



UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

Diana Uțu
Alina Arabela Jojić
Cristiana Mabda
Mirela Voicu
Sergio Liga

MICROBIOLOGIE SPECIALĂ BACTERIOLOGIE

MANUALE

Editura „Victor Babeș”
Timișoara, 2025

Editura „Victor Babeș”

Piața Eftimie Murgu nr. 2, cam. 316, 300041 Timișoara

Tel./Fax 0256 495 210

e-mail: evb@umft.ro

www.umft.ro/ro/organizare-evb/

Director general: Prof. univ. dr. Sorin Ursoniu

Colecția: MANUALE

**Coordonatori colecție: Prof. univ. dr. Codruța Șoica
Prof. univ. dr. Daniel Lighezan**

Referent științific: Prof. univ. dr. Cristina Dehelean

© 2025

Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate.

Reproducerea parțială sau integrală a textului, pe orice suport, fără acordul scris al autorilor este interzisă și se va sancționa conform legilor în vigoare.

ISBN 978-606-786-468-7

CUPRINS

1. COCI GRAM POZITIVI ȘI NEGATIVI	6
1.1. COCI GRAM POZITIVI.....	6
1.1.1. GENUL STAPHYLOCOCCUS	6
1.1.1.1. STAFILOCOCI COAGULAZO-POZITIVI.....	7
1.1.1.2. STAFILOCOCI COAGULAZO-NEGATIVI	16
1.1.2. GENUL <i>STREPTOCOCCUS</i>	18
1.1.2.1. STREPTOCOCI α -HEMOLITICI	20
1.1.2.2. STREPTOCOCI β -HEMOLITICI	26
1.1.2.2.1. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP A.....	27
1.1.2.2.2. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP B.....	31
1.1.2.2.3. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP C.....	34
1.1.2.3. STREPTOCOCII DE GRUP D.....	35
1.1.2.4. STREPTOCOCII DE GRUP F	36
1.1.2.5. STREPTOCOCII DE GRUP G.....	36
1.2. COCI GRAM NEGATIVI.....	38
1.2.1. GENUL <i>NEISSERIA</i>	38
1.2.1.1. <i>NEISSERIA MENINGITIDIS</i> (MENINGOCOCUL)	39
1.2.1.2. <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i> (GONOCOCUL)	48
2. BACILI	57
2.1. BACILI GRAM-POZITIVI	57
2.1.1. Genul <i>Bacillus</i>	58
2.1.2. Genul <i>Corynebacterium</i>	62
2.1.3. Genul <i>Listeria</i>	66
2.1.4. Genul <i>Erysipelotrix</i>	69
2.2. BACILI GRAM-NEGATIVI AEROBI GLUCOZO-FERMENTATIVI	71
2.2.1. Familia <i>Enterobacteriaceae</i>	71
2.2.1.1. Genul <i>Salmonella</i>	76
2.2.1.2. Genul <i>Shigella</i>	80
2.2.1.3. Genul <i>Yersinia</i>	82
2.2.1.4. Genul <i>Escherichia</i>	86
2.2.1.5. Genul <i>Klebsiella</i>	90
2.2.1.6. Genul <i>Proteus</i>	94
2.2.1.7. Genul <i>Morganella</i> și genul <i>Providencia</i>	97
2.2.1.8. Alte genuri care includ specii oportuniste de <i>Enterobacteriaceae</i>	98
2.2.1.9. Familia <i>Vibrionaceae</i>	99

3. BACILI SI COCOBACILI GRAM NEGATIVI GLUCOZO NON-FERMENTATIVI.....	104
3.1. GENUL <i>PSEUDOMONAS</i>	104
3.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	104
3.2. <i>BURKHOLDERIA CEPACIA</i>	106
3.3. <i>STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA</i>	107
3.4. GENUL <i>ACINETOBACTER</i>	107
3.5. GENUL <i>MORAXELLA</i>	109
4. BACILI GRAM-NEGATIVI AEROBI SAU FACULTATIV ANAEROBI PRETENȚIOȘI NUTRITIV	111
4.1. GENUL <i>HAEMOPHILUS</i>	111
4.1.1. <i>Haemophilus influenzae</i>	112
4.2. GENUL <i>BORDETELLA</i>	114
4.2.1. <i>Bordetella pertussis</i>	114
4.3. GENUL <i>GARDNERELLA</i>	116
4.3.1. <i>Gardnerella vaginalis</i>	116
4.4. GENUL <i>LEGIONELLA</i>	118
4.5. GENUL <i>CAMPYLOBACTER</i>	119
4.6. GENUL <i>HELICOBACTER</i>	121
5. GENUL MYCOBACTERIUM.....	124
5.1. <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> (BACIL KOCH)	126
5.2. <i>MYCOBACTERIUM LEPRAE</i>	128
5.3. MYCOBACTERII ATIPICE	129
6. BACTERII STRICT ANAEROBE.....	131
6.1. MICROORGANISME EXOGENE ANAEROBE SPORULATE TOXIGENE.....	131
6.1.1. Genul <i>Clostridium</i>	131
6.1.1.1. <i>Clostridium botulinum</i>	132
6.1.1.2. <i>Clostridium tetani</i>	134
6.1.1.3. Clostridiile gangrenei gazoase	135
6.1.1.4. <i>Clostridium difficile</i>	137
6.2. MICROORGANISME ANAEROBE ENDOGENE A SPORULATE	139
6.2.1. Genul <i>Actinomyces</i>	139
6.2.2. Genul <i>Propionibacterium</i>	140
6.2.3. Genul <i>Bacteroides</i>	142
6.2.4. Genul <i>Fusobacterium</i>	144
7. COCII ANAEROBI	146

8. BACTERII ATIPICE.....	147
8.1. GENUL <i>CHLAMYDIA</i>	147
8.1.1. <i>Chlamydia pneumoniae</i>	147
8.1.2. <i>Chlamydia trachomatis</i>	149
8.1.3. <i>Chlamydia psittaci</i>	151
9. GENUL <i>MYCOPLASMA</i> ȘI <i>UREAPLASMA</i>	153
10. FAMILIA <i>RICKETTSIACEAE</i>	156
11. BACTERII SPIRALATE	160
11.1. GENUL <i>TREPONEMA</i>	160
11.2. GENUL <i>BORRELIA</i>	166
11.3. GENUL <i>LEPTOSPIRA</i>	170
12. MICROBIOLOGIE FARMACEUTICĂ.....	173
12.1. INTRODUCERE.....	173
12.2. PREZENTARE GENERALĂ A MICROBIOLOGIEI FARMACEUTICE	174
12.2.1. Metoda de testare microbiologică.....	175
12.3. TEHNICI DE TESTARE.....	178
12.3.1. Tehnica determinării numărului total de colonii.....	178
12.3.1.1. Turnarea în medii de cultură	179
12.3.1.2. Turnarea în plăci prin împrăștiere pe suprafață (metoda Miles–Misra).....	179
12.3.1.3. Metoda de filtrare cu membrană	179
12.3.2. Metoda MPN sau metoda zerourilor Poisson:	181
12.3.3. Alte tehnici de microbiologie farmaceutică:.....	181
BIBLIOGRAFIE	182

1. COCI GRAM POZITIVI ȘI NEGATIVI

1.1. COCI GRAM POZITIVI

Cocii gram pozitivi sunt bacterii larg răspândite în natură, se regăsesc frecvent ca floră saprofită la nivelul pielii și al mucoaselor tractului respirator, digestiv sau genital.

1.1.1. GENUL STAPHYLOCOCCUS

Stafilecocii sunt un grup mare de bacterii gram pozitive ce fac parte din genul *Staphylococcus*, familia *Staphylococcaceae* fiind coci catalazo-pozitivi, cu formă rotundă. Pe mediul de cultură coloniile stafilecocice se regăsesc sub formă de perechi, tetraedre însă majoritatea formează grămezi neregulate sub formă de “ciorchine de strugure”, de unde provine și denumirea de *staphyle*, care în limba greacă înseamnă “strugure”. Sunt coci nesporulați, facultativi anaerobi, majoritatea sunt coagulazo-negativi (excepție stafilecocol auriu) și produc acid lactic.

Stafilecocii se numără printre speciile microbiene dominante de la nivelul pielii și al mucoaselor, făcând parte din microbiomul cutanat și al tractului nazo-faringian.

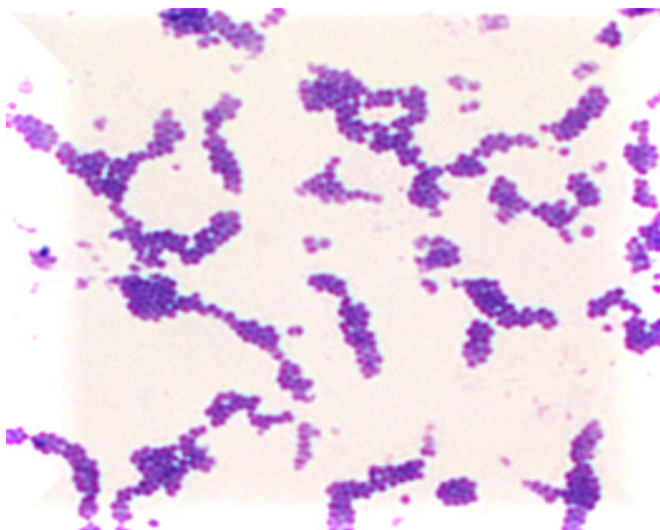


Figura 1. *Staphylococcus spp.*, colorație Gram.

Clasificare

Genul *Staphylococcus* cuprinde în total 42 de specii microbiene cu numeroase subspecii, la om fiind identificate însă 24 de specii stafilococice patogene. Printre cele mai cunoscute și des întâlnite specii se numără:

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus lugdunensis*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus schleiferi*
- *Staphylococcus haemolyticus*

Primele patru specii, în special *S.aureus*, sunt cele mai patogene pentru organismul uman.

În funcție de capacitatea de a secreta coagulaza (o enzimă), stafilococii sunt grupați în:

- coagulazo-pozitivi (*S aureus* - singura specie producătoare de coagulază),
- coagulazo-negativi (toate celelalte specii).

1.1.1.1. STAFILOCOCI COAGULAZO-POZITIVI

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus aureus este o specie bacteriană descoperită de către Sir Alexander Ogston. Este cea mai întâlnită tulpină bacteriană din rândul stafilococilor, condiționat patogenă și foarte virulentă.

Caractere morfologice

Sunt coci gram pozitivi, imobili, nesporulați, cu aspect rotund, dispuși sub formă de ciorchine de struguri. În general sunt capsulați, facultativ anaerobi și evidențiază două caracteristici importante: sunt catalazo-pozitivi și coagulazo-pozitivi.



Figura 2. *Staphylococcus aureus* pe Mannitol Salt Agar (MSA), (mediu Chapman)



Figura 3. Colonii de *Staphylococcus aureus* pe geloză sânge, β -hemolitice.

Habitat și epidemiologie

S. aureus este atât o bacterie comensală cât și una condiționat patogenă. Un procent de 30%-50% din populație prezintă acest micro-organism în cavitatea nazală sau la nivel cutanat (în special inghinal, axilar), pacienții fiind asimptomatici. Persoanele purtătoare ale acestei tulpini la nivelul cavității nazale au un risc mult mai mare de a dezvolta ulterior o infecție, fiind indirect implicați în răspândirea stafilococului auriu metilicilino rezistent (MRSA).

Este un germene oportunist patogen atunci când imunitatea pacientului este scăzută și nu mai există o barieră antimicrobiană eficientă (imunosupresie, carențe nutritive, diabet zaharat, afecțiuni endocrine, arsuri, răni) și este considerat cel mai virulent microorganism din acest gen, cu un grad de diseminare crescut fiind foarte rezistent la temperaturi înalte (rezistă la temperaturi foarte înalte, de până la 60°C pentru aprox 30 min). Acest agent patogen este unul dintre principalele cauze ale infecțiilor sanguine (bacteriemie, endocardite), osteoarticulare, cutanate, pulmonare și infecții la pacienții cu diverse dispozitive implantate. Riscul de a dezvolta bacteriemie este influențat și de categoria de vârstă (copii și vârstnici). Mortalitatea apare la 20% dintre pacienții care sunt infectați cu acest tip de bacterie în decurs de 30 zile de la contaminare.

Patogenitate

Virulența crescută a stafilococului auriu se datorează în primul rând procesului invaziv direct cu distrugerea ulterioară a țesuturilor și prin eliberarea de toxine microbiene.

Staphylococcus aureus are un grad extrem de ridicat de pirogenitate, există numeroși factori implicați în patogenitatea demonstrând virulența crescută a acestei specii:

- Prezența capsulei (90% din tulpini)
 - prezența polizaharidelor extracelulare care coloniizează materialul protetic cu formarea unui biofilm.
- Componente ale peretelui celular:
 - acidul teichoic, lipoteichoic și peptidoglicanul – favorizează adeziunea celulei bacteriene de mucoase, asigură rigiditatea celulei bacteriene, stimulează eliberarea de citokine cu inducerea răspunsului inflamator
 - factor de aglutinare – produce reacția pozitivă la coagulază,
 - proteine de suprafață (factorii de aglutinare A și B, proteina care leagă collagenul, fibronectina, proteine de suprafață A-K etc.) care adera de matricea extracelulară a organismului gazdă.

➤ Toxine stafilococice:

- α -hemolizina, β -hemolizina, γ -hemolizina, δ -hemolizina,
- leucocidina Panton-Valentine, enzime care sunt direcționate către leucocite și formează pori în membrana acestora. Tulpinile care produc această toxină au rol în apariția infecțiilor cutanate cu MRSA, a furunculozei și a pneumoniilor hemoragice severe,
- toxine exfoliative (A și B) - sunt toxine epidermolitice care cauzează sindromul pielii opărite, necroliză epidermică toxică, sindromul Ritter sau impetigo bulos,
- enterotoxine (superantigene):
 - toxinele responsabile de apariția sindromului șocului toxic (enterotoxinele F, B, C)
 - enterotoxinele stafilococice termostabile (nu sunt distruse prin încălzirea alimentelor), sunt responsabile de toxiinfecțiile alimentare, având o perioadă de incubație de maxim 6 ore.

➤ Enzime extracelulare: coagulaza, fosfataza, AND-aza, termonucleaza stabilă la temperaturi ridicate, proteaza, hialuronidaza, lipaza, fibrinolizina.

Manifestări clinice

S.aureus este responsabil de numeroase tipuri de patologii, pornind de la infecții ușoare, superficiale ale pielii sau ale mucoaselor (stafilococii cutanate, locale) până la boli sistemice severe cu potențial letal, prin procesul de proliferare a agentului bacterian în interiorul țesuturilor cu distrugerea ulterioară a acestora.

➤ **Infecții localizate și generalizate**

Infecțiile cutanate și subcutanate – *S. aureus* este agentul patogen cel mai frecvent responsabil pentru infecțiile cutanate și subcutanate purulente, în special la nivelul arsurilor sau al plăgilor și poate duce la apariția bacteriemiei. Factorii de risc principali pentru apariția acestui status patologic includ afecțiuni sistemice asociate, cum ar fi diabetul, bolile cardiovasculare,

prezența unor dispozitive medicale și vârstele extreme. Țesutul cutanat reprezintă poarta de intrare a bacteriei în profunzime, permițând pătrunderea sa în fluxul sanguin și provocând infecție.

Infecțiile cutanate sunt principalul factor responsabil pentru bacteriemia asociată sepsisului, caracterizată printr-un răspuns inflamator puternic și efecte imunosupresoare care deteriorează țesuturile. Inflamația produsă conduce la coagularea intravasculară diseminată, afectând endoteliul vascular și blocând fluxul sanguin către organe. Această coagulare este adesea urmată de hemoragii care afectează în continuare funcția organelor.

Acest proces se datorează interferenței cu sistemul de coagulare și modificării echilibrului dintre factorii pro și anticoagulanți. Mortalitatea în cazurile de bacteriemie severă este de 20-30%, iar în anumite cazuri există o rată de recidivă de aproximativ 10%.

Cele mai frecvente infecții provocate de *Staphylococcus aureus* sunt:

- **impetigo bulos**– infecție cu localizare la nivelul feței și al membrilor, sub formă de leziuni de tip macule, vezicule, pustule ce progresează spre formarea crustelor fără apariția simptomelor sistemice. Această patologie este cea mai comună infecție bacteriană ce apare în rândul copiilor. În cazul infecțiilor cu *S.aureus* rata de recuperare este de 57-81%. Impetigo non-bulos a fost asociat cu dubla infectare dintre *S.aureus* și *S.pyogenes*,
- **infecții la nivelul plăgilor și arsurilor**,
- **foliculita** – infecție piogenă, caracterizată prin localizarea *S. aureus* la nivelul foliculului pilos,
- **furunculoza** –infecția se extinde la nivelul glandelor sebacee,
- **carbuncul sau furuncul antracoid** –infecția diseminează la nivelul glandelor pilosebacee și la nivelul țesutului celular subcutanat profund,
- **panariții** – infecții periunghiale,
- **mastită** – infecții la nivelul glandelor mamare,
- **hidrosadenită** – infecție a glandelor sudoripare,
- **orjelet** – infecție la nivelul pleoapei (ulcior),

- **celulita nepurulentă** – apare mai rar și afectează în general extremitățile, abdomenul și fața,
- **fasciita necrozantă** – este mai rar produsă de către *S.aureus* (agentul patogen principal este *S.pyogenes*).

Infecții respiratorii: otite, sinuzite sau pneumonii. În toate aceste cazuri răspunsul imun este deosebit de important, totuși pneumoniile stafilococice sunt rare, reprezintă doar 2% din totalul pneumoniilor dobândite în comunitate și sunt favorizate de infecțiile virale.

Infecții osteoarticulare: artrita septică și osteomielita (o infecție a osului caracterizată prin inflamația, necroza și ulterior distrugerea osului). *Staphylococcus aureus* fiind principalul microorganism incriminat în dezvoltarea osteomielitei și a artritei septice, cu o prevalență de 30-76%.

Infecții sistemice: endocardite, meningite, bacteriemie, septicemie.

Infecțiile stafilococice pot progresa adesea la nivel visceral, afectând țesuturi precum cele pulmonare, cardiace și renale, contribuind în cele din urmă la declanșarea septicemiei. *Staphylococcus aureus* poate provoca bacteriemie la pacienții cu diverse patologii grave, mai ales atunci când bacteriile sunt localizate în straturile profunde ale țesuturilor. Cele mai profunde focare infecțioase sunt cele endovasculare, care pot duce la dezvoltarea endocarditei la 25% din cazuri. De asemenea, infecția poate pătrunde în sistemul nervos central, articulații, oase, țesuturi moi și cavitatea intraabdominală.

➤ **Infecții toxigene**

S.aureus poate produce un total de 24 tipuri de exotoxine cu proprietăți superantigenice, care sunt asociate cu infecția stafilococică fulminantă, dezvoltând o infecție explozivă, intensă și severă. Printre acestea se numără:

- **Pneumonia necrozantă**

Pneumonia cauzată de eliberarea unei exotoxine rare este un tip de infecție pulmonară mai puțin frecventă, dar cu un caracter fulminant. Într-un studiu realizat de Lina et al. în 1999 pe 172 de tulpini de *Staphylococcus aureus*, s-a constatat că 85% dintre tulpinile izolate de la pacienții cu

pneumonie severă dobândită în comunitate prezentau genele lukS-PV și lukF-PV. Aceste gene codifică exotoxina stafilococică rară numită Panton-Valentine leucocidina.

Gradul de mortalitate la pacienții afectați de această formă de pneumonie stafilococică a fost de 75%, iar boala are o evoluție rapidă și severă. Simptomele includ necroză pulmonară însoțită de sângerări. Tulpinile care nu produc această exotoxină rară prezintă o evoluție mai favorabilă și nu sunt asociate cu necroză sau leucopenie. Prin urmare, severitatea pneumoniilor stafilococice depinde de factorii de virulență ai germenului.

- **Sindromul pielii opărite sau dermatita exfoliativa** (sindromul Ritter; Staphylococcal Scalded Skin Syndrome - SSSS)

Este asociată cu o producere masivă de exfoliantină cu descumarea ulterioară a epiteliului. Apare la nou-născuți și la pacienții cu imunitate scăzută, fiind de fapt o formă gravă de impetigo.

- **Toxiinfecția alimentară (TIA)**

Intoxicația alimentară cauzată de ingestia unor alimente contaminate cu enterotoxină stafilococică este o afecțiune frecvent întâlnită. Este important de menționat că enterotoxinele stafilococice sunt termorezistente și nu sunt distruse prin fierbere. În cazul pacienților care consumă antibiotice cu spectru larg, distrugerea florei saprofite a organismului poate duce la enterocolite, deoarece aceste condiții permit suprad dezvoltarea bacteriilor *Staphylococcus aureus*.

- **Sindromul șocului toxic** (Toxic Shock Syndrome – TSS)

Această afecțiune este un alt tip de patologie rară, descris în anul 1978 la copii cu vârste între 8 și 17 ani. Din numeroasele exotoxine stafilococice secretate de către *S aureus*, 4 sunt responsabile de apariția șocului toxic (toxina 1 a sindromului șocului toxic, numită și TSST-1, enterotoxina A, C și B – în ordinea descrescătoare a virulenței), fiind evidențiată în următoarele cazuri:

- în rândul femeilor, în perioada menstruală datorită utilizării de absorbante vaginale care stimulează sinteza de exotoxină stafilococică. Aceasta pătrunde în organism pe cale uterină și poate declanșa astfel sindromul șocului toxic,
- în urma unei nașteri sau a unui avort,
- în cazul infecțiilor arsurilor și a plăgilor.

Staphylococcus aureus a fost izolat exclusiv din mucoase, în timp ce celelalte medii biologice, cum ar fi sângele, urina și lichidul cefalorahidian, au rămas sterile, chiar dacă infecția era severă. Acest lucru sugerează că gravitatea infecției era determinată de eliberarea toxinelor, definind astfel o patologie clinică specifică.

Inițial, simptomele sunt asemănătoare gripei, incluzând febră ridicată, cefalee, frisoane, mialgii și dureri în gât. Sindromul șocului toxic se manifestă printr-o deteriorare rapidă, asociată cu un sindrom infecțios, care afectează mucoasele și țesutul cutanat și duce la insuficiență hemodinamică.

Pacienții dezvoltă o erupție cutanată nedureroasă, asemănătoare arsurilor solare, care este nespecifică și difuză. În general, se observă eritem și edem local, în special la nivelul palmelor și tălpilor. Alte simptome includ hipotensiune, insuficiență renală și hepatică, afectarea mucoaselor orale, vaginale și conjunctivale.

Dacă evoluția este favorabilă, erupția cutanată începe să se descuameze după aproximativ două săptămâni. În SUA, incidența sindromului șocului toxic este de 1-3 cazuri la 100.000 de locuitori. Infecțiile stafilococice fulminante au un potențial letal, astfel încât este esențial să se instituie rapid antibioterapia, să se asigure hidratarea corespunzătoare, să se corecteze disfuncțiile organice și să se monitorizeze constant pacientul.

➤ Infecții nosocomiale

Tulpina de *S. aureus* este o tulpină producătoare de β -lactamază (aprox. 90% din tulpini) și este frecvent rezistentă la β -lactamine, în special la metilicilină (*S. aureus* metilicilino rezistent -MRSA). *S. aureus* este frecvent responsabil pentru infecțiile nosocomiale. Inițial, era considerat un agent patogen care provoca exclusiv infecții nosocomiale, dar în prezent este adesea transmis și în comunitate. Transmiterea are loc în principal prin contact direct, adesea prin purtători sănătoși de germeni, prin portaj nazal sau mâini contaminate.

MRSA “comunitar” cauzează în principal infecții cutanate și subcutanate, dar poate afecta și sistemele respirator, digestiv, osos și articular sau poate duce la infecții generalizate. Utilizarea pe scară largă a antibioterapiei a condus la dezvoltarea tulpinilor rezistente de *S. aureus*, cunoscute sub numele de MRSA.

Tratament

Stafilococii metilino-sensibili care sunt responsabili de infecții cutanate și infecții ale țesuturilor moi pot fi tratați cu aminopeniciline (dicloxacilina) sau cefalosporine de generația I (cefalexin). În infecții mai severe (sistemice), se administrează penicilina G sau aminopeniciline (oxacilina).

La ora actuală a apărut rezistența *S.aureus* la beta-lactamine din cauza producției crescute de enzime de tip β -lactamaze, care distrug structura β -lactamică. Mai mult de 90% din tulpinile speciei *S.aureus* au devenit rezistente, motiv pentru care se asociază peniciline cu inhibitorii de β -lactamaze (sulbactam / acid clavulanic).

De asemenea alterarea proteinelor de la suprafața celulei bacteriene - proteine de care se leagă penicilinele, a contribuit la apariția rezistenței la β -lactamine. β -lactaminele se leagă în mod normal de aceste proteine și inhibă sinteza peretelui celular, prin alterarea acestor proteine, efectul antibacterian al β -lactaminelor este minimalizat.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS METILINO REZISTENT (MRSA)

Staphylococcus aureus rezistent la metilina (MRSA) a apărut rapid după introducerea metilinei în terapie în anii 1960. Totuși, abia în anii 1980 MRSA a început să devină o amenințare globală, fiind responsabilă în principal pentru infecții nosocomiale. MRSA este rezistent la metilina și la alte β -lactamine, iar rata mortalității asociată cu aceste infecții este ridicată.

Există două forme principale de MRSA: dobândit în comunitate și dobândit din spital. MRSA dobândit în comunitate este caracterizat printr-o virulență crescută și provoacă infecții invazive ale țesutului cutanat și al țesuturilor moi. În contrast, MRSA dobândit din spital este responsabil pentru infecții nosocomiale și este rezistent la un număr mai mare de antibiotice.

Manifestări clinice

Este responsabil de infecții cutanate și infecții ale țesuturilor moi precum și de infecții invazive: pneumonia necrozantă, fasciita necrozantă, purpura fulminantă și sepsis.

Tratament

MRSA (*S. aureus* rezistent la meticilină) este în general rezistent la β -lactamine, cu excepția cefalosporinelor de generația a V-a, precum ceftolozan, ceftarolină și ceftobiprol. Pentru infecțiile sistemice, tratamentul de elecție este vancomicina, administrată intravenos în doze de 15-20 mg/kg/zi. Ca opțiuni alternative, se pot utiliza tigeciclina, teicoplanina, quinupristin-dalfopristin și linezolid. Infecțiile cutanate cauzate de MRSA pot fi tratate cu daptomicină, clindamicină, linezolid, clotrimoxazol sau doxiciclina. Daptomicina este de asemenea recomandată pentru tratamentul endocarditei. În unele cazuri, eritromicina sau tetraciclina pot fi eficiente.

1.1.1.2. STAFILOCOCI COAGULAZO-NEGATIVI

Stafilococii coagulazo-negativi sunt reprezentați de: *S.epidermidis*, *S.haemolyticus*, *S.lugdunensis*, *S.saprophyticus*, *S.schleiferi*, *S.auricularis*, *S.hominis*, *S.simulans*, *S.capitis*, *S.cohnii*, *S. warneri*.

Caractere morfologice

Stafilococii coagulazo-negativi nu au capacitatea de a secreta coagulaza și anumiți factori de virulență specifici *S.aureus*, putându-se diferenția astfel de acesta.

Habitat și epidemiologie

Habitatul lor este identic cu cel al speciei *S. aureus*, mai exact pielea și mucoasele, fiind comensali naturali ai pielii iar sursa de contaminare este flora normală tegumentară. În unele cazuri localizarea este specifică și anume: subsp. *S. auricularis* se localizează în canalul auditiv sau subsp. *S.capitis* pe scalp.

Infecția cu stafilococii coagulazo-negativi apare cel mai frecvent la persoanele care au material protetic (valve cardiace, proteze articulare), aceste tulpini fiind rezistente la numeroase antibiotice.

Patogenitate

Stafilococii coagulazo-negativi produc polizaharide de adeziune, având capacitatea de a forma un biofilm la nivelul dispozitivelor proteice, acesta oferind rezistență microorganismului la tratamentele cu antibiotice.

S.saprophyticus are preferință pentru uroepiteliu datorită unor factori de patogenitate pe care îi secretă, migrează la nivel urinar, atașându-se de epiteliul urinar.

Manifestări clinice

Printre principalele patologii pe care le produc tulpinile stafilococice coagulazo-negative sunt:

- **infecții la pacienții cu diferite dispozitive implantate (proteze, valve)** – adesea infecții cu *S.schleiferi* și *S.lugdunensis*;
- **infecții ale protezelor articulare** - la nivelul șoldului, genunchiului;
- **endocardita** – în special la pacienții cu proteze valvulare (ex: *S.epidermidis* sau *S.haemolyticus* – care pătrund în organism în timpul intervenției chirurgicale);
- **infecții ale tractului urinar** – în special *S. saprophyticus*, favorizează infecțiile urinare la femeile tinere, active sexual;
- **osteomielita** sternală post-chirurgical ;
- **endoftalmita** după traumatisme sau intervenții chirurgicale;
- **bacteriemie** la pacienții imunocompromiși și bacteriemii necocomiale neonatale.

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

S. epidermidis este cea mai comună specie din categoria stafilococilor coagulazo- negativi, produce aproximativ 60-70% din totalul infecțiilor produse de acești germeni.

Caractere morfologice

Este un microorganism oportunist patogen, de tip gram pozitiv care nu secretă coagulază.

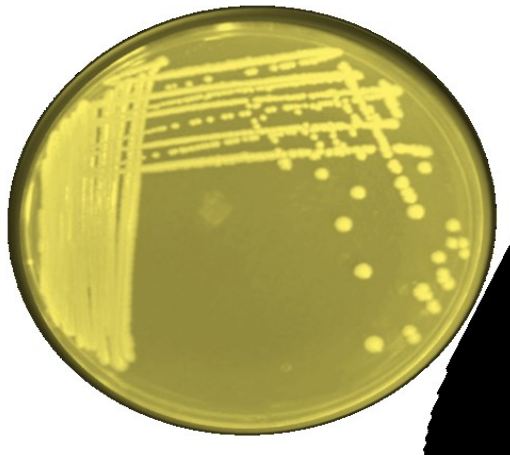


Figura 4. Colonii γ hemolitice (non hemolitice) de *Staphylococcus epidermidis* pe agar.

Habitat și epidemiologie

Acesta a fost izolat în mod frecvent la nivel cutanat, unde nu exercită efecte patogene asupra organismului. În momentul în care pătrunde în organism și ajunge la nivel cardiac, în special la nivelul valvelor cardiace devine patogen, în unele cazuri cu potențial letal.

Manifestări clinice

S.epidermidis are tropism pentru protezele valvulare, motiv pentru care este adesea asociat cu apariția endocarditelor.

1.1.2. GENUL *STREPTOCOCCUS*

Streptococii fac parte din genul *Streptococcus*, familia *Streptococaceae*, fiind un grup mare și eterogen de coci gram-pozitivi, nesporulați, catalazo-negativi, imobili, dispuși în lanțuri sau în perechi (*S. pneumoniae*), cu formă sferică sau ovală și pot avea sau nu capsidă. Marea majoritate sunt aerobi sau facultativ anaerobi dar unele specii sunt exclusiv anaerobe. Se regăsesc pe scară largă în flora normală a oamenilor și a animalelor (mucoasa digestivă, respiratorie și genitală) dar în anumite situații pot provoca boli invazive. Se diferențiază de stafilococi prin faptul că sunt catalazo-negativi.

Clasificare

Clasificarea streptococilor s-a realizat în funcție de tipul de hemoliză pe mediul geloză-sânge, numeroase specii secretă toxine (hemolizine) pe mediul geloză-sânge, producând astfel hemoliză.

Prin urmare, conform acestei metodologii, streptococii pot fi clasificați în 3 grupe distinctive:

- **de tip α :** când produc o hemoliză parțială (ex: *Streptococcus viridans* și *Streptococcus pneumoniae*): hemoglobina este redusă la methemoglobină și mediul se colorează în verde;
- **de tip β :** când produc o zonă clară de hemoliză a celulelor roșii (ex: *Streptococcus pyogenes*): hemoglobina este redusă complet, cu hemoliză completă;
- **de tip γ :** când nu are loc procesul de hemoliză – nehemolitici: enterococci.

O altă clasificarea a streptococilor (clasificarea Rebecca Lancefield) se realizează în funcție de prezența antigenelor proteice de suprafață, de la nivelul peretelui celular (polizaharidul C), conform structurii genetice, în diferite grupe serologice notate cu cifre arabe (A-V, excepție: I, J), cu multiple subtipuri.

Această clasificare este valabilă doar pentru streptococii β - hemolitici:

- de tip β - **grupul A** : *Streptococcus pyogenes* – singura tulpina din acest grup. Cuprinde un total de peste 80 de subtipuri de specii în funcție de antigenele proteice de suprafață M și T cu o patogenitate crescută;
- de tip β - **grupul B**: *Streptococcus agalactiae*;
- de tip β – **grupul C, D, F și G**
- de tip β sau γ : **grupul D**: *Streptococcus bovis*, enterococii (cu toate că exprimă antigenele acestui grup, enterococii sunt descriși la ora actuală ca un gen separat)
- *lipsiți de antigenul de suprafață: streptococii de tip α (*S. pneumoniae* și *S. viridans*) și de tip γ nu sunt incluși în clasificarea Lancefield.

Dintre speciile patogene din grupul streptococilor, de interes medical, se numără:

- *S. pyogenes*: este un agent înalt patogen
- *S. agalactiae*
- *S. pneumoniae*
- *S. viridans*.

Caratere morfologice

Sunt coci gram pozitivi, au formă ovoidală sau sferică cu diametrul de aproximativ 1 μm și sunt dispuși în lanțuri lungi sau scurte.

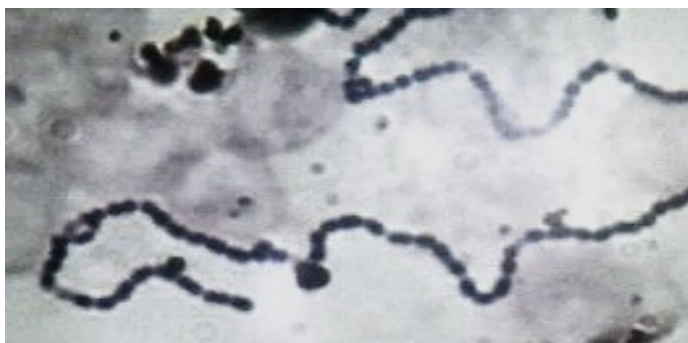


Figura 5. *Streptococcus* spp. Colorație Gram, Hemocultură.

1.1.2.1. STREPTOCOCI α -HEMOLITICI

Streptococci α -hemolitici nu conțin antigenul de suprafață și produc o hemoliză parțială de tip α .

STREPTOCOCCUS VIRIDANS

Streptococii din grupul *Viridans* (VGS) sunt un grup eterogen care include cinci specii, fiecare cu alte cateva subspecii:

- sp. *Streptococcus mutans*: 7 subspecii, cele mai cunoscute sunt *S. mutans* și *S. sobrinus*;
- sp. *Streptococcus mitis*: *S. mitis*, *S. mitior* și *S. oralis*;
- sp. *Streptococcus salivarius*: *S. salivarius* și *S. vestibularis*;

- sp. *Streptococcus sanguinis*: *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis* și *S. crista*;
- sp. *Streptococcus milleri* (*angiosus*): *S. constellatus*, *S. intermedius* și *S. anginosus*.

Caractere morfologice

Sunt cocci gram-pozitivi, necapsulați, de formă ovală, dispuși în lanțuri scurte. Aceștia aparțin genului *Streptococcus* și nu prezintă antigenul specific streptococilor β -hemolitici, cunoscut sub denumirea de polizaharid C. Fac parte din grupul streptococilor α -hemolitici, cu excepția speciei *Streptococcus anginosus* (*milleri*).

Habitat și epidemiologie

Streptococii viridans se regăsesc în flora saprofită a cavității bucale și colonizează în mod uzual mucoasa orofaringiană, motiv pentru care mai sunt numiți și streptococci orali. Prezența acestora în cavitatea bucală este asociată cu apariția cariilor dentare. De asemenea colonizează mucoasa genitală și intestinală.

Intrarea bacteriilor în organism poate avea loc în urma intervențiilor din sfera ORL sau după o extracție dentară. De exemplu, introducerea aparatelor ortodontice în cavitatea bucală poate duce la o creștere a bacteriilor acidogene, modificând flora bacteriană. Odată ajunse în circulație, aceste bacterii migrează către valvele cardiace lezate la persoanele cu cardiopatie valvulară sau către protezele valvulare, devenind astfel periculoase pentru pacienții cu valvulopatii. În consecință, ele sunt asociate cu apariția endocarditelor subacute. Statisticile au demonstrat că până la 60% dintre pacienții cu valve normale, care se infectează cu *Streptococcus viridans*, dezvoltă endocardită.

Patogenitate

Au fost evidențiați o serie de factori care sunt asociați cu patogenitatea și virulența streptococilor *viridans*:

- acidul: care este implicat direct în apariția cariilor;

- carbohidrații: favorizează aderența bacteriei de smalțul dentar și de gingii;
- dextranul extracelular și fibronetina: favorizează aderența bacteriei de valve cardiace și oferă rezistență.

Manifestari clinice

Streptococcus viridans este responsabil de numeroase complicații precum osteomielitele, abcese abdominale, infecțiile pulmonare, bacteriemii la persoanele imunodepresive.

Streptococcus mutans favorizează devoltarea carilor și a plăcilor dentare fiind cel mai frecvent agent patogen responsabil cu apariția acestora. Igiena orală este un factor necesar în vederea menținerii sănătății cavității bucale, în special în timpul tratamentului ortodontic.

Poate de asemenea să producă endocardite.

Streptococcus mitis și *Streptococcus sanguis* produc de asemenea endocardite iar în cazul pacienților cu neutropenie este responsabil de bacteriemie.

Streptococcus salivarius este responsabil pe lângă bacteriemie și endocardita, de meningită iatrogenă.

Streptococcus anginosus (milleri) este mai rar încredințat pentru apariția endocarditei dar duce frecvent la formarea infecțiilor purulente și apoi la abces. De asemenea este adesea cauza infecțiilor neonatale, cu urmări severe (septicemii).

Tratament

Se recomandă antibiograma.

Streptococii viridans sunt sensibili la β -lactamine (peniciline sau cefalosporine). Dacă pacienții sunt rezistenți sau alergici la β -lactamine se indică vancomicina. De asemenea β -lactaminele se asociază frecvent cu aminoglicozidele cu obținerea unui efect sinergic, cu toate că în mod uzual streptococii *viridans* sunt rezistenți la aminoglicozide (monoterapie).

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Acest streptococ este un agent patogen oportunist, izolat în anul 1881 de către Louis Pasteur și George Sternberg.

Caractere morfologice

Sunt coci gram pozitivi uneori capsulați, cu formă lanceolată, dispuși sub formă de diplococi și nu prezintă antigenul de suprafață specific grupului β -hemolitic.



Figura 6. *Streptococcus Pneumoniae* colonii α hemolitice.

Habitat și epidemiologie

Colonizează în mod frecvent tractul respirator superior și face parte din flora saprofită a nazo-faringelui (variante necapsulată). Prevalența pneumococului în comunitate, la nivelul nazo-faringelui este de 10% pentru adulții sănătoși, în schimb la copiii crește rata fiind cuprinsă între 65%-90% (purători sănătoși), colonizarea fiind mai mare în special pe timpul iernii iar transmiterea are loc prin intermediul picăturilor de salivă contaminate. În anumite situații devine însă agent patogen pentru organismul uman, cu caracter invaziv și virulent, varianta capsulată fiind patogenă și principala cauză de otite, sinuzite, meningite și pneumonie (pneumonia pneumococică), de unde a primit și denumirea de pneumococ.

Este unul dintre cele mai importante cauze ale bacteriemiei, alături de *Staphylococcus aureus* și de *Escherichia coli*.

Cu toate că la ora actuală există numeroase clase de antibiotice, aproximativ 25%–30% dintre pacienți care dezvoltă pneumonie pneumococică ajung la bacteriemie.

Patogenitate

Pneumococul este un microorganism cu un grad de virulență ridicat, afectând multiple organe, acesta poate străbate celulele endoteliale vasculare, lichidul cefalorahidian sau celulele miocardice, virulența depinzând de serotipul implicat. Complicațiile bolii erau frecvente pe vremea când încă nu au fost descoperite antibioticele, odată cu descoperirea antibioticelor și a vaccinului antipneumococcic, a scăzut rata complicațiilor pneumococice.

Au fost descriși numeroși factori implicați în patogenitatea și virulența crescută a acestei specii:

- capsula polizaharidică- este un antigen important al pneumococului, permițând aderență crescută de nazofaringe, inhibă chemotaxia neutrofilelor și activarea complementul prin protejarea streptococul de fagocitoză. Forma necapsulată a pneumococului nu este patogenă și se regăsește la nivel respirator, făcând parte din flora saprofită. Au fost izolate un număr de aprox 97 de serotipuri pe baza structurii antigenice a pneumococului. Vaccinurile antipneumococice anuale, dezvoltate pe baza acestor polizaharide capsulare, oferă protecție împotriva infecțiilor cauzate de diferite serotipuri de pneumococ. Vaccinurile conjugate au redus semnificativ numărul infecțiilor cauzate de serotipurile incluse în vaccin. De asemenea, antibioterapia a contribuit la reducerea complicațiilor asociate infecțiilor pneumococice. Cu toate acestea, incidența infecțiilor pneumococice invazive a crescut în prezent, din cauza rezistenței pneumococului la antibioticele care anterior erau eficiente, precum și datorită creșterii numărului de pacienți imunodeprimați;
- neuraminidaza- degradează mucusul, facilitează aderența celulei bacteriene de celulele epiteliale și stimulează creșterea și supraviețuirea celulei bacteriene;
- proteinele pneumococice de suprafață A și C- favorizează aderența de celulele epiteliale și astfel crește colonizarea la nivelul nazo-faringelui și protejează pneumococul de acțiunea sistemului complement al organismului gazdă. Proteinele C în plus se leagă de imunoglobulina A;

- autolizina- este o enzimă intracelulară de tip amidază care are capacitatea de a scinda peptidoglicanul urmata de liza celulei gazdă, stimulează eliberarea de substanțe bacteriene și declanșează cascada de citokine ducând la autoliza celulelor, de asemenea favorizează aderența bacteriană;
- pneumolizina- este o toxină citoplasmatică care atacă membrana celulelor prin formarea unor pori membranari, activează atât citokinele cât și complementul inhibând chemotaxia neutrofilelor, stimulează inflamația și favorizează procesul de transmisie a infecției;
- acidul lipoteichoic de la nivelul membranei bacteriene- intervine în procesul inflamator.

Manifestări clinice

Pneumococul este principala și cea mai frecventă cauză a pneumoniilor lobare, a afecțiunilor non-invazive (ex: otite sau sinuzite) și a meningitelor piogene. De asemenea este corelat cu un număr crescut de decese la copiii mai mici de 5 ani. Conform Organizației Mondiale a Sănătății, pneumococul a fost considerat principalul agent patogen în rândul copiilor, fiind responsabil de numeroase decese infantile.

Pneumococul devine patogen în anumite situații, cum ar fi la copiii sub 2 ani, la vârstnici și la persoanele cu imunitate scăzută, în special în prezența unor infecții virale sau comorbidități precum diabetul zaharat, afecțiunile renale, hepatice sau cardiace. Când se manifestă patogen, pneumococul este responsabil de multiple patologii și complicații, fiind adesea asociat cu infecțiile tractului respirator superior (otită medie non-invazivă, sinuzită, mastoidită) și inferior (bronșită, pneumonie invazivă dobândită în comunitate).

Un studiu a evidențiat faptul că pneumonia este cea mai frecventă complicație pneumococică, fiind prezentă în aproximativ 80% din cazuri, urmată de meningită, care apare în 8% din cazuri. Alte complicații invazive provocate de pneumococ includ endocardita, peritonita, artritele (osteomielită, artrită septică), pericardita, infecțiile oftalmologice, infecțiile urinare, renale, genitale și septicemia. Adesea, pacienții prezintă simultan mai multe complicații.

Este de menționat că endocardita cauzată de *Streptococcus pneumoniae* rămâne frecvent nedepistată până când bacteriile au deteriorat

grav valvele cardiace. De asemenea, inflamația aortei (aortita) este deseori nediagnosticată, având o rată de mortalitate extrem de ridicată. Cele mai frecvente serotipuri de pneumococ care cauzează infecții sunt: serotipurile 4, 6B, 9V, 14, 18C și 23F la copii, și serotipurile 1-8 la adulți. Serotipurile cele mai virulente, cu aspect mucoid al secrețiilor, sunt serotipurile 3 și 7.

Tratament

Se recomandă antibiograma înainte de inițierea unui tratament.

Tratamentul cu antibioticele administrat în infecțiile invazive cu pneumococi la pacienții care nu au alte comorbidități, include β -bactaminele (peniciline sau cefalosporine) sau macrolidele (eritromicina, claritromicina, azitromicina). La copiii ce prezintă otită acută medie se recomandă amoxicilina pe cale orală.

La pacienții cu comorbidități se recomandă antibiotice mai puternice precum fluorochinolonele sau asocieri mai complexe, precum amoxicilină / cefalosporine cu macrolide / doxiciclină. În cazuri severe se recomandă linezolid, clindamicină sau vancomicină. Însă, din cauza rezistenței tot mai mari ale pneumococului la antibiotice, acestea au devenit tot mai puțin eficiente, mortalitatea în cazul infecțiilor cu pneumococ este mare, motiv pentru care se impune vaccinarea, ca măsura profilactică.

1.1.2.2. STREPTOCOCI β -HEMOLITICI

Streptococci β -hemolitici prezintă antigenele de suprafață și produc o hemoliză totală și clară de tip β . Infecția cu streptococul β -hemolitic este frecvent asociată cu boli non-invazive, cum sunt faringita sau infecții ușoare ale pielii și ale țesuturilor moi (non-necrozante). Totuși, aceste bacterii pot provoca o infecție invazivă, astfel încât infecția cu streptococ β -hemolitic se poate transforma într-o afecțiune invazivă, caracterizată prin prezența acestor microorganisme în medii în care, în mod normal, sunt sterile.

1.1.2.2.1. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP A

STREPTOCOCCUS PYOGENES

Streptococcus pyogenes este un streptococ β -hemolitic de grup A, singurul membru al acestui grup. Prezintă antigenul de grup „A”, fiind un agent patogen exclusiv uman și totodată cel mai periculos dintre streptococci, având o patogenitate foarte mare.

Caractere morfologice

Streptococcus pyogenes este un coc gram pozitiv, dispus în lanțuri și încapsulat, pe mediul geloză-sânge formează colonii mici de 1-2 mm, de culoare alb-cenușii, pulverulente, cu o zonă clară de β -hemoliză în jur. Pe baza structurii antigenice se poate identifica cu ușurință, deoarece posedă antigenul de grup „A”, după care poate fi ușor recunoscut.

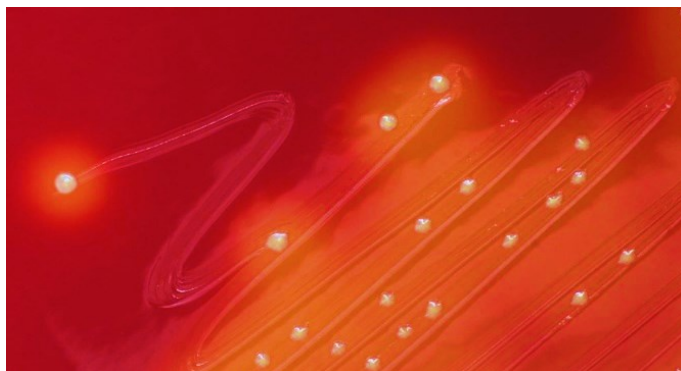


Figura 7. *Streptococcus pyogenes* colonii β hemolitice.

Habitat și epidemiologie

Streptococcus pyogenes colonizează în principal mucoasa nazofaringiană. Prevalența infecțiilor la copii este de 10% iar la adulți de 3-5%, unele persoane sunt asimptomatice și devin purtători sănătoși iar alții dezvoltă afecțiuni precum faringită, amigdalită. În ultimii ani a crescut tot mai mult virulența acestei tulpini. Factorii care favorizează aceste infecții sunt: imunodepresia, vârsta mai mare de 65 ani, diabetul zaharat, bolile cardiovasculare, bolile maligne, perioada postpartum.

Patogenitate

Streptococcus pyogenes este o bacterie invazivă și toxigenă. Prezintă numeroși factorii de virulență printre care se numără moleculele de aderență și factorii imunomodulatori, cum sunt:

- peretele celular, gros și rigid, are activitate trombolitică și proinflamatorie,
- acidul lipotechoic și proteinele M, T și R favorizează aderența,
- proteina M (se leagă de factorii complementului, inhibă activarea acestuia și procesul de fagocitoză, favorizează aderența, se leagă de neutrofile și de fibrinogen, are efect proinflamator fiind implicat în șocul toxic),
- capsula, formată din acid hialuronic, oferă rezistență procesului de fagocitoză și favorizează aderența,
- hemolizine, streptolizina O și S. Streptolizina O este utilizată în diagnosticul serologic și este implicată în formarea de anticorpi antistreptolizina O (ASLO) iar nivelul lor sanguin crește în infecțiile streptococice. Aceștia sunt specifici infecțiilor streptococice exceptând glomerulonefrita și piodermita, în aceste două cazuri titrul fiind scăzut,
- exotoxine streptococice pirogene de tip A, B și C sunt superantigene streptococice - produși pirogenici responsabili de apariția scarlatinei, a șocului toxic și a fascitei necrozante,
- NADaza, C5a peptidaza, inactivează interleukina 8,
- hialuronidază, tulpinile necapsulate prezintă această enzimă, care facilitează răspândirea germenului prin țesuturi,
- streptokinaza, fibrinolizina stimulează formarea plasminei din plasminogen.

O parte din aceste exotoxine au rol de superantigene și sunt implicate în procesul de stimulare excesivă a limfocitelor T, rezultând o eliberare masivă de mediatori ai celulelor T și de citokine proinflamatorii. Gravitatea infecțiilor depinde de poarta de intrare, factorii de virulență a tulpinii infectante, precum și de răspunsul imun al organismului infectat.

Manifestări clinice

Streptococul β -hemolitic de grup A (*Streptococcus pyogenes*) este responsabil de infecții cu caracter non-invaziv (localizate) dar și de infecții cu caracter invaziv (generalizate) caracterizate printr-o patogenitate ridicată la nivel mondial. Infecțiile generalizate apar în urma proliferării masive a microorganismelor, acestea invadează în mod direct țesuturile, pe care ulterior le distrug, infecțiile pot avea și un caracter toxigen, prin eliberarea unor toxine streptococice.

Infecții localizate și generalizate

- infecții respiratorii:
 - faringita - cea mai frecventă cauză (angina streptococică cu durere severă de gât), care netratată conduce la complicații supurative de tip sinuzită, otită medie, abces peritonsilar și retrofaringian, limfadenită cervicală, mastoidită, meningită, abces cerebral. În ceea ce privește angina streptococică pacienții pot fi asimptomatici (purători sănătoși) dar în majoritatea cazurilor infecția poate prolifera la nivelul tractului respirator inferior și produce pneumonie;
 - reumatismul articular acut cu inflamația articulațiilor mari o complicație severă a infecțiilor respiratorii streptococice cu *S.pyogenes*, care apare după 1-5 săptămâni de la debutul faringitei sub formă de erupții cutanate, noduli subcutanați, artrită, pancardită.
- infecții purulente ale pielii și ale țesuturilor moi:
 - erizipel, celulită - pielea este umflată, de culoare roșu aprins, pacientul prezintă febră, frisoane;
 - impetigo - pustule care ulterior se transformă în cruste nedureroase, de regulă nu apare febra;
 - fascita necrozantă, numită și gangrenă streptococică hemolitică este o manifestare invazivă, fulminantă a streptococului β -hemolitic cu importanță deosebită datorită gradului ridicat de mortalitate. Fascita necrozantă tip 2 produsă de către *S.pyogenes*, este în general monobacteriană și progresează rapid, distruge fasciile și țesuturile moi, evoluând rapid spre bacteriemie. Fascita

necrozanta de tip 1 este produsă de mai mulți agenți patogeni (gram pozitivi și gram negativi dar și germeni anaerobi);

- complicații ce survin post-infecții cutanate - eritem nodos, o complicație inflamatorie sub formă de noduli roșiatici sau glomerulonefrită post-streptococică care este o complicație alergică;
- infecții osteo-articulare - miozită, osteomielită;
- infecții abdominale - peritonită;
- infecții bacteriemice, septicemice și metastatice - apar în special pe fondul unei imunități scăzute;
- infecții postpartum/puerperale.

Infecții toxigene

- scarlatina - este o boală a copilăriei și o complicație a infecției cu *S.pyogenes*. Apare în general la copiii cu vârste sub 10 ani, se caracterizează prin eliberarea unor toxine eritrogene cu o ulterioară erupție cutantă, limbă zmeurie și faringită;
- sindromul șocului toxicoseptic este tot o manifestare invazivă și fulminantă a streptococului β -hemolitic cu grad ridicat de mortalitate, în producerea lui sunt implicate subtipurile M1,3,12 și 28. Simptomele includ o scădere bruscă a tensiunii arteriale, însoțită de o reducere a perfuziei sanguine către organe.

Prin urmare, streptococul β -hemolitic de grup A produce infecții non-supurative și supurative, după cum urmează:

- **Infecții non-supurative (alergice)**

Anticorpii care au fost produși în infecții anterioare interacționează cu diverse țesuturi ceea ce duce la apariția leziunilor, considerate drept complicații nesupurative: glomerulonefrita acută, febra reumatică acută, psoriazis post-streptococic și tulburări neuropsihiatrice infantile de tip autoimun.

- **Infecții supurative**

Complicațiile sunt infecții la nivelul pielii și al țesuturilor moi (erizipel, impetigo, celulită, pemfigus), infecțiile profunde la nivelul țesuturilor moi (sindromul șocului toxic, fascita necrozantă sau miozita streptococică), infecții respiratorii (faringite, amidalite, otite, mastoidite, pneumonii), meningită, scarlatină, osteomieltă sau sepsis puerperal.

Tratament

Antibiograma este recomandată înainte de inițierea tratamentului.

Tratamentul de elecție este reprezentat de peniciline. În infecții de tip amigdalită, glomerulonefrită sau febră reumatică se recomandă penicilina V pe o perioadă de 10 zile sau benzatinpenicilina G pe cale intramusculară, în priză unică. Persoanele care suferă de febră reumatică urmează în continuare tratament cu penicilina G, cu o administrare/lună, pe o perioadă lungă de câțiva ani. La cei care asociază endocardita durată este de 10 ani iar la cei care nu suferă de endocardită durată este de 5 ani. Penicilina G și procainpenicilina G se administrează în infecții cutanate de tip erizipel, macrolidele (eritromicina, azitromicina), clindamicina se recomandă la pacienții alergici la peniciline. Asocierea dintre clindamicină, peniciline și imunoglobuline este eficientă în cazuri grave, cum este șocul toxic streptococic, atunci când se administrează pe cale intravenoasă.

Fascita necrozantă necesită debridare chirurgicală. La copiii care suferă de febră reumatică este necesară profilaxia cu peniciline sau macrolide, pentru a preveni afectarea cardiacă și reinfecția streptococică.

1.1.2.2.2. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP B

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

Streptococcus agalactiae este un streptococ ce aparține grupului B Lancefield, prezintă antigenul de grup "B" și cuprinde mai multe specii, *Streptococcus agalactiae* fiind specia de interes medical. Pe baza capsulei polizaharidice a fost clasificat în 9 serotipuri, fiind izolat în 1938, când a produs numeroase cazuri de sepsis puerperal. În anii '70 a fost corelat cu numeroase cazuri de sepsis neonatal, fiind principalul factor învinovat la copii sub 3 luni, infecția apare frecvent la sugari și gravide.

Caractere morfologice

Streptococcus agalactiae este un coc gram pozitiv încapsulat. Pe mediul de cultură geloză-sânge formează colonii mai mari de 2mm, cu aspect mucoid și formează o zonă variabilă de β -hemoliză în jur, cu toate că sunt clasificați drept β -hemolitici, aceștia produc de fapt α' -hemoliză, o hemoliză incompletă iar hematiile sunt lizate. Unele tulpini pot fi nehemolitice, posedă antigenul de grup „B”, după care poate fi ușor de recunoscut.



Figura 8. *Streptococcus agalactiae*, colonii netede, semi-transparente.

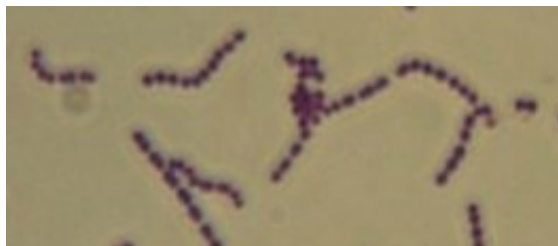


Figura 9. *Streptococcus agalactiae*, hemocultură, colorație gram.

Habitat și epidemiologie

Colonizează organismul uman, în special flora saprofită genitală și mai puțin tractul respirator superior și cel gastro-intestinal, de asemenea colonizează organismul bovinelor. Incidența în rândul femeilor este de 30-40% iar transmiterea la nou-născuți are loc în timpul nașterii. În ultimii ani, aceasta specie a provocat multiple afecțiuni și în rândul adulților (nu doar la femeile însărcinate), majoritatea având asociată o patologie precum, boli cardiovasculare, diabet, boli renale, urologice, pulmonare și hepatice, afecțiuni neurologice sau imunodepresie.

Patogenitate

Cei mai cunoscuți factori de virulență ai streptococului de grup B sunt polizaharida capsulară (mai ales cantitățile mari de acid sialic) și hemolizina secretată. Capsula inhibă procesul depunerii componentelor complementului și astfel contribuie la inhibarea procesului de fagocitoză, oferind un grad ridicat de virulență microorganismului.

Pe baza polizaharidelor din capsulă și a antigenelor de suprafață, au fost identificate 8 serotipuri.

Manifestări clinice

Gravidele și nou-născuții sunt categoriile cele mai des afectate de această tulpină bacteriană. Streptococul de grup B este principala cauză de infecții neonatale precoce, transmisia are loc fie în timpul sarcinii, prin migrarea bacteriei direct în uter, fie în timpul nașterii de la mamă la făt și este responsabilă de pneumonii, meningite sau sepsis neonatal.

Există două tipuri de infecții neonatale responsabile de complicații medicale, cu debut precoce – infecția apare în primele 6 zile după naștere (în special la prematuri) și evoluează spre septicemie, cu debut tardiv - infecția apare după aproximativ 7-10 zile după naștere și evoluează spre otită, meningită, pneumonii inclusiv bacteriemie, Este agentul patogen cel mai des întâlnit în rândul sugarilor, responsabil de o mortalitate și o morbiditate ridicată, la femeile lăuze poate fi cauza febrei puerperale și a endometritei febrile, germenul poate migra pe cale sanguină și se atașează la nivel cardiac (endocardite) sau la nivelul meningelui (meningită).

Printre manifestările invazive la persoanele și copii mai mari cu diverse patologii asociate (imunosupresie, diabet, boli cardiace) infectați cu această tulpină se numără infecții ale pielii și ale țesuturilor moi cu bacteriemie, infecții musculo-scheletice, osteomielita, artrita, infecții ale tractului respirator inferior (otite, sinuzite, pneumonii), meningite, endocardite, conjunctivite, infecții ale tractului urinar (pielonefrite), endocardită și septicemii.

Tratament

Se recomandă antibiograma.

În infecțiile neonatale tratamentul de bază este benzilpenicilina (penicilina G) administrată pe cale intravenoasă, timp de 10-14 zile. La adulți se folosește benzilpenicilina pe cale intravenoasă în asociere cu aminoglicozide (gentamicina) timp de 14 zile. *S.agalactiae* este sensibil și la amoxicilina, macrolidele, tetraciclina sunt utilizate mai rar datorită rezistenței crescute. Pentru a preveni o eventuală endocardită în cazul în care pacientul este alergic la peniciline, se va administra vancomicina.

1.1.2.2.3. STREPTOCOC β -HEMOLITIC DE GRUP C

❖ *STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE*, *STREPTOCOCCUS EQUI*

Aceste tulpini de streptococi sunt streptococi de grup C, au fost identificate 4 subspecii: *S. dysgalactiae*, *S. equisimilis*, *S. equi* și *S. zooepidemicus*. Sunt cunoscuți ca agenți patogeni care afectează în special animalele, *S. equisimilis* și *S. zooepidemicus* pot afecta însă și organismul uman cu afecțiunea amigdalitelor.

Caractere morfologice

Produce o zonă largă de β -hemoliză pe mediul geloză-sânge (similar *S.pyogenes*).

Habitat și epidemiologie

Aceste tulpini bacteriene colonizează în mod frecvent pielea, orofaringele, tractul gastro-intestinal și genito-urinar. În trecut au fost considerate drept floră comensală normală, au un grad de virulență scăzut, *Streptococcus dysgalactiae subsp. Equisimilis* fiind cel mai frecvent încriminat.

Patogenitate

Conține streptolizina O și S (similar cu *S.pyogenes*).

Manifestări clinice

Manifestările clinice sunt asemănătoare cu cele ale streptococului β -hemolitic de grup A dar mai puțin severe și apar în general la pacienții imunocompromiși:

- afecțiuni cutanate și ale țesuturilor moi (cu fascită necrozantă sau nu, cu o rată mare de bacteriemie, în special *S. dysgalactiae subsp equisimilis* are o rată de bacteriemie de până la 94%),
- infecțiile musculo-scheletale (artrita septică, osteomielita, miozita),
- infecții ale tractului respirator inferior (pneumonie și empiem),
- peritonită, meningită, endocardită,
- infecții postpartum/puerperale,
- sindromul șocului toxic.

Tratament

Senibilitate la penicilină, se recomandă antibiograma.

1.1.2.3. STREPTOCOCII DE GRUP D

❖ ENTEROCOCII

Inițial enterococii au aparținut grupului D de streptococi, dar ulterior au fost reclasificați ca un gen de sine stătător: genul *Enterococcus* (familia *Enterococcaceae*).

❖ *STREPTOCOCCUS BOVIS*

Sunt streptococi neenterococici și aparțin de grup D Lancefield; cuprinde speciile *S.gallolyticus*, *S. infantarius* și *S.pasteurianus*.

Habitat și epidemiologie

Streptococii de grup D colonizează flora normală a intestinului.

Caractere morfologice

Speciile din grupul D sunt majoritatea nehemolitice cu câteva excepții, care produc α -hemoliză.

Manifestări clinice

Streptococii de grup D produc endocardite și carcinomul colorectal, fiind frecvent asociați și cu bacteriemie. De menționat este faptul că subspecia *Streptococcus gallolyticus* poate fi implicată în dezvoltarea cancerului colorectal.

Tratament

Sunt sensibili la peniciline, se recomandă antibiograma.

1.1.2.4. STREPTOCOCII DE GRUP F

S.milleri a fost reprezentantul grupului, dar la ora actuală a fost reclasificat în grupul streptococilor viridans și cuprinde *S.anginosus*, *S.intermedius* și *S.constellatus*.

1.1.2.5. STREPTOCOCII DE GRUP G

❖ *Streptococcus canis*

Acești streptococi colonizează nazofaringele, tractul intestinal, genital și țesutul cutanat.

Caractere morfologice

Produc o zonă largă de β -hemoliză pe mediul geloză-sânge (similar *S.pyogenes*)

Habitat și epidemiologie

Este responsabil de infecții prin contaminarea alimentelor, gradul de virulență este scăzut, similar grupului C.

Patogenitate

Conține proteina M de suprafață și streptolizina O (similar cu *S.pyogenes*).

Manifestări clinice

Aceste specii de streptococi produc infecții la pacienții imuno-compromiși, care sunt asemănătoare cu infecțiile produse de grupul A și C

- afecțiuni respiratorii: de la angină, faringită, sinuzite la pneumonie,
- afecțiuni cutanate: erizipel și celulită,
- afecțiuni osteo-articulare,
- endocardite, peritonite,
- septicemie.

1.2. COCI GRAM NEGATIVI

1.2.1. GENUL *NEISSERIA*

Genul *Neisseria* face parte din familia *Neisseriaceae* și este un grup relativ mare de coci gram negativi, care colonizează organismul uman și animal. Familia *Neisseriaceae* cuprinde 4 genuri: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* și *Kingella*.

Speciile din genul *Neisseria* au următoarele caracteristici:

- sunt dispuși de regulă sub formă de diplococi, mai rar sub formă de tetrade,
- sunt coci immobili, catalazo- și oxidazo-pozitivi,
- sunt bacterii carboxifile,
- majoritatea sunt specii comensale, colonizează mucoasele omului și al animalelor, cu câteva excepții, care colonizează strict organismul uman și sunt înalt patogene.

Genul *Neisseria* cuprinde 25 specii bacteriene, dintre care 11 specii colonizează organismul uman iar majoritatea nu sunt patogene. Acestea colonizează flora saprofită orofaringiană, nazală, conjunctivală, vaginală, uretrală sau digestivă. În anumite condiții devin patogeni oportuniști (în organismul imunodeprimant).

Speciile comensale nu sunt patogene deoarece nu au capacitatea de a induce acumularea de leucocite polimorfonucleare proinflamatorii și au mai puțini factori de patogenitate și de virulență, care mediază etapele de patogenitate.

Mai jos sunt redate câteva exemple de **speciile comensale**:

- ❖ *Neisseria mucosa*, *Neisseria pharynges*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria flava*, *Neisseria perflava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*.

Cele două **specii patogene** umane de importanță majoră, cunoscute și sub denumire de “neiserii pretențioase”, sunt asociate cu o mortalitate și o morbiditate semnificativă la nivel Mondial:

- ❖ *Neisseria meningitidis* (meningococul)
- ❖ *Neisseria gonorrhoeae* (gonococul)

Studiile filogenetice au demonstrat faptul că speciile *N.meningitidis* și *N.gonorrhoeae* au evoluat dintr-o tulpină bacteriană comună nepatogenă. Cele două tulpini sunt foarte asemănătoare (din punct de vedere genomic, morfologic și fenotipic).

Cu toate acestea, în prezent, fiecare specie patogenă reprezintă o tulpină bacteriană distinctă, cu localizare diferită, pe mucoasa nazofaringiană (*N.meningitidis*) și preponderent mucoasa genitală (*N.gonorrhoeae*), provoacă patologii complet diferite.

1.2.1.1. NEISSERIA MENINGITIDIS (MENINGOCOCUL)

Neisseria meningitidis este un o bacterie gram-negativă, extracelulară, cunoscută inițial sub denumirea de *Diplococcus intracellularis meningitidis*.

A fost izolată și studiată pentru prima dată în anul 1885 de către medicul Ettore Marchiafava. Acesta a identificat diplococi gram negativi în lichidul spinal al unui pacient cu meningită. Doi ani mai târziu, patologul Anton Weichselbaum a izolat germenul din lichidul cefalorahidian al unui pacient cu meningită cerebrospinală. S-a demonstrat astfel rolul și implicarea diplococilor gram negativi în producerea meningitei. Specia *N. meningitidis* este principala cauză de meningită bacteriană la copii și a doua cauză în ceea ce privește meningita bacteriană dobândită în comunitate, în rândul adulților. În trecut a fost responsabilă de numeroase epidemii, infecția cu meningococ fiind una contagioasă și devastatoare.

Clasificare

Au fost identificate 13 serogrupe ale meningococului (A-D, 29E, H-I, K-L, W135, X-Z) - pe baza structurii antigenice a polizaharidului capsular.

Serogrupele B și C au fost subclasificate în serotipuri - pe baza structurii antigenice a proteinelor membranare.

Antigenele proteice de la nivelul membranei exterioare sunt importante în diferențierea diferitelor tipuri serologice.

Caractere morfologice

Specia *Neisseria meningitidis* cuprinde coci gram-negativi, cu următoarele caracteristici:

- tip diplococ (compus din două celule unite, laturile adiacente sunt aplatizate) cu aspect de boabă de cafea,
- aerobi sau facultativ anaerob,
- imobili,
- nesporulați,
- formează colonii de tip S cu dimensiuni de aprox. 1-5 mm,
- la suprafață prezintă o capsulă polizaharidică și numeroși pili.

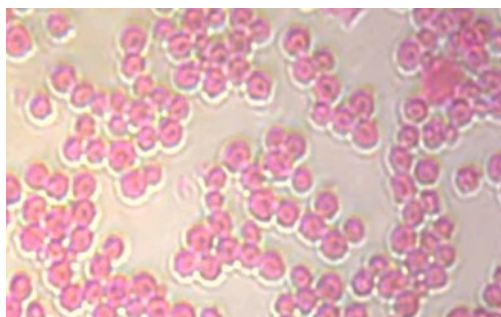


Figura 10. *Neisseria meningitidis*, colorație Gram

Habitat și epidemiologie

Specia *Neisseria meningitidis* este un agent patogen care colonizează și infectează exclusiv omul și provoacă așa numita “boală meningococică”. Se regăsește la aprox. 10-15% din populație (purători sănătoși – care transmit boala la persoane sănătoase) la nivelul nazofaringelui, ca agent comensal, unde poate staționa pe o perioadă de zile sau luni. Infecția este de cele mai multe ori asimptomatică, dar ocazional, poate cauza septicemie sau meningită cerebrospinală.

Atât bolnavii cât și purătorii sănătoși pot fi sursă de infecție. Transmiterea meningococului este interumană și are loc prin:

- salivă,
- secreții respiratorii,
- inhalarea particulelor aerosolizate supraîncărcate cu bacterii, care plutesc în aer.

Prezența meningococului în organismul uman este favorizată de:

- vârstă (preponderent sugarii, copii și tinerii), majoritatea infecțiilor au fost identificate la copii cu vârste sub 5 ani,

- imunitatea scăzută (diverse patologii precum SIDA, cancer),
- expunerea la fumul de țigară,
- participarea în mod frecvent în cluburi/baruri.

Serogrupurile cele mai răspândite și în mod frecvent asociate cu infecțiile meningococice cu caracter invaziv sunt serogrupurile A, B, C, W135, X și Y. Incidența bolii produsă de diferitele serogrupuri poate varia funcție de

- rata vaccinării,
- zona geografică,
- perioada, au fost descrise atât cazuri sporadice de meningita meningococică dar și epidemii globale care variază în funcție de sezon.

Incidența cea mai ridicată a bolii meningococice, a fost identificată în Africa sud-sahariană (cuprinde 26 de țări) și poartă numele de „meningitis belt”. Principalele serotipuri sunt serotipurile A și C. În această zonă, rata mortalității este strâns legată de de rata vaccinării:

- 14% - pacienții vaccinați
- 50% - pacienții nevaccinați

Epidemia a fost eradicată iar în anul 2010, odată cu vaccinarea în masă a populației cu vaccinul conjugat monovalent anti-serogrup A.

În Europa, Canada și Statele Unite, principalele serotipuri sunt serotipurile B, C și Y. La sfârșitul secolului al XX-lea, serogrupul B a devenit principalul agent patogen implicat în apariția endemiilor în țările civilizate (America de Nord și Sud, Australia, Noua Zeelandă și Europa de Vest) iar serogrupul C a produs focare sporadice și epidemii.

Introducerea vaccinurilor în programele naționale ale țărilor respective a scăzut drastic rata infecțiilor. Cu toate acestea, în ultimii ani, în America și Europa de Vest au fost raportate numeroase cazuri de boli meningococice invazive cu serogrupul Y iar în Africa, Europa și America de Sud au fost înregistrate infecții cu serotipul W.

La copii cu meningită au fost descrise două tipuri de tulpini bacteriene:

- meningococul de grup A = agentul principal al epidemiilor de meningită,

- specia *H. influenzae* = agentul principal responsabil de producerea cazurilor sporadice de meningită, urmat de meningococ.

Introducerea schemelor de vaccinare în populație a contribuit la scăderea incidenței bolii meningococice. Se observă o scădere evidentă în Statele Unite, între anii 1996 (1,2 cazuri / 100.000 persoane) și 2018 (0,1 cazuri / 100.000 persoane).

Patogenitate

Etapele de patogenitate:

- Atașarea de mucoasa epitelială rinofaringiană:
 - meningococul se atașează de mucoasa rinofaringiană și produce o infecție locală, numită **rinofaringită**.
- Diseminarea hematogenă:
 - meningococul are capacitatea de a pătrunde în circulația sanguină:
 - polizaharidele capsulare - îl protejează de mecanismele de apărare ale organismului,
 - mecanismele de rezistență sunt diminuate (în special apare deficiența factorilor C5-C9 ai sistemului complement) și organismul nu mai pot lupta împotriva agentului bacterian, fiind inițiat procesul patogen invaziv al meningococului în organele țintă:
 - meninge – meningococul străbate bariera hemato-encefalică și pătrunde la nivelul meningelui, începe procesul de replicare și produce patologii invazive-boala meningococică invazivă,
 - osul etmoid – meningococul produce sinuzite etmoidale care se pot complica cu declanșarea meningitelor,
 - articulații,
 - alte organe.

Perioada de incubație variază de la 1-14 zile.

Factorii de patogenitate, favorizează adeziunea, multiplicarea și invazia meningococului și joacă un rol major în supraviețuirea acestuia în organismul gazdă.

- Adezinele (factorii de adeziune):
 - pili sunt filamente polimerice, specifice bacteriilor gram negative, favorizează procesele de aderență și motilitatea ale meningococului,
 - proteinele din membrana externă (proteine de opacitate Opa și Opc)

Adezinele mediază procesele de adeziune, motilitate și colonizare a gonococilor în vilozitățile celulelor epiteliale.

- Capsula polizaharidică - conține antigene polizaharidice și este elementul principal responsabil de procesul de patogeneză, protejează meningococul de acțiunea celulelor polimorfonucleare și blochează procesul de fagocitoză declanșat de organism (efect antifagocitar).
- IgA proteaza - rol în procesul de scindare al IgA secretorii de la nivelul mucoaselor și favorizează astfel atașarea meningococului de mucoasa respiratorie.
- Endotoxina bacteriană – este un lipopolizaharid (similar din punct de vedere structural cu lipopolizaharidele altor specii gram negative), are rol în stimularea secreției de citokine proinflamatorii și induce astfel simptomele din meningocemie (febră, stare de șoc etc).
- Sisteme de captare a fierului (receptori membranari și captatori pentru transferină și lactoferină) – acționează prin două mecanisme:
 - captează direct fierul din lactoferină și transferină,
 - extrag direct fierul din hemoglobină.

Manifestări clinice

Infecția meningococică este asociată cu diverse forme de manifestare clinică:

- forme asimptomatice - caracterizate prin colonizarea nazofaringiană a microorganismului la purtătorii sănătoși,
- forme simptomatice:

- ușoare – **rinofaringita** – cu evoluție favorabilă,
- grave - **boala meningococică**, cu cele două forme clasice de boală - meningita și meningococemia ce debutează rapid și fulminant.

Majoritatea pacienților (18-33%) cu boală meningococică nu dezvoltă meningită sau șoc septic, infecția fiind caracterizată prin forme relativ ușoare. În aprox. 10% din cazuri însă, sunt evidențiate atât meningita cât și șocul septic. Identificarea timpurie a bolii este dificil de realizat din cauza simptomelor nespecifice și precoce. Afectează în mod special copii cu vârsta sub 2 ani, dar și tinerii.

Specia *N. meningitidis* este responsabilă de următoarele boli cu caracter invaziv, fulminant:

Meningita cerebrospinală

- o patologie caracterizată printr-un proces inflamator al meningelui, datorat invaziei meningococului în sistemul nervos central, prin spațiul subarahnoidian,
- apare la aprox. 50% din bolnavii care prezintă boala meningococică invazivă,
- infecția debutează brusc iar perioada de incubație este de 2-4 zile,
- primele simptome includ cefalee, febră înaltă, mialgii, greață, vărsături precum și diverse simptome respiratorii,
- manifestările clinice tardive sunt semne neurologice (fotofobie, redoarea cefei, convulsii, delir, agitație psihomotorie, paralizii, comă), colorarea anormală a pielii, erupții hemoragice,
- alte simptome includ purpura fulminantă, convulsii, coagulare intravasculară diseminată cu tromboză venoasă cerebrală, hidrocefalie, șoc septic sau empiem subdural.

Meningococemia acută (septicemia meningococică)

- infecție sistemică severă și fulminantă caracterizată prin febră crescută și coagulare intravasculare diseminată,
- fenomenul de coagulare vasculară diseminată este cauzat de modificarea cascadei de coagulare și induce procesul de tromboză intravasculară urmat de necroză tisulară. De asemenea produce o serie de complicații:

- **Purpură fulminantă**

- patologie dermatologică și hematologică,
- se caracterizează prin apariția leziunilor cutanate mici, de tip maculo-papulare, care se transformă ulterior în peteșii (leziuni hemoragice mici) respectiv purpură (leziuni hemoragice extinse), apar de asemenea zone de necroză, în anumite cazuri apare și necroza gangrenoasă,
- simptome precum extremități reci și dureroase sau culoarea atipică a pielii sunt semne ale disfuncției vasculare,
- afectarea țesuturilor este ireversibilă iar în aprox. 48 de ore de la apariția leziunilor este declanșat șocul septic și insuficiența organică.

- **Hemoragii cerebrale**

- **Sindromul Waterhouse – Friderichsen** sau meningococemia fulminantă

- se manifestă prin hemoragia bilaterală a glandelor suprarenale și se asociază cu purpura fulminantă,
- apare insuficiența renală cu deces rapid, în aprox. 12 ore de la debutul simptomelor.

- **Sepsis (șoc septic)**

- se caracterizează prin tahicardie și hipotensiune arterială,
- meningococul declanșează un proces trombotic în interiorul vaselor de sânge (tromboză vasculară) de la nivelul microcirculației sanguine. Acest proces este responsabil de necrozarea țesuturilor, de coagulare intravasculară diseminată și în cele din urmă induce insuficiență organică. Șocul septic acut survine în 10-20% din cazuri.

 Alte manifestări

- sunt mai puțin specifice includ: conjunctivita, pneumonie meningococică, pericardită, uretrită, endoftalmie, peritonită, osteomielită sau artrită septică.

În unele cazuri, după remisa bolii, pacienții pot rămâne cu diverse complicații:

- durere cronică,
- tulburări neurologice (tulburări auditive cu pierderea auzului, vizuale și motorii),
- amputarea membrelor,
- afecțiuni alergice și cicatrizarea pielii,
- sindromul post-inflamator,
- tulburări psihologice (ex anxietate, depresie, stres posttraumatic).

Tratament

La începutul secolului XX Simon Flexner a introdus pentru prima dată terapia serică cu scopul de a trata meningita meningococică. Această metodă a presupus injectarea bacterilor moarte la cai, scăzând astfel mortalitatea. Mai târziu, la începutul anilor 1930, a început și epoca antibioticelor, atunci când au fost introduse sulfamidele în terapie. Apoi, în anul 1941 Alexander Fleming a descoperit penicilina. Aceste descoperiri au contribuit la scăderea mortalității, meningita devenind o boală tratabilă. Sulfonamidele și-au pierdut însă rapid eficacitatea, din cauza rezistenței meningococului la acestea.

Antibioterapia este esențială în tratarea infecției cu *N.meningitidis*, se efectuează în vederea stabilirii sensibilității la clasele de antibiotice.

Antibioticele recomandate în tratarea infecțiilor cu tulpini meningococice sunt:

- penicilinele (penicilina G),
- cefalosporinele de generația a 3-a (cefotaxima, ceftriaxona),
- cloramfenicol ca tratament alternativ la pacienții alergici la β -lactamine.

Durata tratamentului este de 5-6 zile iar dozele antibioticelor sunt următoarele:

- Penicilina G: 4.000.000 UI de 6x/zi pe cale intravenoasă, dar este contraindicată la copii cu vârsta sub 1 lună;
- Cefalosporine:

- Ceftriaxona: 2g (adult) resp. 50mg/kg (copii > 1 lună), de 2x/zi pe cale intravenoasă;
- Cefotaxima: 2 g (adult) de 4-6x/zi resp. 50mg/kg (copii > 1 lună) de 4x/zi pe cale intravenoasă;
- Cloramfenicol: 50mg/kg de 4x/zi pe cale intravenoasă.

Tratamentul de susținere este de asemenea important, mai ales la pacienții aflați în stare de șoc septic sau sepsis. Acesta include, resuscitarea intravenoasă a fluidelor, administrarea norepinefrinei precum și hidratare masivă, transfuzii sanguine sau inclusiv înlocuirea factorului de coagulare (în caz de coagulare intravasculară). Cu toate că, în prezent, există o terapie eficientă împotriva meningococului, rezistența antimicrobiană a devenit o problemă la nivel global.

În vederea optimizării răspunsului la tratament, un rol important îl reprezintă:

- identificarea precoce a microorganismului,
- instituirea cât mai rapid a antibioterapiei la bolnavi,
- măsurile de profilaxie la contacti, deoarece rata de răspândire a meningococului este foarte mare, izolarea, chimioprofilaxia și profilaxia prin vaccinare.

Chimioprofilaxia este o metodă profilactică ce constă în administrarea rifampicinei (de preferat pentru că se elimină prin salivă) și a ciprofloxacinei la persoanele care au intrat în contact cu un bolnav.

Vaccinarea este principala metodă profilactică de răspândire a bolii meningococice, mai ales la pacienții cu risc crescut, tineri și copii. Pe piața farmaceutică există la ora actuală diverse vaccinuri pentru aproape toate serotipurile meningococice cu virulență crescută (exceptie serogrupul X). Ținta terapeutică este identificarea și dezvoltarea unui vaccin meningococic multivalent care acoperă toate liniile patogene. Cu toate că vaccinarea a contribuit la reducerea ratei îmbolnăvirilor și a complicațiilor, urmările și efectele bolii au în continuare un impact crescut în cadrul populațiilor cu risc iar boala meningococică invazivă rămâne o provocare majoră la nivel mondial, cu o mortalitate de 4-20%, dependentă de vârsta pacientului și de tipul tulpinii.

1.2.1.2. *NEISSERIA GONORRHOEAE* (GONOCOCUL)

Neisseria gonorrhoeae este o bacterie gram negativă și un agent patogen exclusiv uman. A fost descris pentru prima dată în anul 1879, de către Albert Neisser. Acesta a examinat microscopic, cu ajutorul colorației gram, secreția purulentă uretrală a unui pacient și a identificat cu succes germenul.

N.gonorrhoeae este agentul etiologic al gonoreei - o patologie comunitară, cu transmitere sexuală, asociată cu o morbiditate ridicată la nivel global. Gonoreea reprezintă una dintre cele mai frecvente boli cu transmitere sexuală de origine bacteriană.

Caractere morfologice

Neisseria gonorrhoeae cuprinde coci gram-negativi, cu următoarele caracteristici:

- ✓ tip diplococ (compus din două celule unite, laturile adiacente sunt aplatizate) cu aspect de boabă de cafea și cu tropism intracelular,
- ✓ aerobi sau facultativ anaerobi,
- ✓ imobili,
- ✓ nesporulați
- ✓ formează colonii de tip S cu dimensiuni de aprox. 1-5 mm,
- ✓ la suprafață prezintă o capsulă polizaharidică și numeroși pili.



Figura 11. *Neisseria gonorrhoeae* pe mediul de cultură chocolate agar.

Habitat și epidemiologie

Gonococul colonizează exclusiv organismal uman și afectează în mod special populația tânără, similar altor infecții cu transmitere sexuală. Colonizează în mod special mucoasa genitală dar are afinitate și pentru mucoasa nazofaringiană, oculară și ano-rectală. Nu poate supraviețui în exteriorul organismului uman.

Sursa de contaminare o reprezintă bolnavul cu gonoree. Transmiterea microorganismului are loc:

- prin contact sexual - sexul neprotejat crește riscul transmiterii bolii. Gonococul se leagă de celulele spermatozoide și astfel se transmite mai departe, prin ejaculare, de la bărbați la partenerii sexuali. Sperma conține un număr crescut de gonococi.
- în timpul nașterii de la mamă la nou-născut.

La ora actuală, este considerată cea de-a doua cauză de infecție bacteriană cu transmitere sexuală, la nivel mondial.

Conform Organizației Mondiale a Sănătății, anual au fost raportate numeroase cazuri, aprox. 106 milioane de cazuri noi, în rândul adulților, la nivel mondial. Rata infecțiilor sexuale cauzate de *N. gonorrhoeae* a crescut tot mai mult în ultimii 10 ani deoarece tulpinile gonococice au devenit tot mai rezistente la antibioterapie. Dacă nu se iau măsuri terapeutice cât mai rapid, gonoreea va duce la o creștere a incidenței, respectiv la intensificarea complicațiilor.

Patogenitate

Gonococul are un nivel crescut de virulență și numeroși factori de patogenitate. Gonococul nu secretă exotoxine puternice iar patogenitatea este cauzată în principal de activarea sistemului imun înăscut.

Etapele de patogenitate

- Etapa de adeziune – este prima etapă în inițierea procesului infecțios al gonococilor. Gonococul are capacitatea de a adera la suprafața celulelor epiteliale prin anumite structuri de pe suprafața celulei bacteriene (ex. pili). Acesta are afinitate pentru epiteliul columnar al cervixului, uretrei, rectului, faringelui și al conjunctivei. În cazul în care pili sunt absenți, tulpinile respective devin nepatogene.

- Etapa de colonizare - după ce gonococul a aderat de celulele mucoasei epiteliale, are loc replicarea bacteriană în mediul extracelular iar din mediul înconjurător are loc achiziția de nutrienți. Aceste procese favorizează colonizarea celulelor bacteriene.
- Etapa de invazie locală a celulelor epiteliale ale mucoaselor și transcitoza în interiorul celulelor gazdă - are loc competiția cu microbiota saprofită și este stimulată pătrunderea gonococului la nivel intracelular, prin endocitoză. Gonococul se multiplică intracelular sub formă de vacuole, care îi protejează de mecanismele imune (fagocite, anticorpi). Vacuolele migrează spre polul bazal al celulelor mucoasei epiteliale, iar bacteria este eliberată din vacuolă, prin procesul de exocitoză, în țesutul subepitelial, concomitent are loc difuzarea gonocoului intercelular.

Gonococul interacționează, prin intermediul fimbriilor, cu sistemul complement și favorizează invazia celulelor cervicale. Acesta invadează celulele epiteliale neciliate iar la bărbați invadează celulele epiteliale uretrale, atunci când lipooligozaharida (LOZ) este desialilată. Un aspect important în virulența gonococului este absența acidului sialic de pe suprafața celulelor epiteliale uretrale ale bărbaților, ceea ce facilitează pătrunderea gonococului în interiorul acestora. Prin intermediul interacțiunii dintre lipooligozaharidă și asialoglicoproteină, este promovat procesul invaziv în celulele epiteliale uretrale la bărbați. La femei, invazia în celulele cervicale este mediată de prezența receptorului CR3 iar în celulele uterine și ale endometrului, invazia este mediată de prezența receptorului LHR. Invazia locală duce la procesul de transcitoză a epiteliului, ceea ce poate favoriza invazia diseminată a gonococului.

Factorii de patogenitate favorizează adeziunea, multiplicarea și invazie a meningococului și joacă un rol major în supraviețuirea acestuia în organismul gazdă.

- Adezinele (factorii de adeziune)
 - fimbriile (pili comuni) tipul IV - sunt structuri de tip „adezine”, localizate pe suprafața membranei exterioare. Acestea stimulează adeziunea dar și motilitatea gonococului printre celulele epiteliale columnare și neciliate, formează microcolonii și îi oferă protecție. O modificare frecventă în structura piliilor va conduce la apariția infecțiilor cronice. Atașarea gonococilor

de mucoasa genitală va împiedica eliminarea mecanică a gonococilor, prin secreția vaginală /uretrală sau prin urină.

- proteinele membranare externe
 - proteinele Por - formează pori la nivelul membranei externe și favorizează schimbul de molecule cu spațiul periplasmatic. De asemenea inhibă formarea fagolizosomului și astfel joacă un rol în multiplicarea și supraviețuirea gonococului în interiorul fagocitelor. Porina B (PorB) este una din cele mai comune și des întâlnite proteine gonococice în membrana exterioară. Se atașează de factorul complement C4bp și de factorul H și suprimă reacția oxidativă, produsă de neutrofile precum și apoptoza indusă de acestea.
 - proteinele de opacitate (OpaP) - mediază adeziunea, colonizarea gonococilor în vilozitățile celulelor epiteliale precum și procesul de transcitoză în celulele epiteliale.
- Proteaze IgA– descompun moleculele de IgA secretorii de la nivelul mucoaselor, care au rol în imunitatea locală și favorizează colonizarea mucoaselor.
- Capsula din acid sialic – are rol antifagocitar.
- Componente din structura peptidoglicanului – activează complementul C și au efect citotoxic celular.
- Endotoxine bacteriene – lipooligozaharidele bacteriene ce conține lipidul A responsabil de inducerea toxicității. Lipooligozaharidele bacteriene se aseamănă cu lipopolizaharidul, dar nu conține lanțurile lungi și repetitive ale acestuia. Celula bacteriană eliberează endotoxine prin autoliza celulelor - afectează acțiunea cililor epiteliali, promovează colonizarea bacteriană și induce un răspuns inflamator în organismul gazdă:
 - activează factorii de transcripție inflamatorii (ex. factorul de necroză al tumorilor TNF – care distruge celulele);
 - stimulează secreția unor citokine proinflamatorii, concomitent are loc chemotaxia celulelor polimorfonucleare la locul infecției. Endotoxinele sunt rezistente la acțiunea complementului.

- Sisteme de captare a fierului din transferină și lactoferină dar și direct din hemoglobină (similar cu meningococul), ceea ce asigură necesarul de fier pentru metabolismul gonococilor.
- Variabilitatea antigenică a gonococilor – oferă protecție împotriva mecanismelor immune.

Sistemele de apărare ale organismului împotriva gonococului:

- secreția vaginală/uretrală- favorizează eliminarea mecanică a gonococilor
- prezența anticorpilor IgA secretorii- împiedică aderența gonococilor de mucoasa genitală
- sistemul complement și celulele polimorfonucleare.

Au fost semnalate numeroase mecanisme de combatere a sistemelor de apărare imună ale organismului gazdă, de unde și rezistența tot mai crescută a gonococului la tratamentele actuale.

Manifestări clinice

N. gonorrhoeae este un agent patogen care cauzează infecții urogenitale, cunoscute sub denumirea de “gonoree”. Cele două mari clase de infecții produse de gonococ, sunt:

Infecții localizate

Gonoreea este o boală infecto-contagioasă. cu transmitere sexuală, care se manifestă local, sub forma unei secreții purulente. Cele două forme clinice de manifestare sunt:

- **Cervicita**
 - la femei la nivelul cervixului (secreții vaginale, dureri pelviene, disurie);
 - majoritatea cazurilor (peste 50% din paciente) sunt asimptomatice și nespecifice;
 - adesea secreția vaginală gonococică este confundată cu o vaginoză bacteriană sau fungică sau cu o modificare hormonală;

- la copii mucosa vaginală are un nivel mai scăzut de estrogen (o mucoasă mai subțire) și un pH alcalin, aceste caracteristici cresc sensibilitatea mucoasei la acțiunea gonococilor.

- **Uretrita**

- la bărbați la nivelul uretrei (secreție alb-gălbuie, inițial seroasă apoi purulentă, usturime și durere la micțiune, disconfort testicular);
- majoritatea pacienților (aprox. 90%) sunt simptomatici.

Dacă infecțiile urogenitale nu sunt diagnosticate și tratate la timp, gonococul poate migra ascendent spre tractul urogenital superior (ex. endometru, prostată, epididimul) unde produce numeroase complicații cu potențial sever, în special la femei.

Printre cele mai des întâlnite complicații la femei se numără:

- boala inflamatorie pelviană (durere pelvină);
- salpingită (infertilitate și risc de sarcină ectopică, extrauterină cu mortalitate ridicată);
- endometrita, ovarita, peritonita.

Printre cele mai des întâlnite complicații la bărbați se numără:

- prostatita;
- orhita;
- limfangita și edemul penisului;
- epididimita;
- stricturi uretrale post-infecțioase.

Alte infecții produse de gonococ la nivel local sunt:

- infecții faringiene – adesea asimptomatice;
- infecții rectale la adulți – frecvent la homosexuali. Infecția poate fi asimptomatică, sau se caracterizează prin secreții rectale purulente, sângerări, durere rectală, proctită;

- gonoreea oculară – este o afecțiune a conjunctivei,
 - oftalmia neonatorum sau conjunctivita la nou-născuți.
Se caracterizează printr-o secreție conjunctivală severă care poate să producă orbire la nou-născut. Infecția se transmite direct de la mamă la făt în timpul nașterii, prin tarctul genital infectat.
 - gonoreea ocular la adult.
Se caracterizează prin durere, secreție gălbuie și tulburări de vedere; mai jos este prezentată forma clinică de manifestare a gonoreei oculare la un adult.

Infecții diseminate

O altă complicație comună femeilor dar și bărbaților este infecția gonococică diseminată. Infecțiile locale asimptomatice sau netratate duc la declanșarea procesului de diseminare a microorganismului și produc infecții generalizate. Incidența infecțiilor gonococice diseminate este, în general, scăzută.

Factorii de risc, care favorizează diseminarea microorganismului sunt:

- tulpina gonococică – anumite tulpini au un grad de diseminare mult mai mare comparativ cu alte tulpini de gonococ și au o serie de proprietăți:
 - sunt rezistente la acțiunea serului,
 - sunt sensibile la antibioterapia cu peniciline;
- imunitatea scăzută a organismului – activitate scăzută a complementului.

Diseminarea infecției va produce simptome specifice, precum:

- artrită, poliartralgi, tenosinovită;
- endocardită, pericardită;
- vasculită;
- meningită;

- leziuni cutanate, caracterizate sub formă de papule care apoi se transformă în pustule hemoragice cu eritem periferic;
- septicemie, atât la sugari cât și la adulți.

Tratament

Antibioterapia este esențială în gestionarea infecțiilor urogenitale cu *N. gonorrhoeae*.

În jurul anului 1950, gonococul a prezentat o sensibilitate crescută la acțiunea penicilinei, începând cu anul 1976 au apărut tulpinile producătoare de penicilinaze. Acestea s-au caracterizat printr-o rezistență crescută la acțiunea penicilinei.

Antibioticele recomandate în tratarea infecțiilor cu tulpini gonococice sunt:

- cefalosporinele – în infecții necomplicate,
- fluorochinolone sau aminoglicozide – la pacienții alergici la cefalosporine,
- tetraciclone sau macrolide în asociere cu fluorochinolonele sau cefalosporinele, atunci când apare suprainfecția cu sp. *Chlamydia*.

Dozele antibioticelor sunt următoarele:

- ceftriaxonă de 500mg sau 1g, în doză unică, pe cale intravenoasă sau intramusculară,
- azitromicină 1g în asociere cu cefixima 800mg sau ceftriaxona 500mg, în doză unică; diferența dintre cefiximă și ceftriaxonă (ambele cefalosporine) constă în obținerea unor concentrații sanguine cu efecte bactericide diferite, ceftriaxona având un efect bactericid mai puternic,
- în infecții grave (ex. boala inflamatorie pelvină, epididimita, proctita), se preferă asocierea ceftriaxonei 500mg, în doză unică, pe cale intravenoasă sau intramusculară, în asociere cu doxicilina 100 mg, administrată pe cale orală, pe o perioadă de 7 zile,

- în cazul rezistenței crescute a gonococului la terapia cu cefalosporine se indică administrarea gentamicinei, 240mg în doză unică, pe cale intramusculară în asociere cu azitromicina 1g, în doză unică, administrată oral,
- la pacienții alergici la cefalosporine, se indică tratamentul cu aztreonam de 1g (în infecții urogenitale) sau de 2g (în infecții faringiene sau rectale), pe cale intravenoasă.

La ora actuală, multirezistența gonococului la tratamentul cu cefalosporine cu spectrul extins (ex. ceftriaxona sau cefixima) dar și la cel cu peniciline, azitromicină, fluorochinolone sau tetraciclone, reprezintă o problemă de sănătate majoră. Tratamentul abuziv cu antibiotice a condus la apariția tulpinilor rezistente la diferite clase de antibiotice. În anul 2018 au fost raportate primele tulpini de gonococ rezistente la tratamentul simultan cu cefalosporine și azitromicină. Este necesară identificarea unor noi clase de antibiotice:

- sitafloxacină sau delafloxacină - inhibă replicarea ADN-ului bacterian,
- zoliflodacin și gepotidacin (încă în studii de cercetare, faza III) - inhibă replicarea ADN-ului bacterian,
- lefamulină și solitromicina - inhibă sinteza proteică în celula bacteriană.

Profilaxia este extrem de importantă:

- normele de igienă sexuală trebuie respectate;
- persoanele care au intrat în contact cu un pacient bolnav trebuie tratați corespunzător;
- la nou-născuți se administrează local, în scop profilactic, eritromicină sau soluție de AgNO₃ 1%, imediat după naștere;
- nu există vaccin împotriva speciei *N. gonorrhoeae*.

2. BACILI

2.1. BACILI GRAM-POZITIVI

- genul *Bacillus*
- genul *Clostridium*
- genul *Corynebacterium*
- genul *Listeria*
- genul *Erysipelotrix*

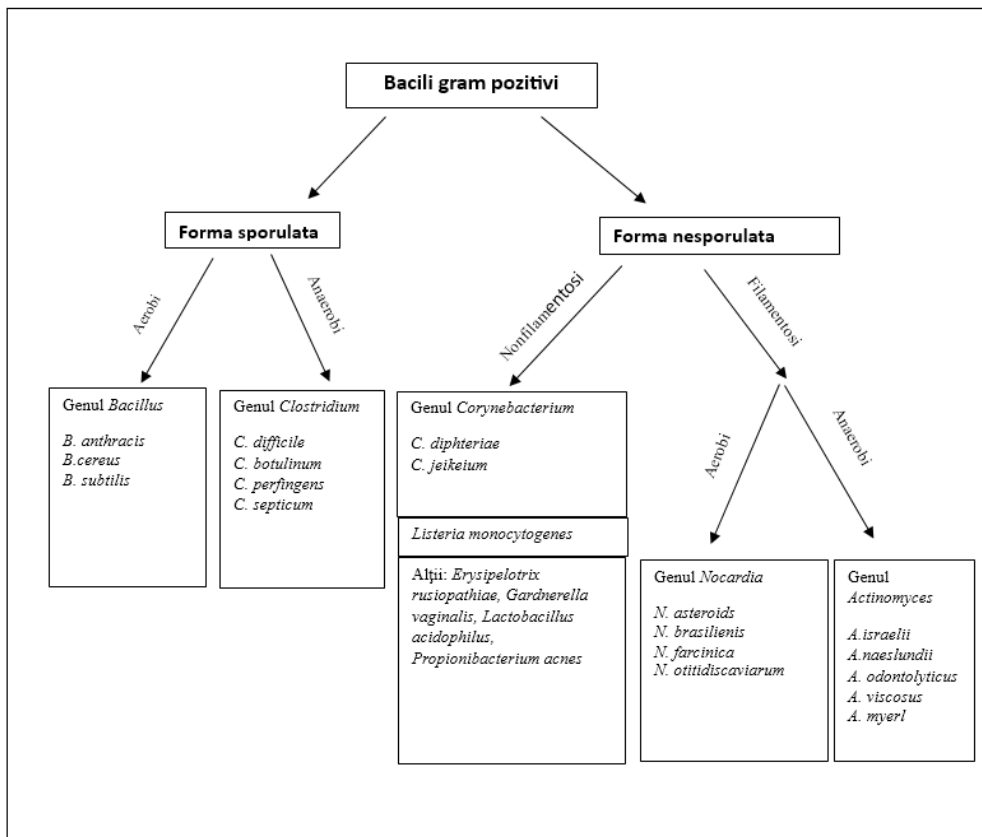


Figura 12. Clasificarea bacililor gram pozitivi

2.1.1. Genul *Bacillus*

Genul *Bacillus* cuprinde bacili gram-pozitivi, aerobi, cu capacitate facultativ anaerobă, majoritatea fiind mobili și sporulați, extrem de rezistenți la condițiile de mediu. Sporularea se produce exclusiv în prezența oxigenului atmosferic.

Este inclus în familia *Bacillaceae*, împreună cu genul *Clostridium*, fiind cunoscute peste 50 de specii, dintre care doar *B. anthracis*, este considerat patogen, fiind agentul etiologic al antraxului. Alte specii, cum ar fi *B. cereus* și *B. subtilis*, sunt patogene oportuniste.

Tabelul 1. Specii de *Bacillus* și patologia produsă

Microorganism	Afecțiune
<i>Bacillus anthracis</i>	Antrax - forma cutanată - forma gastro-intestinală - forma pulmonară
<i>Bacillus cereus</i>	Gastroenterită, Panoftalmită, Infecții oportuniste - ale plăgilor - bacteriemii - pneumonii - meningite
<i>Bacillus subtilis</i>	Infecții oportuniste - toxiinfecții alimentare - bacteriemii

Habitat

Bacteriologul Robert Koch a fost primul care a identificat *Bacillus anthracis* ca principalul agent cauzator al antraxului, în anul 1877. Denumirea *anthracis* provine din cuvântul grecesc "anthrakis" care înseamnă "cărbune" și face referire la o leziune caracteristică antraxului cutanat, în care pielea afectată capătă o culoare neagră, asemănătoare cărbunelui.

În condiții dificile, precum seceta, bacilul formează endospori care pot rămâne în sol timp de mulți ani. Atunci când animalele cum ar fi oile, vitele sau alte ruminante, pasc pe aceste terenuri, spori pătrund în organismul lor unde se multiplică rapid, putând cauza moartea animalului. După deces, multiplicarea bacteriei continuă pe cadavrul animalului, iar când nutrienții se epuizează, spori revin în sol, reluând astfel ciclul de viață.

Speciile *B. cereus*, *B. subtilis* și *B. licheniformis* cresc în soluri sărace și contaminate adesea orezul, legumele și fructele uscate.

Multe specii de *Bacillus* fac parte din microbiota indigenă, rezidentă sau flotantă a colonului uman.

Morfologie

Bacillus anthracis are formă de bastonașe lungi (1 x 3–5 μm), care apar izolate sau în perechi în frotiurile realizate din produse patologice și sub formă de lanțuri lungi în frotiurile din cultură. Spori devin vizibili în frotiurile provenite din culturi după 2–3 zile, însă nu sunt prezenți în frotiurile efectuate din produse patologice. Bacteria este imobilă, fermentează glucoza, produce lecitază și poate crește pe medii cu concentrații mari de cloruri și la un pH <6. De asemenea, pe geloza sânge aceasta nu prezintă hemoliză.

Patogenitate

Virulența *Bacillus anthracis* este determinată în principal de doi factori majori, **capsula** și **toxina**.

- **Capsula**, de natură polipeptidică (formată din acid D-glutamic), are un rol antifagocitar, însă anticorpii îndreptați împotriva capsulei nu oferă protecție. Pe lângă antigenul capsular, *B. anthracis* conține și un antigen somatic de natură polizaharidică.
- **Toxina bacilului antrax** este alcătuită din trei componente distincte, sensibile la căldură: antigenul protector, factorul letal și factorul

edematogen. Niciuna dintre aceste componente nu este activă de sine stătător, efectele toxice apar doar prin combinarea antigenului protector cu una dintre celelalte componente.

Combinăția dintre antigenul protector și factorul edematogen provoacă edem la animalele de laborator, în timp ce asocierea cu factorul letal duce la deces. Toxina bacilului poate fi detectată în lichidul edematos colectat de la pacienții cu antrax.

Epidemiologie

Bacillus anthracis este agentul cauzator al antraxului, cunoscut și sub denumirile de cărbune sau dalac. Această boală afectează în principal erbivorele precum vacile, caii și oile, care se contaminatează prin ingestia sporilor prezenți pe solul sau vegetația contaminată.

La om, antraxul poate apărea sub trei forme, în funcție de calea de contaminare:

- forma cutanată (pustula malignă), cea mai frecventă, debutează cu o leziune unică sau multiplă, înconjurată de edem. Inițial apare ca o maculă, care evoluează în papulă, veziculă și apoi pustulă, formând în cele din urmă o crustă neagră, de unde provine denumirea de "cărbune".
- forma gastro-intestinală se prezintă sub forma unei enterite severe, însoțită de scaune mucosangvinolente.
- forma pulmonară apare ca o pneumonie gravă.

Toate formele bolii pot progresa către septicemie sau meningită. Transmiterea de la om la om nu a fost documentată.

Bacillus cereus este o bacterie anaerobă, sporogenă, răspândită în sol, praf și apă, cunoscută pentru implicarea sa în toxiinfecții alimentare, raportate încă din 1906. Produce diverse toxine și enzime, precum lecitinază, protează, beta-lactamază, sfingomielinază, cereolizină (hemolizina 1) și hemolizina BL.

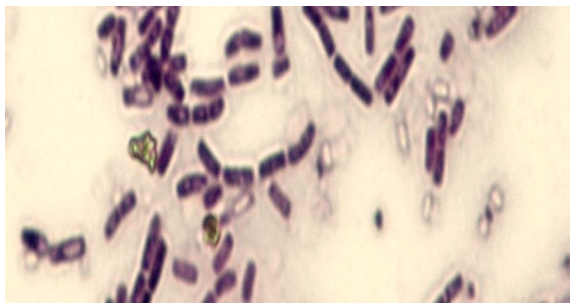


Figura 13. *Bacillus cereus*, colorație Gram

Poate cauza două tipuri de gastroenterite:

- forma emetică, asociată cu orez sau paste contaminate în care spori supraviețuiesc tratamentului termic.
- Forma diareică, legată de carne, sosuri sau legume contaminate.

B. cereus este o cauză frecventă a infecțiilor oculare posttraumatice (keratite, endoftalmite, panoftalmie), adesea provocate de corpi străini contaminați cu pământ. Panoftalmia evoluează rapid, ducând la pierderea vederii în 48 de ore.

Speciile din genul *Bacillus* mai pot cauza: endocardite (asociate cu consumul abuziv de droguri), pneumonii, osteomielite, bacteriemii și meningite la pacienții cu sistem imunitar compromis.

Tratament și profilaxie

Majoritatea tulpinilor de *Bacillus anthracis* sunt sensibile la penicilină, considerată tratamentul de primă alegere, precum și alte antibiotice, cum ar fi fluorochinolonele, gentamicina, eritromicina, tetraciclina și cloramfenicolul.

Bacillus cereus se diferențiază de *B. anthracis* prin mobilitatea sa, lipsa capsulei și rezistența la penicilină fiind recomandat tratament simptomatic în cazul gastroenteritelor provocate de acest bacil. Tratamentul infecțiilor cauzate de alte specii de *Bacillus* este complicat de evoluția progresivă a acestora și de rezistența crescută la antibiotice, inclusiv la penicilină și cefalosporine. În aceste cazuri antibiotice precum vancomicina, clindamicina și aminoglicozidele s-au dovedit eficiente.

Profilaxia antraxului include vaccinarea animalelor din zonele endemice și îngroparea corespunzătoare a celor decedate din cauza bolii. Vaccinarea contribuie, de asemenea, la protejarea populației din aceste regiuni și a persoanelor cu risc profesional ridicat, cum ar fi cei care manipulează piei, lână sau păr de animale. Eradicarea completă a antraxului este dificilă, deoarece sporii pot supraviețui în sol pentru perioade lungi.

Pentru prevenirea toxiinfecțiilor alimentare, este importantă refrigerarea adecvată a produselor alimentare.

2.1.2. Genul *Corynebacterium*

Din cele 68 de specii incluse până acum în genul *Corynebacterium*, cele toxigene cu relevanță pentru patologia umană sunt *C. diphtheriae* și într-o măsură mai mică *C. ulcerans* și *C. pseudotuberculosis* (tulpinile toxigene).

Subtipurile speciei *C. diphtheriae* sunt:

- *gravis*
- *intermedius*
- *mitis*

Recent, unii cercetători au introdus și un al patrulea biotip, *belfanti*.

În cadrul speciei *C. ulcerans*, au fost identificate subtipurile *gravis* și *intermedius*.

Sunt bacilii corineformi, nu reprezintă o grupare taxonomică distinctă, însă împărtășesc caracteristici comune din punct de vedere microscopic, cultural și biochimic. *Corynebacterium diphtheriae* este agentul etiologic al difteriei.

Habitat

Corynebacteriile nepatogene fac parte din microbiota normală a pielii și a nazo-faringelui.

Bacilii din specia *C. diphtheriae* pot fi prezenți în leziunile caracteristice de pe mucoase (“false membrane”) sau pe piele (ulcerații profunde) la bolnavi, precum și în nazo-faringe la purtători sănătoși (convalescenți sau cronici). Omul este singura gazdă naturală a *C. diphtheriae*, iar transmiterea interumană are loc pe cale respiratorie, prin picăturile lui Pflüge sau prin contact direct cu pielea contaminate.

Morfologie

Genul *Corynebacterium* cuprinde bacili Gram-pozitivi, pleomorfi, nesporulați, imobili, necapsulați și facultativ anaerobi. Bacilii sunt drepți sau ușor curbați, cu capetele măciucate, având dimensiuni de 1–8 μm /0,5–1 μm , variabile în funcție de specie, biotip și condițiile de creștere (mai mici la biotipul *gravis*, mai mari la *intermedius* și *mitis*). Se dispun caracteristic în zig-zag (literele L, M, N, Y, V) sau în palisade (aspecte asemănătoare literelor chinezești), acest aranjament fiind rezultatul diviziunilor în planuri paralele și al lipsei separării complete a celulelor.



Figura 14. *Corynebacterium diphtheriae*, colorație Gram

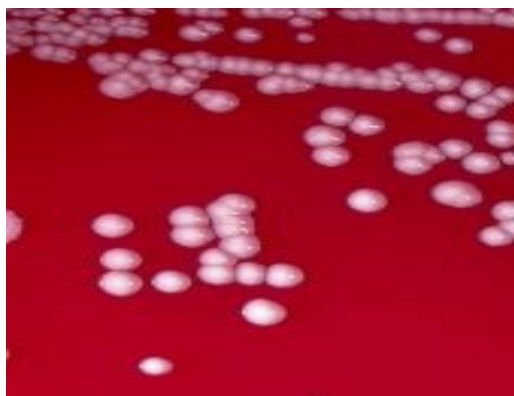


Figura 15. *Corynebacterium diphtheriae*, pe mediul de cultură geloză sânge.

Patogenitate

Germenii rămân localizați la poarta de intrare, unde se multiplică și eliberează exotoxine care se răspândesc în organism, provocând efecte toxice în diverse organe. Infecțiile pot fi asimptomatice sau evidente clinic.

Toxina difterică este o exotoxină produsă doar de anumite tulpini de *C. diphtheriae* care au dobândit această capacitate prin conversie lizogenică. Este formată din două fragmente: A (responsabil de toxicitate) și B (asigură legarea de celula-gazdă). Prin tratare cu formol și căldură, toxina devine anatoxină.

C. diphtheriae produce și neuraminidază, care determină necroză la locul de intrare, facilitând multiplicarea germenilor. *C. ulcerans* sintetizează cantități mari de neuraminidază, o toxină cu efecte similare și fosfolipază D. *C. pseudotuberculosis* este mai puțin studiată, dar se consideră că produce factori de patogenitate similari.

Tulpinile toxigene de *C. diphtheriae* cauzează difteria, o boală infecțioasă acută și transmisibilă.

Forme clinice

- **Difteria faringiană** (cea mai frecventă, 60–70% din cazuri)
Se manifestă ca o angină, cu depozite purulente sub formă de „false membrane” care se extind rapid, edem intens și adenopatii satelite. Simptomele includ febră (38–39°C), toxemie, astenie marcată, grețuri, vărsături și manifestări cardiovasculare. Netratată precoce, are o mortalitate ridicată (50–60%).
- **Difteria laringiană** (crup difteric, 20–30% din cazuri)
Apare primar sau secundar unei angine, manifestându-se ca o laringită obstructivă severă, letală în lipsa tratamentului prompt.
- **Difteria nazală**
Mai rară, se prezintă ca o rinită serosanguinolentă, cu „false membrane” și eroziuni la nivelul narinelor, având relevanță epidemiologică.
- **Difteria plăgilor** și alte forme (oculare, otice, vulvare, anale)
Apar rar și pot provoca eroziuni cutaneo-mucoase.

Formele severe pot duce la miocardite, endocardite și paralizii.

La pacienții care se recuperează, pseudomembrana se poate desprinde și elimina prin expectorație la aproximativ o săptămână.

Difteria cutanată apare prin contact direct între pielea unei persoane infectate și pielea altei persoane. Microorganismele de pe suprafața pielii pot penetra țesutul subcutanat prin leziuni, precum înțepăturile de insecte. Se manifestă prin papule care evoluează în ulcere cronice, dificil de vindecat, uneori acoperite de o membrană cenușie. Simptomele bolii sunt cauzate de exotoxină, care poate difuza în organism prin sânge, însă complicațiile sistemice sunt rare.

Epidemiologie

Datorită vaccinării obligatorii cu vaccinul DTP, difteria este acum rară în Europa. Cu toate acestea, boala persistă în zonele urbane sărace, caracterizate prin densitate mare a populației și acces redus la vaccinare.

La persoanele sănătoase, *C. diphtheriae* poate fi prezent în orofaringe sau pe piele. Transmiterea se realizează fie pe cale aeriană, fie prin contact direct cu pielea contaminată.

Forma cutanată a bolii este mai frecvent întâlnită în regiunile tropicale.

Tratament și profilaxie

Tratamentul difteriei include administrarea rapidă a antitoxinei difterice, pentru a preveni fixarea toxinei la celulele miocardului și sistemului nervos, deoarece toxina fixată nu poate fi neutralizată. Antibioticele, precum penicilina sau eritromicina, sunt eficiente în eliminarea *C. diphtheriae* la pacienți și purtători, oprind sinteza toxinei.

Chimioprofilaxia constă în administrarea eritromicinei timp de 7-10 zile sau a benzantinpenicilinei într-o singură doză.

Profilaxia este obligatorie și se realizează prin vaccinare cu anatoxina difterică, conform programului național de vaccinare, începând cu vaccinul hexavalent la 2, 6 și 11 luni, urmat de vaccinări suplimentare la 6 și 14 ani.

2.1.3. Genul *Listeria*

Potrivit *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, genul *Listeria* cuprinde șase specii:

- *L. monocytogenes*
- *L. ivanovii*
- *L. grayi*
- *L. seeligeri*
- *L. welshimeri*
- *L. innocua*

Dintre acestea, *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* și *L. seeligeri* sunt patogene pentru om.

Habitat

Listeriile sunt răspândite pe scară largă în mediul extern, fiind prezente în sol, ape, vegetale și dejecte. La animale și oameni există numeroși purtători asimptomatici care elimină germenii prin materiile fecale, având o importanță epidemiologică.

La păsări, listeriile pot cauza diaree și tulburări neurologice, de obicei letale. La mamifere, *Listeria monocytogenes* poate afecta sistemul nervos central, provocând meningoencefalite sau alte tulburări neurologice, iar aproximativ 40% dintre animale pot fi recuperate prin terapie, dar cu riscul de a rămâne cu sechele.

La oameni, aproximativ 5-10% sunt purtători intestinali sănătoși, în special cei care intră frecvent în contact cu animale domestice. *Listeria monocytogenes* a fost detectată în alimente crude sau insuficient preparate termic, cum ar fi carne, produse din carne, pește, legume și produse lactate.

Morfologie

Sunt bacilii gram-pozitivi, cu un diametru de 0,4-0,5 μm și o lungime de 0,5-2 μm , neramificate, cu capete rotunjite, care sunt aranjați în palisade sau lanțuri. În culturi mai vechi, aceștia pot apărea sub formă de filamente lungi de 6-20 μm . Sunt bacili nesporulați, facultativ anaerobi, iar mobilitatea lor se manifestă prin prezența a 1-5 cili peritrichi. Aceste bacterii cresc pe

medii de cultură uzuale sau complexe, într-o gamă largă de temperature, între 30-37°C, dar pot supraviețui chiar și la 4°C timp de mai multe zile și în medii cu concentrații ridicate de NaCl (10-12%). Bacteriile din acest gen sunt catalazo-pozitive, oxidazo-negative și fermentative pentru glucoză, producând gaz.

Listeria monocytogenes are formă cocobacilară, similară corynebacteriilor sau diplococilor gram-pozitivi, precum *Streptococcus pneumoniae* și *Enterococcus*.



Figura 16. *Listeria monocytogenes*, pe mediul Chromogenic Listeria Agar

Patogenitate

Un factor important de virulență al *Listeria monocytogenes* este motilitatea, asigurată de cili.

Invazivitatea sa este bine stabilită, însă mecanismele nu sunt complet elucidate. Se presupune că invazia are loc prin traversarea mucoasei intestinale, listeriile multiplicându-se în enterocite și ajungând ulterior în sânge, unde pot cauza localizări secundare.

Tulpinile virulente de *Listeria monocytogenes* produc:

- listeriolizină (LLO) – o proteină cu acțiune hemolitică, similară altor toxine bacteriene (streptolizina O, pneumolizina, perfringolizina), considerată principalul factor de virulență;
- fosfolipaze – care hidrolizează fosfolipidele gazdei.

Listeriile au capacitatea de multiplicare intracelulară și pot invada endoteliile progresiv.

Forme clinice

- **Listerioza materno-fetală**

- La gravide, infecția poate cauza bacteriemie manifestată ca o viroză respiratorie, ducând la avorturi sau nașteri premature dacă nu este tratată.
- La nou-născuți:
 - forma precoce (transplacentară) – granulomatoză septică infantilă, cu abcese și granuloame în organe, tulburări de coagulare, semne neurologice și erupții cutaneo-mucoase.
 - forma tardivă – apare la 2-3 săptămâni și se manifestă prin meningită sau meningoencefalită cu septicemie.

- **La imunocompromiși** cele mai frecvente sunt meningita, encefalita și septicemia, iar mai rar peritonita, osteomielita, limfadenita sau endocardita. Tropismul pentru sistemul nervos explică gravitatea și sechelele neurologice frecvente.
- **Listerioza alimentară**, germenii intră prin tractul digestiv, se multiplică în intestin și ajung în ficat și splină prin sânge. În macrofagele hepatice și splenice, bacteriile se multiplică și le distrug cu ajutorul listeriolizinei. În cazuri severe, se diseminează în organism, afectând sistemul nervos central sau placenta la gravide.
- **Listerioza nosocomială** apare în maternități.
- **Listerioza profesională** este specifică muncitorilor din abatoare și medicilor veterinari.

Epidemiologie

Deși listeriile sunt întâlnite frecvent în natură, infecțiile la om sunt relativ rare. Grupurile cu risc crescut includ nou-născuții, femeile însărcinate, vârstnicii și persoanele cu sistem imunitar compromis, în special cei cu deficiențe ale imunității celulare. Aproximativ 2-20% din populație, atât la oameni, cât și la animale, sunt purtători sănătoși ai bacteriilor în materiile fecale.

Listerioza umană are o incidență sporadică pe parcursul anului, cu un vârf în lunile calde, spre deosebire de listerioza la bovine, care este mai

frecventă în lunile reci. Sursa infecției la om nu este pe deplin cunoscută, dar focarele epidemice au fost legate de consumul de alimente contaminate. *Listeria* pot crește într-un interval larg de pH și la temperaturi scăzute, ceea ce le permite să se înmulțească lent în produsele alimentare refrigerate, atingând o doză infectantă. Având în vedere ubiquitatea lor și natura sporadică a infecțiilor, prevenirea rămâne o provocare.

Tratament și profilaxie

S-a constatat că *Listeria monocytogenes* este sensibilă *in vitro* la penicilină, ampicilină, gentamicină, eritromicină, tetraciclină, rifampicină și cloramfenicol. Totuși, au fost raportate cazuri de rezistență semnificativă la cloramfenicol, macrolide și tetraciline. În tratament, se recomandă de obicei asocierea β -lactamelor cu aminoglicozide. Antibioticul utilizat trebuie să ajungă la concentrații mari în celulele fagocitare, să poată traversa bariera hematoencefalică și să aibă un efect bactericid rapid, în timp ce cefalosporinele s-au dovedit ineficiente în tratamentul acestor infecții.

Profilaxia rămâne nespecifică.

2.1.4. Genul *Erysipelotrix*

Genul *Erysipelotrix* cuprinde două specii, *E. rhusiopathiae* și *E. tonsillarum*.

Erysipelothrix rhusiopathiae, care este foarte răspândită în natură și a fost izolată în 1883 de L. Thuiller și Pasteur din sângele porcilor bolnavi de ruje. Aceasta este agentul etiologic al infecției cunoscută sub denumirea de "erizipelul lui Rosenbach", descrisă în 1909 de F. J. Rosenbach, și cauzează și alte infecții la animale.

Sunt bacili gram-pozitivi, scurți și subțiri, uneori pleomorfi, cu tendința de a forma filamente lungi. Acești bacili sunt nesporulați, facultativ anaerobi și immobili.

Habitat

Erysipelothrix rhusiopathiae este o bacterie larg răspândită în natură, întâlnită în special în materiile organice în descompunere și în gunoiul de grajd. A fost izolată atât ca bacterie comensală, cât și patogenă, dintr-o gamă largă de animale, porcul fiind principalul rezervor. Gazdele naturale, precum crustaceele, peștii, păsările și mamiferele, contaminatează solul, apele de

suprafață și reziduurile. Această bacterie este rezistentă la temperaturi scăzute, se dezvoltă la pH alcalin, iar substanțele organice favorizează supraviețuirea sa. Parazitează mamiferele, păsările și peștii, fiind izolată din tractul lor digestiv și amigdale. Animalele bolnave sau purtătoare pot contamina solul și apa prin materiile fecale și urină. La oameni, infecția are un caracter profesional, fiind întâlnită în rândul măcelarilor, pescarilor, veterinarilor și crescătorilor de păsări. Boala apare atunci când microorganismul pătrunde printr-o leziune a pielii.

Patogenitate

Erysipelothrix rhusiopathiae devine patogen prin multiplicare și invazivitate. Factorii de virulență includ:

- adezina de suprafață, cu proprietăți antifagocitare;
- hialuronidaza;
- neuraminidaza.

Infecțiile umane apar la persoanele care intră în contact cu animale bolnave sau cu produse alimentare de origine animală contaminate. Poarta de intrare sunt discontinuitățile tegumentare, cum ar fi tăieturile sau înțepăturile. De asemenea, infecțiile pot apărea și prin contactul cu carne contaminată (carnea de porc).

Au fost descrise două tipuri de infecții:

- forma cutanată (erisipeloidul Rosenbach) – caracterizată printr-o reacție inflamatorie eritematoasă a tegumentului, însoțită de limfadenită. Manifestările clinice includ durere, edem și un eritem caracteristic care se extinde periferic, având un centru clar.
- forma septicemică, mai rară, care poate include și endocardită.

Tratament și profilaxie

În tratament se utilizează penicilina, alte opțiuni terapeutice includ cefalosporinele, macrolidele, clindamicina și fluorochinolonele. Aminoglicozidele, sulfamidele și vancomicina nu sunt eficiente împotriva acestui patogen.

Profilaxia se bazează pe măsuri nespecifice.

2.2. BACILI GRAM-NEGATIVI AEROBI GLUCOZO-FERMENTATIVI

2.2.1. Familia *Enterobacteriaceae*

Bacilii aerobi Gram-negativi pot fi împărțiți în două categorii principale:

1. **Fermentativi** – capabili să fermenteze glucoza.
2. **Nonfermentativi** – incapabili să fermenteze glucoza.

Familia *Enterobacteriaceae*

Bacili Gram-negativi, majoritatea mobili datorită flagelilor peritrichi, deși unele specii sunt imobile. Se dezvoltă pe medii cu peptonă în prezența bilei, fermentează glucoza, sunt oxidază-negativi, catalază-pozitivi și reduc nitrații la nitriți.

Cuprinde 28 de genuri, dintre care 23 sunt implicate în patologia umană.

Clasificare:

1. În funcție de patogenitate

➤ **Specii patogene:**

Shigella, Salmonella, Yersinia, unele variante ale genului *Escherichia*

➤ **Specii condiționat patogene**

Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Serratia, Edwardsiella.

➤ **Specii accidental patogene:**

Prezente în mod normal în mediu, dar pot cauza infecții în anumite condiții.

2. După reprezentarea în microbiota indigenă

- prezente în microbiota tuturor indivizilor;
- prezente doar la anumite persoane;
- parte a florei tranzitorii (flotante).

3. După caracterele de cultivare și biochimice

- proprietăți de creștere.
- caracteristici biochimice.

4. După fenotipurile de rezistență la antibiotice:

- Modele de rezistență la antibiotic.

Morfologie

Sunt bacili Gram-negativi de dimensiuni medii (0,3-1 sau 1-6 μm), cu capete rotunjite, dispunere necaracteristică. *Yersinia* este cocobacilară și colorată bipolar, iar *Proteus* este polimorf. Sunt mobili (cili peritrichi) sau imobili (specii *Shigella* și *Klebsiella* sunt imobile), nu formează spori, majoritatea nu au capsulă, cu excepții precum *Klebsiella* (capsulă proeminentă) și *Salmonella*, *E. coli* (material capsular), aerobe și facultativ anaerobe, cu cerințe nutritive reduse.

• Teste biochimice

- fermentează glucoza,
- reduc nitrații la nitriți,
- catalazo-pozitive și oxidazo-negative.

• Fermentarea lactozei (criteriu de diferențiere)

- lactozo-pozitive: *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* (colonii roșii pe medii MacConkey).
- lactozo-negative: *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia* (colonii transparente pe medii MacConkey).

Structura antigenică a enterobacteriilor

Clasificarea antigenică a enterobacteriilor se bazează pe trei tipuri principale de antigene:

1. Antigenul somatic O

- reprezintă partea distală a lipopolizaharidului (LPS) din peretele celular;

- specificitate de grup, utilizată pentru clasificarea genului în diferite grupe;
- format din unități zaharidice repetitive, determinând formarea de anticorpi IgM;
- identificat prin reacția de aglutinare; un microorganism poate avea mai multe antigene O;
- antigenele O pot fi comune între specii (*Shigella* și *E. coli*, *E. coli* și *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*);
- pierderea antigenului O prin mutații expune antigenul R.

2. Antigenul capsular K

- localizat distal de antigenul O, având o structură polizaharidică;
- specificitate de tip, interferează uneori cu identificarea antigenului O;
- exemple: *E. coli* și *Klebsiella* (antigen K), *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi C*, *Salmonella Dublin* (antigen Vi).

3. Antigenul flagelar H

- de natură proteică, prezent la bacteriile mobile;
- formează aglutinate laxe cu anticorpi IgG;
- prezintă variații de fază (H1 - specific, H2 - nespecific), fiind utilizat pentru clasificarea tipurilor dintr-o grupă.

4. Antigenul fimbrial F

- Implicat în adeziunea bacteriană, dar nu este un criteriu primar de clasificare.

Determinarea antigenelor O, K și H permite clasificarea enterobacteriilor în specii sau serotipuri distincte, (ex. *E. coli* – O75 K100 H15).

Habitat

Enterobacteriile sunt larg răspândite, fiind întâlnite în sol, apă, plante și în tractul intestinal al oamenilor și animalelor.

- *Escherichia coli* constituie 90% din microbiota facultativ anaerobă a colonului.

- Genurile *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* și *Citrobacter* sunt prezente variabil, reprezentând aproximativ 2% din microbiota facultativ anaerobă a colonului.
- *Shigella* este un patogen exclusiv uman.
- *Salmonella Typhi* infectează doar oamenii, în timp ce alte specii sunt prezente la animale și pot infecta ocazional omul.
- *Yersinia* are drept gazde rozătoare, păsările și carnivorele.

Enterobacteriile sunt rezistente în mediu, putând supraviețui până la 5-6 luni în apele contaminate cu materii fecale. Ele pot prolifera la temperatura camerei în medii umede, alimente sau soluții perfuzabile, ceea ce contribuie la răspândirea lor în comunități și în spitale, unde sunt frecvent implicate în infecții asociate asistenței medicale.

Aceste bacterii sunt sensibile la temperaturi ridicate, fiind distruse în 30 de minute la 55-60°C sau instantaneu prin fierbere, precum și prin utilizarea antisepticelor și dezinfectanților. Totuși, un număr tot mai mare de specii dezvoltă rezistență la antibiotice, în principal prin transfer plasmidic, complicând astfel tratamentul infecțiilor.

Patogenitate

Principalele mecanisme de virulență ale enterobacteriilor includ:

- **Endotoxina sau lipopolizaharidul (LPS)**, componentă a peretelui celular, care este eliberată doar după distrugerea bacteriei, având efecte inflamatorii semnificative asupra gazdei.
- **Exotoxinele**, cum ar fi enterotoxinele termostabile și termolabile, toxinele Shiga și Shiga-like, precum și hemolizinele, care provoacă daune directe celulelor gazdă.
- **Capsula**, prezentă la enterobacteriile capsulate, care le conferă protecție împotriva fagocitozei și facilitează supraviețuirea în organism.
- **Fimbriile**, structuri care permit aderarea și invazia bacteriană, ajutând la atașarea la celulele gazdă.
- **Supraviețuirea și multiplicarea intracelulară**, caracteristice unor specii precum *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* enteroinvaziv și *Yersinia*,

care pot persista în diverse celule, inclusiv fagocite, favorizând răspândirea infecției.

- **Rezistența la activitatea bactericidă a serului**, un factor de virulență important ce permite bacteriilor să evite eliminarea rapidă din sânge.
- **Rezistența la antibiotice**, care apare frecvent prin transferul de plasmide, cu exemple de transfer între specii, genuri și chiar familii de bacterii.

Acești factori permit enterobacteriilor să provoace infecții diverse și să contracareze mecanismele de apărare ale gazdei, ceea ce poate duce la infecții grave.

Enterobacteriile sunt responsabile atât de infecții intestinale, cât și extraintestinale. Infecțiile extraintestinale sunt mai rare și sunt asociate cu specii precum *E. coli*, anumite tulpini de *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter* și *Serratia*. Infecțiile intestinale sunt cauzate de patogeni specifici precum *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, *Yersinia* și, într-o măsură mai mică, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* și *Serratia*. În ceea ce privește sursele de infecție, acestea pot fi animale, cum ar fi în cazul *Salmonella*, purtători umani (ex. *Shigella* sau *Salmonella Typhi*) sau flora normală oportunistă, cum este cazul *E. coli*.

Evaluarea clinică a prezenței enterobacteriilor în probele biologice depinde de tipul de produs patologic și de habitatul normal al bacteriilor. Prezența acestora în probe din locații sterile sau în zonele în care nu ar trebui să se afle sugerează o cauză etiologică posibilă. De asemenea, în cazul probelor biologice normal contaminate, se evaluează numărul bacteriilor, severitatea reacției inflamatorii și potențialul patogenetic al bacteriei.

Izolarea enterobacteriilor patogene înalt, cum ar fi *Salmonella*, *Shigella* sau *Yersinia pestis*, din probe patologice are întotdeauna relevanță clinică, indiferent dacă pacientul prezintă simptome sau este purtător sănătos. Astfel de infecții pot duce la manifestări severe, mai ales în condiții de imunitate scăzută.

Tratament si profilaxie

Tratamentul antiinfecțios se ajustează în funcție de rezultatele antibiogrammei, având în vedere că multe tulpini, în special cele provenite din infecțiile nosocomiale, au dezvoltat rezistență la mai multe antibiotice.

Profilaxia este în general nespecifică, însă există circumstanțe în care se aplică măsuri de profilaxie specifică:

- vaccinarea împotriva febrei tifoide pentru persoanele care lucrează în industria alimentară sau în domeniul apei;
- vaccinarea împotriva dizenteriei, în special în comunități;
- vaccinarea împotriva ciumei, pentru persoanele care călătoresc în zone endemice.

2.2.1.1. Genul *Salmonella*

Genul *Salmonella* a fost denumit după medicul veterinar american Daniel Elmer Salmon, care a descoperit bacteria în 1885, izolând prima tulpină din acest grup taxonomic din intestinul unui porc, denumită *Bacterium suipestifer* (mai târziu *Bacterium cholerae suis*), fiind inițial considerată eronat ca agentul cauzal al salmonelozelor.

Speciile acestui gen includ *Salmonella enterica* și *Salmonella bongori* (cunoscută și sub denumirea de *Salmonella subterranea* din 2004). *Salmonella enterica* are mai multe subspecii: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* și *indica*. Majoritatea tulpinilor izolate din infecțiile umane (99,5%) aparțin subspeciei *S. enterica enterica*, care include peste 2500 de serovariante, printre care *S. London*, *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Choleraesuis* și altele.

Taxonomia salmonelozelor a fost controversată, iar Tindall și colab. au publicat o listă conform regulilor Comisiei Judiciare, incluzând interpretările lui Le Minor și Popoff (1987), precum și ale lui Reeves și colab. (1989). Aceasta listează principalele subspecii, precum *Salmonella bongori* și *Salmonella enterica*, care include mai multe subspecii, cum ar fi *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* și *indica*.

Este important de menționat că aceste denumiri publicate sunt recunoscute și utilizate de mulți bacteriologi, iar în 2005, Shelobolina și colab. au descoperit o nouă specie, *Salmonella subteranea*, care a fost inclusă în lista de validare.

Infecțiile cu *Salmonella* au o incidență crescută la toate speciile de animale din cauza prezenței ubicuitare a germenilor și existenței purtătorilor.

Pe baza antigenului somatic O, au fost descrise numeroase grupe serologice, marcate cu litere mari ale alfabetului, dintre care tulpinile izolate de la oameni fac parte în principal din grupele A - E. Antigenul H, în fazele 1

și 2, permite diferențierea serotipurilor în cadrul aceleiași grup – existând peste 2000 de serotipuri, toate incluse în schema Kauffmann-White. Structura antigenică a *Salmonella* este descrisă printr-o formulă care include AgO și AgH în fazele 1 și 2, iar *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi C* și *Salmonella Dublin* prezintă antigenul Vi.

Datorită patogenității ridicate a membrilor acestui gen pentru oameni și riscul de contaminare a diverselor produse alimentare, genul *Salmonella* reprezintă un subiect de mare interes pentru microbiologia alimentară, în special în cazul produselor de origine animală.

Morfologie

Sunt bacili Gram-negativi, mobili (cu excepția *S. gallinarum* și *S. pullorum*), care formează colonii tipice pe medii uzuale și selective. Pe geloză-sânge nu provoacă hemoliză și sunt lactozo-negative, formează colonii, unele cu centru negru datorită producției de H_2S , iar pe mediul Wilson-Blair, colonii negre cu halou negru și luciu metalic.

Biochimic, fermentează glucoza cu producere de gaz, nu fermentează lactoza, produc H_2S (cu unele excepții) și folosesc citratul ca unică sursă de carbon. Identificarea serologică se face prin reacții de aglutinare pe lamă conform schemei Kauffmann-White.

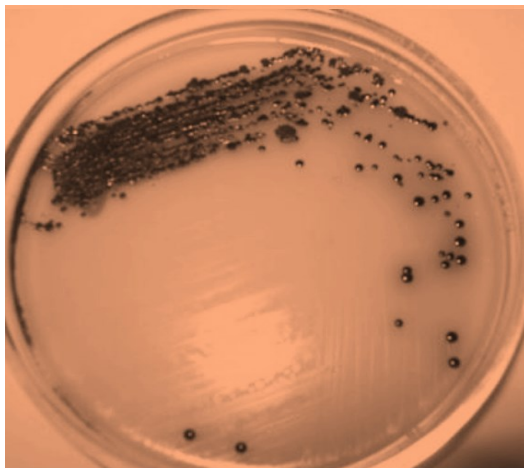


Figura 17. *Salmonella typhi* pe mediu SS (Salmonella Shigella Agar)

Habitat

Salmonella enterica subspecies enterica conține 1435 serotipuri din 2435 descrise până în 1997 și reprezintă 90% din izolatele de la oameni și animale cu sânge cald. Celelalte subspecii precum *Salmonella bongori* sunt mai rar întâlnite, fiind izolate în principal de la păsări, animale cu sânge rece și din mediul înconjurător, de unde ocazional pot infecta oamenii și mamiferele.

Principalul habitat al salmonelelor este tractul intestinal al oamenilor și animalelor, pot supraviețui în sol, ape reziduale și ape de suprafață de la câteva luni până la câțiva ani, în condiții de temperatură, umiditate și pH favorabile. În mediul înconjurător, ele supraviețuiesc, fără a se multiplica semnificativ. Majoritatea serovarurilor nu au specificitate de gazdă, cu excepția *S. typhi* și *S. paratyphi* (specifice pentru oameni), *S. abortus ovis* (specifice pentru ovine), *S. typhi suis* (specifice pentru suine), *S. gallinarum* și *S. pullorum* (specifice pentru păsări).

Salmonellele ubicuitare pot provoca o gamă variată de simptome clinice, de la infecții asimptomatice până la sindroame asemănătoare febrei tifoide, la copii sau animale foarte susceptibile (ex. șoareci). La adulți, aceste salmonelle sunt în mare parte responsabile de toxiinfecțiile alimentare.

Patogenitate

Salmonella reprezintă agenți înalt patogeni, iar calea principală de infectare pentru toate speciile este cea digestivă, prin intermediul epitelului intestinului subțire. Toate speciile de *Salmonella* pot rezista acidității din stomac și pot traversa bariera epitelială intestinală, însă doar *Salmonella Typhi* și *Salmonella Paratyphi* A, B, C au capacitatea de a provoca infecții sistemice.

La om, infecțiile cu *Salmonella* se manifestă clinic sub trei forme principale:

- **Salmoneloze sistemice (febre enterice):** febra tifoidă (cauzată de *S. Typhi*) și febrele paratifoide (determinate de *S. Paratyphi* A, B, C) afectează exclusiv oamenii, iar infecția generează o imunitate de lungă durată.
- **Salmoneloze enterice:** gastroenterite acute provocate de *S. Enteritidis* și *S. Typhimurium*. Acestea sunt frecvente și se răspândesc endemo-epidemic, simptomele incluzând diaree, dureri abdominale,

vărsături și febră, care apar la 10-24 de ore după consumul de alimente contaminate.

- **Septicemii salmoneloze:** determinate de *S. Typhimurium*, *S. Paratyphi* A, B și *S. Choleraesuis*. Acestea se manifestă prin febră și gastroenterită la copii și bacteriemie la adulții imunocompromiși.

Purtătorii cronici asimptomatici (reprezentând 1-5% dintre cei afectați de febră tifoidă sau paratifoidă) elimină bacteriile prin materiile fecale. Aceștia pot fi tratați prin administrarea de antibiotice sau, în cazuri severe, prin colecistectomie.

Tratament și profilaxie

Pentru tratamentul febrei enterice, formelor septicemice și salmonelozelor enterice la sugari și adulți vulnerabili, se folosesc antibiotice care penetrează intracelular, precum ampicilina, cotrimoxazolul, cloramfenicolul, fluorochinolonele și cefalosporinele de generația III.

Toxiinfecțiile alimentare se tratează cel mai bine simptomatic, deoarece antibioticele nu reduc de obicei durata simptomelor și pot prelungi starea de portaj.

Prevenirea infecțiilor cu *Salmonella* se bazează pe respectarea riguroasă a normelor de igienă și pe vaccinarea animalelor crescute pentru consum uman. Inspekția sanitară a cărnii în abatoare și gătitul corespunzător al alimentelor contribuie semnificativ la diminuarea riscului de infectare. Pentru a evita apariția tulpinilor bacteriene rezistente, este esențial să se limiteze utilizarea necontrolată a antibioticelor în creșterea animalelor. De asemenea, depistarea purtătorilor asimptomatici joacă un rol important în controlul răspândirii bolii. Vaccinarea împotriva febrei tifoide este recomandată pentru persoanele implicate în gestionarea apei potabile, în industria alimentară, pentru cei care călătoresc în regiuni endemice, precum și pentru comunitățile afectate de dezastre naturale, cum ar fi inundațiile sau cutremurele.

2.2.1.2. Genul *Shigella*

Prima tulpină de *Shigella* a fost identificată la sfârșitul secolului XIX de către bacteriologul japonez Kiyoshi Shiga. Aceste bacterii sunt bacili Gram-negativi, nemobili, nesporulați și necapsulați, care fermentează glucoza, dar nu lactoza. Ele sunt responsabile pentru dizenteria bacilară și constituie una dintre cele mai frecvente cauze ale diareei bacteriene.

Speciile din genul *Shigella* sunt clasificate pe baza structurii antigenului O (structura polizaharidică) din peretele celular și sunt împărțite în patru specii:

- *Shigella dysenteriae* (Grup A)
- *Shigella flexneri* (Grup B)
- *Shigella boydii* (Grup C)
- *Shigella sonnei* (Grup D)

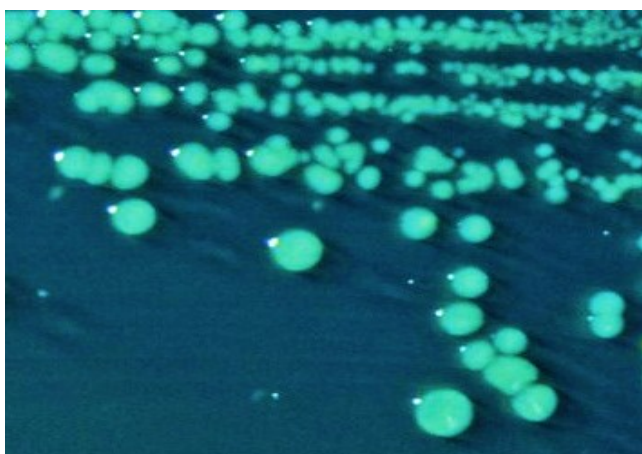


Figura 18. *Shigella* spp. pe mediu geloză-lactozată



Figura 19. *Shigella Dysenteriae*, colorație gram

Habitat

Bacteriile din genul *Shigella* sunt strict adaptate pentru infecția umană și sunt întotdeauna patogene. Ele se găsesc în intestinul (la nivelul colonului sigmoid) și materiile fecale ale persoanelor bolnave, convalescente sau ale purtătorilor asimptomatici. Singurele animale care pot fi gazde accidentale sunt primatele captive care intră în contact cu oamenii.

Patogenitate și semnificație clinică

Genul *Shigella* cuprinde bacili care sunt agenți patogeni responsabili pentru dizenteria bacilară și toxiinfecțiile alimentare, fiind recunoscuți drept cei mai virulenți membri ai familiei *Enterobacteriaceae*. Transmiterea dizenteriei are loc prin contaminarea fecal-orală, de obicei de la purtători asimptomatici, dar și prin epidemii provocate de apă sau alimente infectate.

Caracterele de patogenitate ale *Shigella* se exprimă prin capacitatea de multiplicare, invazivitate și producerea de toxine. Invadarea enterocitelor din colonul sigmoid de către tulpinile bacteriene este responsabilă de manifestările digestive ale infecției. Toxina Shiga, secretată de *S. dysenteriae* tip 1 (*S. shigae*) și în cantități mai mici, de alte specii de *Shigella*, este o exotoxină termolabilă ce exercită efecte neurotoxice, enterotoxice și citotoxice. Datorită acestei toxine, *S. shigae* reprezintă cel mai patogen tip dintre toate tulpinile.

Din punct de vedere clinic, dizenteria bacilară se manifestă prin febră, frisoane, dureri abdominale și diaree frecventă, adesea cu prezența mucusului, puroiului și a sângelui. Perioada de incubație este scurtă, variind între 1 și 3 zile. La copii și vârstnici, pot apărea semne grave de deshidratare. Boala afectează în special intestinul gros, cauzând inflamații și ulcerații ale mucoasei intestinale. După vindecare, unii pacienți pot deveni purtători asimptomatici, având riscul de a transmite infecția. În absența unui tratament antibiotic, simptomele pot persista în medie șapte zile, dar uneori pot dura între două și trei săptămâni. După boală, se dezvoltă o imunitate temporară, care protejează împotriva reinfecției cu același serotip pentru câțiva ani.

Tratament și profilaxie

Tratamentul dizenteriei bacilare se concentrează pe reechilibrarea hidroelectrolitică și eliminarea germenilor din organismul bolnavilor și al purtătorilor. Antibioticele nu doar că scurtează durata bolii, ci reduc și perioada de portaj și riscul de recăderi. Este important ca tratamentul să fie bazat pe rezultatele antibiogrammei, deoarece *Shigella* prezintă adesea multirezistență la antibiotic, în funcție de sensibilitatea tulpinii isolate, poate include medicamente precum cotrimoxazol, amoxicilină, fluorochinolone, iar în cazurile severe, ceftriaxona.

Măsurile de profilaxie nespecifică constau în aplicarea unor strategii generale pentru prevenirea infecțiilor de tip digestiv, în timp ce profilaxia specifică, prin vaccinare antidizenterică, este recomandată mai ales în mediile colective.

2.2.1.3. Genul *Yersinia*

Bacteria responsabilă pentru epidemia de pestă din Hong Kong a fost izolată pentru prima dată de bacteriologul francez Alexandre Yersin la sfârșitul secolului al XIX-lea. Genul, denumit în onoarea acestui cercetător, include enterobacterii de tip cocobacilar, cu colorație bipolară și cili ce se dezvoltă în funcție de temperatură, fiind bacterii care nu au cerințe nutritive ridicate.

Genul *Yersinia*, parte a familiei *Enterobacteriaceae*, cuprinde 11 specii, dintre care 3 sunt patogene pentru oameni:

- *Yersinia pestis*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- *Yersinia enterocolitica*

Aceste bacterii sunt agenți etiologici ai unor zoonoze, fiind transmise accidental la oameni. *Yersinia pestis* este cauza pestei bubonice și pestei pulmonare, în timp ce *Yersinia pseudotuberculosis* și *Yersinia enterocolitica* pot provoca gastroenterite severe, cu formarea de abces local și deces prin peritonită.

Morfologie

Yersinia pestis se prezintă ca un bacil gros, Gram-negativ, colorat bipolar, neciliat și nesporulat. În condiții *in vivo* și pe medii bogate la 37°C dezvoltă o capsulă.

Yersinia pseudotuberculosis este o bacterie polimorfă ce poate apărea sub formă de cocobacil sau bacil Gram-negativ, colorat bipolar. La 24°C, prezintă cili peritrichi, dar devine imobil la 37°C.

Yersinia enterocolitica apare ca un cocobacil cu capete rotunjite, Gram-negativ, având cili peritrichi la 28°C, neciliat la 37°C și necapsulat.

Toate speciile de *Yersinia* sunt aerobe, tolerate la concentrații de sare de peste 5% și se dezvoltă într-un interval larg de temperaturi (4-43°C), inclusiv la temperatura frigiderului. Aceste bacterii sunt aerobe, oxidazo-negative și fermentează glucoza, trehaloza, sorbitolul și ramnoza, producând doar acizi, nu și gaze. Nu fermentează lactoza, nu produc H₂S, lizindcarboxilază sau fenilalanindezaminază. Nu utilizează citratul ca sursă unică de carbon și nu scindează malonatul, totuși produc urează și β-galactozidază. Sunt imobile la 37°C.

Habitat

Speciile de *Yersinia* sunt larg răspândite în mediul înconjurător, mai ales în sol, unde pot rezista perioade îndelungate, chiar peste trei luni.

Y. pestis, agentul patogen al ciumei, are ca principal rezervor rozătoarele, în special șobolanii, de la care bacteriile ajung la om prin mușcătura puricilor infectați. Alte animale, precum veverițele și iepurii, pot fi și ele gazde naturale. Transmiterea între oameni are loc adesea prin inhalarea aerosolilor infectați emanați de pacienți aflați în fazele incipiente sau acute ale pestei pulmonare.

Y. pseudotuberculosis este asociată cu rozătoarele și păsările sălbatice, care pot contamina solul și sursele de apă, unde bacteria poate supraviețui

chiar și la temperaturi scăzute. La om, infecția apare de obicei prin consumul de alimente contaminate.

Y. enterocolitica este prezentă în mod obișnuit la mamifere sălbatice și domestice, porcul fiind o sursă majoră de transmitere către oameni. Această specie a fost identificată și în produse alimentare contaminate.

Alte specii de *Yersinia* sunt saprofite și se găsesc frecvent în soluri și ape contaminate biologic.

Patogenitate

Yersinia pestis este în principal un patogen al rozătoarelor, iar oamenii sunt gazde accidentale infectați prin mușcătura puricilor de la șobolan (*Xenopsylla cheopis*). Când un purice se hrănește cu sângele unui gazde infectată, ingeră bacterii viabile care se dezvoltă în intestinul său. Aceste bacterii pot bloca proventriculul puricului, care apoi regurgitează microorganismele în sângele unei noi gazde. În timpul acestui proces, *Y. pestis* pierde capsula, astfel că bacteriile inoculate în noua gazdă sunt necapsulate. Unele bacterii sunt fagocitate de polimorfonucleare neutrofile, iar altele sunt preluate de macrofage, unde își resintetizează capsula și antigenele de virulență. Recapsulate, bacteriile omoară macrofagele și se eliberează în spațiul extracelular, unde sunt rezistente la fagocitoză. Infecția se răspândește rapid către nodulii limfatici regionali, care devin tumefiați, moi, calzi și hemoragici, formând bubonul caracteristic.

Pesta bubonică poate evolua în două direcții, bubonul poate fistuliza, scurgând puroi și curățându-se sau infecția poate trece în sânge (septicemie), afectând ficatul, splina și plămânii, și provocând pneumonie bacteriană severă, în acest caz, pacienții devin extrem de contagioși. Mortalitatea în absența tratamentului este de aproximativ 90%, decesul survenind în mai puțin de 24 de ore. În condiții de aglomerare, malnutriție și infestare cu ectoparaziți, se poate dezvolta forma pulmonară a pestei, extrem de contagioasă cu mortalitate de 100%, transmiterea făcându-se rapid de la om la om prin inhalarea particulelor infectate.

Yersinia pseudotuberculosis este extrem de virulentă pentru porcușorii de guinea, provocând izbucniri devastatoare în coloniile acestora, cu o rată mare de mortalitate. Infectează și alte rozătoare (cobai, iepuri, șoareci), dar și animale domestice (cai, câini, pisici) și păsări. La aceste animale, infecția se manifestă prin formarea de noduli cazeoși și adenopatie.

La oameni, *Y. pseudotuberculosis* ajunge pe cale digestivă, probabil prin alimente contaminate. Bacteriile penetrează epiteliul terminal al ileonului, ajungând în plăcile Peyer și ganglionii limfatici ileo-cecali, provocând adenită reticulară cu leziuni cazeoase asemănătoare tuberculozei intestinale. Poate apărea un sindrom pseudoapendicular, mai frecvent la copii și adolescenți. Rareori, pot apărea septicemii, în special la pacienții cu ciroză sau diabet, iar în unele cazuri pot surveni eritem nodos sau infecții urinare.

Yersinia enterocolitica provoacă enterite asemănătoare celor cauzate de *Salmonella*, cu diaree severă, adesea însoțită de febră ușoară și dureri abdominale. Infecția poate fi mai gravă la copii sub 5 ani.

Alte manifestări includ:

- sindromul fosei iliace drepte, asemănător cu adenita mezenterică provocată de *Y. pseudotuberculosis* și ileita terminală,
- abcese ale colonului și peritonită,
- septicemiile sunt rare,
- eritem nodos sau piodermită, mai frecventă la femei,
- meningite rare, precedate de septicemie,
- colecistită și artrite reactive aseptice post-enteritice, observate la persoane cu sistem de histocompatibilitate HLA-B27.

În general, *Yersinia pestis* produce ciumă, o boală infecțioasă care a devastat populația Europei în trecut, dar acum este endemică doar în anumite regiuni ale lumii. *Y. pseudotuberculosis* și *Y. enterocolitica* provoacă infecții enterale și pot mima apendicita sau alte afecțiuni, fiind transmise prin alimente contaminate.

Tratament și profilaxie

Yersiniile sunt susceptibile la antibiotice din clasele β -lactaminelor, aminoglicozide și antibioticele cu spectru larg. Pentru tratarea infecțiilor cu *Yersinia*, antibioticele de elecție includ streptomcina, gentamicina, ciprofloxacina, cloramfenicolul, tetraciclina și cotrimoxazolul. În cazul infecțiilor cu *Y. pseudotuberculosis*, tratamentul antimicrobian nu este necesar pentru formele localizate la nivel enteral, dar este indispensabil în cazurile septicemice.

Profilaxia generală presupune măsuri de deratizare și dezinsecție pentru a reduce rezervoarele de infecție, izolarea pacienților cu ciumă și administrarea de antibiotice profilactice, precum doxiciclina sau ciprofloxacina, persoanelor care au intrat în contact cu cei infectați.

Vaccinarea împotriva ciumei este indicată pentru persoanele expuse unui risc crescut, cum ar fi personalul de laborator, cei care manipulează rozătoare sau călătorii care vizitează regiuni endemice.

2.2.1.4. Genul *Escherichia*

Genul *Escherichia* aparține familiei *Enterobacteriaceae*, care cuprinde 44 de genuri, dintre care 25 sunt asociate cu afecțiuni prezente la om. În cadrul genului *Escherichia* au fost identificate șase specii: *Escherichia coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris*, *E. albertii* și *E. blattae*, ultima fiind izolată exclusiv de la anumite specii de insecte.

Dintre acestea, *Escherichia coli* este cea mai semnificativă și cel mai frecvent implicată în patologia infecțioasă. Această bacterie a fost descoperită în 1886 de cercetătorul austriac Theodor Escherich, numele genului fiind atribuit în onoarea acestuia. Ulterior, în 1919, Castellani și Chalmers au propus redenumirea bacilului descoperit de Escherich în *Escherichia coli*, denumire care a devenit oficială în 1958.

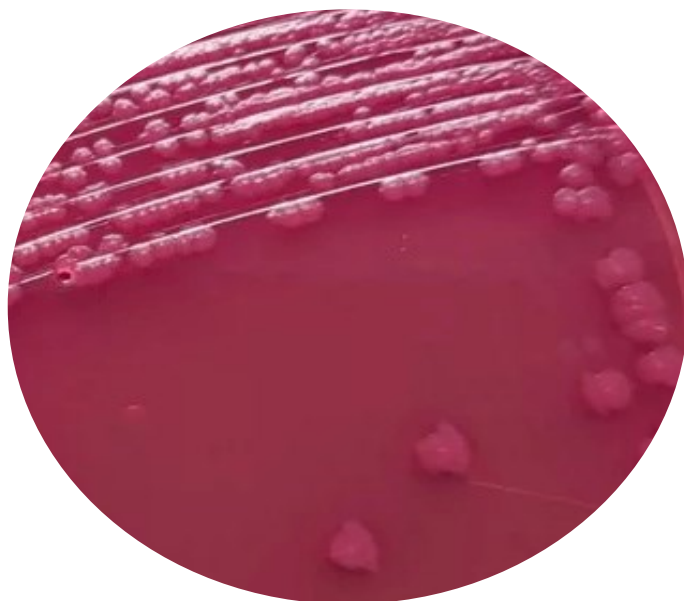


Figura 20. *Escherichia coli* pe mediul MacConkey Agar

Morfologie

Bacteria se prezintă sub formă de bacili drepecți sau ușor curbați, cu capete rotunjite. Majoritatea speciilor sunt mobile datorită flagelilor. Dimensiunile sale sunt de aproximativ 2-5 μm în lungime și 0,5-1 μm în lățime, iar colorarea Gram o încadrează la bacterii Gram-negative. Se poate dezvolta pe medii simple de cultură, precum bulionul glucozat, agarul nutritiv sau agarul cu sânge, formând colonii tip S, care sunt rotunde, bombate, lucioase, cu suprafețe netede și margini regulate, sau colonii tip R, care sunt uscate și au margini neregulate.

Din punct de vedere biochimic, această bacterie fermentează glucoza cu producere de gaz, produce indol și β -galactozidază și fermentează lactoza, caracteristici care o diferențiază de alte enterobacterii. *Escherichia coli* are un metabolism aerob sau facultativ anaerob și crește cel mai bine la 37°C, în condiții de pH între 7,2 și 7,8. Este distinctă de alte bacterii coliforme prin capacitatea sa de a se dezvolta și la 44°C.

Habitat

Colibacilii sunt prezenți în mediul înconjurător, fiind întâlniți în conținutul intestinal al oamenilor și animalelor. Cantitatea acestor bacterii pe unitatea de volum în apă și alimente este utilizată pentru a calcula indicele coli, un parametru important pentru evaluarea gradului de poluare al apei, mediului și alimentelor, cu materii fecale. Standardele naționale stabilesc valori ale acestui indice, care permit evaluarea potabilității unei surse de apă sau a siguranței unui aliment pentru consum.

Escherichia coli face parte din flora intestinală normală a omului și animalelor, reprezentând aproximativ 80% din flora rezidentă a colonului. Aceasta joacă un rol esențial în producerea vitaminelor din complexul B și K și contribuie la menținerea unui echilibru al biocenozei intestinale. La naștere, nou-născutul este colonizat cu *Escherichia coli* prin contactul cu flora perineală a mamei. De asemenea, această bacterie poate fi găsită în flora cavității bucale, ceea ce duce la o rapidă colonizare a tubului digestiv. Această colonizare depinde de durata nașterii, mai precis de timpul care trece între ruperea membranelor și naștere, fiind un proces natural. Contaminarea inițială poate fi influențată nu doar de contactul cu mama, ci și de interacțiunile cu personalul medical.

Patogenitate

La o persoană sănătoasă, microflora colonului este dominată de tulpini de *E. coli*, care coabitează în mod benefic cu organismul-gazdă. Totuși, în anumite circumstanțe, cum ar fi o scădere a rezistenței generale sau locale a organismului ori migrarea bacteriilor în regiuni care, în mod normal, sunt sterile, *E. coli* poate deveni patogen, provocând infecții cu localizări și severități diverse, clasificate în:

- infecții de tip enteral;
- infecții de tip extraenteral.

Până în prezent, au fost identificate șase patotipuri de *E. coli* asociate cu sindromul diareic (patotipuri intestinale) și un patotip implicat în infecții extraintestinale (ExPEC), precum infecțiile urinare, meningitele și septicemiile. ExPEC este responsabil pentru mai mult de 80% dintre infecțiile tractului urinar. Factori precum diabetul zaharat, imunodeficiențele, malformațiile colonului sau uropatiile obstructive pot crește riscul de infecții cauzate de *E. coli*.

Patotipurile intestinale includ:

- *Escherichia coli* enteropatogen (EPEC), provoacă diaree apoasă sau mucoasă, în special la copiii sub 2 ani. Patogenitatea lor este determinată de o adezină codificată plasmidic, care duce la distrugerea microvililor.
- *Escherichia coli* enterotoxigen (ETEC), cauzează diaree apoasă de tip toxigenic, asemănătoare holerei, prin stimularea hipersecreției de apă și electroliți.
- *Escherichia coli* enteroinvaziv (EIEC), determină diaree de tip dizenteric, caracterizată printr-un efect citotoxic accentuat.
- *Escherichia coli* producător de verotoxine (VTEC)
- *Escherichia coli* enteroagregativ (EAEC)
- *Escherichia coli* cu aderență difuză (DAEC)

VTEC include un subgrup denumit *Escherichia coli* enterohemoragic (EHEC), prototipul fiind serotipul O157, asociat cu manifestări clinice severe, cum ar fi sindrom hemolitic uremic și colita hemoragică.

Tulpinile patogene de *E. coli* eliberează factori de virulență care interferează cu funcțiile celulelor gazdă, afectând sinteza proteinelor, structura citoscheletului, procesul de diviziune celulară, secreția ionică, activitatea mitocondriilor și apoptoza. Adezinele, localizate pe pili/fimbrii sau pe membrana externă a bacteriei, sunt importante pentru colonizarea anumitor regiuni ale corpului, precum intestinul subțire, tractul urinar sau vaginul.

O altă categorie de factori de virulență este reprezentată de toxine. Endotoxinele, componente ale membranei externe a bacteriilor Gram-negative, contribuie la declanșarea febrei și a șocului toxic în septicemii. Exotoxinele, asociate cu diverse patotipuri de *E. coli*, includ enterotoxinele termolabilă și termostabilă (ETEC), verotoxinele 1 și 2 (VTEC), precum și enterotoxina termostabilă enteroagregativă 1 (EAEC).

Capsula bacteriană are de asemenea un rol important în patogenitatea *E. coli*, protejând bacteria împotriva acțiunii complementului seric și a fagocitozei, ceea ce îi conferă o rezistență crescută. Antigenul polizaharidic capsular K1, identificat în 80% dintre tulpinile de *E. coli* izolate din cazurile de meningită neonatală, este un factor major care contribuie la virulența acestor tulpini.

Cele mai multe focare de infecție cu *E. coli* sunt cauzate de serotipul O157 (VTEC). Perioada de incubație poate varia între 1 și 9 zile, cu o medie de 3-5 zile. Simptomele clinice includ diaree nespecifică, enterită de tip dizenteric, enterită asemănătoare holerei, colită hemoragică și sindrom uremic hemolitic, caracterizat prin insuficiență renală acută, trombocitopenie și anemie hemolitică.

Sindromul uremic hemolitic este frecvent la copii și este o cauză majoră de insuficiență renală acută în această grupă de vârstă. Factorul principal al sindromului uremic hemolitic este toxina *Shiga*. Inițial, rata mortalității era de până la 50%, dar tratamentele moderne au redus-o la 3-5%, deși 30% dintre pacienți rămân cu sechele pe termen lung, cum ar fi insuficiența renală cronică.

Contaminarea poate fi descendentă sau ascendentă, aceasta din urmă fiind mai frecventă. Infecțiile sunt favorizate de factori precum leziuni obstructive congenitale, stricturi post-infecție gonococică și stază urinară din cauza decubitului sau a sarcinii. După invadarea mucoasei vezicii urinare, infecția poate progresa spre rinichi din cauza mobilizării lente a fagocitelor.

Tratament și profilaxie

Tratamentul infecțiilor cu *Escherichia coli* este determinat de rezultatele antibiogrammei și de localizarea infecției. Tulpinile sălbatice, cu fenotip sensibil, prezintă o susceptibilitate relativă la β -lactamine, aproximativ două treimi dintre acestea răspunzând la acest tratament. În mediul spitalicesc, sunt frecvente tulpinile care produc β -lactamaze cu spectru extins, rezistente la cefalosporine de generația a III-a, dar care manifestă o sensibilitate relativă la fluorochinolone.

În cazul infecțiilor diareice cauzate de *E. coli*, se recomandă reechilibrarea hidroelectrolitică și regim alimentar. Tratamentul antibiotic nu este de obicei necesar, deoarece poate crește riscul dezvoltării sindromului hemolitic uremic la pacienții cu scaune hemoragice cauzate de EHEC după administrarea de antibiotice.

Profilaxia este nespecifică și constă în:

- respectarea regulilor de igienă, pentru infecțiile enterale;
- creșterea standardelor de îngrijire medicală în unitățile spitalicești, pentru infecțiile nosocomiale.

2.2.1.5. Genul *Klebsiella*

Genul *Klebsiella* cuprinde bacili Gram-negativi din tribul *Klebsiellae* și include șapte specii relevante din punct de vedere medical, care se diferențiază printr-un set minim de teste biochimice:

- *Klebsiella pneumoniae*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella ozaenae*
- *Klebsiella rhinoscleromatis*
- *Klebsiella terrigena*
- *Klebsiella ornithinolytica*
- *Klebsiella planticola*

Primele patru specii sunt mai frecvent implicate în patologia umană. Deși cercetătorii au sugerat clasificarea *K. pneumoniae*, *K. ozaenae* și *K. rhinoscleromatis* ca subspecii ale *K. pneumoniae*, microbiologii și clinicienii continuă să le trateze ca specii separate.

Morfologie

Bacilii din genul *Klebsiella* sunt bacterii Gram-negative, de dimensiuni scurte, care apar dispuse în diplo de-a lungul axei lungi sau, mai rar, în lanțuri scurte de 2-3 bacili. Sunt caracterizați de prezența unei capsule voluminoase, de 2-3 ori mai mare decât diametrul bacteriei, compusă din polizaharide precum D-glucoza, fucoza și acizi uronici, conferindu-le protecție și un rol important în virulență.



Figura 21. *Klebsiella pneumoniae* coloratie gram



Figura 22. *Klebsiella pneumoniae* cultura pe geloză sânge

Aceste bacterii sunt imobile, nesporulate și pot supraviețui atât în condiții aerobe, cât și anaerobe facultative. Sunt relativ ușor de cultivat, dezvoltând colonii mari, de consistență mucoasă și cu aspect confluent pe medii solide. Pe medii selective care conțin lactoză, coloniile sunt inițial lactozo-pozitive, dar pot deveni lactozo-negative odată cu alcalinizarea mediului, fenomen denumit „cameleonaj”.

Biochimic, *Klebsiella* împărtășește trăsături comune cu alte enterobacterii, fiind capabilă să fermenteze lactoza. Testele biochimice sunt esențiale pentru identificarea genului și diferențierea speciilor. În produsele patologice, aceste bacterii apar sub formă de cocobacili înconjurați de capsula

lor specifică, un factor cheie în rezistența lor la acțiunea sistemului imunitar și a tratamentelor antimicrobiene.

Habitat

Sunt germeni saprofiți, cu potențial patogen condiționat, care se regăsesc în mod obișnuit în căile respiratorii și în intestinul uman. Aceste microorganisme sunt larg distribuite în mediul înconjurător, fiind prezente în sol, pe plante și în apele de suprafață. Fac parte frecvent din flora normală a tractului gastrointestinal, a căilor respiratorii superioare și a tegumentelor la oameni și animale.

Speciile *Klebsiella pneumoniae* și *Klebsiella oxytoca* sunt cele mai frecvent asociate cu infecțiile nosocomiale, fiind implicate în afecțiuni precum bronhopneumoniile, infecțiile urinare, enteritele (în special la copii) și complicațiile septică, fie localizate, fie generalizate, ce apar postoperator. Prognosticul septicemiilor cauzate de *Klebsiella* este, în general, nefavorabil.

Speciile *Klebsiella rhinoscleromatis* și *Klebsiella ozenae* sunt extrem de rar întâlnite în patologia ORL din țara noastră.

Patogenitate

Patogenitatea speciilor din genul *Klebsiella* este atribuită în principal prezenței capsulei, care conferă o rezistență semnificativă la fagocitoză. Aceasta este susținută de antigenii capsulari (Ag K) și antigenii somatici (Ag O), ce protejează bacteriile de sistemul imunitar. De asemenea, speciile produc o endotoxină termostabilă, responsabilă de reacțiile inflamatorii severe, și, în anumite cazuri, o enterotoxină termostabilă, identificată în tulpinile izolate din scaunele copiilor cu enterită.

Speciile *Klebsiella pneumoniae* și *Klebsiella oxytoca* sunt principalii agenți patogeni implicați în infecțiile umane, incluzând infecțiile respiratorii, urinare și enteritele. Aceste infecții sunt facilitate de mecanismele bacteriene de apărare și de producerea toxinelor.

Principalele sindroame clinice sunt:

- pneumonia, majoritar cauzată de *K. pneumoniae*, afectând în special bărbații de vârstă mijlocie și vârstnicii cu afecțiuni preexistente. Simptomele includ febră, tuse productivă cu spută gelatinoasă și sângerări, și poate duce la abcese și distrucție tisulară pulmonară;

- infecțiile neonatale cauzate mai ales de *K. pneumoniae* și *K. oxytoca*, frecvent asociate cu bacteriemie neonatală, în special la nou-născuții prematur;
- infecțiile tractului urinar, *K. pneumoniae* și *K. oxytoca* fiind agenții cauzatori comuni, adesea apărând nosocomial după cateterism urinar;
- infecțiile plăgilor și abceselor, ocazional izolate în îngrijirea pe termen lung, fără simptome evidente la pacienți;
- diareea cauzată de specii enterotoxigene, mai ales la pacienții imunocompromiși sau sub tratament imunosupresor;
- rhinoscleromul, o afecțiune granulomatoasă cronică produsă de *K. rhinoscleromatis*, afectând tractul respirator și provocând deformări nazale;
- ozena, cauzată de *K. ozaenae*, caracterizată prin atrofia mucoasei nazale și descărcare muco-purulentă cu miros urât.

Klebsiella poate provoca și alte infecții urinare, ale țesuturilor moi, urechii medii și septicemie.

Tratament și profilaxie

Tulpinile sălbatice ale bacteriilor din genul *Klebsiella* manifestă o rezistență redusă față de aminopeniciline, carboxipeniciline, cloramfenicol, tetraciline, streptomycină și cotrimoxazol. Sensibilitatea acestor tulpini poate fi restabilită prin utilizarea inhibitorilor de β -lactamază, care neutralizează mecanismul lor de rezistență.

În contrast, fenotipul producător de β -lactamaze cu spectru extins, descoperit inițial în 1985 în mediile spitalicești, prezintă o rezistență semnificativă la aminopeniciline, carboxipeniciline, ureidopeniciline, precum și la cefalosporinele de generația I și II. Deși sensibilitatea față de cefalosporinele de generația a II-a și aztreonam este considerabil redusă, aceasta rămâne eficientă în cazul cefoxitinei, cefotetanului și latamoxefului.

Profilaxia este nespecifică și se bazează pe măsuri generale de prevenție.

2.2.1.6. Genul *Proteus*

Bacteriile din genul *Proteus* sunt denumite după zeul grec *Proteus*, care era cunoscut pentru abilitatea sa de a-și schimba forma. Această caracteristică este reflectată în modul în care bacteriile *Proteus* pot acoperi rapid suprafața unui mediu solid. Genul *Proteus* include opt specii, trei dintre acestea fiind relevante în patologia umană: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* și *Proteus penneri*.

Morfologie

Bacteriile din genul *Proteus* sunt bacili Gram-negativi, lipsiți de capsulă și spori, sunt polimorfi, putând avea aspect de cocobacili, bastonașe scurte sau forme filamentoase. Sunt echipați cu cili peritrichi sau lofotrichi, ceea ce le oferă o mobilitate ridicată. Nu sunt pretențioși din punct de vedere nutritiv, dezvoltându-se ușor pe medii de cultură obișnuite. Datorită mobilității lor, pot coloniza inclusiv zonele neînsămânțate ale mediilor de cultură.

Pe geloza simplă sau geloza sânge, tulpinile mobile prezintă un fenomen caracteristic de invazie progresivă, cunoscut sub denumirea de „catarare” sau „roire.” Atunci când tulpini diferite sunt cultivate pe același mediu, acestea nu se amestecă, formând o linie de separare distinctă, denumită „linia Dienes.”



Figura 23. *Proteus Spp* pe mediu geloză sânge.



Figura 24. *Proteus Spp* (linia Dienes).

Pe medii care conțin bilă, precum cele Istrate-Meitert sau Leifson, fenomenul de invazie este inhibat, iar bacteriile formează colonii netede, translucide, rotunde, cu un aspect specific „ochi de pisică.” Acest aspect se datorează producției de hidrogen sulfurat (H_2S), care se manifestă prin apariția unor pete negre în centrul coloniilor.

Caracterele biochimice ale acestui gen sunt comune altor enterobacterii, dar sunt esențiale pentru identificarea și diferențierea speciilor.

Habitat

Bacteriile sunt răspândite pe scară largă în natură, fiind întâlnite în sol, ape reziduale, ape de suprafață, materii organice în descompunere, alimente precum și în produse patologice (urină, spută sau colecții purulente). La oameni și animale, *Proteus* face parte din flora normală a tractului digestiv. Deși aceste microorganisme sunt comune în mediu, ele pot deveni patogeni oportuniști, provocând diverse tipuri de infecții la oameni.

Patogenitate

Germenii din genul *Proteus* sunt considerați condiționat-patogeni, având caracteristici de patogenitate care se manifestă prin multiplicare și secreție de endotoxină. Cele mai frecvente infecții cauzate de acești germeni sunt infecțiile urinare, în special cele produse de *Proteus mirabilis*, și mai rar de *Proteus vulgaris*.

Caracteristicile și patogenitatea acestor bacterii includ:

- infecții urinare, majoritatea sunt cauzate de *P. mirabilis*. Aceste infecții sunt frecvent complicate de producția de urează, o enzimă care

descompune ureea în CO_2 și NH_3 . Acest proces crește pH-ul urinar, favorizând formarea calculilor urinari coraliiformi, având efecte toxice asupra uroepiteliului (efect necrozant);

- infecții ORL și respirator, *Proteus* poate fi izolat din infecții ale căilor respiratorii superioare, astfel de cazuri sunt mai rare;
- infecții ale plăgilor și arsurilor, pot cauza infecții la nivelul plăgilor și arsurilor, fiind o problemă în contextul îngrijirii spitalicești;
- septicemii și meningite, aceste infecții sunt mai rare, dar pot afecta nou-născuții și sugarii;
- infecții digestive, de asemenea, *Proteus* poate fi implicat în infecții digestive, deși acestea sunt mai puțin frecvente.

Proteus este unul dintre cei mai importanți germeni nosocomiali, cauzând infecții spitalicești adesea greu de tratat din cauza rezistenței multiple la antibiotice.

Tratament și profilaxie

Datorită faptului că multe tulpini de *Proteus* prezintă un grad ridicat de rezistență la antibiotice, în special cele izolate din infecțiile nosocomiale, tratamentul specific devine dificil fără efectuarea unei antibiogramme prealabile. Acest microorganism este printre cei mai rezistenți agenți patogeni, demonstrând o capacitate remarcabilă de a tolera fluctuații de temperatură și variații ale pH-ului. De asemenea, poate supraviețui în condiții de uscăciune pe perioade lungi și rămâne viabil timp de câteva luni la temperaturi scăzute, inclusiv în alimentele congelate. Este capabil să persiste pe suprafețe metalice și nu este distrus de unele soluții antiseptice sau detergenți.

Un aspect îngrijorător este capacitatea sa de a supraviețui în soluții perfuzabile, iar în cele care conțin glucoză, bacteriile se pot chiar înmulți la temperatura camerei. Acest lucru explică răspândirea sa rapidă în mediul spitalicesc și asocierea frecventă cu infecțiile grave din unitățile medicale.

Profilaxia în cazul infecțiilor cu *Proteus* este nespecifică și se concentrează pe măsuri generale de prevenire a infecțiilor, cum ar fi menținerea unei igiene riguroase și controlul strict al infecțiilor în unitățile medicale.

2.2.1.7. Genul *Morganella* și genul *Providencia*

Clasificarea bacteriilor din genul *Proteus* a fost mult timp subiect de dezbateri. Ulterior, în funcție de caracteristicile biochimice, acest gen a fost împărțit în trei categorii:

- **Genul *Proteus*** cuprinde specii precum *Proteus vulgaris* și *Proteus mirabilis*
- **Genul *Morganella*** include o singură specie, *Morganella morganii*
- **Genul *Providencia*** conține șase specii, dintre care patru au fost identificate la om: *Providencia alcalifaciens*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri* și *Providencia rustigiannii*.

Genul *Morganella*

Acest gen a fost separat din *Proteus* (denumit anterior *Proteus morganii*). Este o bacterie mobilă, însă nu invadează mediul. Produce enzime precum fenilalanin-deaminaza, ureaza, ornitin-decarboxilaza și indol.

Morganella morganii poate fi responsabilă de infecții urinare, infecții postoperatorii și mai rar, infecții sistemice severe. Diagnosticul bacteriologic se realizează pe baza unor probe biologice precum urină, materii fecale sau alte tipuri de produse biologice.

Identificarea inițială se bazează pe absența invaziei mediului, pe rezultatele testelor TSI, MILF, ureaza fără producere de hidrogen sulfurat, test pozitiv pentru indol și testul pentru citrat Simmons, care este întotdeauna negativ. Pentru o identificare mai precisă, se poate utiliza setul extins API E.

Genul *Providencia*

Speciile izolate din probe umane includ *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Providencia alcalifaciens* și *Providencia rustigianii*.

Comparativ cu *Proteus*, aceste bacterii au câteva caracteristici distincte, nu invadează mediile de geloză 2%, pot descompune malonatul, cresc pe mediul citrat Simmons și produc fie deloc, fie foarte puțin gaz din glucoză (cu excepția *Providencia alcalifaciens*).

Aceste microorganisme sunt asociate cu diverse afecțiuni, cum ar fi infecții urinare, infecții nosocomiale extraintestinale și enterite, care pot apărea sporadic sau în focare, în special în cazul *P. alcalifaciens*.

Diagnosticul bacteriologic urmează procedurile standard aplicate infecțiilor cauzate de enterobacterii. Probele biologice utilizate pentru identificare pot include urină, sânge, materii fecale și altele.

Identificarea preliminară se bazează pe aspectul coloniilor, care sunt lactoză-negative, lipsa invaziei și caracteristicile observate pe medii minimale multitest precum TSI, MILF, uree sau setul API E. Aceste caracteristici sunt similare cu cele întâlnite la bacteriile din genul *Proteus*.

Identificarea serologică este posibilă în cazul speciilor *P. rettgeri*, *P. stuartii* și *P. alcalifaciens*.

Tratamentul infecțiilor cauzate de aceste tulpini este dificil datorită gradului înalt de rezistență la antibiotice. Tulpinile prezintă rezistență naturală la colistin și la aminopeniciline, cefalosporine de generația I și II, precum și la nitrofurantoin.

Profilaxia este nespecifică.

2.2.1.8. Alte genuri care includ specii oportuniste de *Enterobacteriaceae*

Genul *Enterobacter*

Cuprinde 16 specii, dar cele mai frecvent izolate sunt *E. aerogenes* și *E. cloacae*.

Aceste specii sunt frecvent întâlnite în infecții urinare la pacienți cate-terizați. *E. cloacae* secretă o enterotoxină care contribuie la patogenitatea sa.

Genul *Citrobacter*

Genul *Citrobacter* include 12 specii, dintre care cele mai des întâlnite sunt *Citrobacter freundii* și *Citrobacter diversus*.

Citrobacter freundii este asociată frecvent cu infecții urinare nosocomiale, pneumonii și abcese intraabdominale.

Citrobacter diversus poate fi responsabilă pentru epidemii în maternități, provocând septicemii și meningite la nou-născuți.

Genul *Serratia*

Inițial, genul *Serratia* era reprezentat de o singură specie, *Serratia marcescens*, însă în prezent cuprinde 12 specii. Majoritatea acestora sunt implicate în infecții nosocomiale, cum ar fi infecții urinare, respiratorii, osteomielite și bacteriemii, fiind mai frecvente în secțiile dedicate nou-născuților, pacienților cu arsuri și celor supuși intervențiilor de chirurgie cardiovasculară.

Genul *Hafnia*

Genul *Hafnia* include o singură specie, *Hafnia alvei*, care este izolată ocazional din materii fecale. Rolul său enteropatogen este încă subiect de dezbatere, însă a fost asociată cu infecții nosocomiale.

Genul *Edwardsiella*

Genul *Edwardsiella* include specia *Edwardsiella tarda*, de interes medical. Aceasta este rar întâlnită în flora intestinală umană, dar poate provoca diaree, infecții ale plăgilor chirurgicale și bacteriemii. A fost izolată în special la pacienți cu imunodeficiențe.

Alte genuri

Diverse genuri relativ recent incluse în familia *Enterobacteriaceae* au rol în patologia umană care nu a fost complet elucidat până acum.

Aceste specii sunt frecvent întâlnite în infecții nosocomiale și sunt adesea rezistente la mai multe antibiotice, ceea ce complică tratamentul.

2.2.1.9. Familia *Vibrionaceae*

Familia *Vibrionaceae* conține o varietate de organisme foarte importante. Genul tipic este *Vibrio*, iar specia tipică este *Vibrio cholerae*, un organism care a ucis milioane de oameni în timpul numeroaselor epidemii devastatoare de holeră. Familia *Vibrionaceae* include mai multe specii care provoacă infecții ale tractului intestinal și extraintestinale atât la oameni, cât și la animale. Multe dintre speciile de *Vibrionaceae* sunt răspândite pe scară largă în mediul înconjurător, unde contribuie la ciclul compușilor organici și anorganici.

Genul *Vibrio*

Genul *Vibrio* face parte din familia *Vibrionaceae*, alături de *Aeromonas*, *Photobacterium* și *Plesiomonas*. Genul *Vibrio* cuprinde peste 48 de specii, dintre care 12 sunt considerate potențial patogene pentru om. *Vibrio cholerae*, agentul cauzator al holerei, produce o enterotoxină care este responsabilă pentru simptomele bolii. Vibrionii sunt bacili Gram-negativi, dreupți sau ușor curbați, extrem de mobili, fără capsulă și nesporulați. În condiții nefavorabile de mediu, aceștia pot adopta forma unor bacili mici și dreupți sau pot deveni pleomorfi. Sunt oxidazo-pozitivi, capabili să fermenteze glucoza, de obicei fără a produce gaz și pot reduce nitrații la nitriți (cu excepția *Vibrio metschnikovii*).

Clasificare

➤ Vibrioni halotoleranți

- *Vibrio cholerae* (agenții holerei și diareilor holeriforme)

➤ Vibrioni halofili

- *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V. metschnikovii* (oportuniști, pot cauza toxiinfecții alimentare, septicemii, meningite, supurații)

➤ Vibrioni free life (saprofiți)

Habitat

Habitatul natural al vibrionilor include sursele de apă dulce și sărată, unde aceștia pot fi găsiți fie liberi, fie în asociere cu diverse organisme acvatice. *Vibrio cholerae* se regăsește în intestinul și materiile fecale ale persoanelor infectate cu holeră. Prezența acestui microorganism în mediul extern este explicată prin contaminarea apei cu materii fecale și prin capacitatea sa de a supraviețui în mediu, existând și posibilitatea unui ciclu de viață extraintestinal.

Vibrio cholerae

Vibrio cholerae a fost izolat pentru prima dată în 1854 de Filippo Pacini de la un pacient cu holeră. La izolare, *V. cholerae* este un bacil Gram-negativ, de formă curbată (aspectul de virgulă fiind mai mult un simbol

istoric), având dimensiuni de 2-4 μm și fiind mobil datorită unui flagel polar. Acest microorganism este relativ pretențios și poate crește pe medii de cultură simple, inclusiv în apă peptonată, ceea ce facilitează izolarea sa primară (formând un strat la suprafața mediului).

Este anaerob facultativ, cu temperatura optimă de cultivare de 37°C (acceptă intervale între 14-40°C). Preferă medii cu pH alcalin (7,6 - 9,6), fiind sensibil la pH acid și este halotolerant.. *V. cholerae* este catalazo-pozitiv și oxidazo-pozitiv, poate reduce nitrații în nitriți, produce indol, are activitate gelatinazică, și este capabil să dețină activități LDC și ODC. Fermentează și oxidează glucoza până la acid (testul Hugh-Leifson), dar nu fermentează lactoza.

În ceea ce privește activitatea sa glicolitică, *V. cholerae* aparține grupului I Heiberg (fermentează zaharoza și manoză, dar nu arabinoză), conform testului ZAM. Vibrionii holerici sunt foarte sensibili la expunerea la lumina solară și la căldură (sunt distruși aproape instantaneu la 100°C) și sunt sensibili la unele antiseptice. În alimente, pot supraviețui până la 7 zile (cu excepțiile de rigoare), iar în apă pot rezista câteva zile, în funcție de eficiența tratamentelor aplicate apelor uzate. În intestinul pacienților netratați, pot persista timp de câteva săptămâni.

Vibriionul holerice prezintă la nivelul său parietal antigenul O (lipopolizaharid), iar în funcție de structura acestuia, vibrionii au fost împărțiți în 6 serogrupe. Vibriionul holerice clasic și biotipul *El Tor* fac parte din grupul O:1, în timp ce alți vibrioni sunt clasificați ca non-O:1NAG (non-aglutinabili cu seruri anti-O:1). Aceste tulpini non-O:1 nu pot fi diferențiate biochimic de *Vibrio cholerae* O:1. Studiile taxonomice au arătat că *Vibrio cholerae* O:1 și non-O:1 sunt, de fapt, aceleași specie. Antigenul serogrupului O:1 conține determinanți care permit diferențierea serotipurilor. Împărțirea *Vibrio cholerae* în serotipuri și biotipuri este valoroasă în cercetările epidemiologice, dar aceste teste sunt efectuate doar în laboratoare specializate.

Există antigene localizate pe pili, iar datorită mobilității sale, vibrionul prezintă antigenul H la nivelul ciliilor. *Vibrio cholerae* și vibrionii înrudiți produc o enterotoxină termolabilă, cu o masă moleculară de 84.000 Da, formată din două subunități: A (activă) și B (de legare).

Aciditatea gastrică oferă un anumit nivel de protecție în cazul ingerării unui număr mic de vibrioni. După o infecție cu holeră, organismul dezvoltă imunitate împotriva reinfecției, însă durata și intensitatea acestei imunități nu sunt pe deplin cunoscute. La animalele de laborator, se formează anticorpi specifici de tip IgA în lumenul intestinal. Anticorpii împotriva antigenului O

protejează animalele de infectare. Anticorpi similari apar și în serul uman după infecția cu *Vibrio cholerae* și sunt considerați, într-o anumită măsură, responsabili pentru protecția împotriva colonizării cu vibrioni patogeni. Totuși, prezența anticorpilor antitoxină nu este asociată cu protecția împotriva infecției.

Patogenitate

Mecanismul patogenic al bacteriilor din familia *Vibrionaceae* implică aderarea la epiteliul celular prin intermediul adezinelor sau pililor, urmată de colonizarea și invadarea mucoasei, ceea ce permite infiltrarea bacteriilor și producerea unor substanțe biologice active, inclusiv enzime extracelulare, enterotoxine, citotoxine, hemolizine și alți factori asociați cu virulența bacteriană. Capacitatea bacteriilor de a migra către epiteliile mucoase este mai pronunțată în cazul formelor monotriche, fiind influențată și de cantitatea și calitatea mucusului.

Vibrio cholerae posedă mai mulți factori de patogenitate, dintre care cel mai semnificativ este enterotoxina, care provoacă diaree apoasă cu un caracter riziform specific, urmată de deshidratare severă, hemoconcentrație, șoc hipovolemic și acidoză metabolică.

Holera este o toxiinfecție alimentară acută, manifestându-se ca o gastroenterită caracteristică omului, cu o perioadă de incubație de 1-4 zile, iar debutul este brusc. Simptomele includ greață, vărsături, diaree abundentă (20-30 litri pe zi) și crampe abdominale. Scaunele apoase, riziforme („apă de orez”) conțin mucus, celule epiteliale și un număr mare de vibrioni. Pierderea rapidă de fluide și electroliți duce la deshidratare, colaps circulator și anurie. Fără tratament, rata mortalității poate ajunge între 25-50%, iar decesul poate surveni prin deshidratare severă, colaps circulator și anurie sau prin sindrom septic.

Pandemiile de holeră cauzate de *Vibrio cholerae* au avut un impact istoric semnificativ, iar astăzi holera este o boală prezentă doar în anumite zone ale lumii, sub formă endemică (India, Bangladesh, Indonezia, Iran, Irak, Africa). Alte specii de *Vibrio* sunt responsabile pentru infecții gastroenterale și extraintestinale, variind de la infecții ale pielii până la septicemii grave. De exemplu, *V. parahaemolyticus* (a doua specie ca frecvență) și *V. vulnificus* pot provoca gastroenterite acute în urma consumului de fructe de mare (pește crud, stridii, crabi, sardine, raci, scoici). Aceste specii pot cauza ocazional și

infecții extraenterale, cum ar fi infecții ale plăgilor, otite, conjunctivite sau pneumonii.

Tratament și profilaxie

Tratamentul holerei implică tratament simptomatic cu rehidratarea rapidă a pacientului și administrarea de antibiotice, de tipul azitromicină, tetraciclină (sau doxiciclină) și cotrimoxazol ca tratamente de primă alegere. Profilaxia nespecifică presupune respectarea normelor de igienă personală și colectivă, însă aceste măsuri pot fi dificil de implementat în regiunile cu un nivel economic scăzut. Profilaxia specifică include vaccinarea în zonele endemice, dar oferă protecție doar pentru o perioadă scurtă, de până la 6 luni.

3. BACILI SI COCOBACILI GRAM NEGATIVI GLUCOZO NON-FERMENTATIVI

3.1. GENUL *PSEUDOMONAS*

Bacilii gram-negativi aerobi pot fi împărțiți în două categorii: fermentativi și nefermentativi, în funcție de abilitatea lor de a fermenta glucoza. Bacilii nefermentativi constituie aproximativ 15% din totalul acestora izolați în laboratoarele de microbiologie clinică. Aceste bacterii sunt frecvent întâlnite în microbiota umană și în mediul spitalicesc, însă nu toate speciile sunt relevante din punct de vedere clinic. Ele pot coloniza pacienții spitalizați, în special pe cei care au suferit proceduri invazive sau care au urmat tratamente antibiotice prelungite, având potențialul de a provoca infecții nosocomiale la pacienții imunocompromiși, inclusiv pneumonii, endocardite, infecții ale plăgilor sau bacteriemii, meningite și infecții urinare.

3.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa cunoscut și ca bacilul piocianic, este un bacil Gram-negativ non-fermentativ, răspândit în natură și în mediul spitalicesc, este atât invazivă, cât și toxigenă. La om, poate face parte din flora intestinală (prezentă la 4-12% din indivizi) sau din flora tegumentară normală. Este un germen ubicuitar, adaptat la diverse surse organice, izolat din sol, vegetație, materii descompuse și apă. În spitale, preferă umezeala și se găsește în soluții dezinfectante, antibiotice, coliruri, soluții perfuzabile, sânge pentru transfuzii, instrumentar medical, echipamente respiratorii, incubatoare, alimente, instalații sanitare și pavimente din băi. Produce frecvent infecții oportuniste și nosocomiale la pacienți spitalizați sau imunocompromiși, cu arsuri, traumatisme, catetere, sau fibroză chistică. Se transmite prin mâini murdare, aparate de respirație artificială și fluide intravenoase. Indivizii sănătoși sunt purtători în proporție de 6%, cei spitalizați 38%, iar cei imunocompromiși nespitalizați 78%.

Morfologie

Sunt bacili Gram-negativi, subțiri și drepți, cu dispoziție pleiomorfă. Sunt strict aerobi, mobili datorită unui cil situat la unul dintre poli, sunt

oxidazo și catalazo-pozitivi, necapsulați, nesporulați și nepretențioși nutritiv. Secretă pigmenți difuzibili, cum ar fi: piocianina (albastru), pioverdină (galben-verde), piorubină (roșu) și piomelanină (brun, brun-negru).



Figura 25. *Pseudomonas aeruginosa* sub spectrometru UV

Patogenitate

Factorii de patogenitate ai *Pseudomonas aeruginosa* includ atât structuri somatice, cât și substanțe produse extracelular. Printre structurile somatice implicate în patogenitate se numără capsula polizaharidică, pili, flagelul și lipopolizaharidul, care prezintă activitate endotoxinică.

În ceea ce privește produsele extracelulare, *P. aeruginosa* secretă enzime, cum ar fi neuraminidaza (care sprijină aderarea la celulele gazdei), proteazele alcaline, elastazele, hemolizinele cu activitate lecitinasă, fosfolipazele și toxine precum exotoxina A, exotoxina E și piocianina, care contribuie la lezarea țesuturilor. Exotoxina A, specifică acestui microorganism, acționează similar cu toxina difterică.

Endotoxina produsă de acesta poate cauza febră, șoc, oligurie, leucocitoză sau leucopenie, coagulare intravasculară diseminată și sindrom de detresă respiratorie.

Infecțiile cu *Pseudomonas aeruginosa* pot adopta diverse forme clinice, care depind atât de virulența microorganismului, cât și de răspunsul gazdei:

- infecții cutanate, inclusiv cele provocate de plăgi chirurgicale sau arsuri;
- infecții ale tractului urinar, în special în spitale, asociate utilizării cateterelor urinare;

- infecții ale tractului respirator inferior, cum sunt pneumonia asociată ventilației mecanice sau cele apărute în urma asistenței respiratorii în timpul intervențiilor chirurgicale sau resuscitării în unitățile de terapie intensivă, cu posibilă diseminare la nivelul circulației sanguine;
- infecții respiratorii cronice, în special în cazul fibrozisului chistic, o boală congenitală caracterizată prin deficiențe ale apărării locale a căilor respiratoria;
- infecții precum endocardite, meningite, otite și infecții oculare;
- septicemie, cu hemoculturi adesea negative; transmiterea se face în principal pe cale limfatică.

Tratament și profilaxie

Tratamentul infecțiilor grave și generalizate cauzate de *Pseudomonas aeruginosa* presupune combinarea unui aminoglicozid (precum gentamicină, amikacină sau tobramicină) cu o β -lactamină (cum ar fi ticarcilina, mezlocilina sau piperacilina). Alte antibiotice utilizate împotriva *P. aeruginosa* includ aztreonam, imipenem, meropenem, fluorochinolone și cefalosporine de generațiile III și IV. Este esențială testarea sensibilității la antibiotice, deoarece *P. aeruginosa* poate dezvolta rapid rezistență, în special în mediul spitalicesc, unde tulpinile multirezistente reprezintă o amenințare majoră.

Pentru a preveni infecțiile nosocomiale, măsurile de profilaxie nespecifică sunt cruciale, mai ales în zonele umede ale unităților spitalicești, cum ar fi băile. De asemenea, vaccinarea pacienților cu risc ridicat (precum cei cu leucemie, arsuri, fibroză chistică sau imunosupresiune) poate contribui la prevenirea infecțiilor.

3.2. BURKHOLDERIA CEPACIA

Anterior cunoscută sub denumirile *Pseudomonas cepacia* sau *Pseudomonas multivorans*, *Burkholderia cepacia* este un bacil Gram-negativ, aerobil strict, oxidazo-pozitiv (cu variabilitate în intensitate), iar unele tulpini pot produce un pigment galben sau galben-violaceu. Majoritatea tulpinilor prezintă activitate pentru lizindecarboxilază, gelatinază și pot hidroliza esculina, utilizând citratul drept sursă principală de carbon.

În mediul spitalicesc, *B. cepacia* se găsește frecvent în apă distilată, soluții antiseptice și aparate de hemodializă, având capacitatea de a supraviețui în aceste medii apoase timp de luni de zile. Este o bacterie oportunistă care poate provoca bacteriemie sau septicemie în rândul pacienților cu imunodeficiențe și pneumonii la persoanele cu fibroză chistică sau granulomatoză cronică, cu un risc posibil de contaminare interumană.

Tulpinile de *B. cepacia* manifestă o rezistență semnificativă la o gamă largă de antibiotice, inclusiv β -lactamine, aminoglicozide, tetraciclone și polimixine. Printre antibioticele eficiente se numără piperacilina, ceftazidimul, cotrimoxazolul și meropenemul.

3.3. STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

Stenotrophomonas maltophilia este un bacil gram-negativ, nonfermentativ, răspândit în mediul înconjurător, fiind al treilea cel mai frecvent din genul său. Inițial cunoscut sub numele de *Xanthomonas maltophilia* sau *Pseudomonas maltophilia*, pe geloză-sânge formează colonii verde-levănțică sau gri. Este oxidazo-negativ și lizindecarboxilazo-pozitiv.

Nu face parte din flora normală a organismului uman, dar poate coloniza tegumentele și mucoasele pacienților spitalizați, în special pe cei supuși manevrelor invazive sau tratamentelor cu antibiotice îndelungate. Este frecvent întâlnit în mediul spitalicesc, contaminând soluțiile dezinfectante și echipamentele medicale.

S. maltophilia este un important patogen oportunist nosocomial, cauzând infecții ale gazdelor imunocompromise, inclusiv pneumonii, endocardite, infecții ale plăgilor, bacteriemii, meningite și infecții urinare.

Tratamentul este dificil din cauza rezistenței naturale la multe antibiotice (amino, carboxi, ureido-peniciline, cefalosporine de generația I, II, III, carbapeneme). Cele mai eficiente antibiotice sunt ticarcilin-clavulanatul, ceftazidimul și cefepimul.

3.4. GENUL ACINETOBACTER

Genul *Acinetobacter* face parte din familia *Moraxellaceae* și include 32 de specii genomice, dintre care cele mai frecvent implicate în patologia umană sunt *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter*

junii și *Acinetobacter haemolyticus*. *Acinetobacter calcoaceticus* trăiește în sol, iar *Acinetobacter johnsonii* face parte din flora normală a organismului.

Acești germeni sunt cocobacili gram-negativi nefermentativi, strict aerobi, catalazo-pozitivi, oxidazo-negativi și nepigmentați.

Habitat

Acinetobacter este un germen ubicuitar, întâlnit în sol și în apele de suprafață. Face parte din microbiota normală a tegumentului și este prezent în nazofaringe, orofaringe, colon și vagin. În mediul spitalicesc, tulpinile au fost izolate de pe instalații tehnico-sanitare, aparate de climatizare, mâinile personalului și din instalațiile de apă. De asemenea, a fost identificat în sputa, secrețiile tractului respirator, urină și plăgile pacienților spitalizați. Aproximativ 25% dintre persoanele cu tegumente normale sunt purtători, iar 7% sunt purtători faringieni.

Acinetobacter spp. joacă un rol semnificativ în colonizarea și infectarea pacienților spitalizați. Estimarea frecvenței reale a infecțiilor nosocomiale cauzate de acest microorganism este complicată, deoarece simpla izolare din probe clinice nu indică întotdeauna infecția, adesea reflectând doar colonizarea. În industria alimentară, în special în sectorul cărnii, *Acinetobacter* este de asemenea frecvent întâlnit.

Morfologie

Bacilii din genul *Acinetobacter* sunt pleomorfi, având forme care variază de la scurți și groși până la cocoizi, și adesea se dispun în perechi. Pe același frotiu, pot apărea atât forme cocoide, cât și forme filamentose, cu lungime de câțiva zeci de micrometri. Sunt imobili și adesea capsulați, iar pe frotiul colorat Gram, pot fi uneori confundați cu *Haemophilus influenzae*, ceea ce poate face identificarea lor mai dificilă.

Patogenitate

Acinetobacter spp. este un microorganism care colonizează pacienții spitalizați, în special pe cei din unități de terapie intensivă care sunt intubați, au multiple linii intravenoase, dispozitive de monitorizare, drenaje chirurgicale sau catetere urinare. Infecțiile cu *Acinetobacter* sunt rare și apar de obicei ca infecții oportuniste și nosocomiale. *Acinetobacter baumannii* este

cel mai frecvent implicat, reprezentând aproximativ 2/3 din infecțiile cauzate de acest gen, urmat de *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter junii* și *Acinetobacter haemolyticus*, care contribuie la 5% din infecții.

Deși infecțiile cu *Acinetobacter* sunt rare, ele afectează de obicei sisteme cu conținut mare de fluide, cum ar fi tractul respirator, urinar și lichidul peritoneal. Manifestările clinice includ pneumonii nosocomiale, infecții asociate cu dializa peritoneală, și bacteriuria de cateter. Prezența *Acinetobacter* în secrețiile pacienților intubați este adesea o stare de colonizare cauzată de tratamente antibiotice la care bacteria este rezistentă. Infecțiile sunt de obicei asociate cu echipamente sau fluide contaminate.

Cele mai frecvente infecții cauzate de *Acinetobacter* sunt respiratorii, ale plăgilor și arsurilor, bacteriemii, infecții de cateter, meningite, infecții urinare, endocardite la cei cu proteze valvulare, peritonită la cei cu dializă peritoneală și infecții oculare.

Tratament și profilaxie

Acinetobacter baumannii este în mod natural multirezistent la antibiotice, având capacitatea de a produce β -lactamaze și enzime care inactivază aminoglicozidele. Majoritatea tulpinilor sunt rezistente la peniciline și cefalosporine de generația I și II, ceea ce duce la infecții greu de tratat, antibiograma fiind esențială pentru stabilirea tratamentului adecvat. Majoritatea tulpinilor sunt sensibile *in vitro* la imipenem, amikacină, tobramicină și cefalosporine de generația III și IV.

Ubicuitarismul acestui microorganism, rezistența sa în mediul extern și antibio rezistența multiplă în creștere, subliniază necesitatea unor măsuri stricte de profilaxie și control al infecțiilor nosocomiale, cu accent pe limitarea răspândirii tulpinilor multirezistente.

3.5. GENUL *MORAXELLA*

Bacteriile din genul *Moraxella* sunt bastonașe foarte scurte și umflate, având o lungime de 1-2,5 micrometri, care adesea seamănă cu cocii, aranjându-se în perechi sau lanțuri scurte. În anumite culturi, celulele sunt uniforme, în timp ce în altele sunt pleomorfe, formând filamente sau lanțuri lungi, iar pleomorfismul este favorizat de condiții de lipsă de oxigen și temperaturi mai ridicate decât cele optime. Unele specii sunt capsulate, în

timp ce altele nu. Aceste bacterii sunt Gram-negative, imobile, asporogene, strict aerobe, pozitive la teste de oxidază și catalază, având un metabolism respirator și nu necesită condiții speciale pentru dezvoltare.

Genurile *Moraxella* și *Acinetobacter* sunt grupate în familia *Moraxellaceae*. *Moraxella* face parte din flora normală a omului și a mamiferelor, fiind frecvent izolată din sacul conjunctival, tractul respirator superior și sinusurile paranazale. Sunt patogeni ocazionali cu patogenitate redusă, *Moraxella catarrhalis* (fostă *Neisseria catarrhalis*) fiind cel mai frecvent implicată în patologia infecțioasă umană.

Genul *Moraxella* se caracterizează prin incapacitatea de a forma acid din glucoză. Totuși, există specii bacteriene cu toate celelalte caracteristici ale genului *Moraxella*, dar care sunt zaharolitice. Propunerea de a include aceste bacterii în genul *Moraxella* nu a fost acceptată, fiind neîncadrate, deși multe par să aparțină genului *Flavobacterium*.

Moraxella catarrhalis este adesea izolată din spută, însă rolul său patogen este considerat semnificativ doar atunci când frotiul din spută arată un număr mare de polimorfonucleare și diplococi Gram-negativi, iar cultura indică o creștere dominantă a acestei specii. Datorită capacității sale de a produce β -lactamază, tratamentele recomandate includ azitromicină, amoxicilină/clavulanat, cefalosporine de generația a III-a, cotrimoxazol, tetraciclină și eritromicină. Prin producerea de β -lactamază, *M. catarrhalis* poate oferi protecție și altor germeni respiratori patogeni, reducând eficacitatea penicilinei și ampicilinei.

4. BACILI GRAM-NEGATIVI AEROBI SAU FACULTATIV ANAEROBI PRETENȚIOȘI NUTRITIV

4.1. GENUL *HAEMOPHILUS*

Genul *Haemophilus* cuprinde cocobacili polimorfi, imobili, nesporulați, Gram-negativi, aerobi și facultativ anaerobi, care preferă condiții carboxifile. Aceștia cresc bine pe medii cu sânge deoarece necesită doi factori de creștere:

- factorul X (hemina, feroprotoporfirina) este un component termostabil, rezistă 45 de minute la 120°C și se găsește în sânge și derivatele sale cu hemină;
- factorul V este un component termolabil, rezistă 15 minute la 90°C și este eliberat din hematii. Este distrus rapid de pirofosfataza și ADN-aza din sângele uman și al unor animale. Acesta include coenzime din clasa dehidrogenazelor, prezente în globulele roșii, țesuturile animale și vegetale și în majoritatea bacteriilor (stafilococi, enterococi, *E. coli*, levuri), cum ar fi:
 - nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) sau difosfonucleotid (DPN) sau coenzima I
 - nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfat (NADP) sau trifosfonucleotid (TPN) sau coenzima II

Speciile care necesită doar factorul V pentru creștere primesc prefixul "para" în denumire (de exemplu, *Haemophilus parainfluenzae*).

Genul *Haemophilus* include în prezent peste 15 specii, cu o taxonomie în continuă evoluție. Cei mai importanți membri ai genului sunt: *H. influenzae*, *H. aegyptius*, *H. ducreyi* și *H. parainfluenzae*, *H. influenzae* fiind specia tip a genului. *H. aphrophilus* aparține grupului HACEK.

Numele HACEK provine de la inițialele genurilor bacteriene din acest grup:

- *Haemophilus* (inclusiv *H. aphrophilus*, acum cunoscut sub numele de *Aggregatibacter aphrophilus*)

- *Aggregatibacter* (inclusiv *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, anterior cunoscut sub numele de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*)
- *Cardiobacterium* (*Cardiobacterium hominis*)
- *Eikenella* (*Eikenella corrodens*)
- *Kingella* (*Kingella kingae*)

Aceste bacterii sunt parte a microbiotei normale a cavității bucale și a tractului respirator superior, dar pot cauza infecții severe, în special endocardită, la indivizii cu predispoziție.

4.1.1. *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae este cea mai importantă specie a genului, fiind responsabilă de infecții respiratorii și meningeale la copii. A fost identificată în mod eronat ca agentul etiologic al gripei în pandemia din 1890-1892. Numele bacteriei reflectă această asociere greșită: "*haima*" = sânge, "*philios*" = iubitor, "*influenza*" = gripă (bacterie iubitoare de sânge asociată cu gripa). A fost observată în 1890 și izolată în 1892 de Pfeiffer, motiv pentru care este cunoscută și ca "bacilul lui Pfeiffer".

Habitat

Germenii au fost izolați de la om, mamifere, păsări, pești și reptile. Speciile cu habitat uman sunt izolate în special de la nivelul tractului respirator superior și, mai rar, de la nivelul vaginului, uretrei anterioare sau intestinului. Acestea sunt condiționat-patogene, cu excepția *H. aegyptius* și *H. ducreyi*, care sunt patogeni specifici ai mucoasei conjunctivale, respectiv, genito-urinare, nefiind izolați de la persoanele sănătoase. *Haemophilus* colonizează mucoasa tractului respirator la 75% dintre copii și 40% dintre adulți, putând coloniza și mucoasa conjunctivală și tractul genital la 30-80% dintre persoanele sănătoase.

Morfologie

Haemophilus influenzae se prezintă în produse patologice sub formă de cocobacili Gram-negativi mici (1-1,5 / 0,3 μm) sau bacili scurți cu capete rotunjite, uneori dispuși în lanțuri scurte. În culturi bogate, la 6-8 ore,

predomină formele cocobacilare capsulate, iar în culturi vechi bacteria devine pleomorfă și își pierde capsula, complicând diagnosticul. Se cultivă pe medii cu 5-10% CO₂, atmosferă umedă, la 35-37°C și pH 7,6, cu o durată de incubare de 24-48 ore. Pe geloză chocolat, crește sub formă de colonii cenușii, opace, netede, asemănătoare picăturilor de rouă, de 1-3 mm după 36-48 ore. Tulpinile capsulate formează colonii mucoide. Pe geloză-sânge cu infuzie de sânge inimă-creier, colonii mici, rotunde, convexe, de tip S, fără hemoliză. Pe medii transparente, coloniile sunt rotunde, convexe sau conice, transparente sau albastru-verzui. Este aerob-facultativ anaerob și carboxifil, catalazo și oxidazo pozitive, iar 70% din tulpini sunt indol pozitive. Fermentează slab și inconstant carbohidrații, descompunând glucoza, maltoza și xiloza, dar nu lactoza și zaharoza.

Patogenitate

Haemophilus influenzae este o bacterie piogenă ce provoacă infecții severe, în special la copii. Infecțiile pot fi împărțite în două categorii:

- afecțiuni acute cu bacteriemie, cauzate de tulpini capsulate (în special serotip b, biotip I), acestea includ:
 - meningită frecventă la copii mici (3-30 luni), adesea precedată de infecții respiratorii;
 - epiglotită frecventă la copii mai mari (2-7 ani), cu debut brusc și dificultăți respiratorii grave;
 - stări septicemice, temperaturi ridicate, frisoane și posibile infecții locale (articulare, otite, pericardită, pneumonie);
 - infecție neonatală generalizată apare prin contaminarea la naștere și are evoluție severă;
- afecțiuni acute sau cronice fără bacteriemie provocate de tulpini necapsulate, incluzând:
 - otite medii acute;
 - infecții bronhopulmonare;
 - conjunctivite.

La adulți, tulpinile necapsulate sunt mai frecvente și pot cauza:

- infecții respiratorii, bronhopneumonie pe fondul bronșitei cronice sau pneumonii, uneori cu bacteriemie;

- meningită rară, apare în special la persoanele în vârstă;
- infecții diverse, articulare, osoase, oto-rino-laringologice, oculare și genito-urinare;
- infecțiile puerperale sau vaginale pot afecta nou-născuții.

Tratament și profilaxie

Tratamentul infecțiilor severe cu *Haemophilus influenzae* se realizează prin administrarea parenterală de cefalosporine de generația a III-a. Pentru infecții mai ușoare, se recomandă ampicilina, iar pentru tulpinile rezistente se utilizează combinații de amoxicilină cu acid clavulanic, cefalosporine orale de generația a II-a sau fluorochinolone.

Profilaxia specifică a infecțiilor cu *H. influenzae* serotip b se efectuează prin vaccinare. În cazul chimioprofilaxiei, contactele unui copil cu meningită cauzată de *H. influenzae* trebuie tratate cu rifampicină, fiind recomandată în special persoanelor susceptibile, cum ar fi copiii.

4.2. GENUL *BORDETELLA*

Numele genului *Bordetella* omagiază bacteriologul belgian J. Bordet, care împreună cu Gengou a izolat agentul tusei convulsive în 1906. *Bordetella* cuprinde cocobacili Gram-negativi asemănători celor din genul *Haemophilus*, strict aerobi, imobili sau mobili cu flageli peritrichi. Germenii acestui gen sunt nesporulați, cu exigențe nutritive diferite în funcție de specie și relativ inerți metabolic. Specia tip este *B. pertussis*, agentul tusei convulsive. Alte specii de interes medical includ *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, și *B. holmesii*.

4.2.1. *Bordetella pertussis*

Habitat

Bordetella colonizează cilii epiteliului respirator al mamiferelor. Deși se credea că nu are capacitate invazivă, studii recente au arătat prezența bacteriei în macrofagele alveolare. Este un patogen pentru oameni și primatele superioare, fără alte rezervoare cunoscute. *B. pertussis* și *B.*

parapertussis sunt găzduite exclusiv de om și sunt agenții etiologici ai tusei convulsive, *B. parapertussis* producând forme mai ușoare ale bolii.

Morfologie

Pe frotiurile din prelevate patologice sau din primoculturi, *B. pertussis* apare ca un cocobacil Gram-negativ de 0,5 μm / 0,5-2 μm , dispus izolat sau în perechi, mai rar în lanțuri scurte. Speciile imobile includ *B. pertussis*, *B. parapertussis*, și *B. holmesii*, iar cele mobile includ *B. avium*, *B. hinzii*, și *B. bronchiseptica*. Când este recent izolată, prezintă capsulă și pili atașați de peretele bacterian, care după 24 de ore se pot găsi în mediul de cultură.

B. pertussis este exigent din punct de vedere nutritiv, necesitând medii îmbogățite cu sânge sau medii sintetice cu săruri, aminoacizi și factori de creștere (nicotinamidă). Crește greu pe mediile uzuale din cauza inhibării de către acizi grași și peroxizi organici. Mediul Bordet-Gengou (agar, macerat de cartof, 30% sânge defibrinat de iepure, glicerol și penicilină sau cefalexină) este ideal pentru cultivare, la o temperatură optimă de incubare de 35-37°C.

Patogenitate

B. pertussis este patogenă exclusiv pentru om, cauzând tuse convulsivă, o boală gravă la copii. Transmiterea se face prin picături nazofaringiene, fiind foarte contagioasă în primele stadii ale bolii. După o incubatie de 7-10 zile, boala evoluează în două faze:

- **prima fază** este faza **catarală**, cu simptome ușoare asemănătoare unei infecții respiratorii (febră, strănut, tuse). Bacteria se multiplică și interferează cu activitatea mucociliară, iar pacientul devine foarte contagios, eliminând un număr mare de microorganisme prin tuse. Diagnosticul se face prin prelevări din faringe sau metoda "plăcilor tusite". Tratamentul antimicrobian poate reduce gravitatea și durata bolii în această fază.
 - **a doua fază** este faza **paroxistică**, caracterizată prin accese de tuse severă, uneori însoțite de vărsături, cianoză, convulsii și anxietate. Apar complicații pulmonare și potențial grave la nivelul sistemului nervos central, precum encefalita pertussis. În această fază, *B. pertussis* este rar izolată, iar antibioticele nu influențează evoluția bolii.

Faza paroxistică durează 2-4 săptămâni, urmată de o convalescență de 2-3 săptămâni.

Tratament și profilaxie

Tratamentul antimicrobian pentru *B. pertussis* nu modifică evoluția bolii, dar previne infecțiile bacteriene secundare. Eritromicina este antibioticul de elecție, eficient doar dacă este administrat în faza catarală. Alte antibiotice utilizate includ trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloramfenicol, fluoroquinolone (ciprofloxacin) și macrolide (azitromicină, claritromicină). Tratamentul include și măsuri simptomatice: oxigenare, hidratare, administrarea de sedative și aspirarea secrețiilor.

Profilaxia specifică pentru *B. pertussis* se realizează prin vaccinarea cu trivaccinul anti-diftero-tetano-pertussis (DTP), care oferă o imunizare eficientă. Primovaccinarea se efectuează la vârsta de 3-9 luni, urmată de două rapeluri la 6-9 luni și la 18-24 luni. Administrarea vaccinului după această vârstă este contraindicată din cauza riscului de encefalită postvaccinală.

4.3. GENUL *GARDNERELLA*

În 1955, Gardner a identificat agentul etiologic al vaginozei bacteriene, denumit inițial *Haemophilus vaginalis*, care a fost reîncadrat în 1980 sub denumirea de *Gardnerella vaginalis*. Vaginoza bacteriană apare în urma modificării florei vaginale normale și implică mai mulți germeni microbieni, inclusiv *G. vaginalis*. Acest gen cuprinde cocobacili Gram-variabili, imobili, nesporulați, facultativ anaerobi, care sunt catalazo, oxidazo, ureazo și indol negativi, având un metabolism fermentativ lent ce produce acid acetic. Genul *Gardnerella* include o singură specie, *Gardnerella vaginalis*.

4.3.1. *Gardnerella vaginalis*

Habitat

Gardnerella vaginalis este parte a florei vaginale normale, colonizând în număr redus mucoasa vaginală la 20-40% din femei. De asemenea, poate fi izolată din vezica urinară, mai ales la femeile gravide, uretra anterioară la

bărbați, mai rar din rectul copiilor și al bărbaților heterosexuali, spermă și orofaringe.

Morfologie

Aspectul morfologic al *Gardnerella vaginalis* variază în funcție de mediul de cultură și vârsta culturii. Pe geloză sânge de 24 de ore, apar ca bacili fini sau cocobacili Gram variabili. Pe agar, apar ca bacili scurți Gram-negativi, iar pe mediul cu amidon, prezintă un aspect polimorf cu corp striat. În hemoculturi de 48 de ore și pe medii cu ser, formele Gram-pozitive sunt frecvente. În frotiurile din scurgerea vaginală a femeilor cu vaginoză, se observă "clue-cells," celule epiteliale acoperite de bacterii, indicator relevant al vaginozei bacteriene.

Patogenitate

Gardnerella vaginalis este considerată un patogen genito-urinar, implicat în vaginoza bacteriană, deși rolul său etiologic rămâne controversat. La gravide, vaginoza bacteriană poate cauza nașteri premature, ruptura prematură a membranelor și corioamniotită. Poate fi implicată și în afecțiuni extragenitale, cum ar fi infecții materne, neonatale, ale tractului uro-genital la femei, tractului urinar la bărbați, precum și în bacteriemii și septicemii. Vaginoza bacteriană, asociată cu disbioza vaginală, se manifestă prin înlocuirea lactobacililor cu *G. vaginalis* și alte bacterii anaerobe, ducând la scurgeri vaginale alb-cenușii, omogene, cu miros de pește stricat.

Tratament și profilaxie

Metronidazolul este antibioticul de elecție pentru vaginoza bacteriană și infecțiile sistemice cauzate de flora asociată acestei afecțiuni. Infecțiile sistemice cu *G. vaginalis* ca unic agent pot fi tratate cu ampicilină sau amoxicilină, deoarece nu au fost identificate tulpini rezistente la β -lactamaze.

Profilaxia pentru vaginoza bacteriană este nespecifică.

4.4. GENUL *LEGIONELLA*

În iulie 1976, o epidemie de pneumonie a izbucnit la Convenția Legiunii Americane din Philadelphia, provocând numeroase decese și ducând la denumirea genului *Legionella*. Agentul etiologic, *Legionella pneumophila*, a fost izolat după luni de cercetări din instalația de climatizare a hotelului. Familia *Legionellaceae* include peste 42 de specii, dintre care 20 au fost asociate cu infecții umane. *Legionella pneumophila* este responsabilă pentru 90% din cazurile de legioneloză, urmată de *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii* și *L. longbeachae*.

Habitat

Legionella nu face parte din flora saprofită umană, iar prezența sa în produsele patologice este asociată cu boala. Nu a fost niciodată izolată în pământ uscat, apă de mare sau la animale. Se dezvoltă în apele dulci, cum ar fi lacuri râuri, în bazinele artificiale și rețelele de canalizare, trăind în simbioză cu microbiocenozele din aceste medii. A fost izolată și din apa menajeră, asociată cu temperaturi scăzute ale apei calde (sub 55°C), insuficiente pentru distrugerea bacteriei. *Legionella* poate infecta și se poate replica în protozoare din bazinele de apă sau sistemele de alimentare, supraviețuind în interiorul acestora. Colonizarea și multiplicarea în bazinele de apă sunt favorizate de temperaturi între 25-42°C, stagnarea apei, sedimente și prezența protozoarelor.

Morfologie

Germenii din genul *Legionella* sunt bacili Gram-negativi, mici, care pot prezenta forme filamentoase în culturile vechi. Se colorează greu cu metodele obișnuite, fiind mai ușor de evidențiat prin impregnare argentică. Aceștia sunt nesporulați, necapsulați, strict aerobi și pot avea flageli, în funcție de temperatură. Cresc doar pe medii suplimentate cu L-cisteină, săruri de fier, aminoacizi și factori de creștere, la un pH exact de 6,9.

Patogenitate

Legionella pneumophila este responsabilă de pneumonii severe, contaminarea provine adesea din instalații de apă, cum ar fi robinetele, dușurile, bazinele de balneoterapie, și sisteme de climatizare. Bacteria

pătrunde în tractul respirator, mai rar prin plăgi și se instalează în alveole, provocând alveolită purulentă.

Legionella cauzează:

- pneumonie severă (boala legionarilor), cu incubatie de 8-10 zile, cauzată de *Legionella pneumophila* manifestată prin febră ridicată, tuse, cefalee, diaree, și alte simptome severe, ce pot duce la insuficiență respiratorie și renală;
- boala non-pneumonică (febra de Pontiac), o formă mai ușoară, cu o perioadă de incubatie mai scurtă, de 2 zile, cauzată de *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, *Legionella feeleyi*, *Legionella anisa*, caracterizată prin febră și mialgii, dar cu evoluție favorabilă;
- infecții extrapulmonare, inclusiv infecții ale plăgilor chirurgicale, cauzate de diverse specii de *Legionella*.

Tratament și profilaxie

Antibiograma nu este utilă în tratamentul legionelozei din cauza dificultății de cultivare a bacteriei și a ritmului său lent de creștere. De asemenea, localizarea intracelulară a bacteriei face ca rezultatele *in vitro* să nu reflecte eficiența tratamentului *in vivo*. Macrolidele, rifampicina și fluorochinolonele sunt eficiente *in vivo* datorită capacității lor de penetrare intracelulară și efectelor bactericide.

Profilaxia include identificarea și reducerea încărcăturii microbiene din sursele de apă contaminate, precum și clorinarea apelor. Deși eliminarea totală a bacteriilor este dificilă, reducerea numărului acestora poate controla infecția.

4.5. GENUL *CAMPYLOBACTER*

Genul *Campylobacter* cuprinde bacili Gram-negativi de formă spiralată sau încurbată, cu un singur flagel polar la una sau ambele extremități, conferindu-le o mișcare specifică. Aceste bacterii necesită condiții speciale de cultivare: microaerofilie, medii îmbogățite și o temperatură de 42-43°C, cu o incubare de 48-72 de ore. Speciile de importanță medicală sunt *Campylobacter jejuni*, *C. coli* și *C. fetus*. Frecvent implicate în toxiinfecții alimentare sunt *C. jejuni* și *C. coli*, manifestate prin diaree sangvinolentă sau

apoasă, în special la copii, iar *C. fetus* este un patogen oportunist la organismele imunodeprimite.

Habitat

Campylobacter este răspândit în natură și se găsește în intestinul multor mamifere (porci, vaci, capre, oi, câini, pisici, rozătoare) și păsări, precum și în apa contaminată cu fecale. Animalele sunt de obicei purtători sănătoși, dar bacteriile pot cauza sterilitate sau avort. La om, infecțiile apar prin consumul de alimente, lapte sau apă contaminate, *C. jejuni subsp. doylei* a fost izolat exclusiv de la nivelul mucoasei gastrice umane.

Morfologie

Campylobacter sunt bacili Gram-negativi, spiralati, curbați sau în formă de "S", cu un singur flagel polar la una sau ambele extremități, care le conferă o mișcare specifică de "zbor de musculiță". Nu sunt sporulați, dar în culturi mai vechi de 48 de ore, pot apărea forme rotunjite denumite "corpi cocoizi", un stadiu degenerativ datorat condițiilor de cultivare. Cresc în condiții de microaerofilie la 42-43°C pe medii selective, care includ factori nutritivi, sânge de cal sau berbec și antibiotice pentru inhibarea florei de asociație.

Patogenitate

Patogeneza infecției cu *Campylobacter* nu este complet elucidată, dar se știe că produce distrucții masive ale mucoasei intestinale și infecție invazivă. La tulpinile de *C. jejuni* a fost detectată o enterotoxină, deși rolul acesteia nu este clar. Factori precum doza infectantă, statusul imun al pacientului și scăderea secreției acide gastrice influențează severitatea infecției.

C. jejuni și *C. coli* sunt cauze frecvente de gastroenterită acută, adesea asociate cu consumul de carne de pui, apă sau lapte contaminate. Infecția este în general autolimitată, dar poate persista sau chiar croniciza. Complicațiile tardive, cum ar fi artrita reactivă și sindromul Guillain-Barre, au fost legate de anumite serotipuri de *C. jejuni*.

Infecțiile sistemice, mai frecvente la persoanele cu deficiențe imune, sunt adesea cauzate de *C. fetus*, care poate provoca septicemie și diseminare

în multiple organe. *C. fetus* este asociat cu infecții fetoplacentare, avorturi, artrite septice, abscese, peritonite, și alte infecții severe. Unele specii pot fi implicate și în infecții periodontale.

Tratament și profilaxie

În cazurile de diaree, se prioritizează reechilibrarea hidroelectrolitică, inițial oral, iar dacă eșuează, se recurge la rehidratare parenterală. Tratamentul antibiotic este controversat, deoarece boala este autolimitantă, dar poate fi indicat în caz de febră înaltă, diaree cu sânge, peste 8 scaune pe zi, agravarea sau persistența simptomelor mai mult de o săptămână. Antibioticul de elecție este eritromicina, cu alternative precum ciprofloxacina și tetraciclina (de evitat la copii). Alte opțiuni includ clindamicina și macrolidele noi (claritromicina, azitromicina). Spasmoliticele trebuie evitate, deoarece prelungesc simptomele. În infecții severe sau recurente, tratamentul antibiotic poate fi combinat cu plasmă proaspătă congelată. Infecțiile endovasculare cu *C. fetus* necesită tratament de cel puțin 4 săptămâni, cu gentamicină ca primă alegere, sau ampicilină/cefalosporine de generația a treia ca alternative.

Profilaxia include prepararea corespunzătoare a alimentelor, consumul de lapte pasteurizat și evitarea contaminării apelor.

4.6. GENUL *HELICOBACTER*

Microorganismele din genul *Helicobacter* sunt bacili spiralați, Gram negativi, cu 4-6 flageli la un pol și microaerofili. Inițial încadrați în genul *Campylobacter*, studii moleculare recente au dus la reclasificarea lor în genul *Helicobacter*. Acești germeni au ca habitat natural omul și animalele, fiind găsiți în stomac (*H. pylori*, *H. heilmannii*) și intestin (*H. cinaedi*, *H. fennelliae*). *Helicobacter pylori* are cea mai mare importanță medicală, fiind legată de afecțiuni gastroduodenale, descoperirea sa în 1982 fiind o descoperire majoră în medicina modernă.

Helicobacter pylori

Habitat

Helicobacter pylori colonizează mucoasa gastrică, în special zona antrală, și este extrem de bine adaptat la mediul acid al stomacului. Odată

stabilit, poate persista ani de zile, uneori toată viața, deși poate dispărea odată cu apariția gastritei atrofice. Mai mult de jumătate din populația mondială este infectată, prevalența fiind mai mare în țările în curs de dezvoltare și în rândul celor cu un nivel socio-economic scăzut. *H. pylori* este prezent la 70-100% din pacienții cu gastrite, ulcere gastrice și duodenale, însă este rar întâlnit la cei fără semne histologice de gastrită.

Morfologie

Aceste bacterii Gram-negative, curbate sau spiralate, au 4-6 flageli la un pol și pot apărea sub formă de literă „S” sau cocoide la microscopul electronic. Cresc în condiții de microaerofilie pe medii suplimentate cu sânge și agenți antimicrobieni pentru a preveni contaminarea. Au metabolism respirator, nu cresc la 25°C, sunt oxidazo-pozitive și nu descompun zaharurile. Principala lor caracteristică biochimică este producerea rapidă de urează, ceea ce face testul ureazei esențial pentru diagnostic.

Patogenitate

Helicobacter pylori este asociat în principal cu ulcerul gastric, gastrita cronică și dispepsia non-ulceroasă, dar este implicat și în afecțiuni extragastrice precum limfomul gastric MALTomas, coronarite, reflux gastroesofagian, anemie feriprivă, boli dermatologice și reumatice. Bacteria colonizează mucoasa gastrică prin producerea de urează, care neutralizează aciditatea, prin capacitatea de a pătrunde în stratul de mucus și de a se atașa de celulele gastrice. Infecția cronică cu *H. pylori* duce la inflamație continuă, crescând riscul de ulcer, cancer gastric și limfom. Deși *H. pylori* infectează jumătate din populația mondială, doar o mică parte dezvoltă simptome, acest lucru fiind influențat de variabilitatea virulenței tulpinilor. Rolul său în bacteriemie este incert și nedocumentat.

Tratament și profilaxie

Tratamentul pentru infecția cu *Helicobacter pylori* se administrează doar pacienților cu un diagnostic confirmat și include o schemă de triplă asociere: inhibitori ai pompe de protoni (omeprazol), amoxicilină și macrolide (claritromicină). Această terapie are o rată de eradicare de 70-95% la pacienții tratați timp de 14 zile. O alternativă este o schemă cu tripla

combinație de subsalicilat de bismut, metronidazol și tetraciclină. Nu este necesar un regim alimentar special în timpul tratamentului.

Prevenirea și controlul infecției sunt dificile din cauza răspândirii ubiquitare a microorganismelor și a transmisiei prin contact uman, pe cale fecal-orală sau oral-orală.

5. GENUL MYCOBACTERIUM

INTRODUCERE

Lehmann și Neumann au dat inițial numele genului *Mycobacterium* în 1896, bazându-se pe caracteristicile speciei *Mycobacterium tuberculosis*. Acizii micolici prezenți în peretele celular, creșterea aerobă și forma celulelor bacilare se numără printre caracteristicile fenotipice ale genului. În prezent, există peste 180 de specii recunoscute de *Mycobacterium*, care reprezintă singurul gen din familia *Mycobacteriaceae*. Microorganismele ce aparțin acestui gen au o deosebită diversitate în ceea ce privește capacitatea lor de a provoca patologii / boli la om; unele fiind agenți stricți patogeni, în timp ce altele sunt agenți patogeni oportuniști sau nepatogeni.

De asemenea, sunt incluse micobacterii non-tuberculoase, *Mycobacterium abscessus* și *Mycobacterium avium* fiind agenți patogeni oportuniști majori. Majoritatea speciilor micobacteriene se găsesc în mediul înconjurător.

Genul este clasificat în specii cu creștere rapidă și lentă pe baza datelor fenotipice și filogenetice și apoi subdivizat în grupuri complexe sau grupuri specifice. În 2018, genul a fost împărțit în 5 genuri noi: *Mycolicibacterium*, *Mycolicibacter*, *Mycolicibacillus*, *Mycobacteroides* și *Mycobacterium*.

Din punct de vedere biochimic, acest gen face parte din categoria bacililor acido-rezistenți. Acestea tind să producă ramificații în cursul înmulțirii bacteriene, iar prezența lipidelor și a cerurilor din peretele celular permit acestor germeni să posede proprietăți particulare, cum ar fi acido-alcool-rezistența (BAAR), rezistența la o varietate de antibiotice și rezistența intrafagocitară.

Tabel 2. Reprezentarea anumitor specii de mycobacterii

Specie	Fluid biologic recoltat	Relevanță clinică	Caracteristici privind diagnosticul bacteriologic
<i>Mycobacterium leprae</i>	-	• Lepră tuberculoidă sau benignă; • Lepra lepromatoasă sau malignă	-
<i>Mycobacterium bovis</i>	Lapte sau urină, dar mai frecvent din probele de țesut colectate post-mortem de la animalele infectate	• Tuberculoză	Mediu Löwenstein-Jensen + piruvat, mediu Stonebrink's ○ colonii de tip S netede, necromogene, mici, umede, cu aspect cremos, albicioase
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Spută sau alte lichide biologice	• Tuberculoză pulmonară; • Tuberculoză extrapulmonară.	Mediu Löwenstein-Jensen, mediu Middlebrook ○ colonii de tip R rugoase, uscate, neregulate, conopidiforme, greu emulsionabile (dezvoltare după 2-4 săptămâni), necromogene, de culoare albă, alb-gălbui sau crem
<i>Mycobacterium avium</i>	Spută	• Bronhopneumonie	Cultivator lent; pigment galben pe mediul Lowenstein-Jensen
<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	Spută, lichid peritoneal	• Pneumonie; • Peritonită; • Infecții ale mainilor	Mediu Middlebrook

<i>“Mycobacterium franklinii”</i>	Piele, cateter central	• Boală pulmonară; • Leziuni hepatice granulomatoase	Mediu Middlebrook - colonie de culoare albă
<i>Mycobacterium avium</i>	Spută	• Tuberculoză pulmonară	Mediu Lowenstein–Jensen, mediu Herrold's, Mediu Middlebrook 7H10 sau 7H11 ○ necromogen, cultivator foarte lent
<i>Mycobacterium chelonae</i>	Biopsie piele	• Infecții ale pielii și-a țesuturilor moi	Mediul Lowenstein-Jensen ○ colonii netede, în formă de cupolă, vizibile

5.1. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (BACIL KOCH)

Descriere, caractere morfo-tinctoriale: bacil aerob, imobil, nesporulat, necapsulat, drept, izolat sau așezat în mici grămezi, facultativ intracelular.

Foarte rezistent la condițiile de mediu. NU se colorează gram, se colorează numai la cald, iar odată colorat nu mai poate fi decolorat cu alcoolii sau acizi, de unde și denumirea genului. Se evidențiază prin colorația Ziehl-Neelsen.

Semnificație clinică și patogenitate

Tuberculoza este cauzată de membrii complexului *Mycobacterium tuberculosis*, care cuprinde *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. mungi*, *M. pinnipedii*, *M. orygis* și *M. surricatae*. În timp ce *M. tuberculosis* și *M. africanum* sunt specii adaptate pentru om, celelalte specii preferă gazdele (specifice - animale) cu posibilă infectare zoonotică la om (exemplu transmiterea *M. bovis* prin carnea de bovine).

Tuberculoza implică distrugerea și necroza țesutului pulmonar, fiind o patologie deloc similară cu alte infecții pulmonare. Principalii factori de virulență care joacă un rol deosebit de important în patogeniza produsă de

către *Mycobacterium tuberculosis* include, glicolipidele acidului micolic din peretele celular, lipoarabinomannan, sulfatidele și dimicolatul de trehaloză.

Principala caracteristică a tuberculozei este formarea de granuloame, ce reprezintă un grup de celule gigante multinucleate (macrofage) înconjurate de limfocite. Granuloamele tuberculoase sunt unice prin faptul că au o caracteristică unică, numită "cazare" sau necroză centrală, care le distinge de alte afecțiuni granulomatoase infecțioase, cum ar fi cele provocate de *Histoplasma* și *Leishmania*. În cazul necrozei centrale, există un pH scăzut < 5, nivel scăzut de oxigen la nivel de celule și niveluri ridicate de acizi grași, care inhibă creșterea bacteriilor tuberculoase și, prin urmare, conțin infecția.

Aceasta poate fi clasificată în tuberculoză pulmonară și tuberculoză extrapulmonară. Simptomatologia generală se manifestă printr-o tuse cu o durată mai mult de 3-5 săptămâni, senzație de oboseală, stare febrilă, transpirații nocturne, pierderea poftei de mâncare, pierdere în greutate, dificultate în respirație.

Tuberculoza pulmonară poate fi clasificată la rândul său în:

- tuberculoza primară (primoinfecție) - cauzează adesea opacifierea câmpului pulmonar mediu și inferior, fiind asociată cu adenopatia mediastinală.
- tuberculoză secundară - are o prezentare diferită de cea primară, deoarece hipersensibilitatea de tip întârziat și reacția tisulară sunt mai severe. Implică în mod obișnuit afectarea lobiilor superiori, provocând opacități, cavități sau țesut cicatricial fibrotic.

Tuberculoza extrapulmonară este mai frecventă în cazul persoanelor imunodeprimăte și-al copiilor mici. Infecțiile tind să se dezvolte în pleură (pleurezie tuberculoasă), sistem nervos central (meningită tuberculoasă) și sistem limfatic (scrofuloză ganglionică). Alte zone potențiale de infecție: sistemul urogenital (tuberculoza urogenitală), oase (osteomielită tuberculoasă) și articulațiile (morbil lui Pott sau spondilită tuberculoasă). Tuberculoza diseminată, cunoscută și sub numele de tuberculoză miliară, este o formă potențial mai severă și mai răspândită de tuberculoză.

Diagnostic de laborator: recoltarea se face din produse patologice (spută, LCR, lichid de aspirație) și se izolează pe mediu înalt selectiv Lowenstein-Jensen sau mediu Middlebrook.

Unul dintre cele mai importante teste pentru diagnosticarea tuberculozei este testul cutanat / intradermic la tuberculină (Testul Mantoux),

care datează din secolul al XIX-lea și este încă utilizat pe scară largă în domeniul medical. Celulele T sensibilizate de o infecție anterioară sunt recrutate în zona pielii unde se eliberează limfokine, care vor induce vasodilatație locală, edem, depunere de fibrină și recrutarea altor celule pro-inflamatorii. Caracteristicile reacției includ: (1) timp întârziat (atingând un vârf de maxim la 24 de ore după injectarea antigenului), vezicularea și necroza ocazională.

Testul cutanat Mantoux trebuie interpretat între 48 și 72 de ore după administrare, citirea acestuia fiind efectuată într-o lumină bună, cu antebrațul ușor îndoit la cot, prin palpate și inspecția locului injectat pentru detectarea unei zone îngroșate de reacții cutanate locale, denumită indurație. Indurația este elementul cheie pentru a detecta sau nu, roșeața sau echimoza. Interpretare:

- o indurație de aproximativ 5 mm - test considerat pozitiv la persoanele infectate cu HIV, un contact recent cu o persoană bolnavă de TBC, pacienți transplantați etc.;
- o indurație < 10 mm - test considerat pozitiv la pacienții consumatori de droguri, personal din laboratorul microbiologic, copii și adolescenții expuși adulților din categoriile cu risc înalt;
- o indurație > 15 mm - test pozitiv la orice persoană, inclusiv la cei fără un risc cunoscut de TBC.

Profilaxie: măsuri nespecifice și specifice - depistarea activă și precoce a surselor de infecție, izolarea și tratarea pacienților; vaccinare antituberculoasă și chimioprofilaxie.

Tratamentul antimicrobian are durată 6-12 luni. Tratamentul cel mai frecvent utilizat implică o fază intensivă de două luni cu izoniazidă, rifampicină, pirazinamidă și etambutol, urmată de o fază de continuare de patru luni cu izoniazidă și rifampicină.

5.2. MYCOBACTERIUM LEPRAE

Agentul etiologic al leprei (boala Hansen), o infecție granulomatoasă cronică umană, care afectează pielea și nervii periferici.

Descriere, caractere morfo-tinctoriale: bacil aerob (bacterie în formă de tijă) cu laturi paralele și capete rotunde, înconjurat de stratul caracteristic de ceară al acidului mycolic. Peretele celular atașat de membrana plasmatică

este compus din peptidoglicani legați cu ajutorul polizaharidelor cu lanț ramificat (arabinogalactani). De asemenea, peretele celular are un glicolipid fenolic caracteristic, numit PGL-1.

Rezistent la condițiile de mediu.

NU se colorează gram, se colorează numai la cald, iar odată colorat nu mai poate fi decolorat cu alcoolii sau acizi.

Semnificație clinică și patogenitate: produce LEPRO, care evoluează cronic prin două forme - lepra tuberculoidă (benignă) și lepra lepromatoasă (malignă).

Diagnostic de laborator: nu se poate cultiva pe medii de cultură. Se poate determina printr-o biopsie a pielii (test cutanat pentru lepromina) sau prin detectarea de ADN cu ajutorul tehnicii PCR.

Profilaxie: măsuri nespecifice și specifice - depistarea activă și precoce a surselor de infecție, izolarea și tratarea pacienților; vaccinare antituberculoasă și chimioprofilaxie cu dapsonă.

Tratamentul antimicrobian are durată minim 24 luni, asociere de chimioterapice antituberculoase (rifampicina, etionamidă) cu dapsonă.

5.3. MYCOBACTERII ATIPICE

Mycobacteriile atipice sau micobacteriile non-tuberculoase sunt microorganisme care produc diverse boli, cum ar fi infecții ale pielii și-a țesuturilor moi, limfadenită, infecțiile pulmonare și infecțiile diseminate.

Se găsesc de obicei în sol, în sursele de apă și pe echipamentele medicale care nu sunt sterilizate în mod corespunzător. Cele mai frecvente cazuri de infecții cu micobacterii atipice se întâlnesc la copii mici, persoanele imunocompetente, persoanele care au suferit recent proceduri chirurgicale.

Cel mai frecvent întâlnite mycobacterii atipice ce cauzează majoritatea infecțiilor la om sunt:

- complexul *Mycobacterium avium*: *Mycobacterium avium* și *Mycobacterium intracellulare* sau cunoscut sub numele de *Mycobacterium avium-intracellulare*,
- *Mycobacterium kansasii*;
- *Mycobacterium marinum*;

- *Mycobacterium ulcerans*;
- complexul *Mycobacterium abscessus* (abcessus, massiliense și bolletii);
- *Mycobacterium chelonae*;
- *Mycobacterium fortuitum*.

Mycobacteriile atipice sunt caracterizate prin:

- stratul de acid micolic ce le permite formarea de biofilme, astfel acestea pot să supraviețuiască în medii atipice, nu foarte tolerate de alte bacterii. Aceste biofilme împiedică eficacitatea antibioticelor în penetrarea peretelui celular bacterian, respectiv împiedică efectul bactericid a unor substanțe dezinfectante. De asemenea le permit supraviețuirea în medii bogate în oxigen (aerobe) și medii anaerobe.

- o rată lentă de creștere, astfel sunt împărțite în 2 mari categorii: mycobacterii atipice cu creștere rapidă pe mediul de cultură (7-30 zile) și cu creștere lentă (săptămâni până la luni).

Patogeneza: Sistemul imunitar al omului intră în contact cu aceste micobacterii atipice, după care sunt preluate de către macrofage, cu eliberare de IL-12 și TNF-alfa. Acest proces duce în cele din urmă la uciderea acestor bacterii intracelulare de către oxidul nitric și radicalii liberi.

Macrofagele, neutrofilele și celulele T recrutate la locul infecției pot conduce uneori la formarea granulomului, iar aceste mycobacterii atipice sunt adesea capabile să evite acest răspuns datorită capacității glicoproteinelor componente din peretele celular al acestora de-a inactiva procesul de fuziune fagozom-lizozom și distrugerea radicalilor liberi, care vor permite astfel bacteriilor să trăiască ca și organisme intracelulare în macrofagele organismului uman.

Diagnostic de laborator: Micobacteriile atipice conțin un strat hidrofob de acid micolic în peretele celular, împiedicând utilizarea colorației Gram. Cea mai bună metodă de detectare a acestor mycobacterii atipice este colorarea fluorocromă, un tip de colorare acidă, rapidă, în care aceste bacterii vor apărea la microscop ca niște bacili galbeni până la portocalii. Metoda de colorație Ziehl-Neelsen și pata Kinyoun sunt alte metode de colorare, mai puțin sensibile, ce pot fi utilizate pentru diagnostic.

Tratament: asocieri de 2-3 chimioterapice.

6. BACTERII STRICT ANAEROBE

6.1. MICROORGANISME EXOGENE ANAEROBE SPORULATE TOXIGENE

Bacteriile strict anaerobe sunt microorganisme care nu pot supraviețui în prezența oxigenului, dezvoltându-se și multiplicându-se doar în medii complet lipsite de oxigen. Aceste microorganisme obțin energie prin fermentație sau respirație anaerobă, în absența oxigenului și necesită medii complet anaerobe pentru a se dezvolta, fiind cultivate în laboratoare prin tehnici speciale, cum ar fi utilizarea camerelor anaerobe sau a mediilor de cultură reduce chimic.

Bacteriile strict anaerobe sunt adesea implicate în infecții umane, în special în locuri unde oxigenul este limitat, cum ar fi tractul gastrointestinal, cavitatea orală și plăgile profunde.

6.1.1. Genul *Clostridium*

Genul *Clostridium* este un gen larg și heterogen de microorganisme care includ aproximativ 231 de specii. Clostridiile sunt de obicei gram-pozitive, majoritatea fiind anaerobe stricte, ne-reductoare de sulfat, cu formă de bastonaș și capabile să formeze endospori. Forma și lungimea bastonașelor pot varia considerabil, la fel și poziția endosporilor. Endosporii pot fi sferici sau ovali, sunt extrem de rezistenți la căldură, substanțe chimice și deshidratare și prin urmare, pot supraviețui în medii adverse unde pot germina și se pot transforma într-o celulă vegetativă complet activă în condiții favorabile. Speciile din genul *Clostridium* prezintă fenotipuri heterogene și sunt capabile să crească într-un interval larg de temperatură (3,3 până la 80 °C).

Tabel 3. Patologii produse de *Clostridium* spp.

Microorganism	Patologia produsă	Toxina produsă
<i>C. botulinum</i>	Botulism	Neurotoxină
<i>C. tetani</i>	Tetanus	Neurotoxină
<i>C. difficile</i>	Colită pseudomembranoasă/diaree-asociată antibioterapiei	Toxină A și B
<i>C. perfringens</i>	Tipul A cauzează gangrenă gazoasă	Histotoxic
<i>C. novyi</i>	Tipul A cauzează gangrenă gazoasă	Histotoxic
<i>C. septicum</i>	Gangrenă gazoasă	Histotoxic
<i>C. histolyticum</i>	Gangrenă gazoasă	Histotoxic
<i>C. sordellii</i>	Gangrenă gazoasă	Histotoxic

6.1.1.1. *Clostridium botulinum*

C. botulinum este larg răspândit în sol și în mediu și produce una dintre cele mai puternice toxine cunoscute, provocând botulism. Este un bacil mobil, strict anaerob, cu o creștere optimă la 35°C, deși unele tulpini pot crește la temperaturi de 1-5°C. Sporii ovali subterminali sunt foarte rezistenți, persistând chiar și după fierbere la 100°C timp de câteva ore. Sporii sunt distruși de căldura umedă la 120°C timp de 5 minute.

Patogenie

Toxinele A până la G au efecte farmacologice identice, deși au antigeni diferiți. Toate pot cauza patologii, dar cele mai comune sunt A, B și E. Pacientul cu botulism suspectat trebuie să primească anticorp specific tipului de toxină.

Tipuri de botulism

Botulism alimentar: toxina preformată este ingerată din alimente (pește, carne și legume, în special cele conservate acasă și miere). Alimentele pot părea nealterate. Toxina botulinică este absorbită din tractul gastrointestinal și blochează eliberarea de acetilcolină în sistemul nervos periferic. Simptomele inițiale includ greață, vărsături, vedere dublă și ptoză bilaterală (din cauza afectării mușchilor oculomotori), urmate de pierderea progresivă a funcției motorii, cu paralizie flască descendentă, vorbirea și deglutiția devenind dificile. Botulismul este fatal în 5-10% din cazuri, de obicei din cauza insuficienței cardiace sau respiratorii.

Botulismul de plagă: produce un tablou clinic similar, dar este cauzat de eliberarea de toxină ca urmare a multiplicării microorganismului la nivelul plagi. Focare și cazuri sporadice apar la utilizatorii de droguri injectabile.

Botulismul intestinal: este cauzat de proliferarea organismului în intestin și producția de toxină in vivo.

Botulismul infantil: apare sub formă de „sindromul copilului flască”, de obicei la copiii sub 6 luni, deoarece intestinul lor nu este încă rezistent la colonizare.

Diagnostic

În cazul unei suspiciuni de botulism, se urmărește identificarea toxinei în sânge (prelevat înainte de administrarea antitoxinei), materii fecale, vomă și în probele de alimente.

Tratament

Pacientul va necesita îngrijire în secția de terapie intensivă pentru suportul funcțiilor vitale. Este disponibilă o antitoxină polivalentă pentru neutralizarea toxinei nefixate. În botulismul alimentar, toxina neabsorbită trebuie eliminată din stomac și tractul gastrointestinal. În botulismul de rană, se administrează benzilpenicilină și metronidazol și se efectuează debridarea chirurgicală pentru a reduce încărcătura bacteriană și producția de toxină. Antibioticele nu sunt recomandate pentru botulismul alimentar sau intestinal.

Profilaxie

- Antitoxina botulinică este eficientă în reducerea severității simptomelor dacă este administrată devreme în cursul bolii,
- Debridarea excizională chirurgicală și terapia cu antibiotice sunt de asemenea importante în botulismul de plagă,
- Conservarea alimentelor acasă este de evitat,
- Nu se administrează miere sugarilor.

6.1.1.2. *Clostridium tetani*

Sporii de *C. tetani* supraviețuiesc în sol și în tractul gastrointestinal al animalelor. Transmiterea are loc de obicei prin introducerea sporilor în răni deschise (în special la utilizatorii de droguri injectabile), pacienți cu intervenții chirurgicale recente, pacienți cu infecții ale urechii (tetanos otogenic) și nou-născuți după tăierea cordonului ombilical (tetanos neonatal). *C. tetani* produce exotoxinele tetanospasmină (neurotoxină puternică care difuzează în sistemul nervos central și provoacă boala localizată sau generalizată) și tetanolizină (hemolizină sensibilă la oxigen).

Patogenie

Tetanosul localizat implică rigiditate musculară și spasme dureroase în apropierea locului răni. Simptomele tetanosului generalizat sunt rezumate de ROAST (rigiditate, opistotonus, disfuncție autonomă, spasme, trismus).

Diagnostic

Tetanosul este un diagnostic clinic. Testele microbiologice care susțin diagnosticul includ:

- izolarea *C. tetani* de la locul infecției. *C. tetani* este un anaerob obligatoriu, mobil, care produce clasic spori terminali în formă de „băț de tobă”. Este Gram-pozitiv și produce un film subțire pe agar cu sânge îmbogățit, datorită mobilității prin flageli peritrihi,
- prezența toxinei tetanice în ser,
- niveluri scăzute/absente de anticorpi împotriva toxinei tetanice.

Tratament

Constă în administrarea de imunoglobulină tetanică și antimicrobiene, inclusiv metronidazol sau penicilină precum și debridarea rănii. Vaccinarea cu toxoid tetanic după recuperare este importantă pentru a preveni episoadele viitoare.

Profilaxie

Pentru copii:

- Vaccinul hexavalent - difteric, tetanic, pertussis, hepatitic B, poliomieltic inactivat (DTPa-VPI-Hep B) - se administrează la 2, 4 și 11 luni, cu intervale specifice între doze,
- Vaccinul tetravalent DTPa-VPI se administrează la 6 ani,
- Vaccinul trivalent DTPa rapel la vârsta de 14 ani.

Pentru adulți:

- Vaccinul antitetanos are o valabilitate de 10 ani după doza administrată la vârsta de 14 ani,
- Se recomandă rapel la fiecare 10 ani pentru menținerea imunității împotriva tetanosului,
- Medicul infecționist poate recomanda vaccinul în caz de accidente cu risc crescut de tetanos.

6.1.1.3. Clostridiile gangrenei gazoase

Acești bacili gram pozitivi, sporulați, anaerobi sunt ubicuitari și fac parte din flora saprofită umană. Infecțiile pielii și țesuturilor moi cu acești germeni apare frecvent după traumatisme. Acestea includ contaminarea simplă a plăgilor traumatice, celulita anaerobă, fasciita cu sau fără manifestări sistemice și mionecroza anaerobă.

Organismele care cauzează cel mai frecvent aceste infecții sunt *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum* și *Clostridium histolyticum*, deosebindu-se prin toxina produsă.

Patogenie

C. septicum este principala cauză a gangrenei gazoase spontane asociate cu anomalii gastrointestinale, cum ar fi cancerul de colon. *C. perfringens* și *C. histolyticum* sunt mai des implicate în infecțiile post-traumatice.

Clostridium sordellii, un patogen rar, a fost raportat ca fiind responsabil pentru sindromul de șoc septic și gangrena gazoasă a uterului după avort indus cu mifepristonă orală și misoprostol vaginal. De asemenea, *Clostridium sordellii* este în creștere în rândul utilizatorilor de heroină injectabilă, cu dezvoltarea miozitei supurative, manifestată prin durere locală, fluctuente și crepitații. Acest organism a fost raportat mai frecvent ca fiind cauza infecțiilor profunde ale țesuturilor asociate cu nașterea și infecțiile după proceduri ginecologice, inclusiv avorturi septice, care pot duce la gangrenă gazoasă a uterului.

Celulita anaerobă este o infecție localizată a pielii și țesuturilor moi adiacente, cauzată de clostridii singure sau împreună cu alte microorganisme. Evoluează lent și poate provoca durere locală și edem inflamator. Gazul prezent în plăgi poate fi detectat cu ușurință, infecțiile netratate pot progresa către fascii și mușchi, ducând la afectare sistemică severă.

Celulita și fasceita diseminată pot fi cauzate și de clostridii, însoțite de toxicitate sistemică severă și fără mionecroză. Simptomele debutează brusc și progresează rapid, cu supurație în țesuturi moi. Crepitațiile subcutanate sunt prezente, iar durerea nu este intensă. Tratamentul agresiv este necesar, dar prognosticul este adesea nefavorabil.

Gangrena gazoasă (mionecroza clostridiană) apare atunci când clostridiile invadează țesutul muscular, de obicei de la o zonă traumatizată anterior. Este frecventă în traumatisme severe și intervenții chirurgicale, mai ales în condiții de anaerobioză. Simptomele apar rapid, cu durere localizată, edem și exudat hemoragic. Evoluția este rapidă, cu secreții abundente și miros dulceag. Diagnosticul precoce și tratamentul prompt sunt esențiale pentru supraviețuire. În absența tratamentului, infecția progresează rapid, ducând la necroză și deces. Rareori, gangrena gazoasă poate apărea fără traumatisme cutanate recente, cu leziuni buloase și crepitații subcutanate, evoluând rapid și nefavorabil către mionecroză.

Diagnostic de laborator

Pentru identificarea clostridiilor implicate în infecții de plagă se recoltează secreții și țesut de la nivelul leziunii. La examinarea directă se observă o secreție cu miros fetid iar pe frotiu se evidențiază bacili gram pozitivi scurți. Cultivarea se face pe mediu agar-sânge iar identificarea pe baza caracterelor morfotictoriale și de patogenitate.



Figura 26. *Clostridium spp* pe mediu agar-sânge

Clostridiile implicate în infecțiile de plagă sunt sensibile la eritromicină, ampicilină, penicilină G, metronidazol, cefoxitină și rezistente la tetraciclină.

6.1.1.4. *Clostridium difficile*

Este regăsit la nivelul florei intestinale în mod normal fiind responsabil de producerea a două toxine, cunoscute ca toxina A și toxina B. Toxina A este o enterotoxină care crește secreția de fluide și provoacă inflamații în mucoasa intestinală. Toxina B este de aproximativ 1000 de ori mai citotoxică decât toxina A în testele de laborator și acționează în sinergie cu aceasta. Deși majoritatea tulpinilor de *Clostridium difficile* implicate în boală produc toxina A, s-a descoperit recent că unele tulpini secretă doar toxina B. Infecția cu *Clostridium difficile* poate provoca o gamă variată de condiții clinice, de la purtător asimptomatic și diaree ușoară autolimitantă până la colită pseudomembranoasă și colită fulminantă. Cele mai severe complicații includ megacolonul toxic, perforația de colon și peritonita.

Diagnosticul de laborator prin coprocultură se efectuează din scaunul recoltat, care este însămânțat pe medii selective, cum ar fi cycloserine-cefoxitin-fructose-agar. Pe acest mediu, coloniile sunt plate, gri, strălucitoare cu margini neregulate. Identificarea se bazează pe caracteristicile culturale și morfo-tinctoriale, iar confirmarea speciei se face prin teste biochimice. Detecția citotoxinei se efectuează prin teste de citotoxicitate in vitro pe culturi celulare sau prin identificarea enterotoxinei prin teste imunologice.

Tratamentul infecției cu *Clostridium difficile* implică mai multe etape, inclusiv întreruperea antibioticelor care ar fi putut declanșa infecția și administrarea de antibiotice specifice cum sunt:

- Metronidazol utilizat în cazuri ușoare până la moderate,
- Vancomicină considerat tratamentul de primă linie pentru cazurile moderate până la severe,
- Fidaxomicină reprezintă o alternativă pentru cazurile severe sau recidivante.

Tratamente suplimentare pentru cazurile severe sau recidivante:

- Transplant de microbiotă fecală pentru pacienții cu infecții recurente. Procedura implică transplantul de bacterii intestinale sănătoase din scaunul unui donator,
- Bezlotoxumab - un anticorp monoclonal care se poate utiliza împreună cu antibioticele pentru a reduce rata de recurență,
- Suport de hidratare și electroliți esențială pentru pacienții cu diaree severă pentru a preveni deshidratarea.

Prevenirea răspândirii infecției se face prin igienă corespunzătoare, curățarea și dezinfectarea suprafețelor și izolarea pacienților infectați.

Tratamentul specific poate varia în funcție de gravitatea infecției și de răspunsul pacientului la terapie.

6.2. MICROORGANISME ANAEROBE ENDOGENE ASPORULATE

Microorganismele anaerobe endogene nesporulate sunt bacterii care trăiesc în mod natural în corpul uman, în special în intestinul gros, tractul genital, cavitatea bucală, pe piele și nu formează spori. Aceste bacterii sunt importante pentru sănătatea umană, dar pot deveni patogene în anumite condiții.

Printre microorganismele care colonizează pielea și mucoasele regăsim bacilii gram pozitivi, nesporulați, oportuniști patogeni reprezentați de genurile *Actinomyces* și *Propionibacterium*.

6.2.1. Genul *Actinomyces*

Genul *Actinomyces* are un rol dublu în contextul uman, fiind parte a microbiotei normale dar având și potențial patogen în anumite condiții. Cuprinde bacterii gram-pozitive, filamentare care formează hife ramificate, asemănătoare ciupercilor, de unde și denumirea de „actino”, care sunt în general strict anaerobe, dar cuprinde și unele specii care pot tolera prezența unei cantități mici de oxigen (microaerofile). Aceste bacterii fac parte din flora normală a cavității bucale, tractului gastrointestinal și genitourinar la oameni și animale.

Specii importante

- *Actinomyces israelii* - cea mai frecvent implicată specie în actinomicoză umană;
- *Actinomyces naeslundii* - asociată frecvent cu infecțiile dentare;
- *Actinomyces odontolyticus* - implicată în carii dentare și infecții orale.

Infecția cauzată de bacterii din genul *Actinomyces*, cel mai frecvent de *Actinomyces israelii*, se manifestă prin formarea de abcese cronice, care pot drena prin tracturi fistuloase. Localizările obișnuite sunt la nivel cervicofacial, toracic și abdominal.

- Actinomicoza cervicofacială - cea mai comună formă, adesea asociată cu infecții dentare sau traume la nivelul guri;

- Actinomicoza toracică - apare prin inhalarea bacteriilor sau extensia infecției cervicofaciale;
- Actinomicoza abdominală - poate apărea după intervenții chirurgicale abdominale sau traumatisme.

Diagnostic și tratament

Diagnosticul actinomicozei se bazează pe identificarea bacteriilor *Actinomyces* în culturi, pe medii speciale în condiții de anaerobioză cultivate timp de 1-2 săptămâni. În funcție de specie apar în colorații diferite: albe, roz, gri, roșii, galbene.

Tratamentul implică de obicei utilizarea antibioticelor pe termen lung, în special penicilină. În cazurile severe, poate fi necesară intervenția chirurgicală pentru drenarea abceselor și debridarea excizională a țesutului necrotic.

6.2.2. Genul *Propionibacterium*

Propionibacterium este o bacterie gram-pozitivă, anaerobă, de formă bacilară, cunoscută pentru capacitatea ei de a sintetiza acid propionic cu ajutorul enzimei transcarboxilază.

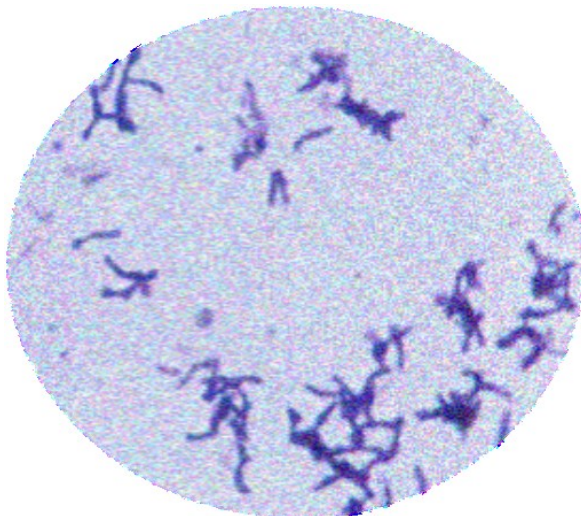


Figura 27. *Propionibacterium acnes* coloratie gram

Aceste bacterii sunt paraziți facultativi și comensali la oameni și animale, regăsindu-se la nivelul glandelor sudoripare, glandelor sebacee și în alte regiuni ale pielii. S-a demonstrat că *Propionibacterium* este cel mai frecvent gen de microorganism asociat cu pielea umană.

Membrii genului *Propionibacterium* sunt folosiți pe scară largă în producția de vitamina B₁₂, compuși tetrapirrol, acid propionic și în industriile probiotice și brânzeturilor. De exemplu, tulpina *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* este utilizată în fabricarea brânzeturilor pentru că crează bule de CO₂, formând găurile rotunde specifice ("ochiuri") în brânză.

Patogenie

Cutibacterium acnes (anterior cunoscută sub denumirea de *Propionibacterium acnes*) este o bacterie comensală, prezentă în mod obișnuit pe pielea umană. Deși inofensivă în majoritatea cazurilor, această bacterie poate deveni patogenă în anumite condiții, contribuind la dezvoltarea bolilor infecțioase, cea mai frecventă fiind acneea vulgară.

Acneea vulgară este o afecțiune inflamatorie cronică caracterizată prin blocarea unităților pilosebacee, ceea ce duce la apariția unor leziuni inflamatorii (papule, pustule, noduli) și neinflamatorii (comedoane). Leziunile pot fi localizate pe față, gât, piept și alte zone bogate în glande sebacee.

Deși *C. acnes* colonizează pielea majorității indivizilor fără a provoca leziuni, aceasta devine patogenă în prezența unor condiții favorabile, cum ar fi creșterea producției de sebum, hiperkeratinizarea foliculară și modificările microbiotei locale.

Mecanisme patogenice

În mod normal, *C. acnes* rămâne localizată în comedoane (blocaje ale foliculilor sebacei) și se dezvoltă inițial sub forma micro-comedoanelor, invizibile cu ochiul liber. Acestea pot progresa în:

- comedoane închise (puncte albe)
- comedoane deschise (puncte negre)
- ruptura comedoanelor și inflamația dermică.

Comedoanele se pot rupe, eliberând material folicular în dermă, ceea ce declanșează o reacție inflamatorie. În trecut, se considera că această ruptură era un efect indirect al metabolismului grăsimilor de către bacterii. Cercetările

recente au demonstrat însă implicarea directă a *C. acnes*, care produce enzime precum:

- Proteaze – degradează proteinele structurale ale epitelului,
- Hialuronidaze – distrug matricea extracelulară,
- Neuraminidaze – contribuie la fragilizarea țesuturilor.

Aceste enzime subțiază epiteliul folicular, favorizând ruptura comedoanelor și eliberarea conținutului inflamator în dermă.

Pe lângă acțiunea mecanică, *C. acnes* produce factori imunologici care joacă un rol cheie în patogeneza acneei:

- induce eliberarea de citokine proinflamatorii (de exemplu, interleukine)
- activează factori chemotactici, atrăgând neutrofile și alte celule inflamatorii
- stimulează răspunsul imun înăscut și adaptativ al gazdei.

Acneea vulgară este o afecțiune complexă, în care *C. acnes* acționează ca un factor patogen major, dar doar în prezența unor condiții propice. Înțelegerea mecanismelor prin care această bacterie contribuie la dezvoltarea leziunilor inflamatorii oferă perspective pentru tratamente mai eficiente, orientate spre țintirea directă a activității bacteriene și reducerea inflamației.

Tratamentul local al acneei se face cu benzoil peroxid și cu chimioterapice orale în cazul acneei persistente.

Tot din cadrul microorganisme anaerobe endogene asporulate face parte și familia *Bacteroidaceae*, însumând 20 de genuri întâlnite în flora comensală a tractului digestiv și urogenital. Cei mai frecvent implicați în patologie sunt *genurile Bacteroides și Fusobacterium*.

6.2.3. Genul *Bacteroides*

Genul Bacteroides cuprinde bacterii gram-negative, anaerobe, sau aerotolerante unele specii, de formă bacilară. Aceste microorganisme obțin energie prin fermentarea carbohidraților și a proteinelor și sunt parte integrantă a microbiotei normale a tractului gastrointestinal uman și animal, având un rol esențial în digestie și sănătatea intestinală ajutând la prevenirea colonizării de către agenți patogeni.

Membrii genului *Bacteroides* sunt comensali predominanți în tractul gastrointestinal, contribuind la digestia complexă a carbohidraților și a proteinelor precum și la sinteza unor vitamine (vitamina K și unele vitamine din complexul B).

Importanță clinică

Deși sunt comensali normali, *Bacteroides* poate cauza infecții oportuniste dacă ajung în locuri sterile ale corpului, cum ar fi cavitatea peritoneală, în urma unor intervenții chirurgicale, traumatisme sau boli care perturbă bariera intestinală putând cauza abcese intra-abdominale, pelvine, cerebrale și pulmonare.

Diagnostic și tratament

Bacteroides spp. sunt cunoscute pentru dezvoltarea rezistenței la antibiotice, ceea ce complică tratamentul infecțiilor cauzate de aceste bacterii.

Identificarea infecțiilor cu *Bacteroides* implică cultivarea bacteriilor în medii anaerobe și utilizarea tehnicilor moleculare, cum ar fi PCR și secvențierea genetică.

Tratamentul infecțiilor cu *Bacteroides* necesită adesea antibiotice specifice. Metronidazolul este frecvent utilizat datorită eficacității sale împotriva bacteriilor anaerobe. Alte opțiuni includ carbapenemele și combinațiile de beta-lactamine cu inhibitori de beta-lactamază.

În cazurile de abcese, poate fi necesară drenarea chirurgicală a acestora.

Specii importante

- *Bacteroides fragilis* - cea mai cunoscută specie, asociată frecvent cu infecții intra-abdominale și alte infecții severe. Este de asemenea notabilă pentru capacitatea sa de a rezista la mai multe clase de antibiotice.
- *Bacteroides thetaiotaomicron* - joacă un rol important în digestia carbohidraților complexi și în dezvoltarea sistemului imunitar intestinal.

Genul *Bacteroides* este esențial pentru sănătatea umană, fiind un component major al microbiotei intestinale și având un rol important în digestie și protecția împotriva patogenilor, dar poate cauza infecții severe în anumite condiții.

6.2.4. Genul *Fusobacterium*

Fusobacterium este un bacil anaerob, gram-negativ, asporulat. Celulele sunt subțiri, în formă de tijă și au capete ascuțite.

Tulpinile de *Fusobacterium* pot cauza diverse infecții cum sunt bolile parodontale, sindromul Lemierre, infecții orale ale capului și gâtului, cancer colorectal și ulcere cutanate.

Deși sursele anterioare indicau că *Fusobacterium* face parte din flora normală a orofaringelui uman, în prezent se consideră că aceste bacterii trebuie tratate întotdeauna ca patogene. Au fost identificate treisprezece tulpini de *Fusobacterium*, dintre care cea mai frecvent întâlnită este *F. nucleatum*, urmată de *F. necrophorum*, care poate afecta și animalele, în special bovinele.

Relevanța clinică

Fusobacterium este frecvent asociat cu colita ulcerativă. Studiile asupra cancerului de colon au demonstrat o supra-reprezentare a *Fusobacterium* atât în fecalele pacienților, cât și în țesutul tumoral. De asemenea, s-a observat o creștere a *Fusobacterium* la persoanele infectate cu HIV și la cele cu recuperare imună suboptimă, comparativ cu pacienții neinfecțati și cu răspunsuri imune optime.

Specii patogene predominante

F. nucleatum este cea mai frecventă specie de *Fusobacterium* întâlnită la oameni. Se găsește adesea în cavitatea orală și în tractul intestinal. Printre legăturile sale patogene se numără prezența sa în lichidul amniotic asociat cu travaliu prematur spontan, fără cauză evidentă. Alte legături includ asocierea sa cu boli inflamatorii orale, cancere precum cel pancreatic, oral și colorectal și infecții ale capului și gâtului. *F. nucleatum* poate agrava sau iniția cancerul colorectal prin stimularea altor bacterii, precum *Streptococcus*, *Campylobacter spp.* și *Leptotrichia*. *F. nucleatum* poate fi detectat în țesuturi,

ADN genomic și fecale, folosind metode precum PCR și hibridizare in situ cu fluorescență.

F. necrophorum este un patogen comun în diagnosticarea abcesului peritonsilar și este mai prevalent decât alte bacterii în acest tip de infecție. Este, de asemenea, cea mai frecventă cauză a sindromului Lemierre și nu face parte din flora orală normală la oameni.

Simptome și tratament

Infecțiile cu *Fusobacterium* cauzează adesea simptome clinice precum febră, inflamație și stare generală de rău. Tratamentul infecției implică administrarea de antibiotice pe o perioadă de 2 săptămâni, sub formă de penicilină sau alte variante, precum și folosirea antibioticelor cu spectru pe floră anaerobă, cum ar fi clindamicina și metronidazolul.

7. COCII ANAEROBI

Clasificare

Cocii gram-pozitivi strict anaerobi fac parte din familia *Peptococcaceae*, care include genurile *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* și *Sarcina*. Dintre acestea, doar *Peptococcus* și *Peptostreptococcus* sunt frecvent întâlnite în probele umane. În ceea ce privește cocii gram-negativi anaerobi, *genul Veillonella* este singurul izolat în mod regulat din material uman.

O reevaluare recentă a structurii peretelui celular, a compoziției acizilor grași și a proteinelor celulare a condus la reclasificarea *Peptococilor*. Astfel, speciile *P. asaccharolyticus*, *P. indolicus*, *P. prevoti* și *P. magnus* au fost grupate în *genul Peptostreptococcus*, lăsând doar specia *P. niger* în *genul Peptococcus*.

Cocii gram-negativi anaerobi din *genul Veillonella* sunt împărțiți în șapte specii: *V. parvula*, *V. atypica*, *V. criceti*, *V. caviae*, *V. dispar*, *V. ratti* și *V. rodentium*.

Importanță clinică

Cocii anaerobi sunt adesea implicați în infecții mixte, cum ar fi sepsisul dentar, abcesele cerebrale sau pulmonare, infecțiile rănilor și ale țesuturilor moi. De asemenea, aceștia sunt asociați cu fasciita severă, cunoscută sub denumirea de „gangrena sinergică a lui Melany”, care este o infecție mixtă de coci anaerobi, streptococi facultativi și posibil, *S. aureus*. Infecțiile cu *Veillonella* sunt rare în contextul uman.

Izolare și identificare

Cocii anaerobi se dezvoltă ușor pe medii convenționale de geloză-sânge, dar și pe cele îmbogățite cu acid nalidixic, neomicină sau gentamicină, acestea fiind utile ca medii selective.

8. BACTERII ATIPICE

8.1. GENUL *CHLAMYDIA*

Chlamydia este un gen de bacterii patogene gram-negative, care sunt paraziți intracelulari obligatoriu. Infecțiile cu *Chlamydia* reprezintă cele mai frecvente boli bacteriene cu transmitere sexuală la oameni și sunt principala cauză de cecitate infecțioasă la nivel global.

Datorită ciclului său de dezvoltare unic, *Chlamydia* a fost clasificată taxonomic într-un ordin separat, *Chlamydiales*, din familia *Chlamydiaceae*.

Acest gen include specii precum *Chlamydia trachomatis* (patogen uman), *Ch. suis* (care afectează porcii) și *Ch. muridarum* (care afectează șoarecii și hamsterii). La oameni, cele mai frecvent contractate specii sunt *Ch. trachomatis*, *Ch. pneumoniae*, *Ch. abortus* și *Ch. psittaci*.

Ciclul de dezvoltare

Chlamydia există sub formă de corpuscul elementar, care este particula infecțioasă non-replicativă și corpuscul reticulat, care este implicat în replicarea și creșterea bacteriei. Corpusculul elementar este acoperit de un perete celular rigid și are un diametru de 0,25-0,30 μm. Acesta se transformă într-un corpuscul reticulat, mai mare și fără perete celular, în care are loc transcrierea ADN-ului și divizarea celulară. După divizare, corpusculul reticulat se transformă înapoi în corpuscul elementar și este eliberat prin exocitoză.

8.1.1. *Chlamydia pneumoniae*

Este un microorganism patogen care afectează sistemul respirator și poate infecta persoane de toate vârstele. Este recunoscut ca o cauză frecventă a pneumoniei acute dobândite în comunitate și poate duce la apariția focarelor epidemice în comunități închise.

Epidemiologie

Infecțiile cu *Chlamydia pneumoniae* sunt frecvente în copilărie și adolescență, astfel că până la vârsta adultă, circa 80% din populație a fost deja

expusă acestei bacterii, care poate supraviețui pe suprafețe până la 30 de ore. Infecțiile respiratorii asimptomatice se întâlnesc la 2-5% dintre copii și adulți.

Deși infecțiile cu *Chlamydia pneumoniae* nu urmează un tipar sezonier evident, incidența acestora tinde să crească ciclic, la fiecare patru ani. Această bacterie este responsabilă pentru 8% dintre cazurile de pneumonie în America de Nord, 7% în Europa, 6% în America Latină și 5% în Asia și Africa. Cele mai mari rate de infecție se observă în populația infantilă și la persoanele de peste șaptezeci de ani. Co-infecțiile cu *Streptococcus pneumoniae* și *Mycoplasma pneumoniae* sunt frecvente.

Patogenie

Mulți dintre cei infectați cu *Ch. pneumoniae* nu prezintă simptome sau au manifestări ușoare, precum fatigabilitate, febră moderată, cefalee, rinoree, disfonie, tuse persistentă, congestie nazală, odinofagie.

Infecția poate avansa spre tractul respirator inferior, determinând apariția bronșitei sau a pneumoniei. Persoanele afectate de pneumonia cauzată de *Ch. pneumoniae* au un risc crescut de a dezvolta laringită. Perioada de incubație a acestei infecții este de 3-4 săptămâni, iar simptomele pot persista câteva săptămâni după debut.

Diagnostic

- **Anticorpi IgG, IgA:** infecția primară este marcată de un răspuns imunologic de tip IgM în primele 2-4 săptămâni, urmat de un răspuns IgA și IgG după 6-8 săptămâni. În cazurile de reinfecție, IgM este rar detectabil, însă nivelurile de IgG și IgA cresc rapid,
- **Testarea ADN** pentru *Chlamydia pneumoniae*: testele moleculare, cum ar fi PCR, permit detectarea rapidă a ADN-ului bacterian în secrețiile respiratorii, facilitând astfel un tratament antibiotic precoce,
- **Testarea sindromică:** identificarea rapidă și precisă a agenților patogeni respiratori este esențială pentru stabilirea unui diagnostic corect, aplicarea unui tratament adecvat și prevenirea răspândirii infecției.

8.1.2. *Chlamydia trachomatis*

Este o bacterie care se transmite prin contact sexual sau de la mama infectată la făt în timpul nașterii. Infecția poate afecta diverse părți ale corpului, incluzând ochii, plămânii (la nou-născuți), organele genitale și zona anală, iar majoritatea izolațiilor genitale aparțin imunitipurilor D până la K.

Simptomatologie

- Bărbați: infecția este adesea asimptomatică. Când apar simptome, acestea includ disurie și secreții de la mucoid la purulent, mai abundente dimineața. Pot apărea sindroame clinice precum epididimită, proctită, conjunctivită și sindromul Reiter.
- Femei: infecția poate fi asimptomatică sau poate provoca simptome precum secreție mucopurulentă și dureri pelvine. Sindroamele clinice asociate include sindromul uretral acut, bartholinită, cervicită, displazie cervicală, boală inflamatorie pelvină, conjunctivită, perihepatită (aderențe în „corzi de vioară” între ficat și peretele abdominal) și artrită.

Infecții asociate

- Boala inflamatorie pelvină- femeile pot prezenta durere și sensibilitate în zona abdomenului inferior, colului uterin, uterului și anexelor, pirexie, frisoane și leucocitoză.
- Conjunctivită neonatală- nou-născuții pot dezvolta conjunctivită purulentă la 5-17 zile după naștere. Aceasta poate duce la cicatrizarea corneei dacă nu este tratată în primele două săptămâni.
- Pneumonită infantilă- simptomele includ tuse, dispnee și pirexie, la 3-16 săptămâni de la naștere.
- Limfogranulom veneric- se manifestă inițial printr-o leziune primară, nedureroasă, care ulcerează și distruge țesutul subiacent. Vindecarea apare cu cicatrizare și poate duce la obstrucția uretrei și aderențe la nivel vaginal. Implicarea limfatică este comună în zona de drenaj a leziunii primare.

Adenopatia inghinală poate dezvolta buboane, care sunt umflături ferme, lobulate, cu zone albastru-roșiatic aderente.

- Trahom ocular- se caracterizează prin conjunctivită și cicatrizarea conjunctivei, care duce la trichiiazis, entropion și poate cauza orbire. Imunotipurile A, B, Ba și C sunt asociate cu trahomul ocular.

Diagnostic de laborator

Diagnosticul implică cultura de țesuturi, teste cu anticorpi monoclonali și ELISA, care sunt rapide și precise. Trei metode aprobate în prezent de FDA (Agenția pentru Alimente și Medicamente) includ reacția în lanț a polimerazei (PCR), reacția în lanț a ligazei (LCR) și amplificarea mediată de transcripție (TMA). Testele de amplificare sunt foarte sensibile, având și rezultate bune pentru specificitate. În prezent, costul ridicat al acestor teste limitează utilitatea lor la aplicații de screening specifice.

Epidemiologie

Infecțiile cu *Chlamydia* sunt cele mai prevalente dintre bolile cu transmitere sexuală în Statele Unite, cu 3-4 milioane de infecții estimate anual. Acestea sunt responsabile pentru aproximativ 50% din uretritele nongonococice și jumătate din cazurile de epididimită acută. La femei, *Chlamydia* este o cauză principală a cervicitei mucopurulente și boală inflamatorie pelvină, precum și a infecțiilor la sugari, sarcinilor ectopice și sindromului Fitz-Hugh-Curtis. Limfogranulomul veneric este endemic în Africa, India, Asia de Sud și America de Sud.

Mod de transmitere

Infecțiile genitale și orale se transmit aproape întotdeauna sexual. Infecțiile la nou-născuți se transmit de obicei la naștere, iar trahomul este adesea transmis prin autoinoculare. Perioada în care o persoană rămâne contagioasă variază și poate fi nedefinită până la inițierea unui tratament adecvat.

Perioada de incubație

- Infecția genitală adultă: 7-21 zile
- Boala inflamatorie pelvină: femeile rămân asimptomatice de obicei până la următoarea perioadă menstruală
- Conjunctivită la sugari: 5-17 zile după naștere
- Pneumonită infantilă: 3-16 săptămâni de la naștere
- Limfogranulom veneric: 7-12 zile, dar poate varia între 1 și 12 săptămâni

Tratament

Tratamentul partenerilor sexuali este esențial pentru a preveni răspândirea și reinfecția. Tetraciclinele sunt tratamentul de elecție, iar macrolidele au activitate similară. Eritromicina este administrată femeilor însărcinate, nou-născuților și copiilor. Prevenirea conjunctivitei neonatale și pneumonitei infantile include tratamentul mamelor infectate în trimestrul al treilea de sarcină și al partenerilor lor. Se recomandă profilaxia oculară a nou-născutului cu unguente de tetraciclină 1% sau eritromicină 0,5%.

8.1.3. *Chlamydia psittaci*

Este agentul cauzator al psitacozei, cunoscută și sub denumirea de "Febra papagalului". Această infecție este transmisă de la păsările infectate la oameni, provocând simptome sistemice și pneumonie. Bacteria *Chlamydia psittaci* se întâlnește frecvent la papagali, peruși, porumbei, vrăbii, canari, găini și curcani.

Infecția apare, de obicei, atunci când o persoană inhalează praf provenit de la penele sau excrementele unei păsări infectate. Microorganismul poate fi transmis și prin mușcătura unei păsări infectate sau prin contactul cu saliva unei persoane infectate.

Patogeneză

Severitatea psitacozei depinde de vârsta pacientului și de extinderea afectării țesutului pulmonar. Simptomele constau în febră și frisoane, mialgii, cefalee, fatigabilitate, tuse seacă, dispnee.

Tratament

Tramantul constă în administrarea de antibiotice (tetraciclină, doxiciclină, eritromicină, azitromicină) timp de cel puțin 10 zile. Vindecarea poate necesita mai mult timp, în special în cazurile severe. În absența tratamentului, cazurile grave pot avea o rată a mortalității de până la 30%.

9. GENUL *MYCOPLASMA* ȘI *UREAPLASMA*

Micoplasmele sunt cele mai mici organisme capabile să se reproducă autonom. Acestea sunt procariote și aparțin clasei *Mollicutes* (din latină "piele moale"), fiind caracterizate prin absența peretelui celular. Sunt adesea pleomorfe, iar multe specii necesită steroli și acizi grași pentru dezvoltare. Deși majoritatea pot crește în medii artificiale, se dezvoltă optim în culturi de țesuturi. Din punct de vedere patologic, trei specii sunt importante pentru om: *Mycoplasma pneumoniae* (patogen al tractului respirator), *Mycoplasma hominis*, și *Ureaplasma urealyticum* (ambii fiind patogeni primari ai tractului genital).

Toți membrii familiei *Mycoplasmataceae* necesită steroli, care sunt în general adăugați sub formă de ser de cal în mediile de cultură.

Această familie include două genuri principale:

- *Mycoplasma*: folosește arginina și/sau glucoza.
- *Ureaplasma*: folosește urea.

În patologia genitală, mai sunt implicate cu o pondere mai mică și *Mycoplasma fermentans*, și specia recent descoperită, *Mycoplasma genitalium*. În plus, anumite specii, cum ar fi *Mycoplasma pirum* și *Mycoplasma penetrans*, provoacă îmbolnăvire la pacienții imunocompromiși diagnosticați cu SIDA.

Membrii genului *Ureaplasma* sunt cunoscuți ca tulpini „T” (de la "tiny", adică „mic”) datorită dimensiunilor reduse ale coloniilor lor pe medii solide, care necesită observare microscopică (15-30 μm). *Mycoplasma hominis* are tendința de a pătrunde în agar, prezentând un aspect asemănător unui „ou prăjit”, iar coloniile sale măsoară aproximativ 200-300 μm. Aceste organisme se reproduc prin diviziune binară și alungire, formând filamente care ulterior se fragmentează în corpuri cocoide.

Patogenie

Mycoplasma hominis

- Pielonefrită
- Boală inflamatorie pelvină
- Febră post-partum (febră puerperală)

Ureaplasma urealyticum

- Uretrită non-gonococică

Complicații:

- Prostatită, epididimită
- Salpingită, endometrită

Tratament

Deoarece nu au perete celular, penicilinele și cefalosporinele sunt ineficace.

Antibioticele de alegere sunt:

- Tetraciclină (doar la adulți)
- Eritromicină
- Macrolide
- Chinolone
- Spectinomycină

Diagnostic de laborator

În vederea stabilirii diagnosticului de laborator se cultivă pe medii Friis, Hayflick, Chanock, se utilizează teste biochimice (colorare Giemsa modificată, colorare Dienes, test catalază-negativ) sau se apelează la teste serologice (teste de fixare a complementului, imunofluorescență).

Mycoplasma pneumoniae

Mycoplasma pneumoniae aderă la baza celulelor epiteliale ciliate ale tractului respirator (proteina P1). Eliberează peroxid de hidrogen prin activitatea sa metabolică, ceea ce duce la pierderea activității cililor respiratori și distrugerea stratului epitelial.

Infecția se transmite prin aerosoli, are o perioadă de incubație de 2-3 săptămâni, afectând cu preponderență persoanele tinere între 5-15 ani. La fiecare 4-8 ani apar noi epidemii.

Este asociată cu următoarele patologii:

- pneumonie atipică primară,
- traheobronșită,
- boală respiratorie a tractului superior,
- meningită neonatală.

Tabloul clinic include simptome ca: febră, cefalee și tuse seacă persistentă.

Diagnosticul de laborator

Se efectuează teste serologice cu identificarea anticorpilor circulanți folosind hemaglutinarea directă, imunofluorescența, ELISA sau PCR-ul.

Tratamentul se efectuează cu macrolide, tetraciclină și fluoroquinolone.

10. FAMILIA *RICKETTSIACEAE*

Rickettsiile patogene pentru om fac parte din familia *Rickettsiaceae*, ordinul *Rickettsiales* cu două genuri importante *Rickettsia* și *Coxiella*.

Reprezentanții cei mai importanți în patologie ai Genul *Rickettsia* sunt următoarele specii:

- *Rickettsia Akari*
- *Rickettsia Canada*
- *Rickettsia Conorii*
- *Rickettsia Montana*
- *Rickettsia Typhi* (*Rickettsia mooseri*)
- *Rickettsia Prowazekii*
- *Rickettsia Rickettsii*
- *Rickettsia Tsutsugamushi*

Genul *Coxiella* cuprinde ca specie *Coxiella Burnetti*, agentul febrei Q.

Rickettsiile sunt bacterii exigente cu habitat intracelular obligatoriu, având dimensiuni de aproximativ 0,3 μm pe 1-2 μm putând supraviețui doar o perioadă scurtă în afara unei gazde. Acestea sunt întreținute în natură prin cicluri ce implică rezervoare mamifere și vectori artropozi.

După P.F. Zdrodovski, rickettsiile, având pleomorfism foarte accentuat, pot fi reduse la 4 tipuri morfologice:

- tipul cocoid – (0,3-0,4μ)
- tipul de bacili scurți – (1-1,5μ)
- tipul de bacili lungi – (3-4μ)
- tipul filamentos, baciliform – (10-20μ).

Bolile rickettsiale includ:

- 1. Febra pătată Rocky Mountain(*R. Rickettsii*):** este cea mai virulentă febră pătată, având o mortalitate de 20% dacă nu este tratată. Incubația durează 2-14 zile, urmată de febră, mialgie și durere de cap. Erupția maculopapulară apare de obicei în zilele 3-5, începând de la mâini și poate deveni peteșială sau necrotică. Implicarea multisistemică severă este comună, inclusiv în plămâni, sistemul nervos și rinichi. Tratamentul include tetraciclină, cloramfenicol (preferat în sarcină) sau doxiciclină timp de 7 zile, continuând 2 zile după dispariția febrei.
- 2. Febra pătată mediteraneană, febra butonoasă(*R. Connori*):** este o afecțiune mai ușoară, debutul este cu febră, durere de cap și erupție cutanată generalizată. Mortalitatea este rară, dar severitatea variază în funcție de tulpină.
- 3. Febra africană a mușcăturilor de căpușă (*R. Africae*):** cauzează o boală ușoară cu febră, durere de cap, mialgie și limfadenopatie regională, dar cu erupție cutanată rară sau absentă.
- 4. Rickettioza variceliformă (*R. Akari*):** este o infecție rară provocată de bacteria *Rickettsia akari*, transmisă la oameni prin mușcătura căpușei de șoarece (*Allodermanyssus sanguineus*). Această boală este mai frecventă în zonele urbane și suburbane, unde sunt prezente coloniile de șoareci care servesc drept rezervoare pentru agentul patogen. Are o simptomatologie similară cu febra pătată mediteraneană, dar cu erupție veziculară asemănătoare varicelei.

Tratamentul pentru toate aceste febre este cu doxiciclină 100 mg de două ori pe zi timp de 5-7 zile.

5. Grupul tifosului include:

Tifosul epidemic, exantematic (*Rickettsia prowazekii*): apare în condiții de aglomerare, în special iarna și în zonele de război. Boala debutează brusc după o săptămână de incubație, cu febră, cefalee, mialgii urmate la 4

zile de o erupție maculopapulară, având totodată implicare neurologică cu comă, delir, stare confuzională și multisistemică cu tulburări circulatorii. Mortalitatea este de 20-50%. Tratamentul de elecție este doxiciclina, cu alternativa cloramfenicol.

Boala Brill-Zinsser este o recurență a infecției la persoanele cu imunitate compromisă, având o evoluție mai blândă. Se observă ușoare creșteri ale transaminazelor și anemie moderată în jumătate dintre cazuri.

Tifosul endemic, murin (*Rickettsia mooseri*): prezintă de obicei o simptomatologie mai ușoară comparabilă cu cea din tifosul epidemic dar mai puțin severă și durează doar 7-14 zile. Apare frecvent în zone portuare și este mai comun în Asia de Sud-Est, America de Sud sau Africa.

Scrub tifo (*Orientia tsutsugamushi*): afectează anual zeci de mii de persoane în regiunea Asia-Pacific, fiind transmis prin mușcătura larvelor de căpușe. Debutul bolii este brusc, cu febră, durere de cap, mialgie și uneori simptome gastrointestinale. Erupția poate fi maculopapulară sau veziculară. Tratamentul include doxiciclină, rifampicină, azitromicină sau cloramfenicol.

6. ***Coxiella burnetii*** este un agent patogen care provoacă **febra Q**, având o rezistență mare și putând fi transmis prin aerosol sau lapte infectat. Infecția se poate manifesta acut cu febră, pneumonie sau hepatită granulomatoasă, iar în formă cronică poate provoca endocardită. Diagnosticarea se face prin serologie, cu testare pentru anticorpi faza I și II, și tratamentul include doxiciclină sau cloramfenicol. În caz de endocardită, este necesară terapia combinată pe termen lung, posibil cu tetraciclină și rifampicină sau doxiciclină și hidroxiclorochină.

Diagnostic de laborator

Diagnosticul rickettsiilor se bazează în principal pe caracteristicile clinice și istoricul epidemiologic al pacientului. Prezența unei erupții tipice sau a unui escare sugerează diagnosticul. Izolarea culturilor se face de obicei în laboratoare de referință, folosind sânge sau țesuturi din biopsiile leziunilor cutanate, care trebuie congelate la -70°C . Rickettsiile pot fi izolate în animale de laborator mici sau ouă embrionate. Acestea sunt foarte infecțioase dacă sunt aerosolizate, cu cazuri fatale raportate în laborator.

Detectarea antigenului se face prin imunofluorescență directă a leziunilor cutanate în febrele pătată, cu o sensibilitate de aproximativ 70% și o specificitate aproape de 100%. Organismele sunt adesea localizate într-un vas de sânge aproape de centrul leziunii, deci biopsia ar trebui să includă această zonă.

Serologia nu este utilă în faza acută, dar este principalul mijloc de confirmare a diagnosticului. Anticorpii apar în jurul zilelor 7-10 după infecție. Diagnosticul necesită o creștere de 4 ori a titrului în probele convalescente, dar un titru unic mai mare de 1:64 este sugestiv pentru infecție (sensibilitate 95%). Majoritatea testelor nu pot diferenția între speciile din grupul febrei pătată. Testul de micro-imunofluorescență este cel mai sensibil și specific, dar necesită personal instruit și un microscop de fluorescență. Testele de aglutinare cu latex sunt disponibile pentru febra pătată *Rocky Mountain*, unde un test pozitiv unic confirmă diagnosticul, dar rareori sunt observate reacții pozitive în convalescență.

11. BACTERII SPIRALATE

Ordinul *Spirochaetales* cuprinde două familii de microorganism spirale pe care le regăsim în formă saprofită sau parazitară:

- Familia *Spirochaetaceae*, care include genul *Spirochaeta*, *Saprospira*, *Cristispira*.
- Familia *Treponemataceae*, care include genul *Leptospira*, *Borrelia*, *Treponema* cu un rol major în patologia umană.

Acești germeni sunt helicoidali și mobili, având corpul format din mai multe spire. Mișcarea lor este posibilă datorită unor fibrile dispuse pe toată lungimea corpului, între peretele celular și membrana externă. Peretele celular este elastic și format din glucide, lipide și polipeptide. Cu toate acestea, nu sunt rezistenți în mediul extern. Spirochetele saprofite le regăsim la nivelul solului, apei și în cavitățile naturale ale animalelor și omului. Cele patogene au dimensiuni cuprinse între 2-50μ, cu protoplasma răsucită, helicoidală, prezentând sau nu membrană celulară și având o modalitatea de înmulțire prin diviziune transversală.

11.1. GENUL *TREPONEMA*

Numele *Treponema* (Tr.) (din greacă trepo=răsucire, a învârti, și nema=fir) provine de la asemănarea cu un fir răsucit.

Primele identificări a acestui agent patogen au avut loc în 1905 când Schaudinn și Hoffmann izolează *Tr. Pallidum*, cercetările lor fiind continuate încă din anul următor de Landsteiner și Mucha prin utilizarea ultramicroscopului pentru analiza spirilului. În 1921 Noguchi descoperă *Tr. cuniculi* și alte treponeme saprofite de la nivelul cavității bucale și de pe organele genitale cum sunt *Tr. calligyrum*, *Tr. Genitalis*, *Tr. Mucosum*, *Tr. Microdentium* iar Castellani identifică *Tr. Pertenue* responsabil de producerea pianului.

Există patru tipuri de bacterii din genul *Treponema* familia *Spirochaetaceae* care pot provoca patogenitate la om: *Tr. pallidum subspecies pallidum*, ce cauzează sifilisul și trei tipuri de treponematoze non-veneriene, *Tr. pallidum spp. endemicum*-agent al bejelului, *Tr. pallidum spp. pertenue*-agent al pianului și *Tr. carateum* care este agentul etiologic al pinteii.

Din punct de vedere al formei, bacteriile din genul *Treponema* sunt similare, având aspectul unor bastonașe mobile și helicoidale văzute la microscopia în câmp întunecat sau cu contrast de fază utilizând colorații cu soluție Giemsa și nitrat de argint. Acestea sunt subțiri, având aproximativ 10 μm lungime și 0,15 μm lățime fiind formate dintr-un fascicul axial cu citoplasmă cilindrică și o membrană fină. Sunt foarte mobile și pot avea trei tipuri de mișcări: în jurul axului, de translație sau pendulare putând fii astfel deosebite de alte bacterii spiralate. Nu pot fi cultivate în laborator, dar rămân mobile în anumite medii îmbogățite timp de câteva zile la 35°C. Organismele rămân viabile și după înghețare, iar la 10°C se pot conserva timp de până la 3 luni. Mediul uscat și temperature mai mare de 60°C omoară treponemele. Toate aceste specii împărtășesc similitudini la nivelul structurii ADN-ului și sunt antigenic similare, ceea ce duce la rezultate pozitive la teste serologice pentru sifilis.

Factorii de virulență

Treponema pallidum subsp. pallidum prezintă capacitatea de a traversa membranele mucoase intacte și placenta, diseminându-se în întregul corp și infectând aproape orice sistem de organe. Proteinele de suprafață, hialuronidaza și fibronectina confer o virulență ridicată treponemelor.

De asemenea, s-a demonstrat că variația antigenică a proteinelor de suprafață celulară contribuie la abilitatea organismului de a evita răspunsul imun al gazdei și de a stabili o infecție persistentă.

Tr. pallidum produce trei tipuri diferite de antigene: cardiolipinul o haptenă lipidică care este comună între treponemele nepatogene, antigenul proteic de grup și antigenul poliozidic specifice treponemelor patogene.

Manifestări clinice

Transmiterea *Treponema pallidum subsp. pallidum* are loc în principal prin contact sexual direct cu o persoană care are o leziune sifilitică primară sau secundară activă. Organele genitale sunt siturile obișnuite de inoculare, iar sifilisul poate fi, de asemenea, transmis prin contact non-genital cu o leziune sau prin transmitere transplacentară de la mamă la făt. Cursul natural al sifilisului este împărțit în etape primară, secundară și terțiară, bazate pe manifestările clinice. Coinfecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV)

poate modifica evoluția bolii. Sifilisul prezintă o gamă variată de manifestări clinice, motiv pentru care este numit și "marea imitatoare".

Etapă primară a sifilisului

După inoculare, spirochetele se multiplică rapid și se diseminează în ganglionii limfatici locali și în alte organe prin intermediul sângelui. Leziunea primară, cunoscută sub numele de șancru, apare între 10 și 90 de zile după infecție și este rezultatul unui răspuns inflamator la locul de inoculare. Șancrul este extrem de infecțios și poate fi găsit la nivelul pelvisului pe organele genitale, pe cervix sau peretele vaginal caz în care poate rămâne nedetectat deoarece nu este dureros. Inițial apare o eroziune, rotundă, circumscrisă, de culoare roșie fără supurație ce se vindecă spontan în 30-45 de zile fără cicatrice. Leziunea primară se caracterizează printr-o infiltrare perivasculară predominantă, în special cu limfocite, plasmocite și macrofage, împreună cu proliferarea endoteliului capilar și obstrucția capilarelor. *Tr. pallidum* poate fi identificat în șancru și în spațiile intercelulare, precum și în fibroblaști, plasmocite și în celulele endoteliale ale vaselor de sânge mici, în canalele limfatice și în ganglionii limfatici regionali. Fagocitoza microorganismelor de către macrofagele activate duce în cele din urmă la distrugerea acestora.

Etapă secundară a sifilisului

După apariția leziunii primare, între aproximativ 2 și 12 săptămâni, pacientul poate prezenta simptome secundare, precum febră, dureri de gât, limfadenopatie generalizată nedureroasă (prezentă în 85% din cazuri), cefalee vesperală, nevralgii, leziuni ale mucoaselor și erupții cutanate. Sifilidele papuloase pot apărea pe trunchi și membre, în timp ce cele erozive sunt mai frecvente pe mucoase, iar ulterior pot să apară și cele ulceratoase.

Leziunile secundare sunt extrem de infecțioase și se vindecă spontan, dar recidivează în timpul acestei etape secundare, care poate dura până la 2 ani. Aceste leziuni prezintă caracteristici histopatologice de hipercheratoză epidermică, proliferare capilară cu hipertrofia endoteliului în corionul superficial, papile dermice cu transmigrarea leucocitelor polimorfonucleare, iar în corionul mai profund, se observă o infiltrare perivasculară cu monocite, plasmocite și limfocite. Treponemele sunt întâlnite în multe țesuturi, inclusiv în umorile apoase ale ochiului și în lichidul cefalorahidian.

Invazia sistemului nervos central de către *T. pallidum* apare în cursul primelor săptămâni sau luni de infecție, iar modificările lichidului cefalorahidian sunt detectate la un procent semnificativ de pacienți în cursul stadiului secundar.

Hepatita clinică și glomerulonefrita membranoasă cu complexe imune sunt relativ rare, dar sunt manifestări recunoscute ale sifilisului secundar; teste hepatice modificate pot fi observate la mai mult de un sfert din pacienții cu sifilis timpuriu.

Etapa terțiară a sifilisului

După vindecarea etapei secundare, pacienții nu mai sunt contagioși, dar recidivele sunt posibile. Urmează perioada de sifilis latent, când manifestările clinice lipsesc. Simptomele sifilisului terțiar includ leziuni granulomatoase în piele și organe (gome), afectare a sistemului nervos central (neurosifilis) cu paralizie generalizată, meningoencefalită, nevrită optică și leziuni cardiovasculare sifilitice, cea mai importantă leziune fiind anevrismul cauzat de aortita sifilitică. Hemoleucograma indică o anemie ușoară. Această etapă poate să dureze de la 2-45 de ani. Decesul în cazurile netratate survine din cauza leziunilor cardio-vasculare și neurologice.

Sifilis congenital

Sifilisul congenital este o fetopatie cauzată de infectarea acestuia cu *Tr. pallidum*. Contaminarea intrauterină a fătului are loc în a doua jumătate a sarcinii, de obicei după luna a cincea, pe cale hematogenă, prin extensia transplacentară a unei infecții cu spirochete de la mamă. Riscul pare să fie similar, indiferent dacă infecția maternă se manifestă clinic sau are doar o expresie serologică. Formele latente de sifilis matern par să fie explicarea pentru cazurile de sifilis care apar la a doua sau a treia naștere, riscurile de contaminare nu sunt obligatorii, literatura de specialitate semnalându-ne cazuri de îmbolnăvire doar la unul dintre gemenii dizigoti. Sifilisul congenital poate afecta multiple sisteme și organe și poate fi sever. Există o formă timpurie, care apare în primele 2 ani de viață unde manifestarea bolii poate fi predominant serologică, oligosimptomatică sau poate prezenta un tablou clinic complet. În cazul unei expresii complete a bolii, pot coexista trei categorii de manifestări: cutaneomucoase, osteoarticulare și viscerale cu apariția triadei Hutchinson (dinți Hutchinson, surditate, keratita interstițială) și o formă de sifilis congenital tardiv, care se manifestă mai târziu în viață la

4-11 ani după naștere. În 50% din cazurile de sifilis matern netratat se produce moartea in utero a fătului.

Imunitatea în sifilis

Există o rezistență naturală la infecție, manifestată prin prezența anticorpilor de grup împotriva treponemelor comensale. La infecția primară, răspunsul inflamator conduce la formarea unui infiltrat în care predomină neutrofilele (PMN), macrofagele, limfocitele, plasmocitele și macrofagele. Fagocitoza este un element crucial în lupta împotriva infecției, în care PMN-urile internalizează rapid *Tr. pallidum*, formând vacuole și fagolizozomi și macrofagele pot internaliza bacteriile prin "coil-phagocytosis", fără formarea fagolizozomilor, lăsând treponemele libere în citoplasmă.

Coil-phagocytosis este un tip specializat de fagocitoză în care un neutrofil sau un alt fagocit înfășoară progresiv un microorganism sau o particulă străină într-un model asemănător unei spirale („coil” = spirală în engleză). Această formă de fagocitoză diferă de procesul clasic, în care particula este complet înconjurată prin formarea unei vacuole fagocitare directe. În coil-phagocytosis, membrana celulei fagocitare se extinde sub formă de pliuri succesive care se înfășoară în jurul țintei, facilitând astfel internalizarea și digestia acesteia.

Răspunsul imun specific este mediat de limfocitele (T, B), care după activare produc anticorpi IgM, IgG, IgA, IgE împotriva antigenelor proteice și lipoproteice, cum ar fi cardiolipina. Limfocitele T citotoxice contribuie la un răspuns de hipersensibilitate de tip întârziat, formând granuloame. Imunitatea după infectarea cu *T. pallidum* se instalează lent și rămâne eficientă doar în prezența stimulării antigenice.

Epidemiologie

Tr. pallidum subsp. pallidum este un patogen exclusiv uman în condiții naturale. Sifilisul a fost observat pentru prima dată în Europa la sfârșitul secolului al XV-lea, iar cauza sa a fost descoperită abia în 1905. Incidența sifilisului a scăzut în SUA în anii '90, dar a crescut din nou în anii 2000. Educația privind bolile cu transmitere sexuală, screening-ul și tratamentul sunt importante în controlul bolii. Transmiterea se face prin contact sexual și într-un procent de 0,01% prin contact de conviețuire, favorizată fiind de prezența soluțiilor de continuitate la suprafața tegumentului sau mucoaselor.

Profilaxia cazurilor de infectare cu sifilis implică:

- identificarea grupurilor de risc din populație și a modului de viață care pot crea premise pentru infectarea cu sifilis.
- combaterea și corectarea factorilor de risc de infectare, cum ar fi relațiile sexuale neprotejate, relațiile sexuale cu parteneri multipli, debutul precoce al vieții sexuale.
- screening-ul pentru depistarea precoce a bolnavilor infectați cu sifilis.

Profilaxia secundară constă în tratamentul persoanelor care au intrat în contact cu bolnavii de sifilis și are ca scop prevenirea răspândirii ulterioare a infecției.

Tr. pallidum subspecia pertenue este cauza framboezelor, o boală cronică non-veneriană endemică în zonele tropicale umede. Se contractează în copilărie prin contactul cu leziunile cutanate infectate și poate afecta pielea și oasele, având diverse stadii de evoluție.

Tr. pallidum subspecia endemicum este responsabilă de sifilisul endemic non-venere, cunoscut și sub numele de "bejel". Prevalent în regiunile uscate subtropicale sau temperate, se transmite prin contact cu leziunile mucozale sau prin consumul de apă sau alimente contaminate. Această boală prezintă diferite etape clinice, de la leziuni primare până la stadii terțiare severe.

Tr. carateum - agentul cauzal al pinteii, este cea mai blândă dintre bolile endemice cauzate de *Treponema*, care afectează exclusiv pielea. Răspândită în mod endemic în America de Sud/Centrală, se transmite prin contactul cu pielea infectată sau prin intermediul muștei *Hippelates pallips*. Perioada de incubație este de aproximativ 2-3 săptămâni. Leziunea primară este reprezentată de papule sau plăci eritematoase care apar pe suprafețele expuse ale membrelor inferioare, ale picioarelor, antebrațelor sau mâinilor, crescând lent în dimensiuni, devenind pigmentate și cu hipercheratoză. Acestea pot fi însoțite de limfadenopatie regională. Leziunile secundare sunt multiple și de aspect similar, apărând la 3-9 luni după leziunea primară. În stadiile târzii/terțiare ale pinteii, apar modificări pigmentare deformante și leziuni atroifice.

Tratament

În cazul sifilisului timpuriu și în cazul treponematozelor neveneriene este necesară terapie antibiotică prelungită din cauza ratei lente de înmulțire a *Tr. pallidum* (cu o dublare medie în vivo pe zi).

Pentru sifilisul necomplicat în stadiile precoce, tratamentul preferat constă într-o doză unică de penicilină G administrată intramuscular sau o doză unică orală de azitromicină. Ca alternative, doxiciclina și tetraciclina sunt eficiente, însă contraindicate femeilor gravide din cauza riscului de defecte congenitale. Ceftriaxona, un antibiotic din clasa cefalosporinelor de generația a treia, poate înlocui penicilina cu eficiență similară.

În cazul neurosifilisului, datorită penetrării limitate a penicilinei G în sistemul nervos central, sunt necesare doze mari administrate intravenos timp de cel puțin 10 zile. Pentru pacienții alergici la penicilină, se poate opta pentru ceftriaxonă sau desensibilizare. Alte forme de infecție tardivă necesită tratament cu penicilină G intramuscular, administrată săptămânal timp de trei săptămâni. În stadii precoce sau în cazul alergiilor, doxiciclina și tetraciclina pot fi alternative, dar cu o durată mai lungă de administrare și eficiență redusă asupra leziunilor deja existente.

Reacția Jarisch-Herxheimer, o posibilă reacție adversă a tratamentului, se manifestă prin febră, dureri musculare, cefalee și tahicardie, simptome ce pot dura până la 24 de ore. Aceasta este cauzată de eliberarea de citokine în urma lizării bacteriilor.

Netratată, sifilisul are o rată a mortalității între 8% și 58%, iar tratamentul precoce previne complicațiile severe. De asemenea, sifilisul crește de 2-5 ori riscul de transmitere a infecției cu HIV, infecțiile concomitente fiind frecvente.

11.2. GENUL *BORRELIA*

Caractere generale.

Borreliliile, bacterii helicale gram-negative din familia *Spirochaetaceae*, au fost denumite după bacteriologul Amédée Borrel (1867-1936) și sunt agenți patogeni ai boreliozelor. Cu dimensiuni de 2-20 μm lungime și 0,2-0,5 μm lățime, acestea prezintă 3-10 spire laxe și mișcări caracteristice datorită flagelilor periplasmatici (7-20 endoflageli). Borreliliile sunt flexibile, dificil de cultivat pe medii artificiale, microaerofile și

chemoorganotrofe, dar pot fi cultivate pe oul embrionat și se colorează ușor cu fucsină diluată sau Giemsa.

Aceste bacterii sunt rezistente la temperaturi scăzute (+4°C timp de 3 săptămâni sau -70°C peste 2 ani), dar sunt distruse rapid la +46°C în 30 de minute. În natură, borreliile sunt menținute printr-un ciclu între artropode hematofage (căpușe, păduchi) și gazde vertebrate (oameni, mamifere, păsări), putând infecta experimental rozătoare, maimuțe și alte animale.

Borreliile cauzează diverse borelioze, dintre care cele mai cunoscute sunt:

- Febra recurentă de păduche, produsă de *Borrelia recurrentis* și transmisă de păduchele de corp.
- Febra recurentă de căpușe, cauzată de specii precum *Borrelia duttonii*, *Borrelia hermsii* sau *Borrelia turicatae*, transmisă de căpușele *Ornithodoros*.
- Boala Lyme, determinată de *Borrelia burgdorferi* și transmisă de căpușe din genul *Ixodidae* la oameni și animale domestice sau sălbatice.
- Spirocercosa aviară, produsă de *Borrelia anserina* și transmisă la păsări de căpușele *Argas*, *Ixodes* și *Dermanyssus*.

Deși borreliile provoacă boli similare, acestea prezintă o specificitate pentru anumiți vectori, cum ar fi păduchii sau căpușele din genurile *Ornithodoros* și *Ixodidae*.

Febra recurentă

Febrele recurente sunt boli infecțioase cauzate de spirochete din genul *Borrelia*, transmise prin înțepături de insecte și caracterizate prin febră cu evoluție ciclică.

- Febra recurentă de purici este rară și prezentă în Africa de Est, contaminarea este strict umană, transmisă de purici infectați de la oameni febrili. Contaminarea se face prin leziuni de grataj sau conjunctivale, după strivirea insectelor.
- Febra recurentă de căpușe este endemică în zonele rurale la nivel global. Contaminarea se produce prin intermediul căpușelor din genul *Ornithodoros*, care rămân infectate pe toată durata vieții și transmit infecția la descendenți și mamifere, inclusiv rozătoare și animale domestice. Căpușele infectează omul prin înțepătură sau dejecte.

Patogenie

Faza febrilă coincide cu răspândirea bacteriilor în sânge. În timpul remisiunii, spirochetele se localizează în organele profunde. Recăderile febrile apar din cauza apariției unor variante antigenice noi, care nu sunt recunoscute de anticorpii specifici.

Tablou clinic

Perioada de incubație este de 2-8 zile. Boala debutează brusc, cu febră înaltă de 40-41°C, frisoane, dureri difuze, congestione facială. Perioada de stare este marcată de alternanța fazelor febrile cu perioade de apirexie.

- În prima perioadă febrilă, care durează o săptămână, febra ajunge la 40°C, însoțită de dureri intense, cefalee, probleme digestive și icter,
- La o săptămână de la debutul simptomatologiei, apare o defervescență bruscă urmată de crize sudorale și urinare, însoțite de astenie și 8 zile de apirexie,
- Recurența febrilă survine în ziua a 14-a, cu simptome similare debutului bolii, timp de 3-5 zile, urmată de o nouă criză sudorală și apirexie.

Febra recurentă de pureci are două recurențe, iar febra recurentă de căpușe are multiple recurențe.

Diagnostic

Analizele evidențiază hiperleucocitoză cu neutrofilie, anemie, citoliză hepatică. În monstrele de sânge din perioada febrilă, prin colorație sau examen microscopic se pot evidenția borreliile.

Tratament

Tratamentul antibiotic include betalactamine, cicliline, fenicoli și macrolide. La debut poate apărea reacția Jarish-Herxheimer. Durata tratamentului este de 5-10 zile.

Profilaxie

Profilaxia constă în izolarea bolnavilor, tratamentul lor, dezinsecție cu diclor-difenil-triclorețan pe haine și corp. Profilaxia este dificilă din cauza rezervorului animal.

Boala Lyme

Această patologie, a cărui nume provine de la orașul Lyme, Connecticut, SUA, unde a fost diagnosticată pentru prima dată, este cauzată de trei specii de *Borrelia*:

- *Borrelia burgdorferi*
- *Borrelia garinii*
- *Borrelia afzelii*

Boala Lyme este globală. Turiștii din camping și lucrătorii agricoli, forestieri sunt expuși riscului crescut. Germenii se găsesc la animale diverse: bovine, ovine, câini, rozătoare mici și căpușe. Transmiterea la om se face prin înțepătura de căpușă, în special *Ixodes ricinus* în Europa și *Ixodes damini* și *Ixodes pacificus* în SUA. Activitatea maximă a căpușelor este din primăvară până toamna.

Patogenie

Inocularea *Borreliei* se face prin înțepătura căpușei.

Boala are trei faze:

- *Faza primară*: se manifestă prin eritem cronic migrator (Lipschutz), apărând de obicei la 3-30 de zile după înțepătura de căpușă, localizat cel mai frecvent la membrele inferioare, trunchi, membrele superioare, față și scalp. Leziunea inițială este o maculă sau papulă roșie, care poate ajunge la dimensiuni de 20-30 cm în diametru și nu provoacă mâncărime. Uneori poate fi însoțită de adenopatie în zona învecinată și semne generale. Evoluția acestui stadiu este de obicei favorabilă și se rezolvă spontan.
- *Faza secundară*: apare la câteva săptămâni sau luni după faza primară și poate coexista cu eritem cronic migrator.
 - Manifestări cutanate: leziuni multiple de eritem.
 - Manifestări articulare: artralгии precoce, artrite ale articulațiilor mari (genunchi), evoluând uneori spre artrită cronică.
 - Manifestări cardiace: sincope, palpitații, dispnee, dureri toracice, bloc atrioventricular pe ECG, miocardită sau pericardită.

- Manifestări neurologice: meningo-radiculită senzitivă, afectare a nervilor cranieni (mai ales facial), meningită limfocitară cu proteinorahie crescută.
- *Faza terțiară*: pot fi prezente manifestări imunologice asociate, acrodermatită cronică atrofiantă (maladia Pick-Herxheimer), limfocitom cutanat benign, monoartrită sau oligoartrită la nivelul genunchilor, afectare neurologică variată, ele dezvoltându-se după mai mulți ani.

Diagnostic

Serologic: imunofluorescență, hemaglutinare, ELISA, Western-Blot.

Izolarea *Borreliei*: din sânge, LCR, biopsii cutanate sau sinoviale (difícil și nerecomandat de rutină).

Tratament

- Eritem cronic migrator izolat: Amoxicilină 3-4 g/zi sau Doxiciclină 200 mg/zi timp de 10 zile.
- Eritem cronic migrator + faza secundară: Amoxicilină 6-8 g/zi sau Ceftriaxonă 2 g/zi intramuscular sau intravenos, timp de 20 de zile.
- Faza terțiară: Ceftriaxonă 2 g/zi minimum o lună.

Profilaxie

În prezent, nu există nicio modalitate sigură de prevenire a bolii Lyme. Totuși, se pot lua măsuri pentru a minimiza riscul, cum ar fi tăierea ierbii în zonele cu vegetație înaltă și utilizarea de repelenți pentru insecte. Precauții speciale trebuie luate în cazul copiilor, cum ar fi purtarea de ghete mai înalte, pantaloni lungi și cămăși cu mâneci lungi în timpul activităților în aer liber. La gravide, după înțepătura de căpușă se administrează amoxicilină pentru a preveni infecția fetală.

11.3. GENUL *LEPTOSPIRA*

Leptospiroza este o infecție provocată de bacteriile din genul *Leptospira*, care cuprinde atât specii saprofite, cum ar fi *Leptospira biflexa*, cât și specii patogene precum *Leptospira interrogans*, care are mai multe serotipuri și specii cum ar fi *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira pomona* și *Leptospira canicola*. Aceste bacterii se

găsesc în principal la rozătoare și animale domestice, dar pot infecta accidental și oamenii.

Leptospirozele sunt organisme spiralate, extrem de subțiri, cu o lungime de aproximativ 12 μm și un diametru de aproximativ 0,06 μm , aerobe, gram negative. Ele sunt capabile să pătrundă prin tegumente intacte, în special în contact cu apă contaminată. Corpul leptospirozei are între 10 și 12 spire nedeformabile, regulate și mici, cu capete răsucite sub formă de cârlig. Sistemul lor de mișcare constă într-o singură fibrilă care permite mișcări rapide și variate, cum ar fi rotația în jurul axului lor și flexiunea.

Aceste bacterii sunt rezistente în soluri umede și în apă, dar nu pot supraviețui în medii uscate, acide sau alcaline. Sunt sensibile la un pH acid și pot fi distruse rapid în medii precum urina acidă, bilă sau alte soluții acide. De asemenea, sunt vulnerabile la dezinfectanți, antiseptice și radiații UV.

Leptospirozele prezintă antigene somatice care le împart în diverse grupuri și tipuri antigenice (somatic sau de suprafață). Speciile patogene pentru oameni, cum ar fi *Leptospira icterohaemorrhagiae*, pot cauza leptospiroză, o zoonoză transmisă de animale. Transmiterea la oameni apare de obicei prin contact cutanat, mai ales la nivelul membrelor inferioare.

Patogenie

Leptospiroza este o boală infecțioasă acută, caracterizată prin afectare renală, hepatică, neurologică și cardiovasculară, fiind descrisă pentru prima dată de Adolf Weil în 1886, cunoscută și sub denumirea de Boala lui Weil.

Infecțiile cu *Leptospira* pot fi asimptomatice sau pot manifesta simptome ușoare, ceea ce complică diagnosticul corect. Când apar simptome – de obicei la aproximativ 10 zile după infecție – acestea pot include febră instalată brusc, cefalee, frisoane, mialgii și inflamații oculare (iridociclită), acesta din urmă fiind un semn specific leptospirozei care afectează între 10 și 44 % dintre pacienții. În cazurile mai severe, boala poate provoca meningită, erupții cutanate, anemie, sângerări necontrolate, insuficiență renală severă, icter (Sindrom Weil), confuzie mentală și depresie, miocardită evoluând până la insuficiență multiplă de organe. De obicei, boala durează de la câteva zile până la 3 săptămâni, iar în cazurile netratate, recuperarea poate dura câteva luni. Simptomele tardive pot include oboseală cronică, paralizie, depresie și infecții oculare.

Răspunsul imun al organismului la leptospiroză este în principal umoral, dar nu oferă o protecție completă împotriva reinfectării.

Diagnosticul de laborator al leptospirozei poate include recoltarea și examinarea microscopică a sângelui și urinei pentru a detecta bacteriile sau utilizarea metodelor serologice pentru a identifica anticorpii din ser (aglutinare pe lamă, hemaglutinare indirectă, sero-reacția de aglutinare, ELISA).

În laborator, leptospiroza poate fi cultivată pe medii îmbogățite cu ser de iepure, preferabil în medii lichide, iar pentru identificare se utilizează microscopul cu fond întunecat după aproximativ 72 de ore de incubație.

Epidemiologie

Grupa de vârstă cu cea mai mare rată de îmbolnăviri în Europa include bărbații între 25 și 64 de ani și femeile între 15 și 24 de ani, persoanele în vârstă și cele imunocompromise, fiind cele mai expuse îmbolnăvirii.

Persoanele cu risc crescut de infecție includ cei care intră în contact cu apă contaminată, sol sau animale infectate la locul de muncă (veterinari, fermieri, pescari, mineri, militari), precum și sportivii, înotătorii și călătorii. În Europa, infecțiile sunt mai frecvente între iulie și octombrie, cu un vârf în august-septembrie, din cauza condițiilor climatice și a activităților în aer liber.

Profilaxie

- Evitarea contactului cu apă contaminată și animale infectate,
- Purtarea echipamentului de protecție în medii cu risc,
- Asigurarea siguranței apei publice pentru activități recreative,
- Vaccinarea și controlul rozătoarelor pentru a preveni transmiterea infecțiilor.

12. MICROBIOLOGIE FARMACEUTICĂ

12.1. INTRODUCERE

În secolul al XXI-lea, domeniul vast al microbiologiei a primit un impuls semnificativ în ceea ce privește controlul și gestionarea judicioasă a bolilor infecțioase umane, elaborarea studiilor în domeniul imunologiei, aceste modele fiind deosebit de atrăgătoare pentru studierea proceselor fundamentale ale vieții, cum ar fi cele legate de metabolizare, creștere, reproducere, îmbătrânire și moarte. În plus, domeniul științei microorganismelor a contribuit la dezvoltarea altor domenii conexe, printre care amintim domeniile de biochimie, inginerie genetică, biologie moleculară, farmacologie și multe altele.

Microbiologia farmaceutică este un domeniu distinct, definit recent, în cadrul științelor medico-farmaceutice. Microbiologia farmaceutică este un domeniu care se concentrează pe controlul microorganismelor în mediul înconjurător, prevenirea contaminării produselor farmaceutice și utilizarea microorganismelor pentru producerea de noi medicamente farmaceutice eficiente terapeutic.

Colaborarea dintre farmaciști și specialiști microbiologi (medici, biochimisti, biologi, chimiști, asistenți medicali de laborator) este vitală, asigurând faptul că terapiile medicamentoase ce vizează microorganismele oportuniste sunt sigure, fără a dăuna gazdei lor umane.

Microbiologia farmaceutică se concentrează pe minimizarea numărului de microorganisme dintr-un mediu tehnologic de proces, excluderea microorganismelor și-a subproduselor microbiene (cum ar fi exotoxina bacteriană) din apă și alte materii prime, pentru protejarea și siguranța produselor farmaceutice. Pentru producerea de produse farmaceutice sterile (fiole, perfuzabile, injectabile), există o cerință suplimentară: asigurarea faptului că produsul farmaceutic finit este steril. Microbiologia farmaceutică se concentrează pe examinarea agenților antiinfecțioși (cum ar fi dezvoltarea de noi antibiotice), utilizarea microorganismelor pentru detectarea activităților biologice de tipul activitate mutagenă și activitate carcinogenă în potențialele medicamente și utilizarea microorganismelor în fabricarea produselor farmaceutice (exemplu: insulina, anticorpi monoclonali).

Personalul medical ce activează în domeniul microbiologiei farmaceutice operează atât în asigurarea calității, cât și în controlul calității.

Rolul lor implică testarea în laborator și monitorizarea mediului, fiind experți pe o serie de sarcini, printre care inclusiv igienizarea, operarea autoclavelor, depirogenarea, validarea proceselor tehnologice, selectarea tipului optim de cameră “curată” (biosecuritate), examinarea materiilor prime și multe altele.

Pe scurt, microbiologia farmaceutică se ocupă cu studiul microorganismelor asociate fabricării de produse farmaceutice. Producția acestor produse farmaceutice poate fi realizată fie prin utilizarea microorganismelor, fie prin controlul coloniilor de microorganisme într-un mediu tehnologic de proces. Scopul acestei preocupări este de a se asigura că produsul farmaceutic final este: fie steril, fie lipsit de anumite tulpini bacteriene care sunt considerate inacceptabile. Acest lucru se extinde și prin procesul de fabricație, cuprinzând materialele prime și apa.

12.2. PREZENTARE GENERALĂ A MICROBIOLOGIEI FARMACEUTICE

Microbiologia farmaceutică este aplicarea microbiologiei în mediul industriei farmaceutice și mediului de îngrijire a sănătății. Microbiologia farmaceutică are o gamă largă de aplicații, dar cu toate acestea, scopul său principal este de a asigura fabricarea în condiții de siguranță a preparatelor farmaceutice, de îngrijire a sănătății și-a dispozitivelor medicale. Aceasta implică evaluarea riscurilor (atât proactive, cât și reactive), împreună cu materialele de testare, mediile de monitorizare și utilitățile necesare.

Anumite metode și teste esențiale sunt descrise chiar în cele trei farmacopeei internaționale principale: Farmacopeea din Statele Unite Ale Americii, Farmacopeea Europeană și Farmacopeea japoneză. Acestea includ:

- teste de sterilitate;
- testul de determinare a endotoxinei bacteriene;
- metode de enumerare microbiană (exemplu: testul limitelor microbiene);
- teste pentru microorganisme specifice tehnologiei de proces;
- test de sensibilitate antimicrobiană;
- metode și limite admise pentru testarea apei de calitate farmaceutică;
- eficacitate bactericidă / bacteriostatică;
- teste de pirogenitate și toxicitate microbiană;
- monitorizarea mediului exogen procesului tehnologic;
- diferiți indicatori biologici.

12.2.1. Metoda de testare microbiologică se împarte de obicei în:

- metode calitative— se referă la prezența / absența tuturor microorganismelor sau a anumitor specii bacteriene specifice;
- metode cantitative—acest lucru se concentrează pe metodele de numărare ale coloniilor bacteriene;
- metode de identificare—caracterizarea și identificarea microorganismelor din procesul tehnologic.

a) regimuri de testare microbiologică legate de produsul farmaceutic finit - acestea implică selectarea, eșantionarea și testarea:

- ☐ materiilor prime;
- ☐ eșantioanelor în proces sau produse intermediare;
- ☐ formulărilor produsului final;
- ☐ produsului final.

b) regimuri de testare microbiologică legate de materiile prime - majoritatea materiilor prime vor prezenta monografie în farmacopee, care vor indica tipul de testare microbiologică necesară. În funcție de natura materiei prime, de etapa de proces prevăzută și de cerințele produsului final, poate fi necesar să se ia în considerare și o testare suplimentară.

Testarea necesară pentru materiile prime se axează de obicei prin testele de determinare a limitelor microbiene, care pot presupune:

- ☐ numărare microbiană, care este împărțită în: testul pentru determinarea numărului total de microorganisme sau colonii bacteriene și testul pentru determinarea numărului total de drojdii și mucegaiuri;
- ☐ teste indicatoare pentru determinarea prezenței sau absenței anumitor microorganisme (care pot fi considerate nedorite pentru produsul farmaceutic sau procesul tehnologic).

În cazul unor microorganisme specifice, acestea sunt concepute ca indicatori ai surselor potențiale de contaminare. Microorganismele ce necesită testare specifică includ:

- bacteriile gram-negative tolerante la bilă;
- *Salmonella spp.*;
- *Escherichia coli*;
- *Pseudomonas aeruginosa*;
- *Staphylococcus aureus*;
- *Candida albicans*;
- *Clostridium spp.*

În plus, unele materii prime necesită determinarea endotoxinei prin testul de determinare a endotoxinelor bacteriene.

Farmacopeea permite variabilitatea rezultatelor testelor microbiologice egală cu un factor de 2:

- ☐ dacă limita microbiană specificată este de 101 microorganisme, atunci numărul maxim acceptat de microorganisme este de 20 CFU;
- ☐ dacă limita microbiană specificată este de 102 microorganisme, numărul maxim acceptat de microorganisme este de 200 CFU.
- ☐ 103 microorganisme: număr maxim acceptabil de microorganisme = 2000.

c) regimuri de testare microbiologică legate de eșantioanele prelevate din procesul tehnologic sau a produselor farmaceutice intermediare (testarea bioburden-ului)

Bioburden - termen general descriptiv pentru numărul de bacterii care trăiesc pe o suprafață sau într-un produs / material. Acesta este în mod normal evaluat prin metoda numărului total viabil, prin care o probă din eșantionul prelevat este adăugat pe mediul de cultură cu agar sau într-un recipient, pentru evaluarea suprafeței eșantionului. Această metodă oferă o idee cantitativă despre prezența și numărul de microorganisme în sau pe un eșantion prelevat, fiind exprimat prin numărul de unități formatoare de colonii (CFU) per gram (sau per mililitru) față de numărul real de microorganisme prezente.

d) regimuri de testare microbiologică legate de produsul farmaceutic final

Farmacopeea definește în mod obișnuit cerințele și specificațiile de testare pentru produsele farmaceutice sterile. Acestea pot include testul de sterilitate (în cazul în care produsul trebuie să fie lipsit de microorganisme viabile) și, de obicei, un test de endotoxină sau pirogen (limita va depinde de doză, aplicare, tipul de pacient avut în vedere și calculul limitei conform recomandărilor din farmacopee). Pentru produsele farmaceutice nesterile, specificația se va baza pe numărul maxim permis de microorganisme și o cerință ca produsul farmaceutic să nu conțină anumite microorganisme inacceptabile.

e) regimuri de testare microbiologică legate de diversele utilități care susțin procesele de producție (gaze comprimate, abur, apă de calitate farmaceutică)

Apa de calitate farmaceutică include apa pentru injectare și apa purificată. În plus, se examinează microbiologic apa de alimentare. Examinarea sistemelor de apă implică:

- ☐ determinarea și numărarea totală a microorganismelor de tip aerob;
- ☐ determinarea de endotoxine bacteriene;
- ☐ determinarea microorganismelor specifice;
- ☐ testul de determinare a coliformilor totali (*Escherichia coli* sau alte bacterii în formă de bastonaș - familia Enterobacteriaceae).

Examinarea gazelor comprimate => determinarea numărului total de microorganisme și particule.

Examinarea aburului => determinarea de endotoxine bacteriene.

f) regimuri de testare microbiologică legate de ambalarea, depozitarea și transportul produselor farmaceutice

Ambalarea servește o serie de funcții, printre care păstrează conținutul produsului farmaceutic și este etichetat pentru a permite identificarea conținutului său. În industria farmaceutică, produsul farmaceutic este inclus în ambalajul primar, apoi plasat în interiorul ambalajelor secundare pentru depozitare și transport. Acest ambalaj secundar poate lua forma unor cutii sau ambalaje termocontractibile.

Materialul de ambalare are un scop dublu, cel mai important fiind acela care împiedică pătrunderea microorganismelor sau a umidității (mediu propice dezvoltării microorganismelor). Este esențial ca sursa de contaminare să nu fie ambalajul în sine, deoarece atât compoziția, cât și condițiile de depozitare afectează microflora unui material de ambalare. Acest lucru, precum și luarea în considerare a tipului de produs farmaceutic care urmează să fie ambalat, determină dacă este necesară sau nu aplicarea unui tratament de sterilizare.

În cazul ambalării cu ajutorul recipientelor din sticlă, acestea dacă nu sunt ambalate sau depozitate în condiții corespunzătoare, conform normelor din Farmacopee, pot fi contaminate cu spori proveniți de la *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* și diferite bacterii (*Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.*).

f) alte regimuri de testare microbiologică aplicate:

- ☐ testarea eficacității dezinfectante;
- ☐ teste de sensibilitate antimicrobiană;
- ☐ studii de imersiune microbiană;
- ☐ evaluarea riscurilor microbiene al echipamentelor de laborator.

12.3. TEHNICI DE TESTARE

12.3.1. Tehnica determinării numărului total de colonii

Există mai multe situații în care este necesar să se măsoare / determine numărul total de celule microbiene / de colonii dintr-o cultură, probă sau produs farmaceutic:

- în cazul măsurării nivelurilor de contaminare microbiană într-o materie primă sau într-un medicament fabricat;
- în evaluarea efectelor unei substanțe chimice antimicrobiene sau a unui proces de decontaminare;
- în timpul utilizării microorganismelor în fabricarea agenților terapeutici (vaccinuri, seruri, anticorpi monoclonali).

În unele cazuri, este necesar să se cunoască numărul total de microorganism sau celule microbiene prezente, inclusiv atât cele vii, cât și cele moarte. De exemplu, în fabricarea vaccinurilor, atât cele moarte, cât și cele vii pot produce un răspuns imun, iar în cazul efectuării testului de pirogenitate, atât microorganismele moarte, cât și cele vii pot induce febră atunci când sunt injectate în organismul uman.

12.3.1.1. Turnarea în medii de cultură

Dacă produsul farmaceutic care urmează să fie testat este un lichid apos, un volum cunoscut este pur și simplu plasat în cutia Petri, se adaugă 10–25 mL de mediu de cultură (agar îmbogățit cu soia), se amestecă rapid, apoi placa este plasată pe o parte (45 grade) pentru ca agarul să se stabilizeze. Dacă produsul farmaceutic este solid, solubil în apă, dar dacă este insolubil, este utilizată o suspensie. În ciuda faptului că bacteriile posedă un perete celular ce conferă stabilitate osmotică, unele specii bacteriene pot suferi un grad de pierdere a viabilității dacă sunt diluate rapid în apă rece, iar în consecință se utilizează un tampon izotonic (exemplu: soluție salină tamponată cu fosfat) sau apă peptonică utilizate ca solvenți sau diluanți.

12.3.1.2. Turnarea în plăci prin împrăștiere pe suprafață (metoda Miles–Misra)

Produsul farmaceutic prelevat este literalmente răspândit pe toată suprafața agarului cu ajutorul unei anse sterile (sticlă sau plastic), apoi lăsat să se încorporeze în gel. O variație a acestei metode este tehnica Miles–Misra (tehnica de numărare a picăturilor), care implică împrăștierea unor cantități cunoscute de suspensii microbiene (de obicei 10 microni). Placa de testare este comparată apoi cu o placă de control, după incubare, în ceea ce privește numărul de colonii recuperate. Precizia metodei depinde de diluția utilizată, de numărul de unități formatoare de colonii (CFU) din inocul, de volumul inoculurilor utilizate și de tehnica de împrăștiere pe suprafață.

12.3.1.3. Metoda de filtrare cu membrană

Produsul farmaceutic (eșantion) este trecut printr-un filtru de membrană cu o dimensiune a porilor de aprox. 0,45 μm . De obicei, testul măsoară două lichide de testare de 10 mL fiecare, trecând fiecare probă printr-un filtru separat. Este important să se dilueze lichidul de testare pretratată dacă

concentrația de bacterii este ridicată, astfel încât să se poată dezvolta colonii de 10–100 pe filtru. După filtrare, fiecare filtru trebuie spălat de trei ori sau mai mult cu un lichid adecvat (tampon fosfat, tampon de clorură de sodiu-peptonă). Volumul spălărilor trebuie să fie de aproximativ 100 mL fiecare.

După filtrare, pentru detectarea bacteriilor, cele două filtre trebuie așezate pe o placă Petri mediu de agar-soia, iar pentru detectarea ciupercilor, un antibiotic este adăugat în mediu și plasat pe o placă agar-Sabouraud. Plăcile sunt incubate timp de cel puțin 5 zile la 30–35°C pentru detectarea bacteriilor și la 20–25°C pentru detectarea ciupercilor. La sfârșitul perioadei de incubație, se numără numărul total de colonii.

Această metodă oferă alte două avantaje:

- poate fi utilizată pentru determinarea concentrației de microorganisme din diferite uleiuri sau dispersii eterogene (exemplu: unguente);
- produsul farmaceutic poate conține substanțe chimice antimicrobiene, ca de exemplu: produsele farmaceutice care conțin antibiotice (picături pentru ochi multidoză și injectabile). Atunci când metoda este utilizată pentru produse farmaceutice precum acestea, membrana este spălată cu apă peptonică (care poate conține chiar un inactivator specific pentru substanța chimică în cauză, ca de exemplu lecitină cu Tween80, tioglicolat de sodiu, tiosulfat de sodiu, beta-lactamaze).



Figura 28. Metoda de filtrare cu membrană

12.3.2. Metoda MPN sau metoda zerourilor Poisson:

Este o metodă de obținere a datelor cantitative privind concentrațiile elementelor discrete din datele pozitive / negative. Pe scurt, implică prelevarea eșantionului și subdivizarea acestuia cu diferite ordine de mărime (frecvent $10\times$ sau $2\times$) în mediu de cultură cu bullion și evaluarea prezenței sau absenței microorganismelor în mai multe subdiviziuni. MPN este eficient numai în examinarea bacteriilor, deoarece nu oferă rezultate fiabile pentru enumerarea ciupercilor.

12.3.3. Alte tehnici de microbiologie farmaceutică:

- ☐ măsurarea turbidității unei suspensii bacteriene (prin nefelometrie sau spectrofotometrie);
- ☐ determinarea greutateii unei culturi uscate (evaluarea biomasei bacteriene);
- ☐ măsurători ale adenosin-trifosfatului (ATP), utilizând enzima luciferază care produce fluorescență în urma hidrolizei acestuia.

Chiar dacă un medicament este sau nu un produs steril, există încă cerințe pentru ca acesta să fie fabricat astfel încât să restricționeze contaminarea microbiană, iar procedurile de control ale calității, inclusiv determinarea bioburden-ului și monitorizarea mediului, sunt esențiale pentru realizarea acestui lucru. Multe produse farmaceutice, cum ar fi cremele, loțiunile și produsele orale lichide, sunt utilizate de pacient în mai multe contexte sociale. Pentru a putea proteja produsul farmaceutic, dar și pacientul, trebuie să încorporăm conservanți antimicrobieni în aceste produse și să înțelegem ce influențează eficacitatea acestora.

În timp ce încercăm să eliminăm microorganismele din mediul exogen sau din produsele farmaceutice pe care le consumăm, nu trebuie uitat faptul că aceste microorganisme sunt, de asemenea, responsabile pentru producerea unui număr foarte mare de produse sau materiale foarte utile, printre care includem antibioticele, steroizi, insulina și alte proteine recombinante, aminoacizi, acizi organici, enzime și polizaharide.

BIBLIOGRAFIE

1. Adhikary S., Duggal M.K., Nagendran S., et al. Lefamulin: a New Hope in the Field of Community□Acquired Bacterial Pneumonia. *Current Pharmacology Reports*. 2022; 8:418–426.
2. Angelescu M. – Terapie cu antibiotice, Ed. Medicală, București, 1998.
3. Bambang A.W., Idrus I., Amin S., et al. Gonorrhea vaginitis in a pediatric patient: a case report. *Pan African Medical Journal*. 2021;38(358).
4. Beatrous S.V., Grisoli S.B., Riahi R.R., et al. Cutaneous manifestations of disseminated gonococcemia. *Dermatology Online Journal*. 2016;23(1):6.
5. Berceanu Văduva Delia - Infecții nosocomiale majore de etiologie virală și bacteriană. Teză de doctorat, 1999.
6. Birlutiu V., Birlutiu R.M., Costache V.S. Viridans streptococcal infective endocarditis associated with fixed orthodontic appliance managed surgically by mitral valve plasty. *Medicine*. 2018; 97:27(e11260).
7. Buiuc D. – Microbiologie clinică, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1998.
8. Buiuc D., Neguț M. - Tratat de microbiologie clinică – ediția a III-a, Ed. Medicală, București, 2009.
9. Buiuc D. – Microbiologie medicală: ghid pentru studiul și practica medicinei, Ed. "Gr. T. Popa" Iași, 2003.
10. Brooks L.R.K., Mias G.I. Streptococcus pneumoniae's virulence and Host immunity: Aging, Diagnostics, and Prevention. *Frontiers in Immunology*. 2018.
11. Caugant D.A., Brynildsrud O.B. Neisseria meningitidis: using genomics to understand diversity, evolution and pathogenesis. *Nature Reviews*. 2020;18.
12. Cepoi V., Azoicăi D. – Ghid de management al infecțiilor nosocomiale. Ed. Arte, București, 2012.
13. Collins C. H., Lyne P. M., Grange J. M. – Microbiological methods, Oxford University Press, 1989.

14. Constantiniu S., Ionescu G. – Genul *Acinetobacter* în patologia umană. *Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia*, 2005, 50:1-2, 157-173.
15. Coșniță M., Moldovan R. – Infecția nosocomială în pediatrie, Ed. Mirton, Timișoara, 1996.
16. Crisan A., Nicoara E. - Curs de Boli Infecțioase, Ed. de Vest, Timișoara, 2015.
17. Cruz M., Palma N.Z., Ferraz R.V., et al. Disseminated Gonococcal Infection: A Case Report of Arthritis-Dermatitis Syndrome. *J Med Cases*. 2019;10(10):312-314.
18. Denyer S.P., Hodges N.A., Gorman S.P. Hugo and Russell's *Pharmaceutical Microbiology* Seventh Edition. 2004.
19. Debeleac L.; Popescu Drânda M.C. – Microbiologie, Ed. Medicală Amaltea, 1994.
20. Dugăeșescu D. - Microbiologie clinică, Ed. Eurostampa, Timișoara, 2013.
21. Dumitrașcu V. și colab. – Farmacologie – medicamente antimicrobiene, Ed. de Vest, Timișoara, 2007.
22. Dumitrașcu V. și colab. – Farmacologia în laboratorul clinic, Ed. de Vest, Timișoara, 2007.
23. Garber J. – Antimicrobial Resistance and Its Impact on Public Health. University Press, 2020.
24. Garrity G.M., Bell J.A., and Timothy G.I. – Taxonomic outline of the Prokaryotes, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* – II-nd edn. Bergey Manual Trust, Springer, New York, 2004.
25. Gillet Y., Henry T., Vandenesch F. Fulminant Staphylococcal Infections. *American Society for Microbiology*. 2018.
26. Greenwood D. – Antimicrobial Chemotherapy, Oxford, University Press, 1989.
27. Harrison O.B., Schoen C., Retchless A.C., et al. *Neisseria* genomics: current status and future perspectives. *Pathogens and Disease*. 2017;75(6).
28. Holtmann H., Nitschke J. – Basics Medizinische Mikrobiologie, Hygiene und Infektiologie, 4 Auflage, Elsevier GmbH Deutschland, 2017.

29. Ionescu G. – Caracterizarea fenotipică și moleculară a tulpinilor de *Acinetobacter* izolate din mediul spitalicesc. Teză de doctorat, 2006.
30. Inglis T.J.J. – Microbiology and Infection. Churchill Livingstone, 2007.
31. Jehl F., Chomarar M., Weber M., Gerard A. – De la antibiogramă la prescripție, Ed. Științelor Medicale, București, 2004.
32. Kwiecinski J.M., Horswill A.R. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *Curr Opin Microbiol.* 2020; 53: 51–60.
33. Kim M.C., Patel J. Recognition and Management of Acute Purpura Fulminans: A Case Report of a Complication of *Neisseria meningitidis* Bacteremia. *Cureus* 13(3): e13704.
34. Leau M.M., Kuipers R.S. Cardiovascular complications of *Streptococcus pneumoniae* bacteraemia. *BMJ Case Rep.* 2021;14
35. Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J., Truant J.P. – Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985.
36. Lifeng L., Jiayue M., Zengyuan Y., et al. *Streptococcus pneumoniae*: An updated review. *Microbiological Research.*2023;266:127221.
37. Licker M., Moldovan R. și colab. – Rezistența la antibiotice, istorie și actualitate, Ed. Eurostampa, Timișoara, 2002.
38. Licker Monica, Moldovan Roxana și colab. - Curs de microbiologie specială – vol. I – bacteriologie. Ed. Eurostampa, Timișoara, 2008.
39. Licker M., Nicoară E. și colab. – Ghid pentru prevenția multirezistenței bacteriene. Ed. Eurobit, Timișoara, 2011.
40. Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E – Principles and practice of infectious disease – Antimicrobial therapy, Churchill Livingstone, New York, 1992.
41. Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E – Principles and practice of infectious disease – 7 th Ed., Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, Melbourne, 2010.
42. Młynarczyk□Bonikowska B., Majewska A., Malejczyk M., et al. Multiresistant *Neisseria gonorrhoeae*: a new threat in second decade of the XXI century. *Medical Microbiology and Immunology.* 2020; 209:95–108.

43. Moldovan R., Licker M. și colab. - Curs de microbiologie specială – vol. I – bacteriologie, Ed. "Victor Babeș", Timișoara, 2013.
44. Moldovan R., Licker M. și colab. - Lucrări practice de microbiologie, Ed. "Victor Babeș", Timișoara, 2013.
45. Moldovan R., Licker M., Hoge E., Bădițoiu L. – Microbiologie generală, Ed. "Victor Babeș" Timișoara, 2015.
46. Murray R.P., Kobayashi S.G., Pfaller A.M.I., Rosenthal S.K. – Medical Microbiology, Ed. Wolfe Imprint., 1994.
47. Nguyen N., Ashong D. Meningococcal Disease (Neisseria meningitidis Infection). National Library of medicine. 2024.
48. Nechifor M., Vlase C. – Progrese și perspective în chimioterapie antibacteriană, Ed. Viața Medicală Românească, 2001.
49. Ozdemir H., Kendirli T., Ciftci E., et al. Purpura fulminans in a child due to Neisseria meningitidis. Infection. 2012; 40:717–718.
50. Popovici E. D., Laitin S. M. D., Bădițoiu L., M. – Noțiuni de imunoprofilaxie, Lito UMFT, 2004.
51. Quillin S.J., Seifert H.S. Neisseria gonorrhoeae host-adaptation and pathogenesis. Nat Rev Microbiol. 2018;16(4):226–240.
52. Savitskaya V.Y., Monakhova M.V., Iakushkina I.V., et al. Neisseria gonorrhoeae: DNA Repair Systems and Their Role in Pathogenesis. Biochemistry. 2022; 87(9):965-928.
53. Schubert-Unkmeir A. Molecular mechanisms involved in the interaction of Neisseria meningitidis with cells of the human blood–cerebrospinal fluid barrier. Pathogens and Disease. 2017;75(2).
54. Springer C., Salen P. Gonorrhea. National Library of medicine. 2023.
55. Suyama Y., Akiyama, R. Ocular Gonorrhea. The New England Journal of Medicine. 2022,386 (17).
56. Savitskaya V.Y., Monakhova M.V., Iakushkina I.V., et al. Neisseria gonorrhoeae: DNA Repair Systems and Their Role in Pathogenesis. Biochemistry. 2022; 87(9):965-928.
57. Tong S.Y.C., Davis J.S., Eichenberg E., et al. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. Clinical Microbiology Reviews. 2015;28(3).

58. Unemo M., Seifert H.S., Hook E.W., et al. Gonorrhoeae. *Nature Reviews*. 2019; 5:79.
59. Weyand N.J. Neisseria models of infection and persistence in the upper respiratory tract. *Pathogens and Disease*. 2017;75(3).
60. Santos Souza I., Ziveri J., Bouzinba-Segard H., et al. Meningococcus, this famous unknown. *Comptes Rendus Biologies*. 2021;344(2):127-143.