°C, însă ele se pot dezvolta între limite mai largi de temperatură, cuprinse între 25° și 40°C;

b. microorganisme **psichrofile** sau criofile se dezvoltă în medii cu temperaturi scăzute: în mari, oceane, constituind în același timp flora frigiderelor și a refrigeratoarelor în care se depozitează alimentele și medicamentele care adesea sunt alterate de aceste microorganisme. Ele se

dezvolta intre 0°-30°C, la 0°C, metabolismul lor fiind inca foarte intens. Temperatura optima de dezvoltare este cuprinsa intre 15°-20°C. In grupa microorganismelor psihrofile se incadreaza numeroase bacterii gram-negative nesporulate, apartinand genurilor: *Pseudomonas*, *Achromobacter* si *Flavobacterium*;

c. microorganismele **termofile**, care se dezvoltă la temperaturi ridicate cuprinse între +30°C și +89°C și chiar mai mult. În această grupă se încadrează numeroase ciuperci inferioare, bacterii gram-pozitive sporulate din genul *Bacterium*, *Bacillus* sau bacterii sulfo-oxidante și sulfo-reducătoare. Aceste bacterii care rezistă și chiar se înmulțesc la temperaturi ridicate, formează flora bacteriană a apelor termale sulfuroase sau nesulfuroase.

Caracterul particular al acestor microorganismele de a se dezvoltă la temperaturi ridicate se explică prin prezenta unor enzime de natură proteică, rezistente la +100°C timp de o oră (de exemplu: alfa-amilază la *Bacillus stearothermophilus*), care asigură metabolismul bacterian la temperaturi ridicate.

2. **Condiții de pH.** Spre deosebire de microorganismele vegetale, cum ar fi de exemplu ciupercile inferioare (mucegaiuri, levuri) care se dezvoltă mai bine în medii relativ acide (pH 3-6), bacteriile se dezvoltă, de preferință, în mediu neutru sau ușor alcalin 7-7,6.

Cu toate că numeroase bacterii suportă bine variațiile de pH cuprinse între 6-9, există unele specii care necesită pentru dezvoltare pH-uri foarte diferite în raport cu specia, de exemplu: *Thiobacillus thiooxidans*, care oxidează tiosulfatul în sulfură și acid sulfuric, trăiește la pH = 1, deci foarte acid, rezultat din aceste transformări chimice. Speciile care fermentează ureea cu producere de amoniac, nu se dezvoltă decât la un pH intens alcalin, peste 8 (de exemplu: *Bacillus pasteurii*). De asemenea vibriionul holerice, bacterie patogenă pentru om, se dezvoltă la un pH alcalin, cuprins între 8-9.

3. **Presiunea osmotică.** Pentru a se dezvoltă, bacteriile au nevoie de medii izotonice, adică aproximativ cu aceeași concentrație de ioni ca și cea din citoplasma bacteriană. Orice modificare în concentrația salină de clorură de sodiu care depășește 2%, inhibă parțial sau total cultivarea bacteriei, iar dacă această concentrație este mai ridicată, survine adesea moartea bacteriei.

Există, însă, unele grupe de bacterii, denumite **halofile**, care spre deosebire de primele se dezvoltă la concentrații saline care depășesc 15% (echivalentul apei de mare), de exemplu: coci din grupul *Sarcina-Micrococcus*, bacili gram-negativi sau pozitivi din speciile: *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Bacteroides*.

În general, în scop de diagnostic sau studiu, bacteriile sunt cultivate pe medii de cultură artificiale, preparate în laborator, prin care se încearcă satisfacerea, pe cât posibil, a tuturor exigențelor bacteriei în substanțe nutritive, izotonie, pH, temperatura, necesitate de CO₂ etc.

Cantitatea de mediu utilizată în acest scop este, în general limitată (eprubeta sau plăci Petri), care se "însămânțează" cu un medicament contaminat sau produs patologic (puroi, urină etc.) sau cu o altă cultură obținută anterior. Această mică cantitate care se însămânțează pe mediul de cultură, poartă numele de "inoculum".

Dupa insamantare, mediul de cultura se pune la incubat 24 de ore (timp necesar pentru cultivarea majoritatii bacteriilor). Ceea ce se obtine a doua zi se numeste "cultura" sau "populatie" bacteriana, care poate fi unica (cultura pura) daca produsul a fost monobacterian sau rezulta mai multe populatii bacteriene diferite (cultura mixta) daca in produs au existat concomitent mai multe specii bacteriene.

MULTIPLICAREA BACTERIILOR

Dupa insamantare pe mediile nutritive si mentinute la incubator, bacteriile din produs, gasind de obicei conditii favorabile de dezvoltare, ajung la maturitate si se multiplica, reproducerea asigurand perpetuarea speciei.

Bacteriile se reproduc in special, prin:

1. **diviziune simpla**, numita si diviziune directa, sciziparitate sau fisiune binara. Diviziunea este precedata de o replicare si separare a nucleului. Diviziunea nucleului are loc printr-un clivaj longitudinal al celor doua lanturi de polinucleotide, cu resintetizarea concomitenta a lantului complementar, incat odata terminata diviziunea sa in celula, exista doi nuclei identici din punct de vedere genetic.

Concomitent, celula creste in volum, se alungeste, iar protoplasma se divide in doua parti aproximativ egale prin intermediul unui sept transversal, la formarea caruia participa peretele bacterian si membrana citoplasmatica.

Urmeaza apoi o gatutura la nivelul peretelui bacterian care in final separa cele doua celule fiice, identice prin toate caracterele lor cu celula parentala.

Uneori, separarea peretelui nu se face complet, incat cele doua celule fiice raman unite, in perechi lanturi sau gramezi care determina la bacterii asezari caracteristice in raport cu planul de diviziune (ciorchine de strugure la stafilococ, lanturi la streptococ, diplococi-pneumococ, gonococ).

De asemenea, daca se surprinde o bacterie in plina diviziune, ea poate apare cu doi sau patru nuclei deoarece septurile transversale nu s-au separat complet pentru a elibera celulele fiice.

Un alt mod de multiplicare a microorganismelor, mai rar intalnit la bacterii este prin:

2. **inmugurire**, mod de inmultire specific levurilor, cand celulele fiice au tendinta sa ramana atasate de celula-mama, sau prin

3. **ramificare**, ca in cazul actinomicetelor.

Unii autori considera fenomenul de conjugare la bacterii, un mod de reproducere sexuata, deoarece in fenomenul de conjugare, prin cuplarea celor doua bacterii are loc **recombinarea genetica** a nucleului (cromozomului). De fapt, nu este vorba de o veritabila inmultire, urmata de cresterea numerica a bacteriilor, deoarece din doua celule bacteriene rezulta tot doua celule, dar cu caractere modificate; este de fapt un transfer de informatie genetica, de exemplu pentru dobandirea rezistentei fata de un antibiotic.

In concluzie, mecanismul de multiplicare cel mai frecvent si mai obisnuit la bacterii este prin diviziune directa.

Fazele in care se desfasoara multiplicarea bacteriilor. Dupa insamantare si in intervalul cat stau la termostat, bacteriile nu se dezvoltă imediat, ba chiar unele din ele mor in procesul de adaptare la noile conditii de

viata, incat, la inceput, cultura nu este vizibila pe mediul insamantat, aceasta perioada de acomodare sau de latentă a bacteriilor, poarta numele de:

1. **Faza de “lag”** si este diferita in raport cu:

- a. specia microbiana (3 ore la bacilul tific, cateva zile la bacilul Koch);
- b. calitatea nutritiva a mediului;

c. in raport cu provenienta bacililor din inocul. Daca inoculul provine dintr-un produs patologic acut sau o cultura proaspata, bacteriile fiind intr-o faza activa de metabolism se vor acomoda repede noilor conditii de mediu si vor prezenta o perioada de lag relativ scurta (in raport cu specia). Daca inasa, bacteriile provin dintr-un proces cronic, o cultura veche sau sporulata, perioada de lag, de acomodare, va fi ceva mai lunga, cu atat mai mult cu cat in acel inocul, poate exista un procent veritabil de bacterii moarte.

Totusi, in aceasta perioada, exista o activitate celulara intensa in sensul unei cresteri a bacteriei si elaborare de enzime adaptative.

2. **Faza de accelerare** se caracterizeaza prin faptul ca bacteriile, dupa ce si-au elaborat enzimele adaptative, incep sa se multiplice, iar numarul lor creste treptat. Aceasta faza dureaza aproximativ 2 ore.

3. **Faza exponentiala** sau de multiplicare logaritmica (“log”) dureaza pentru majoritatea bacteriilor 8-10 ore, interval in care inmultirea bacteriilor este maxima, in progresie geometrica cu ratia 2. Aceasta faza reprezinta etapa cea mai importanta in procesul de multiplicare al bacteriilor, deoarece noile generatii care se succed la un interval de 20-30 min prezinta caracterele cele mai pregnante ale speciei si sunt deosebit de sensibile la actiunea antisepticelor, chimioterapicelor si antibioticelor.

Aceasta faza de multiplicare intensa a bacteriilor, care variaza in raport cu specia, in general, in jur de 10 ore (2-3 saptamani la bacilul tuberculozei) se termina odata cu epuizarea substantelor nutritive din mediu.

4. **Faza stationara** sau de incetinire a ritmului de crestere. In aceasta perioada multiplicarea este minima; numarul bacteriilor in cultura ramane aproape constant, multiplicarea fiind contrabalansata de numarul bacteriilor care mor din cauza epuizarii si prin acumularea de produși toxici de catabolism.

5. **Faza de declin**. In aceasta perioada inceteaza complet multiplicarea si treptat scade numarul bacteriilor din mediu, din acelasi motiv, de epuizare a substantelor nutritive si acumularea tot mai accentuata a produsilor de catabolism care sunt toxici pentru celula bacteriana. In aceasta perioada apar fenomene de imbatranire a bacteriei cu modificari morfologice foarte polimorfe sau neobisnuite, “aberante”, datorita deficientelor de sinteza a peretelui bacterian.

In unele cazuri, in culturi mai vechi (5-6 zile) survin procese de “autoliza microbiana” foarte accentuate; in cazul culturilor de gonococ, meningococ, aceste modificari survin chiar dupa 24-48 de ore, incat la final se produce “autosterilizarea culturii”.

Pentru a evita acest lucru, culturile microbiene sunt reluate si studiate dupa primele 24 ore de cultivare, cand se practica “trecerea” sau “repicajul” culturii pe un mediu nou sau se mentine la frigider in scopul de

a opri bacteria din faza de multiplicare activa (pentru un interval de maximum 1-3 luni).

Culturile continui. Descrierea de mai sus a fazelor de multiplicare a unei culturi microbiene este valabila numai pentru conditiile obisnuite de laborator, cand bacteria se insamanteaza pe o cantitate limitata de mediu, care se epuizeaza repede, datorita ritmului rapid de multiplicare al bacteriilor.

Noile **industrii de preparare a medicamentelor** rezultate in timpul metabolismului bacterian (antibiotice, vitamine), precum si in scopul prepararii unor vaccinuri pe scara industrială, au necesitat utilizarea culturilor continui. Acest lucru se realizeaza in prezent cu ajutorul unor aparate speciale numite si **chemostate**, in care culturile microbiene sunt mentinute un timp indelungat in faza de multiplicare exponentială, deoarece in mod continuu se introduce in aparat, dupa nevoie, mediu proaspăt, oxigen sau bioxid de carbon, in raport cu exigentele fiecărei specii de microorganisme. In acest fel, prin innoirea mediului si eliminarea substantelor toxice se reuseste un randament maxim si de buna calitate a produsului de metabolism a microorganismului care intereseaza productia. Chemostatele moderne, pe baza unei celule foto-electrice, inregistreaza turbiditatea culturii microbiene care trebuie mentinuta constanta, dupa care comanda aportul de mediu nou cand turbiditatea este prea accentuata sau, dimpotriva, incetinesc acest aport, cand densitatea culturii este diminuata.

Aspectul macroscopic al culturilor microbiene. Prin inmultire, bacteriile modifica vizibil substratul in care traiesc, incat:

- mediul lichid poate fi tulburat de numeroase bacterii (stafilococ, pneumococ, enterobacterii etc.);
- poate prezenta depozit la fundul eprubetei (pulverulent, gleros, floconos: streptococ, bacteridie carbunoasa);
- pelicula la suprafata (piocianic, b.subtilis, b.Koch);
- inel la suprafata (b.coli).

Pe mediul solid cultivarea bacteriilor se traduce prin aparitia unor formatiuni vizibile numite colonii, fiecare colonie fiind rezultatul multiplicării unei singure bacterii. Timpul de aparitie si forma coloniilor vaziaza in raport cu mediul de cultura si specia bacteriana.

In general, pentru toate bacteriile, coloniile se pot prezenta sub doua aspecte, "S" si "R". Coloniile "S" (smooth = neted) se observa la majoritatea bacteriilor saprofite sau patogene la izolarea lor din organism sau in culturi proaspete (18-24 ore). Ele se caracterizeaza prin faptul ca sunt netede, lucioase, bombate, cu marginile regulate, usor emulsionabile in ser fiziologic, in care formeaza o suspensie omogena, opalescenta.

De obicei, bacteriile in aceasta faza prezinta toate caracterele specifice speciei, inclusiv cele de patogenitate. Coloniile difera in raport cu specia microbiana in ceea ce priveste dimensiunea, transparenta sau eventual, culoarea. Unele specii determina colonii pigmentate: stafilococul, sarcina, azotobacter, alte specii elaboreaza un pigment difuzibil, care coloreaza mediul de cultura, de exemplu: b.piocianic.

Odata cu imbatranirea culturii sau interventia asupra bacteriei *in vitro* sau in organism a unor factori nefavorabili, cu actiune antibacteriana: antiseptice,

chimioterapice, antibiotice, bacteriofag, pot surveni modificari ale bacteriei, care se traduc prin aparitia unor colonii de tip "R" (rough = rugos); aceste colonii sunt turtite, cu suprafata aspra, rugoasa, mata, cu marginile crenelate si greu emulsionabile in ser fiziologic.

Asadar, aceeasi specie bacteriana, in conditii diferite de viata poate sa prezinte colononii "S" sau sa disocieze si sa prezinte in alte conditii colonii de tip "R". In acest caz, cultura microbiana are de obicei modificari profunde, in special in structura antigenica si, in consecinta, este adesea mai putin virulenta sau chiar avirulenta.

De la aceasta regula generala in care se incadreaza majoritatea bacteriilor, exista doar cateva exceptii, si anume: bacilul Koch, bacteridia carbunoasa si bacilul difteric, cultiva in mod obisnuit sub forma de colonie "R", care reprezinta forma lor virulenta, iar atunci cand disociaza, se transforma in colonii de tip "S", caz in care prezinta o virulenta mult atenuata.

Fenomenul de disociatie "S-R" este reversibil in sensul ca bacteria de tip "R", inoculata la animalul sensibil, sau pusa in conditii speciale "in vitro" poate reveni la forma virulenta "S" prin selectarea elementelor bacteriene de tip "S", dintre majoritatea bacteriilor degradate de tip "R".

BIBLIOGRAFIE

1. BURROWS Ph.D.: Textbook of microbiology, W.B.Saunders Company, Philadelphia and London, 1964, pp 121-205.
2. CIUCA M., NESTORESCU N., POPOVICI M.: "Elemente de bacteriologie medicala aplicata", Bucuresti, 1957, vol.1, pp 164-219.
3. CRUICKSHANK R.: Medical microbiology, E.S.Livingstone Limited, Edinburgh and London, 1965, pp.31-40.
4. DUBOS J.R., JAMES G., HIRSCH: Bacterial and Mycotic Infections of Man. Pitman Medical Publishing Ce , LTD, London, 1965, pp.89-119.
5. DUCA EUGENIA: Curs de microbiologie, vol.I, Iasi 1973, pp.90-100.
6. SENEZ J.C.: Microbiologie generale, Ed.Doin, 1968, Paris, pp.189-237.
7. ZARNEA G.: "Microbiologie generala", Editura Didactica si Pedagogica Bucuresti, 1970, nr.167-211.
8. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 3

4. Antibiotice, chimioterapice, sulfamide; mecanisme de actiune si de rezistenta

A. Antibioticele (AB) și chimioterapicele antimicrobiene reprezintă un grup de medicamente capabile să suprimă dezvoltarea și multiplicarea unor microorganisme și chiar să le distrugă. Antibioticele sunt substanțe antimicrobiene produse de diferite specii de microorganisme (bacterii, fungi, actinomicete) care posedă proprietăți bactericide sau bacteriostatice. Astfel penicilinele și cefalosporinele sunt extrase din ascomicete (fungi din genul *Penicillium*). Aminoglicozidele, macrolidele, tetraciclinele, cloramfenicolul, lincomicinele sunt extrase mai ales din actinomicete (genul *Streptomyces*). Unele bacterii din genul *Bacillus* produc polimixinele și bacitracina.

Chimioterapicele antimicrobiene sunt substanțe chimice preparate prin sinteză și sunt alăturate grupului antibioticelor datorită efectelor similare acestora. În momentul de față, **delimitarea netă a acestor două categorii de substanțe antimicrobiene utilizate în terapeutică nu mai este nici posibilă și nici justificată**. Datorită progreselor științifice și tehnologice multe dintre aceste substanțe sunt obținute industrial prin sinteză sau semisinteză chimică. **Obținerea unui produs terapeutic antimicrobian pe cale biologică, prin extracție sau prin sinteză industrială este dictată doar de rentabilitatea metodei**. Din aceste motive ne însușim punctul de vedere al Prof. Angelescu și vom folosi termenul de antibiotic pentru toate substanțele terapeutice cu acțiune antimicrobiană iar pentru a defini utilizarea lor în practica medicală vom folosi termenul de **antibioticoterapie**. Delimităm termenul de antibiotic de substanțele cu acțiune antivirală, antiparazitară și de substanțele dezinfectante.

Clasificare Antibioticele sunt clasificate după mai multe criterii fără ca nici unul dintre acestea să fie exhaustiv. Cele mai cunoscute criterii de clasificare se bazează pe: finalitatea acțiunii, structura chimică, spectrul de acțiune. Antibioticele acționează asupra microorganismelor selectiv. Acest concept trebuie înțeles în sens relativ, eficacitatea unui antibiotic fiind dependentă de mai mulți factori: caracteristicile microorganismului, particularitățile organismului gazdă, efectul medicamentului în organism.

B. Mecanisme de acțiune Principalele mecanisme prin care substanțele antimicrobiene acționează asupra organismului sunt:

- blocarea sintezei peretelui celular bacterian (peniciline, cefalosporine, vancomicina, bacitracina, imidazolii);
- alterarea permeabilității membranei celulare (polimixina, colistinul, antifungice polienice);
- inhibarea subunităților ribozomale 30S sau 50S cu blocarea reversibilă a sintezei proteinelor (cloramfenicolul, tetraciclinele, macrolidele);
- blocarea unității ribozomale 30S cu alterarea ireversibilă a sintezei proteinelor bacteriene (aminoglicozide);

-afectarea metabolismului acizilor nucleici prin inhibarea ARN polimerazei ADN dependentă (rifampicina) sau prin inhibarea ADN girazei (chinolonele);
 -blocarea unor mecanisme metabolice (antimetaboliți: sulfonamidele, trimetoprimul).

Blocarea sintezei peretelui celular bacterian Bacteriile sunt clasificate în bacterii grampozitive și bacterii gramnegative în funcție de tinctorialitatea lor față de colorația Gram și care se datorează structurii diferite a peretelui bacterian. Bacteriile gram-pozitive au peretele celular alcătuit din peptidoglican, acid teichoic sau acid teichuronic. Peretele bacteriilor gram-negative este mai complex din punct de vedere structural, fiind alcătuit din peptidoglican, lipopolizaharide, lipoproteine, fosfolipide și proteine. Antibioticele care acționează prin acest mecanism sunt β -lactaminele (peniciline, cefalosporine, carbapenemi, monolactaminele), vancomicina și bacitracina. Antibioticele care acționează prin blocarea sintezei peretelui bacterian acționează în fapt la nivelul sintezei stratului de peptidoglican. Stratul de peptidoglican are rol în menținerea formei celulare și a rezistenței celulare mai ales la germenii grampozitivi, permițându-le să reziste în mediul hipoton.

Sinteza peptidoglicanului cunoaște mai multe etape: în prima etapă are loc sinteza precursorilor de peptidoglican sau a subunităților de peptidoglican, proces care se produce la nivelul citoplasmei. Unele antibiotice cum ar fi fosfomicina și cicloserina blochează unele enzime cum ar fi D-alanil – D-alanin- sintetaza care are afinitate mai mare pentru antibiotice decât pentru D-alanina care intră în componența peptidoglicanului. În etapa a II-a are loc polimerizarea subunităților precursore și atașarea acestora de peptidoglicanul deja existent în peretele bacterian. Procesul implică acțiunea unor transpeptidaze care au proprietatea de a lega penicilina și sunt cunoscute sub numele de “proteine care leagă penicilina” PBP (penicillin-binding-protein). Sunt cunoscute 6 clase diferite de PBP care sunt diferit distribuite la germenii gram-pozitivi, gramnegativi și la anaerobi.

Unele antibiotice acționează selectiv, legându-se numai de anumite PBP. De exemplu, mecilinamul (amidino-penicilină) nu are afinitate pentru PBP bacteriilor gram-pozitive, aztreonamul se leagă doar de PBP bacteriilor gram-negative, monobactamii inhibă doar bacilii gramnegativi aerobi etc. Vancomicina, care nu este betalactamină, acționează prin mecanism multiplu, la nivelul tuturor etapelor sintezei peptidoglicanului, inclusiv în faza de transport și polimerizare la nivelul peretelui bacterian. Datorită acestui mecanism complex de acțiune vancomicina este un antibiotic extrem de valoros în tratamentul infecțiilor cu stafilococi și enterococi rezistenți la betalactamine. Bacitracina interferează cu transportul subunităților de peptidoglican la nivelul peretelui bacterian al celulei în creștere.

Antibiotice care acționează la nivelul membranei citoplasmatică Membrana citoplasmatică acționează ca o barieră selectivă participând activ la transportul apei, ionilor, substanțelor nutritive și controlând compoziția mediului intracelular. Membrana este o structură lipidică bistratificată, străbătută de proteine globulare distribuite la întâmplare. Există antibiotice care pot interfera cu funcțiile membranei citoplasmatică. Acestea pot fi definite ca agenți

cationici, anionici sau neutri. Cel mai bine cunoscut mecanism de acțiune este acela al polimixinei B și al polimixinei E. Ele acționează competitiv cu cationii de Mg^{2+} și Ca^{2+} pe care îi înlocuiesc din grupările fosfat ale lipidelor din componența membranei, proces care este urmat de dezorganizarea membranei, alterarea permeabilității acesteia și ieșirea din celulă a cationilor și aminoacizilor. Datorită toxicității lor polimixinele au o întrebuințare extrem de redusă și mai ales în tratamente topice. În tratament oral colistina este indicată în infecții digestive cu germeni sensibili, cu mențiunea că nu se absoarbe. Polimixinele nu au acțiune pe bacteriile gram-pozitive.

Antibioticele polienice au acțiune specifică la nivelul membranei fungilor care se deosebește de cea a bacteriilor prin conținutul ei în steroli. Antibioticele polienice sunt alcătuite dintr-un segment hidrofob și unul hidrofil. La nivelul membranei fungice din interacțiunea cu polienele se formează un complex “membrană-polienă” la nivelul căruia se produc: acidifierea mediului, pierderea de K^+ și de glucide din structura agentului infecțios, urmate de moartea celulară. Amfotericina B este singurul reprezentant al acestei clase de antibiotice cu utilizare sistemică. Alte antibiotice cum ar fi nistatina sunt numai de uz topic. Tot la nivelul membranei citoplasmatică acționează și imidazoli (miconazol, ketoconazol, clotrimazol, fluconazol) care interferează sinteza membranelor lipidice ale fungilor, mai precis ele inhibă formarea ergosterolului din structura membranelor dar pot acționa și direct pe membrană pe care o pot leza.

Inhibiția sintezei acizilor nucleici Antibioticele care interferează sinteza acizilor nucleici acționează la diferite nivele ale acestui proces extrem de complex. Unele pot inhiba sinteza nucleotidelor și interconversia lor; altele pot împiedica ADN să funcționeze ca matrice sau pot interfera cu acțiunea polimerazelor implicate în replicarea și transcripția ADN-ului bacterian. Sinteza nucleotidelor este influențată de agenți terapeutici din clasa antifungicelor și a antiviralelor. Astfel flucitozina (5-fluorocitozina) este convertită la nivelul celulei fungice în 5-fluorouracil care inhibă timidilat sintetaza urmată de deficit de nucleotizi timinici și deficiențe în sinteza de ADN. Acyclovirul acționează ca un analog pentru nucleozide și transformat în trifosfat inhibă timidinkinaza și ADN polimeraza virusurilor herpetice. Zidovudina (AZT) acționează la nivelul reverstranscriptazei virusului imunodeficienței umane, blocând replicarea virală. Clorochina și miracid D au capacitatea de a se intercala în structura ADN-ului microbial și de a inhiba sinteza unor noi lanțuri de acid nucleic, blocând creșterea și dezvoltarea plasmodiilor și respectiv a schistosomelor.

Inhibarea ADN-polimerazei-ADN dependentă este un mecanism prin care acționează rifampicina. Rifampicina realizează o legătură puternică la nivelul unei subunități a ARN-polimerazei care are rolul de a se fixa pe situsurile specifice ale ADN-ului, aceasta fiind urmată de blocarea polimerizării.

Un alt nivel la care antibioticele pot acționa este acela al **inhibării replicării ADN-ului microbial**. În replicarea acestuia un rol determinant îl au ADN-giraza și topoizomeraza I. Aceste enzime acționează împreună pentru a menține ADN-ul supraspiralată. ADN giraza are rolul de a controla supraspiralarea și despiralarea ADN-ului în timpul replicării cromozomilor bacterieni. Chinolonele au capacitatea de a se lega de complexul girază-ADN care se

formează în cursul replicării ceea ce duce la blocarea sintezei acizilor nucleici și la moartea celulei. Noua generație de chinolone – fluorochinolonele – acționează la nivelul ADN-girazei și au un spectru larg antimicrobian, acțiunea lor fiind bactericidă.

Nitroimidazoli (metronidazolul) inhibă protozoarele și bacteriile anaerobe. Mecanismul de acțiune la nivelul germenilor anaerobi constă în **reducerea medicamentului de către o enzimă specifică** anaerobilor, ferredoxina. Metabolitul astfel format are proprietatea de a se lega de lanțurile de ADN pe care le fragmentează. Celulele mamiferelor nu sunt afectate deoarece ele nu conțin enzima transportoare și reducătoare a nitroimidazolilor.

Inhibarea sintezei de proteine Antibioticele din acest grup acționează selectiv asupra ribozomilor bacterieni, inhibând sinteza proteinelor. Specificitatea acțiunii la nivel microbial se bazează pe faptul că ribozomii bacterieni sunt de tip 70S pe când cei ai mamiferelor sunt de tip 80S; Ribozomii bacterieni au două subunități, 30S și 50S care constituie ținta antibioticelor. Acest mecanism de acțiune este specific mai multor agenți antimicrobieni, diferiți din punct de vedere structural: aminoglicozidele, tetraciclina, cloramfenicolul, macrolidele, lincomicina.

Aminoglicozidele sunt din punct de vedere structural un zahăr aminat atașat printr-o legătură glicozidică de un aglicon, care poate fi aminociclitol (oligozaharide) sau un diaminociclitol (aminoglicozide). Primul aminoglicozid folosit în terapeutică a fost streptomicina, a cărei utilizare este practic de domeniul trecutului. Se mai folosește doar în tratamentul tuberculozei. Streptomicina acționează la nivelul subunității ribozomale 30S unde se leagă de proteina 12S, ceea ce duce la “citirea eronată” a codului genetic de către ribozom. Aminoglicozidele mai noi, gentamicina, tobramicina, amikacina, se leagă în plus și de proteina L6 a subunității ribozomale 50S. Acest lucru are o semnificație deosebită mai ales la bacteriile care dezvoltă rezistență prin blocarea acțiunii antibioticului la nivelul unei din subunitățile ribozomale. Aceasta se produce cel mai frecvent prin deleția proteinei 12S de la nivelul subunității 30S. Aminoglicozidele acționează și la alte nivele ale sintezei proteinelor. Ele blochează activitatea complexului de inițiere pentru formarea peptidelor (ARN mesager + formilmetionină + ARN de transfer). Aminoglicozidele pot induce “citirea eronată” a informației purtată de ARN-ul mesager ceea ce duce la inserția unor aminoacizi necorespunzători și sinteza unor proteine nefuncționale.

Spectinomicina este structural înrudită cu aminoglicozidele (aminociclitol) care se leagă la nivel ribozomal de o proteină diferită și are acțiune bacteriostatică.

Tetraciclina acționează la nivelul subunității 30S prin blocarea atașării aminoacil-ARN de transfer de ribozom și inhibarea sintezei proteinelor. Mecanismul este blocat reversibil de către antibiotic, ceea ce explică efectul bacteriostatic al acestuia. Acțiunea tetraciclinelor se extinde și asupra chlamidiilor și micoplasmelor. La nivelul subunității 50S acționează trei clase de antibiotice: cloramfenicolii, macrolidele și lincosamidele.

Cloramfenicolul este un antibiotic cu acțiune bacteriostatică, activ atât pe germenii grampozitivi cât și pe cei gramnegativi. Blochează peptidiltransferaza, ceea ce împiedică formarea legăturilor peptidice la nivelul subunității ribozomale 50S.

Macrolidele acționează prin inhibarea sintezei ribozomale la nivelul subunității ribozomale 50S de care se leagă și blochează reacțiile de transpeptidare și de translocație. Acțiunea lor este bacteriostatică dar în concentrații înalte pot avea acțiune bactericidă. O particularitate este concentrarea lor de o sută de ori mai mult în bacteriile grampozitive față de cele gramnegative. Eritromicina este reprezentantul clasic al acestei clase de antibiotice, fiind caracterizată de un spectru larg, mai ales germenii grampozitivi, dar fiind activă și pe specii gramnegative cum ar fi *Haemophilus*, *Mycoplasma*, *Chlamydia* și *Legionella*. Noile macrolide, azitromicina și claritromicina, sunt mai active decât eritromicina, având însă același spectru de acțiune.

Lincosamidele, dintre care clindamicina s-a impus în practica terapeutică, acționează prin același mecanism ca și macrolidele.

Inhibarea unor mecanisme metabolice (antimetaboliții) Acest mecanism este specific sulfamidelor și trimetoprimului.

Sulfamidele sunt derivați de acid paraaminobenzoic (paraaminobenzen sulfonamida) iar trimetoprimul este un compus diaminopirimidinic. Acidul paraaminobenzoic este un factor de creștere bacteriană. Sulfamidele acționează ca analogi structurali ai acidului paraaminobenzoic, astfel încât este blocată utilizarea acestuia la sinteza acidului folic. Sulfamidele substituie acidul paraaminobenzoic, formarea acidului dihidroptericoic, precursor al acidului folic, este blocată. Acidul folic este utilizat de celula bacteriană la sinteza purinelor, a proteinelor.

Trimetoprimul acționează prin blocarea reducerii dihidrofolatului în tetrafolat.

Datorită sinergismului acțiunii lor trimetoprimul a fost asociat cu o sulfamidă, sulfametoxazolul, formând un compus antimicrobian eficace, cel puțin la început, **cotrimoxazolul**. Selectivitatea acțiunii acestor substanțe este dată de capacitatea celulei mamifere de a asimila acidul folic din surse exogene spre deosebire de celula microbială care trebuie să-l sintetizeze. Trimetoprimul nu inhibă dihidrofolat reductaza umană decât în concentrații extrem de mari.

Administrarea antibioticelor Administrarea antibioticelor trebuie să țină cont de principiile pe care M.G. Balș le-a formulat:

- să se administreze numai antibiotice active pe germenii incriminați;
- antibioticele nu sunt active pe țesuturi devitalizate, necrozate, puroi, sfacele;
- nu scad febra postoperatorie, din neoplasme, de natură centrală, din viroze;
- antibioticele nu au acțiune pe virusuri, nu previn suprainfecțiile bacteriene;
- infecțiile locale (cu puroi, sfacele, necroze) și din cavitățile naturale nu pot fi asanate complet numai prin antibioticoterapie; este necesar tratamentul local, chirurgical, de drenare și aseptizare; antibioticele au în cele mai multe cazuri un rol adjuvant.

Având în vedere cele mai sus expuse momentul inițierii tratamentului antibiotic trebuie să țină cont de următoarele situații:

- în stări infecțioase grave instituirea tratamentului antimicrobian se face imediat, pe criterii statistice de probabilitate (diagnostic clinic și bacteriologic prezumtiv), urmând a fi reconsiderată ulterior;
- dacă tratamentul poate fi temporizat (infecții cu evoluție benignă sau comună), se vor aștepta și alte date clinice și paraclinice sugestive, precum și confirmarea bacteriologică (pielonefrite, infecții urinare cronice etc.).

Alegerea antibioticului Alegerea antibioticului trebuie să țină seama de următoarele reguli:

- antibioticul ales trebuie să fie activ pe germele responsabil de infecția în cauză; inițial alegerea antimicrobianului este bazată pe criterii de probabilitate, ulterior după obținerea datelor paraclinice și în funcție de evoluția bolii acesta poate fi schimbat. În principal, ca principiu de bază antibioticul se schimbă doar dacă evoluția clinică și datele de laborator indică ineficacitatea acestuia;
- antibioticul trebuie ales în funcție de calitățile sale farmacologice (absorbție, repartiție și difuziune în țesuturi, metabolism și eliminare) și de tipul și localizarea infecției sistemice, digestive, urinare, meningiană, osoasă). Aceste informații sunt esențiale în conduita terapeutică permițând clinicianului să monitorizeze tratamentul astfel încât la locul infecției să se realizeze concentrații eficiente de antibiotic. Monitorizarea se bazează pe determinarea concentrației minime inhibitorii sau a concentrației minime bactericide;
- antibioticul ales trebuie să fie cât mai puțin toxic, cât mai bine tolerat și să nu aibă contraindicații la pacientul tratat. Se evaluează starea generală a pacientului, existența unor stări fiziologice sau patologice particulare (sarcină, alăptare, diabet, neoplazii, stări alergice), tratamente asociate care influențează răspunsul pacientului la infecții (citostatice, radioterapie, corticoterapie etc.).

Asocierile de antibiotice reprezintă una dintre cele mai importante probleme ale utilizării acestor substanțe medicamentoase. Dificultățile constau în utilizarea judicioasă și alegerea acelor asocieri optime fiecărui caz în parte. Regula generală în utilizarea antibioticelor este aceea a **monoterapiei**, cu tratament țintit, utilizându-se un antibiotic cu spectru cât mai îngust. Cu toate acestea există situații în care se impune asocierea de antibiotice. Aceste situații sunt:

- septicemii, endocardite bacteriene, bronhopneumonii grave, empieme, peritonite, meningite otogene cu etiologie multiplă sau generate de germeni **multirezistenți la antibiotice**; asocierea se face în scopul acoperirii cât mai largi a spectrului bacterian; se recomandă până la obținerea rezultatelor microbiologice (**antibiograma**) care permit un tratament țintit;
- tratamentul tuberculozei necesită utilizarea unor asocieri de antibiotice cu efect bactericid;
- tratamentul supurațiilor cronice (pulmonare, osoase, profunde) inabordabile chirurgical, în scopul sterilizării focarelor și în măsura în care este posibilă, împiedicarea apariției mutantelor microbiene rezistente la tratament;
- profilaxia infecțiilor la pacienți cu risc înalt de infecție cu germeni de spital sau cu etiologie multiplă: (imunodeprimați, tratamente cu imunosupresoare, intervenții chirurgicale laborioase, politraumatizați etc).

Insuccesul în tratamentul antimicrobian intervine atunci când cel puțin unul din factorii enumerați mai jos se manifestă:

- agentul microbial manifestă o virulență mare sau este rezistent la antibioticul utilizat sau dezvoltă forme L sau persisteri;
- diagnosticul de laborator microbiologic a fost viciat de prelevarea, transportul sau prelucrarea incorectă a probelor biologice;
- starea generală sau particularitățile bolnavului, evoluția bolii sau a afecțiunilor asociate nu permit realizarea tratamentului adecvat sau pun organismul în imposibilitate de a răspunde adecvat la tratament;
- tratamentul antimicrobian nu este inițiat și condus corect din punct de vedere al regulilor generale ale antibioticoterapiei. Astfel, eludarea diagnosticului microbiologic, indicații nejustificate din punct de vedere al etiologiei bolii, ignorarea proprietăților farmacologice ale antibioticului, dozarea greșită și o posologie incorectă sunt dintre cele mai frecvente cauze ale eșecului terapeutic și nu în ultimul rând al apariției tulpinilor multirezistente la antibiotice.

Suprainfecția microbială Terapia antimicrobiană are drept efect secundar distrugerea florei microbiene saprofită și comencală, localizată la nivelul mucoaselor orală, genitourinară și la nivelul tractului digestiv. Tratamentul are drept urmare selectarea florei microbiene rezistentă la antibioticul administrat. În aceste circumstanțe are loc o exacerbare a acestei flore cu invadarea segmentului anatomic respectiv și apariția semnelor de suprainfecție. Efectul este cu atât mai evident în serviciile clinice unde are loc selecționarea unei flore rezistente și multirezistente la antibioticele utilizate cu preponderență. De cele mai multe ori are loc o diseminare plasmidică a acestor germeni, unii dintre ei reductibili agenți parogeni, responsabili de patologia nosocomială: *Enterococcus*, *Pneumococcus*, *Staphilococcus aureus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Enterobacter* etc. Problema este deosebit de importantă datorită aspectelor clinice, terapeutice și epidemiologice prezentate și este în centrul mecanismului infecțiilor nosocomiale.

Profilaxia cu antibiotice este un domeniu plin de abuzuri și controverse cu privire la utilitatea, în acest scop a tratamentului antimicrobian. Există indicații general acceptate ca esențiale, cum ar fi profilaxia malariei, a infecțiilor streptococice și a sindroamelor tardive post streptococice; indicațiile de necesitate sunt justificate de riscul unor izbucniri epidemice, cum ar fi epidemile de holeră, pestă, meningita meningococică etc.

În chirurgie, unde se practică cel mai frecvent profilaxia cu antibiotice, indicațiile sunt destul de controversate. Justificată este administrarea în: traumatisme craniene deschise, politraumatisme, fracturi deschise, arsuri, intervenții pe colon, intervenții ginecologice și urologice; chirurgia toracică și cardiovasculară sunt considerate ca indicații pertinente.

Studii clinice au demonstrat că profilaxia cu antibiotice este eficientă în unele situații și este inutilă dacă nu chiar dăunătoare în alte situații. Astfel Ebner și colaboratorii observă că administrarea de antibiotice în vederea decontaminării tubului digestiv de flora microbială nu are efectele scontate. Meier abordează profilaxia infarctului de miocard cu antibiotice, bazându-se pe supoziția că unele infecții cu *Chlamydia pneumoniae* la aterosclerotici cresc

riscul de infarct de miocard. Studiul sugerează un oarecare efect protectiv al tratamentului cu fluorochinolone orale sau cu tetraciline, dar în concluzie administrarea profilactică în aceste cazuri nu este, după opinia autorului, recomandată. Analizând eficiența antibioticoprofilaxiei în chirurgia cardiovasculară Harbarth și colab. observă că profilaxia prelungită cu antibiotice nu reduce rata apariției infecției la nivelul plăgii chirurgicale; în plus este raportată creșterea riscului de apariție a rezistenței microbiene la antibiotice.

Un studiu efectuat de Palmer și colab. privind eficiența administrării **profilactice** a antibioticelor în practica stomatologică în Anglia relevă că într-o proporție semnificativă medicii stomatologi recomandă antibiotice în scop profilactic într-un mod eronat, atât pentru proceduri chirurgicale cât și pentru tratamente dentare comune. Se evidențiază că într-o proporție alarmantă, peste 60% din situații, recomandările se fac fără ca pacienții să prezinte nici cel mai mic risc de infecție sau antecedente infecțioase recente. Analizând eficiența administrării profilactice a antibioticelor la pacienții în stare critică, pentru reducerea riscului de infecții pulmonare, D'Amico raportează efectele salutare în profilaxia infecțiilor pulmonare, cu o reducere semnificativă a ratei acestora. Interesant este că la pacienții în stare gravă, cu afectare pulmonară severă, administrarea de antibiotice nu reduce rata mortalității. Profilaxia cu antibiotice poate fi aplicată în chirurgia colonului, unde riscul de infecții este înalt. În chirurgia generală unde se așteaptă ca incidența infecțiilor să fie mai mică de 5%, antibioticele trebuie evitate. O motivație pentru administrarea profilactică a antibioticelor o constituie chirurgia implantelor cardiace, ortopedice, de organe. Profilaxia cu antibiotice este recomandată și chiar necesară la pacienții neutropenici și imunodeprimați. La aceștia riscul infecțiilor oportuniste este extrem de ridicat. Profilaxia se face cu antibiotice bactericide, fungicide și virustactice: betalactamine (peniciline semisintetice, fără sau cu inhibitori de betalactamaze, imipenem), aminoglicozide, glicopeptide, fluoroquinolone, antituberculoase, antifungice sistemice (Fluconazol, Ketokonazol, Amfotericină) antivirale (Acyclovir, Ganciclovir, Foscarnet).

Inutilitatea administrării profilactice a antibioticelor este susținută și de Peled și colab. Studiul efectuat arată că administrarea profilactică a antibioticelor în chirurgia estetică și reconstructivă este cvasiprezentă în pofida tuturor celorlalte măsuri luate pentru reducerea riscului de infecție. Autorii, conform experienței personale, consideră că anumite stări patologice, cum ar fi diabetul zaharat, hipertensiunea arterială sau tratamente cu steroizi nu influențează negativ rata infecțiilor post intervenție, în condițiile unei pregătiri preoperatorii corecte, iar tratamentul profilactic antibiotic este inutil. Profilaxia cu antibiotice trebuie contraindicată în următoarele circumstanțe:

- suprainfecții bacteriene din cursul unor afecțiuni virale sau contaminări cu germeni diferiți;
- profilaxia de masă cu antibiotice, cu excepția unor situații deosebite: epidemii, dezastre, atacuri biologice sau bioterorism;
- la pacienții care primesc tratament imunosupresor sau la persoanele imunodeprimare;

-“acoperirea cu antibiotice” în timpul actului chirurgical, indiferent de natura și de amploarea acestuia;

DEZINFECTANTE ȘI ANTISEPTICE

Dezinfectantele și antisepticele sunt substanțe care permit distrugerea sau inactivarea microorganismelor, aflate în/pe țesuturi vii (antisepticele) sau pe obiecte (dezinfectantele). Spre deosebire de majoritatea antibioticelor, aceste substanțe antimicrobiene nu prezintă specificitate pentru microorganisme, afectând în egală măsură și celulele eucariote.

Mecanismele de acțiune sunt în general nespecifice (tabelul IV), implicând afectarea membranei celulare, a proteinelor citoplasmatică, a aparatului nuclear.

Tabel IV. Principalele mecanisme de acțiune ale dezinfectantelor și antisepticilor

LOCUL ACȚIUNII	SUBSTANȚA	MECANISMUL DE ACȚIUNE
Învelișul celular (perete, membrana externă)	Glutaraldehida	Legarea de proteine; scoaterea unor ioni din structuri (Mg^{2+}), eliberarea unor lipoproteine din structuri
Membrana citoplasmatică	Compușii cuaternari de amoniu Clorhexidina Fenolii	Alterarea membranei prin modificări ale straturilor fosfolipidice; Alterarea aminoacizilor; Alterarea sintezei lipidelor din structura membranei
Macromoleculele din structura celulară	Formaldehida Glutaraldehida	Legarea de proteine, de ADN și ARN
ADN-ul celular	Halogenii Oxidantele (peroxizii)	Inhibarea sintezei ADN-ului Ruperea punților aminice
Reacțiile oxidative	Halogenii Peroxizii	Oxidarea grupărilor tiol Formarea de radicali liberi ($\cdot OH$) care oxidează grupările tiol în enzime și proteine; alterarea grupărilor tiol din proteine și enzime
Grupările tiol	Argintul și compușii săi	Interacțiunea Ag^+ cu grupările tiol și alterarea structurii proteinelor și enzimelor

Eficacitatea dezinfectantelor și a antisepticilor se exprimă prin indicele fenolic (IF), adică raportul dintre concentrația de fenol și cea de dezinfectant sau

antiseptic care generează același efect antimicrobian ($IF > 100$ fiind considerat satisfăcător). În general, o acțiune de tip antiseptic presupune un efect de inactivare a germenilor, iar printr-o acțiune de tip dezinfectie se urmărește un efect de tip litic asupra microorganismelor. Se consideră că un antiseptic trebuie să inhibe o populație bacteriană în proporție de 99% iar un dezinfectant să distrugă germenii în proporție de 99,99%.

Definiții Dezinfectia este acțiunea de distrugere și îndepărtare a mării majorității a microorganismelor de pe suprafețe și obiecte, din aer, apă, alimente etc. cu mențiunea expresă că în urma acțiunii propriu-zise pot rămâne anumite microorganisme, mai ales spori, care însă în condițiile date nu ar pune în pericol starea de sănătate a pacienților. Metoda se adresează celei de a doua verigi a procesului epidemiologic, căilor și mecanismelor de transmitere a infecției.

Dezinfectia folosește un complex de metode și mijloace (mecanice, fizice, chimice) menite de a îndepărta sau distruge agenții patogeni sau condiționat patogeni prezenți în mediu și care pot genera infecții.

Dezinfectia este profilactică atunci când se urmărește îndepărtarea unor eventuali germeni (potabilizarea apei, pasteurizarea laptelui, prelucrarea alimentelor, dezinfectia în unitățile sanitare, colectivități etc.) și “**în focar**”, când acțiunea este îndreptată asupra unor germeni cunoscuți care sunt eliminați în mediu de către bolnavi sau purtători de germeni.

Eficacitatea dezinfectiei este influențată de numeroși factori: felul și nivelul contaminării microbiene, timpul de expunere la dezinfectant și concentrația utilizată, temperatura ambiantă, interacțiunea dintre dezinfectant și suportul material pe care se aplică etc. Centers for Diseases Control (CDC) din Atlanta, SUA a adoptat definițiile propuse de Asociația Profesioniștilor în Controlul Infecțiilor (Association of Professional in Infection Control):

-dezinfectie de nivel înalt: distrugerea tuturor microorganismelor, cu excepția sporilor unora dintre acestea;

-dezinfectie de nivel mediu (intermediar): se inactivează majoritatea germenilor, inclusiv *Mycobacterium tuberculosis*, unele virusuri și unii fungi, fără afectarea sporilor;

-dezinfectie de nivel scăzut: poate distruge marea majoritate a bacteriilor, virusurilor și fungilor dar nu are acțiune pe unii germeni rezistenți în mediu, cum ar fi bacilul Koch;

-curățarea: îndepărtarea diferitelor substanțe (praf, pământ, substanțe organice) de pe suprafețe; se realizează utilizând apă, detergenți, factori mecanici. Are rolul de a favoriza acțiunea substanțelor dezinfectante.

Antisepticele sunt acele substanțe cu acțiune antimicrobiană astfel condiționate să poată fi folosite prin aplicare externă pe tegumente și mucoase (158). Din punct de vedere structural dezinfectantele sunt extrem de variate. Pentru dezinfectie sunt utilizați: alcoolii, halogenii și compuși halogenați, aldehide, fenoli, compuși cuaternari de amoniu, peroxidul de hidrogen etc.

Principalele dezinfectante și antiseptice

Alcoolii Alcoolul etilic și alcoolul izopropilic sunt alcoolii care s-au impus în practică ca având o bună activitate dezinfectantă.

Alcoolii au o acțiune germicidă asupra bacteriilor, inclusiv asupra *M.tuberculosis*, asupra fungilor și virusurilor. Concentrația optimă la care acțiunea lor este germicidă este între 60–90%. Mecanismul de acțiune cel mai probabil este acela al denaturării proteinelor.

Deoarece nu acționează asupra sporilor nu este recomandată folosirea alcoolilor în locul sterilizării. De asemenea alcoolii nu au capacitatea de a pătrunde în structura materialelor cu structură organică densă, ceea ce îi face inutilizabili pentru dezinfectia de nivel înalt. Alcoolul izopropilic nu are acțiune asupra virusurilor hidrofile (ECHO, Coxsackie). Utilizarea alcoolilor trebuie limitată la dezinfectia termometrelor, a endoscoapelor din fibră optică, pentru dezinfectia ocazională a stetoscoapelor, aparatelor de ventilat manual. Datorită volatilității lor alcoolii au o perioadă de contact scurtă cu agenții infecțioși și nu au remanență pe suprafețele unde au fost aplicați. Efectul este mult mai bun dacă se procedează la imersia în alcool a obiectului ce trebuie dezinfectat.

Aldehidele Formaldehida este folosită atât ca dezinfectant cât și ca sterilizant chimic, în stare lichidă sau gazoasă. Forma cea mai utilizată este soluția apoasă de 37% formaldehidă bază, cunoscută și sub numele de formalină. Formalina are un bun efect germicid care se manifestă pe toate clasele de microorganisme: bacterii, virusuri, fungi, spori; este activă pe bacilul Koch. Ea inactivează microorganismele prin alchilarea grupărilor amino- și sulfhidril ale proteinelor și ale bazelor purinice. Datorită toxicității sale sunt necesare măsuri de precauție în utilizarea ei, știindu-se că formaldehida este potențial carcinogenă.

Formaldehida are un rol foarte important în prepararea vaccinurilor virale, prin capacitatea ei de a inactiva tulpinile vaccinale. Formaldehida a fost folosită pe scară largă la dezinfectia/sterilizarea echipamentelor folosite în hemodializă dar, după demonstrarea proprietăților carcinogene, utilizarea în acest scop a fost mult redusă; același lucru s-a întâmplat și în cazul dezinfectiei altor echipamente. Cu rezultate asemănătoare, formaldehida poate fi înlocuită cu glutaraldehida, substanțe clorigene, acid peracetic.

Glutaraldehida este o dialdehidă saturată utilizată pe scară largă ca sterilizant și ca dezinfectant sub formă de soluție apoasă a obiectelor din metal, sticlă, cauciuc sau material plastic. Soluția preparată inițial este acidă și nu are proprietăți sporocide. Pentru a se obține efectul maxim este necesar ca soluția să fie alcalinizată la un pH între 7,5 – 8,5. Soluția de glutaraldehidă gata preparată are o perioadă de utilizare destul de lungă, între 14 și 28 de zile. Utilizarea glutaraldehidei este larg răspândită datorită proprietăților ei:

- excelentă activitate germicidă;
- își păstrează calitățile biocide în prezența substanțelor organice (de exemplu ser bovin în proporție de 20%);
- nu are acțiune corozivă asupra cauciucului, materialelor plastice; nu afectează calitățile endoscoapelor, termometrelor etc.

Acțiunea germicidă se produce prin alchilarea grupărilor sulfhidril, hidroxil, carboxil și amino din structura microorganismelor. În urma acțiunii glutaraldehidei are loc alterarea structurii acizilor nucleici și a sintezei proteinelor microbiene.

Studii clinice au evidențiat capacitatea soluției de glutaraldehidă de a distruge oochisturile de *Cryptosporidium* după 30–60 min de contact.

Un aspect important în utilizarea glutaraldehidei este acela al asigurării unei concentrații minime eficiente.

Studii clinice au subliniat scăderea concentrației soluției de glutaraldehidă de la 2,4% la 1,5% în 10 zile de utilizare și scăderea de la 1% la 0,27% în 4 zile de reutilizare. Aceste studii au stabilit **concentrația minimă efectivă a soluției de glutaraldehidă la 1% dacă se urmărește obținerea unei dezinfectii de nivel înalt**. Pentru a se evita orice risc se consideră sigură concentrația de 1,5% pentru inactivarea micobacteriilor.

Glutaraldehida își regăsește utilizarea în spitale la dezinfecția de nivel ridicat a echipamentului medical: endoscoape, echipamente respiratorii, echipamente utilizate la dializa renală, la aparatele de anestezie, farmacie etc.

Halogenii și compușii halogenați

Clorul și compuși clorinați. Hipocloriții au fost foarte mult utilizați ca dezinfectante datorită efectului germicid asupra unei game largi de microorganisme, datorită prețului scăzut de cost și a acțiunii foarte rapide. Din păcate acțiunea lor corozivă supra obiectelor metalice, degradarea țesăturilor, și acțiunea iritantă asupra mucoaselor, au limitat mult utilizarea lor.

Acțiunea germicidă este datorată acidului hipocloros (HOCl) și este puternic influențată de pH-ul din mediu. În mediu bazic puterea germicidă scade prin formarea de ion hipoclorit (OCl⁻).

Cloraminele sunt derivați clorurați ai sulfonamidelor aromatice. În practică s-au impus cloramina B (clorsulfamida B) și cloramina T (clorsulfamida toluenului). Avantajul acestora față de hipocloriți este stabilitatea mai mare în mediu, cu prelungirea activității germicide. Dicloroisocianuratul de sodiu condiționat sub formă de tablete este de asemenea un dezinfectant activ care eliberează clorul treptat, cu acțiune comparabilă cu cea a hipocloriților dar cu durată prelungită și după unii autori chiar cu acțiune germicidă mai bună.

Mecanismul prin care clorul liber acționează asupra microorganismelor nu este încă elucidat. Se consideră că ar avea o acțiune de blocare a unor reacții enzimatică cu alterarea peretelui celular, denaturarea unor proteine citoplasmatică și inactivarea acizilor nucleici.

Iodul și iodoforii. Efectul germicid al iodului se bazează pe capacitatea acestuia de a penetra prin peretele celular și de a modifica structura proteinelor. Se descrie și alterarea acizilor nucleici și a acizilor grași. Se descrie o rezistență naturală la acțiunea germicidă a iodului la virusurile cu înveliș nonlipidic. La nivelul învelișului viral iodul atacă proteinele de suprafață și destabilizează acizii grași ai membranei prin reacția cu legăturile nesaturate ale carbonului.

Mecanismul de acțiune al iodului este destul de puțin studiat și cunoscut. Se presupune că iodul (I) penetrează rapid prin peretele celular și acționează la nivelul acizilor grași și al radicalilor liberi ai aminoacizilor, în particular cisteina și metionina.

Iodul în soluție apoasă sau alcoolică este rapid bactericid, fungicid, virulicid și sporicid. Utilizarea iodului poate fi urmată de iritația și de pătarea

tegumentelor pe care s-a aplicat dezinfectantul. De asemenea trebuie știut că soluția apoasă este instabilă din punct de vedere chimic.

Eliminarea acestor inconveniente în utilizarea iodului s-a obținut prin crearea iodoforilor.

Iodoforii sunt definiți ca acele combinații dintre iod și diferiții agenți solubilizanți utilizați pentru prepararea diluțiilor și care au rolul de a transporta și elibera iodul activ. Trebuie menționat că acțiunea fungică și sporicidă a iodoforilor este mai scăzută decât a tincturii de iod. Cei mai cunoscuți și utilizați iodofori sunt povidon-iodina și poloxamer-iodina, o combinație a iodului cu polivinilpirolidona. Acest produs dar și alți compuși compuși cu iod păstrează proprietățile germicide ale iodului dar sunt lipsiți de efectele negative ale acestuia: toxicitatea, acțiunea iritantă asupra mucoaselor și efectul coroziv asupra metalelor.

Agenții oxidanți

Peroxidul de hidrogen (apa oxigenată) Datele din literatură certifică proprietățile germicide ale apei oxigenate asupra tuturor claselor de microorganisme: bacterii, virusuri, fungi, spori, inclusiv bacilul Koch. Efectul apei oxigenate este potențat dacă aceasta este asociată cu acidul peracetic. Apa oxigenată este considerată un produs ecologic, utilizarea ei nefiind urmată de poluarea mediului înconjurător.

Mecanismul de acțiune se bazează pe proprietățile oxidative ale apei oxigenate. La nivelul celulei se formează radicali liberi hidroxil ($\cdot\text{OH}$) care interferează cu structurile esențiale ale celulei, proteine, lipide, acizi nucleici, pe care le alterează. În general activitatea este mai intensă la nivelul bacteriilor gram-pozitive decât la cele gram-negative. Prezența în componența celulei a peroxidazelor poate crește rezistența microorganismului la concentrații mai mici de dezinfectant.

În concentrație de 3-6% peroxidul de hidrogen este un dezinfectant eficient pentru suprafețe, lentile de contact, echipament folosit în respirația artificială etc. În concentrație de 25% peroxidul de hidrogen demonstrează calitate sterilizantă, similară cu ale soluției de 2% de glutaraldehidă. Pentru exprimarea efectului sporicid este necesară o concentrație în jurul a 30% și un timp de contact mai îndelungat. Utilizarea este mult limitată datorită proprietăților corozive ale produsului și a iritației la nivelul mucoaselor pe care poate produce.

Acidul peracetic sau acidul peroxiacetic în concentrații mici de 0,001%-0,2% este caracterizat de o acțiune rapidă asupra microorganismelor, inclusiv asupra sporilor. Un avantaj extrem de important este acela că produșii de descompunere nu au efecte nocive sau toxice și nu lasă reziduuri. Acțiunea dezinfectantă se păstrează și în prezența substanțelor organice; de asemenea, acțiunea sporicidă se manifestă și la temperaturi scăzute. Acidul peracetic, ca orice acid are acțiune corozivă, neajuns ce poate fi diminuat prin modificarea pH-ului sau prin adăugarea unor aditivi.

Mecanismul de acțiune a acidului peracetic este identic cu al celorlalți agenți oxidanți.

Asocierea acidului peracetic cu peroxidul de hidrogen este utilizată cu rezultate foarte bune în dezinfectia componentelor reutilizabile ale dializoarelor. Acidul peracetic este utilizat și în practica stomatologică. Acțiunea dezinfectantă este demonstrată asupra tulpinilor de *Bacillus subtilis* și *Clostridium sporogenes* când soluția este încălzită la 50°C iar timpul de expunere este de aproximativ 12 min. Unele studii sugerează că activitatea antibacteriană a acidului peracetic este comparabilă cu a glutaraldehidei, mai ales asupra sporilor și a micobacteriilor.

Fenolii Fenolul a fost utilizat pentru proprietățile sale bactericide încă din secolul trecut fiind introdus în practică de Lister. În ultimii 30 de ani au fost studiate proprietățile antimicrobiene ale unor derivați de fenol dintre care s-au remarcat pentru proprietățile lor dezinfectante orto-fenilfenolul și orto-benzilpara-clorfenolul. În concentrație mare fenolii acționează ca toxic protoplasmic și alterează peretele celular. Fenolii sunt cel mai frecvent utilizați în compoziția unor detergenți. Fenolii au acțiune bactericidă, fungicidă, virulicidă și micobactericidă. Dintre compușii fenolici triclorsanul și hexaclorofenul s-au impus în practică. Triclorsanul are o acțiune particulară asupra bacteriilor gram-pozitive. Acțiunea asupra fungilor și a bacteriilor gram-negative este influențată de diverse asocieri care pot crește sau diminua efectele germicide.

Compușii cuaternari de amoniu Substanțele surfactante (surfactanții) au în structura lor două zone, una hidrofilă și alta hidrofobă. În funcție de sarcina electrică a grupării hidrofile surfactanții sunt clasificați în cationici, anionici, nonionici și amfolitici. Dintre aceștia compușii cationici cuaternari de amoniu au demonstrat proprietăți dezinfectante și antiseptice. Primul produs introdus în practică, încă din 1935 a fost clorura de benzalkoniu, utilizat cu bune rezultate atât ca dezinfectant cât și ca detergent. Din păcate activitatea este influențată negativ de duritatea apei, prezența săpunurilor și reziduurile anionice. Utilizarea ca antiseptic a clorurii de benzalkoniu a fost însoțită de apariția unor infecții nosocomiale, chiar manifestări epidemice. Din acest motiv Centers for Disease Control a recomandat **scoaterea din uz ca antiseptic a compușilor cuaternari de amoniu**.

În afara primei generații cu reprezentantul ei clorura de benzalkoniu, se mai descriu alte două generații: generația a doua de compuși cuaternari de amoniu, obținută prin asocierea unui compus “etil-benzil-clorură” cu un compus “dimetil-benzil”, ceea ce conferă persistența acțiunii dezinfectante și în prezența unei ape extrem de dure. A treia generație de compuși se caracterizează prin prezența a două lanțuri identice, cum ar fi dodecil-dimetil clorura de amoniu, introdusă în practică încă din 1965. Această structură permite păstrarea acțiunii germicide atât în prezența apei dure cât și a reziduurilor organice. Acești compuși acționează prin inactivarea unor enzime producătoare de energie, denaturarea proteinelor din compoziția peretelui celular și alterarea membranei celulare. Ei mai pot denatura fosfolipidele din componența membranei citoplasmatică, cu apariția unor disfuncții majore în transportul membranelor și ieșirea din celulă a unor compuși esențiali și a unor ioni (K^+).

Compușii cuaternari de amoniu sunt utilizați în principal pentru dezinfectia spațiilor spitalicești: pereți, mobilier, pardoseli: Utilizarea lor este limitată de absența efectelor germicide asupra virusurilor hidrofiele și a bacilului Koch.

Biguanidele Biguanidele introduse în practică sunt clorhexidina, alexidina și polimerii biguanidici, polihexametilen biguanida.

Clorhexidina este una dintre cele mai utilizate substanțe antimicrobiene, în particular ca antiseptic, dar și ca dezinfectant. De asemenea sunt preparate produse medicamentoase cu rol antiseptic local care conțin și clorhexidină. Datorită spectrului larg de acțiune pe bacterii, fungi și virusuri, a efectului slab iritant la nivelul mucoaselor și tegumentelor produsul este recomandat și utilizat pe scară largă. Cu toate acestea efectele sunt influențate în special de pH și de prezența substanțelor organice. La nivelul bacteriilor clorhexidina acționează prin lezarea membranei celulare externe (bacteriile gram-negative) sau a peretelui celular (bacterii gram-pozitive), ceea ce are drept urmare moartea celulei. Asupra fungilor produce liza protoplasmei celulare. Clorhexidina nu este activă pe micoplasme și nici pe sporii de *Bacillus spp.* dar este activă pe sporii care germinează, inhibând în mare parte dezvoltarea formelor vegetative. Activitatea antivirală a clorhexidinei este variabilă, activitatea ei fiind limitată la virusurile cu înveliș lipidic. Clorhexidina nu are un efect semnificativ pe fagii bacterieni, cum ar fi cei ai *Pseudomonas aeruginosa*.

Argintul și compușii argintului sunt folosiți de mult timp și cu rezultate bune în dezinfecție și ca antiseptice, datorită calităților germicide ale argintului. Cele mai utilizate sunt: nitratul de argint, acetatul de argint și sulfadiazina argintului.

Nitratul de argint Mecanismul de acțiune se bazează pe proprietatea ionilor de argint de a interacționa cu grupările tiol (sulfhidril, ^{-}SH). Are loc o alterare a legăturilor aminoacizilor, mai ales ale cisteinei, ale L-metioninei și ale compușilor care conțin legături sulfhidrice (tiosulfatul de sodiu, bisulfatul de sodiu). Ionul de argint, Ag^{+} se leagă de hidrogen, pe care-l blochează și împiedică formarea unor compuși esențiali metabolismului celular. De asemenea prezența Ag^{+} induce ieșirea din celulă a ionilor de potasiu, K^{+} . Acțiunea argintului se exprimă la nivelul proteinelor și enzimelor celulare. Nitratul de argint este utilizat ca antiseptic în profilaxia unor infecții oculare, în prevenirea infecțiilor și suprainfecțiilor consecutive arsurilor și pentru distrugerea verucilor, profilaxia infecției gonococice la nou-născut.

Protargolul și colargolul pot fi utilizate ca antiseptice pentru tegumente și mucoase în concentrații de 5-10% cu un efect slab bacteriostatic.

Utilizarea dezinfectantelor și antisepticelor și fenomenul de rezistență microbiană

Utilizarea produselor antimicrobiene numără printre efectele secundare și apariția rezistenței microbiene. Mecanismele rezistenței microbiene la dezinfectante sunt diferite pentru bacterii, fungi sau virusuri. Rezistența poate fi naturală sau dobândită. Anderson și colaboratorii au demonstrat în studiul lor că dezinfectantele folosite conform rețetei producătorului distrug în aceeași măsură atât enterococii vacomicino-sensibili cât și enterococii-rezistenți. Autorii concluzionează că acțiunile de sanitație și dezinfecție trebuie efectuate după

protocoalele cunoscute, nefiind nici o legătură între rezistența la antibiotice și cea la dezinfectante. Într-un alt studiu Rutala și colaboratorii demonstrează același lucru investigând comportamentul unor tulpini de *Staphylococcus aureus* și *S.epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis* și *Pseudomonas aeruginosa*. Alte studii raportează aceleași rezultate ca cele mai sus menționate și susțin observația că fenomenul rezistenței microbiene la antibiotice nu este corelat cu rezistența microbiană la dezinfectante și antiseptice. Totuși există și autori care corelează rezistența la meticilină a unor tulpini de stafilococ cu rezistența acestora la clorura de benalconiu. Aplicarea corectă a dezinfectantelor și antisepticelor contribuie la împiedicarea dezvoltării infecțiilor intraspitalicești, și mai ales a manifestării lor epidemice, chiar în condițiile implicării în etiologia lor a unor germeni rezistenți sau multirezistenți la substanțe terapeutice antimicrobiene.

C. MECANISMELE REZISTENȚEI MICROBIENE LA ANTIBIOTICE

Încă de la primele aplicații clinice ale antibioticelor s-au semnalat fenomene de rezistență la tratament dar aceste aspecte nu au fost luate în considerație decât mult mai târziu, odată cu extinderea îngrijorătoare a acestui fenomen. Antibioticele, una dintre cele mai eficiente clase de medicamente, sunt compuși chimici organici care în contact cu microorganismele le inhibă acestora creșterea sau le omoară. La început obținute prin prelucrarea unor produse naturale - secrețiile unor fungi sau bacterii - în momentul de față cele mai multe antibiotice sunt obținute prin sinteză chimică. Pentru a fi eficiente, antibioticele trebuie să-și exercite activitatea anti-microbiană la concentrații plasmatice care nu sunt toxice sau însoțite de efecte secundare.

În pofida extinderii tot mai largi a spectrului și a gamei de antibiotice, bacteriile se află la rândul lor într-o permanentă adaptare la condițiile mediului în care trăiesc. Printre "eforturile adaptative" ale bacteriilor se numără și mecanismele prin care acestea dezvoltă rezistență la substanțele antimicrobiene și în special la antibiotice. Rezistența microbiană la antibiotice poate fi definită ca abilitatea germenilor patogeni de a supraviețui și de a se multiplica în prezența uneia sau mai multor substanțe antimicrobiene. Germenii rezistenți sunt sau devin "toleranți" la antibiotice, sustrăgându-se prin variate modalități efectului antibacterian scontat, după administrarea de doze terapeutice, netoxice pentru organism.

Rezistența microbiană naturală, de specie, sau dobândită, prin apariția de mutante rezistente la antibiotice este o noțiune absolută care trebuie deosebită de pseudorezistență (falsa rezistență), noțiune relativă, întâlnită în practica tratamentelor clinice.

Pseudorezistența sau falsa rezistență este indusă în principal de utilizarea inadecvată a antibioticelor:

- nu s-au folosit antibioticul sau combinația adecvate etiologiei;
- nu s-au realizat concentrații plasmatice eficiente ale antibioticelor;
- apariția rezistenței relative a germenilor patogeni, sensibili *in vitro* dar insensibili – temporar *in vivo*: existența persisterilor, a germenilor cu metabolism redus, forme L etc.;

Rezistența microbiană absolută se manifestă atunci când un microorganism nu este influențat *in vitro* de antibiotic sau când *in vivo* sunt necesare concentrații de antibiotic care ating niveluri toxice pentru organism.

Fenomenul este pe deplin acceptat și în mare parte cunoscut.

Rezistența microbiană dobândită, ca fenomen adaptativ al speciilor microbiene față de mediul extern nefavorabil se realizează prin mecanisme diverse, determinate finalmente de specia microbiană implicată și de tipul de substanță antimicrobiană utilizată.

Mecanismele prin care germenii dezvoltă și transferă altora capacitatea de a rezista la acțiunea substanțelor antimicrobiene sunt variate și arată marea variabilitate din mediul înconjurător.

Mecanismele majore prin care o bacterie poate deveni rezistentă la antibiotice sunt: inhibiția enzimatică a antibioticelor; impermeabilitatea membranelor bacteriene; alterarea enzimei-țintă; alterarea țintei intracelulare; supraproducția enzimei-țintă; metaboliți care scurtcircuitează etapele inițiale; pomparea activă în exterior a antibioticelor. Apariția rezistenței bacteriene la antibiotice a fost întotdeauna corelată cu utilizarea clinică a acestora fără ca întotdeauna cauzalitatea să poată fi stabilită în mod cert.

Apariția **sistemelor computerizate de supraveghere a rezistenței la antibiotice** ca și organizarea unei adevărate rețele informaționale la nivel național sau internațional (OMS, UE) facilitează identificarea rapidă a modalităților de apariție a rezistenței la substanțe antimicrobiene.

Tehnicile moleculare încep să fie din ce în ce mai mult utilizate în acest scop, genele purtătoare de informații legate de rezistența la substanțe antimicrobiene fiind identificate, caracterizate. Se pot urmări prin tehnici moleculare: modul de achiziție a genelor, transferul informațiilor genetice, procesul epidemiologic de achiziție a rezistenței la antibiotice.

O bacterie inițial sensibilă la un antibiotic poate deveni rezistentă prin diverse căi:

- poate să-și modifice una din genele ei astfel încât "ținta" antibioticului este modificată și acesta nu-și mai poate exercita acțiunea antibacteriană;
- o alta modalitate este aceea de a achiziționa o nouă genă care să inactiveze sau să împiedice accesul antibioticului intracelular;
- unele gene pot interfera sinteza unor compuși bacterieni care sunt blocați de către antibiotic anulând acțiunea specifică drogului;
- rezistența poate să se instaleze și prin apariția de mutații genetice definitive.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 4**5. Bacteriofagul – structura, cicluri de evolutie****6. Genetica bacteriana – variabilitatea****5. Bacteriofagul – structura, cicluri de evolutie**

I. Bacteriofagul este virusul specific pentru bacterii: “mancator de bacterii”. Este adaptat parazitarii celulelor bacteriene si numai pe acestea le paraziteaza (au specific de specie).

Ex: bacteriofagul T4 (Escherichia coli):

- are o structura morfologica complexa, cu cap si coada.
- lungimea vitala este egala cu 200 nm, adica 1/5 μm .
- este de 5 ori mai mic decat cea mai mica bacterie (nu poate fi vazut la microscopul optic).

Structura morfologica a bacteriofagului:

a) *Capul*: contine genomul (informatia genetica), cu un ADN dublu circular, ce este protejat de o CAPSIDA formata din CAPSOMERE; are forma icosaedrica (ca un cristal).

b) *Coada*:

- este formata din proteine si prezinta tub cilindric de 80-100 nm, numit CILINDRU AXIAL, protejat de un manson proteic, cunoscut sub denumirea de teaca cozii. Proteinele, pe langa faptul ca protejeaza aceasta parte a bacteriofagului, au si proprietati contractile (sunt aranjate helicoidal), reducand lungimea la jumatate (40-50 nm).
- prezinta: un guler in partea proximala a tecii (ce are forma de disc hexagonal), o placa bazala in partea distala a tecii. La capetele placii bazale exista crosete, care sunt unitati proteice cu rol de fixare pe bacterii. Pe langa crosete se afla fibre (filamente proteice) cu diametrul de 2 nm si lungimea de 130 nm, cu care se prinde pentru o siguranta mai mare.
- functii: de protectie, de atasare de bacterii, de penetrare a genomului viral al bacteriei.

Mecanismul de infectare al bacteriofagului obliga bacteria sa sintetizeze bacteriofagi. Acestia nu contin apa.

Bacteriofagii sunt sensibili la agenti fizici (radiatii UV, X), chimici (formol, cloroform) si pot fi supusi operatiei de dezinfectie. Se multiplica, deci sunt vii. Nu au structura celulara. O specie de bacteriofag infecteaza numai o specie de bacterii. Exista tulpini sensibile la diferite tipuri de bacteriofagi si se numesc LIZOTIPI (analiza = lizotipie, se foloseste bacteriofagul.)

Relatia dintre bacteriofag si bacterie:

Exista doua tipuri de cicluri:

a) *ciclu productiv (litic)*

b) *ciclu reductiv (lizogen)*

a) In *ciclu litic*, bacteriofagul se multiplica in celula gazda. Acesta se realizeaza in etape:

- Adsorbția bacteriofagului pe suprafața bacteriei: muramidaza, unica enzimă a bacteriofagului, lizează mureina din peretele bacterian.
 - Astfel, cilindrul axial poate penetra bacteria, teaca cozii se contractă (datorită ATP-ului și ionilor de Ca^{2+}) și ADN-ul viral este "injecat" în interiorul corpului bacterian.
 - Multiplicarea bacteriofagului: după patrunderea ADN-ului bacteriofagului, ADN-ul bacterian este blocat, primul preluând comanda, multiplicându-se și formând propriile componente.
 - Maturarea bacteriofagului: componentele aparute în sinteză în celula bacteriei formează ansamblul bacteriofagului matur, virulent pentru celula gazdă.
 - Eliberarea bacteriofagului: bacteria își încetează metabolismul (moare), eliberează fagi în mediu, datorită endolinizei.
- b) În *ciclul lizogen*, fagul patrunde în bacterie, aceasta se apără, secretând o substanță represivă pentru virulența bacteriofagului și inhibă multiplicarea. Astfel, ADN-ul viral nu se preia. Apare o integrare a unei noi gene în cromozomul bacterian. Bacteria se dezvoltă normal, dar transmite descendenților gena. Fagul este, însă, nevirulent, cunoscut drept FAG TEMPERAT sau FAG LATENT.

Prin integrarea materialului genetic al fagului, materialul genetic al bacteriei este modificat, rezultând variabilitatea genetică. Profagul redevine virulent: spontan (în cazul lizei celulei gazdă) sau indus.

Raporturi între celulele bacteriei și bacteriofag:

Celula bacteriană poate fi:

- Lizosensibilă: are receptori pentru bacteriofagi și permite multiplicarea lui, rezultând lizarea bacteriei.
- Lizogena: poartă bacteriofagul sub formă de profag în interiorul ei, îl transmite descendenților și sintetizează exotoxine.
- Lizorezistentă: nu are receptori pentru bacteriofagi (nu se pot fixa pe ea) și rezistă atacului bacteriofagului.

Bacteriile lizogene pot deveni lizorezistente, pentru a nu mai fi atacate de alți bacteriofagi de același fel (omologi).

Proprietățile bacteriei lizogene:

- *Rezistența specifică*, cunoscută drept imunitatea bacteriei. Bacteria lizogena este o bacterie lizorezistentă (ex: variola, tetanus – au o rezistență lungă, spre deosebire de holera, care are o rezistență scurtă).
- *Inductibilitatea*: sunt produși fagi maturi, virulenți: după acțiunea agenților inductori (radiații UV, temperaturi mai mari de 40° C, agenți chimici, antibiotice) sau spontan.
- Agenții blochează substanțele bacteriene repressoare, fagul *redevinând virulent*.
- *Fagul devine defectiv*, nu se mai activează.
- *Fagul devine recombinant genetic*.

Aplicații practice ale bacteriofagiei:

- Bacteriofagii sunt indicatori ai gradului de poluare al apelor (cu materii fecale, care contin agenti patogeni eliminate de bolnavi). Se determina existenta E. coli prin prezenta bacteriofagilor (metode indirecte)
- Lizotipia, prin determinarea sensibilitatii bacteriilor la bacteriofagi.
- Determinarea focarelor de infectie, traseul bolii, evolutia si studiilor epidermologice.
- In studiile de oncogenitate virala.
- In studiul ariabilitatii genetice a bacteriilor.

6. Genetica bacteriana – variabilitatea

Totalitatea determinantilor genei bacteriene reprezinta **genomul bacterian**. Acesta este organizat astfel: material genetic nuclear organizat in cromozomi, unic in celula procariota si material genetic extracromozomial, organizat in plasmide, ce se gasesc in citoplasma (factori de sex [E], de rezistenta [R], colicinogenic [col]). Genomul asigura ereditatea bacteriei, avand capacitatea de a transmite descendentilor caracterele de specie. Totalitatea acestor caractere reprezinta informatia genetica, adica genotipul. Caracterele exprimate formeaza fenotipul.

Materialul genetic bacterian:

Cromozomul de ADN este dublu catenar, helicoidal si detine informatia pentru functiile vitale ale celulei bacteriene. Exista un singur cromozom si un singur lant de ADN. Cromozomiul nu are membrane celulara, e in contact direct cu citoplasma si are lungimea de 1 nm, atunci cand corpul bacteriei are 1-2 μm .

Componentele cromozomului:

- Gena, ce codifica informatia pentru proteine.
- Cistonul, ce codifica informatia pentru polipeptid.
- Codonul reprezinta unitatea morfologica, formata din 3 baze azotate succesive. Acestea sunt in numar de patru, ce se grupeaza cate trei: baze purinice: adenina (A), guanina (G) si baze pirimidinice: citozina (C), timina (T). ARN-ul are aceleasi baze azotate, cu exceptia timinei, care este inlocuita cu uracilul (U).

In matrita de ADN, prin intermediul ARN polimerazei, se sintetizeaza ARN mesager, care va fi decodificat in ribozomi si se vor sintetiza proteinele.

Materialul genetic extracromozomial stocheaza informatiile genetice neesentiale, contribuie la variabilitatea bacteriana si sunt alcatuite din ADN dublu catenar, helicoidal, precum plasmidele (2 feluri: propriu-zise si episonii) si elementele transpozabile (secvente de insertie si transpozomi).

Plamidele propriu-zise sunt formatiuni circulare, ce nu integreaza cromozomii si sunt de sine statatoare. Factorul R are una sau mai multe gene care codifica rezistenta fata de unul sau mai multe antibiotice (chimio-terapice). Factorul de transfer al R – gena RFT – codifica sinteza unui canal de propriu de conjugare si se multiplica independent de ritmul de multiplicare al cromozomului. Exista factori COL, ce contine diferite informatii pentru sinteza unui factor F, aparandu-se de celelalte bacterii. Factorul F este independent in citoplasma, bacteriofagul fiind inserat in citoplasma.

Episomii contin ADN dublucatenar, helicoidal, circular. Sunt autonomi in citoplasma si integrati in cromozomii bacteriei. Inelul cromozomului se rupe, se integreaza episonul, apoi inelul se refacese informatia genetica este transmisa descendentialor.

Exista *secvente de insertie* ce sunt, de fapt, secvente scurte de ADN, ce nu detin informatia genetica suficienta pentru a codifica o proteina, dar care modifica informatia genetica, determinand un alt fenotip, lipite pe o alta structura si *transpozomi* (secvente de ADN liniar), ce detin informatia pentru sinteza unei proteine pentru rezistenta fata de antibiotice. Nu se multiplica, se replica o data cu cromozomul, pe care se insera.

Variabilitatea genetica la bacterii

Bacteriile se replica semiconservativ, existand aparate de modificare genotipice la celulele fiice.

Ereditatea reprezinta pastrarea caracterelor de specie, prin replicarea ADN-ului cromozomial.

Variabilitatea reprezinta aparitia modificarilor fenotipice la celulele fiice si pot fi definitive sau de scurta durata. Variabilitatea consta in variatii **fenotipice**, adaptative, de scurta durata, ce nu se transmit descendentialor (apar sub influenta conditiilor de mediu) si **genetice** (modificari definitive la nivelul materialului genetic, ce se transmite descendentialor prin replicare).

Apar modificari la nivelul materialului genetic, prin mecanismele de *mutatii genetice* si *transfer si recombinare genetica*.

Mutatiile genetice apar in cursul diviziunii exponentiale a bacteriei, dat de ritmul de crestere. Modificarile au loc la nivelul bazelor azotate, astfel genomul celulei fiice nu este la fel cu cel al celulei mama. Cel ce sufera mutatia se numeste **mutant**. Mutatiile apar prin: inlocuirea bazelor purinice sau pirimidinice cu o alta molecula, insertia unei baze noi, prin deletia, insertia sau inversarea ordinii bazelor.

In functie de numarul bazelor afectate, exista mutatii *punctiforme* sau *extinse, spontane* (greseli de copiere la replicare, datorita vitezei crescute) si *induse* (datorate factorilor inductori, ce determina modificari ale baelor sub influenta factorilor fizici, chimici, biologici).

Transferul si recombinarea genetica au loc intre celule donatoare si celule receptoare. Transferul se realizeaza in cadrul aceleiasi specii, intre specii diferite si se transmit fragmente de genom sau genom intreg. Mecanismul are la baza trei fenomene: transformarea, transductia si conjugarea.

Transformarea: celulele receptoare preiau molecula de ADN, iar celula donoare intra intr-o faza de inmultire exponentiala (stare de competenta). ADN-ul trece prin perete, membrane, se prinde de cromozomii celulei primitoare, se recombine genetic prin fenomenul de "*crossing-over*".

Transductia: se castiga material genetic cu ajutorul bacteriofagilor, ce cara material genetic de la o bacterie la alta (dupa integrarea bacteriofagului in genomul bacteriei, rezulta profagul care, redevenind virulent in anumite conditii, se desprinde din genom, antrenand gene proprii ale bacteriei). Fagul este transductor, iar bacteriile parazitare – transductanti. Exista transductie *specializata, generalizata* si *abortive* (cand celula bacteriei este lizata).

Conversia lizogenica este transductia care consta in modificarea genomului bacterian doar prin insertie de bacteriofag. O bacterie nepatogena poate deveni patogena prin castigarea capacitatii de sinteza de exotoxine, dupa inserarea bacteriofagului. Bacteriile lizogene manifesta noul caracter (toxinogeneza) atat cat sunt parazitare de profag.

Conjugarea: reprezinta transferul de material genetic de la donor la acceptor, prin canale de conjugare (femel-mascul). Celulele donoare posedea factor F, care trece prin canal in citoplasma. Conjugarea are rol in castigarea de rezistenta la antibiotice (factorul R).

BIBLIOGRAFIE

7. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 5**7. Patogenitatea bacteriana – factori si mecanisme de patogenitate**

(ANDREI ALEXANDRA MARINA-IULIANA, Grupa 1, an II 09. aprilie.2009)

INFECTIA

Organismul uman ca si cel animal este expus in permanenta la contactul cu microorganisme, unele saprofite si deci inofensive, iar altele patogene sau potential patogene. Spre deosebire de "contaminare" prin care se intelege doar simpla prezenta a microbilor in organism, infectia reprezinta conflictul care are loc intre agentul patogen, cu mijloacele lui de agresiune si organism cu posibilitatile lui de aparare. Infectia reprezinta deci totalitatea proceselor biologice care se desfasoara in organismul uman sau animal ca urmare a patrunderii si multiplicarii unor agenti infectiosi (bacterii, virusuri, ciuperci infectioase), in intimitatea tesuturilor. Asadar infectia reprezinta dupa conceptia moderna interactiunea dintre micro- si macroorganism. Intr-adevar pentru ca un proces infectios sa aiba loc, este necesar sa se realizeze unele conditii, atat din partea microorganismului cat si din partea organismului gazda.

A. Conditii care sunt legate de microorganism

1. Microorganismul trebuie sa fie patogen, deci capabil sa determine infectia;

2. Cantitatea de microorganisme contaminate trebuie sa fie suficienta pentru a initia procesul infectios;

3. Locul de patrundere in organism al agentului infectios "poarta de intrare" sa fie cea mai adecvata pentru specia de microorganisme contaminanta;

4. Calea de vehiculare a agentului infectios pana la tesutul sau organul in care se va fixa microorganismul sa fie usor accesibila.

1.Patogenitatea

Prin patogenitate se intelege capacitatea microorganismelor de a determina boala la o anumita specie gazda. Patogenitatea este considerata un caracter de specie, deoarece sunt unele microorganisme nepatogene din cauza incapacitatii lor de a se inmulti in organismul uman (agentii etiologici ai holerei gainilor) sau animal (gonococul) etc., in timp ce altele sunt intotdeauna patogene: salmonele, brucele, rickettsiile, virusurile. Patogenitatea este dependenta si de caracterul de parazitism in sensul ca de multe ori microorganismele patogene dezvoltata pe seama umorilor si tesuturilor acestuia, unele din ele fiind chiar parazite intracelulare.

Exceptie face in acest caz bacilul botulinic, care desi prin el insasi nu este patogen, elaboreaza o toxina puternica care determina imbolnavire, chiar in absenta microbului.

Patogenitatea poate fi deci determinata de caracterul de:

a) virulenta al bacteriilor

b) toxinogeneza.

Unii microbi sunt patogeni numai prin virulenta lor (pneumococul) sau

exclusiv prin elaborare de toxina (b.tetanic, botulinic etc.); dar numeroase bacterii actioneaza atat prin virulenta cat si prin factorii toxici elaborati in proportii variabile: agentii etiologici ai gangrenei gazoase, stafilococul, streptococul etc.

Alte bacterii isi manifesta caracterul de patogenitate atat prin virulenta, toxinogeneza cat si prin:

c) fenomene de sensibilizare: streptococ, b.Koch, enterobacteriaceae.

a. Virulenta

Virulenta este capacitatea microorganismelor de a patrunde, a se adapta, inmulti si a invade tesuturile si umorile organismului. Aceasta definitie precizeaza relatia obligatorie dintre microorganismul parazit si gazda in determinarea bolii, precum si gradul de intensitate al procesului infectios.

Virulenta reprezinta o particularitate a tulpinii care a produs infectia, in cadrul aceleiasi specii putand exista tulpini mai putin virulente alaturi de tulpini cu o virulenta deosebita (de ex.: stafilococ, pneumococ etc.).

Asadar caracterul de virulenta nu este fix, el fiind conditionat de o serie de factori care tin de:

- structura microbului
- exoenzimele bacteriene (agresine).

Factorii dependenti de **componenta microbiana**

- Capsula. S-a observat ca pneumococul, prin excelenta virulent (deoarece actioneaza in organisme neimunizate, prin invazie si multiplicare rapida) posedea aceasta proprietate numai atunci cand este incapsulat.

Capsula pneumococului, substanta de natura polizaharidica, prezenta numai la tulpinile de tip S, reperzinta in acest caz factorul de virulenta si asigura intreaga patogenitate a acestui microb; fiind incapsulat, pneumococul se sustrage de obicei fenomenului de fagocitoza. Odata cu pierderea capsulei, formele R ale acestor bacterii devin nepatogene si totodata usor fagocitabile.

- Alte componente corpusculare. S-a demonstrat ca in structura peretelui bacteian al streptococului beta hemolitic grupa A se gaseste proteina M, responsabila de virulenta acestei bacterii.

Antigenul VI prezent la unele salmonele, este denumit antigen de invelis sau de "virulenta", deoarece prezenta lui confera tulpinii o virulenta deosebita.

Agresinele Sunt enzime elaborate de bacterii si eliminate in afara corpului lor, care actioneaza foarte diferit asupra tesuturilor organismului:

- hialuronidaza si colagenaza, care depolimerizeaza acidul hialuronic din tesutul conjunctiv intercelular;
- hemolizine, leucocidine, lecitinaze, capabile sa lizeze diverse celule;
- fibrinolizine care digera cheaguri sanguine;
- factori antifagocitari de ex.: coagulaza stafilococica etc.

Toate aceste enzime contribuie la persistenta si propagarea infectiei in tesuturi.

De asemenea **varsta culturii** are o deosebita importanta asupra virulentei. De exemplu: streptococul de grup A prezinta cea mai marcanta virulenta dupa 6 ore. Numeroase alte bacterii poseda virulenta maxima dupa 18-24 ore de cultivare. In general, culturile tinere (24 ore) sunt mai virulente decat cele

batrane (48-72 ore).

Mobilitatea deosebita a unor bacterii influenteaza virulenta lor, usurand invazia tesuturilor din organismul parazitat. Astfel unele bacterii foarte mobile pot patrunde in organism chiar prin pielea intacta de ex.: leptospirele.

In unele situatii manifestarea viurlei este dependenta de factori mult mai complexi. Asa este cazul unor specii microbiene denumite "potential patogene", constituinti ai florei normale a organismului, prezenti mai ales la nivelul mucoaselor. Desi aceste bacterii prezinta aceeaasi structura si posibilitati de a se elabora agresive ca si tulpinile foarte patogene din aceeaasi specie, ele sunt de obicei inofensive pentru organismul gazda. In anumite conditii inasa, cand rezistenta generala a organismului este foarte scazuta si adesea adesea concomitent sub influenta unui tratament cu antibiotice la bolnav, se selecteaza din cadrul bacteriilor potential patogene, indivizi cu o virulenta deosebita, de obicei rezistenti la acel antibiotic sau la mai multe antibiotice. Aceste variante, cu virulenta marcata, devenind populatie dominanta, migreaza la nivelul sediului lor obisnuit, invadeaza mucoasele invecinate prin contiguitate (din aproape in aproape) sau patrund in intimitatea tesuturilor, determinand fenomenele de boala, uneori foarte severe. In mediul de spital aceste tulpini pot determina infectii cu caracter epidemic: "hospitalism".

Acest fenomen care a fost pus in evidenta ca o consecinta a terapiei cu antibiotice, reperiinta un exemplu semnificativ asupra posibilitatilor de modificare a virulentei (prin numar crescut de bacterii) demonstrand importanta in practica a tulpinilor "conditionat" sau "potential patogene".

Referitor la modificarea caracterului de virulenta s-a observat, ca in general, tulpinile la izolarea lor din organism sunt mai virulente, dar ca dupa cateva treceri pe medii de cultura, virulenta lor se poate atenua, uneori pana la disparitie, ca in cazul pneumococului, care pe medii artificiale isi pierde capsula.

S-a observat totodata ca trecerea tulpinii pe specii de animale rezistente diminueaza virulenta tulpinii, in timp ce pasajul pe animale sensibile dimpotriva, accentueaza acest caracter.

Anumiti factori fizici cum ar fi caldura, desicatia sau chimici ca bila, formolul etc. au fost folositi de multa vreme pentru obtinerea unor variante stabile cu virulenta atenuata utilizate pentru prepararea de vaccinuri.

Aprecierea virulentei unei bacterii se exprima in doze limite mortale (DLM); aceasta reprezinta doza minima necesara, care inlocuita in anumite conditii omoara animalul sensibil fata de o anumita infectie. Cu cat microbul este mai virulent cu atat DLM-ul este reprezentat de un numar mai mic de bacterii si invers.

b. **Toxinogeneza** Unele bacterii isi exercita efectul patogen asupra organismului prin elaborarea unor otravuri puternice numite toxine pe care unii autori le denumesc si "antigene bacteriene solubile". Se diferentiaza doua feluri de toxine: exo- si endotoxine.

Exotoxinele sunt substante eliberate de celula vie in mediul exterior, fiind prezente si in filtratele microbiene. Din punct de vedere chimic, exotoxinele sunt proteine cu greutate moleculara mare, termolabile. Ele sunt deosebit de

toxice, fiind active in cantitati foarte mici si exercita asupra organismului infectat o actiune strict specifica. Acest lucru a fost demonstrat cu ajutorul toxinelor la animalele de experienta, la care fenomenele de boala cu aceleasi simptome, au putut fi reproduse in absenta microbului.

De asemenea specificitatea de actiune este manifestata si la om in sensul ca intoxicatia difterica, tetanica sau botulinica sunt complet diferite din punct de vedere clinic, datorita mecanismelor de actiune particulare a fiecarei toxine in parte. ***Exotoxinele sunt cele mai puternice otravuri cunoscute*** (in deosebi cea botulinica) fiind elaborate mai ales de bacterii gram-pozitive: bacilul tetanic, difteric, botulinic, bacteriile gangrenei gazoase etc.

Exista si alte bacterii care pot elabora exotoxine, dar care poseda in acelasi timp si alti factori de patogenitate, de ex.: bacteridia carbunoasa, streptococii beta-hemolitici de grup A (eritrotoxina scarlatinoasa), stafilococii enterotoxici (enterotoxina), bacilul dizenteric Shiga (neuroenterotoxina), vibronul holerici etc.

Aprecierea gradului de toxicitate a unei toxine se face tot prin stabilirea DLM-ului, cantitatea de toxina care omoara cu leziuni specifice un animal sensibil, in conditii determinate. DL50 reprezinta cantitatea de toxina care omoara 50% din animalele sensibile, inoculate in aceleasi conditii.

Exotoxinele pot fi transformate in conditii speciale in anatoxine care sunt vaccinuri foarte eficiente si deosebit de antigenice, determinand in organism producerea de anticorpi specifici (antitoxine).

Endotoxinele sunt substante toxice, legate de constituintii celulari, care se pun in libertate prin moartea si autoliza bacteriana. Endotoxinele sunt prezente in special la bacterii gram-negative (salmonele, shigele, brucele etc.) fiind situate de obicei in profunzimea peretelui bacterian, confundandu-se cu antigenul somatic 0, de natura glucido-lipido-polipeptidica, fiind ca si acest antigen termorezistente. Indiferent de specia bacteriana de la care provin, endotoxinele determina in organismul animalului sensibil o simptomatologie asemanatoare (febra, leucopenie, eruptii cutanate, soc). Endotoxinele sunt mai putin antigenice decat exotoxinele.

c. Factori de sensibilizare

Unele produse bacteriene complica evolutia infectiei prin fenomene de sensibilizare alergica ; sensibilizarea se produce in momentul in care in organism exista concomitent bacterii, antigene bacteriene sau autoantigene si anticorpi specifici sau celulele specifice sensibilizate, care formeaza complexe antigen-anticorp. Cand aceste complexe realizeaza in organism concentratii optime are loc alterarea diferitelor tesuturi, ca rezultat al sensibilizarii. Mecanismele de alterare tisulara locala sunt diferite, printre care si infiltratul monocitar specific, care apare traditiv fata de debutul infectiei.

Bacteriile care determina diferite tipuri de sensibilizare sunt: b.Koch, streptococii de grup A, treponema sifilisului, brucele, enterobacteriaceae. Astfel din cercetari recente rezulta ca rolul endotoxinelor bacteriilor intestinale in procesul infectios, ar consta din fenomene de sensibilizare care explica in mare parte simptomatologia clinica la bolnav, inclusiv **socul endotoxic**.

2. Cantitatea necesara de microorganisme

Pentru ca sa se produca infectia, in afara de caracterul de patogenitate, o a doua conditie pe care trebuie sa o indeplineasca agentul infectios este aceea de a fi prezent in organism in cantitate suficienta. In unele infectii in care bacteriile sunt foarte virulente sau organismul este extrem de receptiv ca sa realizeze procesul infectios este suficient un numar foarte redus de microorganisme, de ex.: teoretic se admite ca un singur bacil Koch sau in orice caz un numar foarte redus, este capabil sa determine tuberculoza la cobai; acelasi lucru se admite pentru pneumococul incapsulat la specia sensibilă, soarecele.

La om, este necesar un numar redus de bacterii foarte virulente ca sa reproduca: bruceloză, leptospiroză etc. in timp ce in alte cazuri este necesara o cantitate apreciabila de bacterii ca sa produca imbolnavirea de ex.: este necesar un numar foarte mare de bacterii tifici ca sa determine la om febra tifoida. La fel sunt necesare contacte repetate cu omul bolnav, pentru ca o persoana sa faca tuberculoza. Bineinteles ca in fiecare caz in parte, se suprapun anumiti factori care sunt dependenti atat de conditiile locale de la nivelul cailor de patrundere in organism a bacteriei, cat si de starea de imunitate a organismului.

3. Poarta de intrare

In evolutia procesului infectios este foarte important locul de patrundere al bacteriei in organism, denumit si "poarta de intrare". Aceasta este uneori specifica, de exemplu: gonococul patrunde in organism numai pe cale genitala si mai rar pe cale conjunctivala, bacilul tific patrunde pe cale digestiva, virusul rabic prin sediul muscaturii animalului infectat. Alte bacterii pot determina infectia patrundand in organism pe cai foarte diferite: respiratorie, digestiva, cutanata, de ex.: bacteridia carbunoasa, bacilul Koch etc.

4. **Calea de vehiculare** a agentului patogen. Odata patruns in organism, microorganismul patogen dupa o perioada de adaptare variabila ca timp in raport cu specia infectanta si conditiile locale, incepe sa invadeze tesuturile, infectia propagandu-se uneori din aproape in aproape (prin contiguitate) cum ar fi spre exemplu infectia de pe mucoasa ringofaringiana, a cailor respiratorii superioare, vaginala determinand infectii de vecinatate, de ex.: meningita dupa patrunderea meningococului la nivelul mucoasei rinofaringiene, metrita, anexita dupa infectia vaginala etc.

In alte cazuri microbul, odata patruns in organism in raport cu specia, fie ca ramane la poarta de intrare provocand o infectie locala, fie ca migreaza pe diverse cai: digestiva, cutanata, limfatica, nervoasa pana la un anumit organ sau tesut in care trebuie sa ajunga in mod obligator pentru ca sa aiba loc procesul infectios. Asa de exemplu: baciliul tific patrunde in organism pe cale digestiva si apoi se fixeaza in sistemul limfatic al intestinului subtire, organul de electie in febra tifoida. Vibriionul holeretic de asemenea determina boala numai daca microbul ajunge la nivelul intestinului subtire. Bacilul dizenteric ca sa produca boala (dizenteria) trebuie sa ajunga in mod obligator la nivelul intestinului gros unde se fixeaza si persista pe tot intervalul infectiei. Virusul rabic, de la poarta de intrare (muscatura animalului infectat) este vehiculat prin filetele nervoase de la acel nivel la sistemul nervos central unde se fixeaza si provoaca imbolnavirea. Toxina tetanica, de la nivelul plagii este transportata prin terminatiile nervoase, se fixeaza pe celulele sistemului central nervos si

determina tetanosul. Bacilul Koch patrunde in organism cel mai frecvent pe cale respiratorie; pentru a determina tuberculoza microbii trebuie sa ajunga pana in intimitatea tesutului pulmonar.

In cazul in care bacteriile reusesc sa abordeze caile limfatice sau sanguine, si daca organismul nu opune rezistenta, infectia se generalizeaza determinand septicemii. Prin aceste cai infectia poate ajunge la distanta fata de focarul initial, determinand localizari in diferite organe, care in cazul bacteriilor piogene (producatoare de puroi: stafilococ, streptococ, pneumococ) poarta numele de septico-pioemii. In acest caz pot fi prezente abcese la nivelul ficatului, rinichiului, pulmonului etc. sau pleurezii, peritonite, localizari osoase etc. Aceste infectii de tip secundar sunt consecinta unor infectii primare netratate, insuficient sau icorect tratate cu antibiotice.

B. Organismul in procesul infectios. Macroorganismul sau organismul gazda care este supus procesului infectios, influenteaza in mare masura evolutia infectiei in sensul ca in raport de posibilitatile de aparare locale sau generale se opune, sau dimpotriva permite sau chiar inlesneste, desfasurarea infectiei, ca in cazul bacteriei potential patogene.

Varsta. Toate etapele vietii sunt expuse la diferite infectii, cu sublinierea ca pentru fiecare varsta predomina anumite tipuri de infectii, de ex.: la copii di prima copilarie si perioada prescolara predomina infectiile cailor respiratorii superioare (pneumonie si bronhopneumonie), infectiile digestive acute si bolile eruptive; la adult, numeroase infectii legate de profesie dar si febra tifoida, tuberculoza, infectii urinare, boli venerice; la batrani, pneumonie, infectii micotice, boli determinate de bacterii potential patogene adesea cu evolutie severa. De asemenea prognosticul infectiei este adesea legat de varsta, de ex.: infectiile evolueaza mai grav la copii si batrani datorita constitutiei fiziologice particulare, inclusiv a sistemului imuno formator in aceste cazuri.

Conditiiile proaste de nutritie, oboseala, bolile intercurente influenteaza aparitia procesului infectios; apoi unele conditii de mediu extern ca: umezeala, temperatura foarte ridicata sau foarte scazuta, favorizeaza aparitia infectiilor.

Evolutia procesului infectios

Odata patruns in organism in cantitate suficienta, agentul microbial isi desfasoara efectul nociv in mod variat in raport cu proprietatile sale de patogenitate si reactia de aparare a organismului. Se pot descrie urmatoarele etape in cadrul unui proces infectios:

Incubatia este perioada care se scurge de la patrunderea microbului in organism si aparitia primelor simptome de boala. Durata acestei perioade este in raport cu specia si doza infectata, calea de patrundere, receptivitatea organismului. Perioada de incubatie poate fi scurta, doar de cateva ore in cazul bacteriilor foarte virulente si a unui organism deosebit de receptiv, iar in alte cazuri de zile sau saptamani.

Indiferent de calea de patrundere in organism in aceasta perioada microbul se localizeaza la nivelul organului sau tesutului unde isi gaseste cele mai favorabile conditii de dezvoltare, in care se inmulteste si incepe sa elaboreze substante toxice. Astfel bacilul holerice, tific, se fixeaza la nivelul intestinului subtire, bacilul dizenteric in mucoasa intestinului gros, toxina

bacilului tetanic la nivelul terminatiilor nervoase etc.

In momentul in care numarul de germeni si cantitatea de toxine acumulate a ajuns la un anumit nivel apare:

- **perioada de debut** sau prodromala cu simptome necaracteristice: febra, frison, cefalee, indispozitie. Urmeaza apoi:

- **perioada de stare** in care apar simptomele caracteristice fiecarei boli: digestive, respiratorii, diferite eruptii cutanate sau mucoase, modificari sanguine etc.

In aceasta se pune diagnosticul si se iau masuri de tratament care vor influenta evolutia ulterioara a bolii, deoarece in acesta perioada activitatea agentului infectios asupra organismului este marita.

Daca organismul a invins infectia, urmeaza

- **perioada de defervescenta** in care dispar cele mai importante simptome de boala, iar febra scade brusc "in crisis" sau lent, progresiv "in lisis".

In faza de **convalescenta** incepe refacerea organismului si toate functiile revin la normal.

Urmeaza apoi **vindecarea**, adica revenirea completa la starea de sanatate sau cu sechele, in raport cu natura procesului infectios.

De cele mai multe ori vindecarea survine concomitent cu sterilizarea bacteriologica a focarului infectios. In unele cazuri insa bacteriile raman in anumite sedii din organism: vezicula biliara, intestin, vezica urinara, sinusuri osoase etc. fiind sursa unor infectii cronice sau latente. Astfel de bolnavi, in unele cazuri prin eliminarea microbilor in exterior de la nivelul intestinului, veziculei biliare, sunt periculosi pentru cei din jur constituind "purtatorii intermitenti" sau "permanenti" de microbi patogeni, aparent sanatosi.

Diferite moduri de evolutie a infectiei

Infectia poate evolua:

- aparent sub forma de boala si
- inaparent, in absenta simptomelor clinice.

In cazul **infectiei aparente** aceasta poate evolua acut sau cronic, in raport cu bacteria infectanta si rezistenta organismului. Infectia cronica survine in special in cazul in care microbii prezinta localizari profunde, adesea inaccesibile factorilor de aparare antiinfectioasa specifica, complicate adesea prin fenomene de sensibilizare (tuberculoza, sifilis).

Infectia inaparenta evolueaza asimptotic deci fara semne evidente clinice de boala. Prezenta acestei infectii se confirma prin teste de laborator care pun in evidenta anticorpii specifici, prin pozitivarea reactiilor serologice, deci a starii de imunitate la aceste persoane.

Infectiile inaparente prezinta o mare importanta epidemiologica deoarece pe de o parte realizeaza in mod natural imunizarile "oculte" in masa populatiei prin infectii mici si repetate (scarlatina, difterie), dar pe de alta parte, deoarece infectia evolueaza fara manifestare clinica, aceste persoane reprezinta o importanta sursa de infectie pentru familie si colectivitate.

BIBLIOGRAFIE

1. BURROWS W.: "Textbook of Microbiology" Saunders Company,

Philadelphia-London, 1964, pp.318-334.

2. CRUICKSHANK R.: "Medical Microbiology", Livingstone, LTD, Edinburgh-London, 1965, pp.100-112.

3. DUBOS R.J., HIRSCH J.G.: "Bacterial and Mycotic Infections of Man", 4 th Ed. Lippincott Comp. Philadelphia, 1965, pp.146-168.

4. DUCA EUGENIA: "Curs de Microbiologie pentru studentii facultatilor de medicina", Iasi, vol.II, 1973, pp.281-317

5. ZARNEA G.: "Microbiologie generala" ,Ed.didactica si pedagogica, 1970, pp.457-475.

6. ZILBER I.A.: "Bazele imunologiei", Ed.medicala, Bucuresti, 1959, pp.27-107.

7. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

ELEMENTE DE EPIDEMIOLOGIE

Epidemiologia este ramura medicinei care se ocupa cu studiul epidemiilor, deci cu studiul bolilor cu raspandire in masa populatiei (epi=aspura; demos=popor; logos=stiinta).

In trecut notiunea de boala cu caracter epidemic se referea in general la descrierea bolilor infectioase care evoluau extensiv, la grupe mari de populatie pe zone geografice intinse. In prezent, epidemiologia se ocupa in primul rand cu studiul proceselor epidemiologice ale bolilor infectioase dar si a altor stari morbide cu mare difuzibilitate in populatia umana precum si cu studiul si aplicarea celor mai eficiente metode de profilaxie si combatere in vederea stingerii acestor procese si eradicarea bolilor respective (I.M.Ivan).

Intr-adevar, in ultimii ani este tendinta de a cuprinde in sfera epidemiologiei numeroase alte boli netransmisibile, dar cu mare extindere in masa si cu importanta mortalitate care le studiaza ca probleme majore, pe plan mondial. Acestea sunt: diabetul si bolile cardiovasculare (infarct, hipertensiune, ateroscleroza), apoi reumatism, cancer, boli psihice, alcoolism.

Dupa unele opinii, aceste boli netransmisibile nu au propriu-zis o "epidemiologie" proprie, ci pentru studiul lor se aplica aceleasi metode ca pentru epidemiologie:

- metoda observatiei
- metoda statistica
- metoda experimentului epidemiologic
- metoda comparativ- istorica.

Obiectul epidemiologiei il constituie studiul diferitelor forme de manifestare a procesului epidemiologic, al conditiilor care il genereaza, a factorilor care actioneaza asupra sa ca si a metodelor de lupta impotriva bolilor infectioase in colectivitati precum si a metodelor de lichidare a acestora.

Procesul epidemiologic reprezinta totalitatea mecanismelor si a factorilor favorizanti din mediu care fac ca o boala infectioasa sau stare morbida sa apara, sa difuzeze sau sa dispara dintr-o colectivitate receptiva umana.

Studiul epidemiologiei cuprinde: epidemiologie generala si epidemiologie

speciala.

Epidemiologia generala studiaza problemele teoretice si legile generale proprii procesului epidemiologic si stabileste principiile generale de profilaxie si combatere.

Epidemiologia speciala se ocupa cu studiul separat al fiecarei boli infectioase, cu particularitatile procesului epidemiologic atat din punct de vedere al izvorului de infectie, cailor de transmitere, receptivitatea populatiei etc.

Procesul epidemiologic prezinta o componenta biologica: procesul infectios si o componenta speciala: masa receptiva a populatiei, conditiile social-economice etc.

Principalii factori ai procesului epidemiologic

Pentru ca o epidemie sa se produca trebuie sa existe trei conditii esentiale care constituie cele trei verigi principale ale procesului epidemic: izvorul de infectie; caile de transmitere; populatia receptiva, la care se adauga o serie de factori favorizanti (naturali, sociali-economici, culturali etc). Daca una din verigile esentiale lipseste, epidemia nu se produce.

I. Izvorul de infectie

Izvorul de infectie denumit si “rezervor de infectie”, “sursa de infectie ” sau “rezervor de virus” este reprezentate de obicei de omul bolnav sau purtator precum si de animale, pasari, artropode care permit imultirea microbilor sau virusurilor in organismul lor si apoi prin diverse cai de eliminare asigura raspandirea infectiei si transmiterea ei la personae receptive.

Izvoarele de infectie creaza focare in care se afla unul sau mai multi indivizi si in care sunt satisfacute toate conditiile de raspandire a infectiei.

Omul sau animalele bolnave si purtatoare elimina microbii patogeni in mediul extern pe diferite cai:

- secretii nazo-faringiene si sputa: febre eruptive, gripa, difterie, tuse convulsive, tuberculoza etc.;
- saliva: turbare, parotidita epidemica;
- secretii purulente cutanate: stafilococii, erizipei, variola, pesta;
- materii fecale: febra tifoida, dizenterie, holera, poliomielita, hepatita virala;
- urina: leptospiroza, tuberculoza renala, febra tifoida;
- sange: tifos exantematic, hepatita virala;
- lapte: bruceloza, tuberculoza, febra aftoasa, infectii stafilococice, streptococice etc.

1. Omul poate fi o sursa de infectie in doua situatii: a) omul bolnav sau b) purtator.

a) Omul bolnav reprezinta cel mai important rezervor de infectie, in diferite etape ale bolii, de ex.: in tusea convulsiva, holera, bolnavul este mai contagios in perioada de incubatie, inainte deci de aparitia primelor simptome; in rujeola, in perioada de invazie, dar in majoritatea bolilor cea mai mare contagiozitate este in perioada de stare: febra tifoida, tifos exantematic; in febra tifoida perioada de contagiune se prelungeste adesea si in perioada de convalescenta.

Durata fazei de contagiune variaza in raport cu boala, de ex.: in boli

cornice ca: lepra, tuberculoza, uneori dizenteria, omul bolnav constituie un izvor de infectie de lunga durata (ani de zile).

Trebuie avut in considerare posibilitatea transmiterii infectiei de catre personae cu forme atipice, abortive, formele ambulatorii ca si infectii inaparente care, avand o evolutie stearsa din punct de vedere clinic sunt cele mai periculoase, deoarece trec neobservate si scapa controlului epidemiologic. In acest fel se pot transmite: poliomielita, hepatita, meningita cerebro-spinala epidemica etc.

2. Purtatorii de germeni. Cu toate ca in majoritatea bolilor infectioase vindecarea clinica este insotita de sterilizarea bacteriologica, exista unele boli in care dupa vindecare, agentii patogeni se elimina in continuare in convalescenta si chiar dupa aceea, fostii bolnavi constituind "purtatorii de germeni".

In prezent prin purtatorii de microbi se intelege: "orice persoana sanatoasa sau aparent sanatoasa care adaposteste in organismul sau si elimina in mod continuu sau intermittent bacterii patogene in mediul extern".

Purtatorii de germeni pot elimina bacteriile inca din perioada de incubatie constituind:

a. purtatorii precoci sau preinfectiosi: febra tifoida, holera, hepatita epidemica, poliomielita;

b. purtatorii fosti bolnavi care pot fi:

- intestinali (febra tifoida, dizenterie, poliomielita);
- urinari (febra tifoida, leptospiroza);
- sanguini (hepatita serica).

Eliminarea bacteriilor poate fi facuta in mod permanent sau intermitent, iar purtatorii pot fi:

- temporari (febra tifoida, dizenterie, scarlatina, difterie) sau
- cronici (febra tifoida cu localizarea bacilului tific in colecist sau in anginele streptococice cu localizarea microbilor in cripetele amigdaliane etc.).

c. purtatorii sanatosi (purtatorii de contact sau ocazionali). Starea de portaj a microbilor patogeni survine in urma contactului cu omul bolnav, purtatorul fiind imun si deci in plina stare de sanatate. Imunitatea acestor purtatori este explicate fie prin vaccinare artificiala fie printr-o imunizare naturala sau "imunizari oculate", care survin in urma contactelor mici si repetate cu microbul infectant.

Starea de purtator sanatos este temporara, tranzitorie si dureaza atat timp cat individual vine in contact cu sursa de infectie (om bolnav sau purtator).

Purtatorii de microbi intretin endemic o bolala transmisibila in sensul ca pot genera la un moment dat cazuri noi de imbolnavirii, adesea sub forma de izbucniri epidemice (epidemii hidrice, alimentare).

2. Animale ca sursa de infectie

Numeroase infectii sunt *comune omului si diferitelor specii animale* fiind denumite **zoonoze**, animalul constituind de cele mai multe ori sursa de infectie. Principalele zoonoze sunt: bruceloza, morva, tularemia, salmoneloza, leptospiroza, antraxul etc.

Astfel:

- cabalinele transmit: morva, antraxul;
- bovinele, ovinele: salmoneloza, bruceloza, antrax, leptospiroza;
- porcinele: bruceloza, salmoneloza, leptospiranoza si unele parazitoze: trichineloza, teniaza;
- rozatoarele: pesta, tularemia, bruceloza. Salmoneloza;
- cainii: turbarea, leptospiroza, tuberculoza;
- pisicile: turbarea;
- lupii: reperzinta izvorul de infectie in rabie;
- pasarile: encefalite virotice, salmoneloza, ornitoza;
- artropode (capuse): tularemia, encefalita virala primavara-vara etc.

II. Caile de transmitere a infectiei

A doua veriga principala a lantului epidemiologic este construita din caile de transmitere ale infectiei care pot fi definite astfel: “drumul pe care agentul patogen il parcurge de la sursa de infectie (omul sau animalul bolnav sau purtator) pana la persoana receptiva pentru a determina o contaminare sau eventual o noua imbolnavire”.

Mecanismele de transmitere a bolilor contagioase sunt foarte variate.

Propagarea unei infectii se poate face in mod direct si indirect :

1. transmiterea **directa** prin contactul direct cu persoana bolnava sau cu produsele sale patologice de ex.: in difterie, in boli venerice (contact sexual), in hepatita cu virus B (transfuzii de sange sau plasma).

2. transmiterea **indirecta** se face prin intermediul unor elemente din mediul extern (apa, aer, alimente, obiecte).

-prin aer se pot transmite: infectiile respiratorii (gripa, tuberculoza etc.), febrile eruptive;

-prin sel: infectia carbuneasa, gangrene gazoasa, tetanus;

-ape(de suprafata, fantani, conducte): febra tifoida si alte salmoneloze, holera, dizenterie;

-medicamente: tetanos, salmoneloze, diferite infectii cu stafilococi, streptococci, piocianic, b.coli etc;

-alimente: tuberculoza, bruceloza, toxiinfectii alimentare (cu stafilococ, salmonelle, bacil botulinic etc.);

-obiecte: difterie, scarlatina etc.

Rolul mainilor murdare. Daca nu se respecta igiena personala, in special a mainilor, exista pericolul ca in cazul purtatorilor de germeni sa se transmita bacterii patogene la persoane sanatoase. Astfel mai ales cei care manipuleaza medicamente sau alimente pot transmite prin intermediul mainilor murdare diferite infectii cu poarta de intrare digestiva: febra tifoida, salmoneloze, infectii cu stafilococi sau b. coli patogen, dizenterie etc.

Unele insecte au rolul de a transmite anumite infectii fie:

- in mod pasiv, vehiculand doar bacteriile luate din produse patologice (materii fecale) pe care le transporta pe alimente (muste, gandaci) sau

- in mod activ in sensul ca agentul etiologic se imulteste in organismul lor de ex: - paduchele transmite fifosul exantematic; tantarul anofel malarie; puricele: pesta, tifosul exantematic murin, tularemia; capusele: tularemia,

rickettsiozele si encefalitele de capusa.

Din mediul extern bacteriile pot ajunge in organism pe mai multe cai. Locul de patrundere al microorganismului in organism se numeste "poarta de intrare" si cele mai importante cai sunt: cutanata, respiratorie, digestiva.

III. Populatia receptiva

A treia veriga sau factor epidemiologic important, esential pentru desfasurarea procesului epidemiologic este masa de indivizi receptivi, adica sensibili, susceptibili de a crea conditii optime de existenta si inmultire a agentului infectios. Gradul de receptivitate depinde de particularitatile individuale, conditii de mediu, sociale etc., iar situatia inverse de rezistenta la infectie este conferita fie de rezistenta naturala, imunitatea dupa boala, infectii inaparente sau in urma vaccinarilor, fie prin imunitate dobandita in mod activ sau pasiv prin seruri si prin alte mecanisme.

Bibliografie

1. BALS M.: "Boli infectioase", vol.I, Ed.med. Bucuresti, 1958;
2. CAJAL M.: "Diagnosticul de laborator al inframicrobizelor umane", Ed.Acad.R.P.R., Bucuresti, 1958;
3. DUCA M.: "Inframicrobiologie", Ed.didactica si pedagogica, Bucuresti, 1965;
4. IVAN I.M., TURCU T., TEODOROVICI Gr., BOER L., POP C.: "Curs de epidemiologie generala si speciala", I.M.F. Bucuresti, 1963;
5. NESTORESCU N., POPOVIVI M.: "Toxiinfectiile alimentare", Ed.medicala, Bucuresti, 1959;
6. POP AL. , BENEDICT I.: "Bruceloză umana ", Ed.medicala, Bucuresti, 1954;
7. STAMATIN M.: "Microbiologie veterinara", vol II, Ed. Agrosilvica de stat, Bucuresti, 1957;
8. TEODOROVICI Gr., IVAN A., ZVORISTEANU V.: "Elemente de epidemiologie practica", Litografia IMF Iasi, 1965;
9. TEODOROVICI Gr.: "Curs de epidemiologie", Litografia IMF Iasi, 1966.
10. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

Modul B. Bazele imunologiei

CURS 6

8. Imunitatea nespecifica

9. Imunitatea specifica

NOȚIUNI DE IMUNOLOGIE

(Andriaș Alexandra –Elena, Anul II Grupa 1, 9 Aprilie 2009)

Imunologia este știința care se ocupă cu studiul tuturor modificărilor care apar în organism:

1. **Reacții de apărare** față de pătrunderea în țesuturi fie a unor agenți neinfecțioși (celule, seruri, heteroloage, anumite grefe) pe care în general organismul după un anumit interval le elimină sau pentru diferiți agenți infecțioși (bacterii, virusuri) împotriva cărora organismul se apară prin mecanisme imunologice complexe, umorale și celulare. Imunologia studiază de asemenea și

2. **Reacțiile de sensibilizare**, adesea dăunătoare pentru organism, reacții care sunt determinate de contactul repetat cu anumite substanțe care ajung în intimitatea țesuturilor: unele substanțe chimice, anumite medicamente inclusiv antibiotice, seruri imune heterologice, unele bacterii etc.

APARAREA SAU REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ

Rezistența antiinfecțioasă reprezintă ansamblul adaptărilor organismului transmise pe cale ereditară sau câștigate în timpul vieții individuale, care împiedică pătrunderea și multiplicarea agenților infecțioși în organism.

Mecanismele prin care se realizează starea de **nereceptivitate** a organismului față de o infecție sunt următoarele:

- rezistența de specie
- factorii nespecifici ai apărării
- apărarea specifică sau imunitatea antiinfecțioasă.

8. Imunitatea nespecifica

REZISTENȚA DE SPECIE (înnăscută sau naturală) S-a observat că există boli care afectează numai omul: infecția gonococică, sifilitică, sau numai animalul: holera găinilor, ciurma bovinelor etc., omul nefiind receptiv pentru aceste boli.

Explicația acestui fenomen constă în ipoteza că în organismul speciei rezistente există un mediu chimic neadecvat, complet nefavorabil bacteriei infectate. O altă ipoteză ar fi selecția unor indivizi rezistenți din cadrul speciei, care după generații multiple își modifică reactivarea organismului pentru bacteria față de care erau inițial sensibili.

a) Așadar există specii care în mod natural, prin naștere sunt complet nereceptive pentru o anumită infecție față de care este sensibilă o altă specie.

b) Tot astfel, prin selecția naturală a unor indivizi mai puțin receptivi față de o anumită îmbolnăvire, care se realizează treptat, se explică în prezent

rezistența mai mare a omului față de lepră, sifilis, boli care în trecut prezentau o gravitate deosebită.

2. FACTORII NESPECIFICI AI APĂRĂRII ANTIINFECTIOASE

Aici se încadrează numeroși factori activi de apărare de care dispune individul, în lupta sa contra infecției. Deși această capacitate este înnăscută ea nu ține de specie (umană, animală) și în același timp organismul reacționează identic în procesul de apărare, indiferent de specia microbiană.

Apărarea antiinfecțioasă nespecifică se realizează în organism prin:

- factori externi și
- factori interni.

a) Factorii externi nespecifici ai apărării antiinfecțioase sunt:

i. Barierele mecanice: organismul se opune infecției în primul rând prin barierele de înveliș, piele și mucoase. Acestea prin integritatea lor anatomică împiedică pătrunderea microorganismelor în timp ce o injecție septică sau traumatisme întâmplătoare: răni, arsuri, tăieturi, permit pătrunderea directă a microbilor în țesuturi.

Cilii vibraționali de la nivelul căilor respiratorii, peristaltismul intestinal ajută la îndepărtarea continuă a bacteriilor; de asemenea lacrimile, saliva, urina, elimină în permanență bacteriile prin spălare;

ii. Barierele chimice cum sunt: pH-ul ușor acid de la nivelul pielii, a vaginului, acidul clorhidric și sucul gastric, toate limitează propagarea infecției.

Lizozimul, enzima mucolitică descoperită de Fleming în 1922, prezintă în salivă, lacrimi, mucus nazal, are o importanță acțiune bactericidă în special asupra florei gram-pozitive acționând prin liza peretelui bacterian. De asemenea această enzimă favorizează liza bacteriilor gram-negative și ușurează fenomenul de gagicitoză constituind în acest fel și un important factor intern de apărare antiinfecțios;

iii). Bariera biologică reprezentată de flora comensală „normală” existența pe piele și mucoase, se opune de obicei pătrunderii în organism a bacteriilor patogene.

Astfel se cunoaște acțiunea streptococului salivarius de la nivelul cavității bucale, care prin cantitatea mare de peroxid de hidrogen pe care o elimină.

La nivelul vaginului, există în mod normal un pH acid care este realizat și menținut de *Lactobacillus acidophylus* (b.Doderlein), și care nu permite dezvoltarea florei patogene.

Înteruperea echilibrului biologic realizat la nivelul mucoaselor printr-un raport cantitativ între diferitele specii de bacterii și levuri, în special sub influența tratamentului cu antibiotice, permite selectarea și dezvoltarea în exces a unei specii rezistente la acel antibiotic: stafilococi, bacili gram-negativi, *Candida albicans*. În acest fel prin perturbarea florei normale care menține de obicei integritatea mucoaselor, apar infecții nedorite, secundare, în special după tratamentul cu antibiotic.

b) Factorii interni ai apărării nespecifice

La nivelul țesuturilor profunde există o serie de mecanisme prin care organismul se opune infecției. Astfel:

i) țesutul conjunctiv intercelular numit și „cimentul intercelular”, se opune propagării infecției, constituind o barieră mecanică;

ii) o serie de factori umorali care acționează independent de anticorpi și complement, dintre care lizozimul, unele polipeptide bazice, prezente în serul și umorile organismului manifestă o puternică acțiune antimicrobiană.

De asemenea în serul normal se găsesc substanțe ca alfa-lizia (indentică probabil cu alexina sau complementul) activă asupra bacteriilor gram-negative și beta-lizina, mai puțin studiată, asupra bacteriilor gram-pozitive;

iii) factori celulari, atunci când un microb pătrunde în organism el se adaptează în noile condiții și începe să se multiplice.

La locul de pătrundere are loc o iritație mecanică, prin prezența bacteriilor și una chimică, prin eliminarea de produse toxice din substratul celular distrus. Există deci o spină iritativă locală, care la început activează circulația fiind urmată apoi de stază. Prin peretele capilarelor terminale începe fenomenul de diapedeză; la început traversează plasma, și apoi polimorfonuclearele neutrofile și microfagele. Apare fenomenul de inflamație cu următoarele caractere: timor, rubor, calor, dolor; iar la acel nivel din polinuclearele microfage și ulterior macrofagele mobilizate, unele intacte iar altele distruse după contactul cu microbul, se formează puroiul.

Inflamația nespecifică trebuie considerată un proces de apărare contra infecției, prin care organismul încearcă să o limiteze, uneori prin formarea unei rețele de fibrină care o separă de restul țesuturilor învecinate; astfel infecția s-ar putea generaliza prin invazia țesuturilor din jur sau pe căi limfatice, sanguine etc.

Fagocitoza. Actul propriu-zis al fagocitozei constă din înglobarea bacteriilor de către celule specializate denumite fagocite și care sunt de două feluri:

- microfage (polinucleare neutrofile),
- macrofage libere și fixe.

Macrofagele libere, prezente în sânge sunt reprezentate de monocite iar cele fixe, care pot fi ușor mobilizate sunt de fapt histiocitele țesutului conjunctiv lax cât și histiocitele din splină, ganglioni limfatici, ficat, peretele intern al capilarelor etc.

Datorită unui chimiotactism pozitiv, leucocitul se deplasează spre locul unde sunt prezente bacteriile. Se stabilește un contact direct între bacterie și fagocit, care prin pseudopodele emise cuprinde bacteria într-o invaginare a membranei citoplasmatică, după care cele două extremități citoplasmatică se unesc și determină astfel includerea bacteriei într-o „vacuola fagocitară” unde începe procesul de digerare al bacteriei prin enzime elaborate la nivelul lizozimilor de către celulă.

În interiorul celulei are loc în general distrugerea bacteriilor cu unele excepții: b. Koch, salmonelle, brucele, listerii, care pot persista în celulă fără să fie distruse; aceste bacterii se numesc „facultativ intracelulare.

În concluzie, factorii externi și interni nespecifici ai apărării antiinfecțioase, sunt activi pentru orice specie de microb, în special asupra bacteriilor potențial patogene dar sunt mai puțin eficienți asupra bacteriilor

foarte patogene. De aceea orice factor care modifică integritatea anatomică a acestor bariere sau factori generali care scad rezistența organismului, favorizează infecțiile cu bacterii potențial patogene.

9. Imunitatea specifică

REZISTENȚA SAU IMUNITATEA ANTIINFEȚIOASĂ DOBÂNDITĂ, SPECIFICĂ Pe lângă rezistența naturală (de specie) și factorii nespecificii ai apărării antiinfecțioase, caractere care se transmit ereditar, prezente la toți indivizii unei specii, rezistența antiinfecțioasă specifică este „dobândită” de fiecare individ în timpul vieții, în raport cu infecțiile pe care le-a contractat. Această rezistență este specifică, fiind valabilă numai față de microbul infectat sau vaccinat cu care a venit în contact organismul de ex.: toxiinfecția difterică determină rezistența numai față de difterie, febră tifoidă conferă după vindecare rezistența antiinfecțioasă față de bacilul tific, variola numai față de virusul variolic etc.

Rezistența antiinfecțioasă specifică se mai numește și „imunitate specifică” de la cuvântul latinesc *immunis*-scutit de dări, apărut; în interpretarea imunologică înseamnă ca un organism vaccinat sau trecut printr-o infecție, după vindecare este scutit, ferit de o nouă îmbolnăvire cu același agent infecțios.

În cadrul procesului imun organismul răspunde la agresiunea antigenului în mod activ prin două mecanisme:

- prin formare de anticorpi,
- prin modificări celulare specifice cărora antigenul le imprimă funcția de anticorpi (limfocite specific sensibilizate).

Toate substanțele care introduse în organism determină astfel de modificări se numesc antigene, iar factorii apăruiți în organism ca răspuns la pătrunderea antigenului sunt denumiți anticorpi.

Anticorpii sunt de două feluri; umorali și celulari (limfocitele specifice sensibilizate cu funcție anticorp).

Așadar imunitatea specifică antiinfecțioasă cuprinde atât imunitatea umorală cât și cea celulară. Ambele mecanisme se bazează pe pătrunderea și acțiunea antigenului în organism, cu toate proprietățile sale (virulenta, toxinogeneza, sensibilizare) și modul individual de a reacționa a fiecărui organism.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 7

10. Antigenul**11. Anticorpi; definiție, structura, clase****10. ANTIGENUL**

Antigenele sunt substanțe care introduse pe cale parenterală în organismul uman sau animal stimulează elaborarea de celule specializate și anticorpi umorali cu care reacționează specific atât *in vivo* cât și *in vitro*. Antigenele sunt reprezentate atât de microbi și produsele lor cât și de celule sau substanțe necelulare și netoxice de origine animală sau vegetativă (albuș de ou, ser și celule de la alte specii animale, unele medicamente, polenul de flori, etc. Pentru ca o substanță să fie antigenică, deci ca să poată stimula în organism formarea de anticorpi ea trebuie să îndeplinească o serie de condiții:

1) să fie „străină” față de sistemul celular imunocompetent din organism sau să aibă cel puțin unele structuri chimice deosebite față de cele ale organismului în care a pătruns. În general, sistemul imunoformator nu produce anticorpi față de propriile sale țesuturi pe care le recunoaște „ca proprii”, ceea ce se numește toleranța imunologică naturală, dar reușește să recunoască ori structura chimică diferită de organism ca „nepropriu” față de care declanșează procesul imun. Într-adevăr sistemul imunocompetent recunoaște ca „proprii” (self) numai structurile chimice cu care a venit în contact în timpul maturării sale și „străine” (nonself) orice substanță cu care nu a luat contact această perioadă, fie de origine exogenă (deci din afara organismului) sau chiar endogenă, substanțe rezultate din modificarea chimică locală a unor țesuturi care devin astfel „străine” pentru propriul organism. Astfel unele bacterii, virusuri sau substanțe medicamentoase se absorb pe anumite țesuturi, le alterează, modifică compoziția lor chimică și formează autoantigene, față de care organismul reacționează prin elaborarea de anticorpi.

Din acest punct de vedere se pot deosebi:

- heteroantigenele, antigene provenite de la altă specie (animală, vegetală)
- izoantigenele, antigene comune la un grup de indivizi în cadrul aceleiași specii (la om pe baza acestor antigene sau diferențiat grupele sanguine);
- autoantigenele, țesuturi proprii modificate care joacă rol de antigene și stimulează producerea de anticorpi. În acest caz anticorpii se numesc „autoanticorpi” iar bolile provocate „de autoagresiune” sau „autoîntreținere”.

2) Antigenul trebuie să posede o anumită structură chimică. S-a observat că substanțele cu structura chimică complexă, cu greutate moleculară de cel puțin 40.000, sunt cele mai bune antigene. Acestea sunt proteine sau complexe proteice: nucleoproteice, proteine cu polizaharide și mai rar polizaharide simple.

3) Antigenul să persiste un anumit timp în organism. O proprietate esențială pentru ca o substanță să fie antigenică este persistentă în organism, antigenul trebuie să aibă o durată de remanentă, adică să nu fie eliminat prea repede din organism ci să persiste în prezența sistemului imunoformator. Acest lucru poate fi realizat, în experiment, prin inocularea antigenului în doze fracționate sau cu ajutorul unor substanțe speciale denumite „adjuvanți”.

Deoarece antigenul trebuie să rămână în organism nemodificat din punct de vedere chimic el trebuie să pătrundă direct în țesuturi, pe cale parenterală (răni, mușcături, tăieturi, injecții). Aceeași substanță administrată pe cale digestivă poate să nu fie antigenică fiind modificată chimic de sucurile gastrice.

4) o altă proprietate a antigenității este specificitatea. Substanța este antigenică numai atunci când prezintă la nivelul determinațiilor antigenice o anumită structură chimică. Orice modificare survenită la acest nivel modifică caracterul de antigenitate.

Alte tipuri de antigene:

- haptenele. Unele substanțe deși sunt incapabile să determine în organism apariția de anticorpi pot reacționa specific in vitro cu anticorpii produși de antigenele complexe din care ele fac parte. Haptenele sunt considerate antigene incomplete care cuplate cu o proteină pot deveni veritabile antigene. Numeroase polizaharide, lipide, unele substanțe chimice se comportă ca haptene.

- antigenele tip „Forssman” sunt antigene cu structură asemănătoare între ele, foarte răspândite în natura la diferite bacterii: pneumococi, enterobacterii apoi globule roșii de oaie, câine, vegetale etc. Ele explică reacțiile încrucișate, paradoxale, neașteptate care au uneori în cadrul testelor de laborator.

Structura antigenică a bacteriilor.

Precizarea structurii antigenice cu ajutorul serurilor specifice preparate pe iepuri este necesară atât în cadrul diagnosticului de laborator pentru identificarea bacteriei în scopul preparării de seruri imune și vaccinuri.

Antigenele bacteriene sunt legate de structura corpului bacterian: antigene somatice, ciliare, capsulare.

În general, antigenele plasate profund în bacterie sunt cele mai puțin specifice fiind comune la diferite specii și chiar la mai multe genuri.

Antigenele de suprafață sunt mai specifice, de exemplu: antigenul la enterobacterii (glucido-lipido-polipeptidic) este specific de grup iar cel ciliar, de natură proteică; specific de tip; antigenul capsular, specific de tip la pneumococ.

11. Anticorpi; definiție, structura, clase

ANTICORPII Anticorpuscul este o gamaglobulina modificată care apare ca răspuns la pătrunderea antigenului în organism și care are proprietatea de a reacționa specific cu antigenul care i-a determinat apariția. În organism există anumite celule ale sistemului retico-histicitar (macrofage, limfocite, plasmocite) numite „sistemul celular imunocompetent” (SCIC) care sunt capabile să sufere transformări sub influența antigenului și să devină „sistem celular imunofactor” sau efector (SCIF) adică:

- producător de anticorpi umorali și
- limfocite specifice sensibilizate sau anticorpi celulari.

Celulele imunocompetente își au originea în organele limfoide embrionare, celulele „stem” din măduva osoasă care în a doua perioadă embriogenezei migrează în organele limfocite primare sau centrale, unde vor deveni limfocite. Organele limfocite primare sunt reprezentate la păsări de timus și bursa lui Fabricius iar la mamifere, inclusiv om, de timus și de „echivalenții

bursei lui Fabricius” reprezentați probabil de țesutul limfocit din amigdale, apendice, intestin.

În timus celula matcă se diferențiază în limfocit (timus-dependent) iar la nivelul; echivalenților bursei lui Fabricius în limfocite B (timus-independente sau burso-dependente).

În perioada perinatală, ca răspuns a pătrunderii antigenului în organism cele T și B migrează în organele limfocite secundare sau periferice : splina, ganglioni limfatici, plăcile lui Peyer; formând:

- sistemul bursal constituit din limfocitele B care prin celula sa plasmocitul reprezintă sursa cea mai importantă secretoare de gamaglobulina anticorp, responsabilă de fenomenele de „tip umoral” sau „imediat” și

- sistemul timal reprezentat de limfocitele T, responsabile de fenomenele imunologice mediate de celule sau de „tip întârziat”.

Pentru ca să aibă loc elaborarea de anticorpi în organism, antigenul trebuie să ajungă nemodificat până la elementele sistemului imunocompetent (reticulohistiocitar).

Pătrunderea pentru prima oară în organism a unui antigen este urmată în primul rând de mobilizarea polimorfonuclearelor neutrofile (cu importanța minoră imunologică) și apoi cea a macrofagelor, care intră în activitate. Astfel macrofagele care au înglobat antigenul, migrează spre cel mai apropiat organ limfoid, unde se înconjoară de numeroase limfocite T și B formând „centri germinativi”.

În interiorul macrofagului antigenele (corpusele sau solubile) suferă o serie de transformări, scindări, sub acțiunea enzimelor lizozomale ale macrofagului până la structurile care dețin „informația antigenică” a antigenului.

Această perioadă care durează câteva zile, reprezintă faza de „preparare a antigenului” după care informația antigenică este transmisă de la macrofag, prin ARN mesager limfocitelor din jur care sunt dispuse sub forma de coroană în jurul macrofagului. Informația de transmite atât limfocitelor T cât și celor B.

După ce limfocitele au fost „informate” ele se transformă în celule mari, pironinofile, ”imunoblaste”: plasmoblasti și limfoblasti.

Aceștia prin diviziune determină două linii celulare diferite din punct de vedere morfologic și funcțional:

- plasmocite mature, secretoare de anticorpi umorali și
- limfocite T mici, specific sensibilizate.

Plasmocitul derivat din limfocitele B produce o cantitate mare de anticorpi umorali, imungamaglobulinele (Ig) timp de câteva zile până după care aceste celule mor. Se cunosc până în prezent 5 grupe de anticorpi (sau reagine): IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Sediul de formare al anticorpilor este la nivelul organelor de formare limfopoetice: splina, ganglioni, măduva osoasă.

Aceste gamaglobuline modificate (anticorpii), reprezintă pe suprafața lor „sedii de cuplare” de obicei în număr de două, de configurație inversă cu antigenul care le-a dat naștere și reprezintă locul de unire specifică cu antigenul. Această cuplare are loc în vitro sau în organism atunci când cele două elemente se întâlnesc în concentrații optime. În acest fel și în raport cu natura anticorpilor,

neutralizare, deosebit de importante atât pentru organism cât și în diagnosticul bolilor infecțioase, ele fiind foarte specifice.

În laborator, utilizând antigene cunoscute, se pot pune în evidență anticorpii prezenți în serul bolnavilor, sau invers, utilizând seruri aglutinante cunoscute se pot identifica bacteriile necunoscute, izolate de la bolnav.

De asemenea limfocitul T specific sensibilizat participă și el în procesele imunologice umorale și celulare și prezintă următoarele proprietăți:

- recunoaște antigenul specific;
- determină fenomene de sensizare de „tip întârziat”;
- este capabil de a iniția răspunsul imunologic de „tip secundar” („limfocite cu memorie”).

Dinamica apariției anticorpilor S-a observat că răspunsul organismului în ceea ce privește elaborarea de anticorpi variază după cum organismul vine în contact prima oară cu acel antigen, în care caz are loc răspunsul de „tip primar” sau în mod repetat „răspunsul de tip secundar”.

a. Răspunsul de tip primar. În acest caz organismul la început nu va reacționa prin răspuns imunologic (aproximativ 7 zile) perioada care corespunde fazei de „preparare a antigenului” și a modificărilor celulare care preced anticorpoogeneza, după care apar anticorpii care cresc treptat până la un titru maxim după un interval de încă o săptămână; urmează o perioadă în care titrul anticorpilor se menține la același nivel după care survine o scădere treptată întâi mai rapidă și apoi mai lentă de 2-3 săptămâni. În acest răspuns imunologic de tip primar un rol esențial îl are plasmocitul prin elaborare activă de anticorpi.

b. Răspuns de tip secundar. Dacă la același organism se face o nouă inoculare cu același antigen, în momentul când practic au dispărut anticorpii, titrul lor crește imediat după inoculare (în primele zile) la nivelul arin chiar mai înalt ca prima dată și se menține într-un titru ridică, coboară și rămâne mai mult timp în platou, până la dispariție („răspuns de tip secundar”).

În acest caz, inițierea răspunsului imun este făcută de „limfocitele cu memorie” care răspund imediat fără a fi necesară faza de preparare a antigenului. Ele se diferențiază rapid în plasmociti și secreția de anticorpi se produce în cantitate mare la scurt interval după pătrunderea antigenului: „booster efect”. Pe acest principiu se bazează necesitatea și eficiența revaccinărilor în practica medicală (injecția de rapel).

Prezența anticorpilor celulari determină în organism imunitatea celulară. În acest scop în răspunsul de tip primar are loc o concentrare a limfomacrofagelor în focarul infecțios care determină formarea unui „infiltrat monocitar” caracteristic inflamației în care intervin factorii imunității celulare (limfocitele T, specific sensibilizate).

Acest tip de imunitate intervine total sau parțial în unele infecții determinate în special de bacterii facultativ intracelulare: b. Koch, salmonelle, listerii precum și de unele virusuri. În acest caz, existând în organism celule sensibilizate la Ag, înglobarea bacteriilor de către macrofage se face mai intens (datorită mediatorilor chimici), și este urmată de moartea bacteriilor. În consecință în majoritatea cazurilor, infiltratul monocitar realizează delimitarea focarului infecțios, asigurând uneori chiar sterilizarea lui.

În cazul contactului cu antigenul, deci a răspunsului de tip secundar, formarea infiltratelor monocitare prin aflux mare de limfocite și monocite determină uneori reacții locale foarte intense, urmate de manifestări clinice evidente, alarmante, putând evolua spre necroză, scleroză și chiar moarte. Această evoluție nefavorabilă pentru organism a reactivității celulare se numește „fenomen de sensibilizare mediat de celule” sau „fenomen de sensibilizare de tip întârziat” sau de „hipersensibilizare”. Așadar, apariția și prezența anticorpilor în organism conferă acestuia fie starea de rezistență sau imunitatea antiinfecțioasă sau dimpotrivă starea de sensibilizare alergică.

TIPURI DE IMUNITATE ANTIINFECȚIOASĂ

Rezistența specifică sau imunitatea antiinfecțioasă poate fi obținută :

- 1) în mod activ, adică cu participarea sistemului imuno-competent: prin infecție (aparatură, inaparență), vaccinare
- 2) pasiv, anticorpii fiind transmiși transplacentar la făt sau prin administrare de ser imun. Tipuri de rezistență antiinfecțioasă :

a) Imunitatea dobândită în mod natural, activ prin boală.

Imunitatea obținută după unele boli, durează toată viața: rujeola, varicela, febra tifoidă.

Alteori, imunitatea prin boală este de scurtă durată ca în infecțiile stafilococice, pneumococice, infecția gonococică etc.

În majoritatea bolilor infecțioase imunizarea este însoțită de sterilizarea organismului, deci eliminarea bacteriilor din țesuturi, ceea ce poartă numele de „imunitate sterilă”. În alte boli, tuberculoza, sifilis, uneori febra tifoidă, microbii persistă în organismul imunizat foarte multă vreme, uneori cu eliminare în afară de organism (febra tifoidă).

b) Imunitatea dobândită activ în mod artificial. Este realizată în organism cu ajutorul vaccinurilor. Atât în imunitatea obținută prin boală cât și cea determinată de vaccinuri, participă activ sistemul imunoformator. Această imunitate numită și activă, se instalează lent în timp de 1-3 săptămâni este o imunitate solidă de lungă durată.

c) Imunitatea dobândită în mod pasiv, constă în obținerea imunității fără intervenția sistemului imunoformator cu anticorpi gata formați fie în mod

- i) natural transmiși pe cale transplacentară de la mamă la făt, fie în mod
- ii) artificial, prin administrare de seruri

i) Imunitatea transplacentară este transmisă în timpul vieții intrauterină și apoi se menține încă 5 luni prin laptele matern, conferind la nou-născut rezistența la numeroase infecții, infecții pentru care mama a fost imună.

ii) Imunitatea pasivă poate fi dobândită și în mod artificial prin inoculare de seruri imune preparate de obicei pe animale. Introducerea de anticorpi gata formați în organism face ca imunitatea să se instaleze rapid, după câteva ore de la inoculare durează aproximativ 2-3 săptămâni, până când serul, proteina străină, este eliminată din organism.

Administrarea de ser imun se face în scop seroprofilaxie și seroterapie.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 8**12.Celule implicate in raspunsul imun umoral si celular; etapele raspunsului****CELULE IMPLICATE IN RASPUNSUL IMUN UMORAL SI CELULAR. ETAPELE RASPUNSULUI IMUN**

(*Mihai Madalina-Andreea*, Facultatea de Farmacie , An II, Gupa 14, 27.05.2008)

Prin capacitatea sistemului imunitar de a reactiona specific cu antigenul si de a se angaja in raspunsul imun, se realizeaza una din functiile principale ale apararii imunologice: recunoasterea si reactia fata de substantele straine patrunse in tesuturi. Raspunsul imun este un proces de o mare complexitate, instalarea lui si reactia imuna fiind modulate de o retea diversificata de factori tisulari, celulari si mediatori biologici, angajati de antigen prin proprietatile sale si modalitatea de a patrunde in organism.

Sistemul imun

Organismul uman vine permanent in contact cu agenti patogeni (purtatori de antigene) sau cu antigene libere. Antigenul este o substanta macromoleculara proteica sau polizaharidica straina si care patrunda in mediul intern declanseaza productia de catre organism a unor substante specifice numite anticorpi care neutralizeaza sau distrug antigenul. Anticorpii sunt proteine plasmaticice din clasa gamaglobulinelor. Apararea fata de agentii infectiosi se realizeaza prin doua mecanisme fundamentale: Rezistenta nespecifica si Rezistenta specifica.

Rezistenta specifică (dobandita) apare numai dupa ce organismul vine in contact cu un anumit corp strin capabil sa induca un raspuns. Se mai numește si **imunitate**. Imunitatea reprezinta capacitatea organismului de a se adapta in fata agresiunii agentilor externi (in latina *immunitas* inseamna “ferit de”). Pentru a putea indeplini aceasta proprietate, organismul trebuie sa recunoasca structurile proprii, considerate “self” si sa le deosebeasca de cele straine, denumite “nonself” reprezentate in principal de microorganisme, macromolecule, dar si celule tumorale sau tesuturi transplantate.

Imunitatea poate fi: **a)** naturala - dupa modul în care se obține starea de imunitate, exista: - *imunitate activa* - cand organismul respectiv, inițial neimun la o boala oarecare, face boala și dupa vindecare devine imun fata de agentul patogen respectiv. - *imunitate pasiva* - transplacentar(se primesc factori de aparare materni care asigura imunitatea nou-nascutului in primele luni de viata, pana la formarea unui sistem imunitar propriu). **b)** artificiala - care poate fi: - *imunitate activa* - prin vaccinare.

La un organism neimun se injectează germeni atenuati sau anumite antigene ale acestora (vaccinul). Acestia stimulează aparatul imunitar al corpului fara a produce boala și dupa câteva saptamani individul devine imun la boala respectiva. Prin vaccinare s-au putut preveni și chiar eradica numeroase boli epidemice grave ca holera, ciuma, variola, poliomielita, boli care în trecut au secerat sute de milioane de vieți. - *imunitate pasiva* - care se poate realiza prin

seruri bogate în anticorpi specifici, injectate la indivizi sanatosi, ce au venit în contact cu bolnavii contagiosi, prevenindu-se îmbolnavirea lor. Un mod particular de dobândire pasiva a imunității este prin transfer de anticorpi sangvini de la mama la fat sau de anticorpi din laptele matern la sugar. Totalitatea organelor, celulelor și moleculelor implicate în apariția imunității dobândite alcatuiesc sistemul imun (SI).

Celule implicate în răspunsul imun

A. Limfocite – reprezintă componentul celular major al sistemului imun. Ele constituie o categorie de celule ce grupează mai multe populații celulare similare morfologic, dar diferite din punct de vedere funcțional. Limfocitele provin din organele limfatice primare (timus, măduva osoasă și în perioada intrauterină, ficatul). O parte din aceste celule trec în circulația periferică și migrează către organele limfatice periferice. Restul rămân pentru o perioadă ca limfocite circulante unde totalizează aproximativ 25% din leucocite. Între cele două sectoare există o recirculație permanentă, asigurând o supraveghere imună competentă.

Limfocitele sunt singurele celule din organism capabile să recunoască specific diferiți determinanți antigenici, fiind astfel responsabile de două dintre proprietățile fundamentale ale răspunsului imun, specificitate și memorie. În evoluția limfocitelor există mai multe stadii, în funcție de întâlnirea cu antigenul pe care îl recunoaște: limfocite naive și limfocite cu memorie. Cele naive nu au avut contact cu antigenul. La prima întâlnire cu acesta unele determină răspuns imun specific, iar altele doar proliferază intens, aparând un set de limfocite denumite limfocite cu memorie biologică. Acestea din urmă, la o altă întâlnire cu antigenul respectiv elaborează un răspuns imun prompt, rapid.

a) Limfocite T (LT) Sunt majoritare în circulația sangvină, aproximativ 60-80% din totalul limfocitelor circulante, din care 2/3 sunt CD4+ și 1/3 CD8+. Au o durată de viață mare (ani, zeci de ani), ele fiind intens recirculate. Iau naștere din ficat, splină și măduva hematogenă. LT au puțini receptori antigenici pe suprafața externă a membranei celulare, aproximativ 700 comparativ cu LB care au în jur de 160000 receptori. Sunt mai multe categorii de receptori:

-receptori pentru recunoașterea antigenică: TCR (T cell receptor); complexul CD3 (CD=clasa de diferențiere) cu rol în recunoașterea antigenului sau epitopului prezentat de CPA (celula prezentatoare de antigen); CD4 sau CD8 care sunt co-receptori implicate în recunoașterea moleculelor prezentatoare de antigen MHC (complex major de histocompatibilitate).

-receptori cu rol accesoriu în activarea LT și în adeziunea intercelulară.

Cea mai importantă funcție a LT este inducerea unui răspuns sau a unei reacții imune specifice la antigene, prin recunoașterea unor peptide antigenice fixate pe moleculele MHC.

Există mai multe tipuri de LT:

- **LTh (helper)** -orientează imunitatea către RIC sau RIU. -au marker CD4 și se împart în:

- **Th1** - intervin în RIC prin stimularea dezvoltării LTc (LT citotoxic), creșterea activității macrofagice.
- **Th2** - colaborează cu LB și macrofagele în inducerea RIU.

Ele își exercită acțiunea prin sinteza unor proteine numite citokine sau interleukine. De exemplu Th1 elaborează IL-2, IL-3, limfotoxina, iar Th2 sintetizează IL-4, IL-5, IL-6.

- **LTs (supresoare)** - au rol reglator, diminuând atât RIU cât și RIC. Previn activarea LB și LT la contactul cu antigenul, inhibând diferențierea imunoblastelor. Majoritatea sunt celule CD8+.
- **LTc (citotoxice)** – sunt responsabile de citotoxicitatea mediată celular, fiind implicate în apărarea antivirală, antitumorală și respingerea grefelor. Provoacă liza celulelor care poartă pe suprafața lor antigenul. Au determinanți antigenici de tip CD8+, mai puțin CD4+.

În afara limfocitelor T efectoare (LTc) și a celor reglatoare (LTh și LTs), care au viața scurtă, apar și **limfocite T cu memorie**, cu viața lungă de peste 40 de ani, dar cu perioada activă de 10-15 ani. Sunt formate în timpul răspunsului imun primar și sunt CD4+.

b) Limfocite B (LB) Reprezintă 5-15% din limfocitele din sânge și constituie majoritatea celulelor din foliculii limfatici, ganglioni și splină din zona B. Rolul lor esențial este sinteza anticorpilor. Au o durată de viață de câteva zile. Sunt precursorii celulelor care sintetizează Ac, plasmocitele. Limfocitul B imunocompetent (matur) sintetizează cantități mici de molecule ale unui izotip de imunoglobulină, care rămân legate de membranele limfocitului, având rol de receptori de antigen, adevărate “antene” de detectare a antigenului specific. Pe suprafața LB se găsesc: receptori specifici pentru antigen, cu structură imunoglobulinică, fixate de membranele limfocitare, receptori pentru complement, receptori pentru interleukine IL-1, IL-4

c) Celule NK (natural killer) Reprezintă până la 15% din totalul limfocitelor. Ele derivă din maduva osoasă și nu sunt dependente de timus. Au o viață scurtă, iar din punct de vedere morfologic aparțin unei clase de limfocite numite limfocite mari granulare, deoarece au numeroase granule citoplasmice. Ele sunt limfocite care nu prezintă markeri (receptori) celulari caracteristici limfocitelor T sau B. Termenul de *natural killer* provine de la faptul că aceste celule își exercită funcția citotoxică fără a necesita o activare prealabilă. Funcția lor este de a recunoaște și de a liza anumite celule tumorale și celule infectate cu virusuri.

d) Celule K (killer) Realizează citotoxicitatea mediată celular, dependentă de anticorpi (ADCC). Ucid nespecific orice țintă recunoscută specific de anticorpi. Au pe suprafața receptori pentru imunoglobulină.

B. Celule prezentatoare de antigen (CPA) – sunt celule specializate în capturarea antigenului, prezentarea lui limfocitelor și declanșarea unor semnale care favorizează activarea limfocitelor.

a) Macrofagele Sunt importante prin intervenția lor în imunitatea naturală, în prezentarea antigenică și în reacția imună specifică. Se formează în maduva osoasă hematogenă dintr-o celulă stem hematopoietică diferită de cea din care derivă limfocitele. Macrofagele sanguine se numesc monocite, iar cele din

tesuturi histiocite. Funcția lor principală o constituie fagocitoza. Macrofagele sunt fagocite mononucleare care ingeră microorganisme. În timpul fagocitozei, ele prelucrează antigenele sub acțiunea echipamentului enzimatic extrem de bogat al lizozomilor. În urma acestei prelucrări rezultă fragmente denumite epitopi conformationali care sunt cuplate cu moleculele complexului major de histocompatibilitate (MHCII), situate pe membrana macrofagelor și prezentate limfocitelor T. Sunt implicate atât în apărarea nespecifică cât și în cea specifică. În apărarea nespecifică fagocitează unele antigene și sintetizează unele citokine care stimulează alte celule. În răspunsul imun au rol deosebit de important și complex atât în etapa inițială a RI când au funcție de CPA cât și în cea finală ca celule efectorii. Ele au pe suprafața lor numeroși receptori:

-receptori imuni - pentru imunoglobuline, complement

-receptori neimuni - cu rol în recunoașterea celulelor senescente, bacteriilor, fungilor, parazitilor. La rândul lor macrofagele secreta un număr mare de substanțe, cea mai mare parte a factorilor complementului și interleukinele (IL-1, IL6).

b) Celule dendritice Reprezintă o populație leucocitară particulară, caracterizată morfologic de prezența unor prelungiri citoplasmice, iar funcțional prin capacitatea de a prezenta antigenul și a stimula limfocitele T native și de a iniția un răspuns imun. Ele au capacitatea de a capta antigenul (având receptori pentru antigen) și de a-l transporta la organele periferice.

c) Limfocitele B Au capacitatea de a recunoaște epitopii conformationali ai antigenului și de a-i prezenta limfocitului T. Ele au cea mai slabă activitate prezentatoare de antigen dintre celulele CPA.

C. Alte celule implicate în răspunsul imun

a) Neutrofile Au o durată de viață mică: 6 ore în sânge după care trec în tesuturi unde trăiesc în jur de 4 zile. Ele au rol în apărarea antiinfecțioasă, aparținând sistemului fagocitar. Aceste celule intervin în apărarea naturală prin fagocitoză și în imunitatea datorită receptorilor proprii pentru imunoglobuline și complement.

b) Eozinofile Reprezintă 1-5% din leucocitele circulante în mod normal, dar procentul lor crește în alergii sau infecții parazitare. Au funcție fagocitară prin receptori de IgG și IgE și mecanismul ADCC, dar este limitată.

c) Bazofile Au rol în reacția de hipersensibilitate mediată umoral, când se eliberează anticorpii IgE. Au durată scurtă de viață. Au pe suprafața lor receptori pentru IgE. Când o persoană hiperreactivă produce IgE, acestea pe de o parte circulă în sânge, pe de altă parte se leagă de bazofile. La reexpunerea acelei persoane la același antigen, bazofilele cu anticorpii atașați fixează antigenul respectiv, se degranulează și astfel se pot produce diferite tipuri de reacții alergice, de la astm bronșic până la urticarie acută și chiar șoc anafilactic.

d) Plachete sanguine Joacă un rol accesoriu în reacția imună. Conțin serotonină și au receptori pentru IgG și IgE. Plachetele aderă la endoteliul vascular, se agregă și eliberează substanțe care cresc permeabilitatea capilară și activează complementul. Datorită Ig fixate pe membrane lor, plachetele pot aderă la paraziti și pot elibera radicali liberi ai oxigenului cu efect toxic pentru acestia.

Răspunsul imun umoral și celular

1. Definitia raspunsului imun Raspunsul imun reprezinta totalitatea evenimentelor care au loc dupa introducerea unui antigen si care constau in activarea limfocitelor, eliberarea de diverse molecule, multiplicarea celulelor specifice, producerea de limfocite T citotoxice sau de anticorpi capabili sa se fixeze pe antigen si sa il elimine direct sau indirect. Dupa primul contact cu antigenul sistemul imun produce limfocitele T si B de memorie, capabile sa reproduca un raspuns imun mai rapid.

2. Caracteristicile raspunsului imun Raspunsul imun are doua caracteristici majore:

a) Specificitatea. Se datoreaza existentei pe suprafata limfocitelor a receptorilor pentru antigen ce sesizeaza diferentele intre agentii infectiosi. Receptorii pentru antigen ai unui limfocit dat recunosc un singur antigen. Intereactia receptorilor pentru antigen cu structura lui antigenica specifica determina un semnal, capabil sa initieze activarea celulara.

b) Memoria imuna. Expunerea repetata la acelasi antigen determina un raspuns imun specific, mai rapid, mai intens si mai adecvat. La prima expunere la un antigen, in organism exista un numar redus de limfocite care recunosc si declanseaza raspunsul imun, asigurand eliminarea agresiunii. In urma primului raspuns imun, in organism persista o populatie limfoida specifica mai numeroasa, capabila sa ofere o protectie superioara la o noua expunere la acelasi antigen.

3. Clasificarea raspunsului imun Raspunsul imun este mediat prin doua mecanisme interdependente:

-Imunitate umorala – manifestata prin secretia de anticorpi de catre LB.

-Imunitate celulara – manifestata prin intermediul LT.

A. Raspuns imun umoral (RIU)

a) Definitie RIU. RIU consta in producerea de anticorpi specifici. Imunitatea umorala intervine in distrugerea bacteriilor extracelulare, neutralizarea virusurilor, inhibarea toxinelor.

b) Etape RIU In cazul in care un microorganism depaseste barierele naturale este preluat de o celula prezentatoare de antigen (de exemplu un macrofag) si prelucrat pe parcursul deplasarii acesteia de la locul de penetrare al antigenului pana la organul limfoid regional (ganglionul limfatic).

Macrofagele preiau informatiile antigenice si le predau limfocitelor B prin intermediul limfocitelor Th (helper) care mediaza predarea antigenului de la macrofag la LB. Macrofagele au putere mare de fagocitoza, dar digera doar partial antigenul ingerat. Acesta este degradat de enzimele proteolitice din fagozom rezultand un fagolizozom. Macrofagele preiau antigenul, il proceseaza in fragmente polipeptidice cu identitate antigenica (epitopi conformationali). Intracelular, aceste fragmente sunt preluate de CMH (complexul major de histocompatibilitate), complexul rezultat fiind transportat la suprafata celulei. Macrofagele interactioneaza apoi cu limfocitele, care au receptori specifici pentru antigenul prezentat. De asemenea acestea elibereaza in mediu interleukine (IL-1, IL-12) care impreuna cu interactiunea dintre cele doua tipuri de celule contribuie la activarea, proliferarea si diferentierea limfocitelor Th in Th1 si Th2.

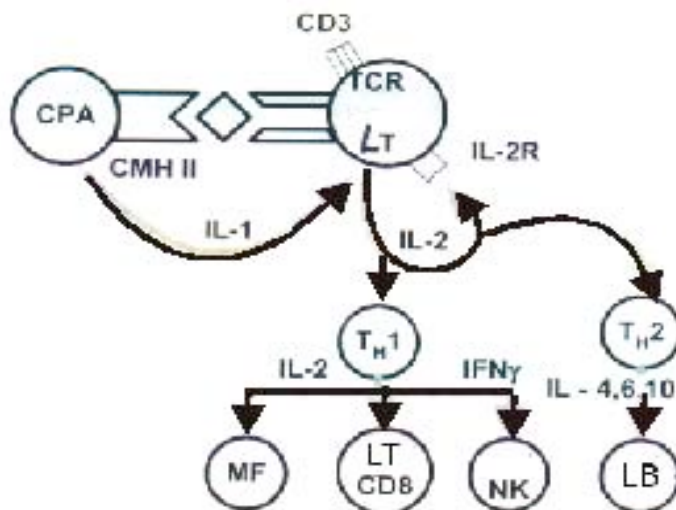
Limfocitele Th2 activate secreta un set de citokine care determina proliferarea si diferentierea limfocitelor B stimulate de antigen catre plasmocit. Limfocitul B mic, competent, este o celula in asteptare, incapabila de diviziune. Dupa ce a preluat informatia antigenica cu ajutorul receptorilor de pe suprafata membranei se transforma in limfoblast sau in limfocit B cu memorie.

Limfocitele B cu memorie au pe suprafata lor receptori pentru antigenele care le-au stimulat aparitia. Se mentin in circulatie iar la un nou contact cu antigenul raspund rapid fara a necesita interventia macrofagelor. Sunt raspunzatoare de raspunsul imun secundar.

Din limfoblast deriva plasmocitul care are capacitatea de a sintetiza mari cantitati de anticorpi. Acestia sunt eliberati fie prin citoliza, adica prin umplerea rezervoarelor celulare, ducand la ruperea membranei celulare si eliberarea anticorpilor, fie prin plasmatoza, adica prin detasarea din plasmocit a unor portiuni din citoplasma ce contin anticorpi. Anticorpii specifici se leaga de membranele microorganismului, contribuind la eliminarea acestuia prin liza mediata de complement, CCDA sau fagocitoza.

c) Dinamica RIU

- ◆ RIU primar- este raspunsul imun generat dupa contactul primar al organismului cu antigenul. In dinamica acestuia se disting mai multe faze. Inaintea contactului cu antigenul, in organism nu exista anticorpi. Ei apar abia la 4-7 zile dupa primul contact, in concentratii mici. Apoi titrul lor creste, atingand un maxim la 10-14 zile de la stimulul antigenic. Acest titru ramane maxim cateva zile, dupa care incepe sa scada.
- ◆ RIU secundar- apare cand se repeat contactul cu acelasi antigen. Titrul anticorpilor creste rapid si atinge un maxim dupa o saptamana de la stimulare. Titrul maxim este mult superior celui din RIU primar, se mentine mai mult timp si coboara mai lent. Dupa primul contact apar LB cu memorie care la al doilea contact cu antigenul raspund mult mai repede si mai intens deoarece nu necesita interventia macrofagelor.
- ◆ Poate exista si un raspuns imun tertiar, cuaternar, in situatia in care se repata contactul cu antigenul.



Interație celula prezentatoare de antigen - limfocit T: subtipuri limfoide T helper și rolul acestora în imunitate. Celula prezentatoare de antigen (CPA) prezintă limfocitului T helper fragmente polipeptidice, rezultate din procesarea antigenului. CPA oferă limfocitelor T mulți alți stimuli, atât prin intermediul receptorilor de suprafață, cât și prin sinteza de citokine. Limfocitele TH1 participă la activarea macrofagelor, a limfocitelor T citotoxice și a celulelor NK, în timp ce TH2 asigură activarea limfocitelor B (LB).

Răspuns imun celular (RIC)

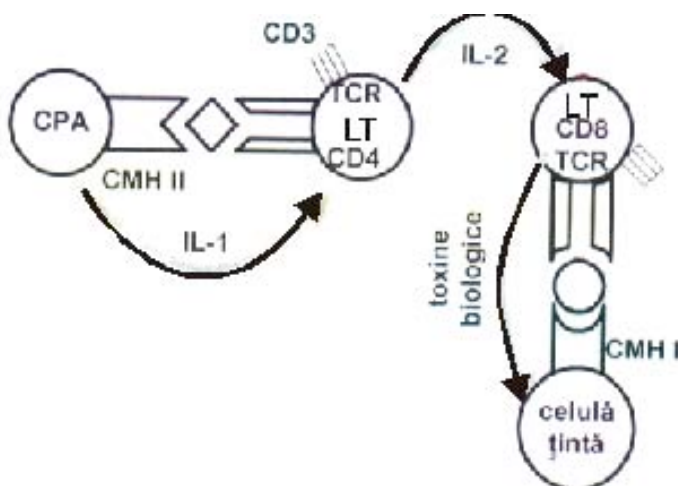
a) Definiție RIC. RIC apare în cazul celulelor infectate cu virusuri, microorganisme cu multiplicare intracelulară, paraziți intracelulari, celule tumorale.

b) Etape RIC. După patrunderea antigenului în organism acesta este preluat de macrofage, degradat în peptide și transportat la suprafața celulei. Următoarea etapă constă în recunoașterea peptidelor antigenice de către limfocitele LT helper și activarea lor. Interacțiunea care are loc la nivelul receptorilor de suprafață între macrofage și limfocitele T, precum și eliberarea în mediu a interleukinelor sintetizate de acestea determină activarea, proliferarea și diferențierea limfocitelor Thelper în Th1 și Th2.

Limfocitele Th1 activate secretă interleukine care influențează macrofagele prin amplificarea gradului de activare și a abilității de a distruge sau fagocita agenții patogeni, mecanism care contribuie la eliminarea germenilor intracelulari. De asemenea influențează și limfocitele Tc (citotoxice), care sunt foarte eficiente în eliminarea celulelor proprii infectate viral. Urmează apoi generarea limfocitelor Tcitotoxice care sunt selecționate în funcție de specificitatea lor față de antigen și activate de diferite limfokine (IL-2) secretate de limfocitele Th1 activate.

c) Dinamica RIC

- ◆ RIC primar- apare la primul contact cu antigenul, când acesta este preluat de macrofage sau direct de limfocitele Th. Informația antigenică este transmisă limfocitului T mic, în așteptare care deține pe suprafața sa receptori complementari cu informația antigenică.
- ◆ Memoria imunologică- se manifestă la al doilea contact cu antigenul



Citotoxicitatea mediata celular; rolul limfocitelor T helper. CPA prezinta fragmentul polipeptidic limfocitelor LT (subtipul TH1), care ofera semnale stimulative limfocitelor Tcitotoxic. Acestea recunosc peptidul non-self de pe suprafata celulei-tinta, initiind distrugerea acesteia.

Raspunsul imun specific este un proces complex, care antreneaza mai multe tipuri de celule. Limfocitele raman insa "actorii principali", diferentierea acestora asigura specificitatea raspunsului imun si controlul activitatii celorlalte celule imune, determinand in final indepartarea agresorului. Dupa ce microorganismul este indepartat, mecanismele de amplificare ale raspunsului imun dispar si prin feedback negativ acesta diminueaza treptat. Stingerea raspunsului imun apare in principal ca rezultat a 2 factori, eliminarea stimulilor pozitivi generati de prezenta microorganismelor si activarea limfocitelor T supresoare. Dupa stingerea raspunsului imun, va persista o populatie reziduala de limfocite, celule de memorie, cu specificitate inalta pentru antigenul implicat, care au o durata lunga de viata. Limfocitele de memorie sunt atat de linie B, cat si de linie T. Ambele subtipuri celulare asigura: protectia oferita de vaccinare, raspunsul imun secundar si rejectia accelerata a grefei la primitorii de grefe multiple.

Prin toate aceste mecanisme se asigura distrugerea antigenului si vindecarea organismului care devine apoi imun fata de agentul cauzal al bolii respective.

BIBLIOGRAFIE

Manual Microbiologie, Autori: Lucia Debeleac, M.C.Popescu-Dranda,
Bacteriologie, Autori: Mircea Ioan Popa M.D.,Ph.D.,M.P.H. Loredana Gabriela Popa M.D.,Ph.D.
ro.wikipedia.org
www.emcb.ro
www.fiziologie.ro
facultate.regielive.ro

13.Produse biologice de diagnostic, tratament si profilaxie (ANTON CRISTINA, AN: II GRUPA: 1 09.04.2009)

PRODUSE BIOLOGICE: VACCINURI SI SERURI

Starea de rezistenta specifica antiinfectioasa a organismului care in mod natural survine in urma unei boli sau infectii inaparente, poate fi obtinuta in practica in anumite imprejurari, in mod artificial, deci voit, realizind:

- **imunitatea activa prin vaccinuri si**
- **inunitatea pasiva, prin seruri specifice.**

A. VACCINAREA SI VACCINURILE

Observatii din timpuri foarte indepartate au aratat ca un organism care a trecut printr-o boala infectioasa si s-a vindecat, nu se mai reiboldnaveste in cursul epidemiilor urmatoare. Aceasta observatie a condus in trecut la ideea de a provoca prin diferite metode, infectii usoare la om care sa determine ulterior o rezistenta specifica pentru anumite boli infectioase, cu evolutie grava.

Astfel, in India si China inca din secolul XI, se practica variolizarea ca metoda de prevenire a variolei, care pe atunci prezenta o gravitate exceptionala. Variolizarea utiliza drept material vaccinant crustele provenite de la bolnavi, care dupa uecare (prin care se atenua agentul infectios) erau transformate in pulbere si aplicate intranazal la oameni sanatosi. La sfarsitul secolului XIX Edward Jenaer, a utilizat in acelagi scop puroiul pustulelor de la vaci care prezeatau vaccina, o boala asemanatoare variolei de la on. In acest fel s-a efectuat vaccinarea antivariolica, prima vaccinare din lume in 1798 de catre Jenner, Inainte chiar de se cunoaste agentul etiologic al acestei boli.

Tot pe baza observatiilor empirice la noi in Transilvania in secolul XVII pentru a preveni variola copiii erau scaldati in lapte cu care se spala ugerul vacilor bolnave de vaccina,

Mult mai tarziu dupa descoperirea virusurilor, si demonstrarea inrudirii antigenice dintre virusul variolei si cel vaccinal s-a putut explica reactia de imunizare incrucisata realizata la om prin virusul vaccinal contra infectiei variolice. Din acest motiv virusul vaccinal este folosit si in prezent pentru prepararea vaccinului variolic.

Pasteur a contribuit in larga masura la aplicarea stiintifica a vaccinarii si a preparat cateva vaccinuri foarte valoroase. El a demonstrat pentru prima oara posibilitatea transformarii microorganismelor sub influenta diferitilor factori in variante stabile cu virulenta atenuata, fapt care a fost pe deplin confirmat de studiile recente de genetica in cadrul fenomenului general de variabilitate,

Pasteur a utilizat pe atunci pentru preparare de vaccinuri, microorganisme vii cu virulenta atenuata de exemplu: cultura atenuata prin invecinare

peatru vaccinul holera gainilor, invecnire si uscare pentru prepararea vaccinului antirabic sau caldura (42,5°C) pentru prepararea vaccinului carbunos.

Ori, in prezent, cand in numeroase infectii (tuberculoza, bruceloza, febra tifoida etc.) in cadrul imunitatii specifice antiinfectioase s-a demonstrat in mod categoric si participarea factorului celular, este mai bine inteleasa aplicarea vaccinurilor vii cu virulenta atenuata, care in aceste infectii sunt deoseit de eficiente. Asadar, vaccinurile sunt preparate biologic care determina dupa introducerea lor in organismul sau animal producerea unei stari de imunitate specifica fata de o anumita infectie bacteriana sau virala. Termenul de vaccinare vine de la virusul vaccinal (vaccina) utilizat pentru prima vaccinare antivariolica, dupa care termenul s-a generalizat fiind utilizat pentru orice imunizare activa, artificiala. Vaccinurile pot fit antibacteriene, antivirale, entirickettsiene.

I. VACCIRURILE ARTIBACTERIENE

Aceste vaccinuri utilizeaza drept antigen corpul bacterian sau produsele elaborate de acestia (toxinele microbiene).

1. Vaccinurile corpusculare se prepara din corpul bacterian si ele pot fi:

a) vaccinuri copusculare vii cu virulenta atenuata, exemplu:

-vaccinul BCG utilizat in profilaxia tuberculozei este o tulpina de origine bovina atenuata prin cultivarea repetata pe medii nefavorabile cu bila;

- vaccinul carbunos, in care virulenta microbului *Bacillus anthracis* a fost atenuata prin cultivarea la temperaturn mai ridicata (42°C);

- vaccinul tularemic, preparat din bacterii avirulente.

b) Vaccinuri corpusculare inactivate sunt preparate din suspensii bacteriene omorate fie prin caldura (+56-60°C), fie raze ultraviolete, fenol, formol, mertiolat de sodiu etc. In acest fel sunt preparate vaccinurile: holeric, tifoidic, brucelos, stafilococic gonococic etc.

2. Vaccinuri preparate din extracte microbiene

Anumite vaccinuri se prepara din lizate sau extracte solubile bacteriene obtinute prin

dezintegrarea cu ultrasunete a bacteriei sau procedee chimice (acid tricloracetic) urmate de concentrare si purificare

3. Vaccinuri preparate din toxine microbiene

Vaccinurile obtinute prin exotoxine bacteriene se mai numesc "toxoid" sau "anatoxine"; ele sunt netoxice, dar foarte vaccinante putand determina in organism formare de anticorpi specifici (antitoxine). Exemple de astfel de vaccinuri sunt: anatoxina difterica, tetanica, botulinica, stafilococica.

Dupa numarul antigenelor pe care le contin exista:

a) vaccinuri monovalente, preparate dintr-o singura specie microbiana sau mai multe tulpini ale aceleiasi specii, de ex.: vaccinul tifoidic, stafilococic, anatoxina tetanica etc.;

b) vaccinuri polivalente sau asociate sunt preparate prin mai multe specii microbiene. Aceste vaccinuri sunt mai avantajoase pentru vaccinarile obligatorii din teren, necesitand un numar mai mic de inoculari in masa populatiei. Astfel exista:

- bivaccin, diftero-tetanic (DT);

-trivaccin, diftero-tetano-pertusis (DTP);

- polivaccin, vaccin polimicrobian (polidin).

II. VACCINURI ANTIVIRALE SI ANTIRICKETSIENE

Pentru prepararea unor astfel de vaccinuri se utilizeaza de obicei tulpini cu virulenta mult atenuata realizind adesea imunizarea prin infectii inaparente. Astfel sunt :

a) vaccinuri preparate din tulpini vii si atenuate, de ex.: vaccinul rabic, rujeolic, gripal;

b) vaccinuri preparate din tulpini vii, nepatogene: vaccinul poliomieltic.

Atat prepararea de seruri terapeutice cat si de vaccinuri necesita o cunoastere aprofundata a notiunilor de microbiologie generala si aplicativa. De aceea prepararea acestor produse este efectuata de cadre cu inalta calificare in Institutul "Cantacuzino" Bucuresti si filialele acestuia.

Pentru prepararea oricarui vaccin se aleg tulpini bacteriene sau virale dupa un studiu minutios asupra proprietatilor si structurii antigenice. Adesea in acest scop se selectioneaza tulpinile cele ma

epidemigenr dintr-o tara sau regiune, deci acelea care se izoleaza mai frecvent din masa populatiei in timpul epidemiilor.

In cazul tulpinilor cu virulenta atenuata varita bacteriana sau virala trebuie sa fie stabila din punct de vedere genetic si deci ireversibil pentru a nu determina in mod accidental imbolnvlirea la persoanele vaccinate (prin revenirea caracterului de virulenta) si in felul acesta sa se creeze focare noi de infectie in colectivitati.

Pentru preparare de vaccinuri corpusculare tulpinile bacteriene se cultiva in conditii optime pe medii adecvate pentru a obtine cantitati mari de cultura. In scop de inactivare suspensiunea bacteriana este supusa la diversi factori fizici sau chimici, cu actiune bactericida. Apoi se realizeaza concentratia necesara de bacterii si dupa o serie de controale se infioleaza, la nevoie se mai face o sterilizare finala se eticheteaza se se pastreaza la $+4^{\circ}$ - $+15^{\circ}\text{C}$.

Pentru preparare de anatoaine tulpinile microbiene toxigene se cultiva pe nedii de cultura lichide in conditii optime pentru a obtine cantitati maxime de toxina. Cultura se filtreaza iar filtratul steril care contine toxina se trateaza cu formol 3-4%o 91, si se mentine la termostat la 39°C timp de 2-4 saptamani (in raport de natura toxinei) pentru detexifiere. In acest fel preparatul devine netoxic dar isi pstreaza proprietatile antigenice, deci vaccinante.

Pentru a fi mai eficiente si a inlatura riscul fenomenelor de sensibilizare, in prezent anatoxinele se prepara purificate si adsorbite (cu foefat de aluminiu, fosfat de calciu, cu rol de adjuvant).

Vaccinurile antivirale utilizeaza drept material pentru preparare de vaccinuri culturi de celule, oua embrionate sau diferite tesuturi de animale infectate cu virusul respectiv.

In prezent se prepara si unele vaccinuri liofilizate ca de ex.: vaccinul BCG, variolic.

Autovaccinul reprezinta un vaccin antimicrobial preparat din bacteria patogena izolata de la un bolnav si utilizat la acelasi bolnav in special in infectii cronice, trenante, recidivante pentru care organismul realizeaza o slaba imunitate: infectii stafilococice, gonococice etc.

Orice vaccin înainte de a fi utilizat este verificat din punct de vedere al "sterilitatii", "inocuitatii" adica a lipsei de virulenta sau toxicitate pentru animalele sensibile cat si a "eficacitatii" adica a puterii vaccinante.

Conditii de conservare si utilizarea vaccianurilor Vaccinurile se pastreaza la intuneric, in incaperi la $+4^{\circ}$ - 15° C, cu respectarea indicatiilor de pe eticheta. Fiolele cu vaccin neetichetate, cu caractere fizice modificate, cu termen de eficacitate depasit, cele care au fost supuse inghetului si dezghetului sau care in momentul deschiderii emana un miros dezagreabil, nu pot fi folosite sub nici un motiv.

Administrarea vaccinurilor.

Vaccinurile obligatorii de la noi din tara sunt

- vaccinarea difterica (anatoxina difterica)
- vaccinarea tetanica (anatoxina tetanica)
- vccinarea tuberculoasa (BCG),
- vaccinarea in tusea convulsiva (pertusis).

Dintre vaccinarile antivirale obligatorii sunt:

- vaccinarea variolica (cu virusul vaccinal) suspendata datorita eradicarii acestei boli;

-vaccinarea poliomielitial (cu antigen viu).

Alte vaccnuri se aplica numai in conditii epidemiologice deosebite: vaccinul tifoidic, holeric, dizenteric (Shiga, Flexner), tularemic, pestos iar dintre cele antivirale vaccinarea gripala, variolica s.a.

Unele vaccinuri se administreaza numai la animale dar prezinta o deosebita importanta profilactiaa pentru om: vaccinarea carbunoasa, vaccinarea morvoasa, iar dintre cele virale vaccinarea rabica.

Dozele si ritmul de vaccinare variaza in raport de fiecare vaccin, dar in general vaccinurile antimicrobiene cu eficienta mai slaba me administreaza, in cel putin 3 doze iar anatoxinele in maximum 3 doze.

Vacciaurile antibacteriene mai putin eficiente necesita doze mai mari si vaccinari mai dese (vaccinul tifoidic).

Ritmul de administrate variaza de la o saptamana la 4-6 saptamani, iar revaccinarea se practica dupa 1-3-5-7-9 ani, in raport cu riscul inboingvirilor pentru o anumita boala.

Caile de administrare ale vaccinurilor sunt foarte diferite: intradermic: BCG, vaccinul variolic; subcutanat: rabic, tetanic; intramuscular: difteric; oral: vaccinul poliomieltic; pe mucoasa nazala: vaccinul gripal.

Raspunsul imunologic al organismului variaza in raport cu calitatea vaccinului (valoare antigenica, specie microbiana, metoda de preparare) apoi modul de administrare (cale, cantitati, intervale) precum si de reactivitatea iadividuala a persoanei vaccinate.

Deoarece prin vaccinare se realizeaza o imunitate dobandita in mod activ, deci cu participarea sistenului imunocompetent, la primul contact al organismului cu vaccinul, starea de imunitate se instaleaza lent, dupa 2-8 saptamani "raspuns de tip primar". Imunitatea obtinuta prin vaccinare este solida si de lunga durata (aproximativ 1 an pentru vaccinurile bacteriene, 3-5 ani pentru anatoxine).

Reactiile de "rapel" sau revaccinarile realizeaza in organism o elaborare activa de anticorpi, raspuns de tip secundar".

Indicatii. Vaccinurile vor fi aplicate la persoane sanatoase, in anumite limite de varsta.

Pentra unele vaccinuri sunt indicatii speciale referitoare la varsta de ex.: BCG-ul se aplica in prima luna dupa nastere, vaccinul variolic intre 3 luni si 1 an etc.

Contraindicatii. Nu se vaccineaza persoanele imune sau cele cu infectii acute sau cronice: vasculare, hepatice, renale; de asemenea vaccinurile sunt contraindicate la persoane cu stari alergice.

Reactii post-vaccinale pot fi: toxice si de sensibilizare. Usoare reactii toxice pot fi determinate de vaccinurile bacteriene administrate parenteral. Acestea sunt fie reactii locale: edem, roseata, reactii inflamatorii dureroase pana la reactii generale: febra, curbatura, cefalee.

Uneori apar fenomene de sensibilizare fie la

proteinele bacteriene fie la proteinele din aediul de cultura care a servit pentru cultivarea bacteriilor; de aici necesitatea preparării de vaccinuri purificate (anatoxine).

În concluzie, vaccinurile sunt preparate biologice valoroase, cu deosebită eficiență în profilaxia bolilor infecțioase (vaccino-profilaxia). În unele situații ele se utilizează și în tratamentul unor boli infecțioase (vaccino-terapie) în scopul de a consolida starea de imunitate a unui bolnav, după tratament cu ser terapeutic; un alt exemplu este utilizarea autovaccinului în tratamentul afecțiunilor cronice.

B. SERURI IMUNE

Serurile imune sau terapeutice sunt produse biologice obținute din sângele unui animal imunizat activ prin vaccinare sau al unui convalescent imunizat activ prin boală.

În ambele cazuri serul conține anticorpi specifici, capabili să neutralizeze antigenul respectiv.

Serurile imune terapeutice se prepară de obicei pe cai prin hiperimunizare. În acest scop se inoculează la aceste animale doze crescând de culturi microbiene, inactivate și apoi vii în cazul serurilor antibacteriene sau anatoxina urmată de toxina în cazul serurilor antitoxinice. După 8 zile se face o sângere de probă, pentru titrarea anticorpilor; dacă acesta este destul de ridicat, se fac mai multe sângeri, de la același animal putând acoate aproximativ 8 litri la o singură sângere. Recoltarea se face în circuit închis, aseptice. Apoi, sângele se lasă să coaguleze, se decantează, și se adaugă un conservant (mertiolat de sodiu 1/10.000 sau fenol 0,25%) după care serul se filtrează și se controlează din punct de vedere al sterilității.

Se poate utiliza în stare nativă sau purificat și concentrat (de 4-10 ori).

După proveniența lor serurile imune pot fi:

- seruri omologe (ser de convalescent în rujeolă sau tifos exantematic) și

- seruri heterologe preparate pe cai.

După acțiunea serurilor imune în organism

serurile pot fi clasificate in:

- antimicrobiene, serul streptococic, meningococic ;
- antitoxice, serul tetanic, difteric;
- mixte, serul gangrenos, carbunos, dizenteric.

Dintre serurile antivirale cel mai important este serul rabic.

Serurile umane. Pana nu de mult se folosea ser uman, de convalescent sau de persoane trecute prin boala sau vaccinate. In prezent, din cauza pericolului de transmitere a hepatitei virale, nu se mai folosesc serurile umane totale ci sub forma de gemaglobuline.

1. Serurile imune de origine animala se administreaza cu deosebita eficienta in scop profilactic la persoane care sunt in pericol de a face o boala contagioasa (seroprofilaxie). Alteori, serurile se utilizeaza in infectii acute, evolutive, in scop de tratament (seroterapie). Din acest punct de vedere in special serurile antitoxice au o eficienta deosebita in tratamentul bolilor determinate de bacterii toxinogene, constituind de fapt, in aceste cazuri, unicul tratament salvator pentru bolnav.

Serurile antimicrobiene au o eficienta mai redusa in cadrul tratamentului specific antiinfectios.

Serurile se administreaza pe cale intramusculara (resorbție rapida), subcutanat (resorbție lenta) si in mod exceptional pe alta cale.

Deoarece serul contine anticorpi gata formati, starea de imunitate se instaleaza imediat dupa inocularea intravenoasa si dupa cateva ore in cazul administrarii serului pe alte cai; imunitatea se numeste pasiva deoarece in acest caz organismul nu participa prin sistemul sau imunocompetent la formare de anticorpi.

Imunitatea pasiva asigura o protectie de scurta durata deoarece serul de cal, proteina straina pentru organismul uman, se elimina dupa 2-3 saptamani iar organismul devine din nou receptiv la infectia respectiva.

Mecanismul prin care actioneaza serurile imune antitoxice ca si cele antivirale consta de a acoperi cu anticorpi suprafata moleculelor de toxina sau a particulelor virale, ceea ce altereaza configuratiile chimice specifice care asigura agentului toxic sau

viral adsorbția pe celulele sensibile. Datorită acestui mecanism eficiența lor este maximă cu condiția unei administrări precoce. Celulele lezate sau în care a pătruns deja virusul nu mai pot fi aparate de anticorpii din serul imun.

Serurile antimicrobiene acționează făcând bacteriile mai sensibile la acțiunea fagocitelor și a complementului.

Deoarece starea de rezistență antiinfecțioasă specifică, după administrarea serului imun este de scurtă durată, pentru a întări și prelungi starea de imunitate se recomandă ca seroterapia să fie completată cu vaccinarea, deci a imunizare activă care determină o imunitate specifică care se coatină și după eliminarea anticorpilor introdusi prin ser de ox.: în difterie, tetanos, seroterapia se continuă de obicei cu administrare de anatoxină.

Condiții de conservare și utilizare

Serurile se păstrează în camere uscate, întunecoase la $+4^{\circ}$ - $+15^{\circ}$

Serurile native (neprelucrate) Sunt lichide galbui, clare sau ușor opalescente, Cu un depozit albicios după păstrare îndelungată și care nu constituie o contraindicație la administrare.

În prezent se utilizează seruri purificate și concentrate, cu aspect galbui, lipsede și fără depozit.

Serul nu va fi utilizat dacă fiola nu are eticheta, dacă este crapată, conținutul tulbure sau cu depozit abundent, termenul de valabilitate depășit, sau la deschidere are un miros dezagreabil.

În cursul administrării de seruri imune pot apărea uneori fenomene de sensibilizare.

Do aceia înainte de a începe tratamentul trebuie de făcut o anamneză directă dându-se o atenție deosebită persoanelor cu fenomene alergice (astm bronșic, exeso, alergii alimentare, sau color care au primit în trecut ser de cal).

De asemenea este necesar un test cutanat pentru a cunoaște reactivitatea persoanei la ser pentru a evita apariția fenomenelor de sensibilizare.

În caz de test pozitiv se va face desensibilizarea se începe cu diluția care în doză de 0,1 ml ser nativ nu produce decât o ușoară reacție locală și se injectează pe cale subcutanată din

30 in 30 de minute, sub control medical strict, cate 0,2-0,4-0,6 ml dupa care se va trece la o concentratie mai mare.

Urmeaza administrarea terapeutica a serului imun nativ, sau purificat.

In caz de accidente anafilactice se intrerupe injectarea serului si se aplica tratament adecvat: efadrina, adrenalina, antohistemanice, antihistaninioe, cortizon etc.

2. Serurile umane. Pentru a evita pericolul tranmiterii hepatitei virale prin ser uman total se foloseste inprezent aceste seruri sub forma de imunglobuline (normale si specifice), care se administreaza de obicei in scop preventiv si sunt preparate prin fractionarea plasmei (cu alcool etilic la race) sau din placenta umana. Ele nu sunt antigenice si nici sesibilizante,

a. Imunglobulinele umane nespecifice (gamaglobulinele normale, standard sau polivalente), poseda un continut de anticorpi foarte variat ca specificitate, deoarece ele se obtin din singele adultului sanatos. Denumite impropriu "normale" ele exprima de fapt experienta imunologica a donatorului referitor la imbolnavirile bacteriene, virale sau la -vaccinarile obligatorii la care a fost supus in decursul anilor.

Principala indicatie a imunglobulinelor este in bolile virale in care se administreaza in scop profilactic, deci dupa primele zile de la contactul infectant, in care caz aceste preparate, inhiba patrunderea virusului in interiorul celulelor gazdei.

Imunglobulinele polivalente se aplica cu succes in numeroase boli virale ca de exemplu: rujeola, rubeola, varicela. oreion, hepatite virale sau boli bacteriene cum ar fit tusea convulsiva, difterie, infectii stafilococice, streptococice, astm bronsic etc. In toate aceste boli, imunglobulinele previn sau ateaueaza gravitatea infectiei, in unele cazuri fiind neaesara asocierea cu vaccinarea specifica.

Imunglobulinele polivalente se administreaza de asemenea la persoane in mecanisme de de aparare imunologica (prin diminuare sau lipsa de anticorpi); ele eo administreaza prin injectii intramusculare.

b. Imunglobulinele umane epecifice Aceste

produse au fost realizate In ultimii 10 ani din sangele donatorilor hiperimunizati fata de o anumita infectie, deci contin un singur fel de anticorpi specifici intr-un titru foarte ridicat. Se utilizeaza in scop profilactic si curativ, prezentand urmatoarele avantaje

1. nu determina fenomene de sensibilizare ca serurile heterologe;

11. se pot administra deci in doze repetate;

111. doza utilizata este de 10 ori mai mica decat a serurilor heterologe;

1v. durata de imunizare reziduala (cu continut redus de anticorpi) este mult mai prelungita, pina la 14 saptamani;

v. fiind lipsite de riscul manifestarilor anafilactice, ele pot fi utilizate cu bune rezultate si la persoanele cu teren alergic.

Practic se utilizeaza in tetanos, tuse convulsivai, aariola, rubeola, rujeola, rabie, oreion, herpes.

In aceste cazuri imunglobulinae specifice se administreaza prin injectii intramusculare.

Pentru a preveni boala hemolitica la nou-nascut, explicata prin diferente antigenice sanguine intre mama (Rh-) si fat. (Rh+D), se administreaza imunglobulinele specifice anti D (Rhe) intramuscular la

Mama in primele 72 ore dupa nastere. Anticorpii introdusi au ca scop de a elimina rapid din circuitul sangvin al mamei eritrocitele fetale (Rh+) care, reprezinta antigene pentru mama si determina la acesta, formare de anticorpi anti-eritrocite de fat, care la o urmatoare sarcina cu fat Rh+ pot determina liza globulelor rosii ale fatului in timpul sarcinii sau imediat dupa nastere; imunglobulinele specifice impiedica acest fenomen, evitand anemia hemolitica la noul-nascut.

Imunglobulinele extrase din serul persoanelor normale (donatori) prezinta un efect protector in prevenirea aparitiei hepatitei infectioase (cu virus A). Protectia se instaleaza dupa aproximativ 2 saptamani si se mentine 4-6 luni. Nu s-a demonstrat cu certitudine un efect protector in hepatita serica (virus B).

Bibliografie

1. DUCA 'E.: "Curs do Microbiologie pentru studeatii facultatilor de medicina, Iasi, 1973, pp.427-435.
2. GELL, P.S.H. , COOMBS R.R.A.: "Clinical aspects of Immunology', Blackwell Seient.Publ. Oxford Edinburgh, 1967.
3. KONDI V. , MITRICA N. BILAN ST., IACOBESCU A.:Ministerul Sanatatii Directia Farmaceutica si a aparaturii medicale: "Produse farmaeutice romanesti derivate de sange folosite in terapeutica"Ed.medicala 1972, pp.93-.135 .
4. MESROBEANU I., BERCEANU ST,; "Imunologie si imunopatologie', Ed.Med.- Bucuresti,1968.
5. ZARNEA G.: "Microbiologie generala" Ed.didactica Pedagogica, Bucuresti,197.,pp • 521-526.
7. Institut ul Dr.I.Cantacusino: "Vaccinuri, seruri, produse biologice de diagnostic,medii de cultura si animale de laborator" Ed.med. Busuresti, 1969.
8. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

14.Starile de hipersensibilitate: I, II, III si IV

(SIMION (SIMIONESCU) SILVIA, FACULTATEA DE FARMACIE, AN II, GRUPA 27)

FENOMENE DE SENSIBILIZARE

Fenomenele de sensibilizare ale organismului se includ în noțiunea mare a alergiei. Prin **alergie** se înțelege răspunsul “modificat” al organismului la al doilea contact cu același antigen. Într-adevăr, prezența reacțiilor antigen-anticorp poate avea două mari consecințe pentru organism.

De obicei, cand antigenul are o componentă toxică sau infecțioasă, la primul contact cu organismul determină infecția urmată de un răspuns favorabil pentru organism, de tip imunitar; la al doilea contact al organismului cu același antigen, organismul va fi rezistent, imun față de acea infecție și practic nu va reacționa prin boală, ci dimpotrivă, va învinge infecția prin producerea masivă de anticorpi.

Dimpotrivă, dacă antigenul este netoxic, neinfecțios, de obicei de natură proteică: seruri, albuș de ou, hematii, precum și unele bacterii cu o componentă sensibilizantă, la al doilea contact cu organismul se pot declanșa fenomene patologice, uneori foarte grave, numite “fenomene de sensibilizare”.

În principiu, orice boală de sensibilizare reprezintă întâlnirea antigenului cu anticorpul în anumite **proporții cantitative în organism**, de obicei în

cantitate mare, ceea ce explică de ce fenomenele de sensibilizare apar brusc, numai la anumite persoane și numai față de anumite substanțe. În unele cazuri, atunci când antigenul este o bacterie, imunitatea și sensibilizarea pot apare concomitent sau separate, având intensități foarte variate. În trecut, s-au făcut o serie de experiențe care au atras atenția cercetătorilor, deoarece la inocularea repetată a unor antigene proteice la animalele de experiență, în loc să se producă imunitate, s-a obținut invers manifestat prin: șoc, dispnee, agitație, diaree sanguinolentă, comă, convulsii, moarte.

Richet și Portier au considerat că aceste fenomene sunt opuse celor de imunitate și le-au numit “anafilaxie” (contrar apărării). De fapt acestea sunt tot fenomene imunologice, determinate de prezența anticorpilor serici circulanți (IgE), care formând complexe antigen-corp în cantitate mare, determină fenomene alarmante.

Arthus a demonstrat experimental “anafilaxia locală”, care poartă numele de “fenomenul Arthus”: prin introducerea repetată în același loc, la nivel cutanat a aceluiași antigen proteic, se observă modificări locale până la necroză.

S-a ajuns la concluzia, după numeroase lucrări experimentale, că pentru a se produce fenomenele de sensibilizare este necesar ca între prima inoculare (preparantă) și a doua (declanșantă) să existe un interval de cel puțin 10 – 12 zile, timp în care apar anticorpii sensibilizanți. Datorită anticorpilor prezenți în ser, noul aport de antigen determină formare de cupluri antigen-anticorp, care constituite deodată și în proporții mari cantitative, devin iritante pentru țesuturi și endotelii vasculare, determinând fenomenele patologice.

1. Reacții de tip imediat

a. Șocul anafilactic. Fenomenele observate de către **Richet și Portier** pe animale pot fi întâlnite și la om, constituind cea mai dramatică manifestare a fenomenului de sensibilizare; ea apare în special după administrarea repetată a serurilor terapeutice, când între injecții există un interval de cel puțin 12 zile (dar și un interval mai îndelungat de câteva luni sau ani).

Șocul anafilactic este o manifestare publică rară dar posibilă, după administrarea repetată a unui ser terapeutic (ser de cal). El apare numai atunci când în organism se realizează proporții mari cantitative de cupluri Ag-Ac (ser - anticorpi antiser), cupluri care apar brusc și explică fenomenele de boală care se instalează imediat după administrarea serului: roșeață locală, urticarie, edem al feței, luetei, transpirații și în mod excepțional moartea bolnavului.

b. Boala serului este o manifestare alergică care poate apare după aproximativ 10 – 12 zile de la administrare, după mai multe sau chiar după o unică dar masivă inoculare de ser terapeutic. În acest caz serul joacă rol de antigen (proteină străină față de organism și în consecință determină formare de anticorpi antiser. După 10 – 12 zile, antigenul rămas în exces (deoarece serul terapeutic se administrează în cantități mari) se unește cu anticorpii antiser și formează complexe Ag-Ac iritante pentru pereții vasculari și țesuturi, fapt care explică fenomenele de boală. Bolnavul prezintă edeme pruriginose, uneori

generalizate, care cuprind și glota, tulburări vasculare, dureri articulare, scăderea tensiunii.

Fenomene de sensibilizare de tip imediat, uneori deosebit de alarmante (“șoc anafilactic”) pot surveni și în cursul administrării unor medicamente, inclusiv antibiotice cu efect sensibilizant, în special peniciline.

Reacțiile de tip anafilactic sunt explicate prin cuplarea antigenului (alergenului) cu anticorpii umorali IgE sau reagine, fixați pe suprafața unor celule tisulare, mastocite.

Sub influența cuplului Ag-Ac survin alterări celulare cu eliberarea concomitentă de histamină, serotonină, heparină etc., care explică fenomenele de boală: senzații de sufocare, scăderea tensiunii arteriale etc.

Aceste manifestări pot fi combătute prin medicație antihistaminică.

În concluzie, atât manifestările de imunitate, cât și cele de sensibilizare, se include în sfera mai largă a “alergiei”, noțiune care reprezintă și într-un caz și într-altul **un alt mod de a reacționa al organismului** față de o nouă inoculare cu antigen; ambele fenomene – **imunitate și sensibilizare** – au la bază formarea de cupluri antigen – anticorp.

c. Clasificarea reacțiilor de sensibilizare

După mecanismul de instalare în organism, aceste reacții au fost denumite:

- reacția sau răspuns de tip I (anafilactic);
- reacția sau răspuns de tip II (citotoxic – citotoxic);
- reacția sau răspuns de tip III (cupluri Ag – Ac, cu exces de antigen).

Toate aceste reacții sunt explicate prin formare de cupluri antigen – anticorp cu participarea anticorpilor umorali IgG și IgM, cu sau fără prezența complementului;

- reacția sau răspunsul de tip IV (reacții de sensibilizare mediată de celule). Această manifestare imunologică poartă numele de “reacție de tip celular”, “de tip tuberculinic” sau “de tip întârziat”.

Reacția este determinată de aceleași celule care asigură imunitatea mediată de celule, doar că în alte proporții cantitative.

Infiltratul monocitar, expresie a imunității de tip celular, realizat de limfocitele T specific sensibilizate, delimitează și uneori sterilizează focarul infecțios. Alteori însă, în cazul contactului repetat al organismului cu același antigen (deci organismul este sensibilizat), evoluția procesului local este violentă și pot surveni leziuni celulare intense care pot evolua până la necroză, cauză a cronicizării sau agravării infecției (de ex.: caverna tuberculoasă).

În concluzie, așa cum reacțiile de sensibilizare “de tip imediat” sunt exagerări ale reacției de apărare umorală și deci manifestări patologice, tot astfel reacțiile de sensibilizare “de tip întârziat” sunt exagerări ale fenomenului de apărare celular, deci nefavorabile pentru organism. Aceste fenomene se numesc și “reacții de hipersensibilizare”.

Alte fenomene de sensibilizare a organismului determinate de bacterii

Există boli de origine bacteriană în patogenia cărora participă în mod categoric fenomenul de sensibilizare, dar în care mecanismul imunologic nu este încă suficient precizat.

Un exemplu semnificativ în acest sens îl reprezintă **complicațiile alergice post – streptococice**; după infecții repetate cu streptococ, în special la copii sau adolescenți, în organism pot exista concomitant diferite tipuri de anticorpi umorali și variate fracțiuni antigenice ale streptococului, care se unesc, formând complexe precipitante Ag-Ac, iritante pentru endoteliile vasculare; pot să apară diferite manifestări clinice în raport cu sediul leziunilor: “boala reumatismală”, “glomerulo-nefrita acută”, “cardita reumatismală”.

De asemenea, studii de dată recentă au demonstrat sensibilizarea organismului la endotoxina bacteriilor gram-negative. Această substanță este foarte asemănătoare la numeroase bacterii gram-negative (comensale și patogene), încât prin absorbția ei prin mucoasa intestinală pot surveni fenomene de sensibilizare nespecifică a organismului, în special față de componentul său lipidic.

Acest fapt ar explica unele manifestări clinice în cadrul infecțiilor cu bacterii patogene. De exemplu, în infecția cu bacil tific (febră tifoidă) fenomenele clinice, cum ar fi: congestie și perforație intestinală, pot fi interpretate ca fiind o consecință a eliberării în cantitate mare a endotoxinei în timpul bolii. Deoarece organismul era deja sensibilizat prin antigene identice (endotoxine elaborate de specii bacteriene comensale), aceste fenomene clinice pot evolua foarte intens.

De asemenea, prin același mecanism s-ar putea explica și efectul pirogenelor din soluțiile injectabile, care conțin tocmai fracțiuni antigenice aparținând bacteriilor gram-negative. Aceste substanțe, pe un organism sensibilizat în mod natural la endotoxină, ar putea determina fenomene clinice sub o formă mai accentuată, ca urmare a sensibilizării.

Importanța practică a fenomenelor de sensibilizare pentru farmacist și medic

Fenomenele de sensibilizare interesează pe farmacist din două puncte de vedere:

1. al manifestărilor sau accidentelor posibile la bolnavul la care se administrează serurile terapeutice sau unele medicamente sensibilizante și
2. al reacțiilor de sensibilizare care pot apare la farmacist și personalul sanitar, ca urmare a manipulării a numeroase substanțe medicamentoase.

1. Manifestările de sensibilizare care pot apare la bolnav

Manifestările anafilactice “de tip imediat” apar mai frecvent și mai dramatic după administrarea la bolnav în mod repetat a serului terapeutic.

Cu toate acestea, numeroase alte antigene pot determina la anumite persoane manifestări anafilactice generale alarmante sau manifestări locale cu diferite grade de intensitate.

Numeroase observații din practica medicală au demonstrat că în cursul tratamentului se poate semnala unori la bolnav **alergia medicamentoasă**.

Aceasta poate surveni uneori brutal, ca un veritabil șoc anafilactic, de exemplu: atunci când la persoane sensibilizate la penicilină se aplică acest medicament. Deoarece în acest caz în organism există anticorpi umorali IgE antipenicilină, ei se unesc cu penicilina introdusă și formează un număr mare de complexe antigen-anticorp, care în unele cazuri determină la bolnav stare de șoc și, în cazuri foarte rare, chiar exitus.

De aceea se recomandă o anamneză corectă la bolnav înaintea administrării oricărui antibiotic. La persoanele bănuite a fi sensibile la penicilină se recomandă ca înainte de tratament să se facă o testare intradermică cu 2 unități penicilină sau cu un preparat purificat special. O altă soluție este înlocuirea în cursul tratamentului a penicilinei cu un alt antibiotic cu spectru antibacterian asemănător, dar nesensibilizant, de exemplu: eritromicina.

Alteori alergia medicamentoasă se poate manifesta la bolnav prin **febră, erupție cutanată, prurit**.

Alergia la medicament se caracterizează în general prin marea ei specificitate, în sensul că apare aceleași manifestări clinice numai față de o anumită substanță chimică, dintr-un grup de preparate.

Substanțele care pot determina alergii medicamentoase la bolnav sunt:

- o serie de alcaloizi (derivați de opiu și chinină);
- uleiuri balsamice;
- metale (mercur, arsen);
- halogeni;
- medicamente sintetice: antipirină, salicilați, arsfenamidă;
- antibiotice;
- preparate opoterapice.

În raport cu calea de pătrundere a alergenului în organism pot surveni manifestări caracteristice, localizate la acel nivel, de exemplu:

- **pătrunderea pe cale respiratorie** a diferitelor antigene, ca: praful de fân, polenul de flori, inhalarea diferitelor substanțe volatile sau sub formă de pulberi fine: peptonă, diferiți detergenți, lipocodiu, ipekacuana, apoi aspirină, chinină, antipirină, pot determina următoarele manifestări clinice: febra de fân, astmul bronșic, edemul glotic, edemul pulmonar etc.;
- prezența unor medicamente, alimente la nivelul **mucoasei digestive**, cum ar fi: ouă, lapte, pește, roșii, fragi, căpșuni, determină la unele persoane urticarie sau tulburări digestive la scurt interval după consumul lor.

2. Manifestări de sensibilizare cu caracter profesional

În afara manifestărilor pulmonare care pot surveni la persoane care inhalează substanțe volatile, pulberi, cu caracter sensibilizant, cele mai importante manifestări de sensibilizare cu caracter profesional sunt cele cutanate, denumite în sens mai larg “manifestări alergice cutanate” (unele dermatoze profesionale).

Manifestările alergice cutanate pot avea o etiologie foarte diversă:

- înțepături de albine sau viespi;
- sucuri de plante;

- unele uleiuri de polen;
- produse de origine animală (lână).

Din specia de “iederă urzicătoare” s-a pus chiar în evidență un principiu active, sensibilizant, un derivat catecholic trisubstituit cu formula generală $C_6H_3(OH)_2C_{15}H_{27}$.

De cele mai multe ori însă, aceste manifestări cutanate de natură alergică apar la persoane care manipulează anumite substanțe chimice în diferite sectoare industriale: coloranți, uleiuri, lacuri, cauciuc, lemn etc., de asemenea numeroase substanțe chimice sau medicamentoase, cum ar fi: fenolftaleine, antibiotice (peniciline, streptomycină etc.).

Trebuie însă subliniat faptul că aceste manifestări alergice cutanate apar numai la anumite persoane la care se discută și predispoziția ereditară și ele apar numai atunci când în organism se realizează un anumit raport cantitativ de complexe Ag-Ac în care este implicat alergenul sensibilizant.

Manifestările alergice cutanate se traduc prin apariția de papule sau vezicule foarte pruriginoase, care în unele cazuri apar și dispar în decurs de câteva ore.

Alteori, manifestările cutanate de “tip anafilactic” apar sub formă de edem Quincke sau edem angio-neurotic, care se întinde pe suprafețe mari: buze, jumătate a feței, mâini, organe genitale etc., manifestări care de asemenea apar și dispar repede.

Unii autori încadrează în astfel de manifestări alergice și migrena cu evoluție pasageră (răspunsuri de tip I “anafilactic”).

Faptul că în unele cazuri dermatozele profesionale apar mai lent, iar odată apărute sunt de obicei foarte persistente și rebele la tratament, ele au fost interpretate ca fenomene de sensibilizare în care intervine un mecanism imunologic local, celular, în care au loc fenomene de autoagresiune. Astfel se presupune că substanța chimică (alergenul) acționează asupra celulelor din derm pe care le modifică transformându-le în proteine “non self” pentru sistemul imunocompetent, față de care organismul începe să producă autoanticorpi.

Se creează astfel un cerc vicios, deoarece complexe Ag-Ac care apar sunt iritante pentru propriile țesuturi, care suferă în continuare procesul de degradare locală în prezența complementului (efect citotoxic-citolitic denumit și răspuns de tip II).

În acest fel se eliberează în permanență autoantigene, care stimulează consecutiv producerea de autoanticorpi, determinând o boală de autoagresiune sau “autoîntreținută”.

Studii de dată recentă au demonstrat în mod experimental mecanismul de hipersensibilizare de tip întârziat (răspuns de tip IV) față de unele substanțe ca: săruri de nichel, para-fenil-diamină, acid picric, cu posibilitatea transferului pasiv al stării de sensibilizare prin celule peritoneale, la un animal nou.

Tot în mod experimental s-a demonstrat că substanțele medicamentoase erau capabile să inducă în organismul animal formare de anticorpi numai după cuplarea cu o proteină, fapt care justifică interpretarea acestor boli ca fenomene de autoagresiune.

În urma unor observații multiple reieșite din practica îndelungată și diferite experimente de laborator, rezultă următoarele concluzii care trebuie bine cunoscute și înțelese de farmacist:

1. farmacistul trebuie să cunoască riscul administrării unui medicament sau produs biologic la persoane sensibilizate.

Trebuie făcută o anamneză corectă înainte de administrarea unor astfel de medicamente și de procedat:

- la înlocuirea medicamentului cu altul nesensibilizant sau,
- de efectuat o desensibilizare corectă pentru antibioticul sau serul terapeutic respectiv, în cazul persoanelor sensibilizate;

2. posibilitatea apariției unor fenomene de sensibilizare (respiratorii, cutanate etc.) la persoanele care mănuiesc produsele chimico-farmaceutice: farmaciști, tehnicieni, îngrijitori.

Acest lucru impune o minuțioasă observație a persoanei suferinde pentru a descoperi care dintre substanțe reprezintă alergenul, evitarea acestor substanțe sau mai bine, schimbarea temporară a sectorului de muncă pentru persoana respectivă. Ca medicație: Avil, Romergan, clorură de calciu.

Pentru a preciza la om antigenul cu care a fost sensibilizat se utilizează “alergene” preparate după tehnici speciale, cu care se efectuează testul intradermic.

Reacția se practică cu cantități foarte mici de antigene (alergene) în volum de 0,1 – 0,2 ml., cu care să determine numai o reacție locală, de obicei pe fața anterioară a antebrațului.

Reacția se începe cu diluții mari 1/10.000 (uneori diluții mult mai mari, chiar 1/1.000.000) și în caz negativ se continuă cu concentrații mai mari (1/1.000 – 1/100 etc.).

În sensibilizările de “tip imediat” reacția se pozitivează după prima jumătate de oră (de ex.: la ser de cal) sub forma unei papule eritematoase cu margini neregulate și dispare de asemenea după un scurt interval. În acest caz, în cadrul tratamentului, fie că se renunță la medicament, fie în cazul serului terapeutic se face desensibilizarea.

În sensibilizarea de “tip întârziat” reacția se pozitivează după 48-72 de ore și durează câteva zile.

Aceste reacții se numesc “de tip tuberculinic”, fiind utilizate atât în infecția tuberculoasă pentru a pune în evidență cu reacția i.d.r. la tuberculină dacă organismul a luat contact cu bacilul Koch și s-a instalat starea de sensibilizare, precum și în scop de diagnostic în boli cu sensibilizare de tip întârziat:

- infecții bacteriene: bruceloză, tularemie, morvă, lepră;
- infecții virale: herpes, limfogranulomatoză benignă;
- infecții micotice: histoplasmoză, coccidioză;
- infestări helmintice: chist hidatic (reacția Cassoni).

Profilaxia și tratamentul bolilor de sensibilizare

Atunci când unei persoane trebuie să i se aplice un tratament cu ser, unele medicamente sau antibiotice puternic sensibilizante, cum sunt penicilinele, se

face mai întâi o i.d.r. pentru a testa starea de sensibilizare a organismului față de acea substanță.

În cazul reacției de sensibilizare de tip imediat se va începe desensibilizarea “tip Besredka”. Principiul este următorul: dacă în organismul sensibilizat se introduc treptat doze mici din antigenul care a produs sensibilizare, anticorpii existenți în serul și umorile organismului sunt treptat neutralizați.

Când se ajunge la o desensibilizare totală, adică lipsa reactivității locale, la un ser brut, de exemplu, se poate aplica fără nici un risc serul respectiv în cantități mari (în scop profilactic sau terapeutic).

Practic, se efectuează injecții repetate la interval de 20 – 30 minute, în volum de 0,1 – 0,2 ml de la diluția 1/10.000, treptat, până la serul sau medicamentul brut.

Se consideră desensibilizat bolnavul când nu se produc reacții locale la 1-2 ml. medicament sau ser brut administrat subcutanat. Desensibilizarea se folosește în practică pentru unele medicamente, alimente, substanțe chimice, polenuri, administrate în doze mici, fracționate până la dispariția fenomenelor de boală.

În cazurile de sensibilizări grave în care antigenul este necunoscut se utilizează medicamente sau metode imunodepresive prin care se suprimă temporar formarea de anticorpi. Acestea sunt: ACTH, cortizon, radiații X, thioguanina, metotrexat, serul antilinfocitar etc..

BIBLIOGRAFIE

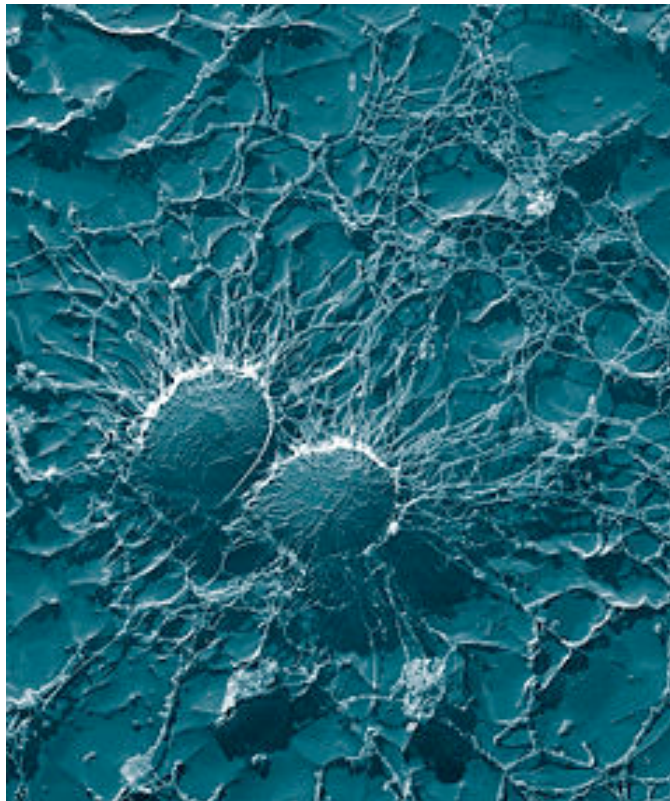
1. CRUICSHANK R: “Medical Microbiology”, Livingstone Limited LTD, Edinburg-London, 1965, cap.VIII – pp. 113-133.
2. DUBOS R.J.: “Bacterial and Mycotic Infections of Man”, 4th Ed., Lippincott Comp. Philadelphia, 1965.
3. DUCA EUGENIA: “Curs de Microbiologie” 1973, Iași, vol II, pp. 318-437
4. DUCA EUGENIA: “Curs de Microbiologie pentru facultatea de Farmacie”, Iași, 1967, pp. 148-167.
5. DUCA EUGENIA: “Mecanismele imunității dobândite anti-infecțioase”, Revista Medico-Chirurgicală Iași, 1968, pp. 476-484.
6. GELL P.H., COOMBS R.R.A.: “Clinical aspects of immunology”, Blackwell Scient. Publ. Oxford 1963, Section II, III, IV.
7. JAWETZ E., MELNIK J., ADELBERG E.: “Medizinische Microbiologie”, cap. 12, Springer Verlag, Berlin, 1963
8. MESROBEANU I., BERCEANU ST.: “Imunologie și imunopatologie”, Ed. Medicală, București, 1968, cap. I-VIII, pp. 17-310; 268-271.
9. SARAGEA M., CHIMON D., ROTARU D.: “Câteva noțiuni de imunologie modernă”. Nota I, II, III, IV, V. Viața Medicală, 1971, pp. 483-487; 531-534; 585-591; 723-727; 771-778.

10. ZARNEA G.: "Microbiologie generală". Editura didactică și pedagogică, București, 1970, pp. 476-519; 520-523.
11. ZILBER L.A.: "Bazele imunologiei". Editura Medicală București, 1959, cap. IV-XVI, pp. 108-452; 270-275.
12. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

Modul C. Microbiologie speciala

CURS 9

15. Infecții cu coci gram-pozitivi și gram-negativi (BORISOVA STILİYANA, seria I, grupa 3.)



Coci grampozitivi: stafilococi, streptococi

Cocii sunt bacterii sferice sau ovalare, foarte răspândite în mediul extern iar în organism pot trăi ca saprofiti, comensali sau patogeni. Ei determină numeroase infecții de obicei cu caracter supurativ (coci piogeni) uneori cu tendință la generalizare.

Coci patogeni gram-pozitivi se încadrează în:

Familia Micrococaceae, genul *Staphylococcus* (stafilococul);

Familia Lactobacillaceae, genul *Streptococcus* (streptococul);

Familia Lactobacillaceae, genul *Diplococcus* (pneumococul).

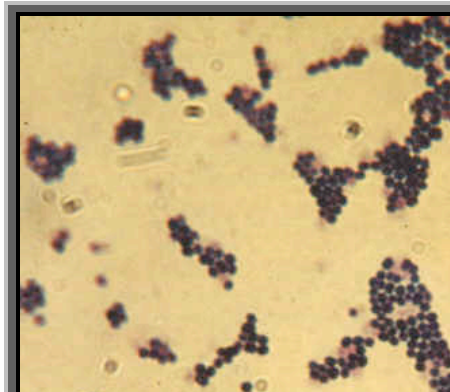
Tot aici se încadrează și unele specii patogene anaerobe cuprinse în genurile: *Methanococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, care determină procese supurative uneori cu punct de plecare uterin.

Stafilococii

Staphylococcus pyogenes face parte din ordinul Eubacteriales, familia Micrococaceae, genul *Staphylococcus*. A fost descris prima oară de către Billroth în anul 1874 care l-a pus în evidență în puroiul unor infecții cu caracter supurativ; Pasteur l-a evidențiat de asemenea din osteomielita dar și din apa Senei în 1878. Numele de stafilococ a fost dat de chirurgul englez Ogston, după așezarea caracteristică a acestui microb sub forma de ciorchine de strugure.

Stafilococul este o bacterie sub forma unui coc sferic, dispus in gramezi, gram pozitiv, cultiva pe medii simple dezvoltand pe medii dolide colonii mari, opace, pigmentate.

Habitat. Stafilococul este foarte raspandit in natura, fiind prezent pe mucuasele si tegumentele omului, ca comensal. vopilul, chiar dupa cateva zile de la nastere prezinta la nivelul foselor nazale, ombilic, perineu, stafilococ, patogen. Multe persoane adulte sunt purtatoare nazale sau nazo-faringiene de stafilococ patogen pe care il raspandesc in mediul extern prin tuse, stranut sau vorbire; in acest mod cat si prin produsele patologice de la bolnavii microbii ajung in mediul extern fiind prezenti in sol, aer, apa, alimente (uneori medicamente) si ulterior pe cale aeriana sau digestiva pot contamina organisme noi.



Caractere morfologice si de cultivare. Din punct de vedere morfologic, stafilococul este un coc sferic, care in produsele patologice dar mai ales in culturi prezinta o asezare caracteristica in gramezi asemanatoare unui ciorchine de strugure (staphylos=strugure) fiind gram-pozitiv; in cultrile vechi pot apare si elemente bacteriene gram-negative.

Stafilococul se cultiva bine pe medii uzuale tulburand bulionul iar pe geloza formeaza colonii emulsionabile in ser fiziologic, opace si pigmentate, colonii de tip S. Dupa culoarea pigmentului stafilococii au fost digerentiati in aurii, citrini si albi, cei din urma fiind lipsiti de pigment.

Caractere biochimice. Stafilococul patogen fermenteaza o serie de zaharuri dintre care manita este utilizata de obicei ca test in cadrul diagnosticului de laborator. Cultiva in prezenta unei cantitati mari de clorura de sodiu (7-9%), principiu care sta la baza prepararii unor medii selective pentru izolarea stafilococului patogen din produse suprainfectate (mediul Chapman).

Stafilococul patogen elaboreaza o serie de enzime pe baza carora poate fi identificat si este de obicei hemolitic.

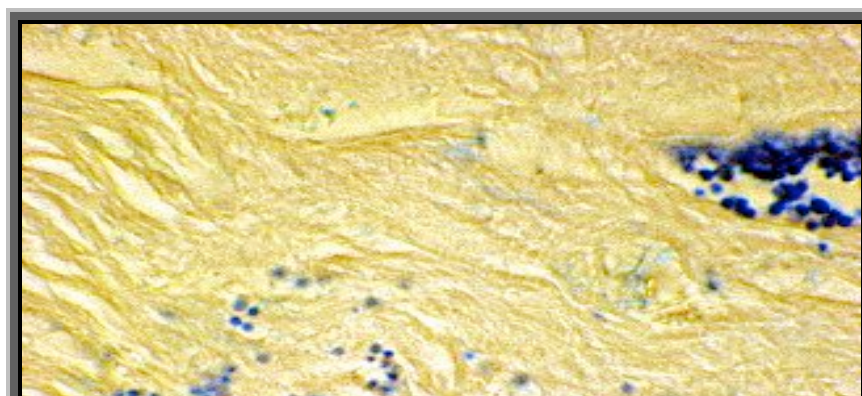
Rezistenta in mediul extern. Stafilococul este foarte rezistent in mediul extern: rezista luni de zile adapost de lumina si usaciune. Este distrus in 10 min. la 80°C si in 30 min la 58-60°C, in raport de tulpina. Este sensibil la colorantii de anilina, sulfamide si numeroase antibiotice ca de exemplu: diferite peniciline

de bio- si semisinteza apoi eritromicina, tetraciclina, pyestacina etc.

Patogenitatea stafilococului este determinata atat prin 1 virulenta microbului (posibilitatea de a se multiplica in organism cat si 2) elaborarea unor substante specifice: o toxina stafilococica cu efect letal, hemolitic si neurotic pentru animalul sensibil (iepurile) precum si o serie de exoenzime bacteriene ca: coagulaza, fibrinoliza, hialuronidaza; unele tulpini poseda si o enterotoxina.

Virulenta stafilococului este variabila de la o tulpina la alta, deoarece unele specii saprofite sunt complet lipsite de patogenitate iar altele prezinta o patogenitate moderata sau o patogenitate accentuata, determinand imbolnavirii sporadice; cele mai patogene insa sunt asa numitele "tulpini de spital" (virulente si toxigene) selectate adesea din bacteriile comensale si deci potential patogene care prezinta o mare agresivitate adesea cu caracter epidemic in mediu de spital.

Boala la om. Infectiile pe care le determina stafilococul la om sunt numeroase. Cele mai frecvente sunt infectiile localizate la nivelul pielii si mucoaselor, unde acest microb este prezent ca comensal.



Adesea la nivel cutanat infectiile au un caracter limitat. Acestea sunt:

1. Manifestarile superficiale: foliculitate, impetigo pustular perifoliular (orgeletul sau ulciorul), acnea si
2. Infectii profunde: furunculul care afecteaza foliculul pilos sau furunculul antracoid, cand sunt implicati mai multi foliculi pilosi.
3. Prinderea glandelor sudorinare realizeaza hidrosadenita iar
4. Infectia tesutului conjunctiv profund, determina flegmoane, abcese, panaritii.
5. Infectia sistemului osos, in special la adolescenti determina boala numita osteomielite.

Infectiile stafilococice localizate prezinta un caracter supurativ cu puroi galben, gros bine legat adesea sanguinolent; acest proces reuseste uneori sa fie delimitat si invins de organism pana la autosterilizare printr-un proces intens de fagocitoza. Daca insa microbul prin posibilitatile sale de agresivitate invinge armele de aparare ale organismului, infectia se extinde si uneori se poate

generaliza. Astfel infectia stafilococica se poate extinde la:

6. Sistemul limfatic, determinand limfangite si adenite, sau

7. Se generalizeaza pe cale sanguina determinand septicemia si

8. Septicopioemia cu localizari secundare in diverse tesuturi sau organe;

in acest mod pot surveni serie de afectiuni:

- pneumonie, bronhopneumonie,
- abces pulmonar,
- abces hepatic,
- abces perinefretic,
- abces cerebral sau cu localizari seroase ca:
 - peritonita,
 - pericardita,
 - meningite,
 - artrite etc.

9. De asemenea pot surveni flebite stafilocociceca de exemplu: tromboflebita venei faciale si a sinusului cavernos in cadrul stafilocociei maligne a fetei, afectiune grava urmata de obicei de septicemie; aceasta survine de obicei in urma unei infectii minore de natura stafilococica localizata la aripa nasului sau baza superioara.

10. In ultimul timp se semnaleaza pe plan mondial endocardite determinate de stafilococi albi-cenusii sau chiar tulpini lipsite de pigment (dar potential patogene) in conditii cu totul speciale: interventii pe cord, utilizare de proteze valvulare de material plastic, perfuzii septice etc.

11. Toxiinfectiile alimentare determinate de stafilococ reprezinta un ansamblu de manifestari clinice digestive care apar dupa 3-8 ore la mai multe persoane care au consumat acelasi aliment contaminat (in special produse lactate). Acest tip de infectie este determinat de anumite tulpini de stafilococ patogen care elaboreaza o exotoxina cu tropism pentru mucoasa intestinala (enterotoxina).

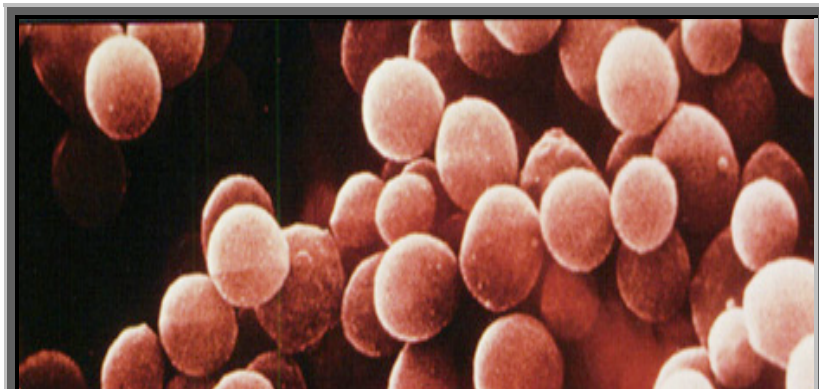
Imunitatea determinata de infectiile stafilococice este slaba, legat de obicei de tipul care a determinat infectia, aceeasi persoana putand suferi in timpul vietii infectii repetate cu tipuri diferite. De aceea, odata cu inaintarea in varsta organismul capata o oarecare rezistenta la infectia stafilococica in raport cu infectiile anterioare.

In lumina cunostintelor actuale, infectiile cronice recidivante cu stafilococ (furunule, orgeleturi) sunt considerate nu ca o lipsa de raspuns imunologic ci dimpotriva ca o reactivitate exagerata, de tip celular fata de infectii stafilococice minore.

Diagnosticul de laborator consta in izolarea microbului din produsele patologice si identificarea lui dupa caracterele marfo-tinctoriale biochimice care constituie totodata si testele de vilulenta *in vitro* (coagulaza, hemoliza, fermentarea manitei si formare de pigment) iar pentru stafilococul enterotoxic, punerea in evidenta a efectului toxic pe animal a toxinei preparata din tulpina izolata (testul Dolmann pe pisici tineri de 3-6 saptamani).

Epidemiologie. Izvorul principal de infectie este omul bolnav prin produsele patologice eliminate (puroi, secretii, sputa, materii fecale) sau

purtatorii nazo-faringieni care impartie microbii prin stranut, tuse, vorbire. Foarte periculosi sunt purtatorii sanatosi care fac parte din personalul sanitar al sectiilor de chirurgie si care pot contamina plagile operatorii in timpul operatiei sau a schimbarii pansamentelor. Contaminarea se poate face direct de la bolnav sau prin intermediul obiectelor, lenjeriei, alimentelor, medicamentelor.



Purtatorii din nasofarinx pot contamina medicamentele prin vorbire, stranut sau prin intermediul mainilor.

Profilaxia: infectiile stafilococice trebuie corect tratate pana la sterilizarea focarului infectios. Este absolut obligatorie protejarea infectiilor cutanate cu pansamente sterile pentru a evita suprainfectarea bolnavului precum si diseminarea microbilor in mediul extern. De asemenea se vor steriliza purtaterii nazali sau faringieni in special personal medical, mediu sanitar si farmacisti prin aplicare de unguente cu antibiotice si gargarisme.

O problema foarte importanta in epidemiologia infectiilor cu stafilococ este aparitia unui numar tot mai mare de tulpini rezistente la antibiotice, capabile sa determine infectii interspitalicesti. Acest lucru impune pe de o parte tratarea bolnavilor cu antibiotice numai dupa efectuarea antibiogramei iar din punct de vedere epidemiologic aplicarea tuturor masurilor de igiena si dezinfectie precum si identificarea stafilococilor izolati din cadrul spitalului cu ajutorul bacteriofagilor (lizotipie) pentru precizarea sursei de infectie si filitatiei cazurilor.

Tratamentul. In general, infectiile localizate, suprficiale (orgelet, panaricii etc.) nu necesita tratament cu antibiotice; sunt suficiente bai calde cu antiseptice iar in cazul infectiilor cutanate diseminate, bai generale urmate de clatire cu bromocet solutie 1g/l.

In cazul colectiilor profunde purulente: furuncul, aboes, flegmon, este necesara interventia chirurgicala aseprica pentru evacuarea puroiului urmata de antibiotice- teraperie corecta, conform antibiogramei.

In cazul infectiilor stafilococice generalizate ca septicemii sau cu localizare in organe: infectii pulmonare, urinare etc. se va aplica de la inceput tratament cu

antibiotice. Cu unele exceptii tratamentul va fi aplicat numai dupa efectuarea antibiogrammei pentru a cunoaste care este antibioticul fata de care stafilococul izolat este cel mai sensibil. In cazuri speciale cand microbul este rezistent la antibioticele obisnuite (penicilina, eritromicina, cloramfenicol etc.) se va recurge la antibiotice cu spectru mai larg ca: maticilina, piostatina, kanamicina etc.

In infectiile cronice sau recidivante tratamentul cu antibiotice va fi asociat cu tratamentul specific (activ numai pentru specia stafilococ) si anume se aplica vaccinarea antitoxica si antimicrobiana.

In acest scop se foloseste anatoxina concentrata si purificata, si vaccinul antistafilococic (polivalent, preparat din mai multe tulpini de stafilococ apartinand tipurilor care se izoleaza mai frecvent in tara noastra). Ambele preparate se administreaza concomitent la nivelul antebratelor intradermic in cantitati crescande incepand cu 0,1 ml, in serii de 10-12 doze.

Pentru a obtine o imunizare specifica de tip vaccinul poate fi inlocuit cu autovaccin, preparat din tulpina proprie izolata de la bolnav (suspensie in ser fiziologic, inactivata prin caldura).

Importanta infectiilor stafilococice pentru farmacist.

Existenta unui numar mare de purtatori sanatosi de stafilococ patogen precum si frecventa crescuta a infectiilor stafilococice minore ctanate, explica rezervorul potential de infectie la nivel de farmacii in special in spitale. Medicamentul poate fi contaminat din nazo farinx de catre farmacist prin tuse, stranut, vorbire, prin "maini murdare" care pot vehicula stafilococul de la nivelul faringian, intestinal sau prin aerul si intestinale contaminate cu acest microb in mod intamplator in timpul prepararii sau manipularii lui.

Pentru a evita acest lucru trebuie respectate urmatoarele conditii:

- Camerele de preparare a medicamentelor trebuie sa fie mentinute foarte curate prin utilizare de detergenti si aplicare de dezinfectii periodice.
- Se va evita patrunderea in camerele de lucru din farmacii a persoanelor straine si se va interzice vorbitul excesiv;
- Medicamentele (in special cele obligator sterile) vor fi preparate aseptice in boxe sterile ,utilizind corect masca care sa acopere obligator gura si nasul;
- Se va supraveghea din punct de vedere microbiologic intreg personalul din farmacii (inclusiv ingrijitorii).

Daca la una sau mai multe persoane se izoleaza din exudatul faringian stafilococ patogen (sau alte bacterii patogene) ele vor fi sterilizate cu unguent cu antibiotice, in cazul stafilococului (neomicina + gramicidina aplicat intra nazal si se vor recomanda gargarisme).

In caz de infectii stafilococice acute: plagi infectate, furuncule, panaritii ,este necesara izolarea persoanelor bolnave cu protejarea procesului infectios sub pensamente sterile;este absolut interzis ca persoanele cu infectii stafilococice evidente sau deschise sa prepare sau sa manipuleze medicamente.

COCI GRAM-POZITIVI (streptococii, pneumococul)

(ANGHEL ALINA – MIHAELA, anul II, seria 1, grupa 1 Farmacie)

STREPTOCOCII

Streptococul face parte din familia Lactobacillaceae, genul Streptococcus. Streptococii sunt coci usor ovalari, gram-pozitivi, dispusi in lanturi, aerobi si facultativ anaerobi, care necesita pentru cultivare medii compuse. Exista si specii strict anaerobe.

Streptococii pot fi clasificati dupa criterii diferite: morfologia coloniilor si hemoliza produsa pe geloza-sange, specificitatea serologica a substantelor specifice de grup si de tip, reactiile biochimice, rezistenta la factori fizici si chimici, diferite caracteristici ecologice. In activitatea curenta, se impune utilizarea a doua criterii de clasificare: aspectul hemolizei pe geloza-sange, respectiv clasificarea antigenica Lancefield.

Dupa aspectul hemolizei la cultivarea in laborator, streptococii se impart in urmatoarele grupe:

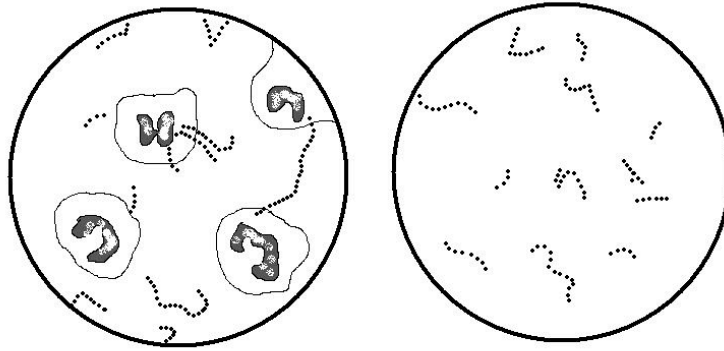
- Streptococi β -hemolitici (zona clara de hemoliza completa in jurul coloniei, efect al actiunii hemolizinelor produse de germen)
- Streptococi α -hemolitici (zona de hemoliza verzuie, incompleta, datorata producerii de peroxid de hidrogen)
- Streptococi α' (zona de hemoliza alfa inconjurata de o zona ingusta de beta hemoliza)
- Streptococi nehemolitici

Clasificarea antigenica (Rebecca Lancefield, 1933) are drept criteriu prezenta polizaharidului C in peretele celular, un antigen cu specificitate de grup, prezent la toate grupele de streptococi, exceptie facand grupa D, la care este inlocuit cu acid glicerol-teichoic. Din acest punct de vedere, streptococii sunt: grupabili, incadrati in 19 grupe serologice si negrupabili, care nu au antigenul de grup, dintre care fac parte Streptococcus pneumoniae si majoritatea streptococilor comensali ai mucoasei orofaringiene si bucale.

Streptococul a fost pus in evident pentru prima oara de Billreth in 1874 in erizipel si in anul 1879 de catre Pasteur in febra puerperala. Victor Babes a demonstrat in anul 1887 rolul streptococului in glomerulonefrita post-streptococica.

Habitat. Streptococii sunt foarte raspanditi in natura. Sediul lor natural este cavitatea bucala, rinofaringele, tractusul intestinal si mai rar mucoasa genituala la om si animale. Prin excretele naturale cat si prin produsele patologice de la om si animalele bolnave streptococii sunt raspanditi in mediul extern: sol, apa, aer, alimente mai ales lactate.

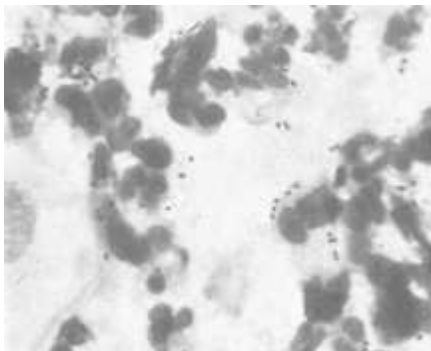
Caractere morfo-tinctoriale si de cultivare. Streptococii sunt sferici sau usor ovalari, avand diametrul de 0,8-1 μ ; sunt dispusi in lanturi care sunt ceva mai scurte in produsele patologice si culturile de pe mediile solide si ceva mai lungi in mediile lichide (10-15 coci). Lanturile foarte lungi care traverseaza campul microscopic apartin de obicei speciilor nepatogene. Streptococii sunt in general imobili cu exceptia unor tulpini de enterococ



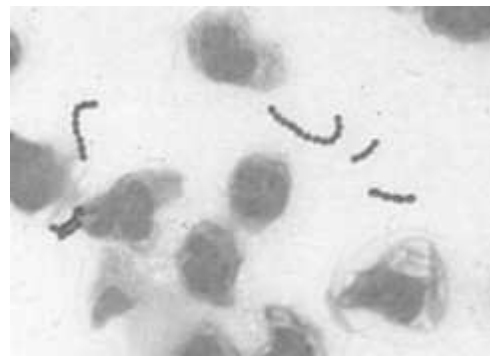
(*Streptococcus faecalis*) care prezinta 2 cili laterali. Unii streptococi pot prezenta uneori o capsula fina; toti sunt nesporulati si se coloreaza gram-pozitiv.

Streptococ, produs patologic Streptococ, cultura

Pentru cultivare streptococii necesita medii bogate in proteine cu adaos de sange, aer, sau zaharuri. Majoritatea tulpinilor sunt aerobe dar exista si specii microaerofile sau strict anaerobe. Pe mediile lichide formele S produc o tulburare usoara a bulionului cu depozit redus; formele R cultiva cu depozit granular si mediu limpede. Pe mediile solide, coloniile sunt mici de 0,5–1 mm, transparente. Dupa aspectul coloniilor pe mediu cu geloza-sange streptococii au fost impartiti in 3 grupe: streptococi beta-hemolitici, ale caror colonii sunt inconjurate de o zona clara de hemoliza, streptococi viridans cu o zona de hemoliza incompleta, verzuie si streptococi indiferenti sau nehemolitici.



S. agalactiae (grup B)
coloratie Gram



S. pyogenes (grup A)
coloratie Gram



S. pyogenes
coloratie Gram

Rezistenta in mediul extern. Streptococii au o rezistenta redusa in mediul extern, ei fiind distrusi in 30 min la 55°C, dar in produse patologice pot rezista luni de zile la intuneric.

Streptococii sunt distrusi usor de antisepticele uzuale (fenol 2-5%, sublimat 1‰, apa oxigenata 3%) si sunt sensibili la actiunea penicilinei; streptococul viridans si enterococul fiind mai putin sensibili la penicilina, raspund mai bine la asociatia penicilina-streptomicina.

Patogenitatea. Genul Streptococcus cuprinde dupa Lancefield 19 grupe serologice notate de la A la U cu numeroase tipuri (55 numai in cadrul grupului A) dintre care numai unele sunt patogene pentru om. Cele mai multe infectii sunt determinate la om de Streptococcus pyogenes, specie hemolitica denumit si streptococ beta hemolitic grup A, iar streptococul viridans, prezent de obicei in cavitatea bucala si Streptococcus faecalis in intestin, pot determina infectii grave ca: endocardite sau infectii urinare, numai cu conditia ca local, pe endocard sau in caile urinare, sa existe malformatii anatomice sau depozite fibrinoase care sa favorizeze dezvoltarea bacteriilor la acel nivel.

Streptococcus pyogenes este o bacterie gram-pozitiva, care se dispune in lanturi si reprezinta cauza infectiilor streptococice de grup A. In peretele sau este prezent antigenul grupului A, este o specie hemolitica ce produce β -hemoliza atunci cand este cultivat pe geloza-sange (liza completa a eritrocitelor cu eliberarea hemoglobinei).

Patogenitatea streptococului este determinat de marea virulenta a bacteriei (in care un rol important il are antigenul proteic M) precum si o serie de exoenzime: hemolizine, streptochinaza, streptodornaza etc. si mai ales toxina eritrogena, la care se adauga factori cu rol sensibilizant: nefritogen si reumatogen (inca neidentificati).

Streptococii de grup A elaboreaza o serie de componente celulare de suprafata si produsi extracelulari care au importanta atat in patogeneza infectiei, cat si in raspunsul imun al gazdei umane. Peretele celular contine un antigen hidrocarbonat care poate fi eliberat din celula bacteriana in contact cu o substanta acida. Reactia dintre astfel de extracte acide si antiserul specific pentru grupul A reprezinta baza identificarii tulpinilor streptococice ca fiind

Streptococcus pyogenes. Proteina majora de suprafața a streptococilor de grup A este proteina M, care apare în mai mult de 80 de tipuri distincte antigenice și reprezintă baza serotipării tulpinilor cu antiseruri specifice. Moleculele proteinei M sunt structuri fibrilare ancorate în peretele celular al microorganismului, care se extind de la suprafața celulei sub forma de prelungiri filiforme. Secvența de aminoacizi a porțiunii amino-terminale sau distale a moleculei proteinei M este variabilă, explicând variația antigenică a diferitelor tipuri M, în timp ce regiunile mai proximale ale proteinei sunt în general conservate. Prezența proteinei M se corelează cu capacitatea unei tulpini de a rezista distrugerii fagocitare în sângele uman proaspăt, un fenomen care aparent se datorează cel puțin în parte legării fibrinogenului plasmatic de moleculele proteinei M pe suprafața streptococică, interferând astfel cu activarea complementului și depunerea fragmentelor opsonice de complement pe celula bacteriană.

Această rezistență la fagocitoză este învinsă de anticorpii specifici față de proteina M, explicând observația că persoanele cu anticorpi față de un anumit tip M dobândiți în urma unei infecții sunt protejate împotriva infecției următoare cu microorganisme de același tip M, dar nu și cu tipuri M diferite. Streptococii de grup A elaborează, de asemenea, în proporții variabile, o capsulă polizaharidică compusă din acid hialuronic. Anumite tulpini produc cantități mari de acid hialuronic capsular, ducând la aspectul caracteristic, mucoid, al coloniilor. Polizaharidul capsular joacă de asemenea un rol important în protecția microorganismului împotriva ingestiei și distrugerii de către fagocite. Spre deosebire de proteina M, capsula din acid hialuronic este slabă imunologic, iar anticorpii anti-hialuronat nu s-au dovedit a avea un rol important în imunitatea protectoare, probabil datorită aparentei identități structurale dintre acidul hialuronic al streptococului și acidul hialuronic din țesutul conjunctiv al mamiferelor. Streptococii de grup A produc un număr mare de componente extracelulare, care pot avea un rol important în toxicitatea locală și sistemică și în facilitarea răspândirii infecției în țesuturi. Printre acestea se numără streptolizinele S și O - toxine care afectează membranele celulare și sunt răspunzătoare pentru hemoliza produsă de aceste microorganisme - streptokinaze, ADN-aze, proteaza și exotoxinele pirogene A, B și C. Exotoxinele pirogene, cunoscute anterior ca toxine eritrogene, produc rashul din scarlatina.

Unele infecții determinate de streptococ constituie entități clinice foarte distincte. Acestea sunt: scarlatina, erizipelul, febra puerperală și endocardita subacută Osler.

1. Scarlatina. Este o boală infectocontagioasă a copilăriei, fiind determinată de *Streptococcus pyogenes* sau streptococul beta-hemolitic. Boala începe cu o infecție la nivelul amigdalelor (angina) iar după 2-7 zile de incubare, exotoxina elaborată de streptococii din faringe se răspândește în tot organismul determinând febră, frison și erupție cutanată caracteristică localizată pe față, gât, torace, abdomen.

Mod de transmitere. Este produsă de streptococul hemolitic. Microbul se găsește în nasul și în gâtul bolnavilor de scarlatina, convalescentilor netratați cu penicilină, bolnavilor cu angine streptococice și purtătorilor sănătoși. Boala se

transmite de obicei prin contactul dintre bolnav sau purtator și individul receptiv. În timpul vorbirii, rasului, strănutului sau tusei, picăturile de secreții din nas sau gât și saliva infectează aerul din jurul bolnavului, dar și obiectele, alimentele, lenjeria. De cele mai multe ori, însă, boala se ia direct, de aceea, orice bolnav de scarlatina se izolează la domiciliu (dacă sunt condiții corespunzătoare) sau se internează într-un spital de boli contagioase.

Diagnostic clinic.

Prodromul (perioada preeruptivă) cu durată de 36-48 ore se instalează brusc, uneori brutal, cu febră, angină, varsatură. Febră este frecvent precedată de frisoane, atinge valori mari (39-40°C), fiind însoțită de tahipnee, tahicardie, agitație, convulsii la copilul mic. Angina (enanțemul) debutează cu o senzație de uscăciune în gât, deglutiție dureroasă. Aspectul anginei este roșu-intens (ca "flacăra") și cuprinde amigdalele, pilierii, lueta, prezentând o linie netă de demarcație. Varsăturile pot fi unice sau repetate, însoțite și de alte manifestări digestive: grețuri, dureri abdominale. Adenopatia satelită este întotdeauna prezentă, submaxilar, latero-cervical. Limba urmează un ciclu caracteristic de-a lungul evoluției bolii, în prodrom fiind încărcată cu un depozit albicios (limba de portelan).

Perioada de stare (eruptivă): are o durată de 4-6 zile și debutează prin apariția unui eritem punctat, pe gât și torace. Generalizarea erupției se realizează în 24-48 de ore, fără a afecta fața, care păstrează aspectul de mască Filatov. Tegumentul este aspru la palpare. Limba își continuă ciclul, prin descuamare de la varf către bază și pe margini, fiind complet descuamată la sfârșitul perioadei de stare, când ia aspect de "limba zmeurii". Angina persistă și este însoțită de adenopatiile cervicale și submaxilare, cu ganglionii măriti în volum, sensibili la palpare, dar fără fenomene supurative.

Diagnostic de laborator.

Produse patologice: sange, urina, exudat faringian și/sau nazo-faringian, nazal.

Teste de laborator nespecifice: evidențierea sindromului biologic inflamator: leucocitoză cu neutrofilie, eozinofilie, VSH accelerat, fibrinogenemie crescută.

Diagnosticul bacteriologic constă în evidențierea, prin culturi de la poarta de intrare, a streptococului beta hemolitic (neobligatorie pentru acceptarea diagnosticului). Exudatul faringian se recoltează dimineata, înainte ca pacientul să manance și să se spele pe dinți, înainte de începerea tratamentului. Se sterg amigdalele și peretele posterior al faringelui, evitându-se atingerea cu tamponul faringian a limbii, luetei și contaminarea lui cu saliva. După recoltare, tamponurile utilizate pentru recoltarea exudatelor faringian, nazo-faringian și nazal, se vor transporta în maximum două ore la laborator. Dacă acest interval se va prelungi, tamponurile se introduc în eprubete ce contin mediu selectiv îmbogățit: mediu Pick sau bulion Todd-Hewitt.

Diagnosticul serologic (reacția ASLO) decelează anticorpii ASLO. Titrul ASLO nu este modificat în debutul bolii acute, dar crește în convalescență; menținerea crescută a titrului ASLO exprimă evoluția către sindrom poststreptococic sau către complicații tardive.

Tratament.

Spitalizarea timp de 6-7 zile este obligatorie. Repausul la pat este recomandat timp de 6-7 zile. Regimul alimentar este hidro-lacto-zaharat. Izolarea, repausul relativ si controlul medical se vor prelungi inca 2-3 saptamani in convalescenta, pentru a preveni si depista eventualele complicatii imunologice.

Tratamentul etiologic: Penicilina reprezinta antibioticul de electie, inlocuit de macrolide la persoanele alergice la penicilina.

Tratamentul simptomatic: consta in administrarea de antitermice (aspirina, paracetamol) si capilarotone (vitamina C, rutin, troxevasin). Dezinfectia nazo-faringiana este importanta, utilizandu-se faringosept si instilatii nazale cu colargol.

Boala determina o imunitate solida, bazata pe anticorpi (antitoxica).

2. O entitate clinica distincta o constituie de asemenea si erizipelul localizat mai frecvent la fata sub forma unui placard congestiv, dureros, bine delimitat de un burelet, care nu supureaza si prezinta uneori vezicule (erizipel bulos).

Etiologie. Agentul etiologic este reprezentat de streptococul beta-hemolitic de grup A.

Patogenie. Infectia tegumentelor se poate produce prin: solutii de continuitate ale pielii (plagi, dermatomicoze, arsuri, ulcer varicos al gambei); contiguitate, de la mucoasa invecinata infectata cu streptococ (angina, rinofaringita, otita medie supurata); propagare limfatica (limfangite streptococice); diseminare hematogena, in mod exceptional (septicemii). Streptococii se multiplica in spatiile limfatice ale dermului, realizand o dermita acuta, caracterizata prin hiperemie, vasodilatatie, edem si infiltratii celulare. Placardul dermitic are tendinta extensiva, propagarea facandu-se centrifug, din aproape in aproape. Propagarea infectiei in hipoderm duce la edem masiv si (sau) procese supurative. Localizarea procesului infectios in spatiile limfatice explica limfangita si adenita din erizipel, ca si raritatea tromboflebitelor si a septicemiilor, mult mai frecvente in infectia stafilococica. In patogenia erizipelului este incriminata si interventia unei componente alergice, legata de sensibilitatea organismului fata de streptococul beta-hemolitic de grup A.

Sursa de infectie este reprezentata de bolnavii de boli streptococice si purtatori sanatosi de streptococ.

Transmiterea este directa prin picaturi Flugge, sau indirecta, prin obiecte contaminate. Contagiozitatea este foarte redusa.

3. Febra puerperala apare ca urmare a interventiilor septicice la avort sau nastere, adesea insotita de stare septicemica, fiind determinata de obicei de specii anaerobe de streptococ.

4. Endocardita subacuta sau maladia Osler, este determinata de streptococul viridans, microb comensal al mucoasei bucale si evident potential patogen, deoarece determina aceasta infectie grava numai in conditii particulare locale (leziuni sau depozite fibrinoase pe endocard) care permit fixarea streptococului la acel nivel.

5. Streptococii beta hemolitici determina si alte numeroase infectii, de exemplu: la nivel cutanat, impetigo uscat sau flictenular, angulus infectiosus oris (zabaluta), intertrigo, acneea cu cicatrici si pemfigus (foarte grav la nou-nascuti).

6. De asemenea, streptococul poate determina abcese, flegmoane, otite, sinuzite, meningite, septicemie precum si suprainfectii ale plagilor.

Complicatii alergice post-streptococice. Infectiile determinate de streptococii hemolitici din grupul A netratate, sunt deosebit de periculoase prin efectul lor puternic alergizant mai ales in cazul infectiilor repetate. Cele mai importante complicatii alergice post-streptococice sunt: reumatismul articular acut (RAA), cardita reumatismala (CR), glomerulonefrita acuta (GNA) iar dupa unii autori si eritemul nodos.

Aceste boli apar dupa 2-3 saptamani de la infectia streptococica. Deoarece complicatiile pot sa apara si in absenta streptococului din leziuni, in perioada care corespunde formarii de anticorpi, se opineaza pentru un mecanism alergic in care complexe Ag-Ac realizate in cantitati importante determina leziuni la nivelul tesutului din articulatii, endocard sau membrana bazala a glomerulului renal. Aceste complicatii apar mai frecvent la adultii tineri cu infectii repetate streptococice care nu au fost tratate (angine, infectii cutanate etc). Ele sunt importante deoarece determina o mortalitate ridicata si favorizeaza cronicizarea infectiei.

Imunitatea in infectiile streptococice este complexa: antitoxica si antimicrobiana; cea antitoxica prezenta in scarlatina este solida, specifica, dureaza practic toata viata in timp ce imunitatea antimicrobiana este specifica de tip, fiind posibile infectiile cu alt tip de streptococ.

Pentru a cunoaste starea de receptivitate la scarlatina, mai ales a populatiei infantile, in scopul vaccinarii se practica reactia Dick. Este vorba de o inoculare intradermica cu toxina streptococica in cantitati mici, care determina la persoanele receptive o reactie locala, eritematoasa. La copiii care s-au imunizat ocult, prin infectii mici si repetate, aceasta reactie apare negativa, deoarece antitoxina existenta in aer neutralizeaza toxina introdusa intradermic si reactia nu se mai produce, la fel ca si la bratul martor inoculat cu toxina inactivata prin caldura.

Reactia pozitiva manifestata prin roseata locala este explicata de absenta anticorpilor serici la persoanele respective care vor trebui sa fie vaccinate contra scarlatinei.

Diagnosticul de laborator consta in izolarea streptococului din produse patologice: exudat faringian, sange, puroi, lohii, lichide seroase pe geloza-sange si identificarea lui dupa caractere morfologice de cultivare si serologice.

In cadrul complicatiilor tardive alergice, o infectie recenta streptococica poate fi dovedita prin cresterea titrului anticorpilor antistreptolizina O, prin reactia serologica ASLO la valori de peste 200 U.

Profilaxia. Cea mai corecta atitudine este tratarea corecta a fiecarei infectii cu streptococ precum si sterilizarea purtatorilor pentru a evita raspandirea infectiei si aparitia complicatiilor. Profilaxia se face cu penicilina in

cazul anginelor sau infectiilor cutanate iar pentru a preveni scarlatina se face vaccinarea cu anatoxina streptococica la copiii cu reactia Dick pozitiva.

Tratamentul infectiilor streptococice se face cu penicilina (cristalizata-G, Moldamin sau penicilina V), deoarece nu s-au descris pana in prezent tulpini de streptococ rezistente la acest anitibiotic.

Penicilina va fi inlocuita cu un alt antibiotic numai in cazul persoanelor care prezinta fenomene de sensibilizare (de exemplu cu eritromicina).

La infectiile cu streptococ viridans sau cu enterococ, se recomanda administrare de penicilina in doze mari in special in septicemii, endocardite sau asociatii sinergice de penicilina si streptomina, sau alt antibiotic ales dupa testarea sensibilitatii microbului izolat, prin antibiograma.

PNEUMOCOCUL

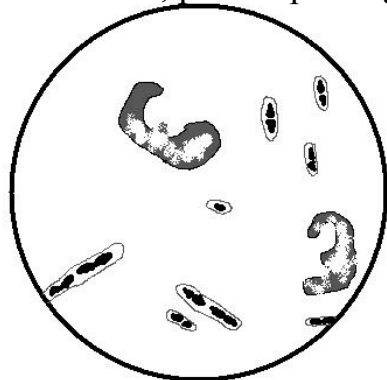
Diplococcus pneumoniae face parte din familia Lactobacillaceae, genul *Diplococcus*. Este un coc ovalar, dispus in perechi, incapsulat, imobil, gram-positiv. A fost pus in evidenta pentru prima oara de catre Pasteur (1881), in saliva unui copil mort de rabie. Talamon si apoi Frankel (1886) au demonstrat rolul lui in etiologia pneumoniei lobare.

Habitat. Pneumococul este saprofit obisnuit al cavitatii nazo-faringiene dar poate fi prezent pe toate mucoasele la om si la animale. S-a constatat ca aproximativ 50% din persoanele sanatoase sunt purtatoare de pneumococ, adesea fiind prezente mai multe tipuri serologice la aceeasi persoana.

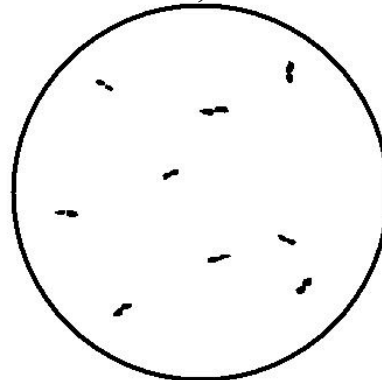
Caractere morfologice si de cultivare. In produsele patologice pneumococul are forma unor coci ovalari, mai ascutiti la unul din capete si dispusi cate doi, alaturati prin partea mai bombata (aspect de flacara de lumanare sau varf de lance); ei sunt inconjurati de o capsula si uneori formeaza scurte santuri; sunt coci gram-positivi.

Pneumococul cultiva numai pe medii compuse (cu adaos de aer, sange, zaharuri), producand o usoara tulburare a mediilor lichide; pe cele solide pneumococul formeaza colonii foarte mici, care pe geloza-sange sunt inconjurate de o zona verzuie, aspect greu de diferentiat de streptococul viridans. Din acest motiv, ca si pentru faptul ca pe mediile solide pneumococul isi pierde capsula si uneori se dispune in lanturi, este adesea foarte dificil de precizat daca este vorba de pneumococ sau streptococ viridans.

Pneumococ, produs patologic



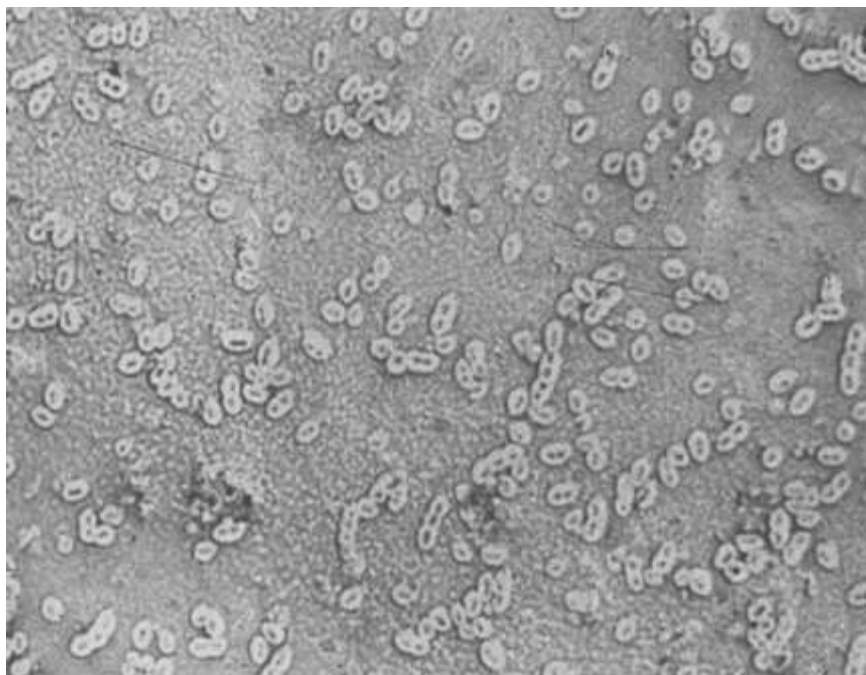
Pneumococ, cultura



Diferențierea se face pe baza unor caractere biochimice care sunt pozitive pentru pneumococ:

- fermentarea inulinei
- patogenitatea pentru soarece
- liza de către bila (în sensul că adaosul de bila la o cultură proaspătă de pneumococ în bulion îl lizează și produce clarificarea vizibilă a mediului)

Pierderea capsulei se însoțește la pneumococ cu absența virulenței și apariția coloniilor de tip R. Fenomenul este reversibil în sensul că, trecut pe soarece (animalul sensibil), pneumococul își recapătă capsula odată cu caracterul de virulență și cultivă sub formă de colonii de tip S (fenomen de selecție).



Colorație Maneval Streptococcus pneumoniae (x1.000)

Rezistența în mediul extern a pneumococului este foarte redusă. Moare repede dacă este expus la lumina solară și după două ore la temperatura camerei. Este distrus în 30 min la 55°C și este foarte sensibil la antiseptice, dezinfectante, sulfamide și antibiotice din grupa penicilinelor sau alte antibiotice cu același spectru precum și cele cu spectru larg.

Patogenitatea pneumococului este determinată de virulență, caracter imprimat de prezența capsulei cu componenta polizaharidică, iar dintre substanțele elaborate de microb, hialuronidaza este cea mai importantă, permițând difuzibilitatea pneumococului în țesuturile organismului.

Virulența este diferită, în funcție de factorii care acționează la suprafața bacteriei sau în interiorul celulei:

- capsula polizaharidică - previne fagocitoza prin inhibarea opsonizării C3b a celulelor bacteriene
- pneumolizina (Ply) - o proteină de 53-kDa care poate provoca liza celulelor țintă și activarea complementului
- autolizina (LytA) - activarea acestei proteine determină liza bacteriei, ceea ce duce la eliberarea conținutului

- peroxidul de hidrogen - poate provoca apoptoza in celulele neuronale in timpul meningitei
- complex proteina A-colina (CbpA) - o adezina care interactioneaza cu polizaharidele de la suprafata celulelor epiteliale pulmonare
- antigenul de protectie (PspA) - poate inhiba opsonizarea pneumococilor

Boala la om. Pneumococul determina la adult pneumonia franca lobara, apoi bronhopneumonie, pleurezii, otite, sinuzite, meningite, mastoidite, precum si infectii secundare in alte boli bacteriene sau virale.

Epidemiologie. Incidenta anuala a pneumoniei pneumococice este numai partial cunoscuta, din cauza dificultatilor practice a diagnosticului bacteriologic si prin neobligativitatea declararii bolii. Pneumonia apare sporadic la persoane anterior sanatoase, dar posibil si in mici epidemii in colectivitati sau familie. Este mai frecventa la barbati decat la femei, precum si in anotimpurile reci si umede, (iarna, primavara), atunci cand numarul purtatorilor de pneumococ este maxim. Pneumococul este un germen habitual al cailor respiratorii superioare, dar starea de purtator variaza, 6% la adulti si 30% la copii.

Etiologie. *Streptococcus pneumoniae* (pneumococul) este agentul etiologic al pneumoniei pneumococice. Este o bacterie gram pozitiva, incapsulata. Are aspect lanceolat si pe mediile de cultura se dezvolta "in diplo". In functie de structura capsulei polizaharidice, se identifica 90 de serotipuri. Majoritatea bolilor pneumococice sunt produse de cateva serotipuri. Bolile pneumococice invazive sunt mai frecvent produse de serotipurile 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F. Majoritatea acestor serotipuri sunt rezistente la penicilina (6B, 9V, 14, 18A, 19F, 23F). Predominanta serotipurilor se schimba in timp, difera in functie de varsta si de aria geografica.

Pneumococul colonizeaza caile respiratorii superioare, fiind o componenta a florei saprofite nazo-faringiene la copil. Bacteria poate infecta din aproape in aproape urechea medie, sinusurile faciale si plamanul sau poate disemina pe cale sangvina, producand metastaze septice.

Unele serotipuri au proprietati invazive, producand infectii severe. Caracterul invaziv este dependent de compozitia si cantitatea polizaharidelor capsulare. Tulpinile care produc o cantitate mare de polizaharide capsulare sunt mai virulente. In sange, capsula protejeaza bacteria de fagocitoza neutrofila si de activitatea bactericida mediata de complement. La animale de laborator au fost identificati factori de virulenta bacteriana: pneumolizina, proteina A de suprafata.

La subiectul normal, pneumococii care ajung la nivelul parenchimului pulmonar sunt rapid fagocitati de macrofagele alveolare sau de neutrofilele care migreaza din sange. Pneumonia se poate produce cand se pierde integritatea epiteliului tractului respirator inferior de cauza: infectioasa (infectie virala), chimica (alcool) sau mecanica (aspiratie). In aceste situatii, intarzie clearance-ul bacterian, ceea ce determina multiplicarea pneumococilor si inflamatia tisulara.

Patogenie. Infectia pulmonara cu pneumococ se face pe cale aeriana. Persoanele care fac pneumonie pneumococica sunt de obicei colonizate la

nivelul orofaringelui de germeni virulenti, care în condițiile scaderii mecanismelor de apărare ale aparatului respirator, tranzitorii sau cronice și aspirării pulmonare de secreții, dezvoltă modificări patologice tipice. Deși individul sanatos are o capacitate eficientă de apărare față de invazia pneumococică, o serie de factori care acționează temporar sau de lungă durată, pot interfera cu mecanismele de apărare respiratorie crescând susceptibilitatea la infecții. Printre aceștia mai importanți sunt: expunerea la frig sau umezeala, oboseala excesivă, infecții virale respiratorii.

Imunitatea este specifică de tip.

Diagnosticul de laborator se bazează pe evidențierea în examenul direct din spută, puroi, lichid cefalorahidian, a unui diplococ gram-pozitiv încapsulat și izolarea microbului prin inocularea produsului patologic la soarece sau însămânțarea pe medii de cultură și identificarea lui pe baza caracterelor morfotinctoriale, de cultivare, biochimice și serologice (umflarea capsulei cu ser imun specific de tip, reacție de aglutinare etc)

Profilaxie. În trecut, în zone, endemice se utiliza vaccinul; în prezent și la noi în țară nu este necesar. Se recomandă evitarea aglomeratelor și a contaminărilor în sezonul rece, în special la bătrâni și copii, frigul favorizând exacerbarea pneumococilor existenți pe mucoase, potențial patogeni.

Primul vaccin anti-pneumococic, vaccinul polizaharidic 23 valent, nu asigură o protecție eficientă pentru copilul de vârstă mică (sub 2 ani), deoarece la această grupă de vârstă răspunsul imun T dependent este slab. Întrucât formele invazive de infecție sunt mai frecvente la această categorie de vârstă, s-a impus un nou vaccin, care a fost preparat după modelul vaccinului conjugat anti-*Haemophilus influenzae* tip b. Vaccinul conjugat anti-pneumococic s-a obținut prin cuplarea polizaharidelor din capsula bacteriană (care sunt slab imunogene) cu o proteină. Această combinație determină răspuns antigenic puternic și răspuns booster.

Tratament: sulfamide, penicilina, sau alte antibiotice conform antibiogramei.

COCI GRAM-NEGATIVI (meningococul, gonococul)

Cocii patogeni gram-negativi se încadrează în familia Neisseriaceae, iar speciile patogene cele mai importante pentru om sunt cuprinse în:

-genul *Neisseria* - *Neisseria meningitidis intracellularis* (meningococul)

- *Neisseria gonorrhoeae* (gonococul)

-genul *Veillonella*, bacterii anaerobe

MENINGOCOCUL

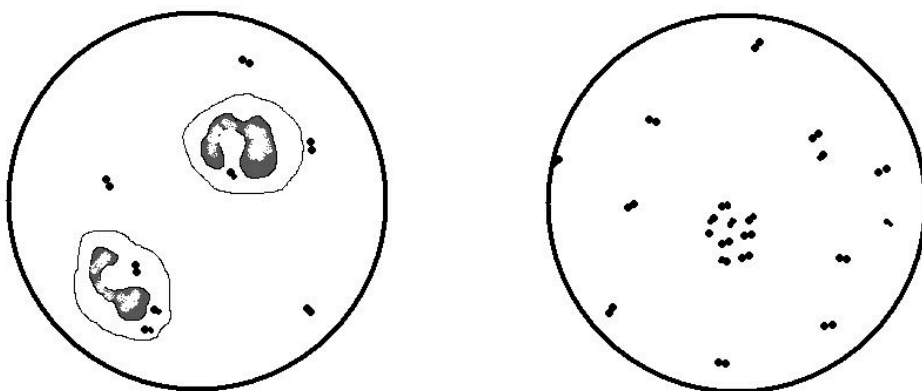
Neisseria meningitidis sau *Diplococcus intracellularis meningitidis* face parte din genul *Neisseria* și a fost izolat prima oară de către Weichselbaum în anul 1887 din lichidul cefalorahidian al unor cazuri de meningită cerebrospinală epidemică.

Habitat. Meningococul este prezent în nazo-faringe omului ca comensal, la care în unele cazuri poate determina infecția. Nu a fost pus în evidență la animale.

Caractere morfologice si de cultivare. In produsele patologice (lichid cefalorahidian, exudat faringian) meningococul are aspectul unui coc ovalar, sub forma de boabe de cafea cu diametrul longitudinal de $0,6-0,8\mu$, dispus in diplo, cele doua elemente privindu-se prin fetele lor plane; fata de celulele organismului, el este situat de obicei intracelular, in citoplasma polimorfonuclearelor (2-3 perechi) dar poate fi observat si in afara celulelor; este gram-negativ.

In culturile proaspete meningococul prezinta aceeasi morfologie, de diplococ sub forma de boabe de cafea sau reniforme, gram-negativ. Dupa primele ore de la cultivare morfologia meningococului incepe sa se modifice, datorita unei enzime autolitice elaborate de microb, incat apar forme deosebit de polimorfe: coci sferici izolati, adesea giganti, in general inegal calibrati si adesea gram-pozitivi.

Meningococul este imobil si nesporulat.



Meningococ, produs patologic

Meningococ, cultura

Spre deosebire de speciile nepatogene de Neisserii care se dezvoltă pe medii simple, meningococul necesită pentru dezvoltare medii compuse cu adaos de sange, ser, lichid de ascita, glucoza, iar la izolarea din organism prezenta de dioxid de carbon 10%. Este aerob și temperatura de cultivare este riguros limitată la $35-37^{\circ}\text{C}$. Cultivat pe medii lichide le tulbură ușor. Pe mediile solide formează colonii de tip S, mici, convexe, transparente (ca picăturile de rouă) care prin învechire se transformă în colonii de tip R datorită aceluși proces de autoliză.

Rezistența în mediul extern. Meningococul este foarte puțin rezistent în mediul extern fiind sensibil la uscăciune și lumina solară. În l.c.r. moare foarte repede prin autoliză, de aceea este absolut necesar ca insamantarea l.c.r. să se facă chiar la patul bolnavului.

Meningococul este sensibil la antisepticele obișnuite care îl omorâă instantaneu precum și la sulfamide, penicilina și antibiotice cu spectru larg.

Boala la om. Meningococul determină la om meningita cerebrospinală epidemică precum și cazuri de îmbolnăviri sporadice.

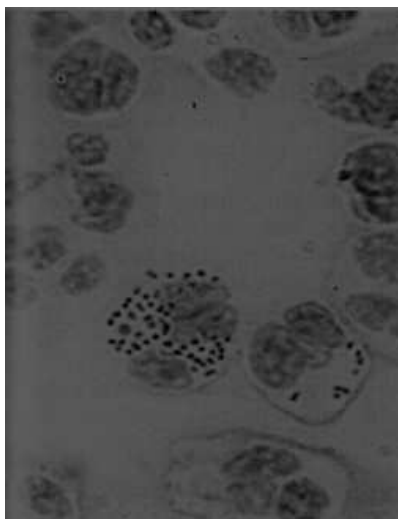
Deși există un număr important de purtători cu meningococ, numărul îmbolnavirilor este redus, probabil datorită imunizării naturale față de această infecție. Meningita este precedată întotdeauna de o rinofaringită; de la acest nivel microbii, de obicei prin contiguitate (din aproape în aproape) ajung la meninge unde determină o inflamație cu exudat purulent, în special la meningele de la baza craniului, care determină fenomenele de boală: febră, frison, cefalee severă, greață, varsături, rigiditatea cefei, contractii musculare, convulsii, reflexe exagerate. Uneori infecția se poate generaliza determinând forma supraacută cu septicemie și petesii cutanate.

Meningita și septicemia meningococică sunt provocate de diferite serogrupuri de *Neisseria meningitidis*. Formele endemice sunt asociate în principal cu meningococi din grupele A, B sau C, cu serogrupurile Y fiind întâlnite în principal pe continentul Americii de Nord. Meningococii de grupă A sunt cauza primară a epidemiilor majore, în special în așa numita meningită africană, acolo unde se produc în mod regulat epidemii majore (la fiecare 7 până la 14 ani), și care au drept consecință rate ridicate de mortalitate printre copii și tineri adulți.

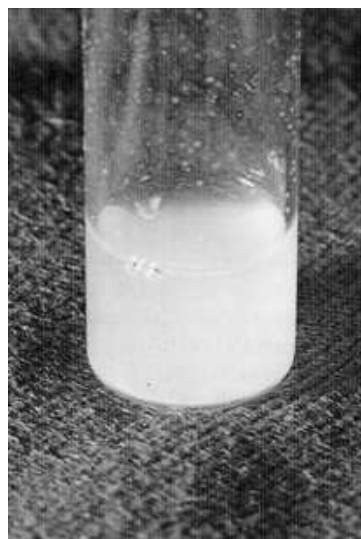
Contaminarea cu *Neisseria meningitidis* se produce pe calea aerului, prin picături de salivă și mucozități nazofaringeale fie de la purtători sănătoși sau de la bolnavi infectați cu această maladie. Nu există nici un rezervor pentru acest microorganism, fie la animale sau în mediul înconjurător. Meningita meningococică este endemică în întreaga lume, unde se produce în forma unor cazuri sporadice.

În forma sa endemică, infecția meningococică are predilecție pentru copii și adolescenți, cu o incidență maximă raportată la sugarii cu vârsta cuprinsă între 3 și 12 luni. Epidemiile majore de meningită sunt datorate în principal meningococilor cu serogrupurile A și devastează în principal țările africane. Cu toate acestea, alte serogrupuri meningococice sunt responsabile, de asemenea, pentru epidemii extinse. Mai recent, numărul de cazuri datorate serogrupului W-135, care a fost responsabil până atunci pentru anumite cazuri sporadice, a crescut în mod remarcabil.

Meningococul poate determina de asemenea: artrite, otite, iridociclite, endocardite.



Meningococ – coloratie Gram



LCR purulent

Diagnosticul in meningita cerebrospinala se bazeaza pe evolutia clinica care este confirmata prin diagnostic bacteriologic, care consta in punerea in evidenta a meningococului din lichidul cefalorahidian (clar, usor turbure sau purulent) prin examen direct, culturi, pe mediul special Hinton-Mueller, identificare serologica precum si investigatii epidemiologice.

Tratamentul se face cu sulfamide si penicilina pe baza de antibiograma. Medicamentele administrate trebuie sa fie active impotriva organismelor respective si capabile sa se raspandeasca la concentrarile terapeutice. Penicilina G, ampicilina, amoxicilina, cloramphenicol si cefalosporine de a treia generatie indeplinesc aceste cerinte. Tratamentul trebuie aplicat pentru cel putin 7 zile, pe cale parenterala. In absenta tratamentului, meningita si septicemia meningococica sunt fatale. Rata globala de mortalitate in cazul meningitei in tarile dezvoltate este de 5-10%; in Africa, este de aproximativ 10%. Rata de mortalitate pentru septicemia acuta poate depasi 15-20%. Dupa un episod de meningita, 10-15% dintre supravietuitori au sechele, in special tulburari mentale, surzenie sau paralizie.

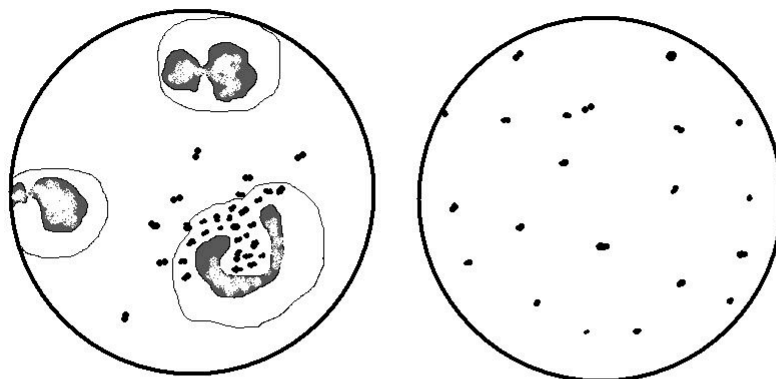
Profilaxia consta din izolarea si tratarea corecta a bolnavilor, sterilizarea purtatorilor cu rifamicina, sulfamine, evitarea infectiilor respiratorii si a aglomeratiilor.

GONOCOCUL

Neisseria gonorrhoeae este un coc asemanator ca morfologie cu meningococul si care de asemenea da infectii numai la om, de cele mai multe ori de natura veneriana.

Habitat. Gonococul se gaseste la omul bolnav la nivelul mucoaselor: genituala, oculara.

Caractere morfologice si de cultivare. Gonococul este un coc gram-negativ, in forma de boaba de cafea, dispus in diplo, elementele privindu-se prin fetele lor concave. Prezinta exigente deosebite nutritive, cultivand pe medii speciale si necesita la izolarea din organism dioxid de carbon.



Gonococ, produs patologic Gonococ, cultura

Rezistenta in mediul extern. Gonococul este foarte putin rezistent in mediul extern, fiind distrus repede la uscaciune, lumina, antiseptice.

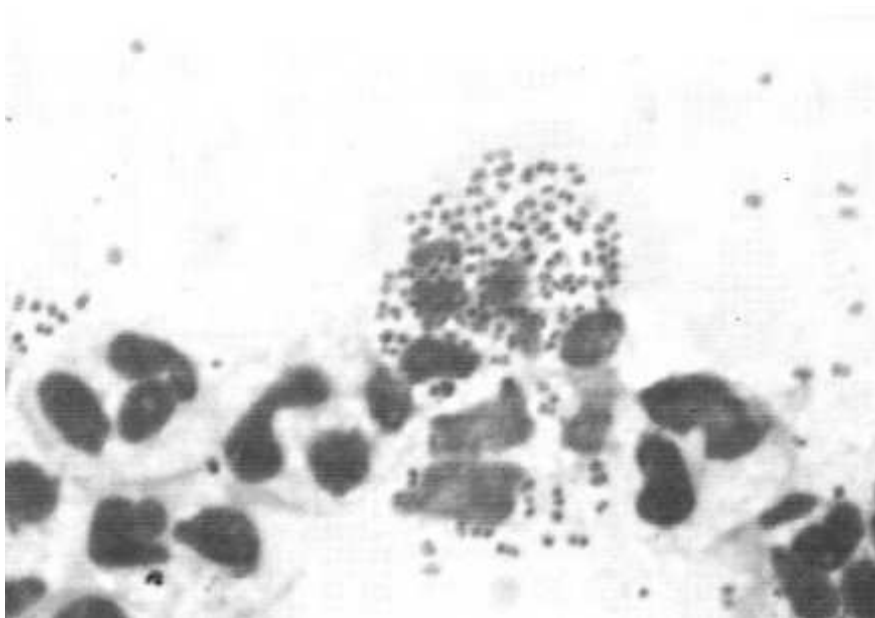
Boala la om. Gonococul determina infectii numai la om si anume: forma clinica initiala este uretrita acuta la barbat, vulvo-vaginita sau cervicita la femeie. Boala se transmite in majoritatea cazurilor prin contact sexual. Dupa 3-5 zile de la incubatie, boala incepe prin inflamatiile uretrei anterioare, insotita de o secretie purulenta galben-verzuie, cu mictiuni dureroase si arsuri. Daca nu se intervine cu un tratament energetic, boala trece in forma cronica; infectia se extinde din aproape in aproape la glandele anexe determinand la barbat: uretrita posterioara, epididimita, prostatita; la femeie leziunile initiale se complica cu metrita si salpingita. Atat la barbat cat si la femeie infectia netratata poate duce in final la sterilitate.

In aceasta faza boala este greu de tratat si de diagnosticat.

Exista si manifestari extragenitale ale infectiei gonocice survenite in urma contaminarii prin obiecte sau maini murdare, de exemplu: conjunctivita blenoragica la adult, poate fi o consecinta a autoinfectarii, sau vulvita tinerelor fetite poate surveni prin utilizarea in comun a lenjeriei cu parintii sau alte persoane bolnave.

In unele cazuri contaminarea poate avea loc la nastere, de la mame bolnave prin tractusul genital, determinand la nou-nascut conjunctivita blenoragica sau oftalmia purulenta, afectiune foarte grava care poate duce la orbire.

Oricare ar fi localizarea infectiei gonococice, ea se poate generaliza, determinand septicemie si ulterior localizari secundare ca: artrita purulenta, endocardita etc.



Gonococ – puroi (coloratie Gram)

Diagnosticul in infectia gonococica se bazeaza pe examenul clinic confirmat prin diagnostic bacteriologic direct, punandu-se in evidenta gonococul din secretiile purulente: uretrale, conjunctivale, de pe colul uterin. Recoltarea corecta a secretiilor are o deosebita importanta pentru diagnostic si

anume: la barbat secretia se recolteaza dimineata inainte de mictiune, iar la femeie in pozitie ginecologica utilizand valvele, de la nivelul colului uterin.

Examenul direct are o mare importanta in diagnosticul formei acute de boala. Frotiul colorat cu albastru de metilen sau gram prezinta in faza acuta un aspect caracteristic: numeroase polimorfonucleare neutrofile si prezenta exclusiva a gonococului situat intracitoplasmatic in numar mare (20-30 elemente) in unele polimorfonucleare la care determina aspectul de „celula burata”. Este gram-negativ.

Dupa cateva zile, daca nu se intervine cu tratament, numarul polimorfonuclearelor scade, apar filamente de mucus si o bogata flora de asociatie: stafilococi, enterococi, pseudodifterici. In aceasta perioada, ca si in formele cronice sau incomplet tratate, gonococul prezinta forme cu totul necaracteristice: sferice, gigante, inegale uneori cu elemente gram-pozitive, greu de diagnosticat si in care caz este obligatorie cultivarea. In acest scop, atat izolarea cat si antibiograma se va face pe un mediu special Hinton-Mueller cu adaos de antibiotice (lincomicina, polimixina B, colimicina) pentru inhibarea florei normale de la nivelul mucoasei genitale.

Tratamentul se face cu penicilina asociata cu probenicid (care inhiba eliminarea penicilinei prin urina, mentinand in acest fel o concentratie ridicata de antibiotic in organism).

In formele acute se administreaza doze mari de penicilina (milioane de unitati), de obicei in doze unice, care au ca scop sa inlature si o eventuala infectie sifilitica care ar putea sa aiba loc concomitent. In caz de persoane sensibile la penicilina se alege un alt antibiotic activ, pe baza de antibiograma.

Pentru ca tratamentul sa fie eficient, trebuie tratat si partenerul.

Profilaxie. Pentru evitarea infectiei in cazul unei suspiciuni, se recomanda spalarea imediata cu apa si sapun sau solutii antiseptice, chiar administrare in mod profilactic a unei doze unice de penicilina.

Se vor evita contactele sexuale intamplatoare; trebuie cunoscute simptomele bolii, iar in caz de suspiciune se recomanda examen medical imediat, urmat de aplicarea corecta a tratamentului, pana la sterilizarea infectiei.

Se impune educatia sanitara in masa, in special la tineret.

La toti copiii, la nastere, in prezent, se aplica in mod obligatoriu instilatii oculare cu nitrat de argint 1% sau unguent cu penicilina, tocmai pentru a evita posibilitatea unei infectii gonococice la nou-nascuti.

CURS 10**16. Infecții cu micobacterii****BACILI ACIDO-ALCOOLO-REZISTENȚI**

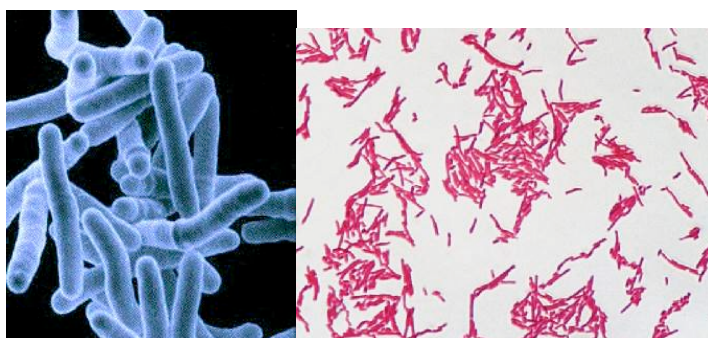
(APOSTOL-ANDREEA LUMINITA, ANUL II, SERIA 1, GRUPA 1
9.04.2009)

Familia Mycobacteriaceae, genul *Mycobacterium* cuprinde numeroase specii de bacterii acido-alcoolo-rezistente care sunt bacili subțiri, uneori granulați, încurbați, imobili, necapsulați.

Bacteriile patogene din acest grup cultivă greu (2-3 săptămâni) și numai pe medii speciale; speciile saprofite cultivă după un interval mai mic (2-3 zile) și pe medii mai puțin pretențioase.

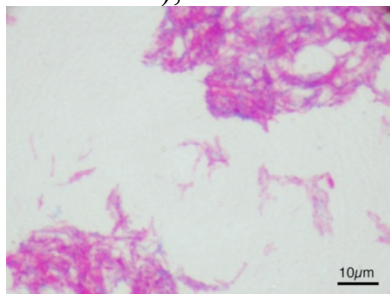
Unele specii sunt patogene exclusiv pentru om cum este bacilul leprei, altele sunt patogene pentru om și specii animale, la care provoacă tuberculoza (*hominis*, *bovis*, *avium* etc.).

Tuberculoza este o boală contagioasă cunoscută încă din antichitate, determinată de *Mycobacterium tuberculosis* (varietatea *hominis*) bacterie pusă în evidență pentru prima oară de către Robert Koch, denumit și bacilul Koch.



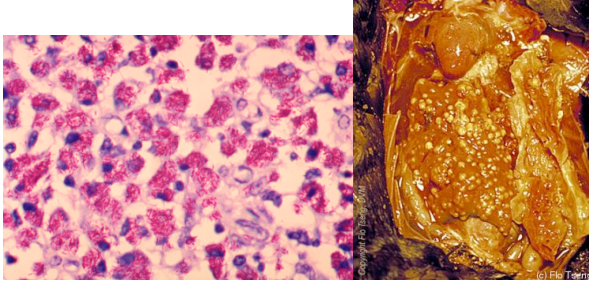
Mycobacterium tuberculosis

La bovine tuberculoza este determinată de *Bacterium tuberculosis* (varietatea *bovis*), care transmite infecția la om prin laptele nefiert.



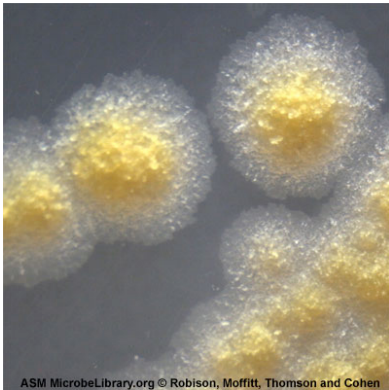
Mycobacterium bovis

Mycobacterium avium determină tuberculoza la păsări.



Mycobacterium avium, infecție la nivelul ficatului la păsări

Varietățile *Mycobacterium thamnopheus* și *marinum* se întâlnesc în tuberculoza animalelor cu sânge rece; există și alte specii patogene pentru animale.

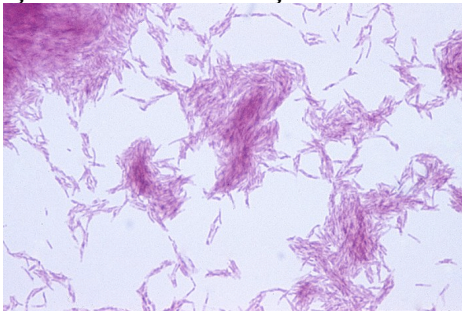


Mycobacterium marinum

Mai importante pentru patologia umană sunt bacilul Koch de tip uman și bovin, cel aviari reprezentând doar 1-2% din totalul îmbolnăvirilor.

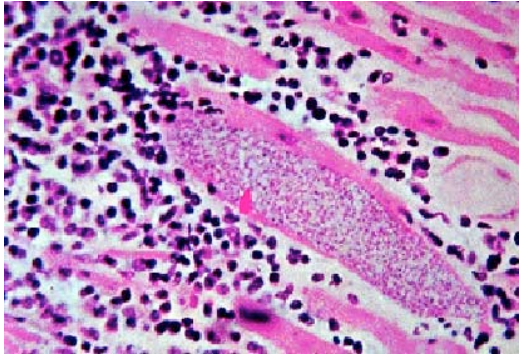
Unele specii considerate în trecut saprofite pot determina la om infecții bronhopulmonare ulcero-cazeoase sau adenite localizate mai ales în regiunea cervico-facială (micobacterioze) greu de diferențiat de tuberculoza propriu-zisă.

Aceste specii asemănătoare din punct de vedere morfologic cu bacilul Koch (bacili a.a.r.=acid-alcool-rezistenți) se deosebesc totuși de acesta prin cultivarea mai rapidă și uneori la temperaturi mai scăzute, fiind denumite și micobacterii atipice; unele din aceste specii determină colonii pigmentate sau cromogene (*Myc. kansasii*) sau necromogene (*Battey*, *Fortuitum*) care pot fi diferențiate între ele cât și de bacilul Koch, prin diferite teste biochimice.



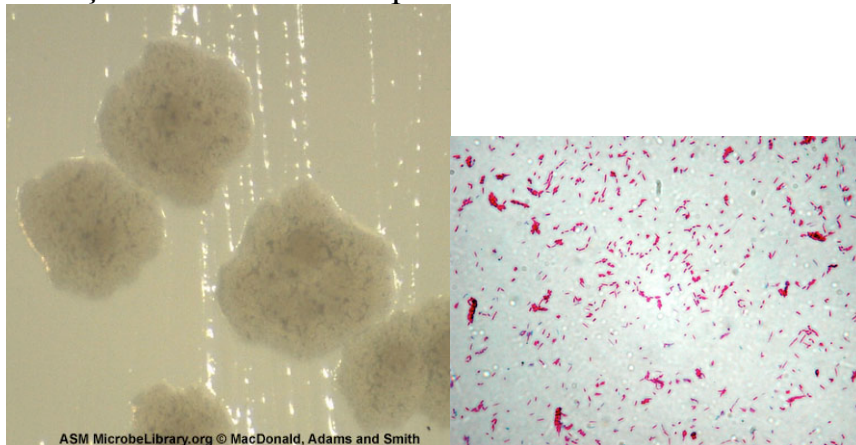
Mycobacterium kansasii

Mycobacterium leprae sau bacilul Hansen este tot un bacii a.a.r, care determină la om lepra, boală cu evoluție lentă și care necesită un tratament special.



Mycobacterium leprae

Bacteriile a.a.r, comensale, prezente la nivelul căilor genitale în smegmă, urină, materii fecale ca *Mycobacterium smegmatis* ridică serioase probleme de diagnostic diferențial în cazul unei suspiciuni de tuberculoză renală.



Mycobacterium smegmatis

TUBERCULOZA. ISTORIC

În antichitate această boală se numea ftizie. Faptul că tuberculoza este una dintre cele mai vechi boli ce au afectat umanitatea, a fost demonstrat prin identificarea tuberculozei vertebrale la mumiile egiptene. Grecii denumeau această boală phthisis („consumare”), subliniind aspectul dramatic de emaciare generală, asociat cazurilor cronice netratate, în timpul revoluției industriale și în perioada de urbanizare corespunzătoare din secolele al șaptesprezecelea și al optsprezecelea, tuberculoza a devenit o problemă de proporții epidemice în Europa, cauzând cel puțin 20% din totalul deceselor din Anglia și Țara Galilor în 1650. Pe Coasta de Est a Statelor Unite, rata mortalității anuale prin tuberculoză la începutul secolului al nouăsprezecelea a fost de 400 la 100.000 locuitori.

Etiologia infecțioasă a tuberculozei a fost controversată până la descoperirea bacilului tuberculozei, de către Robert Koch, în 1882.

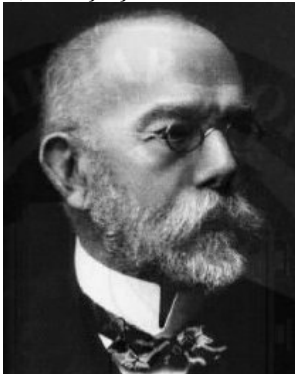
Îmbunătățirea condițiilor socioeconomice și izolarea pacienților contagioși în sanatorii a avut un impact favorabil asupra epidemiologiei tuberculozei în prima jumătate a secolului al douăzecilea. Rata mortalității în Europa și Statele Unite a început să scadă cu câteva decenii înainte de introducerea medicamentelor antituberculoase, la mijlocul secolului.

Infecția începe din momentul pătrunderii bacteriei în alveole, infectarea macrofagelor alveolare, acolo unde bacteria se multiplică exponențial. Bacteria este transportată în ganglionii limfatici, iar de aici prin sistemul circulator ajunge în organele corpului, acolo unde potențial se poate dezvolta: plămâni, ganglionii limfatici periferici, creier, oase și rinichi. Astfel apar diferitele tipuri ale tuberculozei: tuberculoza extrapulmonară, genitourinară, meningita tuberculoasă, tuberculoza miliară, peritonita tuberculoasă, pericardita tuberculoasă, limfadenita tuberculoasă, tuberculoza osteoarticulară, gastrointestinală, hepatică.

Tuberculoza este întâlnită în România mai frecvent decât în alte țări ale Uniunii Europene, se estimează că apar în medie 130 de cazuri la 100.000 de locuitori, față de media europeană de circa 30 bolnavi la sută de mii de locuitori. Se estimează că în România sunt aproximativ 30.000 bolnavi în toată țara. În fiecare județ există cel puțin un spital și trei-patru dispensare de pneumoftiziologie.

În sec.XVII Sylvius descrie leziunile caracteristice din pulmon, tuberculii.

Laennec în sec. XII stabilește din punct de vedere anatomo-patologic, faptul că deși manifestările clinice ale acestei boli sunt foarte variate, leziunile tuberculoase se pot prezenta numai sub două forme: infiltrat și tuberculi. Villemin reproduce boala cu un filtrat din produse patologice cazeoase, prin elemente filtrabile. Robert Koch descoperă în anul 1882 bacilul care îi poartă numele, reușește să-l cultive și stabilește în mod cert etiologia bolii.



Robert Koch

Robert Koch (n. 11 decembrie 1843, Clausthal, Saxonia Inferioară – d. 27 mai 1910, Baden-Baden) a fost un bacteriolog german. A studiat la Göttingen, avându-l ca profesor pe Jacob Henle care afirma în 1840 ca rănile sunt infectate de niște organisme parazite.

Biografie. În 1866 a venit la Berlin pentru aprofundarea cunoștințelor în domeniul chimiei, iar aici pe perioada de 6 luni cât durează studiul va veni în contact cu ideile lui Rudolf Virchow. În 1867 se stabilește la Rackwitz (provincia Posen), unde trece examenul de Ofițer Medical Districtual. În 1870 se înrolează voluntar în războiul franco-prusac.

1872-1880: Ofițer al Districtului medical Wollstein; în această perioadă face primii pași în dezvoltarea cercetării științifice a organismelor care cauzează infecții. Antraxul la vremea respectivă era foarte răspândit în districtul Wollstein, iar Koch fără nici un ajutor bănesc sau științific își propune să descopere cât mai multe despre acest flagel. Laboratorul a fost casa sa, iar ca aparatură a avut un microscop dăruit de soția sa, iar instrumentarul era procurat de el însuși. Bacilul antraxului era descoperit de Pollender, Rayer și Davaine, însă Koch își propune să demonstreze faptul că acest bacil este de fapt agentul care produce boala. În acest scop el inoculează la șoareci extracte din splina animalelor bolnave, și constată ca aceștia mor, în timp ce la lotul injectat cu extracte de la animale sănătoase șoarecii trăiesc. Experimentul confirmă un fapt ce se bănuia și anume că sângele animalelor infectate este capabil să transfere boala la animalele sănătoase. Koch nu este mulțumit cu acest rezultat, el vrea să urmărească dacă bacilii care nu vin în contact cu nici un tip de animal pot provoca boala.

El cultivă acești bacili pe un mediu obținut din umoarea apoasă a ochiului de bou. Prin studierea, cercetarea și fotografierea acestui experiment, Koch înregistrează multiplicarea bacililor și observă care medii sunt prielnice dezvoltării și care nu, de asemenea observă producerea de spori care în anumite condiții nefavorabile cum ar fi lipsa de oxigen rezista, iar atunci când condițiile externe devin favorabile se retransforma în bacili care pot reinfecta organismele sănătoase. Koch cultiva bacilii timp de câteva generații și observa ca acești bacili își păstrează virulența chiar și în lipsa oricărui organism animal. Rezultatul acestei munci titanice Koch îl prezintă în fața lui Ferdinand Cohn profesor de botanica la Universitatea din Breslau și a colegului acestuia profesorul Cohnheim, disciplina de Anatomie Patologică la aceeași universitate. Amândoi profesorii sunt impresionați de munca și de rezultatele lui Koch.

1876: Cohn publică un articol, în jurnalul la care era editor, despre munca lui Koch, articol prin care acesta din urmă cunoaște faima și recunoașterea muncii sale. Însă această faimă îl motivează și mai mult, el continuă să lucreze la Wollstein timp de 4 ani, timp în care descoperă și îmbunătățește metodele de fixare, colorare și fotografiere a bacteriilor, munca oboșitoare care are ca rezultat publicarea în 1878 a unui studiu asupra bolilor cauzate de infecțiile bacteriene ale rănilor. Prin acest studiu el pune bazele științifice ale controlului acestor infecții.

1880: este numit membru al Biroului Imperial al Sănătății (germana Reichs-Gesundheitsamt) în Berlin, fapt care îi înlesnește accesul și lucrul într-un laborator modern, având colegi de lucru pe Loeffler, Gaffky și alții. Aici continuă să dezvolte lucrările începute legate de bacterii, inventează noi metode de cultivare așa numitele- Reinkulturen-, medii de cultura a bacteriilor pe substrat solid (amidon de cartof și agar), medii însămânțate în cutii Petri (inventate de colegul sau Petri), care se folosesc și în zilele noastre.

Pune bazele a noi tehnici de colorare, prin care bacteriile să fie mai ușor de analizat și de identificat, rezultatul fiind obținerea de culturi bacteriene pure.

1882: publică un studiu despre bacilul tuberculozei, precum și metode de cultură și de identificare a acestuia.

1883: este încă ocupat cu dezvoltarea cercetărilor asupra acestui bacil, când este trimis ca șef al Comisiei Germane pentru combaterea holerei, în Egipt pentru a studia epidemia de holera din această țară. Descoperă vibrionul holerei și aduce culturi pure din acest virion în Germania. Această descoperire cumulată cu cercetarea holerei în India, îl pun în poziția de a elabora regulile pentru controlul epidemiei de holera, reguli care sunt aprobate de Parlamentul din Dresda în 1893 și care vor constitui bazele controlului acestei epidemii, baze valabile și astăzi. Descoperirea vibrionului holerei a avut o influență foarte mare asupra controlului și conservării apei potabile.

1885: Profesor de Igienă la Universitate din Berlin, și Director al noului Institut De Igiena German.

1890: este numit General de brigada (germana Generalarzt) clasa I și Cetățean de Onoare a Berlinului.

1891: Profesor Onorific al Facultății de Medicină din Berlin și director al Institutului de Boli Infecțioase, unde are norocul să lucreze alături de alte personalități: Ehrlich, von Behring și Kitasato, ei înșiși mari descoperitori. Se reîntoarce la bacilul tuberculozei și reușește să creeze o formă inactivată a bacilului pe care o denumește tuberculină. Pune bazele obținerii tuberculinei prin 2 căi diferite, fiecare tuberculină primind numele de „cea veche” și „cea nouă”. Însă comunicarea pe care o susține asupra obținerii tuberculinei, naște vii comentarii și controverse, care culminează atunci când tuberculina nu se ridică la înălțimea așteptărilor opiniei publice în combaterea flagelului tuberculozei, ocazie cu care și opinia publică devine un dușman pentru Koch.

1896: anunță obținerea unei noi tuberculine, însă și de data aceasta rezultatele sunt sub așteptări; această tuberculină va avea însă un rol important ca substanță de diagnostic. Este trimis în Africa de Sud pentru studierea pestei bovine, dar nu reușește să izoleze agentul infecțios; obține însă limitarea efectelor epidemiei prin injectarea animalelor sănătoase din fermele neatocate a unui preparat din vezica urinară a animalelor bolnave. Lucrează apoi în India și Africa la studiul malariei, a ciume bubonice și a bolilor transmise de către *Tripanosoma* la vaci și cai.

1898: publică rezultatele acestor studii în Germania. La scurt timp de la întoarcerea în țară, este trimis în Italia și la tropice, acolo unde în urma cercetărilor confirmă rezultatele lui Sir Ronald Ross în privința malariei, desfășurând un studiu fructuos privind etiologia diferitelor forme de malarie și controlul acestei maladii cu ajutorul chininei.

1901: Congresul Internațional al Tuberculozei (Londra) unde Koch afirmă că bacilii care provoacă tuberculoza la om și animale nu sunt identici, afirmație care bulversează lumea medicală; însă timpul va demonstra că Robert Koch a avut dreptate.

Lucrează la cercetarea bacilului tific, și în urma cercetărilor emite ipoteza că bacilul se transmite mult mai ușor de la om la om, decât prin apa infectată, și ca urmare se iau măsuri în această privință.

1904: este trimis în Africa de Est (provincie germană) pentru studiul febrei Coastei de Est (East Coast fever), boală care apăruse la vite; cu această ocazie face observații interesante legate de Babesia și de Trypanosoma.

1905 primește Premiul Nobel pentru Medicină și Fiziologie .

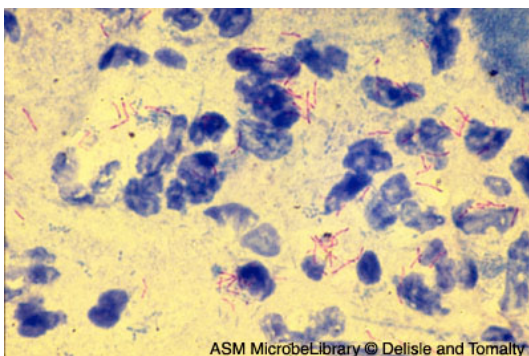
1906 se reîntoarce în Africa pentru a continua studiile asupra genului Trypanosoma, și raportează că atoxylul (compus pe baza de arsenic, obținut din anilină) este tot atât de eficient ca și chinina împotriva malariei.

Pe parcursul vieții sale Koch primește numeroase distincții, medalii și titluri de Membru onorific al Universităților din Heidelberg, Bologna, a Societăților medicale din Berlin, Viena, Posen, Napoli și New York, precum și Cetățean de Onoare al orașelor Berlin, Wollstein și din partea orașului natal Clausthal; este decorat cu Ordinul Coroanei Germane, Marea Cruce a ordinului german Vulturul Roșu (prima de acest gen acordată unei personalități medicale), precum și alte Ordine înalte din partea Rusiei și Turciei

Rezumat:

Koch a stabilit cauza bacteriană a mai multor boli infecțioase și a descoperit microorganismele care cauzează antraxul (1876), infectarea rănilor (1878), tuberculoza (1882), conjunctivita (1883), holera (1884) și alte boli. A fost profesor la Universitatea din Berlin din 1885 până în 1891 și șef al Institutului de Boli Infecțioase (pe care l-a fondat tot el), din 1891 până în 1904. În cursul cercetărilor sale bacteriologice pentru guvernul german și pentru cel englez, a călătorit în Africa de Sud, India, Egipt și în alte țări. Cu această ocazie, el a făcut studii valoroase cu privire la boala somnului, malarie, ciuma bubonică, lepra și alte boli. Pentru contribuțiile lui la studiul infecției tuberculoase, Koch a primit în 1905 Premiul Nobel pentru Fiziologie/Medicină.

HABITAT. Bacilii tuberculozei se găsesc numai în organismul omului sau animalelor bolnave. De la om prin spută sau alte produse patologice: urină, materii fecale, puroi din leziuni cazeoase, bacilii pot ajunge în mediul extern, unde la adăpost de lumină sunt destul de rezistenți și pot transmite infecția pe calea aerului prin praf, obiecte etc.



Mycobacterium tuberculosis în spută



Mycobacterium tuberculosis în urină

De la bovine, prin laptele nefiert, microbul poate determina îmbolnăviri cu poartă de intrare digestivă.

CARACTERE MORFOLOGICE SI DE CULTIVARE. Bacilul Koch se prezintă sub forma unor bastonașe drepte sau ușor încurbate cu structură omogenă sau granulară; în general subțiri, ei se așează în mici grămezi sau câte doi, uniți prin una din extremități sub formă de litere: L, Y, V, X. Se colorează greu din cauza componenței particulare a peretelui bogat în substanțe ceroase, fapt care necesită în scop de colorare, încălzirea preparatului prin colorația special Ziehl-Neelsen. Bacilul Koch este acido-alcool-rezistent, iar colorația Ziehl reprezintă un criteriu important de identificare a speciilor care aparțin genului Mycobacterium.



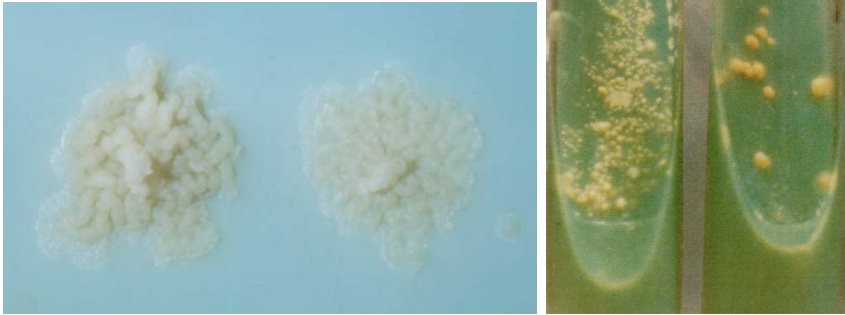
Bacil Koch,
produs patologic



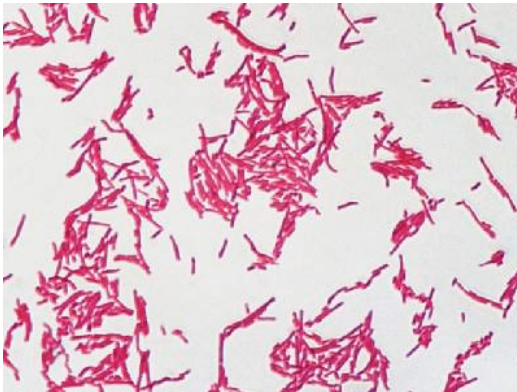
În prezent, metoda microscopiei cu fluorescență permite punerea în evidență a bacilului Koch în scop de diagnostic, din produsele paucibacilare; de asemenea, prin aceeași metodă se poate pune în evidență bacilul Koch din diferite organe sau țesuturi.

Spre deosebire de alte bacterii, bacilul Koch se cultivă greu, după aproximativ 2 săptămâni, pe medii speciale care conțin gălbenuș de ou, glicerina, asparagină. Mediul cel mai utilizat pentru izolarea bacilului Koch din produse patologice este Loewenstein-Jensen. Pe acest mediu ca și pe alte medii

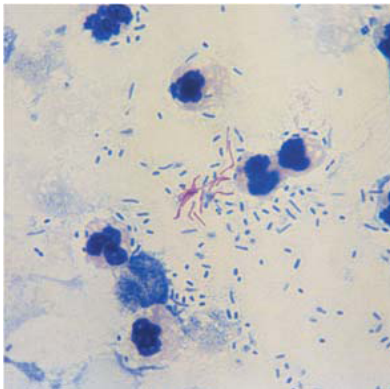
solide bacilul Koch cultivă sub forma unor colonii rugoase, neregulate, conopidiforme, alb-gălbui de tip R.



Bacilul Koch în mediul Loewenstein-Jensen



Bacilul Koch-frotiuri colorate Ziehl-Neelsen



Bacilul Koch-frotiuri colorate Ziehl-Neelsen -urină

Pe medii lichide (sintetice cu adaos de proteine) bacilul Koch cultivă la suprafață sub forma unui vâl plisat, lăsând mediul limpede. Bacilul Koch este strict aerob. În anumite cazuri când bacilii sufer modificări metabolice în organism sub acțiunea antibioticelor sau chimioterapicelor (în special HIN), vitalitatea lor este redusă considerabil. În aceste cazuri sunt necesare medii speciale cu adaos de anumite substanțe nutritive (de ex.: mediul Coletsos) care asigură în același timp și condiții de semianaerobioză, absolut necesară acestor bacterii la prima cultivare din organism.

Mycobacterium bovis se dezvoltă mai lent pe medii de cultură, în 20-60 zile, sub formă de colonii de tip S.

REZISTENȚĂ ÎN MEDIUL EXTERN. Bacilul Koch este foarte rezistent în afara organismului. La adăpost de lumina solară și uscăciune rezistă 6-8 luni; este foarte rezistent la frig; lumina solară directă îl distruge în 10-20 zile; este omorât în 10 min. la 80°C, în 5 min. la 90°C. De asemenea este distrus după 12-24 de ore de fenol 5%, lizol 1%, crezol 4%, bromocet 13%. Bacilul Koch este sensibil ca specie la numeroase antibiotice și chimioterapice (tuberculostatice) dar în timpul tratamentului se instalează adesea caracterul de rezistență, ceea ce impune în cadrul diagnosticului, necesitatea antibiogrammei. Micobacteriile atipice sunt natural rezistente la HIN și PAS.

PATOGENITATE Patogenitatea bacilului Koch este determinată de virulență care este atribuită de unii autori fracțiunii lipidice numită cord-factor, după observația că tulpinile virulente, în culturi au o dispoziție caracteristică în corzi, ca niște frânghii răsucite, așezare care lipsește la tulpinile nevirulente; de asemenea s-a observat faptul că dacă în mod experimental s-a distrus cord-factorul, tulpinile au devenit nevirulente.

La caracterul de virulență al microbului mai contribuie unele componente sensibilizante: cerurile, lipidele, care în asociație cu componentele proteice explică și fenomenele de sensibilizare de tip întârziat.

Una din substanțele proteice, tuberculina este capabilă să evidențieze starea de sensibilizare a organismului inițiată de complexul lipo-proteic. Tuberculina reprezintă un extras dintr-o cultură de bacili Koch, preparată după o tehnică specială, care inoculată la un organism în care este prezent bacilul Koch, deci oare a suferit infecția tuberculoasă, determină o

- reacție locală: înrosire, edem;
- focală- reacție inflamatorie în jurul focarului infecțios și
- generală, febră.

Deoarece starea de sensibilizare a organismului se dezvoltă paralel cu rezistența antiinfecțioasă specifică (imunitate mediată de celule) intradermo-reacția la tuberculină pune în evidență faptul că primul contact al organismului cu bacilul Koch a avut loc, determinând în paralel cele două manifestări imunologice: sensibilizare și imunizare.

Reacția la tuberculină negativă la copilul de peste șapte ani sau adultul tânăr impune în mod obligator vaccinarea specifică BCG, deoarece în absența oricărei apărării imunologice, organismul este mai expus să facă tuberculoza-boală.

INFECTIE TUBERCULOASĂ. TUBERCULOZA-BOALĂ. Este foarte important de a deosebi noțiunea de infecție tuberculoasă și tuberculoza boală. Infecția tuberculoasă, afectul sau complexul primar, reprezintă primul contact al organismului cu bacilul Koch, care evoluează de obicei la vârsta preșcolară, când copilul părăsește mediul strict familial și poate veni în contact cu o persoană care elimină prin tuse acest microb. Infecția mică este de obicei învinsă, localizată de organism, dar prezența ei conferă organismului o stare de rezistență față de o nouă infecție, care coincide cu sensibilizarea alergică, evidențiată prin pozitivarea reacției la tuberculină.

Boala la om. Tuberculoza boală apare relativ rar, numai atunci când rezistența antiinfecțioasă realizată de afectul primar este învinsă fie prin:

- scăderea rezistenței generale a organismului în urma unui efort fizic sau intelectual deosebit, boli infecțioase anergizante, anumite stări fiziologice (sarcină, alăptare) etc., care toate contribuie la redeșteptarea vechiului focar primar în care bacilul Koch, înglobat în macrofage rămâne viabil, în stare latentă dar cu toate caracterele de virulență nemodificate; de la acest nivel bacilii sunt mobilizați putând afecta orice țesut sau organ. Acest mecanism de îmbolnăvire de la nivelul unei surse endogene, se pare că este cel mai frecvent întâlnit;

- a doua posibilitatea de reinfecție, care explică îmbolnăvirea, este contactul cu un bolnav, care prin tuse, strănut, vorbire elimină o cantitate foarte mare de bacili Koch.

Un contact repetat cu persoana bolnavă, care reprezintă sursa exogenă de contaminare, reușește uneori să învingă starea de rezistență antiinfecțioasă (de tip celular) și să declanșeze tuberculoza boală.

Contaminarea se poate face pe cale aeriană, digestivă, prin produse lactate sau chiar cutanată.

Forma cea mai frecventă de tuberculoză este cea pulmonară dar există, și tuberculoză ganglionară, meningeală, osoasă (morb Pott, coxalgie, tumoră albă de genunchi etc.) oculară, peritoneală, renală, genitală și cutanată.

În toate cazurile tuberculoza se manifestă clinic cu stare de subfebrilitate, astenie și cu fenomene locale care în cazul tuberculozei pulmonare sunt: tuse cu expectorație uneori hemoptizie, și modificări radiologice caracteristice.

IMUNITATE. Studiile din ultimii ani au demonstrat faptul că în tuberculoză imunitatea este de tip celular "imunitate mediată de celule" care se identifică de fapt cu fenomenele de sensibilizare de tip întârziat (celular).

În cadrul procesului de apărare antiinfecțioasă în reacția inflamatorie locală, celulele sensibilizate cu funcție de anticorp (limfocitele T) și macrofagele mobilizate, produc o îngrădire, cu tendința de a limita procesul infecțios tuberculos, ceea ce realizează imunitatea mediată de celule; atunci când survine o nouă infecție, pe un organism sensibilizat, în unele cazuri, la nivelul focarului inflamator poate avea loc o reacție foarte puternică prin aflus masiv de celule sensibilizate și macrofage care produc distrucții celulare cu cazeum, în care bacilul Koch se dezvoltă foarte mult; în acest fel se realizează fenomenul de sensibilizare de tip celular, întârziat. Această nouă interpretare corespunde vechii denumiri de hiperergie adică o reacție imunologică exagerată, spre deosebire de starea de anergie, lipsa totală de reactivitate imunologică. Rolul anticorpilor umorali în tuberculoză este redus și anume ei intervin doar în intensificarea fenomenului de fagocitoză. Există o imunitate parțială, încrucișată între infecția determinată de bacilul Koch și bacteriile atipice.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR În formele pulmonare dar mai ales în cele extrapulmonare, diagnosticul de laborator este absolut necesar pentru precizarea etiologiei bolii și efectuarea antibiogramei în scopul orientării unui tratament corect cu tuberculostatice.

Din diverse produse patologice: spută, L.C.R, urină, puroi se vor face froiuri colorate Ziehl-Neelsen, uneori fiind necesare metode de concentrare a microbilor (centrifugare pentru I.c.r., lichid de seroase, urină, flotare pentru spută). În toate cazurile se vor face însămânțări pe mediul Loewenstein-Jensen și antibiogramă. În caz pozitiv se va pune în evidență în examenul direct bacili a.a.r. care cultivă greu pe medii de cultură, cu formare de colonii caracteristice de tip R. Dacă se izolează bacili atipici, cu aspectul coloniilor modificat, aceștia trebuie identificați prin teste biochimice și demonstrat rolul lor etiologic, prin izolări repetate.

Deoarece în produsele paucibacilare (cu număr redus de microbi), aceste examene pot fi negative, se va face concomitent inocularea la cobai, pe cale peritoneală dacă produsul este lipsit de floră de asociație sau subcutanat după înlăturarea acestei flore (din spută, puroi contaminat) prin diverse procedee. După 10-15 zile de la inoculare cobaiul prezintă un nodul la locul de inoculare, care se ulcerează, ganglionii regionali se tumefiază iar cobaii mor după 6-8 săptămâni. La necropsie se găsesc noduli caracteristici, cazeoși (alb-gălbui) pe splină, ficat și uneori pe plămân iar la locul de inoculare, o ulceratie.

Un diagnostic mai rapid se poate obține la cobai prin testarea stării de sensibilizare a cobaiului cu tuberculină brută (diluții 1/10) prin IDR. În caz de reacție pozitivă, se trage concluzia că produsul inoculat a conținut bacil Koch, care a sensibilizat specific cobaiul.

TRATAMENT Tratamentul în tuberculoză se aplică corect după antibiogramă, în asociații sinergice în care să intre un antibiotic și două chimioterapice. Cele mai utilizate sunt:

- streptomicina, antibiotic activ, se administrează 1-2 g pe zi. În cantitate mare este toxic și poate determina surditate;
- kanamicina, viomicina, cicloserina sunt antibiotice active față de bacilul Koch dar neurotoxice;
- rifampicina este un antibiotic activ și mai puțin toxic

Dintre chimioterapice:

- hidrazida acidului izonicotinic (HIN) este cel mai activ dintre tuberculostaticele majore
- acidul paraaminoalicilic (PAS) are toxicitate redusă și se administrează în doze mari 12-15 g pe zi pe cale orală sau în perfuzii; din cauza toleranței reduse a organismului acest chimioterapie este mai puțin utilizat;
- tionamida (Trecator) se administrează în supozitoare dar uneori prezintă intoleranță;
- etambutolul este un chimioterapie valoros, activ pentru bacilul Koch tip uman și bovin, fără a fi toxic.

Tratamentul medicamentos se completează cu tratament igienico-dietetic, cură la altitudine și tratament chirurgical, atunci când este necesar. Chimioterapia tuberculozei a devenit posibilă prin descoperirea streptomicinei la mijlocul anilor 1940. Studiile clinice randomizate au indicat faptul că administrarea streptomicinei la pacienții cu tuberculoză cronică a redus mortalitatea și a condus la vindecare într-un număr de cazuri. Totuși, monoterapia cu streptomicină a fost frecvent asociată cu dezvoltarea rezistenței

la streptomycină, însoțită de eșecul tratamentului. Odată cu descoperirea acidului para-amino-salicilic (PAS) și a izoniazidei, a devenit o axiomă faptul că vindecarea tuberculozei necesită administrarea concomitentă a cel puțin doi agenți la care microorganismul să fie sensibil. Mai mult, studiile clinice mai vechi au demonstrat că a fost necesară o perioadă mai lungă de tratament - adică 12-24 luni - pentru a preveni recurența tuberculozei. Introducerea rifampicinei la începutul anilor 1970 a inițiat era chimioterapie eficiente cu durată scurtă, cu o durată a tratamentului mai mică de 12 luni. Descoperirea faptului că pirazinamida, care a fost utilizată pentru prima dată în anii 1950, amplifică potența regimurilor cu izoniazidă/ rifampicină, a condus la utilizarea unei cure de 6 luni cu acest regim de trei medicamente, ca tratament standard. Medicamente. Cinci medicamente majore sunt considerate agenții de prima linie în tratamentul tuberculozei: izoniazidă, rifampicină, pirazinamida, etambutolul și streptomycină. Primele patru, ce sunt administrate de obicei oral, sunt bine absorbite, cu concentrații serice maxime la 2- 4 ore și eliminare aproape completă în 24 ore. Acești agenți sunt recomandați pe baza activității lor bactericide (capacitatea de a reduce rapid numărul microorganismelor viabile), a activității de sterilizare (capacitatea de a omorî toți bacilii și astfel de a steriliza organul afectat, măsurată prin capacitatea de a preveni recăderile) și a ratei scăzute de inducere a chimiorezistenței. Datorită unui nivel scăzut al eficienței și a gradului mai ridicat de intoleranță și toxicitate, unele medicamente din linia a doua sunt utilizate doar pentru tratamentul pacienților cu tuberculoză rezistentă la medicamentele din prima linie, în acest grup sunt incluse medicamentele injectabile, cum sunt kanamicina, amikacina și capreomicina și agenții cu administrare orală: etionamida, cicloserina și PAS. Recent, antibioticele chinolonice au fost adăugate acestei liste; deși ofloxacina este în general recomandată, sparfloxacina și levofloxacina au fost mai active în studiile experimentale. Alte medicamente din linia a doua includ clofazimina, amitio-zona (tiacetazona), utilizată larg cu izoniazidă în țările mai puțin bogate, dar care nu este comercializată în America de Nord sau Europa și amoxicilina/acid clavulanic. Derivații de rifampicină cu acțiune prelungită sunt de asemenea în evaluare pentru tratamentul tuberculozei, incluzând rifabutinul, care este utilizat pentru profilaxia bolii cu CMA la pacienții cu SIDA și este probabil activ împotriva unor bacili tuberculoși cu rezistență de nivel scăzut la rifampicină, și rifapentin, ce poate fi eficient atunci când este administrat doar o dată pe săptămână.

PROFILAXIE Prevenirea infecției tuberculoase se face prin:

1. măsuri nespecifice
 - izolarea bolnavilor și tratarea lor corectă;
 - semnalarea precoce a tuberculozei prin micro-radiofotografii;
 - depistarea prin i.d.r. la tuberculină a persoanelor lipsite de rezistență la infecție;
 - chimioprofilaxie la copiii contacti sau hiperergici;
 - limitarea posibilităților de contaminare prin supravegherea surselor de infecție și educația populației;

2. profilaxia specifică în tuberculoză constă în vaccinarea BCG (Bacil Calmette-Guérin). Acest vaccin reprezintă o suspensie de bacili vii a unei tulpini de *Myc. bovis*, a cărui virulență a fost atenuată prin treceri numeroase pe medii cu bilă de către Calmette și Guérin (o variantă genetic stabilă) timp de 13 ani.

Vaccinarea cu BCG se efectuează pe cale intradermică în prima lună după naștere, iar la copii subponderali, vaccinarea se aplică în momentul când copiii au greutatea de 3 kg. Revaccinarea se face la 3, 7, 14 și 18 ani, după starea de sensibilizare la infecția tuberculoasă a persoanelor, prin reacția la tuberculină.

În prezent se utilizează tuberculină purificată IC₆₅ (purified protein derivative) care reprezintă o tuberculo-proteină elaborată de specia *Mycobacterium*, varietatea *hominis*. PPD-ul, preparat de Inst.Dr.I. Cantacuzino, se prezintă sub formă de liofilizat în fiole. Testarea la tuberculină în vederea vaccinării se face prin inoculare strict intradermica pe fața anterioară a antebrațului, în treimea mijlocie cu 0,1 ml tuberculină (1 UT=unități tuberculină). Citirea se face la 72 ore, deoarece reacția are o sensibilizare de tip întârziat (tuberculinic). În cazul în care această reacție va fi negativă, adică nu va apărea nici o modificare la locul inoculării după câteva ore, se va repeta I.D.R. după 15 zile cu doza de 10 UT. Numai dacă și în acest caz reacția va fi negativă se va trece la vaccinare. Reacția pozitivă la tuberculină se manifestă după 48-72 ore cu roșeață și infiltrația locală a dermului cu un diametru minim de 6 mm. Reacția este pozitivă la persoanele care au venit în contact cu bacilul Koch; ele prezintă rezistență față de infecția tuberculoasă și nu vor fi vaccinate. Reacția negativă la tuberculină, cu absența oricărei manifestări locale, reflectă adesea:

1. lipsa de contact a persoanei cu bacilul Koch (copii, adulți tineri), care necesită obligator vaccinarea BCG.
2. în unele cazuri, reacția la tuberculină este negativă deoarece s-a efectuat tocmai în perioada antialergică când deși a avut loc infecția tuberculoasă (prima contaminare), nu s-a instalat încă starea de sensibilizare specifică.
3. alteori reacția la tuberculină se negativează în mod pasager în cadrul unor stări fiziologice deosebite (sarcină, leuzie, alăptare), sau în timpul unor boli contagioase ca de ex.: gripă, rujeolă, tuse convulsivă etc., care toate creează o stare de anergie a organismului, ceea ce face ca în acea perioadă reacția la tuberculină să fie negativă.
4. de asemenea reacția la tuberculină poate să se negativeze după administrare de: corticosteroizi, estrogeni, antihistaminice, vaccinuri antivirale, doze mari de vitamină C sau D2.

O reacție negativă urmată la un interval scurt de o pozitivare intensă, reprezintă virajul tuberculinic; dacă acest viraj apare brusc la un copil mic, nevaccinat BCG, el poate constitui un indiciu de îmbolnăvire recentă. De asemenea o reacție la tuberculină foarte intensă mai ales la copil, trebuie urmată de un consult clinic, pentru a exclude sau a confirma tuberculoza boală.

Reacția la tuberculină nu trebuie să se efectueze la persoane cu suspiciune de boală, deoarece prin reacția focală pe care o produce ea poate să redeștepte focare vechi tuberculoase stabilizate.

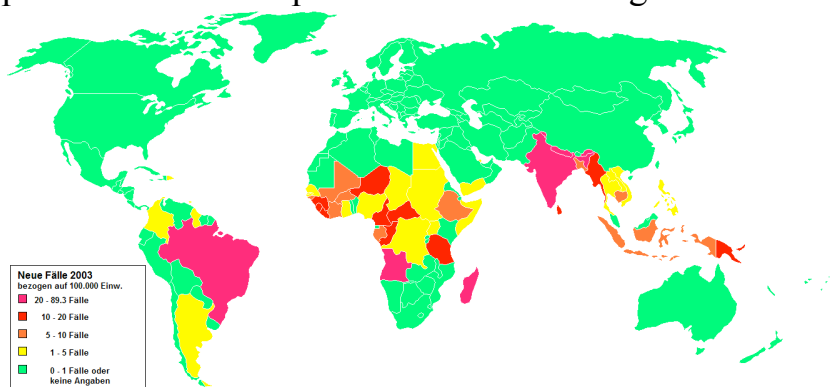
MYCOBACTERIUM LEPRAE

ISTORIC Boală cunoscută din vechime, fiind amintită deja în primele izvoare scrise din istorie. Cercetările mai recente au stabilit că locul de origine a bolii este Africa de est. De aici boala s-a extins în Europa și Asia ajungând în India. În vechiul testament din Tora, partea Leviticus (cartea 3-a a lui Moise), boala este descrisă amănunțit în capitolul XIII vers. 1-46. De menționat că aici lepra nu este considerată ca o boală diferită de alte boli dermatologice ca Lupus erythematodes (boală de piele cu o etiologie necunoscută), sau „Lupus vulgaris” (tuberculoză dermică), cauza fiind necunoscuta datorită cunoștințelor medicale puține din acel timp.

La fel boala este amintită în Roma și Grecia antică. O preocupare deosebită cu această boală a fost în timpul lui Cicero. Mai târziu prin secolele VII și VIII boala este răspândită în rândul populației langobarde (popor germanic din nordul Italiei). Prin secolul IX și XI boala este amintită în Würzburg, Bremen sau colonia de leproși (Leprosorium) din Aachen. Cruciadele fiind considerate ca unul din factorii importanți care au determinat răspândirea bolii în Evul Mediu, boala atinge un apogeu în secolul XIII și dispăre la sfârșitul secolului al XVI-lea, lăsând bolnavii cu forma cronică de lepră.

Lepra este considerată azi ca o boală care se poate transmite numai în condiții igienice deficitare, stare de subnutriție care determină o slăbire a sistemului imun. Fenomenul de contaminare era deja cunoscut de la epidemiile de ciurma (pestă), cece a determinat izolarea leproșilor în colonii, evitându-se contactul cu bolnavii, dar neținând seama de cei contaminați care erau în perioada de incubație a bolii.

Lepra se extinde în zona Caraibică și pe continentul american prin colonizarea Americii și comerțul cu sclavi. O extindere mare a bolii are loc în secolul XIX în Norvegia, atingând cifra de 2 milioane de leproși. În această perioadă este descoperit de medicul norvegian Hansen agentul etiologic.



Noi infecții cu lepră 2003

SIMPTOME Lepra este o boală cu o evoluție cronică, semnele de boală variază mult de la un pacient la altul, la congresul internațional de combatere a leprei din anul 1953 s-a făcut categorisirea formelor de boală:

- lepra nedefinită (prima fază cutanată eritematoasă)
- lepra tuberculoasă (căderea părului, apar inflamații nodulare pe traiectul nervilor, descompuneri de țesuturi)

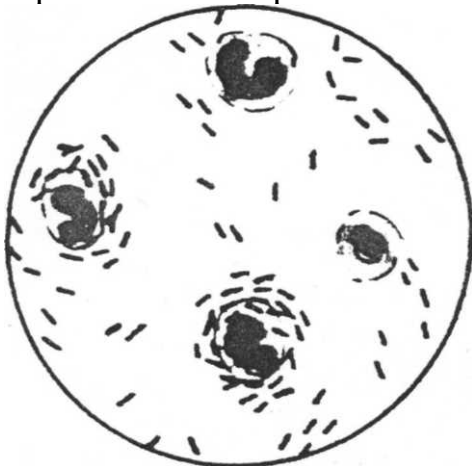
- lepra borderline (formă instabilă, fiind definită de starea imună, care trece în forma gravă)
- forma de lepră gravă (forma contagioasă, apar pete roșiatice, brune, „cap de leu”, inflamații pe traiectul sistemul limfatic și nervos, descompunerea de țesuturi cu tumefieri și ulceratii. Aceste procese se pot extinde în mușchi, oase tendoane și organe, moartea fiind produsă de infecțiile secundare bacteriene. Plăci cutanate eritematoase (forma nespecifică)



Un tânăr de 24 de ani bolnav de lepră (secolul XIX)

HABITAT *Mycobacterium leprae* sau bacilul Hansen determină lepra, boală specifică omului; aceasta apare după un contact îndelungat cu omul bolnav, fiind favorizată de condiții proaste de igienă.

CARACTERE MORFOLOGICE SI CULTIVARE *Mycobacterium leprae*, ca și bacilul Koch este acido și alcoolo-rezistent, parazit obligator intracelular, încât în interiorul macrofagelor se dispune paralel determinând aspectul microscopic caracteristic pentru lepră de "globi leproși".



Bacilul leprei produs patologic

Bacilul Hansen nu a putut fi cultivat până în prezent pe medii de cultură artificiale și nici nu s-a reușit reproducerea infecției în mod experimental.

Recent s-a putut obține multiplicarea bacililor leproși prin inocularea produsului patologic în regiunea plantară la șoarece. Din in anul 1960 s-a reușit inocularea *M. leprae* la animale din familia *Dasydodidae* (furnicar, leneș),

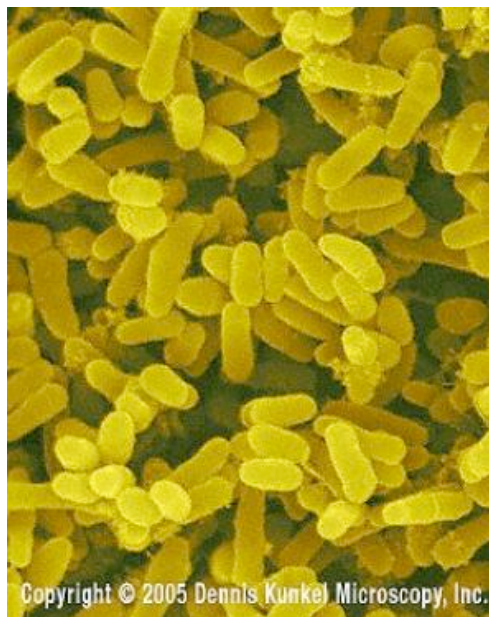
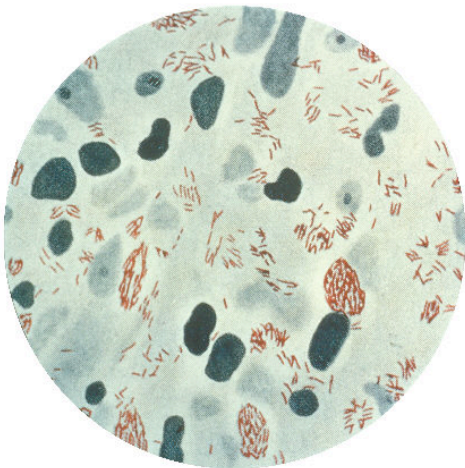
care nu se îmbolnăvesc din cauza temperaturii corporale mai scăzute. Din anul 1971 sunt folosite aceste animale în scopul producerii unui vaccin antilepros.

FORMĂ TUBERCULOIDĂ.FORMĂ LEPROMATOSĂ Boala evoluează sub formă tuberculoidă, cu noduli infiltrativi bine delimitați în derm sau mucoase (inclusiv cea oculară), precum și pe traiectul nervilor periferici și forma lepromatoasă cu leziuni invadante, ulcerative.

IMUNITATE Cele două manifestări atât de deosebite din punct de vedere clinic se explică prin reactivitatea imunologică diferită a celor două categorii de bolnavi: un bun răspuns imunologic mediat de celule, în forma tuberculoidă și lipsă de răspuns imunologic.

DIAGNOSTIC DE LABORATOR Diagnosticul de laborator constă din efectuarea examenului direct din secreția nazală (nazo-farinxul reprezentând poarta de intrare a infecției). Examenul direct se efectuează de asemenea și din secreții recoltate din leziuni: noduli, ulcerații, din care frotiurile se colorează Ziehl-Neelsen. Se poate practica de asemenea i.d.r. la lepromină, reacție care este pozitivă numai în forma tuberculoidă. În zonele endemice diagnosticul clinic care se pune cu ușurință, este completat prin teste de laborator.

Mycobacterium leprae – coloratie Ziehl-Neelsen



TRATAMENT Tratamentul se face cu sulfone cum ar fi difenil-sulfona. Azi lepra este o boală care se poate trata, costul tratamentului este o problemă încă nerezolvată în țările în curs de dezvoltare. Primul pas important în combaterea bolii a fost făcut în anul 1873 de medicul Gerhard Armauer Hansen prin descoperirea agentului cauzal. După o cercetare timp de patru ani a bolii (1884-1888) de către medicul dermatolog german Eduard Arning (1855-1963) dovedește faptul că lepra este o boală transmisibilă, timp de 20 de ani boala neputând fi tratată. Descoperirea sulfamidelor (Gerhard Domagk), urmat de terapia cu sulfonamida Archie Cochrane, Dapson (DDS) (1947) este un pas important în tratamentul infecțiilor.

Rezultatele tratamentului sunt influențate starea imună a bolnavului, de forma și evoluția bolii, în funcție de diagnostic (lepromintest) este durata tratamentului care poate fi o lună sau poate dura ani întregi. Medicația constă dintr-o combinație de antibiotice din anul 1962 Dapson, recomandă un tratament cu Clofazimin urmând ca din anul 1971 fiind utilizate medicamente din grupa antibioticelor de rezervă ca de exemplu rifampicina.

PROFILAXIE Bolnavii de lepră sunt izolați în colectivități închise numite leprozerii, pentru a nu genera alte îmbolnăviri persoanelor din jur.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 11**17. Infecții cu enterobacterii; caracteristici generale, sindroame**

(Rusea Anca Maria Grupa: 18 An: 2 20.05.2009)

BACILI GRAM NEGATIVI**FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE și implicarea lor în contaminarea medicamentelor**

Familia Enterobacteriaceae cuprinde microorganisme cu poartă de intrare digestivă și localizare intestinală. În această familie se încadrează specii patogene pentru om din genurile: *Salmonella* și *Shigella* și specii saprofite care constituie flora normală a intestinului, dar care în anumite condiții pot deveni patogene: *Escherichia*, *Klebsiella* și *Proteus*.

Unele grupe intermediare: Arizona, Citobacter, Hafnia, Serratia sunt în general nepatogene, determinând în mod excepțional infecții la om.

Habitat. Bacteriile din familia *Enterobacteriaceae* se găsesc în intestinul omului, animalelor domestice, păsărilor de unde prin dejecte contaminatează apa, solul, alimentele, prin intermediul cărora se pot produce infecții intestinale.

Heterogenitatea speciilor care se încadrează în familia Enterobacteriaceae se explică prin habitatul lor natural într-un mediu ecologic foarte complex, intestinul, în care genuri și specii apropiate se condiționează și se influențează reciproc. Reprezentanții acestei familii sunt astfel supuși la o intensă și permanentă variabilitate care poate interesa caracterile biochimice, de structură antigenică sau de patogenitate. Acest lucru explică numeroasele clasificări care s-au făcut de-a lungul anilor pentru a încadra aceste bacterii într-un grup sau altul.

Tabel V CLASIFICAREA ENTEROBACTERIACEAE

Diviziuni principale	Grupuri
Shigella - Escherichia	Shigella
	Escherichia (E.coli, Alkalescens)
Salmonella – Arizona - Citobacter	Salmonella
	Arizona
	Citobacter
Klebsiella – Aerobacter - Serratia	Klebsiella
	Aerobacter
	Hafnia
	Serratia
Proteus - Providence	Proteus
	Providencia
Edwardsiella	Edwardsiella

(după Ewing și Edwards, 1960)

Criteriile de clasificare sunt de obicei cele biochimice și de structură antigenică. Clasificarea lui Ewing și Edwards (1960 acceptată în prezent la noi în țară), împarte familia în diviziuni principale sau triburi și apoi în grupuri sau genuri. Fiecare gen cuprinde mai multe serotipuri care la rândul lor prezintă mai

multe tipuri fagice și tipuri fermentative (biotipuri). De aici reiese că pe lângă caracterele comune care reunesc aceste bacterii în cadrul familiei, datorită complexității caracterelor biochimice sau de structură antigenică, trebuie efectuate numeroase teste speciale pentru a diferenția Enterobacteriaceele între ele, în scopul diagnosticului de laborator.

Caractere generale. Bacteriile din familia Enterobacteriaceae prezintă următoarele caractere comune: sunt bacili sau cocobacili de 1-3 μ m lungime și 0,4 – 0,6 μ m grosime, cu capetele rotunjite, gram-negativi, nesporulați, majoritatea necapsulați, unii mobili alții imobili. Cultivă pe medii simple, fermentează glucoza și alte zaharuri cu sau fără producere de gaz și toți reduc nitrații în nitriți.

Enterobacteriaceele au o structură antigenică complexă constituită din: antigene somatice „O”, antigene de suprafață sau de înveliș „K” și antigene flagelare „H”, prezente numai la speciile mobile. Recent s-a descris la nivelul fimbriilor la unele enterobacteriaceae un antigen fimbrial prezent în formațiunile numite fimbrii sau pili cu rol în aderare pe suporturi solide (hematii, medii de cultură sticlă) și care uneori pot determina reacții serologice încrucișate în cursul diagnosticului de laborator.

În cadrul studiilor efectuate pe aceste bacterii s-a demonstrat transferul posibil al caracterului de rezistență la antibiotice prin mecanisme genetice: transducție cu bacteriofag sau conjugare. De asemenea observații la nivel subcelular au pus în evidență la aceste bacterii, prezența unui factor plasmidic, numit de rezistență „R”, capabil să transfere caracterul de rezistență la antibiotice de la o tulpină patogenă sau chiar saprofită dar rezistentă la o tulpină patogenă și sensibilă printr-un fenomen de conjugare, permițând între cele două bacterii schimb exclusiv de ADN citoplasmatic, fără intervenția nucleului. Acest mecanism se produce destul de frecvent și explică multirezistența la antibiotice a tulpinilor izolate de la bolnavi înainte de începerea tratamentului; se impune așa dar efectuarea imediată a examenelor de laborator pe produse patologice proaspete și efectuarea antibiogrammei la fiecare tulpină nou izolată, pentru administrarea unui tratament corect cu antibiotice sau chimioterapice la bolnav.

1. Genul *Escherichia*

Escherichia coli (bacilul coli), descoperit de Escherich în 1895, este un constituent obișnuit al florei normale a intestinului la om și animale unde apare după primele ore de la naștere. Bacilul coli este un bacil gram-negativ, mobil, lactozo-pozitiv, care formează indol în apa peptonată și nu crește pe mediu cu citrat. De obicei saprofit, el poate deveni în anumite condiții patogen determinând la adult unele manifestări clinice ca: cistite, pielite, enterocolite – de multe ori aceste infecții prezintă tendință de cronicizare și recidivă, fiind greu de tratat.

Unele tulpini de *Escherichia coli*: O₁₁₁B₄, O₁₁₉B₁₄, etc. cu o anumită structură antigenică (prezența acțiunii B în antigenul K de înveliș) sunt foarte patogene pentru copilul mic în special în primii trei ani de viață determinând: otite, mastoidite, meningite, septicemii. O acțiune deosebit de gravă care afectează copilul mic în primele luni sau primul an de viață este sindromul toxico-septic-epidemic sau diareea malignă a noilor născuți, infecție cu caracter epidemic care

poate apare în secțiile de maternitate sau pediatrie. Sursa acestor infecții sunt adulții purtători ai unor asemenea tulpini de bacili coli, care sunt inofensive pentru adult dar foarte patogene pentru copilul mic (potențial patogene).

Fiind un comensal al intestinului și potențial patogen bacilul coli poate contamina medicamentele prin intermediul mâinilor murdare.

Diagnosticul de laborator se face prin diagnostic bacteriologic direct care constă din izolarea microbului pe mediul Drigalschi din diverse produse patologice: sânge, L.C.R., puroi, materii fecale; urmează apoi identificarea sa prin metode biochimice și serologice: aglutinări cu ser polivalent și seruri monovalente. Este un bacil gram-negativ, mobil, lactozo-pozitiv. În cazul urinei se pot face uroculturi cantitative. La adult se poate efectua și un diagnostic serologic indirect, determinând anticorpii din ser față de tulpina proprie izolată, în special în cazurile cronice (titru semnificativ 1/500).

Tratamentul se face cu chimioterapice (negram, nitrofurami) sau antibiotice conform antibiogramii.

2. Genul *Salmonella*

Acest grup cuprinde aproximativ 1.000 de specii dintre care face parte bacilul tific și bacilii paratifici A, B, și C, agenții etiologici ai febrei tifoide și a febrei paratifoide iar celelalte specii, foarte numeroase determină toxiiinfecții alimentare.

Habitat. Prezente în intestinul omului bolnav sau purtător, animalelor domestice sau intestinul păsărilor infectate, salmonelele se elimină prin dejecte, contaminatează apa și alimentele care apoi infectează organisme noi prin mecanism fecal–oral.

Caractere morfologice și de cultivare. Salmonelele sunt bacili gram-negativi mobili, care cultivă pe medii simple; pe bulion îl tulbură iar pe geloză formează colonii de tip S de 1-2 mm, translucide. Salmonelele nu fermentează lactoza, nu produc indol, majoritatea produc hidrogen sulfurat și cu excepția bacilului tific, toți folosesc citratul ca sursă de carbon.

Rezistența în mediul extern a salmonelelor este mare: ele supraviețuiesc 6 luni în sol, 3 luni în gheață, 7 zile în apa potabilă și 25 zile în materii fecale. Sunt distruse în 15 – 20 min. La 60⁰ și de antisepticile uzuale. Sunt sensibili la antibiotice cu spectru larg sau la cele active asupra bacililor gram- negativi: streptomycină, polimixină, colimicină, ampicilină și chimioterapice ca nitrofuranii.

Structura antigenică. Salmonelele posedă un antigen somatic O situat în profunzimea peretelui bacterian care se identifică cu endotoxina, de natură glucido-lipido-poli-peptidică, antigen H cu structură proteică și antigen Vi prezent numai anumite specii (b.tific, paratific C etc.) în care caz conferă tulpinilor o virulență deosebită. Salmonelele sunt înrudite din punct de vedere al structurii antigenice, putând fi identificate prin reacții serologice.

Patogenitate. Unele salmonele sunt patogene numai pentru om (b. tific) altele numai pentru animale sau păsări: *Salmonella equi*, *galinarum*, *S.abortus ovis*, în timp ce majoritatea contaminatează animalele și omul (zoonoze), determinând la acesta toxiiinfecțiile alimentare. Patogenitatea salmonelelor este determinată de virulanța tulpinei, condiționată atât de prezența

antigenului O și Vi cât și de toxicitatea conferită de endotixină, identificată de altfel cu antigenul somatic O. Se pare că rolul endotoxinei nu rezidă dintr-o toxicitate deosebită ci mai mult din rolul sensibilizant; astfel endotoxina (ca și antigenul somatic O) are o structură glucido-lipido-polipeptidică în care:

- componenta proteică conferă antigenitatea complexului și deci determină în organism formarea de anticorpi.
- polizaharidul imprimă specificitatea endotoxinei, iar
- lipidul are rol sensibilizant.

Febra tifoidă Agentul etiologic al febrei tifoide este *Salmonella typhi* (bacilul tific), descoperit în anul 1880 de către Eberth. Febra tifoidă este o boală specifică omului. Bacilul pătrunde în organism pe cale digestivă cu apa sau alimentele contaminate; ajuns în intestinul subțire se fixează și se multiplică la nivelul ganglionilor limfatici mezenterici (plăcile lui Peyer) în interiorul macrofagilor, după care bacilii sunt mobilizați în sistemul limfatic, splină, ficat, măduvă osoasă. Ulterior macrofagele distruse eliberează bacteriile în torentul circular, determinând faza de bacteriemie a bolii.

Din punct de vedere clinic, după o incubatie de 10-12 zile, debutul este insidios, cu stare generală alterată. În perioada de stare de febră de 38⁰-39⁰C evoluează în platou, (cu mici oscilații), apare hipotensiune, somnolență, delir (stare tifică), scaune diareice mai rar constipație și erupție discretă cutanată, lenticulară în special pe torace și abdomen.

Boala netratată durează aproximativ 6-7 săptămâni, iar la sfârșitul acestei perioade pot apărea complicații: osteite și periostite, hemoragii sau perforații intestinale la nivelul leziunilor situate pe intestinul subțire și în care în lumina cunoștințelor actuale de imunologie sunt interpretate ca reacții de hipersensibilizare la acțiunea endotoxinei bacilului tific pe un fond de sensibilizare determinat de endotoxina asemănătoare a speciilor comensale de bacili gram-negativi din intestin.

Imunitatea obișnuită prin boală este solidă și durabilă de tip umoral și celular, salmonellele fiind bacterii facultativ intracelulare. În febra tifoidă vindecarea clinică nu se însoțește întotdeauna cu sterilizarea bacteriologică, microbii putând persista la nivelul veziculei biliare și a intestinului subțire. De la acest nivel microbii sunt eliminați în mediul extern un timp îndelungat (uneori ani de zile) în mod continuu sau intermitent iar foștii bolnavi constituie astfel purtătorii de bacili tifici.

Diagnosticul de laborator în febra tifoidă se bazează pe:

- diagnostic bacteriologic direct, prin care se urmărește izolarea bacilului tific din sânge (prin hemocultură), bilă, materii fecale, urină pe un mediu de îmbogățire și pe cel puțin două medii speciale, unul selectiv (Leifson) și unul diferențial (Drigalschi) și identificarea sa prin teste morfotinctoriale, de cultivare și serologie;
- diagnostic serologic sau indirect care constă în punerea în evidență a zeceadoisprezece zi de boală a anticorpilor anti O și H din serul bolnavului prin reacția serică calitativă, care a înlocuit vechea reacție Widal. Examenul serologic va fi efectuat de două ori, la internarea bolnavului și după 7-10 zile interval pentru a urmări curba în ascensiune a anticorpilor serici, deci apariția și

evoluția lor în dinamică. Se consideră pozitivă o reacție cu titru peste 1/200 pentru antigenul O la persoanele nevaccinate și peste 1/500 la cele vaccinate.

La bolnavii vaccinați în perioada cu trei luni înainte de îmbolnăvire, seroreacția nu are valoare diagnosticată. Pentru depistarea purtătorilor se va face o reacție de aglutinare cu serul bolnavului și antigen Vi, iar în caz pozitiv se vor efectua examene bacteriologice repetate pentru izolarea bacilului tific din materii fecale, bilă și urină.

Tratament. În tratamentul febrei tifoide se utilizează în prezent cloramfenicolul (100 mg/kg corp) timp de 12 zile, aplicat în primele 10 zile de boală pentru a reduce complicațiile și a preveni recăderile. Cloramfenicolul este activ asupra bacilului tific deoarece pătrunde în interiorul macrofagelor în care se găsește adesea situat bacilul tific. Prin același mecanism acționează și rifamicinele. Deoarece s-au semnalat tulpini de bacili tific rezistenți la antibiotice, pentru orientarea tratamentului este necesară în prezent antibiograma.

De asemenea pentru sterilizarea purtătorilor se folosesc în prezent antibiotice cu bună concentrare biliară: ampicilina, rifampicinele, tetraciclina iar după observații clinice recente se pare că Septrinul (Bactrinul) o asociație dintre trimetoprim și o sulfamidă, sulfametoxazolul, este mai eficient în tratamentul febrei tifoide decât cloramfenicolul.

Epidemiologie. Febra tifoidă este o boală răspândită pe tot globul, mai ales în regiunile temperate unde apar cazuri sporadice în timpul anului și izbucniri epidemice în lunile iunie-septembrie. Izvorul de infecție este prezentat de omul bolnav și purtător. Transmiterea infecției se face prin contactul direct cu omul bolnav, purtător sau indirect prin consum de apă și alimente (legume, fructe, moluște, etc.) infectate. Mecanismul de infecție este fecal-oral. Profilaxia. Pentru a preveni răspândirea infecției se utilizează următoarele metode:

- profilaxia nespecifică:
 - izolarea bolnavului;
 - dezinfecția dejectelor;
 - controlul și protecția apelor potabile și a alimentelor;
 - depistarea purtătorilor;
 - respectarea igienei personale, în special a mâinilor.
- profilaxia specifică constă în creșterea rezistenței specifice a populației prin vaccinarea antitifică, care se aplică la persoane cu limita de vârstă cuprinsă între 5-55 ani.

Vaccinul tifoidic (T) este o suspensie de bacil tific (un miliard/ml) inactivată prin căldură și fenol. În raport cu vârsta se administrează: 0,25 ml între 5-12 ani și 0,5 ml între 12-55 ani, câte două doze la interval de 30 zile pe cale subcutanată. Revaccinarea se face în doze unice anuale, în raport cu vârsta timp de trei ani consecutiv. Urmează apoi cinci ani pauză după care se face din nou vaccinarea completă. În unele regiuni endemice ale țării se aplică în prezent vaccinul TAB sub formă de drajeuri, câte două drajeuri pe zi, pe nemâncate, timp de trei zile, deci în total șase drajeuri. Acest vaccin nu este însoțit de reacții secundare.

Febrele paratifoide Determinate de paratificul A și B sunt infecții foarte asemănătoare din punct de vedere clinic cu febra tifoidă dar în general mai benigne, adesea cu recăderi multiple, datorită unei imunizări mai slabe a organismului. Aspecte clinice de febre paratifoide pot fi date și de alte salmonele după cum și bacilii paratifici pot determina toxiinfecții alimentare.

Toxiinfecțiile alimentare Toxiinfecțiile alimentare sunt afecțiuni cu manifestare digestivă care apar în mediul familial sau în colectivități, la persoane care au consumat același aliment contaminat. Salmonelele au rol important în declanșarea acestor infecții, speciile cele mai frecvent întâlnite fiind *Salmonella typhimurium* (Aertrycke) care determină 50% din îmbolnăviri, apoi *S. enteritidis* (Gärtner), paratificii A, B, C, etc. În ultimul timp datorită importului de alimente și a tranzitului mare de persoane străine se izolează la noi în țară specii nemaiîntâlnite în trecut: *Salmonella panama*, *S. mission*, *S. infantis*, *S. derby* etc.

Boala apare după o incubatie scurtă de 5-24 ore de la consumul de carne (miel, porc, bovine, păsări), ouă (în special de rațe) sau orice produse alimentare contaminate de purtători care manipulează alimente; în general acestea își păstrează aspectul și gustul nemodificat. Pentru acest motiv igiena alimentara cere ca alimentele de origini diferite (carne, peste, lactate, legume) sa fie pastrate separat. Tabloul clinic este determinat de simptome digestive: grețuri, vărsături, dureri abdominale, diaree și febră 38⁰-39⁰C.

Diagnosticul de laborator, exclusiv bacteriologic este un diagnostic de urgență și se face cât mai rapid posibil pentru a izola și a confirma diagnosticul de specie salmonella, urmând ca precizarea tipului să se facă ulterior.

Tratamentul. Deoarece spectrul de sensibilitate al salmonelelor la antibiotice este diferit datorită apariției rezistenței, tratamentul se va aplica conform antibiogramii. La sugari există adesea tendința de generalizare a infecției și se recomandă ca până la precizarea diagnosticului să se administreze ampicilină sau colimicină.

3. Genul *Shigella*

Bacteriile din acest grup cauzează dizenteria, boală infecțioasă acută care apare sporadic sub formă endemică sau epidemică. Bacilii dizenterici sunt gram-negativi, imobili, cresc pe medii simple și nu fermentează lactoza (sunt lactozo-negativi). Primul microb din acest grup a fost descoperit de către Shiga în anul 1898. denumit bacilul Shiga sau *Shigella dysenteriae* este singurul din acest grup care elaborează o exotoxină neurotropă, cauzând la om o boală gravă cu fenomene digestive și nervoase. Celelalte bacterii din genul *Shigella*: *Sh. flexneri*, *sonnei*, *boydi*, posedă numai o endotoxină, determinând la om dizenterii benigne, fără fenomene toxice și nervoase.

Rezistența în mediul extern. În materii fecale bacilii sunt distruși în câteva ore datorită concurenței microbiene. În alimente (legume-fructe) sau pe lenjerie rezistă 8-14 zile iar în gheață câteva luni.

Boala la om. Bacilii dizenterici pătrund în organism odată cu alimentele sau apa contaminată, localizându-se la nivelul mucoasei intestinului gros unde își exercită local acțiunea iritantă, datorită endotoxinei, fără a trece în sânge decât cu totul excepțional. Boala începe brusc, după o incubatie de 2-8 zile cu

fenomene de intoxicație nervoasă în cazul bacilului Shiga, dureri abdominale, tenesme și scaune foarte numeroase 40-100 pe zi. Scaunul conține de obicei mucus, puroi sau striuri de sânge (scaun dizenteriform). Bolnavul prezintă semne de deshidratare masivă. Acest microb nu se mai izolează la noi în țară de peste 10 ani. Ceilalți bacili dizenterici determină forme clinice mai ușoare cu 4-6 scaune pe zi prezentând același aspect caracteristic dar boala evoluează fără fenomene nervoase și deshidratare. Forme clinice cu evoluție gravă se semnalează mai ales la copii mici în primii ani de viață și uneori la bătrâni – adesea însă dizenteria poate evolua sub forme clinice ușoare, confundându-se în acest caz cu enterite, enterocdite, când scapă controlului epidemiologic și contribuie la răspândirea și întreținerea infecției.

Imunitatea. Boala conferă o imunitate neînsemnată de tip.

Diagnosticul de laborator se bazează pe izolarea și identificarea bacililor dizenterici din materiile fecale: bacili gram-negativi cu morfologie asemănătoare bacilului tific, imobili care nu formează H_2S , nu cresc pe mediu cu citrat, nu fermentează lactoza.

Tratamentul se face cu antibiotice din familia tetraciclinelor. Se pot utiliza și cloramfenicolul, neomicina după antibiogramă iar în caz de tulpini rezistente polimixina sau colimicina.

Profilaxia este mai ales nespecifică:

- izolarea bolnavilor și dezinfectia dejectelor;
 - ingerarea fructelor și legumelor spălate;
 - igienă individuală riguroasă, în special a mâinilor;
 - convalescenții vor fi eliberați din spital numai după trei coproculturi negative,
- Profilaxia specifică. În anul 1942 Istrati și colab. (Inst. Cantacuzino) au preparat un vaccin Shiga, constituit din exotoxina, endotoxină și corpi microbieni care este bine tolerat în injecții intramusculare – acest vaccin este păstrat ca rezervă pentru eventualele îmbolnăviri care ar putea să apară la noi în țară cu acest tip de bacil dizenteric. În anul 1961 același colectiv condus de profesorii Istrati și Meitert, a preparat un vaccin dintr-o variantă de bacil dizenteric flexner 2a, cu patogenitate mult atenuată. Vaccinul conține o suspensie de bacterii vii se administrează pe cale orală și este bine tolerat.

4. Genul *Klebsiella*

Klebsiella pneumoniae (pneumobacilul Friedländer) a fost izolat de autorul cu același nume (1883) dintr-un caz de pneumonie. Este prezent ca saprofit în căile respiratorii superioare, intestin, tegumente, de unde în anumite condiții poate deveni patogen.

În genul *Klebsiella* sunt cuprinși și alți microbi cu proprietăți asemănătoare: *Klebsiella rhinoscleromatis* și *Kl. ozenae*. Bacteriile cuprinse în acest punct sunt gram-negative, bacili imobili, cultivă pe medii simple determinând culturi cu caracter mucos, lactozo-pozitivi.

Boala la om. *Klebsiella pneumoniae* determină la om pneumonii, bronhopneumonii, pleurezii, otite, sinuzite, peritonite, septicemii, infecții urinare etc. în unele cazuri aceste bacterii determină infecții intraspitalicești. Este o importantă bacterie condiționat patogenă care de la nivelul nazofarinxului sau intestinului poate determina infecții la persoanele din jur și de

asemenea poate contamina medicamentele. Celelalte bacterii din acest grup determină infecții la nivelul căilor respiratorii superioare.

Diagnosticul de laborator se pune pe baza morfologiei caracteristice în produsul patologic: bacili gram-negativi dispuși în diplo (cap la cap), înconjurați de o capsulă, caracterul mucos al culturilor și patogenitatea pentru șoarece, la care determină septicemii mortale în 24-72 ore. În cazul izolării din materii fecale în număr mare la primo-cultură, el trebuie diferențiat de bacilul coli prin teste biochimice (produce urează, fermentează nozita, crește pe mediu cucitrat, este imobil).

Tratamentul în infecțiile determinate de *Klebsiella pneumoniae* se face cu streptomycină, gentamicina, negram, ciprofloxacină sau antibiotice cu spectru larg conform antibiogramei.

5. Genul *Proteus*

Bacteriile din acest grup sunt bacterii gram-negativi, foarte polimorfi, în general mobili, caracterizându-se prin capacitatea de a invada rapid mediile de cultură solide. Pe baza proprietăților biochimice diferite s-au diferențiate în cadrul genului 4 subgrupe: *Proteus vulgaris*, *Pr.mirabilis*, *Pr.morgani* și *Pr.rettgeri*. Aceste bacterii nu fermentează lactoza, produc urează și unele subgrupe determină indol în apa peptonată.

Habitat. Constituienții grupului *Proteus* sunt foarte răspândiți în natură, fiind agenții obișnuiți ai proceselor de descompunere a materiei organice, ai putrefacției. Ei se găsesc în ape de canal, alimente alterate și constituie flora normală a intestinului la om și animale.

Boala la om. În anumite condiții ei pot deveni patogeni cauzând enteritele de vară la copii și intoxicații alimentare. Uneori determină infecții urinare sau pot fi asociați în supurațiile putride și gangrenoase pulmonare.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor cu *Proteus* se bazează pe izolarea și identificarea bacteirei din diferite produse patologice, germen ușor de recunoscut prin caracterul său particular de a invada mediile de cultură solide; variantele imobile însă se pot confunda la prima izolare cu late specii lactozonegative patogene: salmonelle, shigele. Stabilirea rolului său într-o infecție se face pe baza criteriilor „bacteriilor potențial patogene” sau prin urocultură cantitativă în cazul infecției urinare. Un alt test pentru a confirma rolul său patogen este prezența anticorpilor la bolnav (în special în infecțiile cronice) față de propria tulpină izolată la litru de cel puțin 1/500.

Tratamentul se face cu polimixină, acid nalidixic, gentamicină, carbenicilină dar este absolut necesară **antibiograma** pentru a aplica un tratament corect.

BACILI GRAM-NEGATIVI NONENTEROBACTERII FAMILIA SPIRILLACEAE

Genul *vibrio*

Vibrio cholerae (*Vibrio* coma sau vibrionul holeric), descoperit de Robert Koch în anul 1883, face parte din familia spirillaceae, genul *vibrio*; el nu este o enterobacterie. Este agentul etiologic al holerei, boală specifică omului, deosebit

de contagioasă, cu simptome digestive, în cadrul cărora diareea masivă deshidratează bolnavul.

Boala a apărut inițial în India, Japonia, Indonezia și a pătruns la începutul secolului XIX în Europa și America determinând între anii 1817-1923 șase mari pandemii, după care a urmat o perioadă de liniște, considerându-se chiar că această infecție este pe cale de dispariție.

Deoarece începând cu anul 1961 s-au semnalat epidemii repetate de holeră în insulele Celebe, Filipine apoi din 1970 cazuri sporadice în câteva state din Europa, iar la Istanbul chiar o izbucnire epidemică, holera a redevenit o amenințare. Un risc potențial îl reprezintă faptul că a pătruns și în Africa Centrală, unde nu se știe dacă mai poate fi controlat.

Caractere morfologice și de cultivare. Vibrionul holeric prezintă forma unui bacil ușor încurbat ca o virgulă, de unde și denumirea de „vibrio comma”; el este foarte mobil datorită unicului său cil polar bine dezvoltat. Vibrionul holeric cultivă pe medii uzuale cu pH alcalin (pH = 8,9) sub forma unui vâl la suprafața mediului lichid și colonii translucide pe mediile solide.

Rezistența în mediul extern. Lumina solară și razele ultraviolete îl omorâă într-un interval scurt. Temperatura de 50°C îl distruge în 60 min iar cea de 100°C instantaneu; vibrionul holeric este sensibil la antisepticele uzuale.

Boala la om. Microbii pătrund în organism pe cale digestivă odată cu apa sau alimentele contaminate care ajung în intestinul subțire unde este pH alcalin și se multiplică iar prin toxina pe care o elaborează, determină fenomenele de boală. Holera se caracterizează prin scaune foarte numeroase la început fecaloide apoi apoase caracteristice „riziforme” (ușor sanguinolente și cu descuamații endoteliale aglutinate, determinând aspectul unor boabe de orez); prin scaun bolnavul pierde aproximativ 5-8 litri de lichid pe zi, sau chiar mai mult, fapt care îi determină o deshidratare considerabilă. Pentru tratament este foarte importanta reechilibrarea hidro-electrolitică.

În ultimul timp holera este determinată de o variantă stabilă a vibrionului holeric și anume Vibrio El Tor (după localitatea El Tor), care nu diferă din punct de vedere epidemiologic de holera dată de vibrionul holeric autentic, ceea ce a determinat ca în anul 1962 Organizația Mondială a Sănătății (OMS) să impună măsuri severe de profilaxie.

Diagnosticul de laborator exclusiv bacteriologic se bazează pe izolarea bacilului pe medii alcaline și identificarea sa prin teste biochimice și reacții serologice. Vibrionul holeric este mobil, bacil gram-negativ, lactozo-negativ care produce H₂S și urează.

Epidemiologie – profilaxie. Din cauza contagiunii deosebite și a epidemiilor mari pe care le determină, în special de origine hidrică, se iau măsuri riguroase de profilaxie atunci când există conjuncturi deosebite epidemiologice: carantinarea persoanelor care vin din zone endemice sau tratament preventiv cu tetraciclină 5-6 zile; vaccinarea cu vaccin holeric, inactivat prin căldură, caracterul bacteriologic riguros al tuturor persoanelor cu tulburări acute digestive, protecția și supravegherea surselor de apă potabilă, etc. Tratamentul în holeră se face cu antibiotice: tetraciclină, doxicilina, însoțită de o corectă rehidratare a bolnavului.

FAMILIA PSEUDOMONADACEAE

Genul *Pseudomonas*

Pseudomonas aeruginosa (*Pseudomonas pyocyanea* sau bacilul piocianic), face parte din familia Pseudomonadaceae, genul *Pseudomonas*. Ei nu sunt enterobacterii.

Bacteriile cuprinse în acest grup sunt bacili gram-negativi, mobili, care se cultivă pe medii uzuale, elaborând pigmenți difuzibili în medii, de diferite culori: albastru-verde, galben-verde fluorescent, roșu sau brun. Specia tip este *Pseudomonas aeruginosa*, microb descoperit de către Gessard în anul 1882 în „puroiul albastru” a unor plăgi infectate.

Habitat. Bacilul piocianic este foarte răspândit în mediul extern: ape de râu sau canal, aer, sol; se găsește deasemenea în intestinul și cavitățile naturale ale omului și animalelor precum și pe tegumente.

Caractere morfologice și de cultivare. Bacilul piocianic este un bacil gram-negativ (asemănător cu enterobacteriaceele), mobil. Cultivă pe medii uzuale, tulburând bulionul cu formare de peliculă la suprafață, cu colorarea ulterioară a mediului în raport de pigmentul elaborat (mai frecvent albastru sau verde). Pe mediul solid bacilul piocianic determină colonii translucide cu pigmentare consecutivă a mediului în verde-albăstrui în caz de *Pseudomonas aeruginosa*, cultura prezentând un miros caracteristic de „acaccia” (trimetilamină). Bacilul piocianic nu fermentează lactoza, nu produce indol, lichefiază gelatina și are proprietăți hemolitice. *Pseudomonas aeruginosa* elaborează un pigment verde-albastru (piocianina) iar specia saprofită *Pseudomonas fluorescens* un pigment verde-galben (fluoresceina) de care trebuie diferențiat în cadrul diagnosticului.

Boala la om. Bacilul piocianic, bacterie potențial patogenă, determină frecvent contaminarea plăgilor larg deschise, în special după arsuri, cu puroi albastru și miros caracteristic, aromatic (comparat cu tei sau salcam). Poate produce infecții ale pielii, a ulcerelor varicoase, a leziunilor cutanate tuberculoase și neoplazice; poate determina de asemenea: otite medii, infecții ale tractului genital, urinar, respirator, meningite, enterite dizenteriforme, septicemii.

Fiind un microb ubicuitar și puțin exigent în ceea ce privește nutriția el poate contamina cu ușurință medicamentele: colire, unguente, determinând la bolnavul la care se aplică infecții grave oculare sau cutanate.

Diagnosticul de laborator exclusiv bacteriologic, constă din izolarea și identificarea microbului din produse patologice diverse: puroi, psută, sânge, l.c.r., materii fecale, etc. În general prezența pigmentului difuzat în mediu ușurează diagnosticul dar sunt și tulpini acromogene, lipsite de pigment care necesită pentru diagnostic medii și tehnici speciale.

Diagnosticul diferențial se face cu *Pseudomonas fluorescens*, cu pigment galben fluorescent din același grup dar este o specie saprofită.

Tratamentul în infecțiile cu *Pseudomonas* constă din aplicări locale cu antiseptice (acid boric 1%) apoi neomicină, polimixină B sau carbencilină, conform antibiogramei.

IMPORTANȚA PRACTICĂ PENTRU MEDIC ȘI FARMACIST A BACTERIILOR GRAM-NEGATIVE AEROBE (enterobacterii și non-enterobacterii)

Bacteriile gram-negative, obligatoriu patogene pentru om din genurile *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, determină boli infecto-contagioase sub forma unor entități clinice bine conturate (febră tifoidă, dizenterie, holeră) care sunt diagnosticate, internate și supravegheate din punct de vedere epidemiologic.

Cu toate acestea unele forme de dizenterie ușoară nediate diagnosticate și netratate corect precum și unele toxiiinfecții alimentare tratate uneori insuficient în mediul familial, pot constitui surse de contaminare sau de purtători cronici care explică adesea starea endemică a acestor infecții.

O problemă deosebită o ridică de asemenea bacteriile potențial patogene cuprinse în acest grup: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* precum și genul *Pseudomonas* care fiind nepretențioase din punct de vedere nutritiv sunt prezente pretutindeni în mediul extern sau organismul uman (tegumente și mucoase); în mediul de spital există adesea asemenea tulpini cu patogenitate marcată „selectate” în cursul tratamentului cu antibiotice. Aceste bacterii contaminatează cel mai frecvent medicamentele iar prin intermediul lor se pot produce la bolnavul la care se administrează infecții supra adăugate, iatrogene.

Foarte importante din acest punct de vedere sunt următoarele bacterii:

- bacilul coli care prin „mâini murdare” poate contamina obiecte din spital: biberoane, alimente, medicamente de uz oral și transmite astfel infecții uneori cu caracter epidemic;
- *Klebsiella pneumoniae* poate contamina diferite medicamente folosite pentru aerosoli sau soluții dezinfectante utilizate pentru bronhodilatatoare, brohoscoape, sonda endotraheale, determinând infecții respiratorii grave: pneumonii, bronhopneumonii soldate uneori cu exitus;
- bacilul piocianic care prezintă un spectru de sensibilitate naturali mai restrâns la antibiotice, poate contamina unele preparate cu antibiotice față de care el este rezistent (unguente, colire). Deasemenea bacilul piocianic este dotat cu posibilități largi de adaptare în mediile în care trăiește, putând contamina și supraviețui în soluții de penicilină, aci boric, fluoresceină, anestezice, diferite colire, soluție de clorură de benzalconiu etc. acest fapt demonstrează posibilitățile multiple de contaminare a medicamentelor cu acest microb și pericolul pe care îl prezintă un astfel de medicament pentru bolnavul la care se administrează. În literatură sunt citate cazuri grave și uneori letale după administrare de ser, plasmă contaminate cu *Pseudomonas aeruginosa*, infecții oculare grave soldate cu pierderea globului ocular, după utilizare de colire contaminate cu specii de pseudomonas, precum și leziuni cutanate cu caracter epidemic în secțiile de dermatologie, după utilizare de unguente care conțin acest microb.

Bacteriile din acest grup, a bacililor gram-negativi aerobi, contaminatează adesea preparatele perfuzabile în timpul preparării lor și sunt sursa cea mai importantă a substanțelor pirogene, prin comportamentul lor polizaharidic și lipide din antigenul O. În concluzie, reiese obligativitatea unui control

microbiologic riguros al medicamentului și al preparării în mod aseptice a oricărui medicament, indiferent de calea lui de administrare.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generală și farmaceutică »
UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 12**18. Infecții cu bacili gram-pozitivi aerobi și anaerobi**

(Iliescu Gheorghe an II Farmacie)

Bacili Gram-pozitivi aerobi sunt așezați în lanțuri (streptobacili). Au aspect caracteristic. Există 3 specii importante medical:

- I. *Bacillus anthracis*, provoacă antrax
- II. *Bacillus cereus*, numit bacteria prafului
- III. *Bacillus subtilis*

Aceste bacterii sunt foarte rezistente și răspândite în special în sol.

I. Antraxul provoacă 3 forme de îmbolnăviri:

1. Antrax cutanat – bube de culoare neagră (carbune)
2. Din alimente (carne cu antrax) provoacă boala digestivă (cei care au lucrat cu animalele bolnave de antrax) provoacă antrax cutanat.
3. Antraxul pulmonar este cel mai grav. Cei care manevrează blana, lina din cauza că acestea fac praf care se inhalează, provoacă antrax pulmonar care e foarte greu de tratat (plămân cu leziuni și individul moare sufocat).

Antraxul cu aerul sporulează. Zona decolorată pe frotiu este sporul, în final rămâne numai sporul (gramada de spori).

Structura proteică este greu pătrunsă de antibiotic, nu se face schimb cu enterobacterul, poate sta așa zeci de ani până găsește medii de dezvoltare când crapă și se dezvoltă. Poate sta așa sporul și zeci de ani dar cum a pătruns în organ, determină forma vegetativă și duce la îmbolnăvire.

Bacteria de antrax îmbolnăvește, prin multiplicarea bacteriilor cu toxinele, le combină. Este grav pentru animale. Vaccinul este pentru forma vegetativă și pentru toxinele care le produce microbul.

E sensibil la majoritatea antibioticelor (penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina etc.) dar dacă e o tulpină folosită, selecționată poate să fie rezistentă la antibiotice uzuale; atunci se face **antibiograma**.

Caracteristic – cultivat pe mediu cu sânge nu produce hemoliză, la fel ca bacilul *B. cereus*. Coloniile au aspect rugos, « cap de meduza » spre deosebire de *B. cereus* care are aspect de ceară, unsuros.

II. Bacilul *B. cereus* sporulează în acest fel. Se găsește în natură, praf, se numește bacteria prafului. Are forma sporulată. Poate da infecții: plăgi, cu alimentele. Diferența este că pe mediu cu sânge provoacă hemoliză.

III. Bacilul *B. subtilis*

Nu produce îmbolnăviri de obicei, se găsește ca flora la animale ierbivore (fecale vacă). Pe frotiu este foarte subțire. Este folosit și ca medicament, în dismicrobism intestinal, moare flora intestinală și colonizat cu alte bacterii, pentru prevenirea acestui lucru se administrează spori de bacili *B. subtilis* (capsule). Acești spori sunt înghițiți, ajung în stomac unde capsula se dizolvă, apoi trece în intestin. Se transformă în formă vegetativă, are loc multiplicare și colonizează intestinul. Secretă enzime care ajută digestia (ca saprofitele). Se ajunge la întregirea florei intestinale, deci sunt utili ca și bacili lactici.

Infectii cu anaerobi

(PRUNAU ELENA-LUISA GR.17, SERIA 2, AN II)

Bacteriile anaerobe sunt probabil cele mai vechi fiinte celulare de pe planeta Pamant, de acum miliarde de ani, cand atmosfera gazoasa nu continea oxigen ; metabolismul lor energetic oxideaza substantele nutritive fara utilizarea oxigenului. Totusi, pentru aceste bacterii pentru care oxigenul este un toxic mortal au existat si nise ecologice, fie bin adancul solului, fie in interiorul macroorganismelor si au supravietuit. Omul, ca si celelalte mamifere, are in tubul digestiv dar si in alte cavitati virtuale, miliarde de bacterii anaerobe saprofite, rareori si patogene. Ca si bacteriile aerobe, acestea pot fi gram-pozitive, gram-negative, coci sau bacili, sporulate sau nesporulate, patogene sau nepatogene. Unele sunt foarte grave si se complica prin toxinogeneza: botulism, tetanos, gangrena gazoasa etc.

Recoltarea si cultivarea bacteriilor anaerobe se face cu grija, pentru a nu veni in contact cu aerul, deoarece oxigenul ii omoara. Se prepara medii speciale pentru cultivare, iar incubarea la 37°C este mai lunga, de cca. 3 zile.

Prepararea suspensiilor de spori se face pe medii speciale de sporulare, la care se adauga sa nu diferite ingrediente. Sporii de histolitic, sporogenes, V.septic, oedematiens. Se prepara in bulion Martin; sporii de perfringena se prepara in mediul special de sporulare Ellner modificat, iar sporii de tetanic pe suprafata placilor Nagler. Mediile lichide inainte de insamantare se regenereaza. Tulpina pentru insamantat trebuie sa fie de 24 ore. Mediile insamantate se termosteaza la 37°C timp de 3-4 zile. Se controleaza sporularea facandu-se frotiuri colorate cu verde malachit. Mediile lichide se centrifugheaza, supernatantul se arunca, sedimentul se reia in ser fiziologic si se repeta centrifugarea si spalarile de inca 2 ori. Se face inactivarea suspensiei obtinute, care trebuie sa fie cat mai groasa; suspensia, recoltata in balon steril cu perle de sticla, se inactiveaza 30 de minute la 75°C. Se face controlul aerob al suspensiei. Se face numararea coloniilor, in dilutii diferite, in tuburi Weinberg sau in placi Nagler.

Regenerarea mediilor La autoclav deschis: pentru aceasta operatie capacul autoclavului nu se inchide cu suruburile de siguranta; se da drumul autoclavului sa functioneaza in mod normal, iar din momentul aparitiei vaporilor in cantitate mare, se socotesc 30 de minute. Se inchise sistemul de functionare al autoclavului, se asteapta pana nu mai ies aburi, se ridica capacul si se scot mediile. Se racesc apoi mediile in apa rece pana la 45°- 47°C (atat cat sa se poata tine mana pe ele) si se insamanteaza. In baie de apa: tuburile cu medii se pun intr-un vas cu apa pe foc si din momentul cand apa a inceput sa fiarba se lasa 30 de minute; apoi ca mai sus.

Tehnica de cultivare folosind amestecul reductor. O doza de amestec reductor se pune intr-un plic de hartie de filtru. Plicul se fixeaza cu 2 benzi de leucoplast pe capacul cutiei Petri in care se vor cultiva germeni anaerobi pe un mediu nutritiv adecvat; fixarea se face pe partea exterioara a capacului. Se fixeaza capacul de cutie prin parafinare cu ajutorul unei pensule inmuata in parafina lichida.

Prepararea amestecului reductor pentru anaerobioza O doza cu amestec reductor asigura anaerobioza intr-o placa Petri cu diametrul de 12cm. Amestecul contine: Pirogalol.0,4 g, Carbonat de potasiu.0,4 g, Talc.4 g. Pirogalolul mojarat se amesteca prin agitare intr-un cilindru inchis cu carbonatul de potasiu si talcul. Amestecul astfel obtinut se distribuie si se pastreaza in cutii de plastic inchise ermetic prin parafinarea capacului(1,2 sau 3 doze)

Cultivarea in tuburi Weinberg O cantitate mica de cultura de 24 ore(aprox. 0.05 ml) se introduce cu o pipeta Pasteur intr-un tub Weinberg in care mediul(geloza 0,3 -1%) a fost lichefiat,regenerat si racit la 45°C.Tubul se agita in asa fel incat sa nu patrunda ser apoi cu alta pipeta se scoate aproximativ 0,05 ml(o picatura) care se introduce in alt tub,urmand mai departe acelas procedeu pe un numar de 6-10 tuburi. Tuburile insamantate se racesc brusc in apa rece pentru solidificarea mediului si se incubeaza la 37°C. Dupa 24-48 ore se vor observa colonii bine izolate in ultimele tuburi putandu-se evidentia clar aspectul lor morfologic.

Prepararea toxinelor native pentru imunizarea cailor (perfringens, septic, histolitic, oedematiens) Toxina perfringens se prepara pe mediul Pope special la care se adauga inainte de regenerare dextrina 3% , amidon 1,5 , glucoza 0,5% , matoza 0,5%. Tulpina pentru insamantare trebuie sa fie de 18 ore. Toxina perfringens se incubeaza 40 ore la 32°C, apoi se tine la frigider la +4°C pana a doua zi. Toxina vibrion septic se incubeaza 24 de ore la 37°C. Toxina histolitic se incubeaza 18 ore la 37°C. Toxina oedematiens se incubeaza 5 zile la 37°C. Toate toxinele se centrifugheaza sau se filtreaza dupa necesitate. Anatoxina oedematiens : se formoleaza toxina 4%,se tine 4-5 zile la rece (+4°C), se controleaza detoxifierea pe soareci si se filtreaza.Dupa centrifugarea sau filtrarea toxinelor se face controlul aerob pe geloza inclinata. Pentru toxina perfringens se determina puterea de combinare in vitro. Pentru toxina vibrion septic,histolitic si anatoxina oedematiens se determina doza minima mortala (DMM) pe soarece.

Prepararea toxinelor uscate din cele native Toxinele uscate se folosesc la titrarile de seruri. Ele se prepara astfel: se cultiva tulpinile in mediul lichid corespunzator timp de 16-18 ore la 37°C. Se centrifugheaza cultura obtinuta timp de 40 minute. Se filtreaza cultura prin filtrul Seitz. Toxina nativa astfel obtinuta se precipita cu sulfat de amoniu 625g%. Precipitatul format la suprafata lichidului constituie toxina precipitata care se strange intr-o cutie Petri si se usuca in aparatul de via timp de 46 ore pe clorurile de calciu. Dupa acest timp toxina uscata se mozareaza si se pastreaza in flacoane inchise la frigider.

Antigenul lanolinat se foloseste la imunizarea de baza antigangrenoasa a cailor primele 2 injectii la interval de 3 sapatamani (pana la o luna). Se pregateste din lanolina sterila, ulei vegetal steril si toxinele retive filtrate:perfringens, V.septic, histolitic si anatoxina oedematiens nativa in cantitati mici. Antigenul poate fi monovalent, adica cu o singura toxina sau bi- ,tri- sau polivalent dupa cum se cere protocolul de imunizare. Se calculeaza cantitatile de lanolina si ulei (care se pun in parti egale) si toxina in asa fel ca sa nu se depaseasca cantitatea toala de 25ml/cal. Dupa ce s-a topit lanolina sterila pe baia de apa se masoara cantitatea necesara pentru lotul respectiv de cai, cu un cilindru gradat si se toarna intr-un

mojar steril unde se freaca cu pistilul cu jumătate din cantitatea totală de ulei vegetal steril până se albește adăugându-se picătură cu picătură toxina respectivă. La urmă se aduaga și restul de ulei vegetal steril. Se mojară bine, se decantează cu o spatulă sterilă într-un balon Pyrex cu perle sterile. Înainte de injectare se agită bine antigenul încălzindu-l pe baie de apă ușor (fără a fi topit) la 37°C pentru a fi mai fluid și a se putea injecta.

Tehnica reacției de floclare (metoda Ramon) Reacția de floclare este o reacție antigen-anticorp care se folosește la titrarea „in vitro” a toxinelor-anatoxinelor difterice și tetanice și a serurilor antidifterice și antitetanice.

Titrarea toxinelor-anatoxinelor Pentru această titrare este necesar un ser subetanlon național cu titrul cunoscut (stabilit față de serul standard internațional Copenhaga) care se diluează în ser fiziologic sau ser tamponat astfel încât să conțină 100 UA/ml (ex. dacă serul are 800 UA/ml se diluează 1/8). Într-o serie de 10 tuburi de floclare 10/10 se pun cantități crescând din acest ser diluat la 100 UA/ml de la 0,1-1ml. Se completează cu ser fiziologic în proporții descrescând; se adăuga în fiecare tub câte 1ml sau 2 de toxina-anatoxina. Se agită fiecare tub, se egalizează nivelul amestecurilor prin aspirație cu o pipetă cu bula. Se așază în baie de apă la 52°C. Se urmărește din 10 în 10 minute. Se observă o opalescență și apoi floclare. Se notează tubul în care a apărut prima floclare și se calculează numărul de unități care le conține acel tub. (ex. dacă floclarea a apărut în tubul cu 0,8 ml ser (80 UA/ml) toxina-anatoxina conține 80 Lf/ml, dacă s-a lucrat cu 1ml)

Titrarea serurilor Este necesară o toxina-anatoxina cu titru cunoscut (valoare în Lf) stabilit față de serul standard internațional Copenhaga.

Determinarea valorii toxice a toxinei tetanice

(PROTOPODESCU CORINA GR.17, SERIA 2, AN II)

Metoda directă. Filtratul brut de cultură de *Clostridium tetani* este diluat cu ser fiziologic, într-un sir de eprubete, pornindu-se de la diluție 1/10 și până la 1/1.000.000 sau mai mult. Pentru titrare se vor folosi pipete gradate și seringi de 1 ml. de mare precizie. Diluarea toxinei în ser fiziologic va fi făcută fără agitare puternică și fără barbeatare de aer, pentru a se evita degradarea toxinei. Din fiecare diluție de toxina se injectează pe cale subcutanată, în coapsă, câte 1 ml. la soareci albi de 14-16 g. Animalele inoculate sunt urmărite timp de 4 zile. Titlu valorii toxice, exprimat ca DML soarece/ml este reprezentat de diluție cea mai mare care provoacă moartea animalului din a patra zi, cu semne de intoxicație tetanică. Pentru determinări mai precise, testarea poate fi repetată, pe aceleași probe de toxina proaspătă, menținută în frigider, la diluțiile cuprinse între 1/26 și 1/32. Testarea Lt2 trebuie însoțită de martorul Lt-ului toxinei tetanice stabilizate (determinat anterior față de 1UA/ml), utilizând în reacții diluția ½ (1 UA), din serul standard cu care s-a lucrat și care conține 2UA/ml.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generală și farmaceutică » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

CURS 13**19. Infectii cu spirochete**

(Babancu Caraivan Alina, Facultatea: Farmacie An: II Grupa: II 09.04.2009)

Genul Treponema

Treponema pallidum pusa in evidenta pentru prima oara de catre Schaudin si Hoffmann in 1905 din leziunile primare ale unor bolnavi de sifilis, face parte din familia Treponemataceae, genul Treponema.

Treponema pallidum sau *Spirochaeta pallida* este agentul etiologic al sifilisului sau luesului, boala infecto-contagioasa, specifica omului.

Habitat. *Tr.pallidum* se gaseste numai la omul bolnav in secretiile leziunilor cutanee sau mucoase, in l.c.r., sange si organe.

Caractere morfologice si de cultivare. *Tr.pallidum* are forma unui filament delicat de 4-12 μm lungime, cu 6-18 spire stranse, regulate, cu capetele efilate.

La examenul microscopic pe fond intunecat se observa mobilitatea marcata a treponemei, care prezinta miscari de flexie, rasucire si translatie.

La microscopul electronic s-a putut studia structura interna a acestei treponeme cu toate elementele ei esentiale: perete, citoplasma si nucleu reincarcandu-se peretele elastic diferit de toate celelalte bacterii care prezinta un perete rigid. De asemenea s-au pus in evidenta 3-4 fibrile contractibile, insertate la cele doua extremitati ale microorganismului (pe care este infasurata citoplasma, totul fiind inconjurat de perete) si care explica mobilitatea treponemelor in absenta cililor.

Deoarece *Tr.pallidum* se coloreaza greu cu colorantii obisnuiti si coloratie Giemsa, necesitand un timp mai indelugat pentru colorare, dupa care apare totusi slab colorata, aceasta treponema a fost denumita *pallidum*. Pentru a o pune in evidenta se folosesc coloratii speciale, de obicei cu impregnatie argintica.

Toate incercarile de a cultiva acest microorganism pe medii si in conditii speciale: ou embrionat, culturi de celule, au esuat. *Treponema pallidum* poate fi insa intretinuta si chiar multiplicata *in vivo*, numai prin inoculare intratesticulara sau intraoculara la iepure sau maimuta.

Rezistenta in mediul extern. Treponemele sunt deosebit de fragile in mediul extern fiind foarte sensibile la uscaciune, lumina, caldura si antiseptice.

Treponemele sant foarte sensibile la unele antibiotice: penicilina, eritromicina, tetraciclina. Trebuie subliniat faptul ca desi *Tr.pallidum* este distrusa in cateva ore la temperatura camerei, in plasma provenita de la un bolnav sifilitic si mentinuta la frigider 3 zile, timp in care infectia poate fi transmisa prin transfuzie.

Patogenitatea treponemelor se explica in special prin caracterul de virulenta, deoarece ele invadeaza rapid tesuturile. Nu s-au pus in evidenta exo sau endotoxine. Patogenitatea treponemelor este diferita in raport de specie; exista specii patogene: *Tr.pallidum* care determina sifilisul si *Tr.pertenue* si *Tr.carateum* care determina la om boli asemanatoare dar benigne, in regiunile tropicale precum si specii saprofite prezentate la nivelul mucoasei genitale:

Tr.calligyrum si Tr.genitalis si in cavitatea bucala: Tr.microdentium si Tr.macrodentium.

Boala la om. Sifilisul se transmite in majoritatea cazurilor prin contact sexual; alte posibilitati de contaminare sunt mai rare si anume: prin sarut, accident chirurgical, transfuzii, autopsii, tuseu vaginal. De asemenea contaminarea se poate face si prin obiecte recent contaminate ca: tacamuri, instrumente dentare sau ginecologice care pot transmite infectia. Mama bolnava poate contamina fatul pe cale transplacentara. Microbul patrunde in organism de la nivelul mucoaselor sau pielii prin solutii minime de continuitate. Dupa o incubatie de 20-30 zile, sifilisul evolueaza in 3 stadii:

1. Perioada primara. Leziunea se manifesta initial sub forma unei mici papule care evolueaza apoi spre ulceratie, asezata pe un fond inflamator dur si nedureros, numita sancru sifilitic sau sancru dur. Secretia din ulceratie contine numeroase spirochete si prezinta o sursa sigura de contaminare. Sancrul se insoteste de prinderea ganglionilor regionali, de asemenea nedurerosi. Daca infectia a avut loc pe cale sanguina (ex. prin transfuzii) sau sifilis congenital, sancrul de ex. in vagin, infectia sifilitica poate trece neobservata in aceasta faza.

2. Perioada secundara. Chiar in absenta tratamentului, sancrul se vindeca sau trece neobservat, dar treponemele patrund in circulatie si astfel dupa 7-8 saptamani apar semnele de generalizare a infectiei. Apar simptome generale ca: febra, cefalee, dureri articulare precum si leziuni caracteristice pe piele si mucoase: rozeole, sifilide, condiloame, placi mucoase. In acest stadiu bolnavul este contagios, deoarece treponemele se gasesc in leziunile cutanate si mucoase. Perioada secundara poate dura mai multi ani cu faze clinic manifeste si perioade de latentia. Desi se pare ca un numar mic de persoane chiar fara tratament se vindeca spontan, majoritatea cazurilor netratate evolueaza spre stadiul tertiar care poate dura ani de zile.

3. Perioada tertiar. Leziunea caracteristica pentru acest stadiu este goma cu localizari in toate tesuturile, mai ales cutanate si osoase. Goma are un caracter net distructiv si prezinta un numar redus de treponeme. O forma particulara de sifilis tardiv este neurosifilisul sub forma de PGP (paralizie generala progresiva) si tabesul dorsal.

Trecerea transplacentara a treponemelor de la mama luetica la fat poate determina moartea fatului in uter sau la nastere, iar daca nou-nascutul supravietuieste el prezinta manifestari de leziuni organice foarte diferite care se manifesta dupa luni sau ani (coriza heredo-sifiliticului este foarte contagioasa); ei pot prezenta uneori „nas in sa” etc.

Imunitatea. Se pare ca omul nu prezinta o rezistenta naturala fata de infectie iar evolutia ei in stadii reprezinta raspunsul imun al organismului. In perioada de sifilis recent (primar si secundar) predomina imunitatea umorala iar in sifilisul tardiv apar reactii de imunitate celulara, goma fiind considerata o manifestare de sensibilizare de tip intarziat.

Diagnosticul de laborator consta din diagnostic bacteriologic si serologic. Diagnostic bacteriologic. Deoarece treponemele patogene nu sunt cultivabile, diagnosticul bacteriologic in sifilis este constituit exclusiv din examenul direct, efectuat intre lama si lamela la microscopul cu fond negru din secretiile

recoltate de la nivelul sancrului sifilitic, condiloame sau placi mucoase; in acest mod se pune in evidenta atat morfologia caracteristica a treponemei, filament cu 12-14 spire regulate si capetele drepte, efilate, cat si mobilitatea ei deosebita. Se pot efectua si preparate colorate prin metode speciale: cu tus de China (metoda Burri), cu albastru Victoria, Giemsa sau cu impregnatie argintica pe sectiuni de organe (coloratia Levaditi).

Diagnostic serologic. Dupa 7-10 zile de la aparitia leziunilor primare incep sa apara anticorpii care sunt de trei feluri si au curbe diferite.

1. Anticorpii Wassermann, reagine sau anticorpi antilipoidici care au fost interpretati ca anticorpi antitesut lipidic modificat sub actiunea microorganismului, autoanticorpi sau anticorpi specifici fata de o fractiune lipidica a *Tr.pallidum*. In prezent s-a preparat un antigen purificat numit cardiolipina. Cu acest antigen se pun in evidenta anticorpii antilipoidici prin reactiile RFC-Bordet-Wassermann si V.D.R.L.

2. A doua categorie de anticorpi care apar in serul bolnavului sunt strict specifici fata de *Tr.pallidum*; ei se pun in evidenta utilizand un antigen preparat din insasi treponema sifilisului. Tesutul de imobilizare al treponemelor (TIT), imaginat de catre Nelson si Meyer si utilizat in acest scop, se face *in vitro*, punand in contact aer de bolnav cu o cultura de *Tr.pallidum* (tulpina Nichol patogena) obtinuta prin inocularea intratesticulara la iepure. Reactia se efectueaza pe lama iar examinarea se face la microscopul cu fond negru; in caz pozitiv, deci atunci cand exista anticorpi specifici in serul bolnavului, se produce imobilizarea treponemelor. Reactia se poate face si cantitativ, utilizand dilutii de ser de bolnav si antigen treponemic.

3. A treia categorie de anticorpi, din cadrul infectiei sifilitice sunt cei antiproteici de grup. Pentru a-i pune in evidenta, serul de bolnav se pune in contact cu diferite antigene treponemice (Pallida, Palignost) preparate din *Tr.reiter*, saprofită si cultivabila, care prezinta o componenta proteica comuna cu *Tr.pallidum*.

In general reactiile utilizate pentru diagnostic sunt reactiile de floclare: VDRL, Citochol si reactii de fixare a complementului care se efectueaza cu antigen cardiolipina, dupa tehnica Kolmer sau cu antigen Reiter. Reactiile devin pozitive dupa 7-10 zile de la aparitia sancrului. Mai intai se pozitiveaza RFC cu antigen Reiter si apoi antigenele lipidice. In stadiul secundar toate reactiile sunt intens pozitive. In luesul tertiar, reactiile cardiolipidice sunt pozitive numai in 6-70% de cazuri, in timp ce imobilizinele sunt intotdeauna prezente si persista nedefinit. De aceea testul de imobilizare Nelson Meyer este indicat in sifilisul latent, in cazurile de reinfectii, in care acesti anticorpi apar primii, precum si in toate cazurile problema. In sifilisul tardiv si latent se poate depista starea de sensibilizare alergica prin luo-test cu luetina (sensibilizare de tip intarziat). Testul este negativ in sifilisul primar si secundar. Interpretarea actuala a diagnosticului serologic in sifilis nu difera cu nimic de celelalte boli infecto-contagioase cu raspuns umoral, deoarece atat diagnosticul cat si evolutia sau eficienta tratamentului in timp se face si in sifilis pe baza unor reactii serologice cantitative, efectuate in mod repetat.

Reactiile cantitative permit urmarirea aparitiei anticorpilor si a dinamicii

lor, diferentiind net titlurile semnificative de diagnostic de acelea a anticorpilor reziduali. De asemenea, reactia cantitativa poate surprinde o reinfectie, cand pe fondul scazut al anticorpilor apare brusc o crestere a titrului sau dimpotriva sa confirme vindecarea cand titrul scazut al anticorpilor se mentine nemodificat pe o perioada indelungata, la acelasi bolnav.

Tratament. Penicilina este cea mai indicata in sifilis fiind deosebit de activa; ea tranverseaza bariera hemato-meningee si placenta, astfel ca poate fi administrata in sifilisul nervos ca si la gravide. Tratamentul trebuie aplicat precoce si in doze mari atat in formele manifestate clinic cat si in sifilisul latent; cantitatea de penicilina va fi conditionata de perioada in care se incepe tratamentul. In general este necesara o cantitate totala de 30-50 milioane unitati penicilina pentru a asigura vindecarea. In caz de sensibilizare a persoanei la penicilina aceasta va fi inlocuita cu alte antibiotice active asupra *Tr.pallidum* (eritromicine, cefalosporine, tetraciline).

Epidemiologie. La inceput sifilisul determina infectii de o gravitate considerabila, reflectand o virulenta deosebita a micro-organismului. Treptat, datorita modificarilor de clima si temperatura pe de o parte, a cresterii rezistentei organismului pe de alta parte, care a conditionat selectarea unor tulpini mai putin patogene, boala a capatat un caracter mai benign. Totusi, sifilisul ramane o problema sociala deosebit de importanta prin numarul mare de cazuri si complicatiile pe care le determina. Progresele realizate la inceputul secolului XX prin aplicarea antibioticelor au dus la o diminuare a numarului de cazuri de sifilis, cifrele cele mai scazute inregistrandu-se in anul 1958. S-a crezut ca se va putea ajunge la eradicarea acestei boli; dar unele greseli de diagnostic, tratamente insuficiente si „revolutia sexuala” au dus din nou la cresterea exploziva a cazurilor care a culminat in 1962; si in prezent cazurile sunt destul de numeroase. In felul acesta combaterea sifilisului devine o problema sociala si obligatie deosebita pentru medic si pentru societate.

Profilaxia. In sifilis consta numai in masuri de profilaxie nesepecifica: -depistarea precoce a infectiei si tratarea corecta a bolnavilor pentru a suprima sursele de contaminare:

- supravegherea medicala a contactilor sexuali timp de trei luni prin examene clinice si serologice repetate;
- tratament preventiv la contacti siguri, cu doze mari de penicilina;
- igiena individuala cu utilizare de apa, sapun, antiseptice, dupa raport sexual;
- controale periodice la anumite categorii de salariati si la angajare;
- certificat prenuptial, pentru a preveni sifilisul congenital;
- evitarea contactelor sexuale intamplatoare cu persoane necunoscute.

Familia Treponamataceae, in afara de spirochetele care determina sifilisul si sunt incadrate in genul *Treponema*, cuprinde si alte microorganisme cu morfologie asemanatoare si anume leptospirele, incadrate in genul *Leptospira* si boreliile, incadrate in genul *Borrelia*.

Genul Borrelia

Genul *Borrelia* cuprinde spirochete care difera ca morfologie si patogenitate de celelalte genuri din aceeași familie. Aceste microorganisme sunt ceva mai lungi si mai groase ca celelalte spirochete, avand capetele efilate, cu 5-

10 spire foarte regulate, care devin desfacute și neregulate, după culoare. Unele specii patogene determina:

1. Febrele recurente, transmise de paduche sau capuse, practic eradicate în prezent în Europa, datorită utilizării insecticidelor active în campania dusă după cel de-al doilea război mondial, împotriva tifosului exantematic;

2. Procese ulcero-necrotice în cavitatea bucală sau la nivelul amigdalelor: angina ulcero-necrotică Plaut-Vincent; același tip de leziuni pot fi localizate și pe mucoasa genitală. Aceste manifestări sunt determinate de *Borrelia Vincenti* în asociație cu un bacil gram-negativ anaerob, nesporulat, *Fusobacterium fusiforme* (asociație fuzo-spirochetica).

Tratamentul acestor infecții se face cu penicilina și antibiotice cu spectru larg.

Profilaxia se face prin menținerea igienei cavității bucale și genitale și la nevoie utilizarea de antiseptice

Genul *Rickettsia*

Rickettsiile fac parte din genul *Rickettsia*, familia Rickettsiaceae. Aceste microorganisme considerate până nu de mult ca o grupă de trecere între bacterii și virusurile mari în prezent sunt încadrate alături de bacterii. Această modificare este justificată deoarece rickettsiile posedă o morfologie și structură citologică asemănătoare cu a bacteriilor, deoarece prezintă doi acizi nucleici ADN și ARN, se înmulțesc prin sciziparitate și, la fel ca bacteriile sunt sensibile la acțiunea antibioticelor. Rickettsiile posedă un echipament enzimatic redus ceea ce explică multiplicarea lor obligatoriu intracelulară, în organismul-gazdă. Denumirea acestor microorganisme a fost dată în amintirea cercetătorului Ricketts, care a murit în urma unei infecții de laborator, în timpul cercetărilor referitoare la febrele exantematice. Rezervorul rickettsiilor în natură este constituit de artropode hematofage (paduchi, purici, capuse). Dintre toate rickettsiile identificate numai 11 specii sunt patogene pentru om și animale, restul de 40 fiind prezentate numai la artropode.

Boala, transmisă de obicei printr-un vector se numește rickettsioză și se manifestă la om prin boli febrile, cu stare tifică și exantem și anume: tifosul exantematic, tifosul murin (de sobolan), febra Q (tifosul pulmonar) etc. Manifestarea clinică este severă, adesea cu mortalitate ridicată și se datorește fixării și multiplicării agentului infecțios pe endoteliile vasculare, însoțită de obicei cu o stare de generalizare a rickettsiilor în sânge, persistentă.

Caractere morfologice și caractere de cultivare. Rickettsiile prezintă un poliformism accentuat putând avea forma de coci sau cocobacili izolați, așezați în perechi sau scurte lanțuri precum și aspect de filamente subțiri și flexoase, variabile ca lungime după specie și mod de cultivare. Dimensiunile variază între 0,2-0,5 μm la formele cocoide până la 1,5-2 μm la cele bacilare; se colorează cu coloranți speciale: Machiavello, Castaneda, Gracean; sunt imobile și nesporulate. Rickettsiile se aseamănă ca structură internă cu bacteriile prezentând un perete, membrana citoplasmatică, ADN nuclear și o microcapsulă. Rickettsiile pot fi cultivate pe culturi de celule și prin inoculare în sacul vitelin al oului embrionat, incubat la 35-37°C. Animalele de laborator sensibile sunt cobaiul și soarelele la care inocularea intraperitoneală determina

febra cu multiplicarea rickettsiilor în sânge și organe.

Rezistentă în mediul extern. În excretele uscate de purice sau păduche, rickettsiile persistă câteva luni. În general însă rickettsiile sunt repede distruse de căldură, uscăciune, antiseptice și antibiotice mai ales acelea care pătrund prin membrana celulelor gazda: tetracicline și cloramfenicol.

Tifosul exantematic este determinat de *Rickettsia prowazekii* fiind transmis de păduche. Păduchele sugă sânge de la persoanele bolnave iar rickettsiile se multiplică în celulele endoteliului sau intestinal de unde se elimină odată cu dejectele. Practic păduchele rămâne infectat până la moartea determinată de rickettsii dar nu transmite agentul infecțios prin ouă la adolescenți. Dacă un păduche astfel infectat, ajunge pe o nouă gazdă umană, el contaminează omul prin dejectiile sale, rickettsiile pătrunzând în organism prin grataj sau întepătura păduchelui. Contaminarea prin intermediul păduchelui este unicul mecanism de producere al infecției neexistând contaminări interumane sau directe, fără intervenția păduchelui.

Boala. Incubația este de 8-14 zile. Debutul se manifestă brusc cu frison, cefalee intensă, congestie conjunctivală; după 7 zile apare erupția de culoare roșie-violacee sub formă de pete izolate pe tot corpul în afara de față și gât și stare generală foarte alterată. Defervescenta survine în a 14-a zi. Convalescența este lungă, urmată de o astenie persistentă.

Diagnosticul de tifos exantematic se pune clinic și este confirmat prin diagnostic de laborator care constă din izolarea rickettsiilor prin inocularea pe ou embrionat sau inoculare intraperitoneală la cobai.

Diagnosticul serologic constă din punerea în evidență începând din ziua 7 a bolii, a anticorpilor fixatori de complement din serul bolnavilor, precum și a anticorpilor aglutinanti anti-proteus OX 19, prin reacția Weil-Felix.

Tratamentul în tifosul exantematic se face cu antibiotice cu spectru larg: cloramfenicol și tetracicline.

Profilaxia constă mai ales în metode nespecifice de deparazitare obligatorie atât a persoanelor bolnave cât și a celor sănătoase din focarul epidemic. Profilaxia specifică constă în administrarea de vaccinuri inactivate, în special la personalul sanitar, care activează în focarul epidemic.

Genul Leptospira

Leptospirele sunt microorganisme spiralate de 30 μm lungime, subtiri, cu numeroase spire stranse și regulate iar capetele sunt îndoite sub formă de carlig; sunt foarte mobile și se cultivă pe medii lichide tamponate cu adaos de ser de iepure, la 26°C. Leptospirele sunt foarte sensibile la agenții fizici externi precum și la antiseptice, antibiotice: peniciline, streptomice, tetracicline. Există numeroase specii saprofite de leptospire denumite *Leptospira biflexa*, patoc, precum și specii patogene (fiind descrise peste 130 serotipuri) încadrate în 18 grupe serologice, care pot determina infecții la om și animal (zoonoze). Leptospirele sunt prezente în natură special în mediul acvatic: ape stătătoare, bălți, iazuri.

Rezervorul natural al infecției este reprezentat de rozătoarele salbatice: sobolani și soareci care au infecții inaparente iar leptospirele localizate în special la nivelul rinichiului sunt eliminate într-un timp îndelungat în mediul

extern, prin urina (2-3 ani) în acest fel contaminează apa, solul, furajele, alimentele și prin intermediul lor se pot contamina omul și unele specii de animale în special porcinele, bovinele, caprinele.

Omul se contaminează atât pe cale digestivă, cu apă și alimentele contaminate și prin contactul cu animalele bolnave sau prin scaldat în stranduri, piscine, iazuri, lacuri, râuri în care sunt prezente leptospirele care pot pătrunde în organism, chiar și prin mucoasele și tegumentele intacte.

Deoarece leptospiroza este o zoonoză, generată de prezenta rozatoarelor bolnave sau purtătoare este mai des întâlnită la muncitorii din orezării, pescari, îngrijitori de porci, cei care curăță canalele, luând adesea aspect de boală profesională. Cea mai gravă manifestare a infecției este leptospiroza ictero-hemoragică (boala lui Weil) dar există și alte leptospiroze: febră de câmp, febră de 7 zile, febră tinerilor porcari, febră de toamnă ș.a. Toate aceste forme de boală pot evolua de la formele cele mai ușoare până la forme grave uneori mortale, cu evoluție septicemică și localizări secundare ale leptospirelor în organe: hepatice, renale, meningeale.

Diagnosticul de laborator se face prin examen bacteriologic direct, din sânge, urină, L.C.R. prin examinarea produselor la microscopul cu fond negru în preparat umed și însămânțări pe medii speciale, menținute la 26°C; în caz pozitiv cultura apare după câteva săptămâni, dar sunt necesare examene zilnice din sedimentul lichid care rămâne clar sau foarte ușor opalescent. În cazul leptospirozei ictero-hemoragice se pot face și inoculări la cobai, care după 2-3 săptămâni prezintă icter, febră și hemoragii. Diagnosticul serologic efectuat la bolnav în ziua a 7-10-a de la debut, se face prin reacția de leptospiroza: aglutinarea, urmată de analiză tipului de leptospiroza care corespunde anticorpilor existenți în serul bolnavului, reacție care se face pe lamă și se citește imediat la microscopul cu fond negru. Se poate face și RFC cu tulpina Patoc (nepatogena)

Tratamentul se face cu penicilina, eritromicina, tetracicline.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generală și farmaceutică » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

Modul D. Virusologie

CURS 14

20. Caracterile generale ale virusurilor

21. Infecția cu virusuri gripale, hepatitice și HIV

Caracterile generale ale virusurilor

MICROORGANISME ACELULARE -VIRUSURI-

(BARBU ELENA-IRINA GRUPA 2 SERIA I AN II, FARMACIE 09.04.2009)

A. Caracterile generale ale virusurilor

Virusurile reprezintă o categorie specială de agenți infecțioși cu dimensiuni submicroscopice și care, spre deosebire de bacterii, conțin în compoziția lor numai un singur tip de acid nucleic ARN sau AND, de unde denumirea de ribovirusuri și deoxiribovirusuri.

Virusurile se diferențiază de bacterii și prin dimensiunile lor mici, fiind denumite și “filtrabile”, deoarece trec prin filtrele bacteriologice obișnuite; sunt rezistente la antibiotice, glicerina și alți factori fizici sau chimici care distrug bacteriile.

Spre deosebire de bacterii, ele cresc numai în celule vii, deoarece, fiind lipsite de echipament enzimatic, sunt complet dependente din punct de vedere metabolic de celulele pe care le parazitează.

Virusul matur, denumit și “corpusul elementar”, virion sau “unitate infecțioasă”, este constituit din :

- genomul viral, reprezentat de ARN sau AND și care detine informația genetică; el este numit și nucleoid;
- capsida de natură proteică mono sau bistratificate care înconjoară genomul.

Din cauza aranjării simetrice a unităților structurale ale capsidei, denumite capsomere, rezultă o configurație exterioară particulară fiecărui grup de virusuri; de exemplu: virusurile din grupul variola-vaccina au forma unui paralelipiped, virusul poliomielitice forma sferică, bacteriofagul aspect de cireșă, iar virusurile plantelor se prezintă sub forma unor cilindri alungiti, de exemplu, mozaicul tutunului.

La unele virusuri mai evaluate nucleocapsida este înconjurată de o membrană numită peplos, de obicei, de natură proteică, dar care conține și lipide.

Dimensiunile virusurilor sunt foarte mici, fiind cuprinse între 10 și 300 nm. Virusurile pot fi puse în evidență prin tehnici speciale cu ajutorul microscopului electronic.

Structura antigenică. Antigenitatea virusurilor este legată de fracțiunea lor nucleocapsidică, care determină formarea anticorpilor specifici în organism și cunoașterea acestor structuri este necesară pentru prepararea de vaccinuri.

Rezistența virusurilor în mediul extern. Virusurile sunt foarte sensibile la dezinfectanți ca formolul, fenolul, substanțe oxidante, detergenți.

Chimioterapicele și antibioticele nu au nicio acțiune asupra virusurilor; cu toate acestea, virusurile mari, bedsonii, sunt sensibile la tetraciclină și cloramfenicol.

Temperatura de 56-60°C omorâna majoritatea virusurilor în 30 min; virusul hepatitei este mai rezistent, fiind distrus în câteva minute la 100°C (caldura umeda).

Absența completă a enzimelor obligă virusurile la un parazitism strict. De aceea, în laborator, cultivarea virusurilor se obține prin inocularea produsului la animale sensibile, pe ou embrionar sau pe cultura de celule în vitro.

Virusurile pot fi patogene pe gazde foarte variate: om, plante, insecte, bacterii (bacteriofagii).

Infecția virală necesită neapărat patrunderea virusului în celula gazdă. Primul studiu al acestui proces este reprezentat de fixarea virusului pe membrane celulare. Unele virusuri prezintă aceste enzime speciale la nivelul capsidei; aceste enzime insuficiente pentru a realiza un metabolism propriu, au însă proprietatea de a permializa membrana. După fixarea virusului pe receptorii specifici ai celulei, enzimele ajută patrunderea virusului în interior. Se pare că această patrundere este asemănătoare cu procesul de pinocitoză, adică a înglobării de către celulă a unor soluții lichide.

Virusul patrunde în celulă și este înconjurat de o vacuolă, iar multiplicarea sa comportă 3 faze:

- 1) acidul nucleic viral transmite informația genetică celulei gazdă pentru sinteza de proteine virale.
- 2) celula gazdă își modifică întregul metabolism: în loc să-și sintetizeze proteina proprie, ea sintetizează proteinele necesare virusului;
- 3) urmează apoi, în celula gazdă, sinteza virusului.

Celula gazdă își păstrează, la început, aspectul normal, apoi degenerază și devine un rezervor de virus; acesta este eliberat în afara celulei și parazitează celule normale în care se multiplică din nou.

Modificările citologice care survin ca urmare a aglomerării intracelulare a virusului în țesuturi, se numesc "incluziuni celulare", caracteristice pentru unele virusuri caz în care constituie chiar un criteriu de diagnostic; ele sunt vizibile la microscopul obișnuit. Aceste formațiuni sunt: incluziunile nucleare în herpes, varicela, zona zoster și incluziunile citoplasmice la nivelul celulelor nervoase în rabie (corpusulii Babes-Negri) sau în variola (corpusulii Guarnieri).

Unele virusuri se dezvoltă pe toate țesuturile organismului și se numesc pantrope: variola, vaccina, rujeola. Altele se dezvoltă cu predilecție pe anumite țesuturi de exemplu:

- virusuri pneumotrope, gripa, adenovirusuri;
- virusuri neurotrope, rabia, encefalita;
- virusuri dermatotrope, herpes, zona zoster;
- virusuri enterotrope, poliomielite, coxsackie, ECHO etc.

Imunitatea. Ca și în infecțiile bacteriene, imunitatea antivirală este reprezentată de factori umorali și celulari.

Anticorpii sunt activi numai față de virusul extracelular, caz în care împiedică atașarea lui pe celulă, dar nu acționează asupra virusului pătruns în celulă receptoare; ei au acțiune strict specifică.

Fagocitoza nu intervine în procesul de apărare antivirală propriu-zisă; participă în faza de vindecare prin îndepărtarea resturilor celulare, evitând astfel infecția bacteriană supraadăugată.

Un factor important de aparare antivirala este interferonul; el este un produs de metabolism celular al celulei care a venit in contact in special cu un virus viu si are rol de aparare pentru indivizi din aceeasi specie. Aceasta substanta nu este nici virus, nici anticorp, ci o proteina care difuzeaza in tesuturile vecine si limiteaza astfel infectia.

Rezistenta antivirala poate fi explicata si prin fenomenul de interferenta si anume: un virus ajuns in celula blocheaza sistemul metabolic de biosinteza al celulei gazda, astfel incat celula rezista la a doua agresiune virala. Acest fenomen poate avea loc fata de acelasi virus, in etape diferite, sau pentru virusuri inrudite.

Diagnosticul in viroze se bazeaza pe izolarea si identificare virusului precum si punerea in evidenta a anticorpilor specifici, in dinamica.

B. Variola, alaturi de vaccine, rujeola, rubeola si herpes, constituie grupul febrilor eruptive. Desi aceste virusuri fac parte din grupe diferite, ele au drept caracter comun leziuni cutanate caracteristice, leziuni mucoase si diseminarea virusului pe cale sanguina. Revaccinarea se efectueaza la 7 ani si in caz de epidemii, la toata populatia, indiferent de varsta si de data vaccinarii. In prezent este prima boala infecto-contagioasa grava care a fost eradicata.

C. Poliomielita este o boala infecto-contagioasa, sporadica sau epidemica, determinata de virusurile poliomielita entero si neurotrope; boala debuteaza printr-un sindrom necaracteristic (digestiv, respirator) fiind urmat de paralizii trecatoare sau permanente. Deoarece boala este mai frecventa la copii, se mai numeste si paralizie infantila. Virusul poliomielitic este un ribovirus de talie mica (25-27 nm) de forma sferica; exista 3 tipuri diferite din punct de vedere antigenic, notate I, II si III.

Virusul patrunde in organism pe cale digestiva, odata cu alimente contaminate si se multiplica in intestin, in special la nivelul tesutului limfoid din ganglionii limfatici si placile lui Peyer (intestin subtire). De aici, virusul trece in sange si se fixeaza pe muschiul striat; in absenta anticorpilor, infectia progresa si afecteaza sistemul nervos central. Concomitent, o parte din virus se elimina prin materii fecale. In general, viremia are loc inaintea aparitiei simptomelor de boala. Este in curs de eradicare.

Diagnosticul de laborator se pune pe baza izolarii si identificarii virusului si serodiagnostic, prin reactia de neutralizare si fixare a complementului. La copiii contacti de poliomielita, se administreaza imunoglobulina umana, care le confera o imunitate pasiva.

D. Rabia sau turbarea este o nevroviroza acuta care evolueaza intotdeauna mortal la animale cu sange cald. La om, turbarea survine, de obicei, dupa muscatura cainelui sau a altor animale bolnave. Boala dureaza 1-4 zile si este intotdeauna mortala.



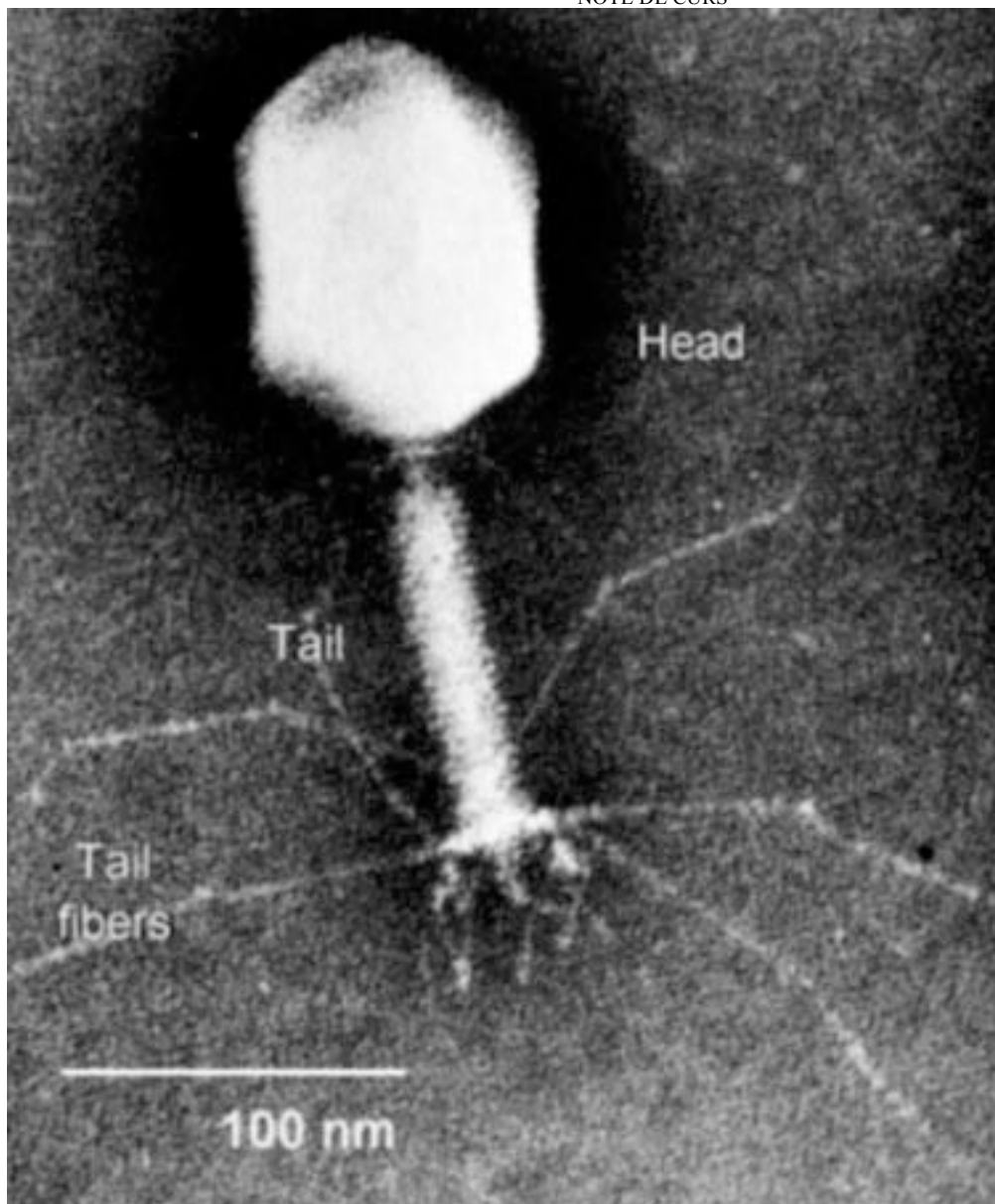
Virusul gripal A



Virusul poliomieltic



Virusul gripei aviare



Bacteriofagul

21. Infecția cu virusuri gripale, hepatitice și HIV

(BARBU ELENA-IRINA GRUPA 2 SERIA I AN II, FARMACIE 09.04.2009)

Gripa

Gripa este o viroză acută respiratorie, foarte contagioasă, cu evoluție epidemică, determinând epidemii și pandemii. Considerată la început de origine bacteriană (*H. influenzae*), gripa a fost numită "influenza" și de-abia în anul 1918 s-a stabilit originea ei virală.

Virusul gripal. Există 3 tipuri de virus gripal: A, B și C, dintre care tipul A este cel mai epidemic. În decursul epidemiilor s-au observat importante variante antigenice a virusului A (A0, A1, A2 și, în prezent, tipul England A 42/72). Virusul gripal este un ribovirus, de formă sferică cu dimensiuni cuprinse între 80-110 nm.

Boala la om. Gripa începe brusc după o incubatie de 1-3 zile cu febră, frison, dureri musculare și în globii oculari, strănut, catar, precum și fenomene

respiratorii necaracteristice. Boala dureaza 2-7 zile si numai in perioade de epidemii se poate insoti de complicatii pulmonare, in special pneumonii, prin suprainfectii bacteriene (stafilococ, streptococ, H.influenzae).

Diagnosticul de laborator. In primele 2-3 zile de boala, virusul poate fi izolat din secretia rinofaringiana prin inoculare pe ou embrionat. Diagnosticul de infectie cu virus gripal se pune insa cu certitudine pe baza serodiagnosticului : reactia de fixare a complementului sau de inhibare a hemaglutinarii, deoarece virusurile gripale au proprietatea de a aglutina hematiile de om, cobai si cocos. Adaosul de ser de bolnav care contine anticorpi, produce inhibarea aglutinarii.

Tratamentul este , de obicei, simptomatic, de prevenire a complicatiilor si cresterea rezistentei nespecifice a organismului: alimentatie, odihna, vitamine.

Imunitatea in gripa este remarcabila, dar numai fata de varianta de virus circulant fiind explicata prin prezenta anticorpilor inhibitori, specifici; infectia cu virus anterior nu confera imunitate fata de virusul modificat antigenic.

Epidemiologie. Sursa de infectie in gripa este reprezentata de omul bolnav si purtatorii sanatosi, care transmit boala prin secretiile nazofaringiene, in timpul tusei, stranutului, vorbitului.

In scop profilactic se urmareste cresterea starii de rezistenta specifica a populatie prin vaccinare, care se face inainte de aparitia valului epidemic, pentru a avea timp sa se instaleze starea de imunitate. In acest scop se folosesc vaccinuri inactivate prin formol, care se administreaza parenteral sau vaccinuri vii si atenuate (Smorodintev, 1957) administrate prin pulverizari nazale. Eficienta vaccinarii in acest caz este explicata prin imunitate celulara locala; vaccinarea scade morbiditatea la vaccinati de 3-5 ori fata de nevaccinati.

VIRUSURILE Virusul este o particula submicroscopica, care este formata dintr-o teaca, sau invelis cu rol de protectie de natura proteica, numita capsida si un material genetic. Materialul genetic poate sa fie ADN, fie ARN.

ISTORIC Existenta unor microorganisme invizibile la microscop a fost intuita de Pasteur dupa ce toate incercarile de a pune in evidenta agentul turbarii au parut a fi zadarnice. Dupa unii precursori geniali (Edward Jenner, Pasteur), progresele in domeniul virologiei au ramas neinsemnate si pana la inceputul secolului al XX-lea, s-a vorbit in continuare de acele "fiinte imaginare".

Cu ajutorul microscopului optic cu lumina ultravioleta ("ultramicroscopul"), se pot distinge obiecte pana la o finete dimensionala de 0,15 μ m, la mariri de 6.000-7.000 ori. Cu toate acestea, virusurile (inframicrobii), nu se pot observa cu aceste microscopae. Observarea lor cere o marire de ordinul 10.000-15.000 ori, ceea ce nu se poate obtine cu microscopul optic, deoarece astfel de mariri necesita puteri separatoare de 0,2 μ m. La sfarsitul secolului al XIX-lea, s-a reusit detectarea lor printr-o metoda indirecta; dupa triturarea tesuturilor care le contin, virusurile traverseaza filtrele si prin injectare transmit o anumita boala, astfel ca li s-a atribuit denumirea de virusuri filtrante. Lucrarile lui R. Degkwitz (1927) si T. Taniguchi (1935) au demonstrat ca rujeola este cauzata de un virus. La fel si rubeola. In 1935, W. M. Stanley izoleaza o "proteina" si demonstreaza ca inocularea acesteia unor plante provoaca boala numita mozaicul tutunului; de asemenea, arata ca "proteina" pastreaza aceasta proprietate si dupa cristalizare; Bowden si Pirie ii confirma descoperirile in 1937. Ulterior s-a vazut ca de fapt

era de vorba de un acid nucleic cu un invelis de natura proteica; in cazul virusurilor patogene pentru animale, aceste doua componente pot, in anumite conditii, sa se separe. In 1939, G. Kausche, E. Pfankuch si E. Ruska au inceput sa studieze virusurile la microscopul electronic. In 1943, Goodpasture este initiatorul infectarii membranei alantoidiene a oului embrionat de pui (variola aviara, vaccina, herpesul), care va fi dezvoltata de F. M. Burnet si colaboratorii sai, iar apoi de multi altii (Levaditi, Myakawa, etc). Dupa ce demonstreaza ca la baza reproducerii virusului mozaicului tutunului sta ARN-ul, Heinz Fraenkel-Conrat arata in 1955 impreuna cu Robley Williams ca un virus functional poate fi obtinut din ARN purificat si o proteina, acestea doua unindu-se spontan (proteina inveleste materialul genetic), - deci aceasta este cea mai stabila structura (cu energia cea mai mica) -, si este foarte probabil ca acesta sa fie si mecanismul de formare a virusului in celula gazda. In 1958, Stanley a stabilit ca ceea ce credea a fi "proteina" virusului mozaicului tutunului are proprietatile moleculelor chimice dar dispune si de capacitatea de a se reproduce si de a se transforma.

PROPRIETATI Din punct de vedere chimic, virusurile sunt constituite din nucleoproteide. La un inalt grad de puritate ele pot cristaliza. La virusul herpesului capsida este prevazuta cu prelungiri proteinice (capsomeri) care acopera toata suprafata virionului. Deosebiri fata de bacterii:

1. Virusurile au dimensiuni foarte mici (de la 8 nm pana la 500 nm, astfel ca pot traversa filtrele poroase ce retin bacteriile).
2. Reproducerea virusurilor este posibila numai in interiorul celulelor vii, in organisme sau in medii de cultura care contin astfel de celule. Au rezistenta mare la glicerina si la solventii lipidicilor, fata de care sunt sensibili majoritatea microbilor.
3. Virusurile sunt agenti patogeni ai unor boli denumite generic viroze. In general, virusurile dau imunitate, dar infectia poate fi determinata si de acizii nucleici extrasi din virusuri; in acest caz nu se obtine imunizare, datorita lipsei proteinei. Exemple: virusul variolei, virusul turbarii, virusul encefalitei, etc.

CLASIFICARE Dupa gazda care ii primeste, se impart in patru grupe:

- virusuri patogene pentru bacterii: bacteriofagi;
- virusuri patogene pentru vegetalele superioare: virusurile plantelor;
- virusuri patogene pentru nevertebrate: virusurile insectelor;
- virusuri patogene pentru vertebrate, cuprinzand cinci grupe:
- virusuri al caror tropism este marcat pentru ectoderm (vaccin, variola),
- virusuri neurotrope pure (turbare),
- virusuri endoteliomezodermeice (limfogramulomatoza venerica la om),
- virusuri septicemice (rujeola, rubeola),
- virusuri proliferative (sarcomul lui Roux, leucoze si leucemii transmisibile).
- Dupa proprietatile fizico-chimice:
- Dupa tipul de acid nucleic pe care il contin (clasificarea actuala uzuala)

Virusul gripal

Virusul gripal (Myxovirus influenzae) apartine familiei Orthomyxoviridae. Are o forma sferica, cu diametrul de 80-120 nm.

Virusul gripal contine un lant unic negativ ARN compus din 8 fragmente care codifica 10 proteine virale (materialul genetic al virusului). Fragmentele de ARN au un invelis proteic comun, care le uneste formand nucleoproteidul. Invelisul exterior este constituit dintr-o membrana lipidica; lipidele sunt raspunzatoare pentru complicatiile grave care afecteaza omul in timpul bolii.

La suprafata virusului se afla structurile superficiale - hemaglutinina (denumita astfel dupa capacitatea de a aglutina eritrocitele) si neuraminidaza (enzima).

Hemaglutinina asigura capacitatea virusului de a se uni cu celula receptor.

Neuraminidaza raspunde, in primul rand, de capacitatea particulei virale de a patrunde in celula gazda si, in al doilea rand, de capacitatea particulelor virale de a iesi din celula dupa multiplicare.

Nucleoproteidul (denumit si antigen-S) are structura specifica de tip; determina tipul virusului (A, B sau C).

Structurile superficiale (hemaglutinina si neuraminidaza) au specificitate de subtip si de tulpina; determina diferitele tulpini ale unui tip de virus. Exista 16 subtipuri antigenice ale hemaglutininei (H1-H16) si 9 ale neuraminidazei (N1-N9). Aceste antigene sunt supuse variatiei.

Exista 3 tipuri de virus gripal: A, B si C

Virusul gripal A produce imbolnavirea de gravitate medie sau mare. Infecteaza atat omul cat si unele animale domestice (calul, porcul, pasarile). Virusul gripal A este responsabil de aparitia pandemiilor si a epidemiilor extinse. Sunt cunoscute o multitudine de subtipuri ale gripei A. Acestea se clasifica dupa antigenii superficiali (hemaglutinina si neuraminidaza). In momentul de fata sunt cunoscute 16 tipuri de hemaglutinina si 9 tipuri de neuraminidaza.

O caracteristica importanta a virusului este specificitatea, ce consta in faptul ca virusul gripal nu poate avea 2 cauze diferite.

Ca si virusul gripal A, virusul gripal B este capabil sa isi modifice structura antigenica. Gripa de tip B este prezenta numai la om si are manifestari epidemice moderate, cu o evolutie lenta.

Virusul gripei C este destul de putin studiat. Este cunoscut ca, spre deosebire de virusurile A si B, acesta contine doar 7 fragmente de acid ribonucleic si un antigen superficial. Virusul gripal C infecteaza doar omul. Simptomele bolii sunt de obicei foarte usoare sau nu se manifesta deloc. Acesta nu produce epidemii si nu duce la urmari serioase. Este cauza unor imbolnaviri sporadice, in special la copii.

Structura antigenului nu este supusa unor astfel de transformari ca la virusul gripei A. Imbolnavirile produse de virusul gripal C coincid deseori cu epidemia gripei de tip A. Tabloul clinic este la fel ca si in cazul formelor usoare si moderat severe ale gripei A.

Sistemul international de codare a virusurilor gripei

Nomenclatura virusurilor gripale foloseste un sistem international de codare. Aceasta indica: tipul virusului, gazda de origine (pentru tulpini animale ale tipului A), originea geografica, numarul tulpinii, anul izolarii, subtipul antigenic.

De exemplu: A/Bangkok/1/79(H3N2) este un virus de tip A, izolat in Bangkok in 1979.

Variatia antigenica este particularitatea fundamentala a virusurilor gripale A si B. Aceasta are loc la nivelul antigenilor superficiali ai virusului (hemaglutinina si neuraminidaza). Cel mai probabil este un mecanism evolutiv de adaptare a virusului pentru asigurarea supravietuirii.

Exista doua mecanisme ale variatiei antigenice: minora (antigenic drift) si majora (antigenic shift).

La virusul gripal A se intalnesc ambele variatii antigenice, in timp ce la virusul B se manifesta numai variatia antigenica minora.

Variatia antigenica minora (antigenic drift) se produce in perioada interpandemica la toate tipurile de virusuri. Acestea sunt mutatii de mica importanta in genele care codifica hemaglutinina si neuraminidaza. De regula, astfel de transformari se produc in fiecare an. Ca urmare apar epidemii; apararea data de contactele anterioare cu virusul se mentine, dar este insuficienta.

Variatia antigenica majora (antigenic shift) La intervale neregulate de timp (10-40 de ani) apar virusuri cu deosebiri mari fata de populatia de baza. Aceste modificari afecteaza semnificativ structura antigenica a hemaglutininei si, mai rar, a neuraminidazei. In prezent, mecanismul de formare a noilor tulpini ale virusului gripal nu este in totalitate cunoscut. Una din teoriile existente se bazeaza pe recombinarea genelor virusului gripal la animale (pasari, porci) si om. Atunci cand o celula receptoare este infectata concomitent cu tulpini animale si umane, poate produce un virus cu hemaglutinina sau neuraminidaza complet noua.

Ca urmare a variatiei antigenice majore (shift) se formeaza tulpini absolut noi de virusuri, in fata carora marea majoritate a populatiei nu are imunitate. Aceste mutatii sunt specifice doar virusurilor de tipul A si sunt responsabile de aparitia pandemiilor.

Hepatitele virale reprezintă probabil cel mai comun tip de infectie virală din lume. Cercetările asupra etiologiei acestor boli au dat rezultate remarcabile în ultimii 25 ani. Astfel, sunt identificate si bine caracterizate o serie de virusuri hepatotrope: virusurile hepatitelor A, B, C, D, si E. În ultimii doi ani au mai fost descrise două virusuri cu tropism hepatic la om: virusurile hepatitei F si G.

Virusul hepatitei A (HAV)

Virusul hepatitei A(HAV) a fost descoperit în anul 1972. Este un picornavirus (apartine genului Enterovirus) si se prezintă sub forma unei particule sferice de 27 nm care contine ARN. Viremia este de foarte scurtă durată si, de aceea, determinarea HAV în sânge este lipsită de importantă.

Hepatita virală A este în general o boală usoară, fără modificări extrahepatice, anicterică în 90 la sută din cazuri si asimptomatică. Are o perioadă de incubatie de 15-45 de zile si survine în mod acut. Calea de transmitere este fecal-orală (parenterală doar exceptional): prin contact direct sau prin alimente si apă. După o scurtă perioadă de incubatie, virusul este excretat în fecale, fazele preicterică si icterică apărând la aproximativ două săptămâni. Încă de la debutul acestor faze apar de regulă si IgM anti-HAV si cresc transaminazele. Nivele crescute ale IgM anti-HAV sunt prezente doar în faza acută si dispar în aproximativ 10 săptămâni. Din acest moment apar IgG anti-HAV care conferă protectie. In

practică se dozează doar IgG. Din punct de vedere evolutiv este notabilă absenta portajului cronic. Mortalitatea este de 0.1-0.2% (forme fulminante). Receptivitatea la boală este generală. Profilaxia se realizează prin izolarea bolnavilor și controlul contactilor, educație sanitară, protecția apei și alimentelor, controlul igienico-sanitar. Există și profilaxia specifică, în cazuri individuale, cu gamaglobulină.

Virusul hepatitei B (HBV)

Virusul hepatitei virale B (HBV) aparține familiei Hepadnaviridae și a fost descoperit în 1971 de către Dane, de unde și numele particulei virale de 27 nm corespunzătoare. Ea este alcătuită dintr-o anvelopă lipoproteică care conține antigenul HBs și o nucleocapsidă centrală (miez) care conține ADN circular și ADN-polimerază. Capsida formează antigenul central (HBc) cărui îi este asociat (sub formă mascată) antigenul HBe. Acesta din urmă poate fi regăsit în sângele circulant sub formă liberă sau asociată. Mai trebuie menționat că antigenul HBs prezintă numeroase subtipuri (vezi Tabelul 1).

Tabelul 1. Subtipurile antigenului HBs *Subtipuri majore Subtipuri minore*

ayw1 -- q

ayw2 -- x

ayw3 -- f

ayw4 -- t

ayr -- j

adw2 -- n

adw4 -- g

adr

adwy

adyr

“a” specificitate comună

“d,y” specificitate de tip

“w,r” specificitate de subtip

Infecția cu HBV variază de la forme inaparente, nerecunoscute, la forme fatale, fulminante. Multe cazuri sunt asimptomatice și categorisite drept gripă. De aceea, mulți pacienți care nu au avut istoric de hepatită prezintă markeri serologici care sugerează o expunere în antecedente la HBV (ca și în cazul infecției cu HAV, de altfel). Incubația este de 30-120 de zile. Boala apare insidios și se însoțește în 10 la sută din cazuri de icter. Uneori, cu câteva săptămâni înainte ca boala să fie recunoscută ca hepatită acută pot apărea artralgii, rash sau urticarie. Faza acută, durează de obicei câteva săptămâni. Semnele clinice și simptomele din hepatita virală A sunt aproape identice cu cele observate în infecția acută cu HBV. Modul de transmitere este parenteral, sexual și perinatal, însă niciodată fecal-oral. HBV este mult mai contagios decât HIV, datorită în primul rând rezistenței sale la factorii din mediul extern și din organism. Portajul cronic este remarcat la 5-10% din cazurile de infecție iar mortalitatea este estimată la 0.5-2%. 5-40% din personalul medical, cu variații în funcție de categorie, prezintă markeri ai infecției cu HBV. Aspecte ale serologiei infecției cu HBV sunt redate pe scurt în tabel.

Starea de infecție cronică se caracterizează prin prezența în sânge a antigenului HBs și a anticorpilor anti-HBc și anti-HBe. De asemenea, subiecții imunizați și care nu sunt purtători cronici pot prezenta în ser acesti anticorpi.

Cea mai eficientă modalitate de prevenire este vaccinarea activă, actualmente cu antigen HBs recombinat. Se urmărește protejarea în masă față de infecția HBV, în special a copiilor și grupelor expuse la risc crescut de contaminare. Prin acest vaccin, de regulă se conferă o imunitate de circa 5 ani.

Virusul hepatitei C (HCV)

Virusul hepatitei virale C (HCV) este denumit și virusul hepatitei non A-B, like-B sau virusul posttransfuzional. Apartine familiei Flaviviridae și se prezintă sub forma unei particule cu diametrul de 50-60 nm care conține o anvelopă lipidică cu proteine transmembranare și ARN monocatenar.

Majoritatea subiecților infectați cu HCV prezintă modificări clinice minime și doar câțiva necesită spitalizare. Perioada de incubare este de 3-150 zile (cel mai frecvent fiind de 8 săptămâni). Mai mult de 60% din cazurile infectate prezintă nivele ușor crescute ale transaminazelor pe o perioadă mai mare de un an, iar biopsia hepatică arată în majoritatea cazurilor caracteristici de afectare hepatică, iar în 10 % din cazuri ciroză. O variație marcată într-o perioadă scurtă de timp a nivelului transaminazelor este o trăsătură a hepatitei C. Debutul formei acute este nespecific și la 25% din cazuri este urmat de icter. Boala nu poate fi diferentiată de hepatita B doar prin examen clinic.

Calea de transmitere este de obicei parenterală. Există însă și posibilitatea transmiterii sexuale. Portajul cronic este mare (50%), iar mortalitatea este evaluată la 1-2 % (5% din cazurile de ciroză și 43% din cele de carcinom hepatocelular au ca etiologie infecția cronică cu HCV).

Seroconversia este tardivă, prezența anticorpilor fiind caracteristică mai ales perioadei de convalescență și hepatitei cronice. Doar în 55% din cazuri anticorpii apar în prima lună. 15% din cazurile de hepatită C sunt seronegative. De asemenea, există reacții fals pozitive obținute prin utilizarea truselor ELISA anti-HCV. Cea mai sigură metodă de diagnostic este determinarea ARN viral din plasmă prin PCR (polymerase chain reaction) la subiecții pozitivi în urma unui test ELISA. În prezent sângele donatorilor este testat prin ELISA pentru HBV, HCV și HIV.

Virusul hepatitei D (HDV)

Virusul hepatitei D (HDV) a fost descoperit în 1976 și se mai numește și agentul delta. Este un virus hepatotrop defectiv, întrucât replicarea și infectivitatea sa se realizează doar în prezența HBV de care depinde sinteza anvelopei externe. Calea de transmitere este cea parenterală.

Infecția cu HDV este acută sau cronică. Există două forme de infecție acută: - coinfectia cu HBV; Ea se poate asocia cu cazuri de hepatită fulminantă. Este sugerată doar de serologie (aparitia anticorpilor anti-HDV).

- suprainfecția cu HDV a unor cazuri de hepatită B cronică; în 80-90% din cazuri se trece la cronicizarea infecției, cu persistența HDV în ficat. Clasic, se descrie situația unui purtător cronic de HBV, cu nivele normale ale transaminazelor. Apoi are loc creșterea persistentă a acestor enzime cu apariția anticorpilor anti-HDV care persistă la un titru ridicat o perioadă lungă de timp.

Infecția cronică are un prognostic prost pentru bolnav. 70-80% din aceste forme evoluează spre ciroză (15% în mai puțin de doi ani). În practică, serologia determină doar IgM anti-HDV. Evoluția favorabilă este dată de scăderea rapidă a titrului de anticorpi. De asemenea, se mai pot determina (mai greu și nu curent) antigenul HDV și ARN viral, utile în cazurile de cronicizare.

Virusul hepatitei E (HEV)

Virusul hepatitei E (HEV) a fost descoperit în 1988 și aparține familiei calicivirusurilor. Nu prezintă anvelopă externă, are dimensiuni de 32-34 nm și conține ARN. A mai fost denumit virusul hepatitei non-A-B A-like, iar anglosaxonii îl notează Hev. Infecția are o cale de transmitere oro-fecală și se întâlnește în regiuni ale lumii a treia cu condiții precare de igienă (Africa de Nord, Orientul Apropiat și Mijlociu). Are o perioadă de incubatie de 21-42 de zile, iar boala survine, de obicei, acut și nu se însoțește de icter. Serologia nu este încă aplicabilă. Din punct de vedere evolutiv, infecția nu este urmată de portaj cronic. De menționat este însă gravitatea bolii la gravide, mortalitatea cazurilor infectate ajungând la 20%. În rândul populației generale mortalitatea este de 1-2%.

Virusul hepatitei F (HFV)

Hepatita F (hepatita non-A-E) a fost raportată recent ca și apărând în cazuri izolate din Europa de Vest, S.U.A. și India. HFV a fost izolat din fecalele subiecților infectați, unde apare sub formă de particule cu dimensiuni de 27-37 nm care conțin o moleculă de ADN dublucatenar de aproximativ 20 kb. Acest virus diferă substanțial de HAV și HEV, ambele alcătuite din câte o moleculă de ARN monocatenar de 7.5 kb. Nu există teste serologice pentru diagnosticul hepatitei F, dar el poate fi pus în urmă examinării prin microscopie electronică a scaunului pacienților. Sunt suspecte de a prezenta infecția acele cazuri de hepatită a căror etiologie nu poate fi determinată în urma testării pentru celelalte virusuri.

Virusul hepatitei G (HGV)

Acest virus a fost descoperit recent și mai este denumit virusul GB (inițialele numelui unui chirurg cu hepatită acută al cărui a servit de fapt la primele experimente, în 1967, care au permis descoperirea după mult timp a HGV). HGV aparține familiei Flaviviridae și are un genom reprezentat de o moleculă de ARN monocatenar de aproximativ 9.5 kb.

Datele epidemiologice evidențiază:

- calea de transmitere este parenterală;
- frecvent se asociază cu infecția cu HCV;
- prevalența în rândul donatorilor sănătoși este superioară celei a HCV;
- marea majoritate a purtătorilor sunt asimptomatici;
- este frecvent întâlnit printre toxicomani, cei care au primit transfuzii (hemofilici, bolnavi din serviciile de hemodializă cronică);
- rar, poate determina hepatită fulminantă;

Diagnosticul infecției este deocamdată, doar molecular, prin evidențierea ARN viral în urma PCR. Se încearcă și obținerea de truse de diagnostic imunoenzimatic.

Virusul HIV

HIV sau virusul deficienței sistemului imunitar este pe departe cel mai cunoscut și mai temut virus la ora actuală, împreună cu SIDA sau sindromul deficienței sistemului imunitar.

Structura virusului. HIV este un retrovirus, înconjurat de o citoplasmă lipida derivată din membrană. Pe citoplasmă se află în structuri de câte două glicoproteina membranei (gp41) și glicoproteina citoplasmei (gp120). Membrana retrovirusului este formată dintr-o proteină numită p17 iar proteina de care este format nucleul se numește p24. În nucleu se găsesc două bucăți de ARN împreună cu o substanță de transformare inversă.

Funcționarea și reproducerea virusului HIV poate infecta doar celule care suportă molecula CD4 pe citoplasmă, una dintre aceste celule fiind CD4 T-Lymphocytes (o celulă albă din sânge). Ajutat de lipidele din citoplasmă HIV se prinde și apoi se înglobează în celulă, apoi ARN-ul din nucleu se transformă în ADN. ADN-ul astfel format intră în nucleul celulei și se atașează ADN-ului gazdă care va produce noi bucăți de ADN de HIV. Acestea vor ieși din nucleu, se vor transforma în ARN și în jurul lor se va forma nucleul virusului care apoi va parazi celula cu o parte din membrană și citoplasmă acestea și va infecta alte celule.

Descoperirea virusului și efectele bolii

O persoană infectată cu HIV pierde treptat sistemul imunitar o dată cu celulele albe infectate fac persoana infectată să devină extrem de vulnerabilă la alte boli precum pneumonia, infecții cu paraziți, ciuperci și alte boli simple și obișnuite. Pierderea sistemului imunitar permite formarea unui sindrom clinic (adică apariția unei serii de boli) care se dezvoltă și apoi duce la moartea individului infectat.

La începutul anilor 80 au fost descoperite infecții apărute întâi la homosexuali care erau aparent sănătoși. În 1983 oncologul francez Luc Montagnier și oamenii de știință de la Institutul Pasteur din Paris au izolat un nou retrovirus. În 1995 se estimează că HIV a infectat aproape 20 de milioane de persoane și mai multe milioane dintre acestea aveau și SIDA.

Boala. Dezvoltarea de la infectarea cu HIV până la apariția bolii clinice numită SIDA poate lua de la 6 la 10 ani. Această dezvoltare poate fi monitorizată folosind marcatoarele surrogat (date care corespund cu stadiul în care se află boala) endopuncte clinice. Marcatoarele surrogat cuprind numărul din celulele albe CD4 T-cells; numărul de virusi care circulă prin sânge și de asemenea folosit precum și răspunsul sistemului imunitar la prezenta HIV. În primele săptămâni de după infectare, majoritatea oamenilor au simptome de febră cum ar fi dureri de cap și temperatură, aceste simptome durează vreo două săptămâni. În această perioadă HIV se răspândește foarte repede iar numărul de celule albe scade drastic dar acesta va reveni la nivelul normal datorită sistemului imunitar, indivizii contaminati sunt foarte contagioși în această perioadă (această perioadă este cunoscută ca sindromul retroviral acut).

Urmează o lungă fază asimptomatică care poate dura 10 ani sau mai mult. În această perioadă individul are un număr scăzut spre normal de celule albe (între

750 și 500 pe mm cub de sange) însă HIV continuă să se răspândească și să distrugă sistemul imunitar.

Următoarea fază e cea simptomatică matinală care poate dura de la câteva luni la câțiva ani și se caracterizează prin scăderea rapidă a numărului de celule albe de la 500 la 200 pe mm cub și prin infecții oportuniste care nu amenință viața.

Ultima fază sau fază simptomatică târzie se manifestă prin distrugerea pe scară largă a sistemului imunitar și boli oportuniste grave, această fază putând dura și ea de la câteva luni la câțiva ani. Numărul celulelor albe scade sub 200 pe mm cub și persoana infectată slăbește și obosește mult mai greu. Individul intră apoi în fază avansată de SIDA, nivelul celulelor albe scade sub 50 pe mm cub. În această fază sistemul imunitar e într-o fază de decadere totală, apar infecții oportuniste serioase printre care și cancerul iar individul moare după 1-2 ani.

Transmiterea bolii

HIV se transmite de obicei prin contact sexual cu persoana infectată. Alte moduri de infectare sunt contactul direct cu sânge infectat, acest caz întâlnindu-se mai ales la persoanele care folosesc droguri intravenoase, sau prin transfuzii cu sânge infectat, acest caz e din ce în ce mai rar din cauza controalelor (întâlnindu-se un caz de transmitere la mai puțin de o persoană din 100.000). HIV se mai poate transmite de la mama infectată la bebeluș înainte de naștere sau prin alăptare, însă numai 30% din mamele infectate dau naștere la copii infectați.

Virusul nu poate supraviețui în mediu. Chiar dacă se cunosc foarte bine modurile de transmitere ale virusului există o foarte mare frică neîntemeiată a transmiterii prin contactul accidental la locul de muncă, la școală sau la autoserviri. Nu există dovada transmiterii virusului prin aer sau prin insecte muscatoare sau vreun caz în care virusul s-a răspândit prin sărutarea unui individ infectat, totuși se recomandă să nu se folosească aceeași periuță de dinți sau aceeași lamă de ras cu un individ infectat (nu se recomandă nici cu un individ complet sănătos). Frica de infectare de la un medic infectat e de asemenea neîntemeiată, care deși a apărut la un dentist se întâlnește acum foarte rar, de asemenea o persoană neputându-se infecta în timp ce donează sânge.

Ocurența

Epidemia generată de SIDA e în continuă creștere și dezvoltare. În Statele Unite, HIV a apărut întâi în comunitățile homosexualilor și în rândurile oamenilor care primeau sânge; apoi s-a răspândit în rândul celor care foloseau droguri intravenoase și apoi mai ales prin prostituție s-a extins în toate straturile sociale, în această țară homosexualii fiind responsabili de 50% dintre cazurile de transmitere, cei ce folosesc droguri intravenoase sunt responsabili de 25% iar bărbații care transmit HIV la femei sănătoase ocupă 10%. America are peste 400.000 de cazuri de SIDA dintre care jumătate sunt albi și o treime negrii. Momentan bărbații reprezintă 88% din persoanele infectate iar femeile celelalte 12% însă numărul de femei și copii infectați cu SIDA e în creștere, ajungând să fie principala boală care cauzează moarte între 25 și 44 de ani și a opta cauză de moarte în America.

Pe o scară globală SIDA se răspândește rapid. Africa, care înainte reprezenta doar 10% din cazuri a ajuns acum la 60%. Adunate, America de Nord și cea de

Sud sunt responsabile de mai puțin de 20% de noi infecții, în Africa aflându-se mai mult de 90% din cazuri. Epidemia se răspândește acum rapid și în Asia unde infecțiile au crescut cu mai mult de 100% în ultimii trei ani, OMS fiind foarte îngrijorată că aceste infecții vor crește foarte mult rata mortalității în Asia.

Virusul din America, Europa și Africa centrală este cunoscut ca HIV-1, în celelalte părți ale lumii se găsește HIV-2, o formă mai avansată care este capabilă să omoreze mult mai ușor celulele albe din sânge.

Detectia și diagnosticul

Descoperirea virusului în 1983 a dat posibilitatea studierii virusului iar în 1984 un grup de cercetători condus de Robert Gallo a găsit o metodă prin care virusul se înmulțea mult mai repede creând astfel o sursă nepuizabilă de virusi pentru teste. Din cauza diferențelor dintre HIV-1 și 2 trebuie făcute teste separate pe cei doi virusi și în prezent aproape 50 de milioane de probe de sânge sunt testate în fiecare an. Prezența HIV este de obicei determinată după reacția sistemului imunitar însă această metodă nu da roade în primele săptămâni de la infecție deoarece sistemul imunitar încă nu a avut timp să producă anticorpi împotriva virusului.

Infecția cu HIV nu înseamnă neapărat și apariția SIDA, chiar dacă publicul crede acest lucru, de fapt o persoană poate rămâne HIV pozitivă pentru mai mult de 10 ani până să apară semnele SIDA de aceea s-a creat definiția: La o persoană pozitivă HIV numărul celulelor albe trebuie să fie sub 200 pe mm³ sau acea persoană trebuie să sufere de o infecție oportunistă din partea pneumoniei, tuberculoza pulmonară, anumite ciuperci care apar în zona gurii sau cancer.

BIBLIOGRAFIE

1. Enciclopedia pentru tineri Larousse- PLANTE ȘI ANIMALE- Editura Enciclopedia Rao, București, 1996, pg.10-11
2. Children's Britannica, Fourth edition(1988), volumele 8, 11, 13, 19, Editura BPC Consumer Books Ltd., 1997
3. *** Biologie-Manual , Editura LiceAll2000, 2000,pg. 55-56
4. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generală și farmaceutică » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)

E. Parazitologie

CURS 15

22. Caracteristicile si clasificarea parazitilor

23. Paraziti unicelulari; protozoare

24. Paraziti pluricelulari; viermi plati si cilindrici

(Chim. Negru Roxana Irina Facultatea de Farmacie An II, grupa 21)

1. Caracteristici si clasificare

Notiuni generale; relatii intre parazit si gazda.

Parazitologia este stiinta care studiaza morfologia si biologia parazitilor. Parazitii sunt fiinte vii, de natura animala sau vegetala, care traiesc permanent sau temporar pe seama altor fiinte, vegetale sau animale, cel mai adesea conducand la producerea a diverse boli.

Parazitismul reprezinta modul de viata al unei fiinte care se foloseste de o alta pentru a supravietui. Fiinta pe care parazitul traieste si se devolta poarta denumirea de gazda.

Parazitologia medicala este o ramura a stiintei medicale care se ocupa cu studiul parazitilor de natura animala care traiesc pe seama organismului uman, bolile pe care acestia ii genereaza, epidemiologia si tratamentul acestora.

Saprofitismul apare atunci cand un microorganism (un saprofit) traieste pe seama unei gazde, fara a produce o boala, de exemplu *Staf. saprofiticum* se gaseste peste tot, dar nu produce nicio boala, in timp ce *Stafilococul aurii*, odata patruns in organism, genereaza boala.

Relatia de comensalism este definita ca relatia dintre celulele vii, si anume o fiinta vie profita de o alta care ii ofera hrana, fara a afecta organismul gazdei.

Simbioza este o relatie mult mai stransa intrucat cele doua fiinte care convietuiesc formeaza un intreg.

Hiperparazitii sunt paraziti ai parazitilor si pot fi folositi pentru combaterea unor paraziti.

Interactiunile dintre gazda si parazit pot fi clasificate in functie de intensitate in trei categorii:

- slaba: organismul gazda elimina treptat parazitul
- puternica, dar mai redusa decat capacitatea de aparare a gazdei, gazda ramanand aparent sanatoasa, uneori fiind purtatoare al parazitului, dar rezistand actiunii acestuia
- actiunea parazitului depaseste puterea de aparare a gazdei, produce boala si, in unele cazuri, chiar moartea.

Parazitii au mai multe cai de circulatie in natura:

- direct, de la organismul gazda infectat la cel sanatos care este receptiv
- cu un ciclu evolutiv simplu, ajunge pe sol, apoi este ingerat cu alimente sau apa si se dezvoltă in organism
- ciclu complicat, parazitul trecand obligatoriu prin una sau mai multe gazde

Parazitozele transmisibile sunt de doua tipuri:

- directe – se transmit prin eliminare de la bolnav de oua, chisti generand boala propriu – zisa
- indirect – preluate din carne, apa, sol:
 - peridomestice (apar la animale domestice)
 - naturale (apar in natura la animale salbatice)

Raspandirea geografica a parazitilor:

- circulatie naturala care formeaza un lant epidemiologic (la bacterii – ciclul simplu cu 3 verigi: bolnav- calea de transmitere - bolnav)

Parazitii propriu – zisi sunt agenti patogeni studiatii in mai multe ramuri.

Caracterele generale ale principalelor grupuri de microorganisme

1. Fungi (ciuperci inferioare)

Microorganismele vegetale inferioare sunt mai complexe din punct de vedere structural ca bacteriile, de tip eucariot, nefotosintetizante, putand fi parasite sau saprofite. Sunt immobile si in general au perete rigid. Se hranesc prin osmoza procurandu-si materialul nutritive din mediul pe care traiesc si pe care la nevoie il solubilizeaza cu ajutorul unor enzime extracelulare.

Din punct de vedere morfologic exista doua mari categorii de fungi:

- mucegaiurile (fungi perfecti sau filamentosi) ,
- levurile (fungi imperfecti) .

a. Mucegaiurile, cresc sub forma unor filamente ramificate dihotomic denumite hife (cu diametrul transversal de 2-10 micrometri), cu perete rigid avand structura tubulara, fiind septate si neseptate . Aceste filamente se intretes formand talul sau miceliul vegetativ, care la majoritatea speciilor patrunde in substratul nutritiv si un miceliu aerian sau reproducator care formeaza spori . Acestia pot fi de doua feluri :

- sexuati, rezultati din fuziunea a doi gameti dand nastere la zigospori
- asexuati, care se gasesc pe hifele talului aerian, in organe de reproducere speciale, numite sporangii sau conidii .

b. Levurile, sau drojdiile sunt ciuperci inferioare, unicelulare, de forma rotunda sau ovalara, avand dimensiuni cuprinse între 3-30 micrometri . Celula levurica posedă un nucleu bine diferentiat, citoplasma si un perete gros si rigid . In general se multiplica asexuat .

Grupul cel mai numeros este reprezentat de levurile ascospore, de tipul *Saccharomyces cerevisiae* . Celulele vegetative sunt ovalare, izolate, uneori alungite în hife rudimentare . Sunt imobile . Se inmultesc prin diviziune directa sau inmugurire .

In conditii neprielnice de mediu și în special în absenta glucozei, înmultirea se face prin ascospori . In acest caz unele celule vegetative se îngroașa și se transformă în asca închizand în interiorul lor mai multi ascospori (de ex : *S.cerevisiae* contine 4 ascospori) .

Levurile anascospore, au morfologia obișnuita a levurilor fiind denumite și „fungi imperfecti” datorita modului particular de inmultire, asexuat. Multiplicarea se face de obicei prin inmugurire, mugurele fiind denumit blastospor . Uneori din cauza ca celulele noi aparute (celulce fiice) nu se desprind de celula mama, apare dispozitia de lanturi mai mult sau mai putin ramificate (pseudomicelii). In anumite conditii de mediu, de o parte si de alta a

pseudomiceliului pot apărea chlamidospori, elemente circulare refringente cu perete gros, dublu ; ei reprezintă formele de rezistență a levurilor anascosporate

Aceste levuri sunt cele mai importante pentru practica medicală deoarece unele specii se găsesc comensale la om, în special la nivelul mucoaselor, iar în anumite condiții ele pot determina infecții deosebit de grave mai ales la copilul mic (de ex: *Candida albicans*).

De asemenea, numeroase specii de mucegaiuri și de fungi imperfecti (*Rhizopus*, *Candida*, *Torula*, *Torulopsis*), sunt utilizate în industria farmaceutică pentru producerea de medicamente.

2. Protozoarele

Sunt microorganisme unicelulare de origine animală, nefotosintetizant, de dimensiuni relativ mari 2-100 μm. Ele au toate elementele esențiale unei celule: nucleu, citoplasma și membrane de înveliș, care pot fi subțiri și flexibile ca la amoebe sau relativ rigide ca la protozoarele ciliate, care le determină o formă caracteristică. Ca organe de locomotie ele posedă cili, flageli, membrana ondulantă sau pot emite pseudopode (amoebe).

Unele protozoare trăiesc libere în natură, sunt saprofite și absorb hrana solubilă provenită din materia organică moartă sau dejecte, prezente în mediul extern. Multe protozoare însă sunt parazite hrănindu-se pe seama organismului gazdă.

Protozoarele se înmulțesc asexuat, prin diviziune binară sau diviziune multiplă (schizogonie) și de asemenea printr-un mecanism sexual. Unele specii au un ciclu de viață cu ambele faze de multiplicare asexuat și sexual (de ex: plasmodiile).

În condiții nefavorabile de viață, unele protozoare se transformă în „chisti”, niște formațiuni rotunde, cu perete gros, foarte rezistenți la uscăciune și variații de temperatură, care reprezintă forma de rezistență, infestantă a protozoarelor în natură.

Există 4 mari grupe de protozoare, care se diferențiază prin caractere morfologice și uneori mod de diviziune.

a. Rhizopode - sunt protozoare alcătuite dintr-un nucleu și o masă citoplasmatică granulară, delimitată la exterior de o ectoplasma elastică. Aceasta permite schimbarea formei protozoarului prin emiteră de pseudopode în scop de mobilizare și captare a hranei. Se înmulțesc prin sciziparitate (ex: amoebe).

b. Flagelate - specii mobile cu flagel sau membrana ondulantă (ex: *Giardia* sau *Lambliă intestinalis*, *Trichomonas*).

c. Infuzorii - sunt specii mobile cu corp ovoid, înconjurat de cili vibrațiali. Reproducerea se face prin diviziune directă (ex: *Balantidium coli*).

d. Sporozoa - *Plasmodium vivax*, *malariae* și *falciparum* reprezintă cele trei tipuri ale agentului etiologic al malariei. Sunt specii imobile. Înmulțirea plasmodiilor se face în două cicluri, asexuat și sexual.

Sporozoitul, elementul infestat al parazitului pătruns în organismul omului prin întepătura țânțarului parazitat ajunge în ficat unde pătrunde în celula hepatică (celula Kupfer) și unde își începe stadiul de multiplicare asexuat

(faza exoeritrocitaria), unii dintre merozoti ataca hematiile urmandu-si aici cealalta faza de multiplicare asexuata (faza eritrocitaria).

Dupa cateva cicluri de diviziune eritrocitaria, unii dintre merozoiti se diferentiaza în gametociti masculi și femeli care nu mai evolueaza mai departe in sangele gazdei vertebrale (omul) ci in interiorul intestinului mediu al gazdei nevertebrate (tantarul Anopheles). Aici din gametociti iau nastere gametii masculi si femeli care prin unirea lor dau nastere unui ou (zigot sau ookinet).

Oul prin diviziune multipla da nastere la sporoziti care se vor imprastia in tot corpul tantarului, o una parte din ei ajung in glandele salivare, de unde odata cu saliva pe care o introduce tantarul cand inteapa, va infesta o noua gazda.

23.Paraziti unicelulari; protozoare

(Chim. Negru Roxana Irina Facultatea de Farmacie An II, grupa 21)

2. Protozoologie:

Protozoarele sunt microorganisme unicelulare eucariote care se gasesc fie in forma vegetativa, in conditii favorabile de mediu aceasta fiind si forma sub care se hraneste si se inmulteste, fie sub forma chistica, in conditii nefavorabile de mediu, asigurandu-si doar supravietuirea (au invelis rezistent).

Forma vegetativă a protozoarelor este numită „Trophozoit.” Din cele 40.000 de specii cunoscute de protozoare cunoscute circa 8.000 sunt parazite din care 70 parazitează pe om și numai 40 din ele sunt patogene. Dintre protozoarele parazite intalnite la om unele se pot intalni si la animale.

Sunt impartite in 4 clase:

1. Rizopode: protozoare cu corpul lipsit de polaritate, in general cu citoplasma separata in ecto- si endoplasma, la exterior cu o membrana plasmatica semipermeabila; au proprietatea de a emite pseudopode cu rol in locomotie si prinderea hranei; nutritia este fagotrofa.(Ex: *Entamoeba dysenteriae* – colonizeaza intestinul provocand dizenteria).
2. Flagelate: sunt protozoare care se deplasează cu ajutorul flagelilor. Sunt paraziti unicelulari (protozoare) cu flageli.

Sunt de doua tipuri:

- flagelate cavitare: *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis*, *T.bucalis*;
- hemoflagelate: *Tripanosoma spp*, *Leishmania spp*.

Giardia intestinalis: *Giardia lamblia* este un flagelat cavitat intestinal. Este localizata in intestin, aparand cu o frecventa mult mai mare la copii. Actioneaza de la nivelul duodenului pana in intestinul subtire, producand iritatie si toxine care conduc la agitatie si lipsa a poftei de mancare. Inaintand spre colon, parazitul se transforma in chisturi si este eliminat odata cu materiile fecale. Boala poarta denumirea de giardioza si se manifesta prin diaree exploziva, flatulenta, eructatie si malabsorbție. Este un parazit rezistent la antibiotice. Din acest motiv, giardioza se trateaza cu antiparazitare.

Tripanosoma brucei (africana) Se dezvoltă cu precădere în zonele calde fiind transmisă de o insectă, mușca tete. Parazitul se dezvoltă în corpul mustei pentru ca ulterior să se transmită la gazdă. Din punct de vedere clinic, boala are o simptomatologie complexă. În faza inițială, se manifestă prin febră neregulată, cefalee persistentă, tulburări de comportament (irascibilitate și iritabilitate), pentru că apoi, în cea de a doua fază, să acționeze la nivel neurologic provocând tulburări de somn (inversarea ritmului veghe-somn), tulburări motorii pe grupe de mușchi izolate, tulburări de vorbire și de masticatie, tulburări endocrine (la femei afectează menstruația), tulburări psihice. Pacientul nu are senzația de foame și de sete și slăbește, senzația de frig – cald dispare, devine asocial, pentru că în final să apară coma care conduce la deces.

Sporozoaare: sunt protozoare care nu au mijloc de locomotie, iar înmulțirea are loc prin spori (de aici derivă și denumirea).

Din punct de vedere medical, cele mai importante sunt: *Plasmodium malariae* și *Toxoplasma gondii*.

Plasmodium malariae: Este un parazit transmis de țânțarul anofel și apare sub forma a patru specii în zone diferite ale globului. Parazitul patrunde în sângele gazdei, formează o rozetă în hematie care se sparge și infuzează alte hematii. Acest ciclu are loc odată la 3-4 zile, moment în care apar și crizele.

Toxoplasma gondii: Are un ciclu de viață în care, în mod obligatoriu, intervine pisica. Parazitul se dezvoltă complet în intestinul pisicii care elimină oocistul. Omul se infectează cu oocistul, eliberează sporozoiți care penetrează peretele intestinal și pot parazita orice celulă (fără eritrocit), ajung în sânge unde sunt fagocitați de macrofag.

Pisica bolnavă este blândă și trebuie mângaiată. Femeile însărcinate care mângăie astfel de pisici se infectează. Parazitul trece prin placenta fiind transmis la făt fie la nivelul ochilor, fie la nivel cerebral. În funcție de momentul infectării, fătul se poate naște cu malformații, poate avea loc decesul intrauterin sau, parazitul poate exista până la o anumită vârstă în stare latentă, provocând, prin activare, diverse deficiențe de vedere sau la nivel cerebral.

Infuzori: au corpul acoperit cu cili cu ajutorul cărora se deplasează.

24.Paraziți pluricelulari; viermi plati și cilindrici

(Chim. Negru Roxana Irina Facultatea de Farmacie An II, grupa 21)

HELMINTOLOGIE Helmintologia este ramura parazitologiei care se ocupă cu studiul viermilor paraziți. Sunt împărțiți în două categorii: plathelminți și nemathelminți.

1. Plathelminți: sunt hermafrodiți, nu au tub digestiv și se hrănesc direct prin tegument; se găsesc cu precădere la nivelul tubului digestiv. Se împart în două clase: trematode și cistode.

- Trematode: nu sunt segmentati. Viermele reprezentativ pentru aceasta clasa este *Fasciola hepatica*. Are forma de frunza. Se gaseste la nivelul ficatului, al cailor biliare sau al duodenului provocand la om boala numita icter. In popor este cunoscut prin prezenta la oi, determinand galbeaza oilor.
- Cestode: sunt segmentati si apar sub forma de panglica (teniile). Teniile sunt formate din cap (scolex), gat si corp care ajunge sa aiba pana la 1.500 de segmente. Fiecare segment are un uter plin cu oua. Specia intalnita la om poarta denumirea de Tenia saginata. Poate ajunge pana la 8 metri lungime. Segmentele care se matureaza sunt eliminate. Au eliminare activa, avand o musculatura foarte puternica si putand iesi singure din tub pentru a ajunge pe sol si a parazita. Cele care ajung in natura, se sparg eliberand ouale din uter. Acestea se transforma in larve care dupa inghitire ajung in intestin provocand tenioza. Daca oul produce o autoinfectare, parazitul trece in sange si se dezvoltă la nivelul ochilor sau al creierului provocand cestoceraza.

2. Nematelminti: mai multe familii:

- Trichinellidae: *Trichinella spiralis* provoaca trichineloză. Este un parazit mic, de numai cativa centimetrii, spiralat si se localizeaza in muschi. Cele mai multe cazuri sunt intalnite in zone ale tarii unde carnea nu este foarte bine preparata.
- *Ascaris lumbricoides* (limbrici)
- Oxyuridae: oxiuri

Elemente de helmintologie medicala

(Bichir Ioana Facultatea de Farmacia, An II, grupa 2 09.04.2009)

Bolile parazitare determinate la om de viermi se numesc helmintiaze (helimis=vierme) sau verminoze.

Principalele helmintiaze sunt: teniaza, botriocefaloza, hidatidoza, ascaridioza, oxiuroza, trichuroza.

I.Parazitoze determinate la om de Plathelminti

1.Teniaza

Clasa:Cestoidea

Ordinul:Cyclophyllidea

Familia:Taeniidae

Genul:Taenia

Teniaza este o parazitoza care poate fi determinata la om de *Tenia saginata*, cu gazda intermediara bovinele si *Taenia solium*, cu gazda intermediara porcul. Cei 2 paraziti fac parte din clasa Plathelminti, ordinul Cestode si prezinta o morfologie asemanatoare.

Teniile prezinta un cap mic de 2 mm, denumit scolex, un gat scurt si corpul turtit ca o panglica(de unde si denumirea populara de “panglica” sau “cordica”), format din cca. 2.000 segmente, numite proglote. In functie de varsta,proglotele au forme diferite.Cele tinere (mai apropiate de scolex) sunt mai late decat lungi.Proglotele mature sunt patrute , au o organizare completa, cel mai bine

fiind reprezentat aparatul reproducator.Proglotele batrane(ovigere), in care uterul este foarte dezvoltat si ramificat, contin numeroase oua(80.000) care se elimina odata cu materiile fecale ale persoanei parazitata si sunt inghitite de gazdele intermediare, la care embrionii hexacanti (cu 6 carlige), onchosfere, traverseaza peretele intestinal si formeaza cisticerci in muschi, in stratul adipos sau conjunctiv la bovine si respectiv la porc.Componenta masculina este reprezentata de un numar mare de folicuri testiculare legati de o papilla genitila situata alternativ stanga-dreapta pe marginea fiecarui proglot.(*Taenia solium*).

Omul se infesteaza prin ingerare de carne insuficient prelucrata termic si infestata cu cisticerci.Acesta este mecanismul cel mai frecvent de infestare care determina teniaza, deoarece cisticercul(*Cysticercus cellulosae*) evaginandu-si scolexul se fixeaza prin ventuzele sale si eventual carlige (*Taenia solium*), pe mucoasa intestinului subtire, dupa care se transforma in adult cu numeroase proglote.Proglotele se elimina una cate una sau inlantuite si numai odata cu scaunul fecal.In mod obisnuit, in intestinul gazdei parazitata exista cate o singura tenie adulta ce poate supravietui cativa ani,uneori chiar si 25 de ani.

Daca contaminarea se face prin oua, in special de *Taenia solium* (deci fara gazda intermediara), omul face cisticercocoză, boala foarte grava.

Prezenta stadiului adult al teniei determina o simptomatologie minora si nespecifica:tulburari digestive, dureri abdominale, greata, alterarea poftei de mancare,pierderi in greutate,dureri de cap.

Tratamentul in teniaza se face cu paramomicina, praziquantel, Niclosamid sau Yomesan.In cazul tratamentului cu cele 2 din urma se administreaza comprimate, in felul urmatoare : la adulti si copii peste 8 ani,cate 2 comprimate pe nemancate si dupa o ora inca 2 comprimate(total 4); la copii intre 2-8, doza se reduce la jumătate; la copii sub 2 ani, doza se reduce la un sfert.

Eficienta tratamentului se apreciaza dupa eliminarea scolexului.Daca acest lucru nu se produce este de asteptat ca portiunea proliferativa a teniei sa fi ramas viabila si in urmatoarele luni viermele sa se refaca.Niclosamidul si paramomicina pot determina dezintegrarea teniei,facand astfel dificila daca nu chiar imposibila recunoasterea scolexului.Macerarea si dezintegrarea stobilului chiar in intestin pot crea conditiile teoretice ale unei autoinfectii endogene cu oua embrionate de *T.solium*.Pentru a evita acest lucru se recomanda administrarea la cateva ore de la tratamentul specific, a unui purgativ si eventual a unui antivomitiv.

Masuri necesare pentru evitarea teniozelor:controlul sanitar al carnilor de porc si de vita, tratarea termica corespunzatoare a carnilor, tratarea persoanelor infectate, existenta unor wc-uri igienice, evitarea defecarii la intamplare si deci evitarea infectarii gazdei intermediare, evitarea utilizarii apelor fecaloid-menajere neinactivate, in irigare si ca ingrasamant natural.

2.Botriocefaloza

Botriocefaloza este o parazitoza intalnita la om, porc, pisica, provocata de un alt cestod numit *Diphyllobotrium latum*, a carui larve infestante se gasesc in carnea sau icrele unor pesti.

In faza adulta acest parazit are lungimea de 10-20m, un scolex de 1m, prevazut cu niste santuri(bothridii) care servesc pentru fixarea lui pe mucoasa intestinului subtire.

Ouale se elimina prin materiile fecale ale gazdei parazitata.

Pentru embrionare ouale trebuie sa ajunga in mediul acvatic: lacuri, balti, unde este eliminat embrionul ciliat: acesta este apoi ingerat de un crustaceu Cyclops strenuous, in organismul caruia se transforma intr-o larva procercoida. Ciclopul parazitat este inghitit de anumite specii de pesti: stiuca, biban, mihalta iar larva procercoida se transforma in larva plerocercoida, paraziteaza muschii si icrele pestilor (in special de stiuca), care daca nu sunt prelucrate suficient termic, infesteaza omul, pisica, porcul care reprezinta gazdele definitive.

In intestine larva devine botriocefal adult dupa trei luni iar ouale sunt eliminate prin fecalele gazdei. Botriocefaloza poate evolua asimptomatic sau bolnavul prezinta anorexie, tahicardie, anemie.

Diagnosticul de laborator consta in punerea in evidenta, in materiile fecale, a oualor operculate si neembrionate. Tratamentul se face la fel ca la teniaze.

Profilaxia: prelucrarea termica suficienta a pestilor de apa dulce.

3. Hidatidoza

Hidatidoza, chist hidatic unilocular, este o parazitoza la om provocata de larva de *Taenia echinococcus*. Larva numita si hidatida provoaca la om hidatidoza cu localizare in toate organele, mai frecvent in ficat si pulmon.

Izvorul de infectie este cainele, lupul, sacalul, la care traieste adultul, determinand boala numita echinococoză. Cainele elimina in mediul extern ouale pe care le inghite omul odata cu alimentele sau apa infestata. In stomac, datorita sucului gastric, membrana oului se dizolva iar embrionul pus in libertate ajunge in intestinul subtire pe care il strabate, patrundand astfel in cavitatea peritoneala; de aici prin torrentul circulator, parazitul ajunge in ficat, pulmon etc, unde se fixeaza. In organul in care a ajuns determina o formatiune caracteristica, cu un lichid clar transparent (lichid de stinca), de dimensiuni variabile, care adaposteste larva (protoscolex).

Prezenta unui chist hidatic este semnalata de obicei tarziu, uneori la cativa ani de la infectie. Bolnavul poate prezenta stari febrile neregulate, manifestari alergice cutanate, tulburari gastrointestinale, dureri abdominale, cianoza, sincope. Daca prezenta chisturilor hidatice nu determina dereglarea o eozinofilie semnificativa, fisurarea lor si extravazarea lichidului face ca numarul eozinofilelor sa creasca spectaculos. Reactiile anafilactice sunt consecintele imediate cele mai periculoase, moartea putand interveni rapid in absenta unei asistente medicale competente.

Diagnosticul de laborator se pune prin reactii serologice Cassoni, hemaglutinoinhibare etc. si date furnizate de tehnicile imagistice.

Tratamentul se face numai chirurgical. Prevenirea se face prin evitarea infectarii cainilor si tratarea celor deja infectati.

Pot exista si alte forme ale hidatidozei: hidatidoza multiloculara, hidatidoza polichistica. Aceste forme ale bolii se intalnesc in unele tari europene (Franta, Elvetia, Austria, Germania), in Asia sau in America.

Masuri de prevenire: persoanele ce vin in contact cu carnivore salbatice vii sau moarte sa foloseasca manusi sau alte materiale de protectie, sa nu fie favorizata apropierea animalelor salbatice de zonele locuite de om, de obicei prin administrare de hrana, persoanele ce ingrijesc animale de companie sa se spele frecvent pe maini, fructele si legumele ce vin in contact cu solul sa fie bine spalate inainte de a fi consumate.

II.Parazitoze determinate la om de Nematelminti

1.**Ascaridioza** Ascaridioza este o boala determinata de un parazit din clasa Nematelminti, ordinul Nematode si anume *Ascaris lumbricoides*.Acest parazit are o forma cilindrica de 20-25 cm lungime.El se localizeaza la om in intestinul subtire de unde femela elimina 200.000 de oua zilnic.Acestea ajung odata cu materiile fecale pe sol, unde, in functie de temperature si umiditate, embrioneaza in intervalul 9-45 de zile.Ouale astfel embrionate ajung din nou in organismul uman odata cu apa sau alimentele infestate.In intestinul subtire, larvele sunt puse in libertate, traverseaza peretele intestinal si apoi din aproape in aproape, fie prin aparatul circulator ajung in ficat unde raman timp de 3-4 zile, dupa care prin calea venoasa suprahepatica, ajung in pulmon.In continuare, larvele persista vreo 10 zile in capilarele alveolare, dupa care strabat prin efractie peretele alveolelor pulmonare, ajung in caile respiratorii superioare, de unde sunt reinghitite.Larvele ajunse din nou in intestinul subtire, devin adulti, dupa un interval de 2-3 luni si traiesc 1-2 ani, fiind eliminate prin defecare si mai rar pe cale bucala.

Boala este mai frecventa la copii care se infesteaza prin consum de fructe, legume, nespalate, maini murdare, apa infestata si adesea evolueaza asimptomatic.

Uneori ascaridioza se manifesta cu tulburari digestive, cefalee, prurit anal, nervozitate,convulsii; alteori poate determina complicatii prin ocluzie intestinala, obstructiunea cailor biliare, apendicita cu ascarizi(*ascaridioza eratica*)etc.

Diagnosticul de laborator consta din punerea in evidenta in materiile fecale a oualor de ascarizi: elipsoidale,cu un invelis extern neregulat, mamelonat (neembrionate in momentul ponteii).

Tratamentul ascaridiozei se face cu saruri de piperazina (nematocton): 1 comprimat pe an de varsta pana la 6 ani; peste aceasta varsta tot 6 comprimate zilnic in 3 prize, administrate cu jumatate de ora inainte de masa, timp de 4 zile.

Profilaxie: igiena individuala, spalare pe maini inainte de masa, consum de fructe, legume bine spalate(in special ridichi, salata, ceapa verde).

2.Oxiuroza

Oxiuroza este o parazitoza determinata de un alt nematod: *Enterobius vermicularis* sau *Oxyuris vermicularis*.Acest parazit este un vierme mic, masculul avand o lungime de 2-5 mm,iar femela de 9-12 mm, care paraziteaza la om intestinul subtire si gros. Femelele fecundate ajung in rect, unde raman peste zi; noaptea trec sfincterul anal si depun ouale in pliurile rectale sau anale. Ouale sunt ovalare, asimetrice, cu un perete dublu transparent si sunt embrionate in momentul ponteii.

Pruritul anal intens prin care se manifesta boala, permite autoinfestarea, deoarece copiii se scarpina iar ouale raman timp indelungat sub unghiile lor.

La cei parazitati mai poate avea loc si retroinfestarea: ouale din pliurile anale eclozeaza, iar larvele care patrund prin anus, urca apoi prin rect, colon, pana in intestinul subtire. La persoanele indemne infestarea se face fie direct de la bolnavii parazitati, fie indirect prin ingerarea oualor de oxiuri odata cu alimentele, legumele sau apa poluata. Ouale ajunse in intestine eclozeaza embrionii care se fixeaza la acest nivel, se dezvoltă si devin adulti. Oxiurii adulti pot migra in vagin, uter, apendice constituind "oxiuroza eratica".

Diagnosticul de laborator se face prin evidentierea in materiile fecale a oualor de oxiuri, asimetrice (turtite pe o latura) si embrionate.

Tratamentul se face cu Vermigal (Molevac-Parke-Davis). Medicamentul se administreaza in doza unica 5mg/kg corp; o lingurita contine aproximativ 5 ml suspensie (50 mg din principiul activ). Se va atrage atentia pacientilor ca medicamentul (suspensie orala de 1% pamoat de pirvinium), coloreaza in rosu materiile fecale si pateaza lenjeria. Un alt preparat este Oxiuranul, sinonime: Viocid, Genticid, sub forma de drajeuri de 0.010 g (pentru copii) si 0.025 g pentru adult (pentametil-pararozanilina). La adulti se administreaza cate 2 drajeuri de 3 ori pe zi; la copii 0.01 g/an de varsta si pe zi, in 3 reprize. Tratamentul dureaza 7 zile si apoi 7 zile pauza.

In toata perioada tratamentului se va respecta o igiena corporala riguroasa.

3. **Trichineloză** Clasa: Adenophorea Familia: Trichinelidae

Genul Trichinella Trichineloză este o parazitoză determinată la om de un nematod, denumit până nu demult *Trichinella spiralis* iar în prezent *Trichuris trichiura*.

Boala se produce în urma consumului de carne de porc parazitată și insuficient prelucrată termic. Embrionii depuși de femelă, la nivelul intestinului, străbat peretele intestinal al gazdei (om, porc, sobolan etc.) și apoi pe cale limfatică sau sanguină ajung în mușchii gatului, membrilor unde se închistează. Se disting 2 faze în evoluția bolii, fiecare având o simptomatologie dominantă: faza enterală și una parenterală. Faza enterală: simptome majore apar în situația unor doze infectante de cel puțin 1.000 de larve. Manifestările digestive se instalează cel puțin după 48 ore de la prânzul infectant, dar uneori chiar mai târziu, după 5-7 zile. Pacientul manifestă crampe, vomă, scaune diareice, toate acestea pe un fond subfebril. Faza paranterală este rezultatul răspunsului inflamator care însoțește migrarea larvelor și localizarea lor în musculatură. Cele mai frecvente simptome sunt: febră ridicată, peste 38°C, mialgie, edeme faciale, dureri de cap, manifestări cutanate, disfagie. În cazurile grave pot apărea complicații neurologice sau cardiace. Tratamentul se face cu cortizon, ACTH, Thiabendazol, Albendazol, Mebendazol.

ENTOMOLOGIE

Entomologia este o ramură a zoologiei care se ocupă cu studiul insectelor. **Insectele** nu sunt paraziti, insa produc disconfort si pot transmite diferite boli. Insecte: au 6 picioare. Ex: tantari, muste, pureci, paduchi, plosnite etc.

Artropode: Arahnidele: au 8 picioare si se inrudesesc cu paianjenul. Familii: Hixodide – capuse, Sarcoptide – raia.

Pentru combaterea acestora se fac dizinsectii cu substante toxice specifice (pesticide, insecticide, insectifuge).

25. Levuri si fungi; micotoxine

(CHIM. MUSTACIOSU IONELA ROXANA, FACULTATEA DE FARMACIE, AN II, GR 26)

PARAZITI VEGETALI - se mai numesc micete sau fungi (ciuperci)

- au fost initial considerate plante, ulterior vazandu-se metabolizarea lor s-a constatat ca aflate intere plante si animale, rezultand regnul fulgilor
- ele se comporta ca cellule animale, iau oxigen si cota de dioxid de carbon, iar plantele iau dioxid de carbon si cota de oxigen
- hranirea plantelor este autotrofa
- ciupercile nu au hranire autotrofa, ele traiesc pe anumite organisme care le hranesc

MICETE Se impart in doua categorii:

- macromicete
- micromicete

MACROMICETELE (ciuperci si bureti) se impart in 3 categorii:

- *ciuperci comestibile*
- *ciuperci toxice*
- *ciuperci necomestibile*

Exemple de ciuperci comestibile:

Boletus edulis - Hribi, manatarci

Boletus rufus - chitarca, chitarcuta, manatarca rosie

Boletus aereus - Hribul pucios

Cantharellus cibarius - Galbiori, bureti galbeni

Russula virescens - Vinetica pestrita

Armillaria mellea - Ghebe sau opintici

Morchella esculenta - Zbarciog

Morchella conica - Zbarciogul tuguat

Lepiota rhacodes

Lepiota clypeolaria

Clavaria flava - Creasta cocosului

Psalliota arvensis - Ciuperca de camp

Amanita caesarea - Craite, ronite, burete domnesc

Compozitia chimica a ciupercilor

Componentul	La 100 g	Componentul	La 100 g
Apa	90 g	Fosfor	135 mg
Substante azotoase	5 g	Clor	80 mg
Glucide	2,5 g	Caroten	0,04 g
Grasimi	0,5 g	Vitamina B1	0,04 mg
Potasiu	470 mg	Vitamina B2	0,20 mg
Sodiu	12 mg	Vitamina PP	60 mg
Calciu	3 mg	Vitamina C	8 mg
Magneziu	14 mg		
Fier	4,5 mg	Valoare calorica	35 calorii

Exemple de ciuperci necomestibile:

Amanita muscaria - Buretele peștit, muscarita

Amanita phalloides - Buretele viperei

Amanita verna - Buretele primavaratic

Amanita pantherina - Buretele panterei

Boletus satanas - Hrib tiganesc, buretele dracului

Tricholoma tigrinum

MICROMICETE (ciuperci mici)

Drojdiile se mai numesc și levuri – denumire care provine din: *levure* – a ridica; *levain* – aluat dospit;

Drojdiile – organisme monocelulare de tip eucariot care se înmulțesc prin mitoză (înmugurire), sau prin meioză (sporulare) și au drept caracteristică principală calitatea de a produce fermentarea zaharurilor simple cu formare, în condiții anaerobe, de alcool etilic și dioxid de carbon.

– au rol foarte important și sunt folosite în industria alimentară la fabricarea vinului, a berii, a spiritului de fermentație, a pâinii și produselor derivate, a drojdiei comprimate.

– au o compoziție chimică valoroasă și sunt folosite în microbiologia industrială la obținerea de proteine ce pot fi folosite în alimentația omului (de tip SCP – single cell protein), la obținerea de drojdii furajere pentru alimentația animalelor, drojdii care conțin 5,5% proteină, vitamine din grupul B, aminoacizi.

– pot conduce la extracte lizate, plasmolizate, folosite ca aditivi alimentari sau care îmbogățesc mediile de cultură destinate cultivării microorganismelor selecționate.

Prin mari poluări genetice sau hibridizări, cu ajutorul drojdiilor se pot obține substanțe valoroase cum ar fi: interferon, cu efect citostatic și antiviral; vitamine din grupul B, cu efect terapeutic complex.

Răspândire:

Drojdiile sunt răspândite în 4 mari habitaturi naturale reprezentate de: sol, aer, suprafața plantelor, apă.

În sol sunt răspândite în stratul superficial unde ajung în mod natural de pe fructe, rădăcini de leguminoase și se găsesc în special în solul grădinilor, al vițelor de vie.

În aer se răspândesc datorită curenților de aer.

Pe suprafața plantelor și fructelor drojdiile alcătuiesc *microflora epifită*. În acest habitat răspândirea e favorizată de insecte. Drojdiile rezistă în tractul digestiv al insectelor și iarna, iar primăvara, cu primul drum al acestora, sunt depuse pe suprafața vegetală. În organismul animal drojdiile sunt componente ale microflorei intestinale și aparțin genului *Candida* care poate cuprinde și specii patogene: *Candida albicans* care produce candidoze.

În apă sunt răspândite chiar până la 4000 m adâncime.

Caractere morfofiziologice:

Forma celulei de drojdie: ovală, rotundă, elipsoidală (drojdiile de fermentație din genul *Saccharomyces*), sferică (drojdiile din genul *Torulopsis*), de lămâie (drojdiile din genurile *Hanseniaspora*, *Kloeckera*), sau cilindrică.

Cultivarea în mediu lichid, de must de malt, a drojdiilor fermentative face posibilă observarea în timp a unei turbureli, urmată de formarea de spumă și, în finalul fermentației, are loc depunerea celulelor de drojdie și limpezirea mediului.

Drojdiile oxidative și micodermice, cultivate în același tip de mediu, se dezvoltă la suprafața mediului formând un voal cutat, gros, alb gălbui, destul de persistent (drojdii ce dau floarea vinului).

Colonia – biomasă de celule ce rezultă în urma cultivării pe mediu solid și a înmulțirii unei singure celule.

Forma și aspectul coloniei

- depinde de specie și gen;
- profilul poate fi lenticular, triunghiular sau bombat cu gurgui central;
- perimetrul coloniei poate fi circular, neregulat și uneori triunghiular;
- aspectul coloniilor variază de la alb strălucitor la mat, cenușiu și există și colonii de drojdii colorate în roz, roz-portocaliu (*Rhodotorula*) datorită pigmentilor carotenoidici.

Caractere fiziologice generale

Drojdiile sunt facultativ anaerobe. În condiții de aerobioză zaharurile sunt asimilate până la dioxid de carbon și apă, obținându-se astfel o cantitate mare de energie necesară creșterii și înmulțirii rapide.

Domeniul de temperatură: 0-35°C; Temperatura optimă de înmulțire: 28-32°C;

Temperatura de fermentare: 30°C pentru drojdii de fermentație superioară (pâine); 6 -12°C pentru drojdii de fermentația inferioară (bere); PH-ul optim: 4,5 – 6,5.

Stări ale celulelor de drojdie

Metabioza: stare activă în care drojdiile cresc și se înmulțesc prin înmugurire;

Anabioza: stare în care celula își menține caracterele vitale dar nu se mai poate înmulți;

Autoliza: are loc solubilizare a compușilor intracelulari sub acțiunea enzimelor proprii, stare ce conduce la moartea fiziologică a celulei.

Plasmoliza: stare dependentă de presiunea osmotică a mediului hipertonic; celula pierde apă, membrana citoplasmatică se zbârcește, celula trece în stare de anabioză care dacă se menține conduce la moartea celulei (proprietatea este folosită la conservarea alimentelor în sirop de zahăr sau saramură).

Turgescența: starea celulei imersate în mediu hipotonic (apă distilată) care, pentru a realiza izotonia, își mărește volumul și se produc fisuri la nivelul peretelui celular.

Structura celulei de drojdie

Celula de drojdie este de tip eucariot în care se disting componentele microscopice.

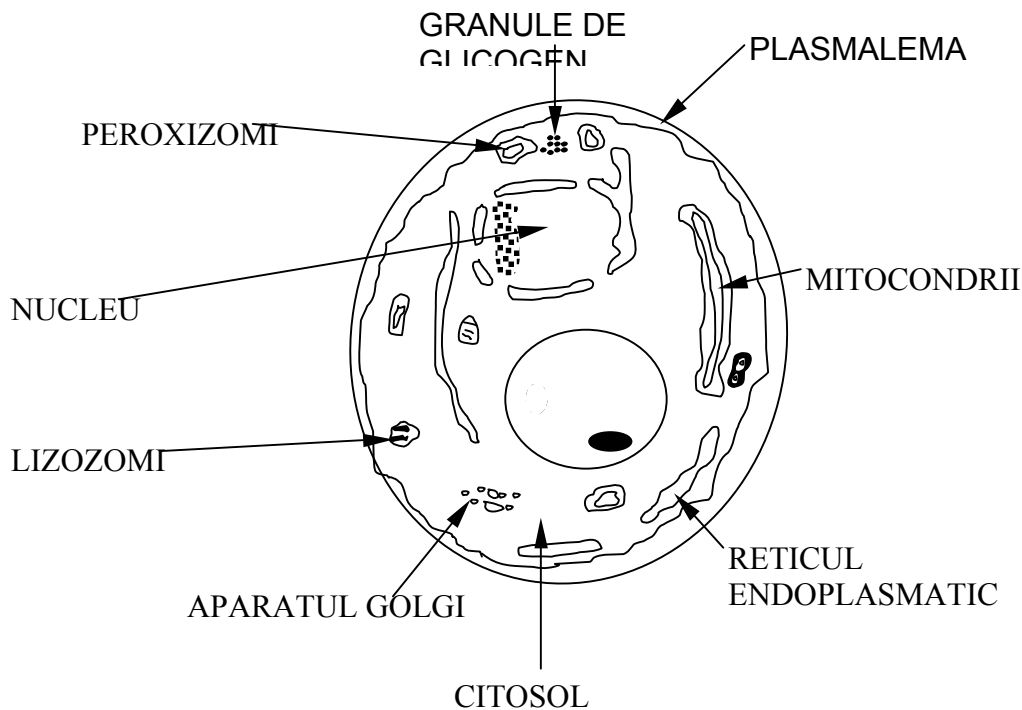


Figura 1: Structura celulei de drojdie

Peretele celular are rol în creșterea și înmulțirea celulelor iar din punct de vedere structural este alcătuit din trei straturi:

- stratul lipidic la nivelul căruia sunt localizate enzime de tipul permeazei care favorizează pătrunderea substanțelor nutritive;
- stratul mananic (manan – polizaharid alcătuit din lanțuri lungi de manoză legate prin legături α -1,2; α -1,6) care conține radicali fosfat ce imprimă celulei o sarcină negativă influențând astfel comportarea celulelor de drojdie pe parcursul procesului de fermentație (drojzii pulverulente sau floculante)

- stratul glucanic (glucan – polizaharid alcătuit din lanțuri de glucoză legate prin legături β -1,3; β -1,6) care conține chitina concentrată în anumite zone numite *cikatrice* – locul de desprindere a celulelor formate prin înmugurire.

Membrana citoplasmatică sau *plasmalema* – declanșează și participă la procesul de înmugurire și este semipermeabilă (nu permite eliberarea compușilor celulari, ci doar pătrunderea în interiorul celulei a substanțelor nutritive); - include în interiorul său *citosolul* sau *citoplasma*.

Nucleul cu membrana nucleară numită *nucleolemă* conține *nucleolul* sau *carioplasma*.

Din punct de vedere structural nucleul conține: ADN (intră în compoziția cromozomului), ARN care poate fi: mesager, transportor, ARNk (killer).

Alte componente ale celulei: *reticulul endoplasmatic*, *ribozomi*, *mitocondriile*, *aparatură Golgi*, *lizozomi*, *peroxizomi*, *sferozomi*, și alte incluziuni organice și anorganice.

Reproducerea celulelor de drojdie poate fi:

- asexuată (vegetativă) prin: - înmugurire (mitoză);
- sporulare (meioză);
- sexuată (în urma unor procese de copulare);

Modul general de reproducere a drojdiilor este **reproducerea asexuată prin înmugurire**. Celula de drojdie necesită amplasarea, în stare vie, într-un mediu nutritiv care să conțină zaharuri simple în concentrație maximă de 5%, surse de azot, săruri minerale, vitamine, un mediu caracterizat de pH și temperatură optime. În aceeași măsură, mediul trebuie aerat, oxigenul favorizând asimilarea zaharurilor cu eliberarea întregii energii necesare biosintezei compușilor celulari.

Etapele procesului mitotic:

Diviziunea nucleului are loc ca urmare a scindării cromozomilor prin care se formează moleculele de ADN. Are loc separarea în 2 cromatide, completarea pe matrița cromatidei și formarea a 2 moli de AND.

ARNm preia informația genetică, este eliberat de nucleoni, ajunge în citoplasmă, leagă ARNt care captează molecule de aminoacizi activați în particulele ribozomale conform secvenței stabilite genetic și are loc cuplarea aminoacizilor sintetizându-se astfel lanțuri peptidice respectiv proteine. Grupările libere ale aminoacizilor pot să se combine între ele conducând la formarea structurii secundare, terțiare.

Ca urmare a sintezei de proteine, enzime, de compuși celulari are loc o creștere în volum a celulei până la un moment în care se declanșează *cariochineză* (*scindarea nucleului*). Într-o anumită porțiune a peretelui celular are loc înmuierea acestuia, apariția unei protuberanțe, migrarea compușilor în acest mugure printr-un anumit canal numit *diverticulum*, formând la nivelul canalului un inel rigid din chitină. Celula nou formată poate rămâne atașată (formând lanțuri 15-20 celule - *Saccharomyces cerevisiae*).

Reproducerea asexuată prin sporulare conduce la formarea de *ascospori*. Într-un mediu caracterizat prin umiditate scăzută, prin *partenogeneză*, celula de drojdie se transformă în *ască*. Într-un mediu sărăcit în substanțe nutritive, prin *meioză*, se formează *ascospori*.

Reproducerea sexuată are loc prin copulare – conjugarea unor celule ajunse la maturitate fiziologică numite *gameți*. Copularea poate fi: - izogamă (între celule de același tip) sau heterogamă.

MUCEGAIURI

Mucegaiuri – microorganisme a căror celule sunt de tip eucariot cu organ vegetal monocelular sau pluricelular – organ reproducător diferențiat. Mucegaiurile se reproduc prin spori obținuți pe cale sexuată sau asexuată.

Mucegaiurile sunt agenți de putrezire cu rol esențial în natură deoarece realizează descompunerea și degradarea materiilor organice de natură vegetală până la compuși simpli.

Habitatul mucegaiurilor este stratul superficial al solului, unde rezistă uscăciunii și diferențelor de temperatură de la un anotimp la altul; majoritatea speciilor sunt aerobe.

Activitatea mucegaiurilor este foarte complexă, datorită capacității de a produce o gamă largă de enzime: amilaze sintetizate în scopul degradării amidonului; proteaze sintetizate în scopul degradării proteinelor; celuloze – degradează celuloza; lipaze – degradează lipidele.

Mucegaiurile, împreună cu bacteriile și actinomicetele, contribuie la formarea *humusului* – rezerva de substanțe minerale ale solului care dau fertilitate solului.

Ca urmare a capacității de adaptare la cele mai diferite medii, mucegaiurile pot să se răspândească în celelalte habitaturi: datorită curenților de aer ajung pe suprafața plantelor, a legumelor, fructelor sub formă de hifă. În apă prezența lor este ocazională deoarece nu au condiții de dezvoltare.

Mucegaiurile ajung frecvent și pe suprafața alimentelor conducând la alterări importante. Prin defectul de *mucegăire* au loc modificări ale calităților senzoriale – aspect, culoare, miros, gust. Un anumit grup de mucegaiuri dezvoltate pe produse alimentare produc *micotoxine* care pot conduce la îmbolnăviri ale ficatului, rinichiului, sau la cancer, în urma ingerării de alimente mucegăite.

Din alt punct de vedere, se poate spune că mucegaiurile sunt capabile să paraziteze plante și animale.

Mucegaiuri patogene – mucegaiuri care cresc și care se înmulțesc în organismele vii.

Exemple: *Aspergillus fumigatus* – produce aspergilom pulmonar.

Mucegaiuri fitopatogene – mucegaiuri care cresc și care se înmulțesc pe plante și conduc la boli ale plantelor: rugina, tăciunele, mătura, fuzarioza. În cazul cerealelor, mucegaiurile conduc la o reducere a cantității de substanță utilă și implicit, la scăderea valorii tehnologice.

Mucegaiuri selecționate – mucegaiuri folosite în industria alimentară la: fabricarea unor brânzeturi cu pastă mucegăită (Rochfort, Camembert), fabricarea salamurilor crude de tip Sibiu, echipamentul enzimatic al mucegaiurilor contribuind la procesul de maturare.

Celula de bază a mucegaiurilor este de tip eucariot cu anumite particularități care conferă celulei o structură complexă, în comparație cu celula de drojdie.

Creșterea și reproducerea mucegaiurilor

În momentul în care spori sau fragmente de mucegaiuri ajung pe un mediu nutritiv are loc o germinare și creșterea radială a tuburilor germinative care se mai numesc și *hife* – organe ale creșterii vegetative.

Hifele îndeplinesc mai multe funcții:

- funcția de absorbție de substanțe nutritive, de fixare a mucegaiului pe mediu nutritiv – hife care se numesc **rizoizi**.
- funcția de extindere care determină formarea de tuburi germinative ramificate – hife care se numesc **stoloni**.
- funcția de reproducere – hife generatoare de spori, se formează în centrul coloniei, perpendiculare pe hifa generatoare și au o creștere limitată.

Totalitatea hifelor alcătuiesc un **miceliu** care poate fi: - **cenocitic** – formațiune în care citoplasma circulă liber, aseptat, format din hife ce nu prezintă pereți despărțitori – tip de miceliu caracteristic mucegaiurilor inferioare; miceliul **septat** – formațiune în care citoplasma circulă prin pori centrali – caracteristic mucegaiurilor superioare (la un anumit stadiu de dezvoltare celulele sunt separate între ele prin *septum* – por central sub formă de perete despărțitor).

Totalitatea hifelor ce se dezvoltă într-un por formează colonia cu aspecte diferite funcție de gen specie.

Coloniile mucegaiurilor superioare au o creștere limitată, o dezvoltare radială și un aspect pulverulent, prăfos, catifelat, de culori date de pigmenții sintetizați: alb, roz, portocaliu, verde, brun până la negru.

Coloniile mucegaiurilor inferioare se extind pe întreaga suprafață a mediului de cultură, cu un aspect păslos, de culori mai puțin variate: alb, cenușiu, brun.

Reproducerea mucegaiurilor – este un proces fiziologic complex și în cazul mucegaiurilor cunoscute și studiate se poate realiza pe două căi:

- **vegetativă**;
- **prin spori** – *pe cale asexuată* (prin sporangiospori sau conidiospori) sau pe cale *sexuată* prin spori perfecți (oospori, zigospori, ascospori sau bazidiospori).

MICOTOXINE (Dr. Anton Adriana)

Micotoxinele sunt produși de diverse genuri și specii de fungi care au capacitatea de a modifica structuri biologice normale cu efecte degradante atât la om, animale, plante, cât și la bacterii. Acești compusi pot fi conținuți în sporiile fungilor, în miceliile vegetative sau de cele mai multe ori sunt secretați în substratul de creștere. Când substratul este reprezentat de alimentele sau furajele care pot fi consumate de om sau respectiv de animal, consumatorii prezintă semne clinice particulare, ca urmare a ingestiei alimentelor contaminate cu mucegaiuri toxicogene. Unii dintre acești metaboliti au fost cunoscuți și cercetați pentru activitatea lor antibiotică. În numeroase regiuni de pe glob unele specii de mucegaiuri sunt utilizate la conditionarea unor produse alimentare pentru a le conferi gust și aromă plăcută. Astfel genul *Penicillium* și mai ales specia *Roqueforti* este utilizat la prepararea brânzei Roquefort, *Aspergillus comemberti* la prepararea brânzei Camembert, diferite tulpini de *Penicillium* se utilizează la prepararea unor tipuri de salamuri crude maturate. Unele tulpini de mucegaiuri selecționate sunt folosite pentru obținerea de preparate enzimatiche utilizate în tehnologiile industriale de fabricare a

produselor alimentare dietetice sau usor digerabile. Alte specii de mucegaiuri se folosesc in unele tehnologii industriale de obtinere a produselor alimentare pe cale fermentativa. Mult timp mucegaiurile au fost considerate nepericuloase pentru organism. Incepand din 1960 s-a depistat pe o gama mare de produse alimentare substante cu efect toxic deosebit de puternic secretate de o serie de tulpini de mucegaiuri. Micotoxigenza este un caracter aleator, transmis genetic si care poate fi stimulat prin tehnici speciale de cultivare. Avand toxicitate foarte mare, micotoxinele realizeaza concentratii letale sau patogene la cantitati foarte mici μg . care nu pot fi sesizate organoleptic si nici depistate prin metode curente de analiza toxicologica. Marea majoritate a micotoxinelor sunt termorezistente. De aceea exista o foarte mare rezerva privind contaminarea sau utilizarea mucegaiurilor in produse care intra in alimentatia omului sau animalelor. Distributia micotoxinelor in diferitele zone ale globului se caracterizeaza prin urmatoarele:

- in zonele reci (Canada, nordul Statelor Unite si majoritatea statelor europene) domina aflatoxinele
- in sudul si centrul Europei, unde se cultiva porumb (Suedia, Austria, Ungaria) domina fusariotoxinele (vomitoxina, zearalenona, ochratoxina etc.)
- in nordul Europei (Danemarca, Polonia) pe primul loc se afla ochratoxina A.
- in regiunile calde si umede din America Latina, Asia si unele zone din Australia mai raspandite sunt aflatoxinele. Intrucat micotoxinele nu provin din structuri chimice asemanatoare si nici efectele biologice nu se aseamana intre ele a fost greu de facut o clasificare a lor. Pentru simplificarea prezentarii acestui grup de produse toxice care pot influenta calitatea alimentelor sau nutretului, cu repercursiuni grave asupra consumatorului, s-au impartit micotoxinele in trei grupe:
 - micotoxine cu actiune cancerigena
 - micotoxine care produc aleucie toxica alimentara
 - micotoxine cu efecte nocive la om si animale

Micotoxine cu actiune cancerigena

Principalele micotoxine din aceasta grupa sunt: aflatoxinele, sterigmatocistina, ochratoxinele, patulina, citrina, griseofulvina, islanditoxina si luteoskirina.

Micotoxicologia studiaza intoxicatiile acute si cronice (micotoxicoze) produse de toxinele secretate in anumite conditii de unele ciuperci patogene.

Aflatoxinele au fost descoperite in 1960 moment ce a marcat asa zisa "revolutie a micotoxinelor". Ele sunt cele mai puternice carcinogene naturale cunoscute, mutagene si teratogene. Sunt secretate de un numar mare de mucegaiuri principalul producator fiind *Aspergillus flavus*. Se dezvoltă bine pe substante oleaginoase si produsele secundare rezultate la fabricarea uleiului. A fost depistat si pe produse alimentare de origine animala: branzeturi fermentate, preparate din carne. In conditiile extinderii in alimentatie a derivatelor proteice din leguminoase ca inlocuitori de lapte si de carne, a crescut posibilitatea ingerarii aflatoxinelor de catre populatie si in special de catre copii. Aflatoxinele sunt reprezentate de patru fractiuni majore si o serie de fractiuni minore. Principalele fractiuni cunoscute sunt aflatoxinele B₁, B₂, G₁, G₂.

Toxicitatea maxima o prezinta aflatoxina B1 urmata in ordine descrescatoare de G1, B2, G2. Aflatoxinele in stare libera sunt distruse de radiatiile UV, acizi, alcali si sunt usor oxidabile. In stare naturala sunt legate de proteine care le protejeaza. Aceste micotoxine prezinta analogii structurale cu hormonii steroizi in special estradiolul si unii corticosteroidi cu care intra in competitie. Cele mai frecvente localizari ale procesului tumoral sunt: ficatul, esofagul, stomacul, duodenul, rinichiul si pielea.

Sterigmatocistina: mucegaiurile producatoare de sterigmatocistina sunt *Aspergillus versicolor* si *Aspergillus nidulans* si sunt raspandite pe scara mondiala fiind prezente in majoritatea solurilor, pe cereale, pe branza veche, carne afumata, nutreturi.

Ochratoxinele sunt secretate de mucegaiuri din speciile *Aspergillus* si *Penicillium*. Ochratoxinele au fost identificate in numeroase produse alimentare cum sunt: grau, orz, ovaz, orez, leguminoase, cafea si peste sarat. Ochratoxina A se poate acumula in tesuturi (ficat, rinichi si muschi) si se elimina prin lapte. Producerea de ochratoxine de catre speciile de *Aspergillus* nu este posibila decat in conditii de umiditate mare si temperatura crescuta, in timp ce unele specii de *Penicillium* sunt capabile sa produca ochratoxine la temperaturi scazute, inclusiv la frigider. In cazul ochratoxicozelor observate pe teren la animale de ferma (porci, pasari) semnalate in mai multe regiuni, prima manifestare de boala a fost nefropatia cronica.

Patulina este elaborata de *Aspergillus clavatus* si *Penicillium urticae* si se acumuleaza in cereale si numeroase fructe si legume (mere, pere, piersici, caise, cirese, struguri, banana, tomate) putand trece si in produse de prelucrare, in special in sucuri. Produce inhibarea diviziunii celulare, a respiratiei celulare si tisulare, fapt care determina oprirea cresterii.

Citrinina este o nefrotoxina secretata de *Aspergillus* si *Penicillium*. Initial a fost utilizata ca antibiotic dar in testarile pe animale s-a constatat ca produce leziuni renale, intarzie cresterea si chiar produce moartea. Citrina a fost izolata din orezul infectat cu *Penicillium citrinum*. S-a gasit deasemenea in grau, secara, orz, ovaz. Impreuna cu Ochratoxina A, citrinina este implicata in unele tari in micotxicozele porcinelor. Islanditoxina si cicloclorotina sunt hepatotoxice.

Micotoxine producatoare de aleucie toxica alimentara

Trichotecenele reprezinta un grup de compusi chimici biologic activi rezultati ca produci de metabolism ai unor culturi de fungi din speciile *Fusarium*, *Trichotecium*, *Mycotecium*, *Cefalosporium* si *Stachiobotris*. Cel mai important producator de trichotecene este *Fusarium* deoarece afecteaza cel mai frecvent cerealele si semintele leguminoase in conditii climatice caracteristice tarii noastre. Se apreciaza ca aceste micotoxine, in tarile cu clima temperata prezinta un pericol mai mare decat aflatoxinele.

Temperatura optima de productie a toxinelor este cuprinsa intre 1,5 si 8°C. Fluctuatiile bruste de temperatura intensifica mult biosinteza toxinelor. Acestea sunt termostabile, rezistand 18 ore la 110°C si ca urmare isi manifesta efectul si dupa operatiile de coacere si fierbere.

Trichotecenele actioneaza prin suprimarea celulelor limfoide si mieloide ale sistemului hematopoietic, cu toate consecintele sale. Ele afecteaza sistemul

nervos provocand alterarea reflexelor, hiperestezie, deficienta de orientare. In intoxicatiile acute, trichotecenele provoaca vomismente, diaree, tahicardie, hipotensiune si colaps. Formele subacute se manifesta prin anemie si leucopenie. Toxicoză se desfasoara in patru stadii cu grad diferentiat de manifestare si forme diferite de leziuni. In primul stadiu apar leziuni in cavitatea bucala. In cel de-al doilea toxinele incep sa exercite un efect degradant asupra maduvei osoase, manifestat prin leucopenie progresiva si limfocitoza relativa. In al treilea stadiu apar hemoragii si zone de necroza in cavitatea bucala. Scade numarul de leucocite, de eritrocite, de trombocite si de limfocite. Pot apare infectii secundare care sa produca deces.

Micotoxine cu efecte nocive la animale si posibile la om

In acest grup de micotoxine sunt incluse o serie de substante care, cu putine exceptii, au fost dovedite toxice pentru animale dar care pot avea si efecte nocive si asupra omului. Cele mai importante sunt:

- Zearalenona care este produsa de o serie de tulpini din genul *Fusarium*. A fost detectata in diverse materii prime alimentare cum sunt: porumb, orz, faina, hamei, bere. In doze reduse are efect stimulant asupra sporului de greutate, fiind utilizata in acest scop. In doze mari are actiune estrogena, producand avort si sterilitate.
- Rubratoxinele sunt substante toxice elaborate de *Penicillium rubrum*. Factorul toxic este solubil in apa, termostabil si prezinta actiune antibiotica. Dozele subletale produc oprirea cresterii si aparitia unor malformatii congenitale la animalele de experienta. Sub actiunea rubratoxinelor s-au constatat degradari ale poliribozomilor fapt care determina o alterare a biosintezei proteinelor. Rubratoxina B are o actiune mutagena si teratogena.
- Acidul micofenolic este secretat de *Penicillium stoloniferum*, *viridicatum* si are actiune toxica asupra leucocitelor si eritrocitelor.
- Micotoxinele cu actiune tremorigena actioneaza asupra sistemului nervos central. Se dezvoltă pe porumb, arahide si leguminoase.

Prezenta micotoxinelor in diverse produse alimentare

Produsele de morarit si de panificatie au la baza cerealele, ce fac parte din familia gramineelor. Cele mai consumate in tara noastra sunt graul si porumbul, dupa care urmeaza orezul, secara, orzul si ovazul. In general cerealele nu se consuma ca atare, ci sunt supuse in prealabil la diferite prelucrari industriale in urma carora rezulta crupe (orz decorticat, arpacas, grau), gris, faina, fulgi, produse expandate. In timpul depozitarii cerealelor si a produselor de morarit si de panificatie, se dezvoltă in anumite conditii o microaeroflora in componenta careia se gasesc numerosi fungi care se inmultesc atunci cand umiditatea relativa a aerului e 80-85%, iar temperatura de peste 26°C. Produsul atacat devine o sursa de infectie iar toxina formata se acumuleaza si trece in produse. Micotoxinele trec si in produsele de macinat si ca urmare, pot fi gasite in paine si paste fainoase. In paine ele se formeaza destul de rar si numai cand se folosesc materii prime puternic contaminate. Trebuie avut in vedere insa ca o cantitate mica, cu un continut ridicat de micotoxine si mucegaiuri toxicogene, poate deprecia intregul lot de fabricatie. Procesul de fermentare al aluatului reduce numai in mica masura din cantitatea initiala de aflatoxine, ca urmare a

reactiilor de acidifiere si oxidare care au loc. Coacerea insa nu exercita nici un efect asupra continutului de micotoxine. Adaosul in aluat de substante oxidante de tipul bromatilor poate determina o reducere importanta de aflatoxine.

Semintele oleaginoase si in special arahidele sunt usor atacate de *Aspergillus flavus* cu formarea de aflatoxine. Momentele critice ale invadarii semintelor de catre mucegai sunt recoltarea si depozitarea. Uscarea imediata este cea mai buna metoda de a preveni contaminarea arahidelor cu micotoxine. In procesul de obtinere a uleiului prin presare, cantitatea cea mai mare de micotoxine ramane in turte si doar 5% trece in ulei. Cand obtinerea uleiului se face prin extractie cu solventi, o mare parte de toxine trece in ulei. Semintele de floarea soarelui reprezinta si ele un mediu bun pentru dezvoltarea micotoxinelor. Rafinarea uleiului reduce substantial din continutul de micotoxine datorita tratamentului cu alkali cand se formeaza saruri solubile care sunt usor eliminate prin tratarea cu pamant decolorant. In cazul in care decolorarea se face in prezenta acidului citric, efectul de detoxifiere este mult mai complet. Legumele si fructele pot acumula si ele micotoxine. Astfel in morcovi s-au pus in evidenta aflatoxine ca urmare a dezvoltarii lui *Aspergillus parasiticus*. Pe suprafata citricelor se dezvolta *Aspergillus flavus* si *parasiticus* care formeaza aflatoxinele B1 si G1 care trec in suc. In 84% din fructe si produse din fructe s-a gasit patulina. Pe fructele uscate se pot forma aflatoxine in ordinea frecventei fiind caise, smochine, ananas. Patulina a fost gasita si in gemuri deoarece zaharul are un efect protector asupra micotoxinelor in timpul tratamentului termic. Carnea poate contine micotoxine ca urmare a consumului de furaje mucegaite de catre animale. Cantitatea cea mai mare se gaseste in rinichi (in special ochratoxine) care se caracterizeaza printr-o termostabilitate ridicata. O sursa de infectare cu mucegaiuri toxinogene si chiar cu micotoxine a preparatelor de carne o reprezinta si condimentele. S-a stabilit ca dezvoltarea mucegaiurilor si acumularea micotoxinelor are loc mai ales cand pastrarea produselor se face in conditii ne frigorifice. Cea mai eficienta metoda pentru prevenirea dezvoltarii mucegaiurilor si aparitia micotoxinelor este adaugarea in produse de sorbat de potasiu. Laptele si produsele lactate: cercetarile efectuate asupra laptelui praf au pus in evidenta un numar mare de mucegaiuri in cazul in care depozitarea s-a facut in conditii necorespunzatoare. Numarul cel mai mic de mucegaiuri este inregistrat la branzeturile oparite, deoarece consistenta crescuta a pastei impiedica patrunderea filamentelor de mucegai de la suprafata spre profunzime. Aflatoxinele pot fi prezente si in branzeturile topite dar cu o frecventa mai mica decat la alte tipuri. In general branzeturile maturate cu mucegaiuri, toxinele se gasesc in cantitati mici si nu prezinta pericol pentru consumatori. Pentru evitarea acumularii toxinelor, branzeturile trebuie depozitate la temperaturi scazute.

Preparatele enzimatice fungice reprezinta o preocupare importanta a cercetarii stiintifice. Insemnatatea acestor cercetari este evidenta daca se tine seama de eficienta economica a preparatelor enzimatice, de reducerea timpului de fabricatie, a consumurilor specifice si de imbunatatirea calitatii produselor.

Utilizarea micotoxinelor poate fi considerate ca o arma insidioasa, din cauza:

- dificultatilor de depistare cu metodele uzuale.
- in cazul depistarii cu metode de cercetare stiintifica faptul nu este relevant deoarece mucegaiurile toxinogene sunt ubicuitare.
- intoxicatia letala se produce lent, in 1-3 zile, in acest interval de timp toxinele se metabolizeaza, apar metaboliti inca necunoscuti si nedepistabili, ceea ce face ca diagnosticul de laborator al intoxicatiei cu micotoxine sa fie greu de sustinut.
- in intoxicatii cu doze subletale exista leziuni organice (de exemplu cancer hepatic), in interval de 5-10 ani, deci e greu de stabilit etiologia bolii.
- o forma particulara de intrebuintare militara poate fi diseminarea masiva in teritoriul inamic a sporilor de mucegaiuri toxinogene. Trebuie mentionat si faptul ca in diferite tari se continua cercetarile in directia realizarii unor noi categorii de substante toxice, cum ar fi micotoxinele naturale si de semisinteza.

Sunt cunoscute preocuparile unor state pentru utilizarea toxinelor de semisinteza, in principal micotoxinele, care se incadreaza mai mult in domeniul armelor chimice decat al armelor biologice.

Prevenirea micotoxicozelor Expertii considera ca cea mai eficienta metoda de evitare a urmarilor micotoxicozelor este prevenirea infestarii cu fungi a culturilor agricole. Masurile de politie sanitara prevad supravegherea produselor alimentare cu risc de contaminare micotoxica. Europa are cel mai riguros sistem de reglementare al prezentei micotoxinelor in alimente. Reglementarile europene actuale au apropiat foarte mult standardele de productie a nutreturilor de cele din industria alimentara. Potrivit acestora, intreprinderile producatoare de nutreturi trebuie sa se asemeze in proportie tot mai ridicata cu intreprinderile care produc alimente iar nutreturile sa corespunda celor mai performante conditii nutritionale si igienice. Deci intr-o Europa dezvoltata, lantul de nutreturi trebuie sa devina un lant alimentar care se bucura de increderea consumatorilor. Din pacate, in ultimii ani, aceasta incredere a fost stirbita ca urmare a poluarii cu agenti microbieni, micelii si micotoxine, organisme modificate genetic, diferiti aditivi alimentari (antibiotice utilizate ca factori de crestere, hormoni). Increderea consumatorilor se poate restabili doar daca animalele au asigurate produse alimentare care satisfac conditiile:

- confera siguranta nutritionala la animale
- confera siguranta omului (contin numai sortimente naturale, nu au in structura organisme modificate genetic si nu exercita actiuni nocive)
- confera siguranta mediului

Legislatia care reglementeaza si stipuleaza nivelele minime admise la diferite micotoxine difera. Astfel, in SUA exista o legislatie pusa la dispozitia agentilor sanitare, care realizeaza controlul de calitate al alimentelor. In Uniunea Europeana restrictiile sunt mai severe dar acestea se refera doar la anumite sortimente. In Romania, nivelul maxim admis de aflatoxina B1 (cea mai toxica) permis in produsele alimentare este de 5µg/kg.

BIBLIOGRAFIE

1. ORDEANU V. « Curs de microbiologie generala si farmaceutica » UMF, FF an II, 2009 (nepublicat)