

LIGIA BURTA

PATRICIA MARUSCA

DIANA PELEA

Curs de microbiologie pentru Medicina Dentara



**Editura Universitatii din Oradea
2007**

Referenți științifici:

Prof.univ.dr. Gheorghe Bumbu

Prof.univ.dr. Ludovic Gilau

Culegere și prelucrarea datelor:

Olivia Ligia Burta

Diana Pelea

Patricia Ramona Marusca

Alina Cheregi

Dorina Farcas

Raluca Pop

Luminta Panescu

Colaboratori:

Otilia Micle

Adriana Constangioara

Monica Teaha

Ioana Mos

Dana Miclaus

Radu Iovan

Alin Balaj

Editare text:

Olivia Ligia Burta

Patricia Ramona Marusca

Design și grafică:

Olivia Ligia Burta

Alin Balaj

Patricia Ramona Marusca

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

BURTA, OLIVIA LIGIA

Curs de microbiologie pentru Medicina Dentara/Burta Olivia – Ligia, , Pelea

Diana, Marusca Patricia – Ramona

Bibliogr.

ISBN 978-973-759-327-6

C U P R I N S

BACTERIOLOGIE – PARTEA GENERALA

Proprietati generale ale bacteriilor	9
Morfologie bacteriana	9
Structura celulei bacteriene	14
A. Structurile obligatorii ale celulei bacteriene	15
B. Formatiuni facultative ale bacteriilor	17
Metabolismul bacterian	21
Tipuri de nutritie la bacterii	23
Cresterea si multiplicarea bacteriilor	24
Actiunea agentilor fizici si chimici asupra bacteriilor	26
Chimioterapie antibacteriana	29
Genetica bacteriana	36
Infectia	40
A. Factori de patogenitate invazivi	42
B. Factori toxigeni	45
Rezistenta naturala	49
Factorii umorali	52
Notiuni de imunologie	54
Componentele structurale ale sistemului imun	56
Antigenul	58
Imunoglobulinele	60
BACTERIOLOGIE – PARTEA SPECIALA	64
Stafilococi	64
Streptococi	70
Pneumococul	75
Genul Neisseria	78
Gonococul	79
Meningococul	81
Familia Enterobacteriaceae	82
Genul Escherichia	83
Genul Proteus	85
Genul Klebsiella	86
Genul Salmonella	87
Genul Shigella	88
Genul Yersinia	89
Fam. Pseudomonaceae	90
Genul Vibrio	91

Genul Mycobacterium	93
Genul Corynebacterium	97
Familia Spirochetaceae	98
Anaerobi patogeni	103
Clostridium tetani	104
Clostridium botulinum	106
Clostridium perfringens	107
PARAZITOLOGIE	109
Clasificarea parazitilor	111
Clasa Flagelate	113
Genul Plasmodium	116
Toxoplasma gondii	117
Pneumocystis carinii	118
Clasa Trematoda	119
Clasa Cestoda	120
Clasa Nematoda	122
Ectoparazitii	124
VIRUSOLOGIE	126
Caractere generale si structura virusurilor	126
Nomenclatura virusurilor	128
Principalele familii de virusuri	130
Familia Herpetoviridae	130
Familia Picornaviridae	136
Familia Orthomyxoviridae	138
Virusurile hepatitelor	141
Virusul hepatitei A	141
Virusul hepatitei B	142
Virusul hepatitei C	143
Virusul hepatitei D	144
Infectia cu HIV	144
BIOFILMUL	149
Biofilmul limbii	153
Mecanismele de formare a placii dentare	155
Bacterii identificate in placa dentara	156
Comunicarea intre comensalii cavitatii orale	156
Relatii interspecii bacteriene implicate in placa dentara	157
Streptococcus viridans	158
Streptococcus sanguinis	158
Streptococcus mutans	158
Actinobacillus actinomycetemcomitans	159
Porphyromonas gingivalis	160

Interactiunea celulelor	161
Boala periodontala	164
Pulpa dentara si patologia infectioasa	173
Patologia carioasa	179
Gingivitele si stomatitele	180
Rolul fluidului crevicular	181
Bibliografie	182

MICROBIOLOGIA (din limba greaca, **mycros** - mic, **bios** - viata, **logos** - a descrie) este stiinta care studiaza organismele cu dimensiuni microscopice, de ordinul micrometrilor (10^{-6}) si nanometrilor (10^{-9}).

Lumea vie este compusa din 3 **regnuri**:

- *Regnul animal*,
- *Regnul vegetal*,
- *Regnul Protista (alge, fungi, protozoare, bacterii)*.

Agentii infectiosi implicati in **patologia umana** sunt in marea majoritate **Protiste** dar apartin si **Regnului Animal** (helminții/ viermii).

Nota: **Micologia** studiaza fungii, **Parazitologia** se ocupa de Protozoarele si **Helminții** implicati in **patologia umana**, iar **Bacteriologia** studiaza bacteriile.

Virusurile sunt structuri neidentificate ca si celule (deoarece nu isi pot sustine independent procesele metabolice necesare supravietuirii si multiplicarii) de studiul lor ocupandu-se **virusologia**.

Primele descrieri ale lumii microscopice au fost facute de **A. Leewenhoek** (sec. XVII) dar **fondatorii microbiologiei** se considera a fi **Louis Pasteur** (chimist, 1822-1895) si **Robert Koch** (1843-1910) deoarece ei au fundamentat *conceptul de etiologie specifica a bolilor infectioase*.



Antony van Leeuwenhoek
(1632 - 1723)



Louis Pasteur (1822 – 1895)



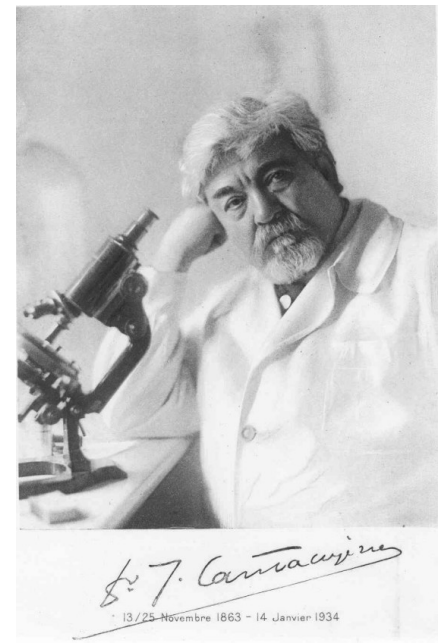
Robert Koch (1843 – 1910)

*Sfarsitul secolului XIX este considerat revolutionar in microbiologie, in aceasta etapa fiind descoperiti agentii etiologici ai principalelor boli infectioase fiind recunoscuta ca si “**Epoca de aur**” a microbiologiei.*

*In secolul XX, se fac progrese remarcabile in ceea ce priveste intelegerea organizarii structurale si a metabolismului microorganismelor. De asemenea sunt descoperite diferite antibiotice, acestea fiind utilizate ulterior in tratarea unor boli infectioase de aceea mijlocul secolului XX este considerat ca fiind “**A doua Epoca de aur**” a microbiologiei.*



Victor Babes (1854 – 1926)



Ion Cantacuzino (1863 – 1934)

*Este foarte important sa mentionam reprezentantii de seama ai microbiologiei romanesti: **Victor Babes** (1854-1926) si **Ion Cantacuzino** (1863-1934) cel din urma fiind fondatorul Institutului din Bucuresti, care-i poarta numele (1930).*

BACTERIOLOGIE- PARTEA GENERALA

Regnul *PROTISTA* este structurat in:

- Protiste superioare
 - celule *eucariote*: **fungi, protozoare, alge** (cu exceptia **algelor verzi-albastre*)
- Protiste inferioare
 - celule *procariote*: **bacterii** si **alge verzi-albastre*.

PROPRIETATI GENERALE ALE BACTERIILOR

MORFOLOGIA BACTERIANA SI ULTRASTRUCTURA BACTERIANA

MORFOLOGIA BACTERIANA

Forma, dimensiunea (de ordinul micrometrilor) si **asezarea bacteriilor** pot fi evidentiata cu ajutorul **microscopului optic**.

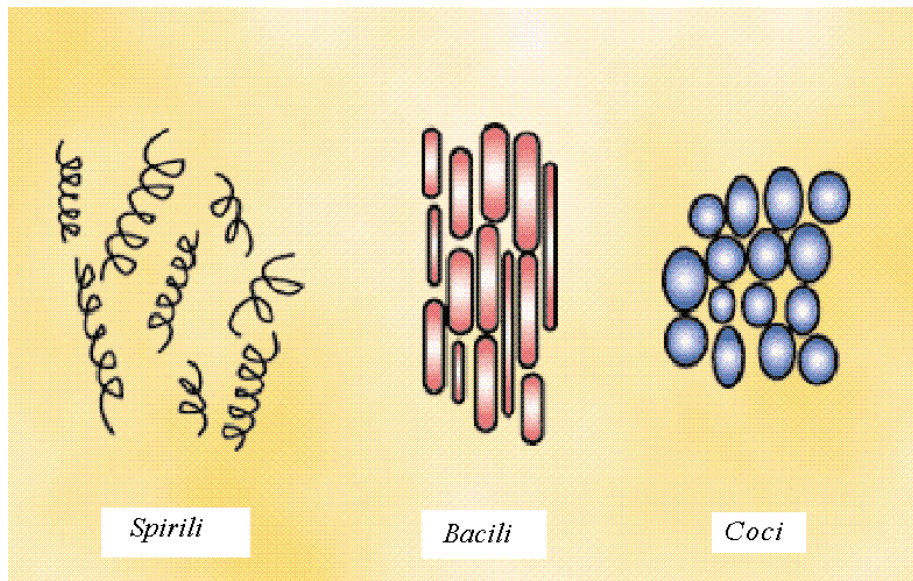


Fig. 1 – Formele fundamentale ale bacteriilor

Se descriu trei **forme fundamentale (fig. 1)**:

1. *forma sferica- coci*,
2. *forma de bastonas- bacili*,
3. *forma spiralata- spirili* si
forme intermediare- cocobacili.

1. **Cocii** – sunt *rotunzi** și au *diametrul* de aproximativ $0.6-1.0\ \mu\text{m}$

* există forme deviate de la cea sferică, cum ar fi:

- forma ușor alungită - **streptococii**
- în "*flacăra de lumanare*" - **pneumococii**
- "*boabe de cafea*": **gonococii, meningococii**

** după diviziunea celulară, *dispoziția* lor poate fi diferită: unii pot rămâne alipiti (fig. 2):

- doi câte doi – așezare "*in diplo*": *pneumococii, gonococii, meningococii*,
- "*in lanturi*" – *streptococii*,
- "*in ciorchine*" - *stafilococii*.

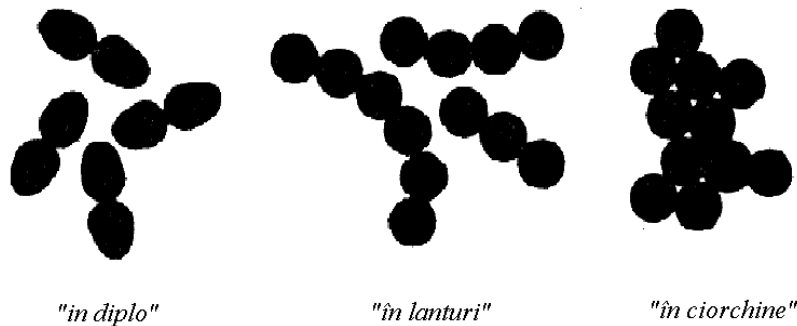


Fig. 2 – Dispoziția cocilor

2. **Bacilii** – au forma de **bastonase** (o formă aparte o au *vibrionii holerei*, care sunt bacili scurți sub forma de virgulă); bacilii:

- au *diametrul* longitudinal este mult mai mare (de aproximativ $6-10\ \mu\text{m}$) decât cel transversal,
- pot avea *capetele* drepte (*bacillus anthracis*) sau rotunjite,
- pot prezenta *aranjări** *specifice*:
 - *in lanturi*- streptobacili (fig. 3),

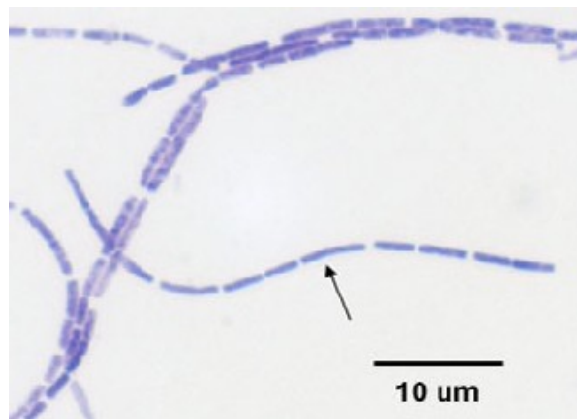


Fig. 3 – Dispozitia streptobacililor
- in diplo- diplobacili (fig. 4),

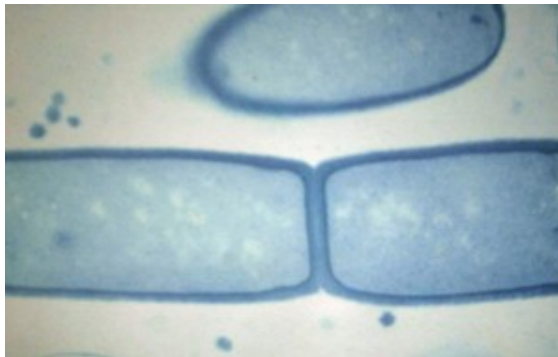


Fig. 4 – Dispozitia diplobacililor

- sau pot ramane cu capetele lipite formand diferite unghiuri: aspect de **litere chinezești** (bacilul difteric) (fig.5)



Fig. 5 – Dispozitia bacililor difterici

- aspect de ramificatii a unor bacili foarte lungi (*Actinomyces spp*) (fig. 6)

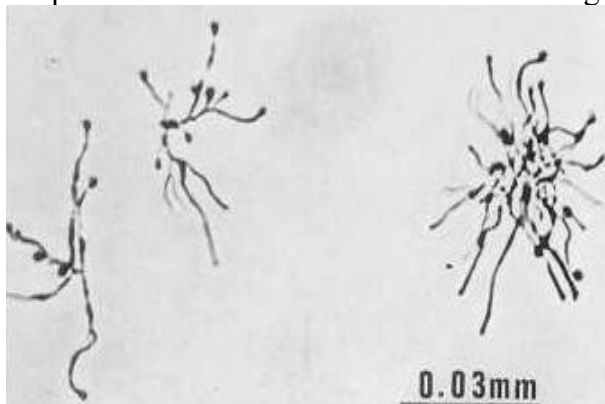


Fig. 6 – Dispozitia si aspectul bacililor din sp. Actinomyces

- in functie de prezenta anumitor **incluziuni** sau a **sporilor**, pot apare deformati:
 - forma de “*piscoi*”, de “*haltera*”, cu asezare in gramezi,
 - forma de “racheta” sau “bat de tobosar” (*bacilii sporulati din genul Clostridium*) (fig.7).

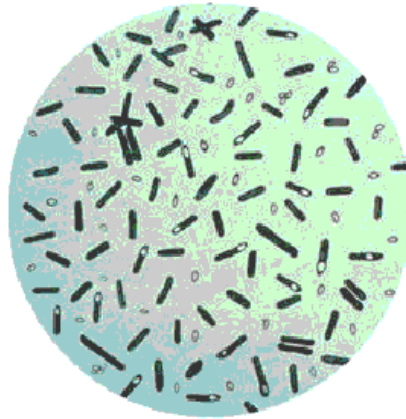


Fig. 7 – Aspectul bacililor sporulati din genul Clostridium

3. Bacteriile cu forma spiralata prezinta cateva variante:

- cu o singura tura de spire, avand forma de virgula (*vibrionii*) (fig. 8),

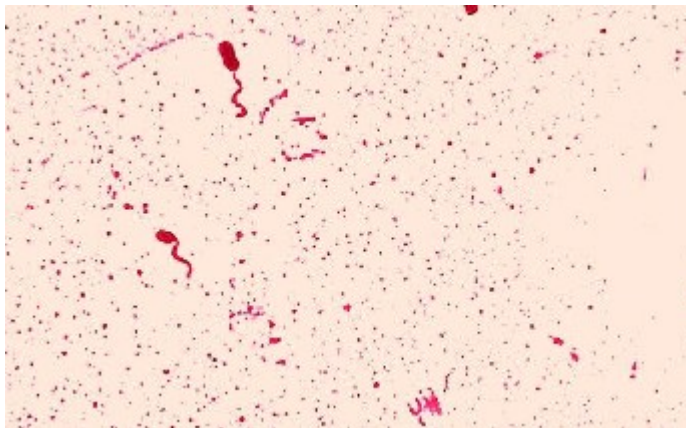


Fig. 8 – Vibrio cholerae

- bacterii cu **mai multe ture de spire**: *spirilii adevarati* (*saprofiti, cu perete rigid*) si **spirochete** (*in general patogene, cu perete flexibil si mobile*); acestea din urma sunt usor

de evidentiat la microscopul cu fond intunecat (*fig. 9*), observandu-se motilitatea foarte mare a bacteriilor.



Fig. 9 –Treponema pallidum (evidentiata la microscopul cu camp intunecat)

Exista unele *abateri morfologice* de la cele 3 categorii mentionate mai sus:

4. *Mycoplasmele* si *formele „L”* ale bacteriilor:

- ***Mycoplasmele*** au structura asemanatoare cu a celorlalte bacterii, dar **nu au perete celular**; acest lucru explica faptul ca Mycoplasmele pot apare sub forme variabile (*cocoidale, filamentoase*) si prezinta o mare fragilitate.
- ***Formele „L”*** sunt forme derivate din celule bacteriene (*coci, bacili*); si se formeaza *sub actiunea anumitor antibiotice (Penicilina)* asupra peretelui celular bacterian.

5. *Cocobacilii* sunt forme intermediare intre coci si bacili (*fig. 10*).



Fig. 10 – Cocobacilii (ME)

***Asezarea bacteriilor in preparatele microscopice** poate fi de un real folos in diagnosticul de laborator al infectiilor bacteriene.

Modul de aranjare (*dispozitie*) a bacteriilor este influentat de planurile de diviziune (*paralele, perpendiculare...*) si de tendinta celulelor fice de a ramane atasate dupa diviziune (*fig. 11*).

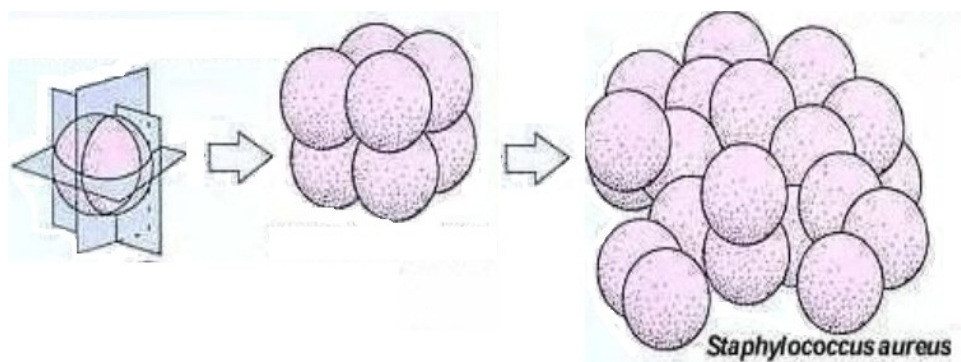


Fig. 11 – Dispozitia stafilococilor dupa diviziune

STRUCTURA CELULEI BACTERIENE

Fata de **celulele eucariote**, cu tip de organizare superior din punct de vedere structural si genetic, **bacteriile** au o organizare structurala mai simpla si sunt **celule de tip procariot** (tabel I).

Tabel I. Diferentele semnificative dintre celulele eucariote si procariote

<i>Nivelul structural</i>	<i>Celule eucariote</i>	<i>Celule procariote</i>
Informatia genetica	nucleu adevarat • bine delimitat de membrana nucleara, ce prezinta pori • material nuclear organizat in cromozomi (numarul lor este in functie specie) • aparat mitotic dezvoltat	• nucleoid care este un echivalent nuclear (nu este un nucleu propriu-zis) • fara membrana nucleara, dispus lax intracitoplasmatic • un singur cromozom (1 molecula de ADN circular)
Cito-plasma	• compartimentata, cu organite specifice: ribozomi, reticul endoplasmatic, lizozomi, mitocondrii	• necompartimentata, fara organite specifice, cu exceptia ribozomilor (rol in sinteza proteinelor structurale si functionale)
Peretele celular	• fara perete celular	• structura obligatorie a bacteriilor (exceptie Mycoplasmele si formele L)
Diviziunea celulara	• meioza si mitoza	• prin sciziparitate

Celula bacteriana prezinta doua tipuri de formatiuni structurale (fig. 12)

- **A. obligatorii** (prezente la toate speciile bacteriene) si sunt reprezentate de:
 - **nucleoid** (echivalent nuclear),
 - **citoplasma**,
 - **membrana citoplasmatica** si
 - **perete celular** (cu exceptiile prezentate mai sus);
- **B. facultative** (care apar doar la anumite tulpini bacteriene) si sunt:
 - **cilii** (flagelii),
 - **pilii** (fimbrii),
 - **spor** (endospor) si
 - **capsula**.

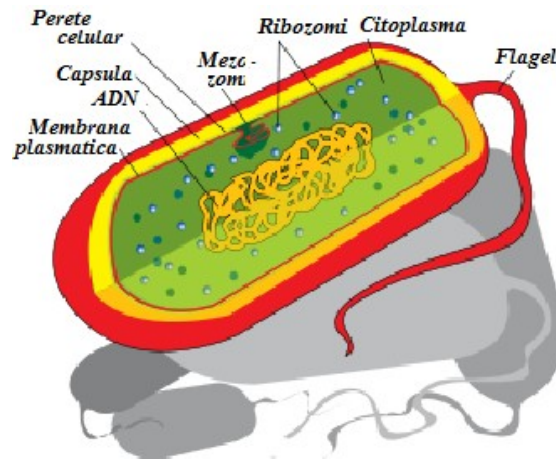


Fig. 12 – Structura celulei bacteriene

A. STRUCTURILE OBLIGATORII ALE CELULEI BACTERIENE

Nucleoidul sau **echivalentul nuclear** nu posedă membrana nucleară, fiind răspândit în toată citoplasma și este reprezentat de *cromozomul unic bacterian* - o moleculă de ADN circular, ce codează informația genetică.

În citoplasma celulei bacteriene mai pot exista molecule mici de *ADN extracromozomial*, reprezentat de *plasmide* (acestea codifică în general caractere de patogenitate cum ar fi rezistența la antibiotice, sinteza de exotoxine, eliberare de substanțe cu potențial toxic pentru alte bacterii, cunoscute sub denumirea de bacteriocine).

Citoplasma este fin granulată și puternic bazofilă, datorită conținutului crescut în **ribozomi** și ARN.

Sintezele proteice sunt codificate de către *ADN-ul bacterian*, iar informația este copiată pe *mARN-mesager*, iar intracitoplasmatic *tARN-de transport*, aduce la nivel ribozomal AA corespunzători secvenței codate și *rARN- ribozomal* participă la *sinteza moleculei proteice structurale sau functionale ale celulei*).

Pot fi descrise și *alte structuri citoplasmice*:

- *incluzii* cu *material de rezerva* pentru metabolismul celular, de exemplu incluzii cu metafosfati - *corpusele metacromatice Babes - Ernst* la bacilul difteric și *incluzii cu glicogen* la Enterobacterii;
- *vacuole* (ce conțin lichid sau gaze).

Membrana citoplasmatică a celulei bacteriene se situează între citoplasma și peretele celular și are o *structură trilaminară fosfolipidică* similară cu a celorlalte membrane celulare.

Rolurile membranei sunt multiple functionând ca:

- *Bariera osmotică* (permeabilitate doar pentru apă și molecule proteice mici),
- *Membrana selectivă* (constituenții utili din mediu sunt direcționați în citoplasma prin transport activ),
- *Funcție bioenergetică* (preia rolul mitocondriilor din celulele eucariote, la acest nivel se generează și se stochează energia celulară),
- *Formarea septului de diviziune* (cu participarea mezozomului care este o invaginare a citoplasmei),
- *Sinteza peretelui celular* și a membranelor sporale,
- *Structura tinta* pentru dezinfectante (detergenți) și antibiotice (Polimixine și Colistine).

Peretele celular (fig. 13) este *structura externă* a celulei bacteriene cu numeroase funcții:

- *Structura tinta* pentru lizozim și antibiotice (β lactaminele: Peniciline, Cefalosporine),
- *Sediul sistemelor de transport* pentru substanțele nutritive,
- *Sediul receptorilor* pentru bacteriofagi (virusuri ale bacteriilor) și bacteriocine,
- *Structura antigenică de suprafață* (antigenul O somatic pe baza căruia se poate face clasificarea diferitelor bacterii),
- Participă la *diviziunea celulară*,
- *Împreună cu proprietățile morfotinctoriale* (forma și răspunsul la diferite metode de colorare):
 - răspunsul diferentiat la **colorația Gram** (care este colorația uzuală în bacteriologie) se datorează structurii diferite a peretelui celular, astfel se pot identifica: **Gram pozitive** (cu grosimea mai mare a peretelui dar cu structură mai simplă, bacteriile fiind colorate în **violet**) și **Gram negative** (peretele celular este foarte subțire, dar structura mult mai complexă, bacteriile fiind colorate în **roșu**)

- prin coloratia speciala **Ziehl-Neelsen** se identifica *bacilii acido- alcoolorezistenti* (*bacilul tuberculos*) colorati in rosu, datorita continutul crescut in lipide (*acizi micolici*) al peretelui celular.

Peretele celular la bacteriile **Gram pozitive**, are o grosime de 15-50 nm, fiind constituit din mai multe straturi suprapuse de *peptidoglicani* (proteine, polizaharide si *acizi teichoici*, acestia din urma au un rol important in aderarea si colonizarea mucoaselor si sunt dotati cu proprietati antigenice avand abilitatea de a induce sinteza de anticorpi specifici).

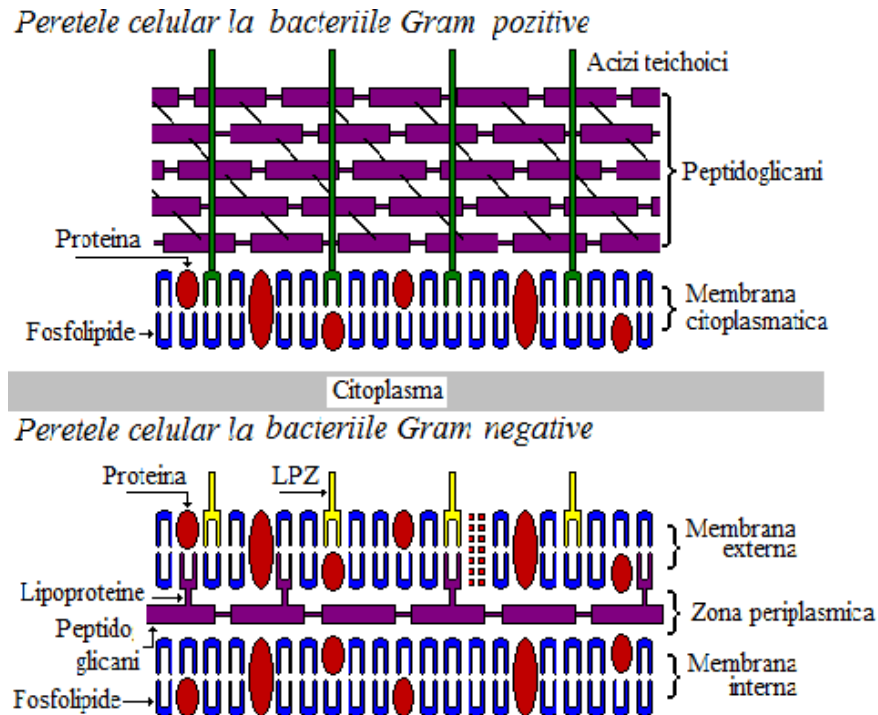


Fig. 13 – Structura peretelui celular la bacteriile Gram pozitive si bacteriile Gram negative

Peretele celular la bacteriile **Gram negative** este mai subtire (3-8 nm) dar este mai complex din punct de vedere structural. La periferia *membranei citoplasmatice* se gaseste *zona periplasmica*, la nivelul careia se afla *peptidoglicanul*; aceasta zona este marginita la exterior de *membrana externa*, peste care se suprapune un *strat polizaharidic*, care are un dublu rol: este *antigenic* (**antigenul O** de suprafata) si reprezinta **endotoxina** bacteriilor Gram negative, care se elibereaza in mediu doar in urma lizei celulare.

B. FORMATIUNILE FACULTATIVE ALE BACTERIILOR

Cili (*flagelii*) sunt formatiuni apendiculare de natura proteica cu rol in *propulsarea celulei* (*organe de locomotie*) spre sursa de hrana (*chemotactism*).

Sunt formațiuni specifice **bacteriilor mobile** și de regula apar la *bacili* sau *vibrioni* cu o **lungime** mai mare decât corpul bacterian.

În funcție de numărul cililor și de așezarea acestora, se descriu mai multe tipuri (fig. 14):

- **atrich**, fără cili (*bacterii imobile*),
- **monotrich**, cu cil unic la unul dintre poli (A),
- **lofotrich**, cili multipli (*manunchi*) la unul dintre poli (B),
- **amfitrich**, cu câte un cil la ambii poli (C),
- **peritrich**, cu cili multipli în jurul celulei bacteriene (D).

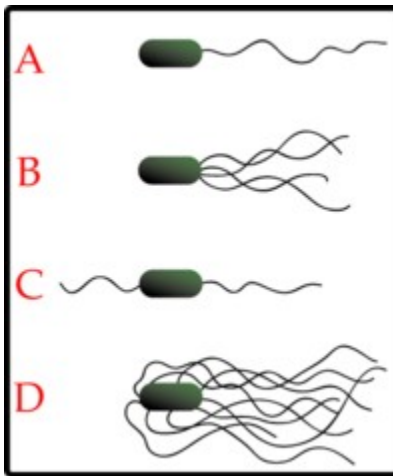


Fig. 14 – Tipurile de bacterii în funcție de numărul și dispoziția cililor

Prezența **cililor** conferă un important **factor de patogenitate** la bacterii, deoarece proteinele ciliare (*flagelinele*) sunt **antigenice** (*antigenul H- flagelar*) fiind capabile să determine *sinteza de anticorpi specifici*.

Pili (fimbriile)

Sunt structuri multiple, scurte, drepte, filamentoase, rigide (*nu au rol în locomotie și pot exista atât la bacterii mobile cât și imobile*). În general sunt dispuși la suprafața celulei (*peritrich*).

Reprezintă factori de patogenitate, având origine proteică (*piline*) cu funcție antigenică (*abilitatea de a induce sinteza de anticorpi specifici*).

Apar mai ales la bacteriile **Gram negativ** (*Neisserii, Pseudomonas, Enterobacterii*) și din punct de vedere funcțional sunt de două tipuri:

a. Pili comuni (somatici) care sunt *codificați cromozomial* și au rol în *aderarea* la structurile celulare țintă (*de exemplu colonizarea epiteliilor constă în aderarea bacteriilor la receptori celulari, urmată de multiplicarea lor*) dovedindu-se patogenitatea lor; de asemenea sunt *receptori pentru bacteriofagi (virusuri ale bacteriilor)* proprietate care permite *lizotiparea tulpinilor* în funcție de prezența receptorilor față de un anumit bacteriofag.

b. Pili de conjugare (*sexuali*) sunt codificați de plasmide și au rol în transferul de material genetic extracromozomial (*plasmide*) între perechi de celule: donoare și acceptoare, prin *fenomenul de conjugare* (prin intermediul pililor de conjugare ai celulei donoare, se creează un canal prin care materialul genetic este transferat celulei acceptoare, care astfel capătă proprietăți noi, în special de rezistență față de anumite antibiotice față de care până atunci a fost sensibilă).

Capsula. În condiții naturale de viață se presupune că unele specii bacterii ar prezenta un *invelis de suprafață*, **glicocalix**, cu rol în aderare la structurile țintă; acesta este reprezentat de o masă de fibre polizaharidice întretăiate;

Se evidențiază la *microscopul optic* ca un halou necolorat în jurul celulei; se pot utiliza colorații speciale pentru evidențierea sa (*cu tus de China*). sau prin reacția de umflare a capsulei cu ajutorul **anticorpilor antiK** (*anticapsulari*).

Este prezentă la: pneumococi (*Streptococcus pneumoniae*) *Haemophilus*, *Klebsiella*, meningococi (*Neisseria meningitidis*), *Clostridium perfringens*.

Cele mai importante dintre funcțiile pe care capsula le îndeplinește, sunt:

- *funcția antifagocitară* și de rezistență la acțiunea factorilor fizici și chimici,
- *aderare la receptori* structurilor țintă,
- *inhibă activitatea bactericidă* a sistemului complement și a altor factori serici,
- reprezintă material de rezervă celular,
- este antigenică (*antigenul K- capsular*).

La unele bacterii există doar un **strat mucos de suprafață** (*evidențiat doar electronomicroscopic*).

Sporul bacterian reprezintă *forma de rezistență a bacteriilor* la condițiile nefavorabile din mediu, identificată ca o *stare dormantă a bacteriilor*, în care nu se sintetizează proteine.

Reprezintă o *proprietate de specie* și este utilă în *identificarea bacteriilor*. Cu ajutorul *microscopului electronic* se poate evidenția *structura complexă* a acestuia în care cortexul determină rezistența la căldură și la menținerea deshidratării.

În **condiții nefavorabile**, *forma vegetativă** a bacteriei trece în forma de rezistență (*spor*) prin procesul de **sporulare**; când sporul ajunge în **condiții prielnice**, pierde învelișurile și revine la forma vegetativă prin procesul de **germinare**.

Nota: * **forma vegetativă** este forma capabilă să se multiplice și să producă boala.

Din punct de vedere al *patologiei umane* sunt implicate două genuri bacteriene sporulate: **Genul Bacillus** (*B. anthracis*) și **Genul Clostridium** (*C. tetani*, *C. botulini*, *C. perfringens*)

Dacă dimensiunea sporilor este mai mare decât diametrul transversal al celulei bacteriene forma celulei va fi modificată, cu variantele de:

- așezare terminală (*forma de bat de tobosar*) **Clostridium tetani** (fig. 15),



Fig. 15 – Clostridium tetani (100x)

- asezare subterminala (forma de racheta) **Bacillus cereus** (fig. 16),



Fig.16 – Bacillus cereus (IF)

- asezare centrala (forma de suveica) **Bacillus anthracis** (fig. 17).

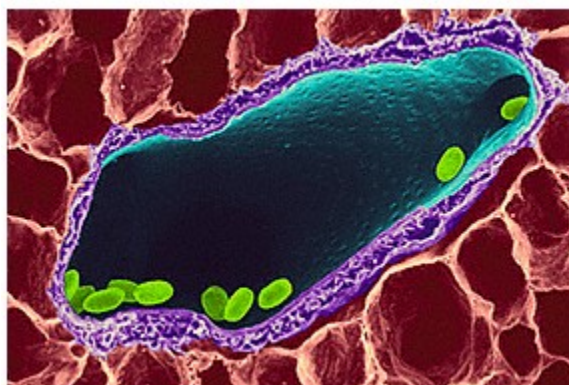


Fig. 17 – Bacillus anthracis (IF)

Metodele de sterilizare tin cont de posibilitatea prezentei tulpinilor sporulate, motiv pentru care atat intervalul de timp cat si nivelul temperaturii sunt adaptate acestei eventualitati, de aceea si metoda de control a sterilizarii se face cu tulpini sporulate de *Bacillus stearothermophilus*.

METABOLISMUL BACTERIAN

Bacteriile, ca și la celelalte celule vii, pot fi descrise atât pe baza **compoziției chimice**: proteine, lipide, glucide, apă, NaCl..., cât și a **metabolismului** (*prezintă o mare varietate metabolică ce nu se întâlnește la organisme superioare*).

Principalele *cai* ale **metabolismului bacterian** sunt:

- *ciclul acizilor tricarboxilici*,
- *glicoliza* - calea de degradare anaerobă a glucozei,
- *caile de degradare oxidativă ale acizilor grași*,
- *sinteza proteinelor* pe baza informației conținute de molecula de ADN.

Cunoașterea *proprietăților metabolice ale bacteriilor* are o **importanță medicală** deosebită, în vederea:

- *izolării bacteriilor patogene* în produsele patologice ale bolnavilor,
- *identificării* lor și
- *testării sensibilității lor la diferite antibiotice*.

CARACTERELE GENERALE, PROPRII METABOLISMULUI BACTERIAN

Metabolismul bacterian are o serie de particularități prin care se individualizează:

- este **unicelular** - întreaga activitate se desfășoară strict în interiorul unei singure celule,
- este **necompartimentat** - în citoplasma nu sunt organite celulare (*cu excepția ribozomilor*)
- este **teleonomic** - în timp s-au dezvoltat reacții metabolice și sisteme de control care să le asigure o mare eficiență,
- are o **mare flexibilitate** - permite adaptarea rapidă a bacteriei la condiții variabile de mediu,
- are o **intensitate crescută** și o viteză mare de reacție (*de exemplu E.coli are un timp de diviziune de aproximativ 20 min*),
- este **restrictionat genetic** (*cromozomul bacterian codifică sinteza a aproximativ 3000 proteine*).

Pentru **izolarea** si **identificarea bacteriilor** in conditii de laborator, trebuie furnizate *conditii optime de metabolism*, implicit de *multiplicare*, asigurate prin utilizarea unei game largi de *medii de cultura*, cu compozitie variata ce contin: *amestec de substante nutritive*, *glucoza*, *sursa de carbon*, *acetat* sau de *azot*, *saruri de Mg, Fe*.

Aceste *medii de cultura* trebuie sa asigure in aceeasi masura *substante nutritive*, *pH* optim, *osmolaritatea* si *potentialul redox* necesar unei *multiplicarii optime* a bacteriilor, cu conditia si a asigurarii *temperaturii optime* in timpul incubarii.

Temperatura reprezinta un factor foarte important de mediu care influenteaza multiplicarea bacteriilor, putand fi:

- *minima* - sub care bacteriile se divid lent,
- *maxima* - peste care bacteriile nu se mai divid si
- **optima** - la care multiplicarea se face cu viteza specifica speciei.

In functie de **temperatura optima**, bacteriile *se clasifica* in:

- **criofile** - cele care se dezvoltă optim la 10°C , dar care se pot dezvolta si la 0°C (*important in cazul alimentelor conservate la rece*),
- **mezofile** - cele care au *temperatura optima* la $30-40^{\circ}\text{C}$ (*cele mai multe, intre $35-37^{\circ}\text{C}$*); majoritatea bacteriilor implicate in patologia umana sunt mezofile - pentru izolarea lor este necesara asigurarea unei temperaturi de 37°C ,
- **termofile** - au temperatura optima $60-70^{\circ}\text{C}$, dar exista si bacterii care se dezvoltă la 100°C (*fierbere*) - important de cunoscut in cazul bacteriilor din apele termale si a solurilor expuse la lumina si caldura solara.

pH-ul optim

Majoritatea bacteriilor se dezvoltă la un **pH neutru** (*pH de 7*) insa exista bacterii care prefera **valori extreme de pH**, cum sunt:

- *Lactobacillus (flora vaginala)* care prefera **pH acid** (*pH de 2*),
- *Vibrio cholerae* care are un **pH optim foarte alcalin** (*de 9,2*) pentru izolarea si identificarea lui, utilizandu-se un *mediu de imbogatire alcalin – apa peptonata*.

Osmolaritatea este conditionata de *concentratia sarurilor din mediu de dezvoltare*:

- *majoritatea* bacteriilor sunt **osmotolerante**, se dezvoltă mai bine la o concentratie fiziologica a sarurilor,
- exceptii sunt unele bacterii care se dezvoltă mai bine in conditii de *osmolaritate crescuta*, cum sunt **stafilococii** (*halotoleranti*) pentru a caror izolare se utilizeaza *mediul Chapmann*, ce contine *NaCl de 9%*.

TIPURI DE NUTRIȚIE LA BACTERII

Necesitățile metabolice ale bacteriilor sunt definite pe baza a două criterii majore:

- *sursa de energie* și
- *sursa de carbon*.

În funcție de **sursa de energie**, bacteriile pot fi:

- **fototrofe** - bacterii fotosintetice care *utilizează energia solară*,
- **chimiotrofe** - utilizează energia obținută din *degradarea substanțelor chimice*:
 - **chimioorganotrofe** - când se utilizează *substanțe organice* și
 - **chimiolitotrofe** - când se utilizează *substanțe anorganice*.

În funcție de **sursa de carbon** utilizată, bacteriile pot fi:

- **autotrofe** - se dezvoltă pe medii alcătuite doar din *substanțe anorganice* și întregul material celular este sintetizat pornind numai de la CO_2 ,
- **heterotrofe** - utilizează **carbonul** din *substanțe organice* (majoritatea **bacteriilor patogene**);
- **mixotrofe** - cele care pot utiliza carbonul atât din CO_2 cât și din *substanțe organice*.

Bacteriile care „parazitează” omul se pot identifica ca și: **chimioorganotrofe, heterotrofe, mezofile și osmotolerante**.

Pentru **activitățile celulare bacteriene** (*mobilitatea ciliară, transportul activ...*) este nevoie de o anumită cantitate de **energie** pentru generarea căreia există *multiple posibilități*; *energia* în final va fi stocată în *legături macroergice* și va fi *eliberată* în funcție de *nevoile celulare*.

După **tipul de eliberare a energiei** și efectele **oxigenului din mediu**, bacteriile pot fi:

- **strict aerobe** cu următoarele caractere:
 - folosesc *respirația oxidativă*,
 - se dezvoltă *numai în medii cu oxigen*,
 - exemple sunt bacteriile din genurile *Mycobacterium, Bacillus*;
- **strict anaerobe** care nu au enzime de degradare a H_2O_2 (*catalază, peroxidază*) de aceea:
 - *oxigenul* le este *toxic* (*în prezența sa s-ar produce H_2O_2 cu efect toxic*),
 - folosesc *procesele fermentative* pentru eliberarea energiei,
 - exemple sunt bacteriile din genurile *Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium, Peptostreptococcus, Veillonella*;

- **aerob – anaerob facultative:**
 - energia necesara este obtinuta prin *fermentatie* sau *respiratie oxibiotica*, in functie de *prezenta* sau *absenta oxigenului din mediu*,
 - sunt reprezentate de *majoritatea bacteriilor patogene* pentru om;
- **anaerobe – aerotolerante:**
 - obtin energia prin *fermentatie*, dar *oxigenul nu le este toxic*,
 - *se pot dezvolta si in medii cu oxigen (Streptococcus mutans- din flora comensala a santului gingival, implicat in patogeneza cariei dentare)*;
- **microaerofile:**
 - se dezvolta in prezenta unei *cantitati mici de CO₂ (5-20%)*,
 - exemple sunt *Brucella spp, Neisseria spp.*

Exista si bacterii care au **necesitati metabolice suplimentare:**

- *glucoza, saruri minerale* ca si *sursa de carbon*,
- anumiți *aminoacizi*, din care-si vor putea sintetiza proteinele specifice (*azot aminic*),
- *azotul anorganic: NH₄⁺*, nitriti, nitrati,
- *factori de crestere:* vitamine, aminoacizi, nucleotide, baze azotate, acizi grasi, colesterol, alti factori X,V (*Haemophilus*).

Nutritie de tip paratrof exista la *microorganismele* care prezinta *defecte metabolice*, care le obliga sa „*paraziteze*” o alta celula vie pentru a putea supravietui si multiplica.

Anabolismul bacterian este reprezentat de totalitatea proceselor metabolice care asigura biosinteza materialului celular necesar pentru cresterea si multiplicarea microorganismelor.

Procese anabolice se desfasoara in mai multe etape:

- patrunderea substantelor nutritive in celula,
- biosinteza proteinelor structurale si functionale pe baza informatiei genetice,
- controlul activitatii enzimatice.

CRESTEREA SI MULTIPLICAREA BACTERIILOR

La un moment dat, in conditii favorabile toti *constituentii celulari se dubleaza cantitativ*, parte ca procesului de *diviziune celulara (sciziparitatea)*. *Invaginarea membranei citoplasmatic* dublate de *invaginarea peretelui celular*, determina aparitia *septului de diviziune* care permite *separarea celor doua celule-fice (identice atat intre ele cat si cu celula parentala)*.

Suma evenimentelor celulare de la initierea sintezei proteice pana la diviziunea celulara constituie **ciclu celular**; acesta este *controlat de ADN-ul cromozomial* care *codifica proteinele* si *se replica inainte de diviziunea celulara*.

Multiplicarea celulara poate fi urmarita „*in vitro*” pe medii de cultura lichide, prin:

- **evaluarea numărului total de celule vii și moarte** (numaratoare automata sau microscopic in camera de numarare),
- **evaluarea numărului total de celule vii** (prin transfer pe medii de cultura solide stiindu-se ca dintr-o celula se dezvoltă o singura colonie),
- **evaluarea masei celulare** (dupa centrifugare și uscare),
- **determinarea fotometrica (DO)** care permite **evaluarea numărului de celule vii din 1 ml de suspensie bacteriana**.

Pe baza acestor date s-a putut construi **curba de dezvoltare a bacteriilor**, care prezinta urmatoarele **faze**:

- de **latenta** - faza de pregatire celulara pentru crestere și multiplicare,
- de **initiere a accelerarii multiplicarii**,
- de **crestere celulara și multiplicare logaritmica** (cresterea cantitatii de ARN, a numărului de ribozomi și a activitatii metabolice); in aceasta faza bacteriile sunt foarte sensibile la agentii fizici și antibiotice,
- **stationara** sau **de platou** –cand numărul de celule vii este aproximativ egal cu al celor moarte
- **de declin** - cand numărul celulelor moarte îl depășeste pe cel al celulelor vii urmata de scaderea până la epuizare a substantelor nutritive din mediu, scaderea pH și a concentrației O₂, cu acumularea de produși toxici și supravietuirea unui număr mic de bacterii in suspensie, pentru o perioada foarte lunga de timp.

ACTIUNEA AGENTILOR FIZICI SI CHIMICI ASUPRA BACTERIILOR

Anumite conditii de mediu **pot avea un efect favorabil sau nefavorabil asupra dezvoltării bacteriilor**.

Efectele nefavorabile pot fi identificate ca si:

- **bacteriostatice** cand are loc *atenuarea sau oprirea multiplicării bacteriilor*, insa **fara a se produce moartea lor**, este un **proces reversibil** și
- **bactericide** - **omorarea bacteriilor, proces ireversibil**.

Efectele factorilor de mediu asupra bacteriilor sunt *conditionate de*:

- *natura microorganismului și forma de existenta a bacteriilor (vegetativa sau spor)*,
- *caracterele de specie*,
- *compozitia chimica a bacteriilor și*
- *faza de dezvoltare a culturii bacteriene*.

Efectele agentilor fizici asupra microorganismelor, pot fi utilizate frecvent *in practica medicala*, cu diferite scopuri:

- **sterilizarea** (*obiectelor, instrumentarului, alimentelor, mediilor de cultura...*)
- **dezinfecția** (*suprafetelor de lucru, aerului din incaperi*)
- obtinerea de **vaccinuri, seruri, alte preparate bacteriene**,
- **conservarea** anumitor **tulpini bacteriene**,
- obtinerea de **suse bacteriene** cu **virulenta atenuata** sau **nula**.

Sterilizarea se definește ca totalitatea *metodelor fizice* (*caldura, radiatii, ultrasunete*) prin care sunt **distruse toate formele bacteriene** (*inclusiv sporii*) atat de la suprafata cat si din interiorul obiectelor supuse acestui procedeu.

Dezinfecția se definește prin totalitatea *metodelor chimice* prin care se **distrug majoritatea bacteriilor patogene** de pe suprafetele de lucru sau obiectelor, precum si de la suprafata tegumentelor si mucoaselor (*antiseptizarea*).

ACTIUNEA AGENTILOR FIZICI

Temperatura **poate avea un efect favorabil sau nefavorabil** asupra **dezvoltarii si multiplicarii bacteriilor**.

Temperatura inalta **actioneaza prin ruperea legaturilor intramoleculare ale proteinelor si altor molecule**, actiunea fiind potentata de *prezenta apei*, deoarece aceasta are o conductivitate termica crescuta, iar actiunea este mai rapida.

Majoritatea *formelor vegetative* sunt distruse la $50-60^{\circ}\text{C}$, pentru siguranta se utilizeaza temperatura de 56°C , valoare peste care toate formele vegetative sunt distruse.

Sporii contin o cantitate mica de apa, prin urmare sunt mult mai rezistenti la temperatura crescuta, fiind distrusi la temperaturi cuprinse intre $100-180^{\circ}\text{C}$, astfel se explica de ce autoclavarea (120°C , 1 atm , 30 min) este **cea mai eficienta metoda de sterilizare**, distrugand atat *sporii* cat si *formele vegetative*.

Desicarea sau **uscarea la aer** permite indepartarea apei din celulele bacteriene insotita de modificari structurale importante (*denaturari proteice, concentrarea unor saruri*) care duc in final la **distrugerea formelor vegetative** la unele specii bacteriene, in *cateva ore* (*pneumococ, gonococ, Vibrio cholerae*) si in *cateva zile* in prezenta radiatiilor solare a bacilului Koch.

Temperatura scazuta

Liofilizarea este o metoda prin care se pot obtine **preparate utile in terapia antibacteriana** si consta in **conservarea in vid** a unor tulpini bacteriene prin utilizarea unei solutii protectoare de proteine, prin **racire la -78°C (zapada carbonica)**.

Temperaturile scăzute, în jurul celei de 0°C , au un efect bacteriostatic și astfel bacteriile pot fi conservate în stare de latentă o perioadă îndelungată.

Congelarea microorganismelor - se poate realiza la temperaturi cuprinse între -78°C și -20°C ; se preferă congelarea rapidă care conservă structurile celulare, deoarece congelarea lentă duce la apariția unor cristale aciculare intracitoplasmice care în final induc ruperea structurilor celulare.

RADIATIILE

Radiatiile sunt definite ca modalitatea de propagare și transmitere a diferitelor forme de energie în spațiu; energia este produsă de:

- ***mişcarea undelor sub acțiunea câmpurilor electrice și***
- ***mişcarea particulelor atomice emise de substanțele radioactive.***

În funcție de lungimea de undă, timpul de expunere și mărimea sursei, efectele acestor radiații pot fi:

- ***de stimulare a funcțiilor biologice,***
- ***aparitia mutațiilor induse și***
- ***moartea celulară.***

Mecanismele prin care se pot produce aceste modificări sunt:

- ***creșterea vibrațiilor interatomice,***
- ***excitarea electronilor,***
- ***ruperea moleculelor cu rearanjarea ADN (mutațiile)***
- ***denaturări proteice,***
- ***aparitia de compusi toxici (H_2O_2 , O_3 , ioni, diferiți produși de degradare ai acizilor nucleici, aminoacizilor, bazelor azotate, lipidelor, glucidelor...).***

Radiatiile neionizante sunt reprezentate în primul rând de radiatiile din spectrul UV; sursa naturală de UV este reprezentată de radiatiile solare, iar ca surse artificiale sunt utilizate lampile cu cuarț.

Aceste tip de radiații acționează pe ADN-ul celular și au un efect puternic bactericid. Radiatiile UV sunt utilizate la sterilizarea suprafetelor netede și a aerului din încăperi.

Radiatiile ionizante sunt reprezentate de molecule ionizate care reacționează cu toate moleculele din jur producând mai multe tipuri de efecte nocive:

- ***radioliza apei prezintă în diferite structuri celulare (producerea de H^+ , OH^- , H_2O_2),***
- ***leziuni ale moleculelor de ADN urmate de blocarea multiplicării celulare.***

Sursele de radiații ionizante sunt: electronii de mare viteză (radiatiile β și γ) unde electromagnetice (radiatiile X) neutronii și nucleii de Helium (radiatiile α).

Ultrasunetele **determina ruperea peretelui celular cu dezintegrarea structurilor intracelulare și eliberarea de energie sub forma de caldura (se dezvoltă temperaturi ridicate de 50-80°C)** care determină **moartea bacteriilor**. Celulele procariote sunt mult mai sensibile decât cele eucariote, iar sporii bacteriilor sunt foarte rezistenți la acțiunea ultrasunetelor.

Agentii chimici **actioneaza asupra formelor vegetative ale bacteriilor**. In general **acestia sunt utilizati pentru distrugerea bacteriilor de pe diferite suprafete (inclusiv tegumente și mucoase) sau din aer**.

Un antiseptic eficient trebuie să îndeplinească următoarele cerințe:

- **sa omorie germenii la concentratii foarte mici intr-un timp cat se poate de scurt,**
- **sa posede un spectru antibacterian larg,**
- **sa fie solubil și stabil in apa și solventi organici,**
- **sa nu fie toxic sau iritant pentru tesuturi,**
- **sa fie penetrant in tesuturi,**
- **sa nu coloreze și sa nu se combine cu materiile organice.**

Agentii chimici **pot actiona prin mai multe tipuri de mecanisme:**

- **denaturarea proteinelor,**
- **interferenta cu gruparile chimic active ale proteinelor,**
- **actiune prin halogenarea sau oxidarea unor compusi,**
- **actiune reducatoare,**
- **alterarea permeabilitatii peretelui celular (agentii tensioactivi).**

Agentii de denaturare a proteinelor **sunt reprezentati de:**

- **acizii organici și anorganici cu actiune oxidanta; efectul lor depinde de concentratia H^+ ,**
- **bazele au o eficienta cu atat mai mare cu cat concentratia OH^- este mai mare,**
- **alcoolii au efect bactericid la concentratii de 50-70% și actioneaza prin mai multe mecanisme: denaturarea proteinelor, distrugerea complexelor lipidice din structura membranelor, scaderea tensiunii superficiale,**
- **sarurile ($NaCl$) in concentratii foarte mari pot avea efecte toxice sau inhibitorii.**

Agentii care interferează cu gruparile chimic active ale proteinelor (**enzime**) **actioneaza prin cuplarea cu gruparile $-SH$; principalii reprezentanti ai acestei categorii sunt: sarurile de Hg, sarurile de Ag ($AgNO_3^-$ utilizat pentru prevenirea oftalmiei gonococice) și sarurile de Cu (antifungic).**

Agentii care actioneaza prin halogenare si oxidare sunt reprezentati de:

- derivati de Clor (*hipoclorit de Na, K, clor gazos, cloramine*) - agenti de halogenare
 - derivati de Iod (*tinctura de iod, alcool iodat*)
 - peroxidul de hidrogen 3%
 - permanganatul de potasiu
- } agenti de oxidare

Agentii chimici alchilanti cu efect reductor sunt in general gazosi si sunt utilizati pentru *decontaminarea suprafetelor si aerului din incaperi*.

Principalii reprezentanti sunt:

- formolul care actioneaza in atmosfera umeda in concentratie de 70%, la 20°C; este utilizat si pentru *obtinerea anatoxinelor* dar si ca *fixator de tesuturi* sau *conservant*,
- glutaraldehida care este utilizata pentru *dezinfectarea instrumentarului si a tuburilor de cauciuc*; are o actiune puternic *bactericida, sporulicida, fungicida si virulicida*,
- oxidul de etilena in asociere cu CO₂ este utilizat in *sterilizarea materialelor termolabile cu ajutorul autoclavelor (sub presiune)*,
- diferiti coloranti (*violetul de gentiana, cristalul violet, verdele malachit, verdele brilliant*) au un *efect bacteriostatic*, unii chiar *efect bactericid*; sunt utilizati si ca *adaos in mediile nutritive selective* sau ca *indicatori de pH*; colorantii bazici sunt mai eficienti decat cei acizi.

Agentii care altereaza permeabilitatea peretelui celular, sunt de regula agenti tensioactivi, reprezentati de:

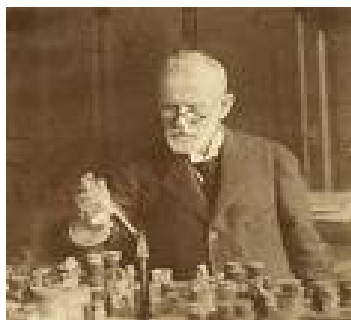
- detergenti anionici, cationici (*gruparea activa NH₄⁺*) si neionici,
- sapunuri (*indeparteaza mecanic impuritatile*),
- fenolii si derivatii lor sunt utilizati frecvent ca si conservanti pentru vaccinuri si seruri.

CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANA

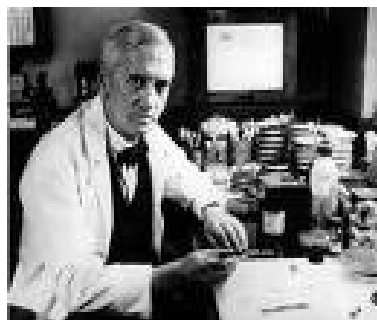
Sta la baza *tratarii unor boli infectioase* folosind *substante chimice naturale* sau *de sinteza*, cu scopul de a *inhiba dezvoltarea germenilor patogeni* sau de a *produce moartea lor*.

Parintele chimioterapiei moderne este **Paul Erlich** (*chimist*) care a stabilit modelul experimental de studiu al chimioterapicelor.

In anul 1929, **Flemming** a obtinut prima substanta cu actiune bactericida: **penicilina**. Aceasta s-a folosit pe scara larga incepand cu anul 1940 sub forma stabila, de sare de sodiu.



Paul Ehrlich
(1854-1915)



Alexander Fleming
(1888-1955)

Aparitia *penicilinei* a fost inceputul unui lung sir de descoperiri de substante rezultate din metabolismul unor microorganisme, cum sunt *Streptomicina* din *Streptomyces cerevisiae* si *Cefalosporinele* din *Penicillium cephalosporum*.



Fig.18 – Cultura de *Streptomyces cerevisiae*

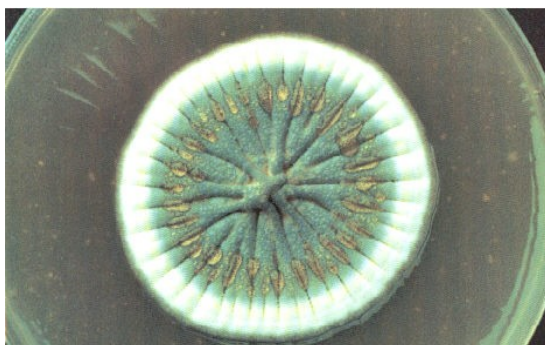


Fig. 19 – Cultura de *Penicillium cephalosporum*

In paralel s-au dezvoltat tehnicile industriale de obtinere a substantelor antibiotice si chimioterapice.

Antibioticul actioneaza de cele mai multe ori asupra sintezei de proteine la nivelul unitatilor ribozomale.

Chimioterapicul este substanța cu acțiune antimicrobiană care are toxicitate selectivă în doze mici, interferând specific cu o cale metabolică sau cu o anumită enzimă care are rol vital pentru viața bacteriei, în general cu acțiune pe peretele celular sau membrana citoplasmatică.

Pentru ca aceste substanțe să poată fi utilizate, trebuie să prezinte anumite **caracteristici**:

- să acționeze în *doze mici*,
- să posede o *acțiune selectiv - toxică*, fără efecte nocive la om și animale, dar cu activitate de inhibare a multiplicării bacteriilor (*efect bacteriostatic*) sau chiar de omorare a acestora (*efect bactericid*),
- să acționeze în *mediu organic*,
- să *difuzeze în țesuturi*.

Spectrul de acțiune al antibioticelor depinde de numărul total de specii bacteriene asupra cărora acționează, putându-se identifica:

Spectrul larg de acțiune:

- Aminoglicozidele (*Streptomicina, Kanamicina, Gentamicina*),
- Tetraciclina (*Tetraciclina, Oxitetraciclina*),
- Fenicoli (*Cloramfenicol*),
- Sulfamide,
- Nitrofurani.

Spectrul restrans de acțiune:

- Macrolide (*Eritromicina*),
- Polipeptidele ciclice (*Polimixin, Colistin*),
- Tuberculostatice (*Etambutol*).

Antibiotice cu poziție particulară (initial aveau un spectru restrans, însă ulterior derivatii obținuți și-au largit spectrul de acțiune):

- Familia Betalactamine (*Peniciline, Ampicilina, Cefalosporine*).

Deoarece antibioticele diferă mult între ele, au fost grupate în **familii de antibiotice/ chimioterapice** care reunesb substanțele care:

- au origine comună,
- au structură asemănătoare,
- au mecanisme de acțiune identice,
- au un spectru antibacterian similar.

În general, antibioticele acționează prin:

- legarea de o moleculă și astfel este împiedicată biosinteza unor macromolecule sau structuri celulare (*de exemplu penicilinele*),

- competiția antagonică pentru un anumit metabolit esențial (*de exemplu sulfamidele*).

În funcție de **locul** și **mecanismul de acțiune**, se pot identifica antibiotice care:

1. inhibă sinteza **peretelui celular**,
2. care alterează **membrana citoplasmatică**,
3. care au acțiune asupra **aparaturii genetice**:
 - a. împiedicarea replicării ADN-ului,
 - b. împiedicarea transcrierii ADN-ului în ARN;
4. inhibarea sintezei proteice la nivel **ribozomal**.

1. INHIBAREA SINTEZEI PERETELUI CELULAR

Beta-lactaminele au o structură asemănătoare cu a unui component repetitiv din structura peretelui celular; ele pot acționa diferit asupra unor enzime reglatoare ale sintezei peretelui celular:

- *blocarea centrului activ al transpeptidazei*, împiedicându-se astfel legarea lanțurilor polizaharidice prin puncte transversale,
- *activarea carboxipeptidazei* din structura peretelui celular, care duce la o liză extinsă a peretelui celular; în final rezultă *sferoplasti* și *protoplasti* care se vor liza în mediu hipoton (*acțiune bactericidă*).

Reprezentanții acestei familii sunt:

PENICILINELE

- au un *spectru larg de acțiune (cele sintetice)*,
- au o *toxicitate redusă*,
- pot induce *stări de hipersensibilitate de tip imediat*, care se soldează cu șoc anafilactic,
- *penicilinele sintetice* în asocieră cu alte componente, au proprietăți noi care le asigură:
 - stabilitatea în mediu acid,
 - absorbție crescută la nivel gastrointestinal,
 - rezistența la acțiunea unor metaboliti bacterieni (*de exemplu la β lactamaze - enzime care scindează β lactaminele*).

Penicilina G (*sare de sodiu sau de potasiu*) - se administrează doar parenteral, fiind instabilă în mediul acid gastric,

Peniciline stabile în mediu acid: **Penicilina V, Ampicilina, Amoxicilina**,

Peniciline rezistente la β lactamaze sunt **Oxacilina**, **Meticilina**,
Penicilina cu spectru larg: **Carbenicilina**.

CEFALOSPORINELE

- au o activitate similara cu clasa anterioara,
- au spectrul de actiune mai larg decat Penicilinele,
- initial au fost izolate din *Penicillium Cephalosporinum*,
- de-a lungul timpului s-au sintetizat *generatii succesive de Cefalosporine*, cu spectru antibacterian din ce in ce mai larg:

Generatia I: Cephalixin, Cephalotin, Cephazolin (regula „ph” in denumirea antibioticului) cu spectrul de actiune asemanator cu al Ampicilinei; nu sunt active pe enterococi si stafilococi meticilinorezistenti.

Generatia a II-a: Cefamandole, Cefuroxime (regula „fa”, „fur” in denumirea antibioticului) cu un **spectru mai larg de actiune**, incluzand: anaerobi, Haemophilus influenzae, unele Enterobacterii; actiunea pe germenii Gram pozitivi este mai redusa.

Generatia a III-a: Cefotaxime, Cefoperazona, Cefotaxime; au spectrul de actiune ca si cele din generatia a II-a, dar in plus sunt active si pe **bacilul piocianic**.

Generatia a IV-a: Cefepime cu o activitate crescuta pe Enterobacterii, enterococi si stafilococi meticilinorezistenti.

ALTE ANTIBIOTICE CU MECANISM DE ACTIUNE TIP PENICILINIC, DAR CU SPECTRU DE ACTIUNE MAI LARG

Monobactame – Aztreonam cu actiune si pe bacilii Gram negativi,

Carbapemene - Imipenem, Meropenem - are actiune si pe: bacilii Gram negativi, bacterii Gram pozitive, atat aerobe cat si anaerobe.

2. ALTERAREA MEMBRANEI CITOPLASMATICE

Poliptidele ciclice - au un mecanism asemanator detergentilor; duc la dezorganizarea membranei celulare cu pierderea functiei de bariera osmotica, ceea ce duce la efluxul metabolitilor esentiali si implicit la moartea celulara.

Gramicidina - determina blocarea enzimelor din lantul respirator, cu decuplarea transferului de electroni si blocarea proceselor de productie si stocare a energiei celulare.

3. INHIBAREA SINTEZEI ACIZILOR NUCLEICI

Rifampicina

- impiedica transcrierea ADN-ului in ARN,
- actioneaza asupra bacilului Koch si a cocilor Gram pozitivi anaerobi,

- are efect bactericid,
- în general se administrează în asociere cu alte antibiotice.

Quinolonele (*Acid Nalidixic, Metronidazol*) și **Fluoroquinolonele** (*Ciprofloxacin, Norfloxacin, Pefloxacin, Ofloxacin*) sunt:

- utilizate în infecții ale tractului urinar,
- acționează mai ales pe bacteriile Gram negative.

Sulfamidele

FH4 (acid tetrahidrofolice) este un metabolit esențial utilizat în timpul sintezei bazelor azotate (*purinice și pirimidinice*) din care se vor asambla ulterior acizii nucleici în timpul replicării celulei bacteriene; în condiții normale lanțul de reacții este: $PABA \rightarrow FH2 \rightarrow FH4$, unde *PABA* este **acidul para-amino-benzoic**, *FH2* este **acidul dihidrofolice** și *reductaza* este enzima care controlează a doua parte a reacției;

Sulfamidele au o structură asemănătoare cu *PABA* și vor intra în lanțul de reacții, astfel încât în final va rezulta o moleculă de *FH4 nefuncțională*, deci sinteza acizilor nucleici și implicit multiplicarea celulelor va fi oprită. Sulfamidele sunt active asupra celulelor care își sintetizează singure *FH4*.

Trimetoprimul are o mare afinitate pentru reductaza, iar acțiunea sa se va traduce prin oprirea reacției de transformare a *FH2* în *FH4*; deoarece *sulfamidele* și *trimetoprimul* acționează pe aceeași cale metabolică având efect sinergic, preparatele care le conțin pe ambele, sunt mai eficiente (*de exemplu Biseptolul*).

PAS (*acid para-aminosalicilic*) se integrează în lanțul de reacții în locul lui *PABA* și vor avea același efect ca și sulfamidele, de *oprire a sintezei acizilor nucleici*. PAS este utilizat în tratamentul tuberculozei

4. INHIBAREA SINTEZEI PROTEINELOR

Sunt antibiotice cu:

- spectru larg,
- efect în general *bacteriostatic* (exceptie *Aminoglicozidele care au un efect bactericid*)
- abilitatea de a se lega de unitățile ribozomale, astfel încât codul genetic va fi citit eronat și în final vor rezulta *proteine non-sens*.

Reprezentanții sunt:

- Familia **Aminoglicozide** (*Streptomicina, Kanamicina, Gentamicina*) - cu administrare parenterală,
- **Tetraciclinele** (*Tetraciclina, Oxitetraciclina, Doxyciclina, Minociclina*) care sunt utilizate în tratamentul infecțiilor cu bacterii cu dezvoltare strict intracelulară (*Chlamydia, Mycoplasme, Rickettsii..*),

- **Cloramfenicol** – cu spectru de acțiune asemănător cu al Tetraciclinei, acționând și asupra Salmonelilor, anaerobilor, meningococilor și Haemophilus influenzae; deoarece interferează și cu sinteza proteinelor umane (*hematopoieza medulară*) se administrează cu prudență,
- **Macrolidele** (*Eritromicina, Clindamicina, Claritromicina, Azitromicina*) reprezintă o alternativă de tratament în infecțiile cu bacterii Gram pozitive (*de exemplu Streptococ β -hemolitic de grup A*) și la persoanele alergice la Penicilină. Pot fi utile și în tratamentul infecțiilor cu Mycoplasma.

Utilizarea pe scară largă a chimioterapicelor este urmată de apariția și selectarea unor variante rezistente. Rezistența bacteriilor la chimioterapice se instalează variabil, în funcție de specia bacteriană și în funcție de chimioterapic, astfel bacteriile Gram negative (*Enterobacterii, bacil piocianic*) și anumite bacterii Gram pozitive (*stafilococ, enterococ*) au o capacitate crescută de a castiga rezistență la antibiotice. În foarte puține situații se păstrează constant sensibilitatea față de antibiotice (*de exemplu Streptococul beta-hemolitic de grup A este sensibil la Penicilină, motiv pentru care nu se va efectua antibiograma*).

MECANISME DE CASTIGARE A REZISTENȚEI LA ANTIBIOTICE

Variația sensibilității tulpinilor bacteriene la diferite antibiotice este codificată de informația genetică cromozomială și extracromozomială.

A. Mecanismele cromozomiale

1. Mutatia are un caracter universal; ea poate apărea oriunde și oricând în lumea vie.

Într-o populație bacteriană, mutația este responsabilă **de castigarea rezistenței față de un singur antibiotic**. Această rezistență poate fi de două tipuri în funcție de timpul necesar atingerii nivelului maxim de rezistență.

Rezistența de tip streptomycinic - se castiga într-o singură treaptă și este de la început la nivel maxim.

Rezistența de tip penicilinic - se castiga în mai multe trepte și în final se ajunge la un nivel ridicat.

2. Transferul de material genetic între celule se poate realiza prin mecanisme diferite:

Transformarea – constă în transferul în anumite condiții a ADN-ului unei tulpini (*dotate cu un anumit factor de patogenitate care îi asigură virulența crescută*) în celulele altei tulpini (*lipsite de acest factor de patogenitate*); în final aceasta din urmă capătă proprietăți noi, similare cu tulpina de la care a primit informația.

Transductia reprezintă transferul de material genetic care se realizează prin intermediul bacteriofagilor temperați.

B. Mecanisme extracromozomiale

Conjugarea prin intermediul pililor de conjugare; astfel se formează perechi de bacterii donatoare (piliate) cu bacterii primitoare (nepiliate) între care se formează un canal de

comunicare, prin care fragmentul de ADN extracromozomial (conținut în plasmida) este transferat bacteriei nepilată; în urma diviziunii celulare și bacteria primitoare va prezenta pe suprafața ei pili (codati de plasmida transferată). De obicei se transferă rezistența la antibiotice.

Reguli de instituire și conducere a chimioterapiei

Instalarea unui tratament adecvat constituie o operație de mare responsabilitate medicală. Nu este recomandată utilizarea antibioticelor de către persoane neinformate și fără a avea o bază științifică pentru fundamentarea strategiei.

Regulile ce este bine a fi respectate, sunt:

1. stabilirea unui *diagnostic precoce de infecție bacteriană* (nu orice stare subfebrilă se tratează cu antibiotice; poate fi vorba despre o infecție virală),
2. stabilirea *diagnosticului etiologic* și *selectarea antibioticului* în funcție de rezultatul obținut la antibiogramă,
3. în forme grave ale unor infecții, se poate interveni cu antibiotice înainte de obținerea rezultatului la antibiogramă, optând pentru schema care s-a demonstrat statistic a avea cea mai mare eficiență; ulterior, antibioticul va fi menținut sau înlocuit în funcție de starea clinică a pacientului, precum și de rezultatul antibiogramei,
4. nu se inițiază tratamentul cu antibiotice înainte de recoltarea produselor patologice necesare diagnosticului,
5. dacă tratamentul este îndelungat, se recomandă repetarea examinării și a antibiogramei pentru surprinderea apariției eventuale a rezistenței față de antibiotic,
6. în general se administrează antibioticul în monoterapie; în cazuri extreme, se pot administra antibiotice în asocieri (*dacă au efecte sinergice*).

GENETICA BACTERIANA

Genetica este știința care studiază ereditatea - transmiterea relativ stabilă a proprietăților caracteristice, într-o succesiune de generații.

Studiul geneticii bacteriene a stat la baza studiului genetic în general, deoarece codul genetic este unic în lumea vie; faptul că există bacterii care au un timp de generație de 20 minute (*de exemplu E. coli*) permite studiul unui număr mare de generații, în timp foarte scurt.

Caractere generale ale geneticii bacteriene permit:

- cultivarea pe medii sintetice,

- posibilitatea asigurării de condiții reproductibile sau a variației controlate a condițiilor de mediu,
- studierea într-un interval relativ scurt a unui număr mare de generații,
- obținerea de variante (*suse bacteriene*) deosebite față de populația inițială (*salbatică*),
- studierea eredității cromozomiale care poate fi dublată de ereditatea extracromozomială, reprezentată de plasmide și bacteriofagi.

Codul genetic este reprezentat de o *sucesiune de codoni*; un codon este reprezentat de un *triplet de nucleotide*; acesta codifică un aminoacid care va intra în structura lanțului polipeptidic într-o poziție corespunzătoare poziției codonului în structura genei.

Caracterul ereditar este relativ stabil pentru că pot apărea modificări în secvența de nucleotide, ceea ce determină apariția unor caracteristici noi.

Mecanismele care duc la *variații genetice* sunt:

1. *mutația* - poate fi spontană sau indusă (*de factori fizici sau chimici*);
2. *transfer de material genetic intercelular* cu realizarea unei *recombinații genetice*.

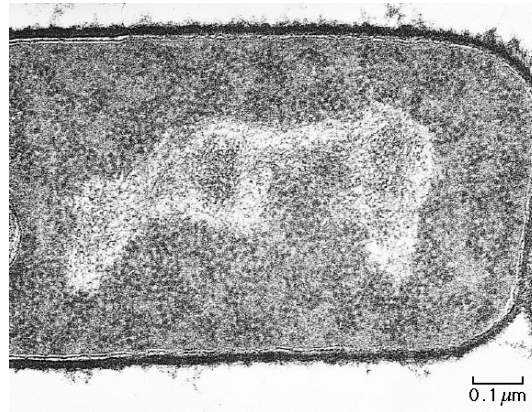
Variantele care apar într-o populație bacteriană, operează distinct la 3 **nivele**:

1. **genomic** - modificarea secvenței de nucleotide are loc la nivelul ADN-ului bacterian,
2. **celular** - modificările genetice induc sinteza de noi proteine și ca urmare un nou tip de celulă cu caractere distincte (**modificările genotipice** sunt dublate de **modificări fenotipice**),
3. **populație bacteriană** - prin multiplicări repetate ale celulei modificate.

Modificările genotipice și fenotipice apar într-o singură celulă în timpul diviziunii. Dacă modificarea nu constituie un avantaj, celula dispare. Dacă modificările constituie un avantaj, celula cu proprietăți noi se poate multiplica alături de celelalte celule, rezultând un amestec de celule salbatice și variante în proporții variabile; în final populația varianta poate înlocui complet populația salbatică.

Organizarea materialului genetic în celula bacteriană

Cromozomul bacterian (*nucleoid/ echivalent nuclear*) (fig. 20):



*Fig. 20 – Cromozomul bacterian
(portiunea mai deschisa la culoare din interiorul celulei)*

- este reprezentat de o molecula de ADN inchisa in cerc si impachetata superhelicoidal
- contine in jur de 5-6000 de gene; o gena este reprezentata de o secventa unica de perechi de baze azotate care codifica o proteina unica si care poate avea lungimi variabile
 - gene structurale - care codifica sinteza proteinelor de structura
 - gene reglatoare - care controleaza functia ADN-ului;
 - gene pentru sinteza ARN mesager, ARNribozomal si ARN de transfer.

Molecula de ADN are un dinamism propriu care-i asigura in timpul ciclului celular **autoreplicarea** (*dublarea*) si **transcrierea** informatiei de pe ADN pe ARN.

Bacteriofagii - sunt virusuri ale bacteriilor (*fig. 21*):

- prezinta o capsida ce contine o molecula de acid nucleic si o coada prin intermediul careia se ataseaza la receptori specifici prezenti la suprafata structurilor tinta (*pili, capsula, perete celular*); in celula patrunde doar acidul nucleic fagic care va asigura multiplicarea sa.

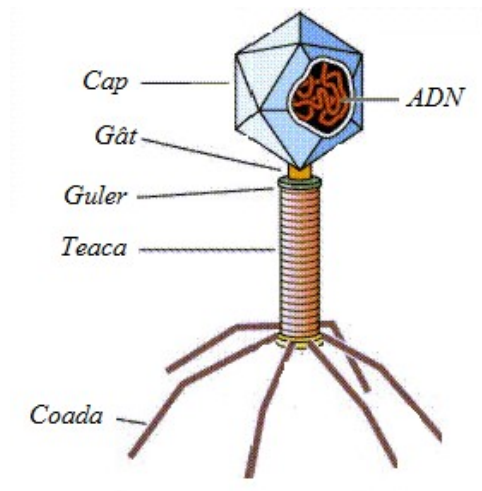


Fig. 21 – Structura bacteriofagului

- exista doua cicluri:
 - **Ciclul litic** - acidul nucleic ramane autonom in citoplasma si dirijeaza intreg metabolismul celular spre sinteza materialului bacteriofagic; in final se vor asambla bacteriofagi maturi intr-un numar crescut; acestia vor fi pusi in libertate prin liza celulei bacteriene gazda si vor putea incepe un nou ciclu litic prin invadarea altor celule bacteriene;
 - **Ciclul lizogen** - nucleic fagic se integreaza in ADN-ul bacterian si se replica in paralel cu acesta; rar acidul nucleic fagic se poate desprinde de cromozom si sa ramana autonom in citoplasma, unde va initia un ciclu litic.

Plasmidele (fig. 22) sunt (molecule de ADN cu structura asemanatoare cu cea cromozomiala (*cerc inchis, superhelicoidal*). Pot exista in stadiu autonom in citoplasma sau integrate in cromozomul bacterian (*epizomi*).

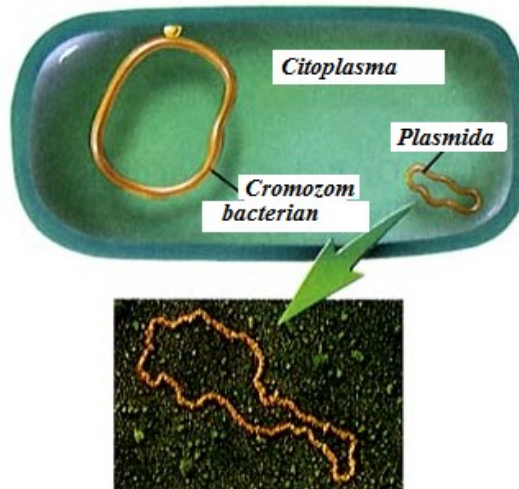


Fig. 22 – Plasmida

Transferul de material genetic la bacterii

Transferul de material genetic la bacterii se poate face prin variate mecanisme:

1. Transformarea - consta in integrarea unui fragment liber de ADN provenit de la o tulpina cu anumite proprietati, in ADN-ul unei tulpini bacteriene care nu poseda proprietatea respectiva.

De exemplu o tulpina de pneumococ capsulat (*capsula fiind factor de patogenitate*) este omorata si se extrage ADN-ul liber; daca acest ADN se pune in contact cu o tulpina de pneumococ necapsulat (*nepatogen*) si se asigura anumite conditii, ADN-ul liber se va integra in celulele integre ale pneumococului necapsulat; in final acesta va capata proprietatile fenotipice ale tulpinii donoare de informatie genetica (*va deveni capsulata*) .

2. Transductia. Toate speciile bacteriene prezinta bacteriofagi proprii (*au receptori specifici la nivelul peretelui celular*). Acidul nucleic al bacteriofagului odata injectat in celula bacteriana tinta, poate urma una din caile:

2.1. integrarea in genomul bacterian prin recombinare genetica;

2.2. ramane autonom in citoplasma bacteriei, astfel incat in cursul diviziunii celulare va ramane intr-o singura celula;

2.3. integrarea in genomul bacterian, intr-o pozitie fixa; prin excizie poate declansa ciclul litic (*bacteriofagul lambda*).

3. Conjugarea – se efectueaza prin intermediul plasmidelor conjugante. Acestea transmit in general caracterul de rezistenta fata de un anumit tip de antibiotic (*plasmide R*) sau transmit un factor de sex (*pilii*) (*plasmidele F*). Doua celule bacteriene: una F+ (*piliata*) si alta F- (*nepiliata*) se apropie si prin intermediul pililor se realizeaza contactul dintre cele doua. Se creeaza un canal prin care se va transfera liniar o catena plasmidica, astfel incat in final ambele celule vor fi F+ (*piliate*).

INFECTIA

Infectia este rezultatul *conflictului* dintre *microorganismele parazite patogene* si *organismul uman*, cu tendinta de a produce *perturbări ale homeostaziei* acestuia din urma.

In cazul patrunderii microorganismelor patogene in organismul uman, acesta mobilizeaza o serie de mecanisme care tind sa diminueze perturbarea homeostaziei induse, toate *aceste mecanisme de aparare ale organismului* se regasesc in notiunea de *infectie*.

„Intre organismul infectat si microorganismul patogen se declanseaza un *conflict de tip militar*, in care fiecare combatant isi pune la bataie toate mecanismele de aparare pe de o parte si de agresiune pe de alta parte”

Infectia:

- se poate manifesta clinic prin numeroase *semne* si *simptome* care definesc o anumita *boala infectioasa*,
- poate sa nu fie asociata cu semne aparente de perturbare functionala - in cazul *formelor fruste (inaparente/subclinice)*.

Specificitatea etiologica. Postulatele lui Koch

In intentia de a defini un microorganism capabil de a induce infectia, ne stau la indemana postulatele lui Koch; astfel:

1. microorganismul trebuie sa fie prezent in toate cazurile de boala
2. microorganismul trebuie sa fie izolat si mentinut in cultura pura in conditii de laborator
3. inocularea culturii pure la animalele de laborator induce infectie
4. microorganismul care a produs boala determina instalarea unei *aparari specifice (imunitatea)*.

Evolutia stadiala a infectiei

Infectia parcurge mai multe etape din momentul in care microorganismul intra in organism:

- **perioada de incubatie** - reprezinta perioada de timp care trece de la patrunderea microorganismului in organismul gazda pana la aparitia primelor semne de boala (*aceasta perioada este variabila si in acelasi timp caracteristica fiecarei infectii*)
- **perioada de debut** care coincide cu aparitia primelor semne ce atrag atentia asupra unui proces infectios (*febra, cefalee, inapetenta...*)
- **perioada de stare** cand se instaleaza tabloul clinic caracteristic (*de exemplu sindromul meningial: cefalee, fotofobie, redoarea cefei, varsaturi in jet...*)

- **perioada finala** cand cel mai frecvent evolutia este *spre vindecare*, dar pot apare si **situatii particulare**:
 - *starea de purtator cronic* pentru diferiti agenti patogeni (*de exemplu pentru: Salmonella, Staphilococcus aureus, Streptococcus pyogenes /streptococ β hemolitic de grup A*)
 - *infectii latente* care pot determina recidive in conditii care favorizeaza multiplicarea (*de exemplu virusurile Herpes simplex 1 si 2 sunt neurotrope, determinand infectii latente in neuronii senzitivi ce deservesc zona cutanata afectata initial*).
 - *sechele motori(virusurile Polio)i, nervoase*.
- **perioada de convalescenta** care consta in refacerea si vindecarea structurilor si functiilor alterate (*restitutio ad integrum*).

Mecanismele de producere ale infectiilor

Initierea unei infectii poate fi rezultatul catorva situatii:

1. **patrunderea** in organismul gazda printr-o *poarta de intrare*;
2. ulterior **soarta** microorganismelor este **variabila**:
 - a. fie raman cantonate la poarta de intrare, determinand **infectii localizate** (*de exemplu furunculul indus de stafilococii patogeni*),
 - b. fie se multiplica la poarta de intrare si elibereaza toxine care actioneaza la distanta pe tesuturi si organe tinta, determinand **toxiinfectii** (*de exemplu difteria*),
 - c. cele cu caracter invaziv ajung in sange unde se multiplica determinand **septicemii**, urmate de **localizari secundare** ale infectiei.
3. **eliminarea** microorganismelor se poate face uneori pe o cale ce se identifica cu poarta de intrare sau pe alte cai (*urina, materii fecale...*).

Agentul infectios

Poate actiona prin intermediul **factorilor de patogenitate**:

- **factorilor de virulenta**
 - a. *factori de colonizare,*
 - b. *factori care contribuie la multiplicare,*
 - c. *factori care interfera cu raspunsul imun;*
- **factori toxigeni (toxine)**

Organismul gazda

Isi mobilizeaza **mecanismele de aparare** disponibile:

- **nespecifice** (*apararea naturala: barierele cutaneo-mucoase, bariere chimice, barierele biologice prin mecanisme de aparare tisulare*)
- **specifice** (*raspuns imun umoral si celular*).

Factorii de patogenitate (*invazivi si toxigeni*)

Bacteriile patogene au capacitatea de *a se multiplica* si *a supravietui* in organismele gazda;

Patogenitatea se refera la **capacitatea unui microorganism de a produce infectie**, iar **virulenta este** o masura a patogenitatii, fiind reprezentata de un *ansamblu de caractere specifice unei bacterii patogene*.

A. Factorii de patogenitate invazivi (*factorii de virulenta*)

Secventele procesului infectios sunt reprezentate de:

- **colonizarea** *epiteliilor si mucoaselor la poarta de intrare*
 - *aderarea la structurile tinta*
 - *adaptarea la conditiile oferite de gazda*
 - *multiplicarea*
 - *manifestari celulare, tisulare si moleculare – specifice procesului infectios.*
- **patrunderea in tesuturi** si de aici in **umori** (*in cazul bacteriilor invazive*).

Poarta de intrare a bacteriilor in organism este variabila:

- **contact direct** (*tegumentar, saliva, contact sexual*),
- **transplacentar**,
- **transfuzii**,
- **transplant**,
- **dializa**,
- **manopere invazive** (*chirurgicale, extractii dentare, endoscopii, cateterizare, sondaje, tatuaje, acupunctura, perforarea lobului urechii...*)

Colonizarea depinde de o serie de **factori**:

- existenta unui **numar critic de bacterii** la *poarta de intrare*,
- **depasirea apararii locale si adaptarea la conditiile** create de *microbiocenozele locale*,
- **aderarea** la receptori celulari specifici,
- **acomodarea** la conditiile locale,
- **multiplicare**.

Aderarea bacteriilor la epitelii se face prin intermediul unor **structuri specializate** reprezentate de:

- **adezine bacteriene** – structuri cu rol antigenic:
 - **fimbrii** (*pili comuni*):
 - *codificate cromozomial si plasmidic*,
 - apar la bacteriile **Gram negative**: *Enterobacteriaceae*, *N. gonorrhoeae*, *Ps. aeruginosa*...
 - **fibrile capsulare**:
 - *codificate plasmidic*,
 - exista la bacteriile **Gram pozitive**: *Strp. pyogenes*.
- **receptori celulari specifici** sunt structuri tinta de care se ataseaza bacteriile prin intermediul adezinelor; existenta acestora doar la anumite specii sau doar la nivelul anumitor tipuri de celule explica specificitatea unor infectii:
 - **specificitatea de specie** (*N. gonorrhoeae* *cauzeaza infectii numai la om*),
 - **specificitate de tesut**.

Factorii de multiplicare

Timpul necesar multiplicarii “in vivo” este mai lung decat cel necesar multiplicarii “in vitro”, deoarece in organismul uman bacteriile trebuie sa se adapteze initial la conditiile nou create de gazda si sa depaseasca mecanismele de aparare ale acesteia.

- **adaptarea la conditiile nutritionale ale gazdei** se face prin *mobilizarea mecanismelor* care permit supravietuirea in noile conditii, reprezentate de:
 - *cresterea afinitatii fata de gazda si/sau tesut*,
 - *activarea sistemelor de captare a oligoelementelor/siderocromii din mediu*,
 - *degradarea enzimatica a elementelor din mediu*.
- prezenta unor **factori bacterieni** cunoscuti sub denumirea de **agresine**; acestea sunt reprezentate de *structuri celulare* (*perete celular, capsula*) sau anumite *enzime eliberate de bacterii* (*colagenaze, hialuronidaza, hemolizine*) si utilizeaza mai multe *mecanisme de actiune*:

- a. *interfera cu **factori umorali bactericizi** (lizozim, complement);*
- b. *interfera cu **fagocitoza** la diferite niveluri:*
 - *neutropenia indusa prin agresiune directa medulara (*Salmonella typhi*),*
 - *efect chemotactic negativ (*Staf. aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*)*
 - *rezistenta la **ingestia** fagocitara (capsula, structuri proteice de suprafata, enzime extracelulare: lipaze, proteaze, leucocidine),*
 - *rezistenta la **digestia** fagocitara (enzimele nu se descarca in fagozom, rezistenta chimica la actiunea enzimatica, anihilarea sistemului mieloperoxidazic permitand bacteriilor sa se multiplice in macrophage, ulterior disemineaza);*
- c. **promovarea difuziei bacteriene** prin intermediul unor enzime bacteriene cu:
 - *activitate histolitica: hialuronidaza, collagenaze, lecitinaze,*
 - *activarea mecanismelor fibrinolitice: streptokinaza, stafilokinaza,*
 - *activitate leucolitica: endoleucocitara (leucocidine) si exoleucocitara,*
 - *activitate predominant hemolitica: hemolizine,*
 - *alte tipuri de activitate: proteaze, lipaze, nucleaze.*

Penetrarea epiteliilor

Poate fi sau nu blocata, in functie de posibilitatile patogenului de a depasi factorii locali de aparare, ca urmare o tulpina patogena ajunsa la poarta de intrare are mai multe variante de evolutie ulterioara.

Factorii care interfera cu raspunsul imun

In anumite *conditii*, bacteriile pot induce *intarzierea* sau *deprimarea* apararii imune, de exemplu:

- *similitudinea antigenica* intre bacterie si unele componente ale gazdei (proteina *M streptococica* si fibra miocardica),
- *mascarea temporara a antigenelor bacteriene* (coagulaza stafilococica),
- *sinteza de anticorpi specifici* fata de *constituentii bacterieni neesentiali* pentru patogeneza,
- **variatiia antigenica** a structurilor de suprafata face ineficienta actiunea anticorpilor indusi initial (*Staf. aureus*, *Strp. pyogenes*, *Borrelia*).

In aceste **situatii raspunsul imun deprimat** favorizeaza:

- *blocarea cooperarii* intre: *limfocitele T/ macrofag /limfocitele B,*
- *modificarea sintezei locale de limfokine,*

- blocarea anticorpilor circulanti: eliberarea unor antigene solubile de suprafața, precum și eliberarea în umori a toxinelor
- ocolirea acțiunii efectorilor imuni la bacteriile cu dezvoltare strict intracelulară sau intraluminală (*Brucella*, *Listeria* și *Mycobacterii*)

B. Factorii toxigeni (*toxine bacteriene*)

Toxinele bacteriene sunt macromolecule complexe lipsite de acțiune enzimatică, eliberate de bacterii în cursul multiplicării în organism (excepție sunt toxinele eliberate de stafilococi în alimente, care sunt raspunzătoare de toxinfecțiile alimentare).

Clasificarea toxinelor se poate face după mai multe *criterii*:

- după modalitatea de eliberare în mediu

- **exotoxinele** se eliberează în mediu *fără liza celulei bacteriene* și
- **endotoxinele** se eliberează în mediu numai în urma *lizei celulei bacteriene*;

- după structura chimică

- natura *proteică* au în general *exotoxinele*,
- natura *lipopolizaharidică (LPS)* a *endotoxinelor*;

- după mecanismul de acțiune

- *legarea de receptori celulari cu interferența sistemelor de transport*,
- *penetrarea în celule fără modificări membranare cu afectarea proceselor metabolice*;

Exotoxinele

Dintre cele mai cunoscute, sunt: *streptolizine, tetanolizine, hemolizine...*

Exotoxinele sunt *codificate cromozomial* sau prin *conversie lizogenă (prin fagi temperați)*;

Având în vedere **structura proteică, exotoxinele**:

- sunt **imunogene** determinând sinteza de **anticorpi antitoxici** (*antitoxine*) cu efect *neutralizant*; în laboratoare specializate se pot obține *seruri specifice (de la animale imunizate)* utilizate în *terapia toxinfecțiilor (difterie, botulism, tetanos...)* cunoscută ca și **seroterapie**;
- pot fi **prelucrate** (*procedeul de formolizare*) pentru ca molecula să-și piardă toxicitatea, dar să-și păstreze antigenicitatea; se obțin astfel **anatoxine** utilizate în *vaccinare (de*

exemplu ATPA/Anatoxina Tetanica Purificata si Adsorbita, utilizata in preventia tetanosului);

- sunt **termolabile** (*se denatureaza la caldura*);
- au **toxicitate crescuta**.

Componentele functionale ale exotoxinelor, sunt reprezentate de:

- **lantul B** (*binding*) cu rol de *fixarea pe receptori*; interfere cu mecanismele de transport membranar fara a produce modificari celulare;

- **lantul A** (*activity*) componenta dotata cu *actiune toxica specifica*; **penetreaza in celula**, fara a produce modificari membranare; *interfera cu procesele metabolice celulare*.

Endotoxinele (LPS)

Endotoxinele sunt de natura **lipopolizaharidica (LPS)**; se gasesc in peretele celular al bacteriilor Gram negative si sunt recunoscute ca si **antigenul somatic O**.

Ele elibereaza in mediu doar prin liza bacteriilor sau prin extragerea chimica in conditii de laborator.

Dintre **caracteristicile endotoxinelor**, putem mentiona:

- a. sunt **termolabile**,
- b. **nu** sunt **imunogene**, deci *nu pot fi neutralizate de catre anticorpi specifici*
- c. din LPS **nu** se pot obtine **anatoxine**,
- d. au un **determinism cromozomial**,
- e. *prin liza masiva a bacteriilor in urma unui tratament bactericid agresiv, se poate elibera in mediu o cantitate mare de endotoxine, responsabila de **socul endotoxic**.*

Din punct de vedere **structural**, endotoxina are mai multe **componente**:

- **polizaharidul** care este *termostabil*, asigura **specificitatea de tip** (*utilizat in diagnostic serologic*),
- **lipidul A** cu **actiune toxica, pirogena**, cu **actiune adjuvanta** pentru apararea nespecifica,
- **fragmentul polipeptidic** care asigura **imunogenicitatea**; fara proprietati toxice,
- **lipidul B si polipeptidul** reprezentinta endotoxina termolabila.

Dupa **tesuturile tinta asupra carora actioneaza**, toxinele se pot identifica ca:

- **neurotoxinele** care acționează pe *structuri nervoase*,
- **enterotoxinele** ce acționează pe *enterocite*,
- **toxine** care *inhiba sinteza proteinelor* și produc *alterări celulare* ulterior cu *moartea* acestora.

Neurotoxinele

Sunt toxine de **natura proteică** care acționează asupra structurilor nervoase. Sunt eliberate de **bacterii anaerobe sporulate** din genul ***Clostridium***.

Toxinele eliberate de Clostridium tetani

- ***Tetanospasmina***
 - acționează pe *receptori gangliozidici (neurilema, sinapse)*,
 - are ca mecanism de acțiune *blocarea inhibiției sinaptice (maduva spinării, cerebel)*,
 - este responsabilă de manifestările clinice specifice din tetanos: *paralizii spastice, convulsii generalizate*.
- ***Tetanolizina***
 - are *efecte hemolitice, cardiotoxice*,
 - *nu produce spasticitate*.

Toxinele eliberate de Clostridium botulinum

- doar 4 din cele 6 *tipuri antigenice* ale toxinei sunt dotate cu *activitate toxică* pentru om (*A, B, E, F*),
- acționează pe *receptori gangliozidici (placa neuromotorie)* (fig. 23),
- au ca *mechanism de acțiune* *blocarea eliberării de acetilcolina*,
- este responsabilă de *manifestările clinice* din *botulism*: *pareza flasca, paralizii musculare*.



Fig. 23– Efectul toxinei botulinice

Enterotoxinele

- sunt **toxine** care acționează asupra **structurilor intestinale**,
- pot fi **eliberate de bacterii strict patogene** sau doar de **anumite tulpini bacteriene**;

Prototipul enterotoxinei este cea sintetizată de ***Vibrio cholerae*** care:

- acționează *pe receptorii gangliozidici* de pe membrana enterocitelor (*marginea “in perie”*)
- are mecanismul de acțiune reprezentat de *activarea adenilat-ciclazei*; **efectul** constă în **creșterea concentrației cAMP**, care în final determină *ieșirea apei și electrolitelor din celulă*, ceea ce antrenează *aparitia scaunelor diareice*.

Enterotoxina eliberată de tulpinile de ***Shigella dysenteriae***, are următoarele *mecanisme de acțiune*:

- produce *leziuni locale ale mucoasei intestinale* ce duc la apariția de *scaune muco-sanguinolente*,
- acționează la distanță asupra *SNC*, producând hemoragii, edeme, (*simptomatologie similară cu cea din botulism*).

Enterotoxina eliberată în timpul sporulării de ***Clostridium perfringens*** – agentul etiologic al **gangrenei gazoase**.

Enterotoxina eliberată de tulpinile de ***E. coli enterotoxigen***, care:

- are mecanism de acțiune asemănător cu cel al enterotoxinei holerice,

Enterotoxina eliberată de tulpinile de ***stafilococi enterotoxigeni*** (5 serotipuri) ce agresează local mucoasa intestinală.

Toxine care inhibă sinteza proteinelor

Toxina botulinică:

- este eliberată de ***tulpini lizogenizate***,
- are ca și ***structuri tinta***: *cord, sistem nervos, ficat, rinichi* – la nivelul cărora induce leziuni,
- **mechanismul de acțiune** este reprezentat de inactivarea fragmentului de elongație, blocându-se astfel sintezele proteice.

Toxina eliberată de ***Pseudomonas aeruginosa*** are mecanism asemănător cu cel al toxinei botulinice.

Alte toxine cu acțiune patogenică sunt:

Toxina epidermolitica/exfoliativa

- este eliberată de *Stafilococii din grupul II fagic*
- structurile tinta sunt reprezentate de desmozomii stratului cornos din tegument,
- efecte induse sunt *exfolierea* cu *necroza tegumentară*.

Eritrotoxina

- este eliberată de *Strp. pyogenes* (tipurile antigenice A, B, C),
- structurile tinta sunt *capilare sanguine*,
- efecte induse sunt *erupția din scarlatina* (streptococ grupul A, lizogenizat).

Complexul exotoxinic eliberat de **Bacillus anthracis** este responsabil de *efectul edematogen și potențial letal*.

Complexul exotoxinic eliberat de **Yersinia pestis** este compus din *factori necrozanti, letali și enzimatici: coagulaza și fibrinolizina*, acest complex fiind responsabil de *aparitia coagularii intravasculare diseminate (CID)*.

REZISTENȚA NATURALĂ

Rezistența naturală a organismului este definită prin *totalitatea mecanismelor nespecifice* mobilizate de către macroorganism în încercarea de a se apăra împotriva unor microorganisme care ar putea determina starea de boală.

Apararea nespecifică este asigurată de *factori anatomici, metabolici, serici și celulari* care acționează neselectiv, indiferent de natura microorganismului agresor.

Rezistența naturală are un **determinism genetic**; *factorii genetici* fiind responsabili de:

- **caracterul de specie** al rezistenței naturale (de exemplu boli specifice omului - antroponoze: gonoreea, sifilisul; boli specifice animalelor - zoonoze; infecțiile ce apar atât la om cât și la animale se numesc antropozoonoze: bruceloza, febra Q).
- **diferențele individuale** sunt determinate și de alți factori: vârsta, stress, metabolism intermediar, influențe ale mediului înconjurător...

Rezistența naturală se realizează prin **factori nespecifiți**, indiferent de specie, reprezentați de:

- *barierele cutaneo- mucoase,*
- *barierele chimice,*
- *microbiocenoze,*
- *factori umorali nespecifiți,*
- *factori celulari și tisulari;*

Barierele cutanate și mucoase sunt reprezentate de:

- *integritatea anatomică a tegumentelor* (existența leziunilor produse prin tăieturi, arsuri, întepături, zdrobiri... creează porți de intrare spre țesuturile profunde),
- *integritatea anatomică a mucoaselor* este dublată în protecție, de *secretia de IgA* locale (cu rol de neutralizarea sau blocarea microorganismelor la poarta de intrare); mucusul și celulele ciliate prezente în anumite zone asigură eliminarea mecanică a microparticulelor (inclusiv a microorganismelor);

Barierele chimice sunt constituite din:

- *secrețiile acide* (pH 3- 5) ale glandelor sebacee și sudoripare care au un *efect bactericid*;
- *lizozimul* este un factor *bactericid* (din saliva, lacrimi, secreții nazale, ser sanguin, lichid peritoneal, citoplasma leucocitară) care acționează nespecific asupra peretelui celular bacterian;
- *spermina* care o poliamină cu *activitate bacteriostatică*;

Microbiocenozele

Sunt amestecuri de populații bacteriene comensale care colonizează diferite zone din organism; acestea constituie **microbiocenoze caracteristice** (de exemplu microbiocenoza cavității bucale, tegumentară, digestivă, conjunctivală, vaginală) în timp ce alte zone rămân necolonizate (în condiții fiziologice fiind sterile): cai urinare superioare, sânge, sistem meningeal..

Participă la apărarea organismului mai ales prin **antagonism bacterian**;

Populațiile bacteriene care intra în componenta microbiocenozelor se găsesc într-o stare de echilibru (**eubioza**); ele ocupă receptorii de pe suprafața celulelor epiteliale și astfel este împiedicată aderarea și multiplicarea bacteriilor patogene;

În anumite situații se rupe echilibrul și apare starea de **disbioza**, astfel încât este posibilă înlocuirea florei normale cu flora patogenă (de exemplu candidoza bucală și vaginală după tratament local sau general cu antibiotice);

Unele specii au un potențial patogen scăzut și pot declanșa în anumite condiții infecții; aceste bacterii se încadrează în grupul *bacteriilor condiționat patogene*.

Unele exemple de acțiuni benefice produse de flora comensală, sunt:

- *Propionibacterium acnes* (fig. 24) produce lipide cu acțiune antimicrobiană care limitează popularea tegumentelor cu stafilococi și streptococi patogeni;

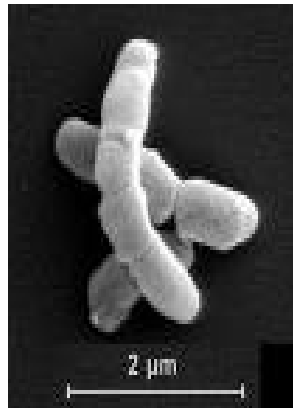


Fig. 24 - *Propionibacterium acnes* (microscopie electronică)

- *Streptococcus viridans* inhibă dezvoltarea lui *Streptococcus pneumoniae* (pneumococilor) la nivelul căilor respiratorii superioare, iar *Streptococcus salivarius* din cavitatea bucală eliberează H_2O_2 cu efect bactericid inhibând în același timp și flora strict anaerobă.
-



Fig. 25 – *Streptococcus salivarius* (microscopie electronică)

Factorii umorali

Sunt prezenti in serul sanguin si in lichidele biologice si actioneaza asupra bacteriilor, independent de anticorpi; sunt reprezentati de **β lizine** (care actioneaza pe bacterii Gram pozitive), **leucine** (eliberate din granulatiile azurofile in urma dezintegrarii PMN) si **sistemul complement**.

Sistemul complement este reprezentat de un complex de 18 proteine aflate in ser in stare inactiva: de la C_1 pana la C_9 (unde C_1 are 3 componente C_1q, r, s), properdina, factorul B si factorul D (fig. 26).

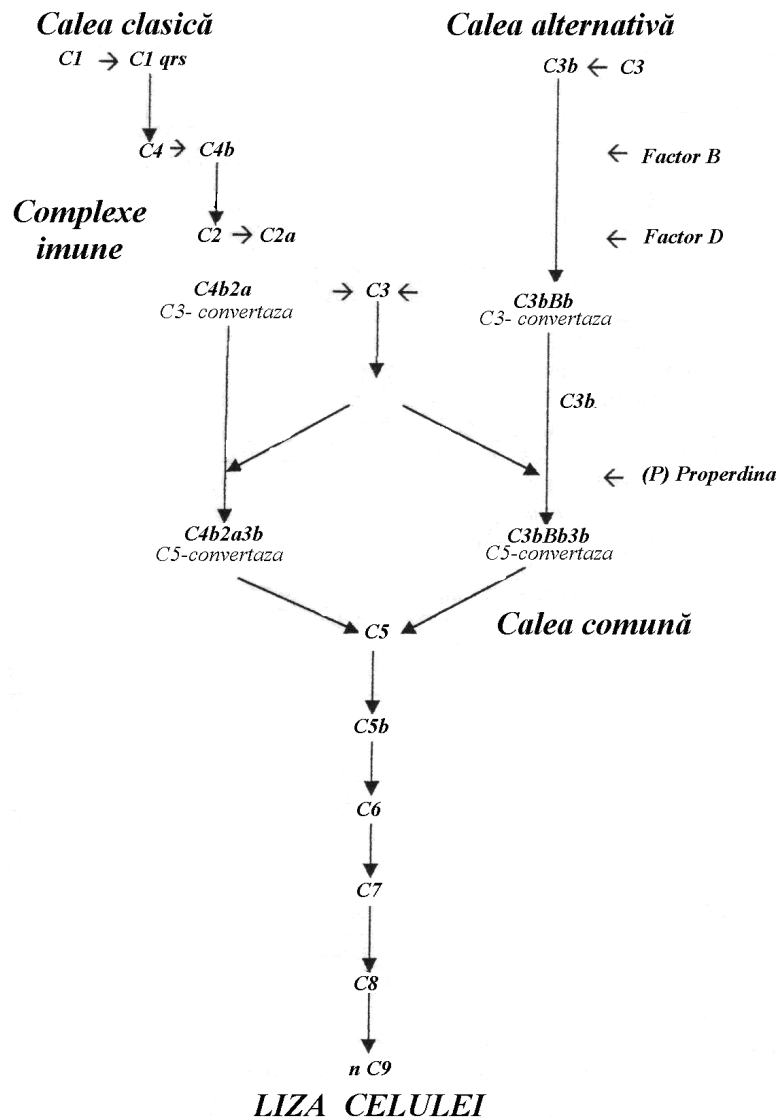


Fig. 26- Reprezentare schematica a celor 2 cai de activare ale complementului

Activarea sistemului complementului se poate face in doua moduri:

- pe **cale clasică**- în urma formării *complexelor antigen- anticorp*;
- pe **cale alternativă** (*properdinică*)- inițiată de diferiți produși bacterieni.

Ambele cai duc la formarea **complexelor** C_{6789} (*MAC - complex membranar de atac*) la suprafața membranelor celulare pe care s-au activat; în grosimea membranei apar pori prin care intra apa și electrolitii din mediul extern și în final celula se sparge.

Dacă sistemul complementului se activează pe suprafața celulelor bacteriene efectul este benefic (*rezultatul este eliminarea agentului etiologic din organism*); în situații particulare, complementul se poate activa pe celule proprii organismului (*dar modificate astfel încât să nu mai fie recunoscute ca fiind proprii*) și se declanșează efecte nefavorabile caracteristice bolilor autoimune.

Interferonii (IFN)

Sunt substanțe produse de celulele infectate viral sau bacterian, de leucocite sau alte celule nelimfoide. Acționează nespecific prin activarea macrofagelor sau prin modularea sintezei de anticorpi (*stimulare sau inhibare*).

Factorii celulari și tisulari

Sunt reprezentați de procesul de fagocitoză. La fagocitoză participă acele celule care sunt capabile să recunoască, să înglobeze și apoi să distrugă microorganismele înglobate.

Celulele implicate în fagocitoză sunt reprezentate de: *PMN, monocite sanguine, macrofage tisulare (alveolare, hepatice - celulele Kupfer, sinusurile splenice, limfoganglioni etc)*.

Etapele fagocitozei:

- **chemotaxia** - se bazează pe direcționarea fagocitului spre microorganismul, ca urmare a eliberării de către acesta a unor substanțe cu efect chemotactic (*polizaharide, fracțiuni ale complementului...*).
- **opsonizarea** reprezintă îmbracarea microorganismelor cu fracțiuni ale complementului sau cu anticorpi specifici;
- **înglobarea** prin emiterea unor pseudopode și înglobarea microorganismului într-o vacuolă (*fagozom*); prin unirea acestuia cu lizozomii, rezultă fagolizozomii în interiorul lor se descarcă enzimele lizozomale cu rol în digestia intracelulară;
- **digestia intracelulară** poate avea loc prin *mecanisme oxigen - dependente sau oxigen-independente*.

Există bacterii care se pot dezvolta în interiorul unor celule și nu sunt afectate de procesul fagocitozei (*Mycobacterium, Chlamydia, Mycoplasma, Rickettsii*); acestea vor fi digerate doar prin activarea mecanismelor oxigen- dependente.

Procesul inflamator

În urma degranularii mastocitare se eliberează mediatorii proinflamatori care induc modificările specifice, după cum urmează:

- creșterea permeabilității vasculare cu extravazarea unor substanțe în spațiul periplasmatic,
- creșterea agregării plachetare,
- migrarea leucocitelor în țesuturile infectate,
- declanșarea **sindromului de fază acută** caracterizat prin creșterea VSH-ului, fibrinogenului, proteinei C reactive și a titrului complementului, concomitent cu creșterea procentuală a PMN în sânge.

Semnele celsiene caracteristice unei inflamații sunt:

- *Rubor* - eritemul zonei datorat vasodilatației locale,
- *Calor* - creșterea temperaturii zonei afectate,
- *Dolor* - durerea declanșată de prinderea filetelor nervoase senzitive în zona de edem,
- *Tumor* reprezintă edemul zonal datorat extravazării lichidelor în spațiul periplasmatic și
- *Functiolaisa* - impotență funcțională.

NOTIUNI DE IMUNOLOGIE

Notiunea de **imunitate** a fost inițial folosită pentru a desemna starea de protecție a unui organism după ce a trecut printr-o anumită boală infecțioasă.

Răspunsul imun este reprezentat de un lanț de procese, declanșat de prezenta unei **structuri străine** organismului, procese care au ca punct final distrugerea structurilor străine (*non-self*). Aceste structuri non-self pot fi reprezentate de substanțe sau particule străine organismului (*bacterii, paraziti, grefe, transplant...*) sau structuri proprii care au suferit modificări fenotipice pe care organismul nu le mai recunoaște ca fiind proprii (*celule infectate cu virusuri, celule imbatranite, celule cu funcție alterată, celule cu potențial de malignitate*). Structurile proprii modificate, exprima la suprafață noi structuri antigenice pe care organismul nu mai le recunoaște ca fiind proprii.

Tipuri de imunitate

Dupa modalitatea de **castigare a imunitatii**, aceasta poate fi:

- **activa** cand efectorii imunitatii sunt stimulati de prezenta unui antigen. Se considera o *imunitate activa*:

***naturala** daca organismul a trecut printr-o infectie si*

***artificiala** daca organismul a fost vaccinat (vaccinul se obtine prin omorarea unei tulpini bacteriene sau inactivarea unei toxine bacteriene, dar cu pastrarea antigenicitatii acestora)*

pasiva atunci cand anticorpii se formeaza intr-un organism si se transfera intr-un alt organism. Imunitatea pasiva poate fi:

- ***naturala** daca anticorpii se transfera de la mama la fat transplacentar (IgG), sau la sugar in primele 6 luni prin intermediul laptelui matern (colostrul contine anticorpi materni tip IgA).*
- *acest tip de imunitate poate fi castigat si prin administrarea de seruri imune (amestecuri de de seruri obtinute de la mai multi subiecti: γ -globuline sau seruri monospecifice obtinute de la animale - mai ales de la cal).*

Dupa **tipul celulelor efectoare**, imunitatea poate fi:

I. imunitate mediata umoral (IMU) in care celulele implicate sunt **limfocitele B (LB)** care se activeaza in prezenta *antigenului (Ag) specific* si se transforma in **plasmocit secretant de anticorpi specifici (Ac)**.

II. imunitatea mediata celular (IMC) in care sunt implicate **limfocitele T (LT)** cu **subpopulatiile** sale, precum si **limfokinele** (*mediatori care asigura cooperarea intre diferitele clase de LT, precum si intre LT si celulele sistemului mononuclear- macrofagic*).

Din punctul de vedere al **timpului scurs** de la **contactul cu Ag** pana la declansarea raspunsului imun (**RI**), acesta poate fi identificat ca si:

Raspuns imun primar cand reactia se declanseaza la 4-6 zile de la primul contact cu antigenul si consta in sinteza de anticorpi de tip **IgM** cu o durata de viata scurta.

Raspunsul imun secundar care apare la *organisme deja sensibilizate* la un Ag; secventele sunt similare cu cele din raspunsul imun primar, dar se produc cu o viteza mult mai mare (*LB de memorie se activeaza si sintetizeaza o cantitate mare de IgG care au o viata lunga, de ordinul anilor*).

Componentele structurale ale sistemului imun (SI)

SI este constituit din **organe**, **celule** (*majoritatea celulelor care participa la RI sunt limfocite*) și **componente subcelulare** (*mediatori solubili*) (fig. 27).

Organele limfoide sunt de *doua* tipuri:

1. Organe limfoide primare: reprezentate de **timus** (*organul unde sunt instruiți precursorii limfocitari după ce au migrat din maduva hematoformatoare, cu formare de limfocite T - timodependente*) și **maduva hematoformatoare** (*echivalenta a bursei lui Fabricius de la pasari, unde se instruiesc limfocitele B - bursodependente*).

2. Organe limfoide secundare sunt reprezentate de *organele periferice* în care migrează limfocitele T și B după ce au fost instruite în organele limfoide primare: *limfoganglioni, splina, apendice, amigdale, placi Peyer...*; la acest nivel are loc orientarea lor ulterioară (*după contactul cu structurile antigenice*) finalizată cu expansiunea clonală.

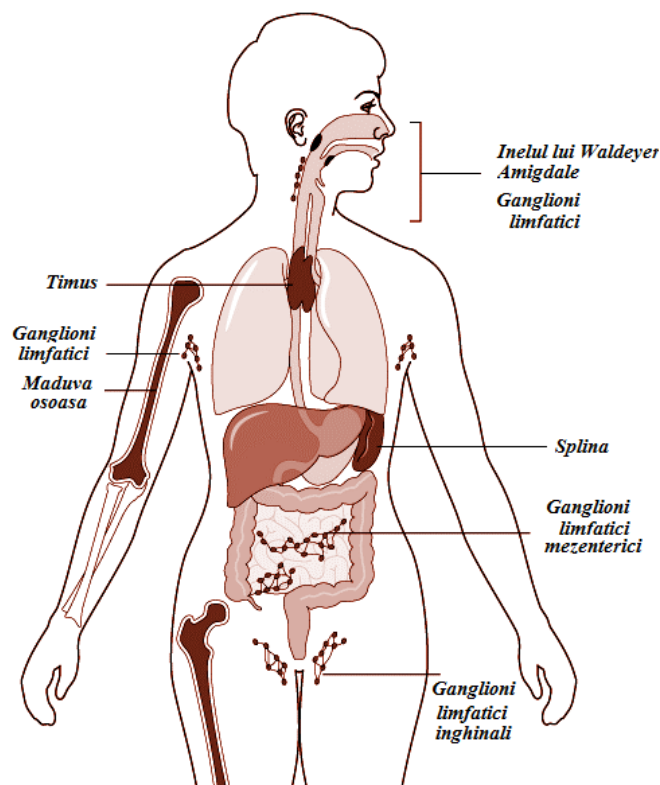


Fig. 27 – Organele limfoide primare și secundare

Celulele Sistemului Imun

Orice individ are un rezervor imens de limfocite, fiecare limfocit insa poate raspunde doar la un singur tip de stimul antigenic. In momentul in care organismul intra in contact cu un antigen, se va **selectiona** un singur limfocit si anume acela care are o *structura de suprafata (receptor) complementara* ca *structura* fata de antigenul ce a indus activarea lui; ulterior, se declanseza proliferarea sa, iar in final va rezulta o **clona de limfocite** sensibilizate fata de acel Ag (aceasta succesiune de evenimente este cunoscuta ca si **teoria selectiei clonale**) iar clona va sintetiza Ac specifici.

Exista mai multe tipuri celulare (fig. 28):

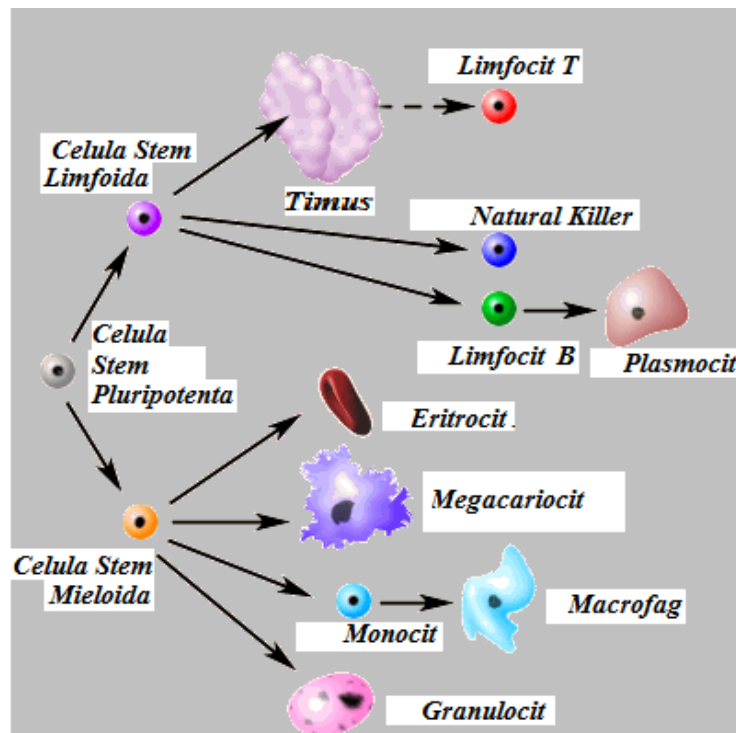


Fig.28 – Celulele sistemului imun

1. **Limfocitele B (LB)** - care dupa activare se transforma in plasmocite si secreta Ac specifici; exista 5 categorii pentru fiecare tip de Ig (A, G, M, D, E),
2. **Limfocitele T (LT)** - cu mai multe subclase: **LTh-helper**, **LTc-citotoxic**, **LTs-supresor**, **LTd-amplificator**,
3. **K (celule killer)** care sunt celule „nule” neavand markeri de suprafata nici pentru LT, nici pentru LB; **celulele K** intervin in reactii de **Citotoxicitate Celulara mediata de Ac (ADCC)** si prezinta la suprafata receptori (**R**) doar pentru fragmentul **Fc** al **IgG** si **M**,
4. **NK (celule Natural Killer)** sunt celule cu activitate citotoxica spontana,

5. **Macrofagele (Mcf)** sunt celule ce deriva din monocitele circulante sanguine si sunt fixate in diferite tesuturi; actioneaza:
- **nespecific** (*prin inglobarea si degradarea antigenului*),
 - **specific** prin prelucrarea antigenului dupa inglobare si transformarea in particule antigenice; acestea vor fi exprimate la suprafata *Mcf* sub forma de *superantigen* si va fi recunoscut de catre celulele *SI* in prezenta unui marker specific pentru *celulele prezentatoare de Ag*: **MHC de tip II** (*Complex Major de Histocompatibilitate*).

Mediatori solubili ai RI

Sunt reprezentati de mai multe clase de:

1. **Imunoglobulinele (Ig)** reprezentate de *anticorpi specifici* secretati de *plasmocite* in urma *activarii LB* de catre *Ag*;
2. **Interleukine (IL)** care sunt mediatorii eliberati de catre celulele *SI* cu rol in modularea raspunsului diferitelor clase de limfocite;
3. **Sistemul complement (C')**
 - care actioneaza **nespecific** producand **liza celulara** (*practic a sistemului Ag-Ac*), prin fixare pe capatul liber *Fc* al *Ig*,
 - unele componente activate ale C' au un **efect proinflamator**, favorizand diapedeza PMN si monocitelor in tesutul agresionat de *Ag*,
 - prin **opsonizarea** *Ag* favorizeaza inglobarea *Ag* in cursul **fagocitozei**.
4. **Interferonii α , β , γ (IFN)** cu rol in medierea RI;
5. Alti mediatorii **sunt**: *TNF (factor de necroza a tumorilor)*, *factori de crestere*, *factori de stimulare a coloniilor de granulocite*....

ANTIGENUL

Este definit ca orice *substanta* sau *particula vie* (*de exemplu bacterie*) sau *inerta* (*corp strain*) care este recunoscuta ca **non-self** si care este capabila sa declanseze un RI prin sinteza de Ac specifici.

Gruparile determinante fata de care se formeaza Ac poarta denumirea de **epitopi**, iar *locusul de cuplare al Ac specifici* cu *epitopii* poarta denumirea de **paratop**.

Exista mai multe tipuri de antigene:

1. *Antigenele/ substantele straine* care pot declansa *de la inceput un RI* se definesc ca si **imunogeni**; acestea sunt de cele mai multe ori o substanta de *natura proteica cu greutate mare*, mai rar de natura lipidica sau polizaharidica.

Un *antigen devine imunogen* doar in anumite *conditii*, cand:

- este recunoscut ca non-self,
- are la suprafata **grupari determinante** care imprima **imunogenicitatea** si **specificitatea** (*capacitatea unei grupari determinante de a produce Ac specifici sau de a sensibiliza celulele cu rol in RI*).

2. *Substantele proteice cu molecula mica* poarta denumirea de **haptene** (*medicamente, substante lipidice, polen, praf de casa..*). Se caracterizeaza prin faptul ca *nu pot declansa un RI* in momentul in care intra in organism; pentru a declansa un RI trebuie sa se fixeze pe un suport proteic numit **carrier**; la *contactul ulterior al haptenei* cu organismul, RI se poate instala rapid fara a mai fi nevoie de cuplarea cu carrier-ul.

Complexele haptena - Ac antihaptena apar mai ales in *reactiile de hipersensibilizare de tip I (HS tip I)* la compusi fata de care nu se declanseaza in mod normal un RI (*medicamente, polen*).

3. In **situatii rare**, unele Ag pot provoca sinteza unor Ac care se pot cupla cu alti determinanti antigenici decat cei fata de care s-au format (**Ag Forsmann** sau **Ag cross-reactive**) si vor determina **cross-reactii** sau reactii incrucisate.

Acest fenomen se produce datorita similitudinii structurale ale unor fractiuni sau a determinantilor antigenici, cu determinatii antigenici de pe alte macromolecule (*vezi complicatiile la distanta, poststreptococice, produse de titrurile mari de ASLO/Ac anti Strepto Llizina "O"*); reactia are loc datorita asemanarilor dintre *ASO-streptolizina O specifica streptococului β hemolitic de grup A* cu structuri de suprafata prezente la nivelul endocardului, membranei sinoviale si a membranei glomerulare).

Concluzia este ca specificitatea Ag nu este determinata de molecula intreaga, ci de determinantii sai antigenici.

4. Exista **Ag specifice** fiecarei **specii**; se pot distinge:

a. heteroAg care sunt prezente la toti indivizii unei specii,

b. allo - Ag care *sunt specifice pentru fiecare individ din cadrul unei specii (au determinism genetic)*;

- sunt prezente la suprafata tuturor celulelor din organism si nu difera de la un organ la altul;

- alloAg difera in functie de linia genetica din care provin diferiti indivizi.

Complexul major de histocompatibilitate MHC prezent la suprafața tuturor celulelor din organism permite recunoașterea de către *SI* a *selfului*.

Există 2 clase:

- **MHC de tip I**, prezente la suprafața tuturor celulelor,
- **MHC de tip II** sunt prezente doar la suprafața celulelor prezentatoare de Ag (*Mo*, *Mcf*, *PMN*).

Limfocitul TH va recunoaște *superantigenul* doar atunci când este prezentat alături de *MHC tip II*.

Un tip special de *Allo-Ag* este reprezentat de **sistemul HLA (Human Leucocyte Antigen)** care reprezintă *Ag de histocompatibilitate* care are un *determinism genetic*; stabilirea *HLA* permite aprecierea *compatibilității* între donatorul și potențialul *acceptor de greață sau transplant*.

5. Există **Ag specifice** pentru anumite **organe** și **tesuturi**. La suprafața unor celule există *markeri celulari* care permit identificarea și chiar numărarea lor în situații particulare (*de exemplu încadrarea limfocitelor în tipuri și subtipuri*).

Două organe diferite pot avea atât **Ag comune**, cât și **Ag organospecifice**; de exemplu Ag sechestrate în tesuturi și organe (*SNC, ochi, testicul, tiroidă*) în *condiții fiziologice* nu vin în contact cu sistemul imunitar în cursul *maturării imunologice*; dacă ulterior scapă accidental și vin în contact cu *SI* propriu, vor fi recunoscute ca *non-self* și vor declanșa *RI (de tip autoimun)*.

6. În situații particulare (*fie în urma unor cross-reactii, fie ca urmare a instalării unor anomalii de funcționare a SI*) *Ag self (structuri proprii)* pot deveni **autoAg** și pot declanșa *RI*.

7. Unele **tumori** pot dezvolta **Ag specifice (CA 15-5, CA 19-9)** sau comune mai multor tipuri de tumori (**AFP, CEA**); apariția acestor Ag va declanșa *RI* care va încerca *sa stopeze în prima fază evoluția expansiunii tumorale*. Prin dozarea Ag tumorale (*markeri tumorali*) se poate pune un *diagnostic corect (pozitiv sau diagnostic diferențial)* și se poate *monitoriza evoluția post-terapeutică* a pacientului.

IMUNOGLOBULINELE (Anticorpuri specifice)

Sunt reprezentate de globuline serice de natură glicoproteică, care migrează în regiunea electroforetică γ .

Există 5 clase de *Ig*: *G, A, M, D*, și *E* care au structură chimică și determinanți Ag comuni, dar cu funcții diferite.

Au abilitatea de a recunoaște Ag față de care s-au format, prin intermediul situsului de combinare (*paratop*), legându-se specific de acesta (*epitop*); în urma combinării, molecula de Ac suferă modificări conformationale cu rol în fixarea și activarea complementului.

Din punct de vedere *structural*, fiecare moleculă de *Ig (fig. 29)* este alcătuită din:

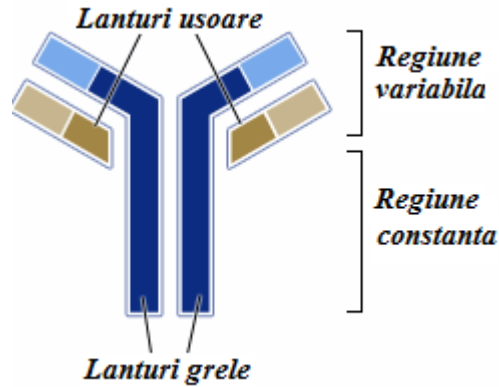


Fig 29 - Structura anticorpului

- 4 lanțuri polipeptidice identice 2 câte 2, legate prin punți disulfidice:
 - 2 lanțuri grele (**H**- heavy de 5 tipuri: α , γ , δ , ϵ , μ - imprimă și tipul clasei de Ig: A, G, D, E, M) și
 - 2 lanțuri ușoare (**L**-low de 2 tipuri: K și λ);
 - fiecare lanț prezintă o porțiune **variabilă** „V” și una **constantă** „C”.
 - porțiunile **V** (VH și VL) cuprind aminoacizi aranjați în secvențe specifice pentru fiecare individ și formează situsul de combinare al Ig cu Ag.

Din punct de vedere *functional*, fiecare moleculă de Ig are 2 fragmente: **Fab** (*Antigen binding fragment*) și **Fc** (*Crystallisable fragment*):

- prin **Fab** se realizează cuplarea de Ag; combinarea Ac - Ag este complementară, pe baza combinației unice de AA din porțiunea *Fab* (*proprie oricărui individ*),
- pe **Fc** se atașează C' după formarea complexelor Ag- Ac cu declanșarea activării sale în cascada și liza Ag,
- **Fc** se poate atașa la suprafața celulelor care posedă **FcR** (*celulele imunocompetente*),

-**regiunea balama** este situată la limita celor două fragmente și conferă porțiunii superioare a *Fab* abilitatea de mișcare în timpul combinării sale cu Ag, influențând **afinitatea** sa față de Ag.

Clasele de Ig și funcțiile lor

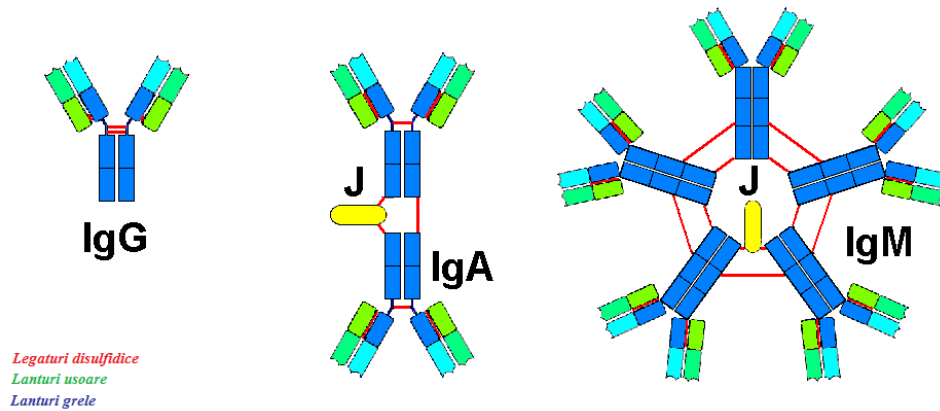


Fig. 30– Structura imunoglobulinelor G, A și M

IgG (fig. 30)

- reprezintă 70-80% din totalul Ig serice;
- există 4 clase IgG: IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4;
- sunt singurele Ig care traversează placenta, asigurând protecția nou-născutului în primele luni de la naștere (*imunitate naturală pasivă*);
- pot activa sistemul C' pe cale clasică;
- se sintetizează în cursul *RI secundar*;
- au specific tipul γ al lantului greu.

IgA

- reprezintă aproximativ 15% din totalul Ig serice;
- sunt prezente în secrețiile mucoase (*respiratorii, digestive, urinare, genitale, lacrimi, salivă, lapte matern*) sub formă dimerică de IgAs (două molecule identice legate printr-o piesă secretorie „J” care inhibă atașarea microorganismelor de suprafața mucoaselor și neutralizează virusurile),
- au lantul greu de tip α .

IgM

- reprezintă aproximativ 7% din totalul Ig serice;
- au o structură pentamerică (5 molecule sunt legate de o piesă intermediară);
- având greutatea moleculară foarte mare nu strabat placenta;
- se sintetizează în cursul *RI primar*;

lantul greu este de tip μ .

IgE

- se găsesc în cantități foarte mici în ser (*reagine*);
- mediază reacțiile alergice; sunt singurele *Ig citofile* având receptori pentru *Fcε* pe suprafața eozinofilelor, bazofilelor și mastocitelor; prin legarea de celule se produce degranularea lor cu eliberarea de substanțe biologice active care vor produce **fenomenele alergice** locale de *vasodilatație, bronhoconstricție, exudație, hipersecreție de mucus*;
- au lantul greu de tip ϵ .

BACTERIOLOGIE SPECIALA

1. COCII GRAM POZITIVI

Sunt bacteriile cu **forma sferică** colorate în **violet** în colorația Gram. Reprezentanții sunt bacterii ce aparțin Genurilor **Staphylococcus** și **Streptococcus** (fig. 31).

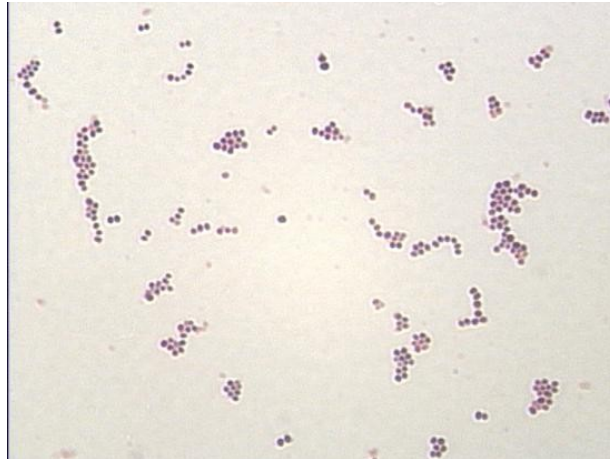


Fig.31 – Cocci Gram pozitivi

1.1 STAFILOCOCCI

- aparțin *Familiei Micrococcaceae*, Genul *Staphylococcus*
- Sunt coci **Gram pozitivi**, așezați în froțiu în gramezi sau **ciorchine** (de unde derivă și denumirea din limba greacă: *staphylos*)
- majoritatea sunt **aerob-anaerob facultativi**
- sunt **imobile, nesporulate**; numai **tulpinile foarte tinere** pot prezenta **capsula**.
- **Speciile implicate în patologia umană se identifică ca și:**
 - **Nepatogene:** *St. epidermidis*, *St. saprophyticus* (care pot deveni patogene în condiții speciale: în cursul manoperelor invazive: cateterisme, chirurgie stomatologică etc)
 - **Patogene:** *St. aureus* **coagulazo pozitiv** (fig. 32).

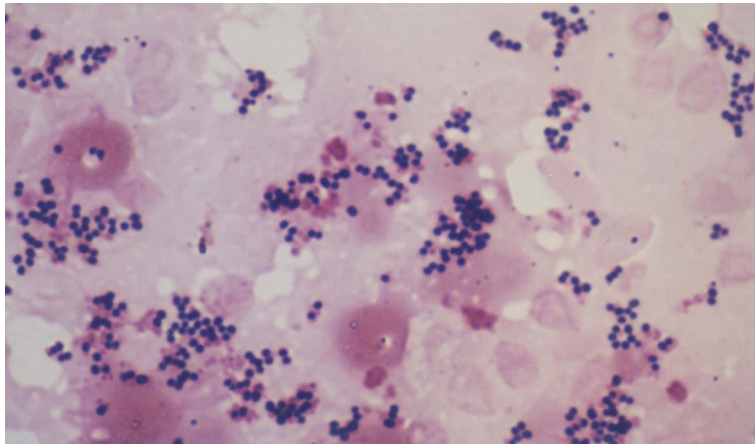


Fig. 32– Staphylococcus aureus (col. Gram)

Proprietati metabolice

- sunt **bacterii nepretentioase** (*persista timp indelungat in mediul extern si sunt usor cultivabile*),
- au un timp scurt de generatie (*se dezvoltă rapid*),
- sunt *sensibile la bacteriofagi* (pe baza acestei proprietati s-au identificat 4 tipuri antigenice distincte),
- sunt **bacterii halotolerante** avand capacitatea de a se dezvolta la concentratii crescute ale NaCl (*pana la 10%*),
 - aceasta proprietate este importanta si explica supravietuirea stafilococilor in alimentele conservate in sare; aceasta proprietate este utila pentru izolarea si cultivarea stafilococilor, prin utilizarea *mediului Chapman* (*hiperclorurat*) ca si *mediu selectiv* pentru stafilococi (*permite dezvoltarea preferentiala a stafilococilor din produsele biologice pluricontaminate, prin inhibarea cresterii altor specii bacteriene*).

Caractere de cultura

- pe **medii lichide**, stafilococii tulbura uniform aceste medii,
- pe **medii solide** stafilococii dezvoltă colonii circulare cu diametrul de **1-3 mm**, bombate, **opace**, cu aspect cremos, **pigmentate** (*auriu - St. aurium, galben - St. citreus, alb - St. albus*) (fig. 33).



Fig. 33 - Colonii de *Staphylococcus epidermidis* (pe geloza-sange)

Factorii de patogenitate

Tulpinile de Stafilococi au un **potential ridicat de adaptare la diferite conditii de mediu** si o capacitate crescuta de **biosinteza de factori enzimatici si toxici**:

- **Enzimele extracelulare** sunt reprezentate de:
 - **hialuronidaza** care descompune *acidul hialuronic* din substanta fundamental, favorizand difuzarea stafilococilor in tesuturi,
 - **coagulaza** induce formarea coagulului de fibrina in jurul celulelor bacteriene secretante; se realizeaza astfel “**protectia bacteriei**” fata de **factorii bacteriolitici** locali si fata de **fagocitoza**; este sintetizata de toate tulpinile de *stafilococ aureus*,
 - **stafilokinaza** (*fibrinolizina stafilococica*) permite liza coagulului de fibrina si **progresia** stafilococilor din zona exudatului inflamator in tesuturile sanatoase din jur,
 - **lipazele** actioneaza asupra lipidelor plasmaticice si asupra grasimilor de la suprafata tegumentelor (*cu tropism fata de zonele in care sunt mai active glandele sebacee*),
 - **nucleazele** (*ADN-aze*) sintetizate de *tulpinile coagulazo- pozitive*.
- **Toxinele stafilococice** sunt de natura proteica si reprezinta factori majori de patogenitate; cele mai importante sunt:
 - **hemolizinele** cu tripla actiune (**hemolitica**, **dermonecrotica** si **letală**) ; au fost identificate 4 tipuri:
 - α cu actiune citolitica pe macrofage, trombocite si hematii (*induc hemoliza completa de tip cald*)
 - β cu actiune incompleta pe hematiile de oaie (*hemoliza de tip cald- rece: hemoliza partiala care incepe la 37° C se intensifica la 4° C*)

γ și δ .

- **leucocidinele** cu rol *antifagocitar* cu acțiune selectivă pe macrofage și PMN ;
- **enterotoxinele** eliberate de unele tulpini de stafilococi (*mai ales de cei coagulazopozitivi*); determină **toxiinfecții alimentare** sau **enterocolite pseudomembranoase postantibiotice**; sunt eliberate în alimente și **rezistă la tratamentul termic** (la 100°C timp de 1 ora); există 6 astfel de toxine (A până la F) ;
- **toxina epidermolitică și exfoliativă** care este eliberată de *tulpinile cu tropism cutanat*; acționează prin: distrugerea substanței fundamentale, exudație locală, ruperea desmozomilor și desprinderea stratului superficial al epidermului;

S-au identificat și **alți factori de patogenitate**, cum sunt: **proteina A** din structura peretelui celular cu receptori pentru Fc al IgG, participând la reacția de coaglutinare; are și rol antifagocitar.

Procesul infecțios stafilococic este determinat de existența unor **condiții permissive**: plăgi traumatice, arsuri, incizii chirurgicale, infecții virale, diabet zaharat, tehnici invazive ATI, administrarea de imunosupresoare sau un status imun deprimat. Frecvent **poarta de intrare** este la nivelul foliculului pilos, a glandelor sebacee sau sudoripare; deseori sursa de infecție este reprezentată de **stafilococii proprii** (*flora comensală*) de la nivelul *tegumentului, intestinului sau tractului respirator superior*.

Principalele localizări ale infecțiilor produse de stafilococi sunt:

- **cutanate: foliculite** (fig. 34), **furuncul** (fig. 35) (*reprezintă extensia la mai mulți foliculi pilosi*), **carbuncul** (fig. 37) (*furuncul antracoid rezultat prin confluența mai multor furuncule și afectarea țesutului subcutanat adiacent*), **hidrosadenita** (fig. 36) (*infecția la nivelul glandelor sudoripare cu localizare mai ales subaxilară*), **acneea juvenilă, sindromul exfoliativ**,



Fig. 34– Foliculita



Fig.35 – Furuncul



Fig. 36- Hidrosadenita



Fig.37 – Carbuncul

- ale **fanerelor**: **panaritiu** (*infecția periunghială*),
- la nivel **respirator**: în general infecțiile bacteriene sunt **secundare unei infecții virale**: **rinofaringita**, **faringo-amigdalita**, **pneumonii**, **bronhopneumonii**; uneori infecțiile de la nivelul căilor respiratorii superioare se pot extinde în sfera **ORL**: **otite**, **sinusite**, **mastoidite**,
- la nivelul **aparatului digestiv** pot induce **toxiinfecții alimentare** (incubația de până la 4 ore, cu debut brusc cu *greturi însoțite de varsături și scaune diareice și cu evoluție favorabilă, remisiunea simptomelor fiind spontană în maximum 24 ore*) și **enterocolita pseudomembranoasă post antibioticoterapie**,
- la nivelul **aparatului uro-genital**: **cistite**, **pielonefrite**, **abces renal**, **metrite**, **anexite**, **mastite**, **septicemii postabortum** (*după avorturi septice*),
- la nivelul **aparatului cardio-vascular**: **endocardite**, **pericardite**, **flebite**,

- la nivelul SNC: **meningite**, **abces cerebral**,
- în urma **septicemiilor** cu punct de plecare de la un *focar primar*, se produce diseminarea hematogena cu localizări secundare la distanță: **artrite**, **abcese subcutanate** (fig. 38), **abcese pulmonare**, **renale**...



Fig. 38– Abcese subcutanate

- **sindromul de soc toxico-septic** apare frecvent la femei după menținerea îndelungată a tampoanelor vaginale prin cantonarea bacteriilor la acest nivel și eliberarea toxinei răspunzătoare de manifestările clinice specifice: *febra*, *greturi*, *varsături*, *diaree* și *descuamarea palmo-plantară*,
- **sindromul pielii oparite** este indus de eliberarea de către anumite tulpini stafilococice a *toxinei exfoliative* care afectează mai ales nou-născuții și constă în *exfolierea generalizată a tegumentului*.

Staphylococcus epidermidis (fig. 39) este un comensal al tegumentelor, având caracter *coagulazo-negativ*, poate produce **bacteriemii** la *persoanele imunodeprimăte* sau la persoanele cateterizate, colonizând secundar dispozitivele de protezare.

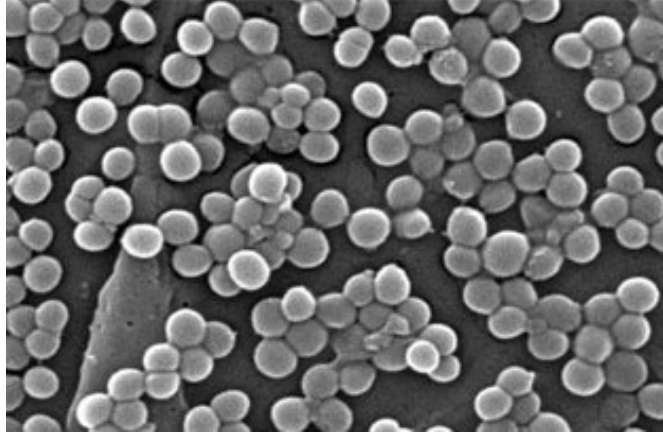


Fig. 39– Staphylococcus epidermidis (imagine electronmicroscopica)

Tratamentul infectiilor produse de stafilococi se efectueaza in conformitate cu rezultatului obtinut la *antibiograma* (*majoritatea stafilococilor sunt rezistenti la β lactamaze*).

Se poate administra vaccinul, ca tratament adjuvant, sub forma de:

- **autovaccin** (*contine germeni atenuati obtinuti din produsul biologic propriu, recoltat in conditii specifice*)
- **stocvaccinul** (*contine germeni omorati prin caldura, administrati in functie de serotipul agentului infectios*).

STREPTOCOCII

Apartin Familiei Streptococcaceae, Genul Streptococcus.

Sunt coci **Gram pozitivi**, asezati in frotiu in lanturi mai scurte sau mai lungi (*fig. 40*) (*dispozitia in lanturi se datoreaza diviziunii celulare care are loc mereu in acelasi plan, iar celulele fice au tendinta de a ramane alipite*).

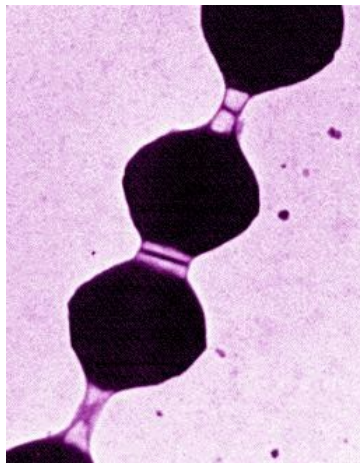


Fig. 40– Dispozitia streptococilor (ME)

Sunt bacterii **aerob-anaerob facultative**, cu **cerinte nutritive speciale**.

Din punctul de vedere al **formatiunilor facultative** streptococii:

- sunt uneori capsulati, **imobili** si **nesporulati**.

Caractere de cultura

- Pe **medii lichide** streptococii patogeni:
 - tulpinile capsulate determina o turbiditate omogena a mediului,
 - in general apar *grunji* care se depun la fundul tubului.
- Pe **medii solide** dezvoltă **colonii foarte mici** (mai mici de 1 mm) circulare, bombate, **translucide** (vizibile cu lupa) (fig. 41); pe **mediile cu sange**, majoritatea streptococilor dezvoltă hemoliza in jurul coloniei; in functie de tipul hemolizei, **streptococii** se clasifica in:

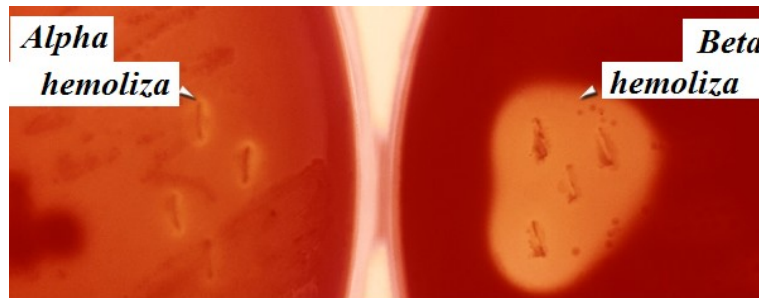


Fig.41 – α si β hemoliza

- **α hemolitici** care produc o *hemoliza incompleta* (degradarea hemoglobinei se face pana la stadiul de biliverdina) vizibila de un *halou ingust* in jurul coloniei, de culoare verzuie (*streptococi viridans*),
- **α' hemolitici** cand hemoliza este cu margini neclare; hemoglobina este degradata complet, dar apar zone in care nu toate hematiile sunt lizate (*streptococi de grup B si D*),
- **β hemolitici** care produc hemoliza completa, ca o zona intinsa, clara, perfect transparenta in jurul coloniei; acest tip de hemoliza este determinat de *Streptococii piogeni* (de grup **A, B, C si G**) care elaboreaza toxina **SLS** (*streptolizina oxigen stabila*),
- **γ hemolitici** cand hemoliza este absenta (*grupul serologic D/ enterococi*).

Clasificarea antigenica (Lancefield)

Majoritatea streptococilor au in *structura peretelui celular* un *determinant antigenic* numit **polizaharidul C**. Pe baza diferentelor de microstructura a acestuia la diferite tulpini de streptococi, *Barbara Lancefield* i-a grupat si a notat grupele de la **A** la **U** (**streptococi grupabili**).

La randul sau, fiecare grup se subimparte in: *serotip, lizotip, bactericinetip, antibiotip*...

Streptococii care *nu prezinta polizaharidul C* au fost denumiti **streptococi non-grupabili**.

Polizaharidul C nu este un factor de patogenitate, prin urmare anticorpii specifici nu au rol în apărare.

Factorii de patogenitate

Streptococii din grupul A conțin proteina M care:

- conferă rezistență la fagocitoză,
- este antigenică și poate induce **cross-reactii** cu structurile self ale organismului (*sarcolema fibrei musculare, valve cardiace, membrana bazală glomerulară, sinovială articulară*),
- este responsabilă de patogenia sechelelor poststreptococice (*cardita reumatică, artrita, glomerulonefrită acută poststreptococică*).

Toxinele streptococice sunt de natură proteică și reprezintă factori majori de patogenitate, dintre acestea cele mai importante sunt:

- **SLO - streptolizina oxigen-labilă** care are activitate citolitică (*hemolitică și leucolitică*) și cardiotoxică; este antigenică și induce formarea de anticorpi specifici anti-SLO (**ASLO**); creșterea titrului ASLO indică o infecție recentă cu **Streptococ β -hemolitic de grup A (*S β hA*)**;
- **SLS - streptolizina oxigen-stabilă** este responsabilă de hemoliza de tip β și are in vivo o activitate citolitică (*hemolitică, leucolitică și trombolitică*);
- **Eritrotoxina sau toxina eritrogenă** (*fig. 42*) - eliberată doar de anumite tulpini de *S β hA* (sintetizată numai tulpinile lizogenizate de un fag temperat care codifică sinteza ei) și este responsabilă de **erupția din scarlatină** (*caracterizată din punct de vedere clinic prin angină și ruș cutanat generalizat*); este antigenică, prin urmare declanșează sinteza de anticorpi protectori, astfel încât la o nouă întâlnire a organismului cu aceeași tulpină, nu se va mai produce erupția cutanată;



Fig. 42– Erupția cutanată din scarlatină

- **Streptokinaza (SK/fibrinolizina)** activează plasminogenul și astfel se va produce liza cheagului de fibrina; este antigenică și determină sinteza de anticorpi antiSK; se utilizează în tratarea trombozelor;
- **Dezoxiribonucleaza (ADN-aza, streptodornaza, SD)** este produsă de toți *SβhA* și are un rol major în declanșarea glomerulonefritei acute poststreptococice (GNAcPS), degradează ADN-ul celulelor și este antigenică (induce apariția anticorpilor anti SD);
- **Hialuronidaza** degradează acidul hialuronic din peretele celular, favorizând invazia tisulară.

Principalele localizări ale infecțiilor produse de streptococi:

- **Streptococii non-grupabili (viridans)** aparțin florei saprofite (localizată la nivelul: cavității bucale, tegument, placă dentară, tract uro-genital, intestin) și sunt condiționat patogeni; în anumite situații pot ajunge în torrentul sanguin și determină endocardita lentă.
- **Streptococii piogeni (de grup A)** sunt responsabili de infecții cu multiple localizări:

Respiratorii: angine, faringite urmate de:

complicații acute supurative: în sfera ORL (*otite, sinuzite, mastoidita*) ale căilor respiratorii inferioare (*pneumonii, bronhopneumonii, pleurezie*) cardiace (*endocardita*) meningeale (*meningite*);

complicații nesupurative la distanță și tardive (RAA /cardita, coreea, purpura reumatismală, eritemul nodos/ și GNAcPS).

Tegumentare:

piodermite (impetigo (fig. 43), intertrigo) erizipel (fig. 44) (eritem cutanat cu burelet marginal, localizat cu predilecție la nivelul extremităților; se extinde progresiv și este însoțit de dureri de intensitate crescută, febră, frison);



Fig.43 – Impetigo



Fig. 44– Erizipel

scarlatina care este o boala infecto - contagioasa a copilăriei (fig. 45) (debutul este angina produsa de tulpinile de SBhA capabile sa sintetizeze **eritrotoxina** responsabila de **eruptia generalizata**);



Fig. 45 – Eruptia din scarlatina

Infectii genitale: endometrite

Streptococii de grup B (*agalactiae*) apartin florei comensale (vagin, uretra, faringe, tegumente) si sunt responsabili de infectii ale nou-nascutului prematur sau subponderal (septicemie, meningita, infectii respiratorii sau ORL) si ale gravidei (infectii urinare, septicemii, avort).

Streptococii de grup C au fost izolati la purtatorii sanatosi (din exudatul faringian) si uneori din saange, LCR, urina.

Streptococii de grup D (vezi mai sus: enterococii).

Complicatiile nesupurative sunt reprezentate de:

Reumatismul articular acut (RAA) care este o *boala autoimuna* si apare ca o **complicatie nesupurativa tardiva** a unei infectii faringiene cu **S β hA** (dupa 2-4 saptamani de la debutul acesteia),

organismul infectat elibereaza o cantitate mare de **Ac anti SLO, anti SK si antiSD** care se mentin crescuti, titrul devenind si mai inalt, cu fiecare noua infectie, cu toate acestea, nu au abilitatea de a elimina streptococul;

exotoxinele (SLO, SLS, SK, SD) actioneaza initial prin producerea unor *leziuni de tip exudativ si necrotic* (miocard, valve cardiace, articulatii) si astfel se *denudeaza Ag tisulare* care poseda structura similara cu *proteina M a S β hA*; secundar se sintetizeaza *cantitati crescute de Ac anti streptococici si AutoAc*, accentuandu-se leziunile initiale, in timp ce apar altele noi, la nivelul endocardului, cutanat, renal, sistem nervos si articular.

intreruperea *lantului epidemiologic* consta in eliminarea si prevenirea altei infectii cu *S β hA*, prin *tratarea cu penicilina retard dupa scheme terapeutice bine definite*.

ASLO creste dupa prima saptamana de la debutul infectiei cu S β hA, atingand maximum in saptamana 3-4, dupa care descreste daca boala evolueaza spre vindecare;

titrurile **ASLO mai mari de 1000 U/l**, semnifica perioada de debut pentru *RAA* sau *GNAcPS*; dupa tratament corect, *ASLO* scade, ceea ce semnifica *acalmia RAA* si *vindecarea GNAcPS*;

datorita frecventei mari de *infectii inaparente*, titrul se pozitiveaza si creste pana la 20-25 de ani, de aceea **se considera normal un titru <200 U/l**;

purtatorii sanatosi pot avea titrul *ASLO* normal;

monitorizarea titrului *ASLO* este importanta pentru aprecierea eficientei tratamentului si al evolutiei bolii.

Din punct de vedere *epidemiologic*, **principala sursa de infectie** cu *streptooci patogeni* o reprezinta **purtatorii sanatosi** (*bacteriile putand fi cantonate la nivelul cailor respiratorii superioare, vagin*).

PNEUMOCOCUL (STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE)

- este un **comensal** al cailor respiratorii superioare;
- din punct de vedere morfologic, cocii sunt usor alungiti, **lanceolati** (fig. 46) (*forma de “varf de lance” sau “flacara de lumanare”*), cu dispozitie **in diplo** (doi cate doi),
- in coloratia **Gram**, sunt colorati in **violet** (*Gram pozitivi*),
- din punctul de vedere al **formatiunilor facultative** sunt bacterii:

- de cele mai multe ori **capsulate** (capsula reprezintă un **factor important de patogenitate**); în colorația Gram, capsula apare ca un *halou luminos* în jurul cociilor “*in diplo*”, dar există și *metode de colorare speciale* care pun în evidență capsula pneumococului (*colorația cu tus de China* - metoda Burri și *fenomenul de umflare a capsulei* - Neufeld vizualizată cu ajutorul unor seruri care conțin anticorpi specifici anticapsulari (*antiK*),
- **imobile și nesporulate**;

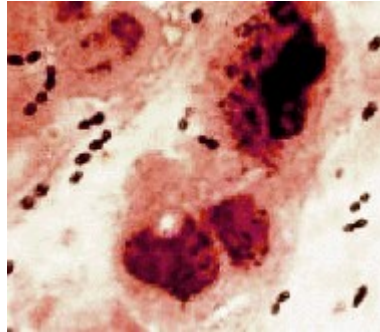


Fig. 46– Streptococcus pneumoniae(MGG)

Proprietati metabolice

Sunt germeni **aerob-anaerobi facultativi**, **microaerofili** (se dezvoltă mai bine în prezența unei cantități minime de CO_2 5%),

Germenii sunt pretentios, având **necesar metabolic crescut** (medii cu adaos de sange, ser, lichid de ascită); în culturile mai vechi apare fenomenul de **autoliza** (datorită eliberării unor enzime lipolitice și proteolitice);

Pe mediile cu bila (fig. 47) (sau saruri biliare) dezvoltă fenomenul de **bilioliza** (autoliza favorizată de prezența compusilor biliari).

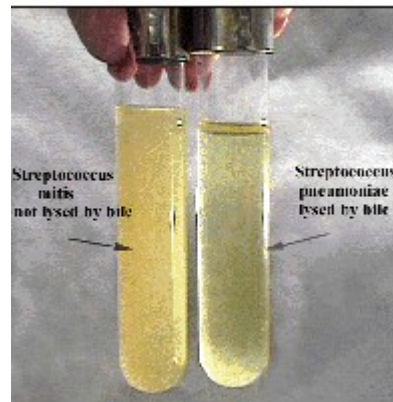


Fig. 47– Fenomenul de bilioliza

In vivo eliberează o enzimă responsabilă de caracterul de invazivitate al tulpinii (**hialuronidază**).

Pneumococul are capacitatea de a **fermenta inulina** (caracter care permite diferențierea pneumococilor de alți streptococi **α hemolitici**).

Pneumococul prezintă **sensibilitate la optochin** (fig. 48) (diametrul zonei de inhibiție din jurul coloniei este > 20 mm) ceea ce reprezintă un alt caracter de diferențiere de alți streptococi α hemolitici.



Fig. 48– Sensibilitatea la optochin a pneumococilor

Tulpinile rezistente la Penicilina s-au dovedit a fi rezistente și la alte multe antibiotice (**caracter de polirezistentă la antibiotice**).

Caractere de cultura

Pneumococii tulbura uniform mediul lichid. Pe medii solide dezvoltă colonii rotunde, cu contur regulat, turtite, transparente, cu aspect mucoid (datorită prezentei capsulei); pe mediile cu sange (geloza sange și geloza sange-chocolat) dezvoltă **α hemoliză**, datorită eliberării unei hemolizine.

Structura antigenică

În peretele celular al **pneumococului** se află **substanța C** care precipită *in vitro* cu o β globulina serică în prezența ionilor de calciu (**proteina C reactivă-CRP**); această proteină se găsește în cantități mari în serul pacienților care trec printr-o perioadă acută a unui proces inflamator și care se eliberează din celulele necrozate în zonele de inflamație ale ficatului; în practică, dozarea **CRP** este utilă în monitorizarea evoluției pacienților cu inflamații acute.

La nivelul capsulei se găsesc **Ag capsulare K**, care reacționează cu serul specific de tip, astfel tulpinile pot fi serotipate pe baza reacției de umflare a capsulei.

Patogenie

- 5-10 % din populația sanatoasă este **purtătoare** de pneumococ (*fiind conditionat patogen*) la nivelul **rinofaringelui**;
- **principalele infecții** în care este implicat pneumococul sunt la nivelul **arborelui respirator superior** (pneumonia francă lobară, bronhopneumonii, pleurite) dar și **meningeale, ORL** (*sinusite, otite*) **articulare, tegumentare** s.a.
- în anumite situații, în timpul proceselor pneumonice, pot fi izolați din hemocultura, datorită unor *bacteriemii tranzitorii*,
- după vindecare, e posibil ca în rinofaringe să rămână pneumococi cantonați și persoana respectivă să rămână la stadiul de purtător sanatos; e posibilă o nouă infecție cu aceeași tulpină, numai dacă infecția se permanentizează la nivelul unui focar închis (*sinusita, bronșiectazie*).

Profilaxia se face prin *vaccinare* cu un amestec de 23 de tipuri de Ag K (**Pneumovax**).

2. COCII GRAM NEGATIVI

GENUL NEISSERIA

Este reprezentat de coci **Gram negativi, reniformi** (*“boaba de cafea”*) (fig. 49) așezați în frotiu **in diplo**, cu fetele concave privind-se față în față;

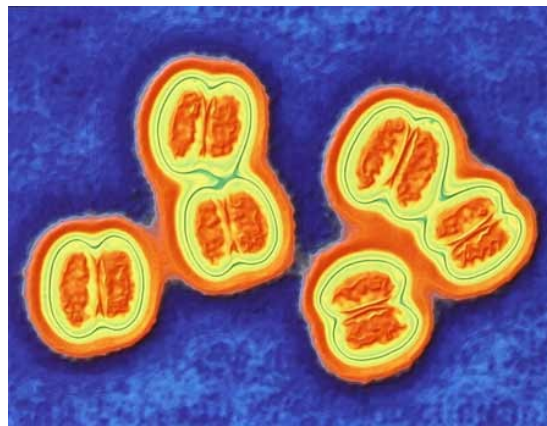


Fig.49 – Neisserii (IF)

Pe preparatele obținute din produse patologice (*secretii genitale, LCR*) *Neisseriile patogene* apar cel mai frecvent **intraPMN** (dar și extracelular).

Prezența *intracelulară* a *Neisseriilor* indică asupra **patogenității** lor (*sunt surprinse în cursul fagocitozei*) fiind astfel posibilă diferențierea *Neisseriilor* patogene de cele nepatogene (*care apar doar extracelular*).

Din punct al proceselor metabolice, sunt bacterii **aerob-anaerob facultative**, **microaerofile** (*prefera creșterea în prezența CO₂ 4-8%*) **foarte pretentioase** și sunt **sensibile** la variații de temperatură, umiditate, pH; din acest motiv transportul probelor și însămânțarea se face pe medii preîncalzite la 37°C.

În culturi foarte vechi prezintă fenomenul de autoliză, motiv pentru care apare o mare varietate a formei coloniilor pe mediul de cultură solid.

Pe **medii de cultură solide** apar *colonii rotunde, bombate, lucioase (fig. 50), foarte mici (0.5 – 1.0 mm cu aspect de “picatura de rouă”)* și sunt *oxidazo pozitivi*.



Fig. 50– Colonii de *Neisseria meningitidis*

Pe **medii lichide**, tulbură uniform mediul sau apare un mic depozit grunjos.

Speciile patogene sunt reprezentate de *Neisseria gonorrhoeae* (**gonococ**) și *Neisseria meningitidis* (**meningococ**).

Specii nepatogene sunt comensale în cavitatea bucală, tractul respirator superior, tractul genito-urinar.

GONOCOCUL

Este agentul etiologic al **gonoreei** sau **blenoragiei**, boala cu transmitere sexuală în 99% din cazuri (*fig. 51*).

Este un **parazit strict uman** (*există receptori specifici la nivelul cailor genitale*); colonizarea se face prin intermediul **pililor comuni** pe suprafața mucoaselor indemne (*vagin, uretra, rect, faringe, conjunctivă*); în situații particulare poate trece în torrentul sanguin și se poate fixa la distanță, pe sinovialele articulare sau în alte organe, producând abcese.

Din punct de vedere *clinic*, 50% dintre femei și 5-10 % dintre bărbați sunt **asimptomatici**, menținându-se astfel **lanțul epidemiologic**.



Fig. 51– Neisseria gonorrhoeae (col. Fucsina)

La **barbat** perioada de incubatie este de 2-8 zile de la contactul infectant, iar **simptomatologia** consta in disurie (*durere la mictiune*) si secretii purulente abundente; netratata, se poate **croniciza** si prin ascensiune (de-a lungul cailor urinare) sa determine si epididimita, uretrita cronica, prostatita, stricturi uretrale si chiar infertilitate; cronicizarea duce la scaderea in intensitate a secretiei, aceasta reducandu-se la “**picatura matinala**” (fig. 52).

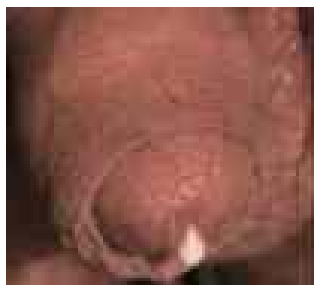


Fig. 52– Picatura matinala

La persoanele cu *practici sexuale deviate*, gonococul poate fi izolat de la nivel *anal* sau *orofaringian*.

La **femeie** infectia este frecvent asimptomatica, aceasta fiind frecvent sursa de infectie. Simptomatologia este reprezentata de uretrita usoara si tranzitorie, disurie moderata, colpita (*inflamatie colului uterin*), secretii mucopurulente, hemoragii intermenstruale; netratata infectia poate sa ascensioneze in micul bazin si sa produca *endometrita* (*inflamatie endometrului*), *salpingita* (*inflamatie trompelor uterine*), *ooforita* (*inflamatie ovarelor*); prezenta dispozitivelor intrauterine conduce frecvent la sterilitate, sarcini ectopice, peritonite, abcese perihepatice.

La **nou-nascut**, in timpul travaliului, secretiile genitale maternelor vin in contact cu mucoasa oculara, si astfel se poate ajunge la producerea *oftalmiei gonococice* a nou-nascutului si chiar orbire; *profilaxia* se face prin instalarea in fundul de sac conjunctival a unei picaturi de AgNO_3 .

O alta **sursa** importanta **de infectie** o constituie *bolnavii netratati corespunzator*.

MENINGOCOCUL

Este agentul etiologic al **meningitei meningococice**. Transmiterea interumana se face prin aerosoli (picaturile lui Pflugge) (fig. 53).

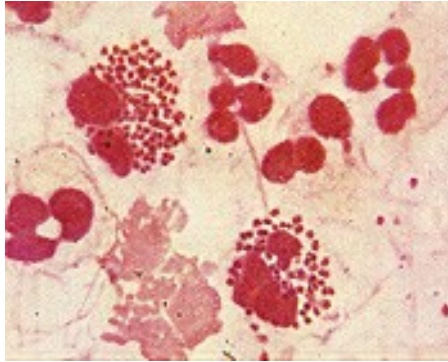


Fig.53 – Neisseria meningitidis

Meningococul paraziteaza exclusiv omul iar germenii patogeni au virulenta relativ scazuta

Exista un procent crescut de persoane care sunt purtatoare de meningococ, la nivelul cailor respiratorii superioare.

Patogenie

Initial **meningococii** pot produce **rinofaringite**; in conditii de *scadere a rezistentei locale* sau a unei solutii de continuitate, bacteriile strabat mucoasa, ajung in torentul sanguin si in *conditii de scadere a rezistentei generale* a organismului, strabat membrana hematoencefalica si se localizeaza la nivelul meningelui, producand **meningita meningococica** (*clinic caracterizata prin: febra, stare generala alterata, semne neurologice de iritatie meningeala: fotofobie, greturi, varsaturi in jet, redoare a cefei*); in functie de promptitudinea diagnosticului si a terapiei, evolutia poate fi *fatala* sau spre *remisiune*.

Diagnosticul trebuie pus in cel mai scurt timp; este obligatorie examinarea microscopica a preparatelor biologice (LCR) colorate Giemsa sau cu albastru de metilen.

Profilaxia impune identificarea si sterilizarea purtatorilor si vaccinarea persoanelor cu risc ridicat.

Familia Enterobacteriaceae

Caractere generale

Sunt bacili **Gram negativi**, **mobili** (*Salmonella*, *Proteus*, *E. coli*) (fig. 54) sau **imobili** (*Shigella*, *Klebsiella*, *Yersinia*).

Majoritatea enterobacteriaceelor sunt **necapsulate** (exceptie: *Klebsiella spp*), sunt **nesporulate**, aerob-anaerob facultative.



Fig. 54– Salmonella typhi (coloratie Gram)

Caracteristic tuturor speciilor ce aparțin acestei familii este un set de 3 **proprietati biochimice** pe baza carora se diferențiază de restul bacililor Gram negativi implicați în patologia umană și anume:

1. degradarea fermentativă și oxidativă a glucozei (**test FO pozitiv**),
2. citocromoxidază **negativi**,
3. capacitatea de a reduce nitratii la **nitriti**.

Reprezentanții familiei enterobacteriaceelor se pot identifica în 2 categorii:

- **germeni conditionat patogeni** (*bacterii comensale, cu habitat intestinal*):
 - *Escherichia coli (E.coli)*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*
- **germeni patogeni**: *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Yersinia spp*.

Structurile antigenice sunt:

- **AgO (somatic)** care este prezent în **peretele celular** al tuturor Enterobacteriilor, cu rol de **endotoxină**,
- **Ag H (flagelar)** prezent doar la **bacteriile mobile**, acestea prezentând **cili (flageli)**
- **AgK (capsular)** (la *Klebsiella spp*) care imprimă caracterul mucos al coloniilor pe mediile solide de cultură.

Factorii de patogenitate cei mai importanți sunt reprezentați de:

- **endotoxine** (*LPS sau AgO din peretele celular*) responsabile de **socul endotoxinic** și **CID** (*Coagulare Intravasculare Diseminată*), **febra**, *efect abortigen...*
- **exotoxine** (*enterotoxine eliberate de E. coli, Salmonella spp, Shigella spp, Klebsiella spp...*) cu acțiune *asupra enterocitelor* și responsabile de *manifestările digestive*;
- **pilii (fimbriile)** cu rol esențial în **aderarea** la mucoase și în transferul de material genetic prin **conjugare**;
- capacitatea crescută de **multiplicare** și de **invadare** a tractului intestinal și urinar (*E. coli*);
- capacitatea de supraviețuire și **multiplicare intracelulară** (*intrafagocit*) cu posibilitatea de diseminare în tot organismul (*infecții sistemice date de Salmonella spp*).

Mediile de cultura care sunt utilizate în mod obișnuit pentru *izolarea și identificarea Enterobacteriilor* sunt:

- *geloza-sange*,
- medii selective (*utilizate pentru inhibarea florei asociate: fungi, bacterii Gram pozitive*): *Levine, Leifson, Mc Conkey...*

INFECȚII CU ENTEROBACTERII COMENSALE

Enterobacteriile sunt foarte răspândite în natură și există în *tubul digestiv uman (colon)* în *cavitățile naturale (Klebsiella)*, unde trăiesc ca și bacterii **comensale**; aceste bacterii au fost identificate ca fiind implicate frecvent în patologia infecțiilor de spital (*infecții nosocomiale*), cu preponderență în secțiile de chirurgie, ortopedie, ATI... unde se utilizează frecvent și uneori abuziv antibiotice cu spectru larg de acțiune. Finalul acestei terapii cu antibiotice este **selectia de tulpini cu potențial patogen, plurirezistente la antibiotice**.

Tabloul clinic infecțios se instalează mai ales la **persoane cu apărarea naturală** sau cu **imunitatea deprimată**. Infecția se instalează în urma unor **manopere invazive** (*endoscopie, cateterizare, sondaje, drenaje, având diferite localizări: sfera ORL, cai biliare, cai genitale, meninge...*) sau la nivelul unor **leziuni preexistente**: *traumatisme, tumori, arsuri...*

Genul Escherichia

Reprezentantul acestui gen este **E.coli**, care reprezintă 80% din flora colonului (*din flora comensală*); *în anumite condiții favorizante, poate manifesta caractere de patogenitate*.

Prezența sa în mediul extern (*apa*) denotă o *contaminare fecală*. Sunt germeni *lactoza pozitivi*, iar pe mediile de cultura (*fig. 55*) degaja un miros caracteristic de „*varza stricată*”.



Fig. 55– Cultura de Escherichia coli

Infectii produse de *E. coli*, se pot identifica in functie de caracterele de patogenitate si de localizare, astfel:

- Infectii cu **localizari intestinale** (*enterocolite*) determinate *doar de tulpinile patogene*:
 - **E. coli enterotoxigen (ETEC)**
 - elibereaza o *enterotoxina cholerae-like (exotoxina termolabila)* care determina transformarea enterocitului din celula absorbanta in celula secretanta, ceea ce duce la **cresterea eliminarilor de apa si electroliti in lumenul intestinal** si **cresterea motilitatii intestinale**, urmata de **diaree apoasa**;
 - determina **diareea calatorilor** (cu o perioada de incubatie de 1-2 zile, o perioada de stare de 3-4 zile cu un tablou clinic cu **greturi, varsaturi, crampe, diaree muco-apoasa**); apare frecvent in zonele calde, la persoanele cu igiena defectuoasa.
 - **E. coli enteroinvaziv (EIEC)**
 - sunt germeni cu *potential invaziv (Shigella-like)* care produc *ulceratii ale mucoasei* si o *diaree muco-sanguinolenta*.
 - **E. coli enteropatogen (EPEC)**
 - prin pilii codificati plasmidic, adera la membrana enterocitelor si determina *distrugerea microvililor*;
 - este implicat in *epidemii la copii*;
 - manifestari clinice sunt febra, greturi, varsaturi, diaree;
 - **E. coli enterohemoragic (EHEC)**
 - sunt tulpini *neinvazive, dar toxigene*, responsabile de febra si leziuni la nivel colonic (*toxinfectii alimentare*);
 - determina **diaree hemoragica** si **sindrom hemolitic-uremic**.
- Infectii cu **localizari extraintestinale**

- **Infectii urinare** (*inalte sau joase*) determinate de *tulpinile nefritigene* (*care au receptori pe uroepiteliu*) stiut fiind ca pe primul loc in etiologia infectiilor urinare se afla *E. Coli*,
- **Colecistite**,
- **Colite**,
- **Infectii ale cailor respiratorii superioare**,
- **Meningite**,
- **Septicemii** (*20% au focarul initial la nivel gastrointestinal sau urinar*).

Genul Proteus

Speciile reprezentative pentru patologia umana sunt: **Proteus mirabilis** si **Proteus vulgaris**. **Habitatul** este in *sol, ape reziduale si de suprafata, alimente, microbiocenoza intestinului uman* (mai ales la persoane cu disbioze induse de tratament indelungat cu antibiotice).

Particularitati morfologice si de cultura

Sunt bacili Gram negativi cu *polimorfism accentuat*, **mobili** (pe medii de cultura plate, determina **fenomenul de invazie „valurire”** (fig. 56) (*acest fenomen nu apare pe mediile de cultura ce contin bila*) in timp ce mediile inclinate prezinta **fenomenul de „catarare”**



Fig. 56– Bacilul Proteus (fenomenul de „valurire”)

Prezinta o **rezistenta crescuta** in *solutiile antiseptice si detergenti*, ceea ce explica persistenta si difuzibilitatea sa in **mediul spitalicesc**.

Este implicat frecvent in etiologia **infectiilor urinare** (*al doilea loc dupa E. coli*), dar si in infectii nosocomiale cu alte localizari (*plagi, arsuri...*)

Genul Klebsiella

Sunt bacili Gram negativi, imobili, **capsulati** (*capsula mucoasa are un rol important in patogenitate si confera caracterul mucos al coloniilor pe mediul de cultura solid (fig. 57)*); prezinta mai multe variante antigenice ale structurii capsulare (**AgK**).



Fig.57 – Cultura de Klebsiella pneumoniae

Speciile implicate in patologia umana sunt:

- **Klebsiella pneumoniae** care determina **pneumonia bacteriana** (*cu serotipuri polirezistente la antibiotice*), dar si **bronsite, abcese pulmonare, infectii generalizate**,
- **Klebsiella ozenae** care determina o *atrofie progresiva a mucoasei nazale* acompaniata de un miros fetid (**ozena**),
- **Klebsiella rhinoscleromatis** care este agentul etiologic al **rhinoscleromului** (*granulom distructiv al nasului si faringelui*),
- **Klebsiella oxytoca**.

INFECTII PRODUSE DE ENTEROBACTERII PATOGENE

Bacteriile din acest gen sunt **bacili Gram negativi, mobili, nesporulati, necapsulati**. Din punct de vedere *biochimic* sunt germeni **lactozo negativi, producatori de gaz si H₂S** si cresc pe **mediu cu citrat (Simmons)**.

Habitatul este larg reprezentat: a fost izolată de la pasări (*ouă de rată, praf de ouă*), mamifere, din sol, ape de suprafață, alimente de origine animală.

Rezervorul îl constituie omul bolnav și purtătorii sănătoși (*rezervorul de Salmonella este vezicula biliară*).

Structurile antigenice sunt reprezentate de:

- **Ag O somatic** (*LPS- endotoxina*) care este **determinant antigenic de grup**
- **Ag H flagelar** care este **determinant de tip**.

Diagnosticul serologic clasic se face prin *identificarea anticorpilor specifici* formați împotriva *AgO* și *H*, utilizând **reactia Widal**, dar actual cel mai frecvent sunt utilizate **metode imuno-enzimatice**.

Genul Salmonella cuprinde mai multe specii; cele mai reprezentative pentru patologia umană sunt:

- *Salmonella typhi* și *Salmonella paratyphi A, B* care produc **febrele tifo-paratifoide**,
- *Salmonella typhimurium* și *Salmonella enteritidis* (fig. 58) care produc **gastroenterite**,
- *Salmonella cholerae suis* care produce **septicemie**.

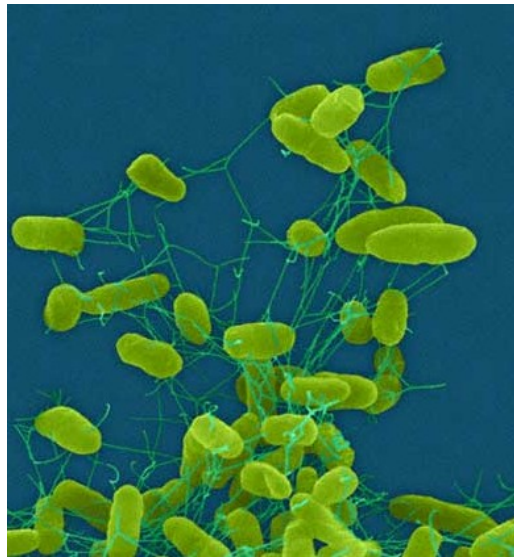


Fig. 58– Salmonella enteritidis (ME)

- **Febrele tifo-paratifoide.** Salmonellele ajung în tubul digestiv, penetrează mucoasa și submucoasa, se multiplică rapid local în formațiunile limfoide (*placi Peyer, ganglionii mezenterici*); se produce o primă bacteriemie urmată de localizarea secundară a Salmonelilor în diferite organe (*ficat, mduva hematogenă, splină, ganglioni limfatici*); după o nouă multiplicare, se produce a doua bacteriemie cu eliminarea prin bilă, materii fecale și urină.

- **Gastroenteritele** produse de salmonele debutează la 6-48 ore de la ingestia alimentelor contaminate cu un *tablou clinic* cu *astenie, diaree, varsaturi, stare generală alterată, anorexie, cefalee*; *stările grave* se pot solda cu *deshidratare accentuată* și chiar cu *soc toxicoseptic*.
- Unele persoane pot rămâne **purtătoare asimptomatice** după trecerea prin infecție constituind un important rezervor de Salmonele; în scop epidemiologic, se fac *controale periodice* la angajații din alimentația publică și colectivități de copii, pentru a întrerupe lanțul epidemiologic.

Genul Shigella

Este reprezentat de *bacili Gram negativi, nesporulați, necapsulați, lactoză negative* (fig. 59); spre deosebire de bacteriile aparținând *Genului Salmonella*, acești germeni nu produc H_2S și gaz; nu degradează ureea și lizina.



Fig. 59– Shigella dysenteriae

Speciile reprezentative pentru patologia umană sunt:

- *Shigella dysenteriae*
 - *tip1 Shiga*,
 - *tip2 Schmitzi*,
 - *serotipurile 3-10 Large-Sachs*
- *Shigella flexneri*,
- *Shigella boydii*,
- *Shigella sonnei*.

Habitatul este reprezentat de *colonul sigmoid al omului bolnav și al purtătorilor sănătoși (temporari sau cronici)* reprezentând și rezervorul de Shigelle; contaminarea se face prin intermediul apei, alimentelor, obiectelor contaminate; principalii vectori sunt reprezentați de muște;

- **Factorii de patogenitate sunt reprezentati de :**
 - **Exotoxina** neurotrofa si enterotropa
 - **Endotoxina** din peretele celular, care se elibereaza prin liza masiva a bacililor
- **Patologia:** bacili din Genul Shigella mai sunt cunoscuti sub denumirea de *bacili dizenterici*, deoarece sunt implicati in producerea **dizenteriei bacilare**
- Dizenteria este o *boala infecto-contagioasa*, cu *transmitere fecal-orală*;
- **din punct de vedere fiziopatologic**, exotoxina produce *leziuni ulcerative*, insotite de microabcese si *hemoragii locale*;
- **din punct de vedere clinic**, se caracterizeaza prin aparitia *febrei si scaune frecvente, muco-sangvinolente, colici abdominale si tenesme rectale*; in final se produce o *deshidratare importanta a organismului*

Genul Yersinia

- **Reprezentat** de cocobacili Gram negativi, aerob anaerob facultativi, incapsulati, nesporulati, imobili (la 37°C) (*fig. 60*).

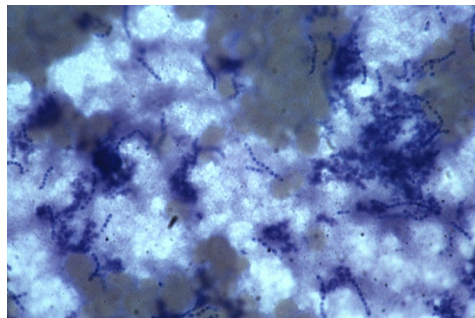


Fig. 60– Yersinia pestis (ME)

- **Produc** pesta (ciuma)
- **Rezervor** : rozatoarele (sobolanul)
- **Vectori**: insecte hematofage (purece de sobolan); ciclul evolutiv este in tubul digestiv; produsul final este un dop cu Yerinii ce va fi regurgitat in timpul pranzului hematofag in organismul sanatos.
- **Transmiterea interumana**: prin muscatura de purice, mai ales prin aerosoli sau prin contact direct.
- **Specii reprezentative**:
 - **Yersinia pestis**- patogen, agent etiologic al **pestei** (ciumei)
 - **Yersinia enterocolitica**- conditionat patogen, agent etiologic al enterocolitei, caracterizata prin dureri abdominale pseudoapendiculare si scaune diareice; se manifesta mai ales la persoane cu imunitatea deprimata

- **Yersinia pseudotuberculosis**- conditionat patogen;

Probe biologice in care se pot izola Yersinii: lichid vezicular, puroi din bubon, sputa, sange.

Proprietati de cultura: pe mediul AABTL produce colonii transparente, albastru- verzui; degradeaza lactoza ;

- **Patologie:**

- **Pesta pneumonica**- caracterizata prin debut brusc dupa o perioada de incubatie de 1-14 zile, cu manifestari respiratorii, febra, stare generala alterata, delir; frecvent se mai poate observa leziunea initiala veziculara la locul de inoculare (intepatura purecelui)
- **Pesta bubonica**- se caracterizeaza prin aparitia **bubonului pestos**, cu localizare frecvent inghinala (conglomerare de ganglioni tumefiati, durerosi, cu tendinta la abcedare, inconjurati de o zona edematiata si hemoragica)

- **Profilaxie/ intreruperea lantului epidemiologic:**

- Deratizare si dezinsectizare
- Izolarea in spital a bolnavilor
- Incinerarea cadavrelor
- Carantinarea timp de 6 zile apersoanelor care au calatorit in zone endemice
- Raportarea de urgenta a primului caz aparut si comunicarea OMS

ALTI BACILI GRAM NEGATIVI (altii decat enetrobacteriacee)

Familia Psedomonaceae

- Reprezentata de bacili Gram negativi, mobili, citocromoxidazo pozitivi, nepretentiosi din punct de vedere metabolic; prezinta o polirezistenta fata de antibiotice;
- Cuprinde **specii patogene** (dar cu virulenta scazuta) pentru: plante, animale, om.
- Reprezentata de **bacterii oportuniste** ce se pot gasi pretutindeni: in apa, sol, pe produse vegetale; fac parte din **flora de spital** (selectat ca urmare a utilizarii uneori abuzive antibioticelor cu spectru larg), responsabila de **infectiile nozocomiale** (intraspitalicesti) mai ales la *persoanele imunodeprimate* sau cu aparare locala deficitara (*solutii de continuitate, cateterisme, arsuri*)
- Cele mai frecvente infectii umane sunt date de bacterii apartinand genului *Pseudomonas*, cu principala sa specie **Pseudomonas aeruginosa (bacil piocianic)**.
- **Factori de patogenitate:**

- *pili* cu rol în aderare și transfer de material genetic mai ales cu rol în transferul de rezistență față de antibiotice
- *capsula polizaharidică*
- *LPS-ul* din peretele celular
- *exotoxine*
 - *piocianaza* - cu efect bactericid pentru alte specii;
 - *piocina* - cu efect bactericid pentru aceeași specie, dar nu și pentru aceeași tulpină;
- **Patogenie:**
 - Infecții purulente cu localizări variate: respiratorii, gastro-intestinale, endocardice, urinare, plăgi (*suprainfecții*), chiar infecții generalizate (*septicemii*).
- **Caractere specifice:**
 - Pe mediile de cultură și în produsele patologice (*puroi*) eliberează pigmenți: **piocianina** (*imprima culoare albastruie produselor biologice*) și **pioverdina** (*imprima culoare verzuie mediilor de cultură*); de asemenea mirosul degajat este caracteristic (*dulceag, de "floare de salcam"*) (fig. 61)



Fig.61 – *Pseudomonas aeruginosa* cultura

Genul *Vibrio*

- Cuprinde două specii importante în patologia umană: *V. cholerae* și *V. parahaemolyticus*
- Reprezentat de bacili Gram negativi, incurbați, nesporulați, mobili (fig. 62), **oxidazo pozitivi**; se dezvoltă foarte bine în mediu alcalin (apa peptonată alcalină, pH 8-9), fiind **germeni halofili**.

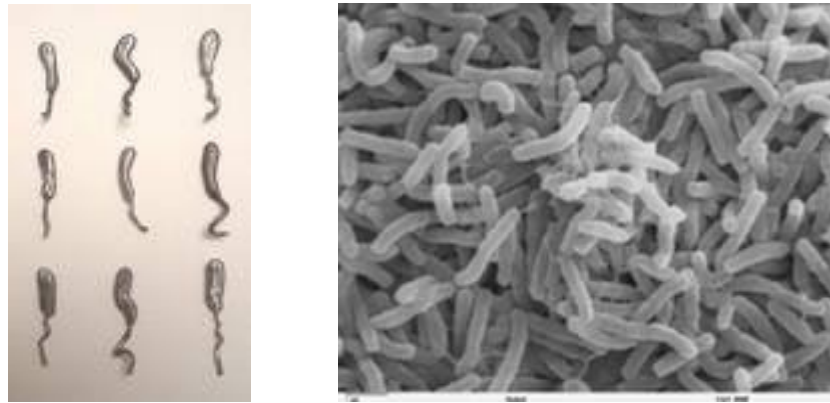


Fig. 62– Vibrio cholerae (ME)

- **Sursa de vibrioni:** *apa, alimente contaminate (mai ales in zone calde)* cu vibrioni; pentru intreruperea lantului epidemiologic, *bolnavii* vor fi izolati obligatoriu; *starea de purtator sanatos* va putea fi identificata doar prin examen coprobacteriologic.
- **Factori de patogenitate:**
 - Are capacitate de multiplicare, dar nu este invaziva
 - principalul **factor de patogenitate** este exotoxina cu actiune directa asupra enterocitelor (**enterotoxina**); aceasta patrunda in enterocit, modifica metabolismul celular, **crescand sinteza de cAMP**, enterocitul transformandu-se din celula absorbanta in celula secretanta; efectul: creste eliminarea in lumenul intestinal de **apa si electroliti (Na^+ si K^+)**; se produce o *exfoliere a mucoasei digestive*, care se traduce prin aparitia unor **granulatii riziforme** in materiile fecale.
- **Reprezentanti:**
 - **V. cholerae 0: 1** (*vibrionul holerici*) – este un patogen strict uman, fiind agentul etiologic al holerei; are 2 biotipuri:
 - V. cholerae cholerae-** nehemolitic, sensibil la clor;
 - A. cholerae El Torr** (cu 4 serotipuri: Ogawa, Inaba, Hikojima, si cel „fara nume”)- **hemolitic, rezistent la clor**
 - **Vibrioni neaglutinabili cu serurile O:1** (vibrioni neaglutinabili cu seruri O:1- „NAG”)- agenti etiologici ai sindroamelor holeriforme (*fara a fi grave*)
- Din punct de vedere **clinic**, perioada de incubatie este de 1-4 zile, iar in perioada de stare holera se caracterizeaza prin: crampe abdominale, greturi, varsaturi; principalul sindrom este **diareea apoasa** (*cu un continut crescut de celule epiteliale, mucus si bacterii; aspectul este caracteristic „ca apa de pe orez”*).

Datorita pierderilor importante de apa si electroliti se produce un **dezechilibru hidro-electrolitic** (*hemoconcentratie, acidoza metabolica cu hipopotasemie*), soc hipovolemic; rata de mortalitate este ridicata (25-50%).

Genul Mycobacterium (tuberculoza si micobacteriozele)

Este reprezentat de **bacili Gram pozitivi, rectilinii sau usor incurbati, imobili, necapsulati, nesporulati, aerobi** (*fig. 63*).



Fig. 63– Mycobacterium tuberculosis(col. Z-N)

In *peretele celular* au un continut crescut de *lipide (acid micolic)*; acest caracter confera **acido-alcool-rezistenta** acestor bacterii, permitand vizualizarea bacteriilor prin utilizarea **coloratiei Ziehl-Neelsen**; asa se explica si supravietuirea in mediile acide din organism (*posibilitatea identificarii Mycobacteriilor in sucul gastric, mai ales la copii*);

Micobacteriile sunt bacterii cu *rezistenta crescuta* la anumite conditii de mediu nefavorabile (*desicare, intuneric*) dar sunt *foarte sensibile* la *radiatiile UV*.

Mycobacteriile patogene pentru om, sunt reprezentate de:

- **Mycobacterium leprae** (*agentul etiologic al leprei umane si nu se dezvoltă pe mediile de cultura*),

- **Mycobacterium tuberculosis** (*hominis, bovis si avium*) cunoscut si sub denumirea de **bacil Koch (BK)**; acesta se dezvoltă lent pe mediile de cultura si determina **tuberculoza umana** si/sau **animala**;
- **Mycobacteriile atipice** (*care sunt saprofite, conditionat patogene pentru om si animale*); determina **micobacterioze** cu *localizare pulmonara, ganglionara, tegumentara sau granuloame organice*.
 - in functie de eliberarea unor pigmenti in prezenta sau absenta luminii, *Mycobacteriile atipice* sunt:
 - *scotocromogene*,
 - *fotocromogene*,
 - *necromogene (nepatogene pentru om)* si
 - *mycobacterii cu crestere rapida (patogene pentru om)*.

Principalele localizari ale tuberculozei umane sunt:

Tuberculoza pulmonara:

- cu *variante clinice*:
 - **primoinfectia**, cand exista o *leziune minima* fara dezvoltarea unui sindrom caracteristic (*complexul primar Ranke*) si care *se vindeca spontan*,
 - **tuberculoza pulmonara infiltrativa sau cavitara**,
 - **tuberculoza ganglio-mediastinala**,
 - **pleurezii tuberculoase**,
 - **tuberculoza miliara** (*extinderea prin contiguitate, pe cale bronhogena, hematogena sau limfatica*).

Tuberculoza extrapulmonara cu localizare:

- **osteo-articulara** (*coloana vertebrala: morbul lui Pott*),
- **uro-genitala**,
- **ganglionara** (*mai ales latero-cervicala*),
- **meningeala**,
- **digestiva si peritoneala**,
- **renala** (*si corticosuprarenala- boala Addison*).

Din punct de vedere **clinic**, tuberculoza se caracterizeaza prin: *oboseala, astenie, subfebrilitati vesperale, tusa cu expectoratie (hemoptizie), antecedente personale patologice incarcate (fumator, afectiuni respiratorii frecvente, purtator cronic, nivel socio-economic scazut)*.

Evolutia poate fi:

- *favorabila (autolimitare, autosterilizare) sau*
- *nefavorabila (ramoliment cazeos, fistulizare in bronsii si in final dezvoltarea cavelnelor, reprezentand surse majore de diseminare sanguina si limfatica).*

Transmiterea tuberculozei se face mai ales pe **cale aerogena**, favorizata de conditii *insalubre, supraaglomerarea, intuneric, umezeala.*

Dintre **proprietatile** acestui gen cele mai *importante* sunt urmatoarele:

- *bacilul Koch:*
 - *supravietuieste in mediul extern o perioada indelungata, fiind rezistent la uscaciune si intuneric,*
 - *supravietuieste in celulele fagocitare (intrafagocitar) o perioada lunga (de ordinul anilor),*
- *variantele bacilului tuberculos, se dezvoltă pe mediile de cultura in medie intre 4- 6 saptamani,*
- *mediul de cultura special este Löwenstein – Jensen (fig. 64).*

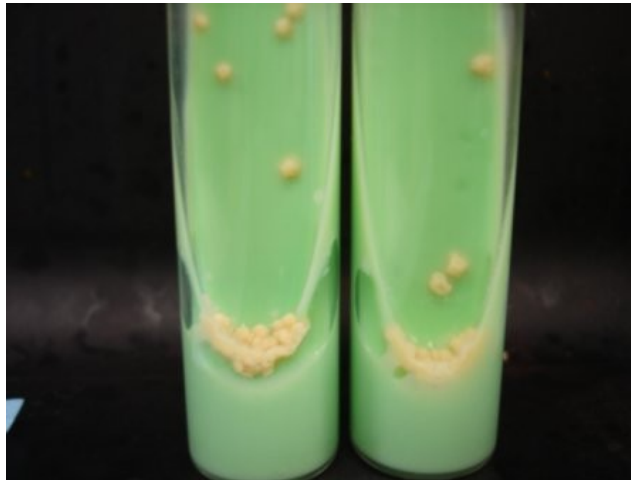


Fig.64 – Culturi de Mycobacterium tuberculosis pe mediul Löwenstein – Jensen

Profilaxie si monitorizare

In primele 72 ore de la nastere, orice individ este vaccinat in scop profilactic (BCG/Bacil Calmette Guerin); bacilii dispar din cicatricea vaccinala in 2-3 ani; rolul lor este preluat ulterior de alti BK patrunti in organism in cursul primoinfectiei.

In mod obisnuit toate persoanele fac **primoinfectia**, insa fara manifestari clinice; BK supravietuiesc in ganglionii din apropierea leziunii primare si declanseaza **imunitatea mediata celulara** (hipersensibilitatea de tip intarziat tip IV); cu participarea acestui tip de reactie imuna, este *inhibata multiplicarea locala*, limitandu-se raspandirea infectiei, astfel incat la un nou

contact cu BK, individul nu va face boala; la persoanele imunodeprimante (alcoolici, boli cronice, HIV...) BK din leziunea primara se pot reactiva si pot sa produca boala.

Testarea sensibilitatii la tuberculina (IDR la tuberculina) se face prin inocularea pe fata anterioara a bratului a unei mici cantitati de PPD (*derivat proteic purificat*) cu scopul de a *identifica statusul imun al pacientului (fig. 65).*

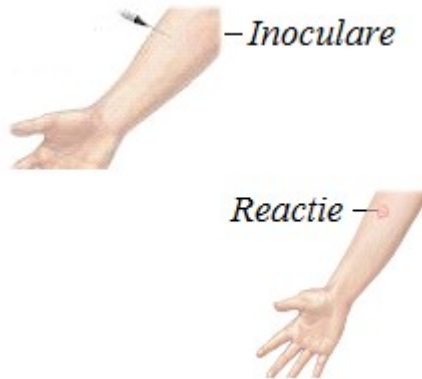


Fig. 65 - Testarea sensibilitatii la tuberculina (IDR la tuberculina)

Exista mai multe *situatii*, astfel:

- *daca pacientul nu a fost vaccinat sau nu a trecut prin primoinfectie sau a trecut recent printr-o infectie virala imunodeprimanta (varicela, rujeola, HIV...), **reactia locala este nula (IDR negativ)**; pacientii respectivi vor avea indicatie de vaccinare,*
- *daca pacientul a fost vaccinat si/sau a trecut prin primoinfectie apare o reactie locala (eritem si edem) cu un **diametru transversal al edemului < 10 mm**,*
- *daca **diametrul induratiei este > 10 mm**, pacientul va fi **monitorizat**: MRF si/ sau efectuarea unui *frotiu colorat Ziehl-Neelsen din sputa.**

Genul *Corynebacterium*. Difteria

Genul este reprezentat de numeroase **specii saprofite/comensale** (pe tegumente și mucoase, denumite **difteromorfi**) și **specii patogene** (**bacili difterici**).

Din punct de vedere **morfotinctorial** sunt bacili **Gram pozitivi**, **pleiomorfi**, deformați la unul sau ambele capete (**corpusculi metacromatici Babes–Ernst**, care conțin substanțe de rezervă și pot fi puși în evidență doar prin colorații speciale: **Del Vecchio**); în frotiul din produsul patologic, au așezare caracteristică ”**în litere chinezești**” sau „**majuscule: X, Z, Y, M, N...**” sau „**în palisada**” (fig. 66).

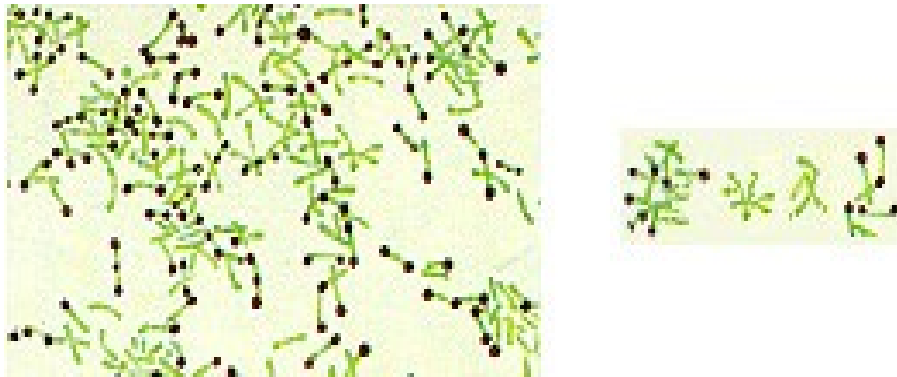


Fig. 66 - *Corynebacterium diphtheriae* (IF)

Principalul reprezentant **patogen** este agentul etiologic al **difteriei**: ***Corynebacterium diphtheriae*** cu trei variante, în funcție de gravitatea infecției: ***gravis***, ***mitis***, ***intermedius***.

De remarcat faptul că **numai tulpinile lizogenizate** cu un bacteriofag (**β -tox**) sunt **patogene**, deoarece bacteriofagul conține informația genetică care codifică sinteza exotoxinei responsabile de producerea leziunilor celulare.

Toxina difterică este de natură proteică și este antigenică; **vaccinarea** cu **anatoxina difterică** (inclusă în bivalentul Di-Te sau trivalentul Di-Te-Per) în primele luni de viață, este obligatorie și este deosebit de utilă în profilaxie;

În caz de boală se administrează **ser** (conține anticorpi antitoxici) capabil să neutralizeze toxina înainte de a penetra în celule; toxina este constituită din 2 fragmente:

- **A** (**activity**: responsabilă de activitatea toxică) și
- **B** (**binding**: fragmentul de legare la receptorii celulari).

Epidemiologie

Rezervorul de infecție este reprezentat de **purtatorii sanatoși și bolnavi**, infecția se **transmite aerogen**, prin picăturile lui Pflügge.

Patogenie

Bacili se ataseaza la receptorii celulelor din faringe si se multiplica; **toxina** actioneaza initial local prin inhibarea sintezelor proteice celulare, ceea ce are ca efect **necroza celulara** si aparitia de **false membrane**, responsabile de obstructia cailor respiratorii superioare si asfixia bolnavului, in lipsa unor **masuri urgente** (traheostomie/ intubatie, antibioterapie, seroterapie); falsele membrane sunt de culoare gri si sunt puternic aderente la mucoase; incercarea de a le detasa determina sangerari abundente. Exotoxina eliberata in sange, actioneaza la distanta, pe alte structuri.

Din punct de vedere **clinic** difteria se caracterizeaza:

- printr-o **angina cu false membrane** (crup difteric),
- **febra** si
- **fenomene de intoxicatie**: miocardite, paralizii (de val palatin),
- **afectiuni renale, suprarenale, hepatice...**
- foarte rar, *localizarea primara* poate fi conjunctivala sau tegumentara.

Tratamentul trebuie sa fie:

- atat **antibiotic** (doze foarte mari de Penicilina) pentru a impiedica dezvoltarea bacteriana cat si
- **antitoxic** (administrare de anatoxina difterica) pentru neutralizarea exotoxinei sintetizate si eliberate in circulatie.

Familia Spirochetaceae. Sifilisul

Cuprinde bacterii de **forma spiralata** (*spirochete*) (fig. 67), incadrate in 3 genuri, toate implicate in patologia umana:

- **Genul Treponema**, care cuprinde:
 - **specii saprofite, comensale** ale mucoaselor genitale si bucala, dar si
 - **specii patogene**, majoritatea implicate in boli cu transmitere veneriana;

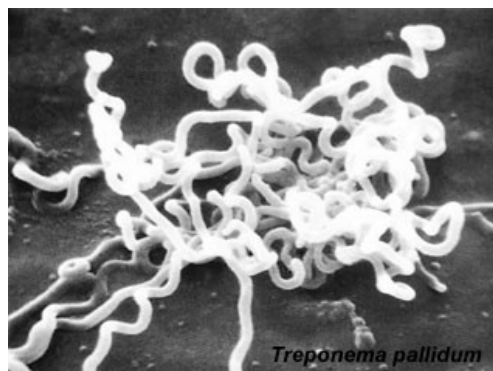


Fig. 67– *Treponema pallidum* (ME)

- **Genul Leptospira**, cuprinde bacterii implicate in producerea leptospirozelor (fig. 68);

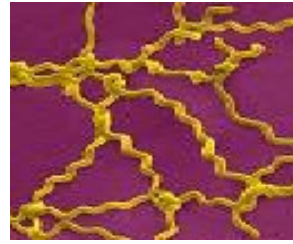
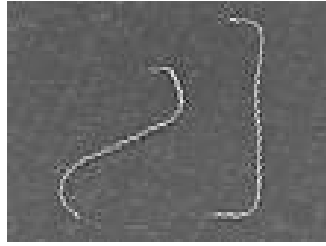


Fig. 68– *Leptospira interrogans*(ME)

- **Genul Borrelia** cuprinde bacterii implicate in aparitia boreliozei, febrei recurente si a bolii de Lyme (fig. 69).



Fig. 69– *Borrelia burgdorferi*

Genul Treponema

Este reprezentat de:

- **bacterii spiralate**, cu 10-20 spire (egale, dispuse in acelasi plan),
 - vizibile doar la microscopul pe fond intunecat (**spirochete**);
 - au capetele ascutite (cu rol in penetrarea mucoaselor intacte si a tegumentelor cu microleziuni),
 - flexibile si foarte mobile (miscari de rotatie, insurubare...);

Exista mai multe **specii patogene**:

- **Treponema pallidum** (principalul reprezentant al acestui gen), agentul etiologic al sifilisului care este o boala veneriana, **specific umana**,
- **Treponema pertenue**, in zonele calde tropicale determina aparitia **pianului**, boala veneriana, care se manifesta *tardiv* prin *leziuni osoase*,
- **Treponema carateum**, determina **pinta**, mai ales in America Centrala si de Sud; se caracterizeaza *initial* prin *leziuni cutanate* si *tardiv* prin *leziuni cardio-vasculare* si ale sistemului nervos central.

Sifilisul

Este o boala cu **transmitere:**

- **veneriana** (*mai ales*) sau
- prin **contactul leziunilor primare si secundare** (*care prezinta o serozitate bogata in treponeme*) cu *tegumente sau mucoase intacte sau lezate*;
- pe cale **verticala** (*transplacentar, de la mama la fat*);

Netratat sau tratat incorect evolueaza in **trei stadii**:

Sifilisul primar

- apare dupa o *perioada de latenta de 10-60 de zile* de la *contactul infectant*; se caracterizeaza prin aparitia unei *leziuni unice, nedureroase, cu diametrul de 1-3 cm, „in sticla de ceas”, cu burelet marginal, avand baza indurata (sancru primar)* (fig. 70):

- principala localizare este la nivelul *organelor genitale externe*, dar si *interne*; foarte rar leziunile pot apare la nivel *anal* si chiar *bucal*;
- are caracter *eroziv*, fiind acoperita de o *crusta*; sub crusta se afla o *serozitate bogata in treponeme*, ceea ce face ca leziunea sa fie *extrem de contagioasa*.



Fig. 70- Sancru primar

- apare si **adenopatie locoregionala bilaterala caracteristica** (*un ganglion mare, central, inconjurat de ganglioni mai mici, aderenti intre ei, dar neaderenti de planurile subjacente „closca cu pui”*);

- in aceasta perioada **se pozitiveaza reactiile serologice (RBW- Reactia Bordett-Wassermann)**.

Perioada de latenta postprimara

- se caracterizeaza prin **vindecarea spontana a leziunii primare** (*dupa 4-6 saptamani*), insa **reactiile serologice raman pozitive, pacientul este in continuare contagios**.

Sifilisul secundar

Se caracterizeaza prin:

- aparitia unei **eruptii maculo-papulare generalizata** (*enantem si exantem localizat pe gat, spate, umeri, gambe, fese, axile*);
- *papulele sunt umede, palide, iar serozitatea este bogata in treponeme, pacientul fiind extrem de contagios*;
- **leziunile** apar si dispar „*in valuri*” care se succed pe o perioada de maximum 1-3 ani, dupa care se „*vindeca*” spontan;
- **micropoliadenopatie generalizata si hepatosplenomegalie**.

Evolutia ulterioara este variabila:

25% spre **vindecare definitiva**;

25% spre **starea latentă pe toata durata vietii**;

50% progresa spre **sifilis tertiar**.

Perioada de latentă tardivă

Este de aproximativ 2 ani, cand adenopatia dispare si diagnosticul serologic este dificil (*scade titrul anticorpilor*); *treponemele se „retrag” in zone putin oxigenate, cum sunt: splina, ficatul, maduva hematogena*.

Sifilisul tertiar

Este un **proces latent** si **limitat** la unele tesuturi si organe; apar **granuloame degenerative (gome sifilitice)** care constau in *modificari structurale si conformationale ale organului afectat*:

- *ficat (ficat „legat”, sifilitic)*,
- *stomac (linita plastica a stomacului)*,
- *aorta (aortita luetica cu evolutie spre anevrism)*,
- *sistem nervos (tabes dorsal)*,
- *sistem osos*;

In aceasta perioada **pacientul nu este contagios**.

Sifilisul congenital

Apare daca gravida se infecteaza in a doua parte a sarcinii; se poate manifesta:

- *precoce (hepatosplenomegalie, rozeole tegumentare, pemfigus palmo-plantar) sau*
- *tardiv (gome sifilitice la nivelul SNC, „tibia iatrogena” sau*
- *prin triada Hutchinson: orbire, surditate sifilitica si modificari de implantare a dintilor.*

Diagnosticul serologic face apel la mai multe tipuri de teste:

1. antigene netreponemice (*cardiolipina* care are antigenicitate asemanatoare cu cea a treponemelor si este un extras din cord de bou):

- **VDRL** (*Veneral Disease Research Laboratory*) este un test de triaj pentru depistarea sifilisului (*primar*); ca principiu este o *reactie de floculare*; are o *sensibilitate crescuta*, dar o *specificitate scazuta* (pot apare **reactii fals pozitive**: la gravide, sau dupa ingestie de alcool, postprandial, administrare de vaccinuri, precum si in alte situatii patologice: *lepra, infectii virale, stari canceroase, boli autoimune: poliartrita reumatoida, lupus eritematos diseminat*); de aceea orice rezultat pozitiv trebuie confirmat printr-un test cu specificitate mai mare, de exemplu **TPHA** (vezi mai jos);
- **RBW** (*Reactia Bordett-Wassermann*) este o reactie de fixare a complementului, care are o *sensibilitate scazuta* (cu procent crescut de **reactii fals negative** in sifilisul tertiar) si o *specificitate crescuta* (rata scazuta de reactii fals pozitive);
- **RPR carbon** (*Rapid Plasma Reagin*), in care cardiolipidul este fixat pe suport solid reprezentat de *particule de carbon*, astfel incat anticorpii specifici vor putea fi detectati prin *reactii de aglutinare*; *specificitatea este redusa*, de aceea se recomanda confirmarea prin **TPHA** sau **ELISA**.

2. antigene treponemice (*implica utilizarea de treponeme vii, ceea ce presupune un risc crescut de contaminare*):

- **FTA-abs** (*Fluorescent Treponemal Antibody Absorbtion Test*), presupune o *reactie de imunofluorescenta*: are o *sensibilitate crescuta*, dar o *specificitate scazuta*; treponemele apar fluorescente, cu spire egale la microscopul UV si pe fond intunecat.
- **TPHA** (*Treponema Pallidum Hemagglutination Test*) este un test de hemaglutinare, cu o sensibilitate superioara fata de alte teste si cu o specificitate mare; este *cel mai util test utilizat in diagnostic (sifilis secundar)* sau *pentru confirmarea altor teste* care au o specificitate inferioara.
- **TPI** (*Treponema Pallidum Immobilisation*) este un test prin care se pun in evidenta *anticorpii specifici din serul pacientilor*, anticorpi capabili sa imobilizeze treponemele vii.

***Sensibilitatea** unui test este cu atat mai mare cu cat acesta este capabil sa detecteze cantitati minime din **anumiti analiti**.

****Specificitatea** unui test este cu atat mai mare cu cat **interferenta** cu compusi avand structura asemanatoare, este **mai mica**.

Anticorpii antitreponemici scad la 6-24 saptamani de evolutie (in sifilisul secundar si tertiar se recomanda a se utiliza teste cu sensibilitate crescuta, de exemplu TPHA).

La 6 luni după un tratament corect, *se negativează toate reacțiile serologice (primele se negativează VDRL și RBW, ulterior TPHA).*

ANAEROBI PATOGENI

Veillon a împărțit *germenii anaerobi* în:

Anaerobi telurici (*sporulati*), care aparțin **genului Clostridium** (*Clostridium tetani, Clostridium botulini, Clostridium perfringens s.a*)

Anaerobi endogeni (*nesporulati*) sunt incluși în „**flora Veillon**”.

Principalele **cauze predispozante** ale *infecțiilor cu anaerobi* sunt:

diabetul zaharat și angiopatia diabetică,
alcoolismul,
corticoterapia,
imunosupresia,
tratamentul cu Aminoglicozide,
plăgi profunde,
corpuri străine,
manopere invazive (interventii chirurgicale...).

Diagnosticul de laborator

Este absolut obligatoriu să se respecte **condiții de strictă anaerobioză** atât în timpul **recoltării** și a **transportului**, cât și a **manipulării** și **termostatării culturilor**.

Suspiciunea prezentei unei *bacterii strict anaerobe* se ridică atunci când:

- *produsul patologic* are un *miros putrid, fetid,*
- *germenii văzuți la examenul microscopic* **nu** cresc în aerobioză,
- *creșterea germenilor* se face cu predilecție în *zona de anaerobioză a lichidelor și agarului.*

În astfel de situații se coroborează rezultatele bacterioscopiei cu cele obținute la cultura.

Genul Clostridium

Este reprezentat de **bacterii patogene** pentru om; din punct de vedere morfotinctorial sunt bacili **Gram pozitivi**, **mobili** (exceptie este *Clostridium perfringens*) **sporulati**, unii sunt **capsulati** (*Clostridium perfringens*).

Sunt germeni **strict anaerobi** (oxigenul este toxic pentru supravietuirea bacteriana).

Sporii, caracteristici genului:

- sunt *ovoizi* sau *sferici*, avand diametrul mai mare decat grosimea bacilului; prin urmare *modifica specific forma* acestora, in functie de asezarea in celula bacteriana,
- nu se coloreaza cu coloratiile uzuale; pot fi evidentiati cu *coloratia Moller* (speciala pentru spori).

Habitatul este reprezentat de *sol, praf, aer si in intestinul uman sau al altor animale*.

Clostridium tetani

Este agentul etiologic al **tetanosului**. **Sporul** este rotund, asezat **terminal**, avand diametrul de 2-4 ori mai mare decat corpul bacterian (*fig. 71*), astfel incat celula bacteriana are forma de „**bat de tobosar**”, **mobilitatea** este foarte mare: prezinta *fenomenul „de catarare” pe medii inclinate*.

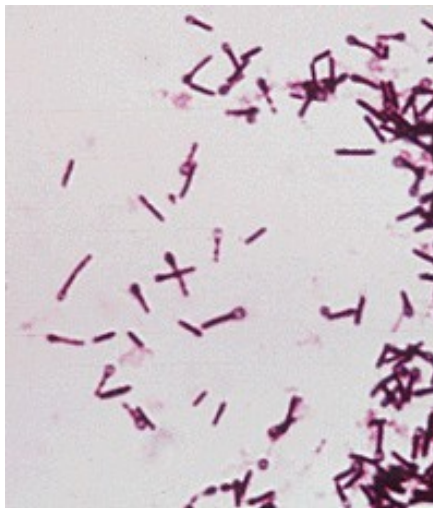


Fig. 71– Clostridium tetani

Metabolismul este activ; in cursul lui se elibereaza numeroase **enzime** cu rol in degradarea materiei organice: **proteaze**, **gelatinaze**, **hemolizine**.

Toxigeneza

*Forma vegetativa, ajunsă în condiții optime de anaerobioză, eliberează în organism două tipuri de **toxine**:*

- **tetanolizina**, cu efect hemolitic și
- **tetanospasmina** care:
 - este o *exotoxina* cu *structura proteică*, având ca și *tintă placa neuromotorie (neurotoxina)*;
 - *blochează* eliberarea unui *inhibitor postsinaptic de acetilcolina*; se produce o **contractura continuă, convulsivă, dureroasă**, cu tendință la generalizare;
 - o toxină **antigenică**; prin prelucrare poate fi transformată în **anatoxina**, utilizată ca *vaccin pentru profilaxia tetanosului (trivaccin DiTePer, sau bivaccin DiTe)*;
 - toxina este **imunogenă**; poate fi utilizată la obținerea **serurilor antitoxice** (*conțin anticorpi antitoxici*) utilizate în *terapia de urgență*, în condițiile unei *plagi cu potențial tetanigen*.

Din punct de vedere **clinic**

- primul semn care este și patognomonic este „**risus sardonicus**” sau **trismusul** datorat *spasticității mușchilor mimicii*;
- prin **generalizare**, apar **contracturi ale musculaturii paravertebrale**, astfel încât, apare o poziție caracteristică „**opistotonus**” sau „**cocos de pusca**” (*bolnavul se spijină pe calcaie și pe ceafa, în timp ce coloana vertebrală este arcuită*);
- contractura se însoțește de **fotofobie, cefalee, dureri musculare** care se *exacerbează la zgomote, lumina puternică*.

Conduita terapeutică în prezența unei plagi tetanigene este următoarea:

- *spălarea și îndepărtarea mecanică a corpurilor străine și a sfacelurilor*;
- *curățarea în profunzime cu **apa oxigenată** (asigură hemostaza, antrenează la suprafața plăgii resturile tisulare și corpi străini, dar în primul rând determină o puternică oxigenare în **profunzimea plăgii**)*;
- *antibiototerapie*;
- *seroterapie de urgență*;

Clostridium botulinum

Este agentul etiologic al **botulismului** (*sin. botulinism*). Prezintă un **spor subterminal** (forma de „racheta de tenis”) (fig. 72).



Fig. 72- Clostridium botulinum (ME)

Alimentele contaminate cu spori și insuficient tratate termic (preparate din carne sarată sau afumată sau conserve - mai ales din pește) reprezintă mediul ideal în care se dezvoltă formele vegetative producătoare de toxină botulinică.

Această **bacterie nu e virulentă** în organism ci **doar exotoxina preformată** și **ingerată** induce **patologia specifică**.

Toxina:

- este **antigenică**; există mai multe **tipuri** de **toxina botulinică**:
 - **A** - cea mai puternică toxină cunoscută,
 - **B, C, D, E, F** - izolate mai ales din conservele de pește;
- poate fi izolată din *alimentele suspecte, lichidul de spălare gastrică sau de varsătură și din serul pacientului*,
- **serurile antitoxice mono- sau polivalente** sunt utilizate în terapie, în funcție de rezultatul obținut prin **toxinoטיפie** (*identificarea serotipului toxic*),
- este responsabilă de toxinfecția alimentară (**botulinism**):
 - inhibă *eliberarea de acetilcolină* în fanta sinaptică de la nivelul plăcii neuromotorii,
 - determină *întreruperea transmisiei de impulsuri nervoase către musculatura striată și netedă*, cu apariția **paraliziei flasce**.

Botulinismul se caracterizează prin: *diplopie, deglutiție îngreunată, tulburări de vorbire, paralizii ale musculaturii implicate în respirație, cu asfixie și moarte*.

Clostridium perfringens si alte Clostridii ale gangrenei gazoase

Principalii reprezentanti sunt:

- *Clostridium perfringens*,
- *Clostridium oedematiens*,
- *Clostridium hystoliticum*.

Proprietati morfotinctoriale

Sunt **bacili Gram pozitivi, imobili, capsulati, cu spor central** (forma caracteristica de „suveica” sau ”barcuta”) (fig. 73).

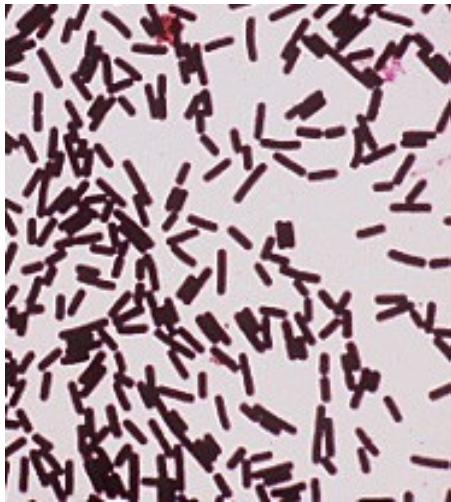


Fig.73 - Clostridium perfringens (col. Gram)

Factorii de patogenitate sunt reprezentati de:

- **α -toxine** cu *efect hemolitic, dermonecrotic si letal* (actioneaza pe SNC) si
- **enterotoxine** responsabile de *toxiinfectii alimentare*.

Conditile favorabile dezvoltarii unei gangrene sunt:

- *zone neirigate,*
- *corpi straini,*
- *tesuturi necrozate,*
- *hemoragii,*
- *leziuni cutanate,*
- *digestive,*
- *uterine...*

Mecanisme de acțiune la nivelul *tesuturilor* sunt următoarele:

- **fermentează carbohidrații** cu eliberarea de **gaz**; acumularea de gaz în tesuturi va determina o **distensie locală** cu interesarea vaselor sanguine și a filetelor nervoase; *tesutul afectat prezintă crepitații* și un **miros fetid, caracteristic**;
- **progresia gangrenei** se realizează prin **lizarea acidului hialuronic** (*necroza, anemie hemolitică cu toxemie severă și moarte*).

Din punct de vedere **clinic**, pot apărea:

- *gangrena gazoasă a membrilor*;
- *infecții postoperatorii în micul bazin sau tub digestiv*,
- *post avorturi septice*,
- *abcese cerebrale*,
- *panoftalmii*.

Tratamentul este de urgență cu intenția:

- *neutralizării toxinei cu ser polivalent antitoxic*;
- *debridării largi a țesutului afectat (pentru oxigenarea plagilor)*,
- *exciziei zonelor de necroză*,
- *tratamentului intens cu antibiotice (Penicilina)*.

PARAZITOLOGIE UMANA

Parazitii sunt *organisme vii (vegetale sau animale)* care traiesc o anumita perioada a ciclului lor de viata, in relatie de dependenta cu un alt organism viu, denumit **gazda**.

Pentru asigurarea perpetuarii propriei specii in natura, parazitul va suferi anumite transformari care sa-i asigure adaptarea la conditiile oferite de gazda, in cadrul ciclului biologic.

Specificitatea parazitara se refera la faptul ca:

- anumiți paraziti se adapteaza doar la anumite gazde, fiind cunoscuti ca paraziti specifici;
 - mai mult exista specii ecologice ale aceluasi tip de parazit, care sunt identice din punct de vedere morfologic, dar nu se pot adapta decat la o singura gazda (ex. ascaridul omului si cel al porcului)
- alti paraziti prezinta o specificitate relativa, adaptandu-se la mai multe gazde
 - exista paraziti specifici animalelor, dar care s-au adaptat in timp si la om (zoonoze)

Din punct de vedere al patogenitatii, actiunea parazitilor asupra organismului uman poate fi:

- absenta- parazitul folosind organismul uman doar ca adapost (paraziti incolini)
- prezenta, producandu-se:
 - infectii (cand sunt prezente protozoarele)
 - infestatii (cand sunt prezenti helminti)

Mecanismele prin care parazitii pot actiona asupra organismului gazda sunt multiple:

- dereglarea digestiei intestinale prin eliberarea de catre parazit a unor substante cu rol protectiv fata de sucurile digestive (antichinaze)
- consumul principiilor alimentari din tubul digestiv, inainte ca acestea sa fie absorbite in circulatie- paraziti cu localizare in tubul digestiv)
- malabsorbtie (produsa de protozoare si helminti)
- producerea unor **grade variate de anemie** prin:
 - **hemoliza** in timpul multiplicarii parazitare (*Plasmodium*),
 - **hranire cu hematii** prin lezare peretelui intestinal (parazitii hematofagi: *Entamoeba dysenteriae*, *Ancylostoma duodenale*),
 - consumul de vitamina B₁₂ (*Diphyllobothrium latum*)

- eliberarea unor factori toxici cu efect hemolitic
- acțiune mecanică și iritativă- produsă de paraziții care au poarta de intrare prin tegumentul intact (*Strongyloides stercoralis*, filariile, *Sarcoptes scabiei*)
- eliberarea de toxine cu efect local sau general (neurotrop, piretogen, medulotrop, endocrinotrop)

Reacția organismului față de prezența paraziților poate fi variabilă:

- aproape indiferentă (față de paraziții incolini)
- reacție inflamatorie (tinde să izoleze parazitul: *Trichinella spiralis*, *Echinococcus granulosus*)
- reacție hiperplazică
- *Răspunsul organismului* variază în funcție de tipul, numărul și localizarea paraziților.

Denumirea parazitozelor derivă de la denumirea genului, la care se adaugă **sufixul**: **-iaza**, **-oza**, sau **-iasis**.

S-au păstrat însă și denumiri consacrate cum ar fi: malaria sau paludismul (genul *Plasmodium* cu cea mai importantă specie *Plasmodium malariae*), amebiaza (*Entamoeba dysenteriae*), oxiuriază (*Enterobius vermicularis* sau **oxiurul**).

Răspunsul imun poate fi uneori protectiv pe toată durata vieții, dar de cele mai multe ori nu este suficient de puternic pentru a produce singur vindecarea.

În majoritatea cazurilor anticorpii formați oferă laboratorului posibilitatea de a pune diagnosticul. Tratatamentul antiparazitar este obligatoriu.

Din punct de vedere clinic se suspectează o parazitoză când pacientul prezintă:

- disconfort abdominal, dureri periombilicale
- grețuri, varsături
- intoleranță la anumite alimente sau anumite mirosuri
- cefalee, agitație psiho-motorie, insomnii, tulburări de memorie
- prurit perinazal, perianal, cu altă localizare sau generalizat
- anamnezic:
 - provine dintr-o colectivitate în care s-a diagnosticat o parazitoză
 - a călătorit recent în anumite zone endemice pentru anumite parazitoze
 - a consumat carne sau produse din carne neverificate din punct de vedere veterinar

Diagnosticul de certitudine al parazitozelor este cel **de laborator**.

I. Diagnosticul direct poate pune în evidență în diferite probe biologice:

- **parazitul** ca atare (larve sau paraziti adulti),
- **fragmente de paraziti** (*Taenia saginata*)
- alte **elemente parazitare** (forma vegetativa, chiste, oua).

Principalele **probe biologice** in care pot fi evidentiata elemente parazitare sunt: materiile fecale*,**, suc duodenal, sputa, sange, lichid cefalorahidian, lichid de punctie, fragmente biotice...

*probele de materii fecale vor fi recoltate de mai multe ori la intervale de 5-7-10 zile pentru a se putea surprinde eliminarea oualor sau chistelor; functie de ciclul biologic al parazitului aceste elemente se elimina intermitent (**examen coproparazitologic clasic**);

deoarece ouale de *Enterobius vermicularis* (sin: oxiuri) se depun in pliurile perianale, se recomanda recoltarea raclatului perianal prin **metoda amprente anale (NYH)

Toate probele sunt examinate:

- **Macroscopic-** pentru evidentiarea **helminților** si larvelor cu dimensiuni macroscopice sau a **modificarilor induse de prezenta parazitilor**: urme de sange, puroi...
- **Microscopic-** pentru evidentiarea Protozoarelor (forme vegetative si chistice) si a oualor de helminți care au **forme si dimensiuni specifice**, ceea ce permite diferentierea lor.

In anumite situatii **antigenele specifice parazitare** (*Giardia lamblia*) pot fi identificate in probele biologice (materii fecale) cu ajutorul anticorpilor monoclonali.

II. Uneori diagnosticul direct nu este accesibil (parazitoze sistemice, helmintiaze viscerale), de aceea se recurge la **diagnosticul indirect**: se pun in evidenta **anticorpi specifici antiparazitari** de tip *IgM si IgG*. Una dintre cele mai moderne metode pentru identificare si titrare a anticorpilor este *tehnica ELISA*.

III. Investigatii complementare: formula leucocitara poate fi deviata in sensul cresterii ca % si in valoare absoluta a **numarului de eozinofile** (*mai ales in helmintiaze*).

CLASIFICAREA PARAZITILOR. PRINCIPALII REPREZENTANTI

A. PROTOZOARE

Clasa Rhizopoda

Genul *Entamoeba* (*Entamoeba coli*, *Entamoeba dysenteriae*)

Clasa Flagellate

Flagellate tisulare: Genul *Leishmania*, Genul *Trypanosoma*

Flagellate cavitare: *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*

Clasa Sporozoare

Ordinul Coccidia

Ordinul Hemosporidii (*Genul Plasmodium*)

Alte specii cu taxonomie incerta (*Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*, *Blastocystis hominis*)

Clasa Ciliata (*Balantidium coli*)

B. HELMINTI (VIERMI)

Increngatura Plathelminți (Viermi plati)

Clasa TREMATODE (*Fasciola hepatica*)

Clasa CESTODE (*Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Echinococcus granulosus*, *Diphyllobothrium latum*)

Increngatura Nematelminți (Viermi cilindrici)

Clasa NEMATODE (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Trichinella spiralis*, Filarii)

C. ARTROPODE

Ordinul ACARIENI

Familia Sarcoptidae

Familia Ixodidae

INCRENGATURA PROTOZOARE

CLASA RIZOPODE

Clasa Rizopode este reprezentata de organisme:

- unicelulare, lipsite de membrana
- au corpul usor deformabil;
- in cautarea hranei si in timpul inglobarii de particule emit pseudopode (false picioare)
- se reproduc asexuat
- se prezinta sub doua forme:
 - **forma vegetativa** (trofozoit) capabila de inmultire si de producere a bolii
 - **forma chistica** - forma de rezistenta a parazitului in conditii improprii si de transmitere interumana

Importanta medicala au Rizopodele din **Genul Entamoeba**:

- *E. dysenteriae*- parazit hematofag, agent etiologic al dizenteriei amibiene caracterizata prin scaune cu puroi si sange; rar pot apare abcese hepatice prin metastazare (fig. 74).
- *E. coli*- parazit incolin, care se hraneste cu bacterii si resturi alimentare (fig. 75)

Transmiterea este pe cale fecal-orală

Diagnosticul de laborator constă în evidențierea formelor vegetative și chistice în materiile fecale.



Fig. 74– Entamoeba dysenteriae

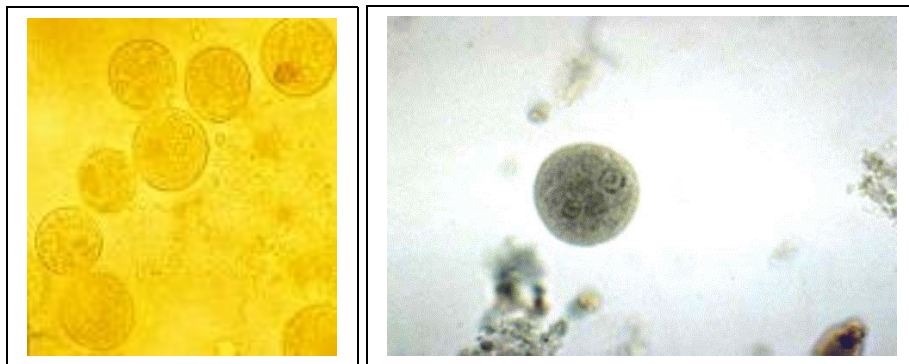


Fig. 75– Entamoeba coli: trofozoiti (stanga) si chist (dreapta)

CLASA FLAGELATE

Flagelatele au în comun faptul că se deplasează cu ajutorul unor organe de locomotie specializate: **flageli**

Funcție de localizarea lor în organism se clasifică în:

- **Flagelate tisulare:** genul *Leishmania* și genul *Trypanosoma* (fig. 76).

- **Flagelate cavitare:** *Giardia lamblia* și *Trichomonas vaginalis*

Pentru zona noastră geografică, importanța majoră au *Flagelatele cavitare*.

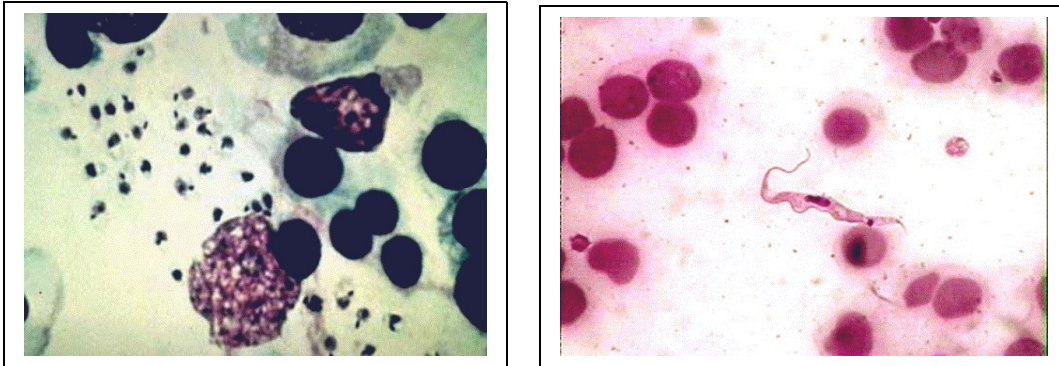


Fig. 76 –Flagelate tisulare (genul *Leishmania* și genul *Trypanosoma*)(MGG)

***Giardia lamblia* (*Giardia duodenalis*, *Giardia intestinalis*)**

- Este agentul etiologic al giardiozei (lambliazei)
- Se prezintă sub 2 forme:
 - Forma vegetativă- piriformă, 15-20 μ , cu 2 nuclee anteriori și 4 perechi de flageli; observabilă doar în lichidul duodenal (fig. 77).

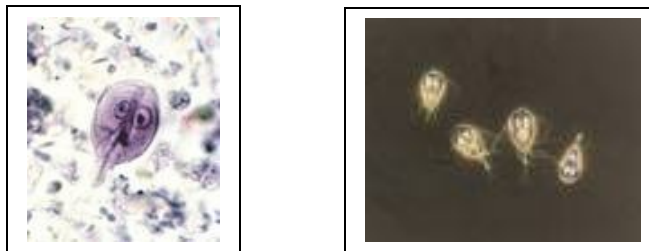


Fig. 77– *Giardia intestinalis* (formă vegetativă)(MGG și IF)

- Forma chistică- caracteristică: ovoidală, 8-12 μ , cu 4 nuclee și un manunchi de flageli; este elementul cheie în diagnosticul microscopic (fig. 78).



Fig.78 – Giardia intestinalis (forme chistice)

- Transmiterea este fecal-orală
- Giardiază se caracterizează prin leziuni inflamatorii enterale asociate cu manifestări digestive (intoleranță la lapte, gresuri, varsături) și chiar neuropsihice (somn agitat, iritabilitate...)
- **Diagnosticul de laborator** constă în evidențierea:
 - chistilor de parazit prin examen coproparazitologic clasic
 - antigenelor parazitare în materiile fecale
 - anticorpilor specifici antiGiardia lamblia

Trichomonas vaginalis

- Parazit uman localizat strict la nivel uro-genital: uretra la barbat, vagin la femei
- Se prezintă numai sub formă vegetativă (trofozoit), motiv pentru care transmiterea este posibilă doar prin contact direct (boala cu transmitere sexuală)
- Trofozoitul este de 15-35μ, are forma ovalară și prezintă 1 nucleu, *un manunchi de flageli* și o membrană ondulantă cu ajutorul căreia se deplasează (fig. 79).

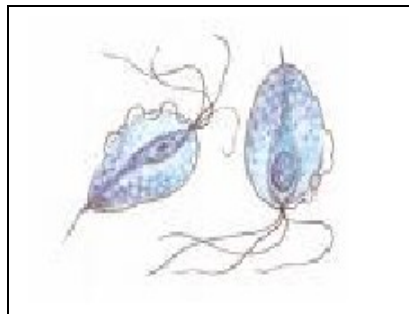


Fig. 79– Trichomonas vaginalis

- Disbacteriozele, infecțiile cu anaerobi, alcalinizarea mediului vaginal, menstruația, sarcina- favorizează atașarea și multiplicarea parazitului la epiteliul vaginal
- Local, **la femei**, apare un infiltrat inflamator asociat cu degenerarea și descuamarea mucoasei: severitatea bolii variază de la starea asimptomatică până la vaginite severe (prurit vulvo-vaginal, disurie, secreții spumoase, fetide, galben- verzui); la bărbați,

parazitul se localizează în uretra și prostata, dar mediul de aici nu este prielnic multiplicării și supraviețuirii parazitului; doar în 10-20% infecția se soldează cu uretrită acută.

Diagnosticul de laborator constă în evidențierea parazitului cu forma caracteristică în secrețiile genitale

GENUL PLASMODIUM

Genul *Plasmodium* include mai multe specii implicate în etiologia **malariei (paludism)**: *Pl. malariae*, *Pl. falciparum*, *Pl. vivax*, *Pl. ovalae*. În zona noastră geografică cel mai frecvent întâlnită este specia ***Pl. vivax*** (fig. 80).

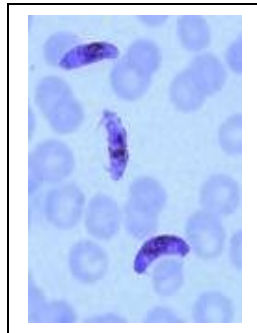


Fig. 80– Plasmodium vivax (MGG)

Dimensiunile și morfologia parazitului diferă de specie și de stadiul de dezvoltare. *Aspectele morfologice caracteristice fiecărui stadiu de dezvoltare* stau la baza **diagnosticului de specie** cu ajutorul *microscopiei optice* (colorația Giemsa a frotiului de sânge sau a preparatului obținut din „picatura groasă”).

Transmiterea parazitului se face prin înțepătura făcută de țânțarul anofel (numai femela este hematofagă). **Ciclul sexual (sporogonic)** începe în organismul infectat și se desăvârșește în organismul țânțarului care va inocula forma infectantă (**sporozoiti**)

Gazda definitivă este omul; în organismul uman, formele parazitare inoculate de țânțar, urmează **ciclul asexual (schizogonic)**; multiplicarea se face în mai multe etape incluse în 2 mari cicluri :

- **Ciclul exoeritrocitar (hepatic)**
- **Ciclul eritrocitar**

La încheierea acestor cicluri, celulele gazda (hepatocite și eritrocite) vor fi lizate, motiv pentru care în malarie apar:

- **hepatosplenomegalia** cu **sindrom de citoliza hepatică** (fig. 81).

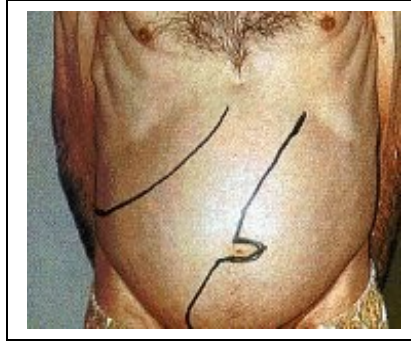


Fig. 81– Hepatosplenomegalia

- **anemie** (datorată hemolizei).

Înainte de ruperea hematiilor și eliberarea elementelor parazitare în sânge, semnele clinice cele mai evidente sunt reprezentate de frisonul puternic și ascensiunea termică rapidă. Accesele febrile au o ritmicitate caracteristică speciei de parazit. În plan secundar pot apărea și alte manifestări mai puțin caracteristice: cefalee, anorexie, manifestări digestive și chiar neurologice.

TOXOPLASMA GONDII

Toxoplasma gondii este agentul etiologic al **toxoplasmozei (antropozoonoză)**.

- **Gazda definitivă** este **pisica** – care elimină în mediul extern oul (zigotul) de parazit; în mediul extern acesta se maturizează, rezultând forma infectantă: **oochistul**.
- **Gazda intermediară** este reprezentată de animale; accidental poate fi și omul; se întâlnesc 2 forme ale parazitului : **forma vegetativă** (fig. 82) și **chistul tisular**
 - Formele parazitare vegetative rezultate în urma diviziunilor din interiorul macrofagelor pot ajunge prin sânge în orice zonă din organism, pătrunzând activ în orice celulă nucleată; înmulțirea lor intracelulară determină în final liza celulelor gazda și apariția unui proces de necroză tisulară însoțit de o inflamație intensă.

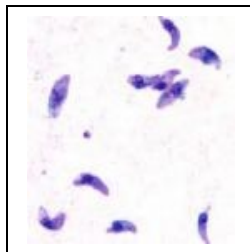


Fig. 82 – Toxoplasma gondii (forma vegetativă)

- Pe măsura ce organismul dezvoltă un răspuns imun, există tendința de a izola aceste focare necrotice, rezultând în final **chistul tisular** (creier, ficat, mușchi, retina) (fig. 83).

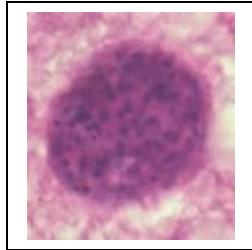


Fig. 83– Toxoplasma gondii (chist cerebral)

Transmiterea la om se face în 2 moduri:

- cale fecal- orală (ingerarea oocistilor excretați de pisică)
- cale transplacentară - **toxoplasmoza congenitală** se caracterizează mai ales prin deficiențe neuromotorii sau toxoplasmoza oculară (odată cu înaintarea în vârstă a copilului apare coriorretinita și orbirea)

Diagnosticul de laborator se bazează în mare măsură pe utilizarea testelor ELISA, RFC pentru a pune în evidență **anticorpilor specifici antiToxoplasma gondii** de tip IgM și IgG. Monitorizarea gravidelor este deosebit de importantă, pentru scăderea riscului de a aduce pe lume copii cu malformații și deficiențe congenitale.

Testul **TORCH** este unul dintre cele mai complexe teste de monitorizare, deoarece pune în evidență statusul imun al gravidei față de agenți etiologici parazitari sau virali cu potențial teratogen: Toxoplasma gondii, Virusul rujeolic, Cytomegalovirusul, Virusurile herpetice.

PNEUMOCYSTIS CARINII

- este un microorganism extracelular parazit al lumenului alveolar;
- produce **pneumocistoza** sau pneumonia interstitală plasmocitară, fiind patogen doar în anumite condiții:
 - imunodeficiente (primare sau *secundare*: infecție cu *HIV*, terapie imunosupresoare, boli anergizante),
 - malnutriție protein-calorică;
- parazitul prezintă 3 forme care trec dintr-una în alta în cadrul ciclului biologic:
 - forma vegetativă (trofozoitul),
 - prechistul
 - chistul (fig. 84).

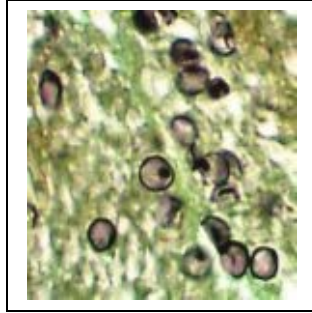


Fig. 84– *Pneumocystis carinii* (forme chistice)(col. Gomori)

Prin ruperea chistului, se eliberează formele vegetative care de cele mai multe ori rămân libere în lumenul alveolar, rar se atasează de celulele alveolare; în surfactantul alveolar pot exista forme vegetative fagocitate de către macrofage sau PMN.

Transmiterea parazitului este interumană, pe cale aeriană; uneori infecția acută poate fi consecința reactivării unei infecții latente.

Diagnosticul de laborator constă în:

- evidențierea parazitului (în spută, biopsii pulmonare, lavaj bronhoalveolar, periaj bronhoalveolar) cu ajutorul colorației Giemsa sau prin Imunofluorescență (IF) directă
- imunodiagnostic- se decelează și se titrează anticorpii specifici anti*Pneumocystis carinii* cu ajutorul tehnicilor ELISA și IF indirectă.

METAZOARE

HELMINTII

Viermii paraziti (*helminții*) sunt încadrați în 2 Încrângături:

- PLATHELMINTI și
- NEMATHELMINTI

ÎNCRÂNGATURA PLATHELMINTI (*viermii plati*) cuprinde două clase:

Clasa Trematoda- reprezentată de viermi plati care prezintă următoarele caractere comune:

- au aspect foliaceu
- nu au cili
- prezintă una sau mai multe ventuze
- larvele lor sunt ciliate
- ciclul lor biologic presupune existența unei gazde intermediare (molusca) și a unei gazde definitive.

Cei mai importanți reprezentanți sunt: ***Fasciola hepatica*** (fig. 85), *Dicrocoelium lanceolatum* și *Opisthorchis felinus*.



Fig. 85– Fasciola hepatica

Rezervorul natural al *Fasciolei hepatica* este reprezentat de omul bolnav, dar mai ales de animalele domestice: oaia, vitele, porcul, calul, cainele.

Parazitul se localizează în caile biliare, de unde va începe să elimine **oua neembrionate**. Odată cu materiile fecale, ouale ajung în mediul extern; pentru embrionare au nevoie de condiții prielnice oferite de apele bălților.

Ciclul biologic continuă în apă unde larvele aflate în diverse stadii de maturizare întâlnesc gazda intermediară: melcul de apă. Omul și animalele se infestază prin consumul apei și a vegetatiei de pe malul apelor unde se găsesc formele infestante: **metacercarul**.

Diagnosticul de laborator constă în identificarea unei eozinofilii importante în paralel cu evidențierea oualor caracteristice în lichidul duodenal și în materiile fecale.

Diagnosticul serologic este important mai ales în perioada în care parazitul nu a ajuns la maturitate pentru a elimina oua; constă în identificarea anticorpilor anti*Fasciola hepatica* în serul bolnavilor.

Clasa Cestoda

Cuprinde mai mulți paraziti de importanță medicală grupate în mai multe familii:

- **Familia Taeniidae** cu reprezentanții săi: *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Echinococcus granulosus* (fig. 86).
- **Familia Dyphylobotriidae**: *Dyphylobotrium latum*.
- Familia *Hymenolepidae*
- Familia *Dilepinidae*

Reprezentanții acestei clase au o serie de caractere comune:

- Corpul **turtit**, are o simetrie bilaterală

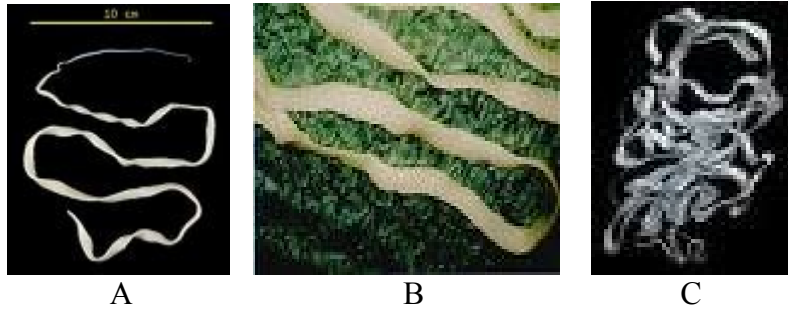


Fig. 86 – *Taenia solium* (A), *Taenia saginata* (B), *Dyphilobotrium latum* (C)

- Lungimea variază de la 3 cm până la 10-15m
- Parazitul adult prezintă un cap (**scolex**), un gat și un corp (**strobila**) (fig. 87).

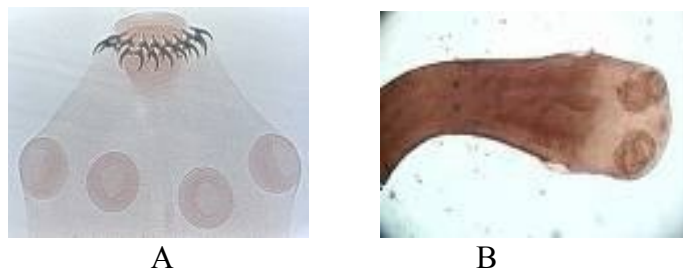


Fig. 87– Aspectul scolexului la *Taenia solium* (A) și *Taenia saginata* (B)

- Corpul este **segmentat**, fiecare segment având o organizare hermafrodită; numărul de segmente (**proglote**) diferă de la o specie la alta, fiind cuprins între 3- 4000, funcție de lungimea parazitului (fig. 88).

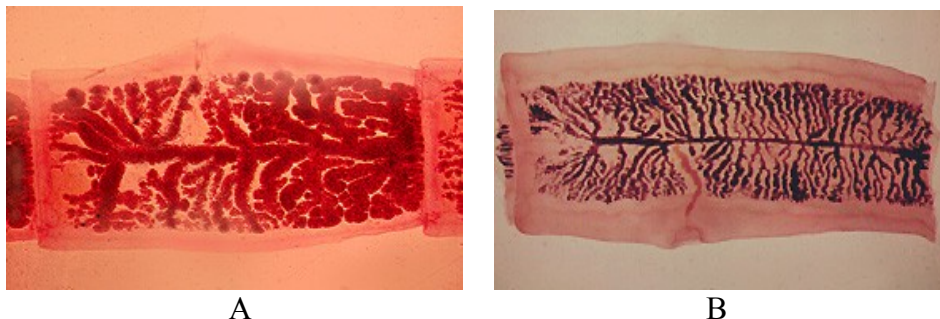


Fig. 88 – Proglota de *T. solium* (A) și *T. saginata* (B) (MO)

- Proglotele dinspre capatul liber sunt mature, uterul lor fiind plin cu ouă (fig. 89).



Fig. 89– Aspectul oualor de Taenia saginata (MO)

- Localizarea predilectă a parazitului adult este la nivelul ileonului, rar la nivelul jejunului sau colonului;
- Atasarea parazitului la peretele intestinal se face prin diverse organe specializate, prezente la nivelul scolexului:
 - ventuze (*T. saginata*)
 - rostru cu carlige chitinoase (*T. solium*) (fig. 90).



Fig. 90- Rostru cu carlige chitinoase (*T. solium*) (ME)

- botridii laterale (*Diphylobotrium latum*)
- Strobila atârna liber în lumenul intestinal
- Tubul digestiv este absent, digestia făcându-se prin absorbție la nivelul tegmentului (invelis extern rezistent).

INCRENGATURA NEMATHELMINTI

CLASA NEMATODE

INCRENGATURA NEMATHELMINTI (*viermii cilindrici*) cuprinde mai multe clase, dintre care importanța medicală o au paraziții din clasa *Nematoda*; au în comun o serie de caractere:

- a. Corpul este **cilindric**, prezentând simetrie bilateral (fig. 92).

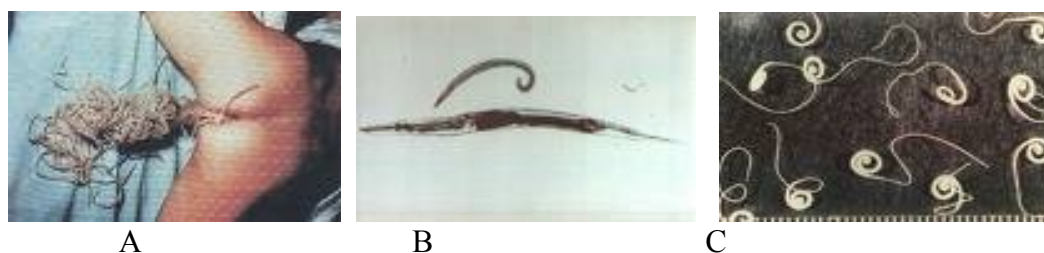


Fig.92 - *Ascaris lumbricoides* (A), *Enterobius vermicularis* (B), *Trichuris trichiura* (C)

- b. Sunt acoperiti de o cuticula
- c. Prezinta o musculatura longitudinala bine dezvoltata
- d. Au o cavitate generala plina cu lichid perienteric
- e. Prezinta tub digestiv complet
- f. Au **sexe separate**, dimensiunile masculilor fiind in general mai mici decat ale femelelor
- g. Functie de dezvoltarea larvara, nematodele pot fi:
 - i. **Ovipare** (intestinale)- **femelele depun oua** din care ies larve, fara a necesita existenta unei gazde intermediare
 - ii. **Vivipare** (tisulare) (*Trichinella spiralis*) - **femelele depun larve**, necesita existenta unei gazde intermediare (fig. 93).



Fig.93 - *Trichinella spiralis*

Clasificarea Nematodelor

<u>Familia</u>	<u>Denumirea parazitozei</u>	<u>Specii reprezentative</u>
Familia Ascarididae	Ascaridioza	Ascaris lumbricoides („limbricul”)
Familia Oxyuridae	Enterobioza (oxiuraza)	Enterobius vermicularis (oxiurul, „viermisor”)
Familia Tricocephalidae	Trichocefaloza	Trichuris trichiura
Familia Rhabditidae	Strongiloidoza	Strongyloides stercoralis
Familia Ancylostomidae	Ancylostoma duodenale Toxocara canis	Anchilostomioza (Larva migrans cutanata)

	Necator americanus	Larva migrans viscerală
Familia Trichostrongyloides	Trichostrongiloidoza	Trichostrongyloides spp
Familia Trichinellidae	Trichineloză	Trichinella spiralis
Familia Acanthocheilnamatidae	Filarioza bancroftiana (filarii)	Wuchereria bancrofti
Familia Dracunculidae	Dracunculoza (filarioza de Medina)	Dracunculus medinensis (Filaria medinensis)

ECTOPARAZITII

Ectoparazitii sunt artropode hematofage. Principalii paraziti cu importanta medicala sunt:

Sarcoptes scabiei- produce scabia sau „raia”

Pediculidele (paduchii) au 2 specii importante:

- ***Pediculus humanus capitis***
- ***Pediculus humanus corporis***

Pthirus pubis

Pulex irritans

Glossinele

Sarcoptes scabiei

- insecta de talie mica (200-450 μ , vizibila doar cu lupa de mana in lumina oblica) care provoaca la om **scabia** (fig. 94).



Fig. 94– *Sarcoptes scabiei*

- corpul este transparent, plan-convex.
- Transmiterea se face prin contact direct, prin intermediul adulților sau larvelor
- După acuplare, femela sapă **galerii sinuoase epidermice** cu o viteză de aproximativ 2-3 mm/zi; preferă zonele cu tegumentul mai fin (partea laterală a degetelor, plicile cotului, (fig. 95) axile, zonele inghinale, periombilical)



Fig. 95– Leziunile eritematoase din scabie

- În timpul înaintării prin galerii, femela depune ouă dar și excremente; larvele vor ieși din ouă după 3-4 zile și-și vor continua dezvoltarea pe tegument
- Leziunile eritematoase ce apar sunt extrem de pruriginoase, fiind însoțite de papule și vezicule care se vor acoperi treptat cu cruste;

Pediculidele

Din punct de vedere morfologic cele 2 specii se aseamănă. Capul are două antene, iar corpul este oval.

Locul de depunere al ouălor de către femele diferențiază speciile în mod evident:

- ***Pediculus humanus capitis***- depune ouăle la baza firului de păr (fig. 96).



Fig. 96- Pediculus humanus capitis (adult și ou) pe un fir de păr (40x)

- ***Pediculus humanus corporis*** (fig. 97) depune ouăle pe îmbracaminte (țivuri, cusături); dacă îmbracamintea nu este purtată, ouăle mor.
- După o succesiune de metamorfoze, nimfele iesite din ouă, ajung la stadiul de adult hematofag.



Fig. 97- *Pediculus humanus corporis*

- La locul intepaturii, apare un prurit care va duce in final la aparitia leziunilor de grataj: zonele cele mai afectate sunt : ceafa, umerii si trunchiul.

Transmiterea acestei parazitoze se face prin contact direct cu o persoana afectata sau prin utilizarea in comun a asternutului sau a lenjeriei de corp.

Pediculus humanus corporis- este vector al unor boli foarte grave, in timpul pranzului hematofag preluand sange infectat, respectiv inoculand unei persoane sanatoase sange incarcat cu diversi agenti bacterieni:

- *Rickettsia prowaseki*- agentul etiologic al tifosului exantematic
- *Rickettsia quintana*- agentul etiologic al febrei de transe
- *Borellia recurentis*- agentul etiologic al febrei recurente.

CARACTERE GENERALE SI STRUCTURA VIRUSURILOR

Virusurile sunt *microorganisme submicroscopice*, cu diametrul de **ordinul nm** ($10^{-9}m$); dimensiunile lor fiind de 1000 ori mai mici decat ale bacteriilor (*care au dimensiuni de ordinul micronilor/ $10^{-6}m$*).

Virusurile nu vor putea fi retinute de catre filtrele utilizate in mod normal pentru sterilizarea lichidelor termolabile; acest lucru a justificat denumirea initiala a virusurilor de **agenti filtrabili**.

Dimensiunile virusurilor sunt variabile, incepand cu **20-30 nm** (*PicoRNAvirusuri*), pana la **300nm** (*Poxvirusuri*).

Electronomicroscopic, se observa ca structura virusurilor este mult simplificata comparativ cu a celulelor:

- in timp ce **celulele** (*eucariote si procariote*) au in structura:
 - **membrana celulara,**
 - **citoplasma,**
 - **ADN si**
 - **organite celulare** care permit sinteza proteinelor structurale si functionale care asigura supravietuirea si multiplicarea acestora,

- **virusurile** sunt mai simplu structurate (fig. 98):
 - în centru se găsește **acidul nucleic** (*ADN sau ARN*),
 - înconjurat de structuri proteice care formează **capsida** virală cu simetrie variabilă (*cubică, hexagonală...*);
aceste două structuri constituie împreună **nucleocapsida**,
 - unele virusuri mai au la suprafață un *invelis suplimentar* numit **anvelopă** cu o *compoziție complexă*;
 - *glicoproteinele* virale de la suprafața virionului au rol în *atasare la structurile țintă sau la suprafața hematiilor* (proprietate utilă în identificarea virusurilor prin fenomenul de *hemadsorbție și hemaglutinare*, respectiv *hemaglutinoinhibare*);
aceste structuri pot avea și alte roluri, ca *antigenicitatea*, detinând un rol major în răspunsul imun.

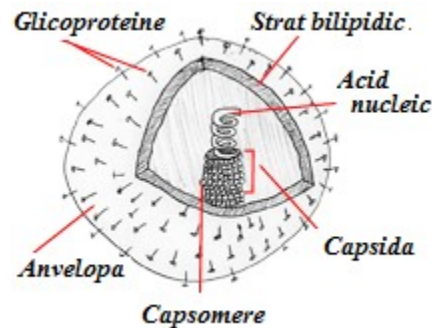
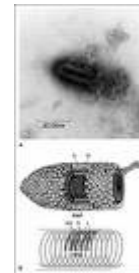
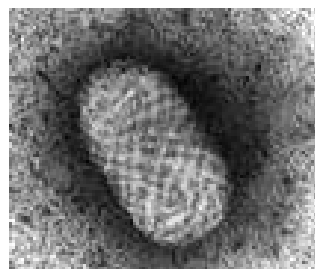


Fig. 98– Structura generală a virusurilor

Forma virusurilor este variabilă (fig. 99): *sferică* (cu *prelungiri butonate*: *Orthomyxovirusuri, Paramyxovirusuri*), *bastonas*, *prismatică* (*Poxvirusuri*), *obuz* (*Rhabdovirusuri*).



A

B

C

Fig. 99- Formele virusurilor: sferica (A), bastonas (B), obuz (C)

Denumirea de **virion** se atribuie *particulei virale mature, infectioase*; este *forma de existenta extracelulara* a virusului.

Replicarea (multiplicarea virusurilor):

- se poate efectua **doar in structuri vii**, deoarece **virionul** este **inert** din punct de vedere **metabolic**, neavand organite celulare care sa sintetizeze proteinele; pentru a se putea multiplica virionul are nevoie de metabolismul unei celule vii;
- formarea de noi virioni se realizeaza in celulele infectate;
- metabolismul celulei gazda este „*deturnat*” in favoarea sintezei proteinelor virale.

Replicarea virusurilor urmeaza o *succesiune de evenimente*:

1. virusurile **recunosc receptorii specifici** de la suprafata celulelor tinta;
2. **penetrarea** virionului in citoplasma se face prin:
 - a. endocitoza (*viropexie*) sau
 - b. prin fuziunea anvelopei cu membrana celulara activata a gazdei;
3. urmeaza **decapsidarea virionului** cu eliberarea acidului nucleic;
4. acidul nucleic in functie de natura sa, poate urma una din urmatoarele cai:
 - a. se poate *integra* ca atare in genomul gazdei (*virusurile cu ADN*),
 - b. se poate integra in genomul gazdei dupa *reverstranscrierea *ARN in ADN* in prezenta unei enzime: **reverstranscriptaza** (*de exemplu retrovirusurile: HIV*);
 - c. poate ramane *liber in citoplasma* (*unele virusuri cu ADN si majoritatea virusurilor cu ARN*).
5. are loc **replicarea** acidului nucleic:
 - a. odata cu cel al gazdei sau
 - b. independent;
6. in paralel are loc **transcriptia** ADN viral sau ARN viral in **ARNm**;
7. prin **traducerea mARN**, se **sintetizeaza proteinele** structurale si functionale;
8. are loc **asamblarea intracelulara a virionilor** (*intracitoplasmatic sau intranuclear*) si **invelirea** lor (*virusurile cu anvelopa*);
9. in final virionii gata asamblati vor fi **eliberati** din celula prin *liza celulara* sau **exocitoza** (*inmugurire, fara liza*);
10. virionii **vor invada alte celule** si **procesul se reia**.

Neavand metabolism propriu, **virusurile nu pot fi cultivate pe medii de cultura artificiale**.

In laborator izolarea virusurilor se face in *sisteme vii* reprezentate de:

- animale de laborator (maimute, iepuri, cobai, soricei...)
- ou embrionat de gaina,
- culturi de celule, care pot fi: **culturi primare** (tesuturi: rinichi de maimuta), **celule diploide** (embrionare) si **linii celulare** (derivate din tesuturi tumorale).

Nomenclatura virusurilor

La denumirea **Familiei** se adauga sufixul „**viridae**”, iar cand se denumeste **Genul** se adauga sufixul „**virus**”.

Clasificarea virusurilor presupune existenta unor criterii de includere in aceeasi *Familie*:

- natura acidului nucleic (*ADN sau ARN*),
- simetria capsidei,
- prezenta sau absenta anvelopei.

In functie de *acidul nucleic*:

- virusurile cu **ADN** se numesc **Dezoxiribovirusuri**,
- cele cu **ARN** se numesc **Ribovirusuri**.

In functie de *prezenta anvelopei*:

- virusurile **fara** anvelopa sunt **neinvelite**,
- cele **cu** anvelopa sunt **invelite**.

Principalele Familii de virusuri implicate in patologia umana sunt:

Familia	Principalele Genuri, Specii
Papovaviridae	Papillomavirus
Hepadnaviridae	Virusul hepatitei B
Adenoviridae	Adenovirusuri
Herpesviridae	Herpesvirus de tip 1 si 2 , Varicella-Zoster virus, Virusul Epstein-Barr, Virusul Citomegalic, Virusul limfotropic uman
Orthomyxoviridae	Virusurile gripale A, B, C
Paramyxovirusuri	Virusul rujeolic, Virusul urlian, Virusul sincitial respirator, Virusurile paragripale
Rhabdoviridae	Virusul rabic
Picornaviridae	Enterovirus 72, Virusurile polio, Virusurile Coxsackie, ECHO, Rhinovirusuri
Retroviridae	Oncovirusuri , HIV

Transmiterea virusurilor se poate face pe mai multe cai:

1. Direct:

- a. **contact sexual** (virusurile hepatitelor B, C, D., virusul HIV, virusurile Papilloma, Virusurile Herpes Simplex tip 2 si uneori de tip 1...),
- b. **sarut** (Virusul Epstein Barr, agentul etiologic al Mononucleozei infectioase, denumita si „boala sarutului”),
- c. **maini murdare, alimente** (Virusul hepatitei A- epidemice),
- d. **aerosoli** (virusurile cu tropism respirator: Virusurile gripale si paragripale, Virusul Sincittial Respirator, Virusul urlian, Virusurile Cossackie, Virusul Epstein –Barr, Virusul varicella-Zoster...)
- e. **muscatuara de animal** (virusul rabic),
- f. **saliva:** virus urlian (oreion), virus rabic (turbarea),
- g. **cale hematogena:** transfuzii, de la mama la fat (transplacentar), **manopere invazive** (operatii chirurgicale, injectii, manopere stomatologice, tatuaje, acupunctura, gaurirea lobului urechii...) si **transplant de organe** (virusurile hepatitelor B, C, D., virusul HIV, Cytomegalovirus).

2. Indirect:

- a. **prin vectori** (artropode)
- b. prin intermediul **obiectelor de uz curent**.

Sursa de infectie poate fi reprezentata de:

- a. **bolnavul acut** in diferite stadii de evolutie,
- b. **bolnavul cronic** (infectia cu HIV, cu Virusul hepatitei B, C, D),
- c. **purtatorul aparent sanatos**,
- d. **boala atipica, abortiva, frustrata** (virusul urlian),
- e. **animale**.

Stadiile infectiei virale sunt variabile:

- **perioada de incubatie** (de cele mai multe ori nespecifica, insotita de un prodrom),
- **perioada de invazie** (cand apare febra, eventual frisonul),
- **perioada de stare** cand apar simptomele caracteristice,
- **perioada de convalescenta**, care poate evolua spre:
 - *vindecare*,
 - *cronicizare* sau
 - *deces*.

Din *considerente practice* in continuare vor fi descrise doar virusurile implicate in patologia umana.

Familia Herpetoviridae include **6 tipuri de virusuri**:

- *Herpes simplex tip 1 (HSV-1)*,
- *Herpes simplex tip 2 (HSV-2)*,
- *Virusul Varicella-Zoster (VZV)*,
- *Virusul Epstein-Barr (EBV)*,
- *Cytomegalovirus (CMV)*,
- *Virusul limfotropic uman (LHV)*.

Caracterele generale ale acestei familii:

- sunt virusuri **cu ADN invelite**,
- produc **infecții litice** în **celule epiteliale** (*VHS-1* și *2*, *VZV*- virusuri neurotrope) și **infecții latente** în **neuroni** (*VEB*, *CMV* și *LHV*- virusuri limfotrope).

HSV tip1 se transmite prin **contact direct** (*secretii nasofaringiene*, „gura- gura”, „gura- piele”).

HSV-2 se transmite mai ales pe cale sexuala (*se produc infecții cu localizare genitala, ano-rectala, mai rar orofaringiana*);

Din punct de vedere **clinic**, **HSV tip 1**, produce:

- *stomatite herpetice, gingivostomatite, amigdalite, leziuni labiale (fig. 100)*,
- *eczema herpetica*,
- *panaritiu herpetic*,
- *keratoconjunctivite*,
- *encefalite*.



Fig.100 – Herpes labial

HSV tip 2, produce următoarele infecții:

- *cu localizare genitală*
- *meningite,*
- *stomatite.*

Infecția poate fi:

- *inaparentă clinic*, sau
- *când se manifestă clinic*, apar **leziuni veziculare**:
 - lichidul fiind plin cu **virioni**;
 - virionii invadează celulele epiteliale adiacente și filetele nervoase din zonă;
 - ajung în nucleul neuronal, se declanșează *infecția latentă*; ulterior, în anumite situații (*stress emotional, expunere la soare, ciclu menstrual, febra, traume...*), virusurile latente *se pot activa* și prin filetele nervoase ajung din nou la suprafața tegumentului producând leziuni litice (*dermatoame*).

Herpesul genital – are o perioadă de incubare de 2- 20 zile; *herpesul primar* se caracterizează prin apariția de leziuni tipice mici, **papule**- vezicule situate la barbat la nivelul glandului, penisului (*fig. 101*) și ocazional în uretra, iar la femeie la nivelul vulvei, vaginului, cervix, perianal.

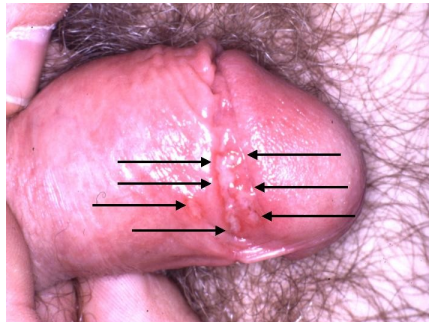


Fig.101 – Herpes genital

Infecțiile recidivante (*recurente*) - pot fi asimptomatice, putând fi însoțite de un *prodrom* reprezentat de senzație de arsură în zonele în care vor apărea leziunile.

Femeile raspândesc virusul prin secrețiile genitale; dacă virusurile sunt prezente în cervixul *gravidelor*, infecția se poate transmite fătului *în timpul viremiei* materne din infecția primară, *ascendent* în uter sau *în timpul travaliului*.

Keratitele herpetice (*fig. 102*) pot fi însoțite de tulburări ale acuității vizuale.



Fig. 102– Keratita herpetica

Gingivostomatitele herpetice (fig. 103) sunt leziunile veziculare initiale (de la nivelul gingiilor; mucoasei labiale, palatului, limbii, faringelui...) care devin ulcerative.

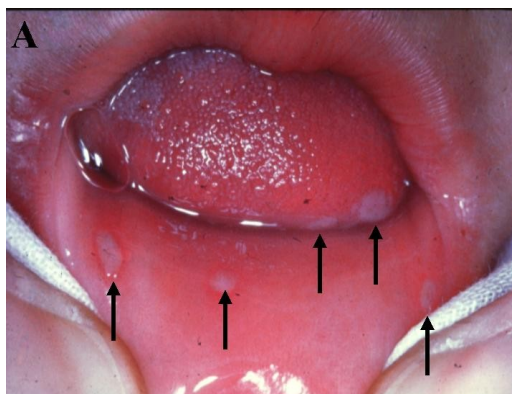


Fig.103–Stomatita herpetica

Panaritiul herpetic (fig. 104) este infectia periunghiala ce apare mai ales la copii si la personalul medical.



Fig.104 – Panaritiu herpetic

Eczema herpetica (fig. 105) apare mai ales la copii si frecvent se suprainfecteaza bacterian; infectia poate disemina si sa se generalizeze.



Fig.105 – Eczeme herpetice

Profilaxia

Cea mai frecventa **cale de transmitere** este prin **contactul cu leziunile muco-cutanate** si **secretiile orofaringiene** (mai ales pentru HSV1) si **sexuale** (mai ales pentru HSV2); **personalul cu risc crescut** este reprezentat de *medici, asistente, cosmeticiene, stomatologi...*

Utilizarea manusilor de protectie poate preveni infectarea degetelor. Pacientii cu *herpes genital* vor fi instruiti sa evite contactul sexual neprotejat in perioada prodromului sau cand au leziuni.

Virusul Varicella-Zoster (VZV)

Cauzeaza **varicela** (infectie primara a copilăriei, mai rar la adulti) si **Zona-Zoster** (infectie recurenta, cu aparitie sporadica la adulti).

Varicela

Se transmite pe cale respiratorie si se caracterizeaza prin febra, frisoane, faringita si aparitia unei *eruptii generalizate (enantem si exantem)* (fig. 106) reprezentata de valuri succesive de leziuni pruriginoase care evolueaza de la **macula la papula, la vezicula iar in final apare crusta**; din cauza leziunilor de grataj, uneori veziculele se pot suprainfecta si se transforma in pustula (in evolutia naturala nu apare pustula).



Fig. 106– Exantemul din varicela

Virionii pot ramane în stare latentă în neuroni (mai ales din ganglionii dorsali și ai nervilor cranieni) și să producă infecții recidivante caracteristice Zonei-Zoster (leziuni veziculare la nivelul tegumentului suprajacent filetului nervos- în general unilateral) (fig. 107). După dispariția erupției, poate rămâne un **sindrom dureros cronic** (nevralgie postherpetică care persista luni de zile).



Fig. 107– Zona Zoster

Virusul Epstein -Barr

Este agentul etiologic al **mononucleozei infectioase** (MNI- în zona noastră geografică), **limfomului Burkitt** (în Africa) și a **carcinomului nazofaringian** (în China); poate fi implicat în etiologia **limfomului B** la pacienții cu imunodeficiențe dobândite sau congenitale; unii autori îl incriminează în etiologia *sindromului oboselii cronice*.

Virusul infectează *primar celulele epiteliale* (nazofaringe și orofaringe) și *secundar limfocitele B* unde rămâne în stare latentă.

Transmiterea se face prin aerosoli și prin contact direct al mucoasei bucale cu saliva celui infectat (*de aici și denumirea de „boala sărutului”*).

În timpul *viremiei* sunt infectate *limfocitele B*, ceea ce determină apariția unor *modificări nucleocitoplasmice* (limfo-monocite), vizibile la microscopul optic pe preparatele colorate Giemsa.

Din punct de vedere **clinic**, mononucleoza infectioasă se caracterizează prin febră, stare generală alterată, faringită, limfadenopatie, hepatosplenomegalie. Crește numărul de leucocite (10.000-80.000/mm³), cu predominanță limfocitelor și monocitelor în formula leucocitară.

Diagnosticul clinic este dublat de cel *serologic*: prin **reacția Paul- Bunell- Hanganutiu** se pun în evidență *anticorpii heterofili* din serul pacienților (*anticorpi care pot apărea și în alte situații, de exemplu în boala serului*) și prin detectarea *anticorpilor anti- CMV*.

Cytomegalovirusul

Se transmite pe cale sanguina (*transfuzii, hemodializa, transplacentar*) sau în urma transplantului de organe și se răspândește de la celulă la celulă; rămâne în stadiu latent în celulele mononucleare; poate induce o *imunodepresie tranzitorie*, dar în același timp în condiții de *imunosupresie* se poate *reactiva*.

Din punct de vedere **clinic**, manifestarea cea mai gravă este reprezentată de **boala incluziilor citomegalice** a noului născut (*hepatosplenomegalie cu icter și anemie hemolitică*; în cazul supraviețuirii se notează deficiențe semnificative: *microcefalie cu retard mintal, anomalii de creștere*). Infecția posttransfuzională reproduce clinic mononucleoza infecțioasă.

Papillomavirusurile

- sunt *virusuri cu ADN, învelite*;
- induc *proliferări epiteliale și mucoase benigne (papiloame, negi sau veruci)*;
 - la copii, cele mai frecvente *localizări* ale *verucilor* sunt: *palmare și digitale*;
 - la adulți, determină:
 - condiloame ale organelor genitale externe;
 - papiloame orale, laringiene, conjunctivale;
 - negi ano-genitali (*fig. 108*);
 - displazii de col uterin, cu posibilă progresie spre carcinom;
 - frecvent regresează spontan; rar evoluează spre carcinoame;
- pot cauza conversia malignă a unor leziuni preexistente.



Fig.108 – Negi genitale (stanga) și anali (dreapta)

Familia Picornaviridae

- este reprezentată de *virusuri mici*, cu *ARN*, *citolitice*;
- cuprinde 2 genuri cu importanță medicală:
 - *Rhinovirusuri* și
 - *Enterovirusuri*.

Rhinovirusurile

- **transmiterea** prin *contact direct* sau *aerosoli*;
- determină infecții cu *localizare strictă la nivelul arborelui respirator*;
- din punct de vedere **clinic**, determină un *sindrom pseudogripal* (asemănător cu cel determinat de *V. gripale*, *V. paragripale*, *Virusul Sincitial Respirator – VSR* și *Adenovirusuri*) caracterizat prin: *rinoree*, *stranut*, *obstrucție nazală*, *cefalee*, *stare generală alterată*.
- frecvent, se suprapune o suprainfecție bacteriană care complică tabloul clinic; se produc: *otite*, *sinuzite*, *bronșite*, *pneumonii*.

Enterovirusurile sunt reprezentate de:

- *Virusurile Polio*,
- *Virusurile Coxsackie*,
- *Virusurile ECHO*,
- *Enterovirusul 72* (*Virusul Hepatitei tip A/HAV*- vezi virusurile hepatitelor virale).

Virusurile Polio

- au *poartă de intrare tracturile digestiv și respirator*;
- din punct de vedere **clinic**, se disting:
 - *infecții asimptomatice* (90% din cazuri);
 - *infecții abortive* (*simptomatologia este nespecifică*);
 - în meningitele aseptice, *infecția neparalitică*;
 - în 0.1 - 0.2 % din cazuri se produce **poliomielita** (*fig. 108*); în urma *multiplicării virusului în formațiunile limfatice faringiene și intestinale*, se produce o *viremie* care se finalizează cu *fixarea virusului în neuronii motori ai SNC* (la nivelul *coarnelor anterioare ale măduvei și a nucleilor motori din trunchiul cerebral și cerebel*); se produc *leziuni litice, ireversibile* care se traduc clinic prin *paralizie flască asimetrică* în teritoriul deservit de neuronii afectați (*membre inferioare, faringe, corzi vocale, musculatură respiratorie*).



Fig. 108– Sechele dupa poliomielita

Virusurile Coxsackie

- sunt implicate in infectii cu diferite localizari:
 - sistem nervos: meningite, encefalite, paralizii,
 - sistem cardiovascular: miocardite, pericardite insotite de pleurodinie,
 - aparat respirator: herpangine(fig. 109),



Fig.109 – Herpangina

- tub digestiv: diaree, diabet zaharat,
- conjunctive: conjunctivite hemoragice (fig. 110),



Fig.110 - Conjunctivita hemoragica

- malformatii fetale.

Virusurile ECHO (*Enteric Cytopathogenic Human Orphan*)

- afectează mai ales copiii;
- calea de patrundere este digestivă;
- poate induce: *meningite aseptice, conjunctivite, reacții febrile*.

VIRUSURI CU ARN

Familia Orthomyxoviridae

Familia Orthomyxoviridae include cele 3 **tipuri antigenice (A,B,C)** de virusuri gripale, primele două având implicații majore în patologia umană; sunt virusuri **învelite** cu genom ARN; **capsida** are *simetrie helicoidală*;

Anvelopa prezintă *structurile antigenice specifice de suprafață*:

- **H - hemaglutinina**
 - are rol în *atasarea virusului la receptorii specifici (de la nivelul epiteliului respirator, hematiilor umane și de cocos)*;
 - determină apariția *serotipurilor de virus gripal (H1, H2, H3)*;
 - *variatiile antigenice minore („drift”)* determină apariția **epidemiilor**, la interval de 2-3 ani, cu *serotipuri ale virusurilor de tip A și B*;
 - *variatiile antigenice majore („shift”)* determină apariția **pandemiilor**, la intervale de aproximativ 10 ani;
- **N - neuraminidaza**
 - este o structură antigenică, cu variantele *N1, N2*;
 - are rol în *atasare și enzimatic*;

Existența variantele H și N explică apariția unor **subtipuri virale antigenic distincte**: *H1N1, H1N2, H2N1, H2N2, H3N2...*

Din punct de vedere **clinic**, **gripa** se caracterizează prin:

- stare generală alterată, cefalee, febră bruscă, mialgii severe, tuse neproductivă,
- *modificările celulelor epiteliale* induse de virusuri, predispun la *infecții secundare bacteriene* cu *Str. pneumoniae, Haemophilus influenzae, St. aureus*;
- complicațiile (*pneumonii, otite, encefalopatii...*) pot apărea după 3-4 zile, mai ales la vârste extreme și la persoane cu *afecțiuni cardio-vasculare sau imunocompromise*.

Familia Paramyxoviridae, cuprinde 3 genuri:

Gen	Reprezentanti
Morbillivirus	Virusul rujeolei
Paramyxovirus	Virusurile paragripale 1-4 Virusul parotiditei epidemice/ virusul urlan
Pneumovirus	Virusul sincitial respirator (VSR)

Virusul rujeolei

Este agentul etiologic al **rujeolei (pojar)**, care este o boala infecto - contagioasa a copilariei, cu caracter endemo-epidemic;

- perioada de incubatie este de 10-12 zile; debutul este caracterizat de aparitia febrei, fenomenelor catarale, eruptie maculo- papulara (fig. 111) initial la nivel retro- auricular, ulterior generalizata („coboara” pe trunchi si pe membre, lasand zone indemne intre placardele maculo- papulare); adenopatia este generalizata; in final tegumentul ramane pigmentat, cu o descuamare furfuracee;



Fig.111 – Eruptia maculo-papulara din rujeola

- complicatia cea mai frecventa reprezentata de bronhopneumonie;
- virusul poate ramane in stare latentă in SNC (virus rujeolos defectiv) si sa determine mult mai tarziu encefalita post-infectioasa sau panencefalita necrozanta subacuta.

Virusurile paragripale

- dintre cele 4 tipuri patogene pentru om, virusurile 1-3 suprainfecteaza celulele deja infectate de VSR, iar tipul 4 determina infectii respiratorii primare; transmiterea virusurilor se face prin aerosoli;
- initial infectia este inalta (rinite, rinofaringite); in anumite situatii, infectia coboara si pot apare: crup (laringo- traheo- bronsita), bronsite, pneumonii;

- *imunitatea naturala este slab protectiva, ceea ce explica posibilitatea reinfectiei la scurt timp, cu acelasi serotip sau alte serotipuri.*

Virusul parotiditei epidemice (*virusul urlian*)

- agent etiologic al **parotiditei epidemice (*oreion*)** (fig. 112), este o boala infecto - contagioasa, in care *tabloul clinic* este dominat de *hipertrofia parotidelor (uni- sau bilateral)*;



Fig.112 – Hipertrofia glandei parotide in oreion

- structura tinta este reprezentata de *componenta exocrina a glandelor*:
 - *parotide,*
 - *gonade (ovar- ooforita, testicol- orhita); complicatia de temut este sterilitatea masculina, in situatia in care infectia survine la varsta adulta;*
 - *pancreas (virusul este implicat in etiologia diabetului juvenil);*
- *sistemul nervos central (meningoencefalite) si a celui periferic.*

Virusul sincitial respirator (*VSR*)

- determina *infectii respiratorii acute* cu *evolutie fatala* mai ales la copiii mici;
- produce *infectii respiratorii cu localizare inalta (rinite, faringite febrile)* sau *joase (necroza bronhiilor si a bronhiolelor, prin efect citopatogen direct).*

VIRUSURILE HEPATITELOR

Virusul hepatitei A (*HAV*)

Este un ***Picornavirus***, catalogat initial ca fiind un *Enterovirus 72*; ulterior s-a conchis ca face parte din *Genul Heparnaviridae*.

Este un virus cu ARN neinvelit (fig. 113).

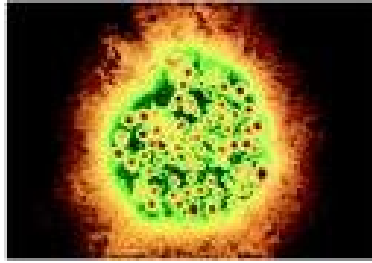


Fig.113 – Virusul hepatitei A

Hepatita A este o infecție cu **caracter epidemic**, fiind cunoscută și sub denumirea de „boala mainilor murdare”; transmiterea se face adesea prin intermediul apei, alimentelor contaminate și direct prin intermediul obiectelor și a mainilor murdare.

Perioada de incubatie este de 2-6 săptămâni.

Replicarea virusului se face în epiteliul intestinal, după care se produce o viremie tranzitorie; organul țintă este ficatul (*hepatocitele și celulele Kupfer*); se produce o multiplicare rapidă, cu eliberarea virionilor în bila și apoi prin materiile fecale în mediul extern cu aproximativ 10 zile înainte de apariția primelor simptome.

Severitatea hepatitei A este medie (*doar 0.5% din cazuri sunt fulminante*).

Nu se cronicizează.

Diagnosticul de laborator se pune prin identificarea **Ag HAV** în materiile fecale și în bila, precum și a **Ac anti HAV** (*IgM și IgG*) în serul bolnavilor.

IgG anti HAV sunt protectivi pentru o nouă reinfecție.

Prevenirea și controlul se face prin:

- Spălarea mainilor frecvent și mai ales înainte de servirea mesei,
- Clorinarea apei și a grupurilor sanitare,
- Izolarea bolnavilor declarați,
- Evitarea consumului de apă și alimente contaminate,
- Imunoprofilaxia contactilor cu Ig serice (eficiență 80- 90%).

Virusul hepatitei B (HBV)

Face parte din *Familia Hepadnaviridae*, fiind un **virus cu ADN, învelit** (fig. 114);

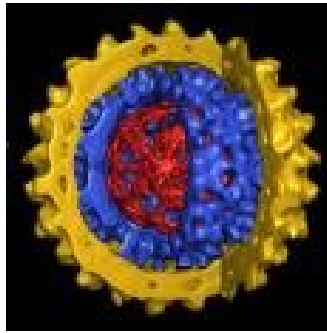


Fig. 114– Virusul hepatitei B

Se poate prezenta ca:

- **particula completa (particula Dane)** (nucleocapsida si anvelopa)- ce poate lua o forma sferica (22nm) sau filamentoasa (22/ 200nm),
- **particula incompleta** (lipsita de acid nucleic) - formata exclusiv din **AgHBs**.

Capsida prezinta doi constituinti antigenici majori:

- **Ag Hbe** si
- **Ag HBc**;

Anvelopa prezinta un *Ag de suprafata*: **Ag HBs**, cunoscut si sub denumirea de **Ag Australia** - unul dintre cei mai utilizati markeri in diagnosticul hepatitei cu virus B.

Ag HBe rezulta din liza intracelulara a **Ag HBc**, prin urmare **Ag HBc nu** va putea fi detectat **in circulatie**.

Virusul hepatitei B **se transmite**:

- pe cale sexuala,
- transplacentar (*de la mama la fat*),
- posttransfuzional,
- in urma unor manopere invazive (*prin ace de seringa, extractii dentare, operatii chirurgicale, gaurirea lobului urechii, tatuaje, acupunctura...*)

Perioada de incubatie este de 4-26 de saptamani.

Organele tinta sunt **ficatul** (*hepatocitele si celulele Kupfer*) si **pancreasul**;

Evolutia poate fi *favorabila* cu regenerarea parenchimului hepatic; indivizii care au ramas cu Ag HBs pozitiv pe o perioada mai lunga de 6 luni, poarta denumirea de **purtatori cronici**; 25% au o *evolutie severa* spre:

- *cronicizare*,
- *ciroza* (5-10% din cazuri) si chiar
- *carcinom hepatocelular* (80 % au la baza o *hepatita cronica tip B*).

Infectia concomitenta (coinfectia) sau **suprainfectia** cu **virusul hepatitei D** (*particula virala defectiva*) determina o evolutie mai rapida spre cronicizare;

Diagnosticul de laborator se pune prin identificarea:

- **markerilor virali** din **serul pacientilor**:
 - **Ag HBs**,
 - **AgHBe** (*prin teste ELISA*); Atentie! **Ag HBc** nu poate fi detectat decat in tesutul hepatic;
 - **ADN-viral** (*prin PCR- reactia de polimerizare in lant*);
- **markerilor serici**: **Ac anti HBs**, **Ac anti HBc**, **Ac anti Hbe**;
- **metode nespecifice**:
 - *enzimatici*: **GOT**, **GPT**
 - teste ce pun in evidenta tulburarile *metabolismului pigmentilor biliari* (**UBG**)
 - teste de *disproteinemie* (*scade fractiunea albuminica si cresc fractiunile β si γ globulinica*).

Virusul hepatitei C (NANB HV)

- apartine Familiei Flaviviridae, fiind un virus cu **ARN**, invelit (*fig. 115*),



Fig. 115– Virusul hepatitei C (hepatita nonA- nonB)

- determina *hepatita de tip C*, cunoscuta si sub denumirea de **hepatita nonA- nonB**
- **perioada de incubatie** este de 2-20 saptamani,
- **calea de transmitere**: contact sexual si parenteral (*transfuzii, manopere invazive, transplacentar*),

- **evolutia** este de cele mai multe ori subclinica, extrem rar are o evolutie fulminanta; 10-50% din infectii evolueaza spre **cronicizare**,
- **diagnosticul de laborator** consta in identificarea si dozarea **Ac anti HCV** si detectarea **ARN viral** (*prin PCR*).

Virusul hepatitei D

- apartine *Familiei Togaviridae*; fiind un **virus incomplet**, *nu se poate multiplica decat in prezenta virusului hepatitei B (coinfectie sau suprainfectie)*,
- **perioada de incubatie** este de 4-8 saptamani;
- **modalitatile de transmitere** sunt similare cu cele de transmitere ale virusului hepatitei B,
- **severitatea** infectiei este foarte crescuta,
- **cronicizarea** se produce in 2-5% din cazuri in coinfectii si in 90% din cazuri in suprainfectii ale virusului hepatitei B;
- **diagnosticul de laborator** se bazeaza pe identificarea markerilor specifici **hepatitei B**, concomitent cu decelarea markerilor **hepatitei D** (*Ag HDV, Ac anti HDV, ARN- viral*).

Infectia cu HIV

(Human Immunodeficiency Virus- Virusul imunodeficientei umane dobandite)

Boala indusa de **HIV** a fost descrisa pentru prima data in anul 1981 si a fost denumita **SIDA** (Syndrome d'Immunodefience Acquise) sau **AIDS** (Acquired Immunodeficiency Syndrome). HIV este un **Retrovirus latent**, cu *perioada lunga de incubatie (7-8 ani)*.

Virusul HIV1 (*fig. 116*) a fost izolat pentru prima data in anul 1983 de o echipa de cercetatori francezi condusa de *Montagnier*. In anul 1984, *Gallo & colab (SUA)* izoleaza acelasi virus.

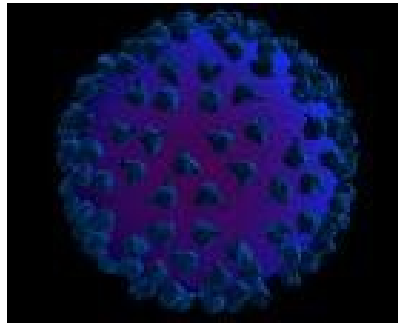


Fig. 116– Virusul imunodeficientei umane

Structura virusului:

- **miezul** este format din doua catene identice de **ARN** si subunitati ale **reverstranscriptazei** (enzima cu rol in transcriptia ARN viral in ADN care va fi ulterior integrat in genomul celulei gazda);
- **capsida** – prezinta doi determinanti antigenici majori, utili in diagnosticul de laborator (**p24** si **p25**),
- **anelopa** - prezinta mai multi determinanti antigenici majori (**gp120**, **gp41** si **p18**, unde **gp** sunt glicoproteine si **p** este proteina), importante din punct de vedere al diagnosticul serologic si in atasarea la receptorii celulari; aceste structuri proteice prezinta o mare variabilitate ceea ce permite aparitia de **subtipuri** cu **proprietati antigenice noi** (aparitia unor mutante); asa se explica posibilitatea virionului de a se sustrage mereu de anticorpii neutralizanti anti HIV, precum si greutatile intampinate de cercetatori in obtinerea unui vaccin eficient.

HIV 2 se aseamana din punct de vedere antigenic mai mult cu *SIV* (virus cu tropism simian); glicoproteinele din anelopa difera mult fata de cele ale *HIV1*, ceea ce are ca urmare faptul ca, aparitia concomitenta a *HIV1* si *HIV2* in aceeasi zona geografica pune probleme de diagnostic serologic; din aceasta cauza testele moderne au fost concepute astfel incat sa deceleze concomitent *Ac anti HIV1* si *anti HIV2*.

Modalitati de transmitere:

- *contact sexual,*
- *manopere de manechiura- pedichiura,*
- *manopere invazive: tatuaje, acupunctura, injectii, extractii dentare, operatii chirurgicale, endoscopii...*
- *transplacentar,*
- *transfuzii sanguine.*

Patogeneza

Monocitele (care ajung in tesuturi sub forma de macrofage) si **LTh** (limfocitele T helper/structuri tinta) prezinta receptori si vor fi primele celule atacate de catre virus; aceste celule au rol major in declansarea si modularea raspunsului imun celular si umoral; intregul raspuns imun va fi afectat, deoarece initial este viciata *functionalitatea* celulelor imunocompetente, dupa care are loc *liza* acestora (*scaderea numarului, in valoare absoluta*).

Imunitatea mediata umoral este complet deviata, deoarece are loc *expansiunea anarhica a LB* (limfocitelor B) cu producerea unei cantitati mari de *Ig nespecifice*, ceea ce are ca urmare o *scadere a imunitatii specifice*; ca urmare deseori apar *boli cu componenta autoimuna* si chiar *limfoame*.

Imunitatea mediata celular este si ea alterata, deoarece scade activitatea **LTc** (limfocit T citotoxic) (care in conditii normale participa la: *liza celulelor bacteriene, liza celulelor infectate viral, liza celulelor tumorale si HS de tip intarziat/tip IV*).

Ca urmare, apar cu frecventa mare:

- *infectii bacteriene,*
- *parazitare,*
- *fungice,*
- *tumori si*
- *limfoame.*

Afectarea macrofagelor din sistemul nervos (celule gliale, celule endoteliului vascular) si a **neuronilor**, prin eliberarea de **factori neurotoxici**, produc diferite tulburari neurologice, dementa, meningoencefalite sau pot sa ramana asimptomatice.

Din punct de vedere clinic, infectia parcurge mai multe etape pana cand individul ajunge in stadiul de boala clinic manifesta.

- **Infectia acuta-** este frecvent *asimptomatica*, iar cand apar simptome, acestea pot mima o *mononucleoza infectioasa* (hepatosplenomegalie, adenopatie generalizata) sau o infectie cu Cytomegalovirus (encefalopatii, neuropatii, eruptii cutanate).
- **Infectia cronica-** este *asimptomatica o lunga perioada* si se poate caracteriza prin unul dintre urmatoarele semne si simptome:
 - *limfadenopatie generalizata,*
 - *diaree apoasa (> 1 luna) ,*
 - *febra (>38°C),*
 - *scaderea in greutate (>20% in 3 luni),*
 - *infectii cu oportunisti fara risc vital (Candida)*

- *leucoplakia paroasa a limbii (fig. 117).*
- **ARC (AIDS Related Complex)**- in care apar concomitent cel puțin două semne dintre cele descrise mai sus.
- **Boala SIDA/ AIDS-** *se caracterizează prin apariția :*
 - Infecțiilor cu oportuniști (*cu risc vital*):
 - cryptosporidioza,
 - toxoplasmoza,
 - strongyloidoza,
 - mycobacterioze;
 - Stări precanceroase: leucoplakia paroasa a limbii;



Fig. 117- Leucoplakia paroasa a limbii

- Tumori solide (*sarcom Kaposi, limfoame maligne*) (fig. 118);



Fig. 118– Localizări bucale ale sarcomului Kaposi

- Leucemii,
- **Encefalopatii,**
- **Carii, abcese dentare.**

Diagnosticul de laborator

- **Hemoleucograma** - se caracterizează prin: **pancitopenie** (*leucopenie cu limfopenie, anemie, trombocitopenie*),
- **Scade raportul LTh/ LTc,**
- **IDR la tuberculina este negativ (anergie),**
- **B2 microglobulina este crescută (semn al distrucției limfocitelor),**

- **Teste serologice specifice:**

- **ELISA-** test sensibil, rapid, în care se utilizează lizant viral brut ceea ce îi conferă o *specificitate scăzută* (apar reacții fals pozitive mai ales la alcoolici, boli limfoproliferative maligne...); întotdeauna un *test ELISA pozitiv* trebuie confirmat printr-un test cu o *specificitate mare*: **Western- Blott**. Acest test utilizează Ag virale purificate și izolate în amprentă pe nitrat de celuloză (**gp120, gp 41, p24, p 25, p18**).
- **Detectarea principalului Ag: p24**, care poate fi detectat la debutul infecției, după care în perioada de „*fereastră imunologică*” nu mai poate fi detectat; în stadiul de boală, p24 **poate fi detectată** din nou; în perioada „*ferestrei imunologice*”, pot fi detectați doar **Ac anti-p24**, care au o evoluție inversă cu cea a p24.
- **Detectarea genomului viral** (*ARN viral sau ADN-ul rezultat în urma reverstranscrierii*) prin **PCR** (*Polymerase Chain Reaction - reacția de polimerizare în lanț*). Această tehnică are cea mai bună specificitate și sensibilitate, fiind o metodă standardizată.

BIOFILMUL

Biofilmul este o concentrare densă de microorganisme, sub forma de **conglomerate mono - sau multispecii**, atasate la diferite suprafețe (rareori se pot desprinde și pot flota în mediul înconjurător) și care vor fi imbracate în proteine și polizaharide (cu dubla origine: bacteriană și de gazdă).

Conglomeratele posedă canale de apă prin care nutrienții intra în biofilm și prin care produsele toxice sunt excretate. Placa dentară (fig. 119) care este calcificată se definește ca și tartru sau calculus.



Fig. 119- Placa dentară calcificată

Cel care a identificat pentru prima dată biofilmul, a fost *Leeuwenhock* în secolul XVII, prin examinarea directă a raclatului de pe dinți.

Pentru a avea o imagine asupra complexității factorilor ce influențează formarea biofilmului, tabelul următor conține componentele salivare și funcțiile lor.

Componentele salivare și funcțiile lor

<i>Familia salivara</i>	<i>Funcția</i>
Anhidraza carbonică Histatina	Tampon
Amilaza Mucina	Digestie
Cistatinele Histatinele Proteinele bogate în prolină (PRP) Stareinele	Mineralizare
Mucine Staterine	Lubrificarea Vascoelasticitatea
Amilaze Cistatine Mucina PRP	Imbracarea tisulară

Staterine	
Histatine	<i>Antifungic</i>
Cistatine Mucine	<i>Antiviral</i>
Amilaze Cistatine Histatine Mucine	<i>Antibacterian</i>
Lizozimul (neuraminidaza)	<i>Bactericid</i>
Peroxidaze	<i>Inhibarea enzimelor glicolitice (Streptococ, Lactobacillus)</i>
Lactoferina	<i>Efect bacteriostatic (prin scaderea concentratiei de fier liber)</i>
Complementul (continut in exudatul din fundul de sac gingival)	<i>La granita dintre apararea specifica si nespecifica</i>
Leucocitele (migreaza in cavitatea bucala prin fundul de sac gingival)	<i>Prima linie de aparare nespecifica (fagocitoza)</i>
IgAs (sintetizate la nivelul glandelor salivare si nu "filtrate" din torentul circulator)	<i>Singura subclasa de imunoglobuline implicata in apararea nespecifica; cea mai rezistenta la actiunea hidrolazelor bacteriene.</i>

Formarea placii bacteriene implica 4 etape bine identificate, astfel:

1. in cateva secunde de la aparitia unei ***noi suprafete in gura*** (eruptie dentara, proteze, obturatii) ***proteinele salivare*** de dimensiuni relativ mici, incarcate eletro-negativ (inclusiv PRP, cistatinele, staterinele) ***domina pelicula intiala***;
2. in 12 ore, ***mucinele*** (care sunt glicoproteine cu greutate moleculara mai mare) se leaga de ***film*** (cu participarea receptorilor locali); exista anumiti receptori (criptitopi) care asigura atasarea bacteriilor la dinti si la celulele epiteliale orale; la individul cu o igiena deficitara creste concentratia proteazelor din fluidul gingival – astfel activandu-se criptitopii, favorizand atasarea bacteriilor periodontopatie; s-a dovedit ca unele bacterii (*Fusobacterium nucleatum*, *A. viscosus* si *A. naeslundii*) secreta neuraminidaze, care apoi expun receptori tip galactozil, la care ulterior alte bacteriile pot sa adere; in aceasta etapa mai intervin 2 tipuri de mucine salivare:
 - a. ***MGI*** (care mentine protectia vascoelastica impotriva agentilor microbieni si chimici) si functioneaza ca si receptor selectiv pentru legarea specifica a speciilor de *Haemophilus* si a altor microorganisme (fig. 120);

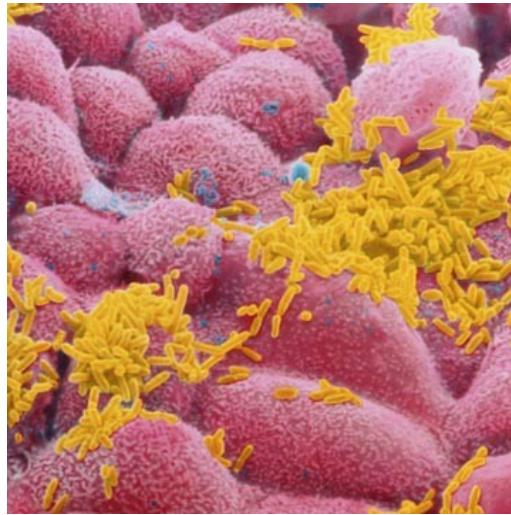


Fig.120 – *Haemophilus influenzae* (colorat in galben)

- b. **MG2** – care functioneaza ca *receptor* pentru *Actinomyces*;
- 3. **adezinele bacteriene si legarea ireversibila:** cand *microorganismele* *adera* utilizand *receptorii specifici* (*tip adezina*) prin mecanism “cheie-lacat” (*tip complementaritate*) legarea este *invariabil ireversibila*; au fost identificate mai multe *tipuri de adezine*:
 - a. *Actinomyces spp.* poseda 2 tipuri de *fimbrii* distincte din punct de vedere *antigenic si functional*: *tipul 1* – care mediaza *aderarea la PRP* si la *staterinele* pe filmul gazdei (*de exemplu proteine la proteine*) si *tipul 2* – care leaga *lactoza* pe *alte bacterii* (*cum sunt streptococii*) in *reactie de co-agregare** si *co-adeziune*** – ce construiesc biofilmul;
 - b. *Streptococul mutans* are o *proteina B* cu greutate moleculara mare, ce se leaga de *aglutininele salivare*;
 - c. *Streptococul gordonii* (fig. 121) are o proteina ce se leaga atat de *MG-1* si *MG-2* cat si de *A. naeshlundii*.



Fig.121 – *S. gordonii* (ME)

În încercarea de a înțelege interacțiunile cu structurile cavității orale, au fost identificate tipurile de receptori, de care se leagă bacteriile:

- *S. sanguinis* la acidul sialic,
- *S. mutans* la fucoza,
- *A. viscosus* la galactoză,
- *A. naeslundii* la galactozamina,
- *H. influenzae* și *S. mitis* la proteine.

4. **co-agregarea și formarea biofilmului** – în 1-2 zile, bacili Gram pozitivi și filamentele se extind spre exteriorul microcoloniilor și biofilmul crește în profunzime, ca un strat condensat de 3-20 rânduri de celule, în imediata vecinătate a dinților; peste acestea, se suprapune un strat format din diverse microorganisme.

*Co-agregarea – ca și fenomen local, reprezintă interacțiunea dintre 2 microorganisme bacteriene (sub formă de perechi) de exemplu *Actinomyces spp* și *C. albicans*.

**Co-adeziunea – este interacțiunea dintre microorganisme sesile (aderente) și un microorganism tip planctonic (ce flotează liber); acest proces necesită legarea inițială a unui microorganism (cum sunt actinomicetele, via fibrile hidrofobice) apoi atașarea de acel microorganism a altor microorganisme (cum sunt cocii Gram pozitivi ce utilizează pentru co-aderare, lipoproteinele).

Microorganismele sunt **legate între ele** și prin intermediul unei cantități crescute de polizaharide (interbacteriene) cum este dextranul produs de *S. mutans* (ceea ce amplifică adeziunea).

Odată cu desfasurarea reacțiilor metabolice bacteriene, tensiunea oxigenului scade și astfel se va înmulți flora anaerobă; pe suprafața stratului nou format, are loc co-agregare de bacili Gram pozitivi și coci Gram pozitivi.

Cresterea celulară în biofilm este progresivă: în fiecare zi - din ziua 1 până în ziua 7 - se multiplică de 2.5 ori.

Biofilmul înalt organizat este foarte rezistent la distrugerea acidă (mai ales la pH de 3.5) în timp ce biofilmul dispersat conține celule foarte sensibile la mediu acid.

Răspunsul gazdei la formarea biofilmului este **reacția inflamatorie locală**. La țesutul periodontal normal, **statusul imun innăscut** al gazdei se caracterizează prin expresarea unor cantități scăzute de **E-selectină** și a unui **gradient de IL-8**; acești mediatori se formează în răspuns la un biofilm bacterian înalt organizat (placă dentară) cu rol în facilitarea tranzitului

*neutrofilelor prin tesut, pana la nivelul santurilor gingivale, unde au rol de **protectie locala** (fagocitoza).*

***Placa dentara** se formeaza in mod natural, ca si parte a mecanismului de protectie a organismului impotriva patogenilor exogeni.*

Important pentru practica medicala (*preventiva si curativa*) este cunoasterea faptului ca placa bacteriana nu este indepartata usor de un flux moderat de apa de gura (*spray de gura*).

***Placa bacteriana** este reprezentata de **diversele comunitati microbiene** ce exista pe suprafata dintilor (dintii putandu-se identifica ca si structuri “infpte” intr-o matrice de polimeri de origine bacteriana si salivara).*

In functie de **locatia** ei, *placa* poate fi definita ca si **supra** si **subgingivala**:

- ***placa supragingivala** este aderenta la dinte si este reprezentata predominant de flora Gram pozitiva, cu potential cariogenic.*
- ***placa subgingivala** este formata predominant din flora Gram negativa, mai putin aderenta si in suspensie in lichidul gingival; detritusurile contin microorganisme periodontopatie.*

In functie de **potentialul patogenic**, placa bacteriana poate avea efect: **cariogenic** sau **periodontopatic**.

Biofilmul limbii

*Morfologia fetei dorsale a limbii poate furniza, chiar in conditii fiziologice, **irregularitati** (cum sunt: fisurile, santurile, zone depapilate) ce pot servi ca si **arii de retentie** pentru bacteriile ce se dezvoltă; prezenta fisurilor adanci, sunt puse in legatura cu cresterea dubla a numarului de bacterii si cu cresterea **scorului odorizant** al gurii si limbii.*

Din **biofilmul limbii**, se pot izola specii bacteriene ce provin din toate nisele cavitatii bucale (inclusiv bacterii subgingivale) (fig. 122).

***Invelisul limbii** este un strat vizibil alb-maroniu, ce adera la fata dorsala a limbii, format din celule epiteliale descumate, celule sanguine, nutrienti, bacterii si metaboliti.*

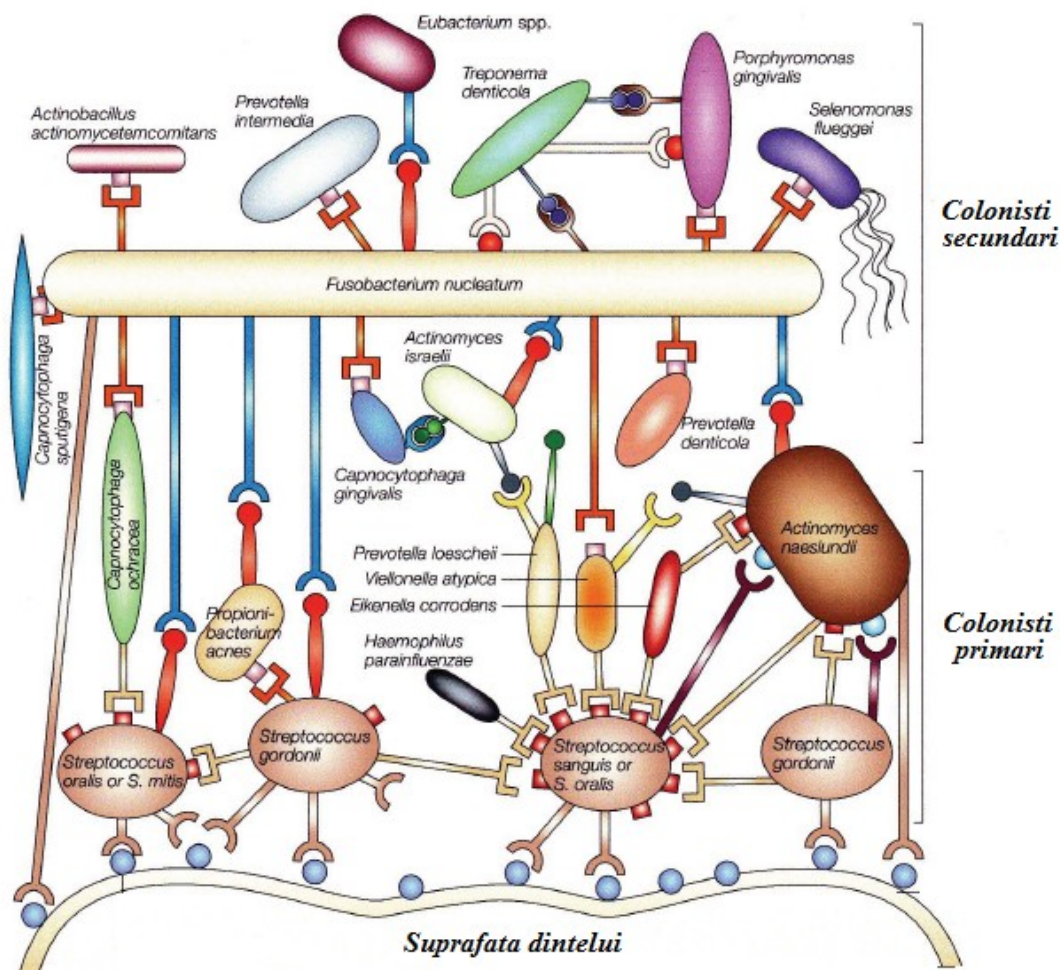


Fig. 122– Bacterii prezente in cavitatea orala

Au fost descrise mai mult de 100 de specii bacteriene diferite, care se pot atasa de o singura celula epiteliala situata pe fata dorsala a limbii, in timp ce doar aproximativ 25 specii bacteriene sunt atasate la celule aflate in oricare alta zona a cavitatii bucale;

Compozitia invelisului limbii este in relatie cu diferiti factori cum sunt: varsta, igiena orala, fluxul salivar si statusul periodontal.

In formarea placii bacteriene un rol important il are semnalizarea celula-celula si semnalizarea bacterii-celula umana.

Celulele umane sunt capabile sa “guste” nutrientii si sa reactioneze la semnalele bacteriilor (cum sunt lactobacilii, bacteroides).

Comunicarea intre microorganisme a fost definita ca si “**quorum sensing**”; aceasta comunicare depinde de productia uneia sau mai multor molecule de semnalizare difuzibile,

numite “*autoinductori*” sau “*feromoni*” care fac bacteria capabila sa monitorizeze *densitatea propriei populatii celulare*.

La *bacteriile Gram pozitive* senzorii secreta *peptide*, care cresc *densitatea populatiei celulare*: de exemplu *pneumococul* produce o peptida stimulatorie care permite microorganismului sa achizitioneze ADN exogen, astfel in organizarea biofilmului, are loc si *transfer genetic*.

Mecanismele de formare a placii dentare pot fi identificate, dupa cum urmeaza:

1. *transportul bacteriilor catre dinti*, prin intermediul *salivei*,
2. *adeziunea nespecifica reversibila*, incluzand *forte fizico-chimice*, cum sunt: *fortele de atractie (Van der Waals)* si *fortele de respingere electrostatica*,
3. *interactiuni specifice moleculare intre adezinele colonistilor initiali si receptorii gazdei*, in *pelicula dobandita*; de exemplu *S. oralis* posedea *neuraminidaza* pentru *clivarea acidului sialic terminal*, din lanturile de oligozaharide ale glicoproteinelor, expunand astfel penultimul zahar galactozil, la care *S. oralis* se leaga, prin expresarea *lectinei* (ce leaga galactozila),
4. atasarea de *colonistii secundari* – prin *co-adeziune* (fig. 123),
5. *sinteza de polimeri extracelulari* si *cresterea microorganismelor*.



Fig.123 – Compozitia placii dentare (imagine electronomicroscopica)

Bacteriile identificate in placa dentara, sunt prezentate in tabelul ce urmeaza

<i>Gram pozitivi</i>	<i>Gram negativi</i>
Coci	
Streptococi	<i>Neisserii</i>
Peptostreptococ	<i>Veillonella</i>
<i>Gram pozitivi</i>	<i>Gram negativi</i>
Bacili	
Actinomycete	<i>Capnocytophaga</i>
Bifidobacterium	<i>Eikenella</i>
Corynebacterium	<i>Fusobacterium</i>
Eubacterium	<i>Haemophilus</i>
Propionibacterium	<i>Leptotrichia</i>
Rothia	<i>Prevotella</i>
	<i>Porphyromonas</i>
	<i>Selenomonas</i>
	<i>Treponema</i>

Exista mai multi **factorii** care influenteaza **cresterea placii**:

- **varsta** (marcata prin stergerea liniei gingivale odata cu inaintarea in varsta),
- **eruptia dentara deciduala**,
- **expunerea la agentii microbieni** (in functie de utilizarea apei de gura si a antibioticelor din alimente),
- **sarcina**,
- **schimbarile hormonale**,
- **stresul**,
- **igiena orala**,
- **boala periodontala**,
- **terapia antimicrobiana**,
- **fumatul**,
- **leziuni locale**.

Comunicarea intre comensalii cavitatii orale

Placa dentara este un **consortiu inalt organizat de specii bacteriene** ce **coopereaza** si **mentin o relatie lunga cu gazda**.

Placa dentara este organizata **ca un biofilm**, in care **diferitele colonii microbiene interactioneaza**.

Specificitatea înaltă a comunităților biofilmului asociată cu **starea de sănătate** a unui individ, se poate dovedi prin **ordinea apariției bacteriilor**, după curățarea profesională a dinților.

Astfel, **după igienizare** dinții vor fi îmbracați într-o **peliculă salivară**; pelicula oferă **liganzi și receptori de atașare** pentru multe **bacterii Gram pozitive** (reprezentând **primii “colonisti”** ai dinților și se asociază cu starea de **sănătate periodontală**) dar nu și pentru bacterii Gram negative.

Bacteriile comensale ce există pe suprafața dinților dezvoltă metode foarte specifice pentru a-și facilita **atașarea unele de altele**.

Biofilmul dinților și al altor structuri orale, demonstrează **nevoile nutriționale multiple ale comunităților bacteriene**, fiind capabile să interacționeze una în beneficiul alteia.

Consecințele moleculare ce sunt asociate cu **sucesiunea specifică a speciilor bacteriene** ce apar **structurate în placa dentară**, nu sunt un **hazard** fiind capabile să mențină pentru un timp lung **relația cu un peridontiu sănătos**.

Relațiile interspecii bacteriene implicate în placa dentară

Formarea biofilmului și **starea de competență** pentru **transformarea genetică** depinde de **“quorum sensing”** care este condiționat de **densitatea populației celulare** și de **aportul de metale**.

Există ipoteza că **nivelele crescute de metale** (cum este Zn și Mg) pot fi **semnale pentru celule**, pentru **a-și schimba tipul de creștere** – din **creșterea la suprafață**, la creșterea tip **“plancton”** și **diseminare**.

Bacteriile se atașează selectiv la pelicula de pe suprafața smaltului, în cursul etapelor inițiale de formare a biofilmului, determinând interacțiunea dintre proteinele celulare de suprafață și constituenții salivari ai biofilmului (peliculei) ce îmbracă dinții, de exemplu:

- **acidul sialic** leagă glicoconjugatii din mucinele salivare (care sunt constituenții peliculari majori și se leagă la trombocite).
- **amilaza** hidrolizează amidonul, iar legarea celulelor bacteriene la enzima poate facilita **achiziția de nutrienți**;

este sigur că **modularea în expresarea și structura proteinelor de suprafață** poate influența direct suprafețele dinților.

S. viridans

Prin reprezentatii: *S. sanguinis* si *S. parasanguis* (fig. 124, 125), reprezinta 50-80% dintre **comensalii** ce *initiaza colonizarea suprafetelor dintilor* sustinand practic fundamentul fizic al placii dentare.



Fig. 124 - *S. sanguinis*



Fig. 125– *S. parasanguinis*

S. sanguinis (anterior identificat ca si *S. sanguis*)

Apartine **primilor colonisti** ai suprafetelor dintilor, jucand un *rol cheie in dezvoltarea placii bacteriene* si aici sunt implicate *proteinele celulare de suprafata* in formarea biofilmului.

Este interesant ca aceste bacterii sunt *unicele capabile sa colonizeze valvele cardiace (native sau prostetice)* dezvoltand **secundar endocardita infectioasa**.

S-a dovedit ca odata ce *colonizeaza aceste structuri*, *mici agregate celulare de suprafata* incep sa se formeze si se organizeaza in *aglomerari puternic aderente de celule*, care in timp vor fi *acoperite de plachete si fibrina* (ce se aseaza peste stratul bacterian) formand **o structura atasata, tip biofilm vegetativ**.

Ca si alte *infectii cu punct de plecare biofilmul*, **endocarditele** sunt grave, frecvent *persistente*, chiar dupa tratamentul antibiotic repetat.

S. mutans

Este o alta specie de streptococ ce exista in cavitatea bucala, considerat *agentul etiologic principal in formarea cariilor* (fig. 125). Acest streptococ are capacitatea de a *fermenta un spectru larg de carbohidrati*, cu efecte in lant:

- *produsii finali* sunt reprezentati de *acizi*,
- *secundar demineralizarea smaltului* si
- *aparitia cariei*.



Fig. 125- *S. mutans*

Astfel, **formarea biofilmului** și **capacitatea de a corecta condițiile nefavorabile** (de exemplu scăderea pH-ului) sunt **factori cheie** ce influențează cariogenicitatea acestui microorganism.

Un alt **mecanism** al cariopatogenității lui *S. mutans*, este acela de a **achiziționa noi fragmente de ADN** (molecule straine) prin fenomenul de **competență genetică**.

Recent s-a stabilit o legătură între formarea **biofilmului** **sucroza-dependentă** și **capacitatea** bacteriilor de a sintetiza **bacteriocine**, **producția** fiind controlată de “**quorum sensing**”.

Bacteriocinele sunt **peptide** cu **activitate antibacteriană**, ce induc **liza bacteriană** și **eliberarea ADN-ului** care poate fi **captat** și **recombinat** (**status de competență genetică**) în cromozomii celulelor bacteriene (ce aparțin comunității biofilmului) care vor deveni rezistente la antibiotice. Rezultă **importanta ADN-ului extracelular** în **funcția** și **persistența biofilmului**.

S. mutans sintetizează **enzimatic exopolizaharide** (din **sucroza din dietă**) care vor facilita **aderența** și **formarea biofilmului** și **creșterea virulenței** acestui microorganism. O **varietate de adevine de suprafață** ale *S. mutans* au rol în **formarea biofilmului**.

Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.a.)

Este un **patogen periodontal Gram negativ**, asociat **periodontitei locale agresive** și **afecțiunilor sistemice severe** (**endocardita infecțioasă, abcese cerebrale**).

Este un microorganism foarte adaptat pentru **aderarea locală**, participând la **formarea biofilmului** (fig. 127); cu ajutorul **microscopului electronic** s-a demonstrat că aceste bacterii formează **fimbrii groase**, compuse din **manunchi de pili** – care **modulează interacțiunile celule-celule, celule-suprafață** implicând **dezvoltarea biofilmului**.

Dupa aderarea locala invadeaza:

- atat *celulele epiteliale* cat si
- *cele endoteliale*;

In cursul *invadarii*, **A.a.** migreaza prin *celulele epiteliale* si vin **in contact cu tesutul de conexiune** si cu diferitele tipuri de **colagen**.



Fig. 127– Cultura de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Matricea extra-celulara polizaharidica este *esentiala* in *dezvoltarea* si *mentinerea structurii biofilmului*. Studii genetice si biochimice au aratat ca **PGA** (un *peptid polimerizat*) este **proteina de baza** din *matricea biofilmului A.a.*

Porfiromonas gingivalis

Este o **bacterie anaeroba Gram negativa** (fig. 128), ce exista in *placa subgingivala*, asociat cu *formele severe* si *cronice de boala periodontala*– inducand *distructia tesutului suportiv al dintilor* si intr-un final *pierderea dintilor*; este frecvent asociat cu *procesele generale de ateroscleroza*.

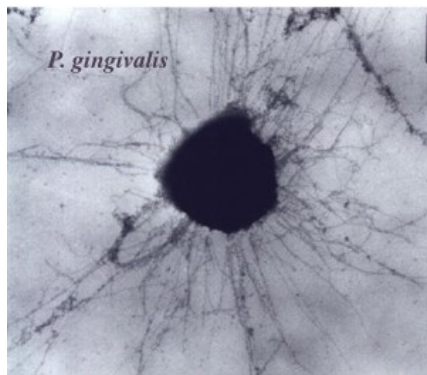


Fig.128 – *Porphyromonas gingivalis*

Anumiti **factori supraadaugati** sunt asociati cu **virulenta** acestui *anaerob oral*, cum sunt:

- **proteazele**,
- **endotoxinele**,
- **colagenazele**,
- **structurile de suprafata – fimbrii si capsula.**

P. gingivalis are capacitatea de a se atasa si invada celulele epiteliale umane, tesutul de conexiune si celulele endoteliale, iar **invazia** este sustinuta de **fimbrii** si **adezine de suprafata** (fig. 128).

S-a dovedit recent ca **pilii** lui ***P. gingivalis*** se leaga de **proteinele salivare**, parte a **peliculei dobandite**, pe **suprafata dintilor** – cum sunt **PRP /Proline Rich Proteins/** si **staterinele**.

Este evident ca **multiplicarea *P. gingivalis*** in **placa subgingivala** ocupa o pozitie centrala in dezvoltarea patologiei locale.

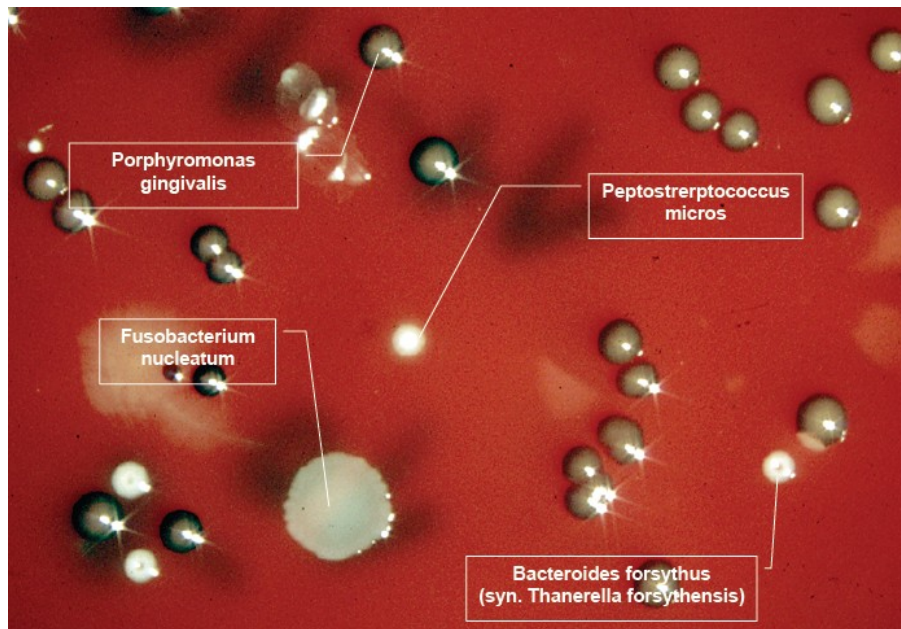


Fig. 128 - Interactiunile intra si interspecii

La **interactiunea celulelor** participa:

- **adezinele** (cu multiple specificitati),
- **fimbriile**,
- **proteinele de suprafata**,
- **lipoproteinele** ce pot exista si in mediul extracelular.

Densitatea celulara mare si diversitatea microbiana, fac din **biofilmul oral**, un **sistem biologic unic**, extrem de complex in care atat **cooperarea** cat si **competitia** – sunt implicate in **maturarea si functionarea acestei comunitati**.

Apropierea fizica dintre **celulele bacteriene** ale acestei **comunitati**, faciliteaza **comunicarea celula-celula**.

In esenta, celulele se fac simtite prin **secretia** si **semnalizarea acumularii de produse metabolic finali** si a **moleculilor de semnalizare**.

Semnalizarea este dependenta de **densitatea populatiilor celulare** (“*quorum sensing*”) care practic este **cheia comunicarii**, implicate in **reglarea genica** – in decursul **dezvoltatii biofilmului**;

Una dintre **moleculele de semnalizare** ale populatiilor celulare este **auto-inducer A (AI-2)** cu *rol deosebit in dezvoltarea comunitatilor multispecii*.

Bacteriile care exista in anumite zone ale cavitatii orale, tind sa interactioneze cu alte bacteria, care se pot izola din aceleasi situsuri anatomice (*de exemplu cele de la nivel lingual coagrega cel mai bine cu alte bacterii, care au tropism pentru aceasta zona*) sugerandu-se o **organizare spatiala tintita in formarea biofilmului oral**;

Pe langa **considerente de timp** ce influenteaza **interactiunea celula-celula**, in cursul **maturarii placii**, **contactul** este influentat si **factorii din mediul inconjurator**.

Faptul ca **interrelatia** este **conditionata** de adaugarea de **zaharuri (lactoza, galactoza)** indica faptul ca exista o **specificitate**, dependenta de **receptorul ligandului**.

Cum s-a aratat anterior, **S. gordonii** este **colonistul initial** al **suprafetelor imbracate in saliva**, acesta putand **coagrega cu Fusobacterium nucleatum (colonist intermediar)**, dar nu cu **A.a.** care este un **colonist tardiv**.

Astfel, **F. nucleatum (fig. 129)**, are un **rol deosebit in coagregare**, putand **interactiona** atat cu **S. gordonii** cat si cu **A.a.**, reprezentand “**puntea**” dintre **cele 2 genuri diferite**.



Fig. 129– Fusobacterium nucleatum

Tot **F. nucleatum** mai are **abilitatea** de a **coagrega** cu alti **colonisti tardivi**, cum este **Treponema forsythia**.

De asemenea s-a aratat ca **in cadrul coagregarii** exista **interactiuni specifice directionate** asupra anumitor **specii**:

- *de exemplu aderenta* lui **P. gingivalis** la **S. gordonii**, implica *o regiune stricta* a unui *polipeptid de suprafata* al streptococului;
- pe de alta parte, **P. gingivalis nu adera de S. mutans** – ceea ce arata ca *diferente aparent nesemnificative in secventa polipeptidelor de suprafata* **nu** permit aceasta interactiune, aparand ipoteza ca **interrelatia celula-celula**, este **foarte specifica**.

Studii clinice arata ca **asocierea dintre P. gingivalis si Treponema denticola (fig. 130)**, – *amandoua bacterii anaerobe* – **induc aparitia de forme severe de boala peiodontala**; dar **T. denticola** poate sa participe **la placa dentara**, doar **daca se ataseaza la P. gingivalis**, care a fost atasata anterior– dovedindu-se **relatia de cooperare si efectul sinergic**.



Fig. 130– Treponema denticola

BOALA PERIODONTALA

Peridontiul este **tesutul de susținere al dinților**, compus din:

- **cementul radacinii**,
- **ligamentul periodontal**,
- **linia osoasă ce mărginește sacul dintelui (osul alveolar)** și
- **partea de gingie dinspre dinte (junctiunea dento-gingivală)**.

Boala periodontală este o infecție cauzată de **placă bacteriană indigenă**; este cauzată de **germeni oportuniști** (o infecție “oportunistă” reflectă “eșecul” mecanismelor de apărare specifică, de exemplu a imunității umorale).

Local există un răspuns imun “dependent de timp” ce mimează istoria naturală a infecției. Acest răspuns include remodelarea țesuturilor de conexiune subjacente, inclusiv la nivel osos.

Din cauza complexității factorilor implicați în apariția bolii periodontale, există câteva ipoteze legate de intercondiționările din cursul formării plăcii specifice:

- între fluidul crevicular și boala periodontală,
- între afectarea polimorfonuclearelor neutrofile și boala periodontală,
- între implicarea neutropeniei (prin dovezi experimentale) funcționalitatea limfocitelor și monocitelor și răspunsul imun secundar.

Bacterii benefice ale peridontiului

Echilibrul gazda-bacterie este dependent de markerii genetici specifici fiecărui individ în asociere cu factorii de mediu.

Ipoteza existenței bacteriilor cu influență benefică, este susținută de dovada că **un țesut periodontal sanatos clinic și funcțional**, are un **conținut înalt de mediatori ai inflamației**, ce joacă un rol cheie atât în apărarea acestui țesut cât și a stării de sănătate a întregului organism.

Dovezi circumstanțiale indică faptul că acești mediatori sunt prezenți, în răspuns la un **consortiu microbial specific** (placă bacteriană) ce există la suprafața dinților.

Cum tratamentul eficient al bolii periodontale este îndepărtarea atât a plăcii bacteriene supragingivale cât și subgingivale, rezultă că bacteriile sunt parte a unui sistem pe care-l identificăm până la un moment dat, ca și **țesut periodontal sanatos**.

S-a dovedit un fapt relativ surprinzător, că bacteriile pot participa chiar și la procesele de dezvoltare a țesutului gazdei.

Oricum aceste observații nu reprezintă cu acuratețe relația bacterie-regn animal.

La **indivizii sanatoși** există **asocieri benefice** de bacterii și în alte situsuri anatomice, de exemplu:

- **intestinul uman** este “ocupat” de aproximativ 400 specii bacteriene, cu impact direct inclusiv asupra morfologiei intestinale; cum bacteriile sunt responsabile de degradarea glicoproteinelor și mucusului, absența lor duce la dilatarea cecului, cu efect asupra motilității tractului intestinal.
- la **nivel vaginal** există un habitat confortabil pentru o serie de bacterii, de exemplu *Lactobacillus*; între gazda și *Lactobacili*, există o relație de pur comensalism: celulele vaginale furnizează glucoza pentru aceste bacterii, la rândul lor *Lactobacili* produc acid, prevenind creșterea multor altor specii bacteriene, ceea ce ar avea efecte negative la acest nivel.

Relațiile de comensalism din organismul uman, au fost subestimate, deoarece:

- s-a crezut că bacteriile comensale sunt “tolerate” de gazda, fără a fi agresive sau fără a interfera în vreun fel cu organismul gazda,
- unele relații au fost privite ca *bilateral benefice* (cum se întâmplă la nivel intestinal și tegumentar - prin ocuparea tuturor receptorilor celulari disponibili) dar oricum în toate aceste relații, bacteriile au fost considerate ca și cum nu ar fi fost participante active în procesele de nutriție și apărare ale gazdei,
- este dificilă studierea mecanismelor de adaptare și supraviețuire bacteriană.

Tocmai pentru a estima corect relația de comensalism, se utilizează tehnici genetice, pentru studierea efectelor moleculare ale bacteriilor comensale în dezvoltarea și maturarea funcțională a țesutului gazda.

Sistemul imun poate promova interacțiuni benefice între bacterii și țesuturile organismului gazda.

Se știe că sistemul imun este capabil să recunoască structurile străine, dar în situații bine definite, trebuie să acceptăm că acesta nu recunoaște bacteriile ca structuri străine, din contra, țesutul gazda poate promova asocierea cu aceste bacterii, care au influențe benefice asupra gazdei.

Sistemul imun înnașcut este caracter de specificitate, având abilitatea de a recunoaște anumite tipuri bacteriene ca neagresive față de care și nu-și va activa mecanismele de clearance.

S-a dovedit ca unele *componente bacteriene* sunt capabile sa induca un *raspuns innascut* – *acizii lipoteicoici*, *LPS* (*endotoxina din peretele celular al bacteriilor Gram negative*), *fimbriile* si *peptidoglicanul*. Initial compusii microbieni ca si *LPS* se leaga de *proteinele de recunoastere* (**LBP/LPS-binding protein/* si ***CD14*) dar acest lucru nu este de ajuns pentru a produce activarea celulelor gazda.

**LBP* este o *proteina de faza acuta* sintetizata la nivel hepatic si concentratia ei poate creste pana la 8 ori in cursul inflamatiei.

Similar ***CD14 salivar (sCD14)* este semnificativ mai crescut *in lichidul crevicular*, comparativ cu nivelul seric, indicand faptul ca acest *receptor de recunoastere* este format *local, in raspuns la placa bacteriana*; se considera ca nivelul crescut de *sCD14* poate avea un *rol protectiv* prin *amplificarea fagocitozei bacteriilor patogene* din placa.

In anumite conditii printr-un *lant de mesaje, semnalul* va fi transmis *intracelular* /via *receptorul pentru IL-1/* cu:

- *sinteza ulterioara de citokine* (pentru o eventuala indepartare a bacteriilor agresoare) sau
- *expresarea moleculelor de adeziune,*

astfel se creeaza un “*dialog*” ce comanda care tip de raspuns al gazdei va fi activat.

Cantitatea diferitelor proteine ale gazdei, disponibile sa interactioneze cu *liganzii microbieni*, influenteaza de asemenea *tipul raspunsului innascut al gazdei* astfel atat *LBP* si *CD14* – sunt influentate de infectia bacteriana.

Un alt *mecanism al gazdei* pentru *recunoasterea* si *diferentierea* intre populatiile bacteriene, este influentat de *modul de legare* (gradul de aderenta) al diferitelor *componente microbiene la receptorii de recunoastere*.

Din aspectele de mai sus, rezulta ca *raspunsul imun innascut* indus de *legarea receptorului de recunoastere la componentele bacteriene*, induce un *proces dinamic inalt coordonat*.

Astfel se explica de ce *schimbarea compozitiei microbiene a placii dentare*, de la *preponderent Gram pozitivi (stare de sanatate)* la *preponderent Gram negativi anaerobi (stare de boala)* are loc in cursul dezvoltarii *gingivitelor* si *periodontitelor*, care vor altera semnificativ *expresia mediatorilor inflamatiei la nivel periodontal*.

Statusul de aparare innascuta a tesutului periodontal sanatos

Examinarea histologica a tesutului periodontal a aratat ca *absenta jonctiunilor stranse intre celulele epiteliului jonctional (EJ)* ofera permeabilitatea tisulara a produsilor bacterieni.

Studii multiple au aratat existenta unui **infiltrat inflamator discret** in **tesutul sanatos clinic**, care se amplifica in conditii inflamatorii (gingivita).

Infiltratul inflamator celular include: **neutrofilele, limfocitele, monocitele**, toate fiind capabile sa raspunda rapid la alterarile barierei epiteliale sau la schimbarile florei locale.

Acest tip de raspuns are o importanta deosebita, atat timp cat **complexul dentar** este **unic**, in sensul ca **tesutul calcifiat** penetreaza epiteliul intr-un mediu nesteril particular.

Astfel, **mecanismele protective** prezente **la jonctiunea epiteliala** pot fi **unice**, cu scopul limitarii patogenilor ce au intentia de a penetra tesuturile mai profunde; aceste mecanisme includ efectele protective ale gazdei, in raspuns la activitatile florei normale.

Raspunsul imun innascut in **tesutul sanatos**, este deosebit de **bine orchestrat**. Studii moleculare ale compozitiei **santurilor periodontale sanatoase** arata o concentrare a **citokinelor proinflamatorii: IL-8 si ICAM-1** (molecula de adeziune) pornind de la marginea placii, pana la tesutul de conexiune profund. Aceste molecule atrag neutrofilele la nivelul epiteliului de jonctiune si pregatesc tesuturile pentru apararea impotriva unei potentiale injurii patogenice.

Celulele endoteliale sunt activate de asemenea de **E-selectine** care servesc la recrutarea continua a celulelor inflamatoare din circulatie, in tesutul periodontal.

Patogenii periodontali au capacitatea de a disrupe dialogul benefic gazda-bacterii. Anumiti patogeni periodontali (cum este *Porfiromonas gingivalis*) sunt adaptate sa traiasca in pungile periodontale, iar **LPS-ul** (din membrana externa) este capabil sa **inhibe E-selectinele** si **IL-8**, putand interfera cu **raspunsul inflamator superficial**.

Acest lucru ajuta bacteria sa nu fie eliminata, prin promovarea si mentinerea unei **inflamatii profunde** ce ofera microorganismelor nutrientii necesari (obtinuti pe baza cresterii volumului fluidului crevicular si a produsilor sanguini din leziunile epiteliale ulcerate); se dovedeste astfel capacitatea lui *Porfiromonas gingivalis* de a fi un **real periopatogen** ce altereaza **raspunsul imun benefic innascut** si **adaptativ**.

Ca un sumar al evenimentelor expuse, se poate spune ca **interactiunea in pungile periodontale**, dintre bacterii si gazda duc la **un status de homeostazie relativa, cu agravari ocazionale ale inflamatiei superficiale** si **pierderea contactului dintre dinte si peridontiu !!!**.

Factorii ce influenteza patologia peridontului

Nivelul actual de intelegere a aparitiei **bolii periodontale (BP)** se datoreaza studierii **factorilor genetici** si ai **factorilor de mediu**.

Gingivitele cronice se observa obisnuit la indivizii cu igiena bucala deficitara (care experimental nu se spala pe dinti, 10 pana la 20 de zile).

Hiperplazia gingivala este o *reactie exagerata* la formarea placii dentare.

Periodontita – in contrast fata de gingivite – este observata doar la o parte a populatiei (10-15%) este variabila si nu afecteaza toti dintii (pe cei pe care ii afecteaza, sunt localizati in situsuri specifice).

Studii epidemiologice recente ale **BP** arata ca doar cativa indivizi din fiecare grup de varsta sufera de *distructie periodontala avansata* si sunt afectate doar *situsuri specifice* fiecaruia.

Unde studiile nu au luat in considerare modificarile in gradul de aderenta, s-a constatat un lucru interesant, ca *doar cateva situsuri (relativ putine ca numar)* sufera o *distructie periodontala extinsa*.

BP este considerata a avea *factori multipli de risc*. Termenul de “*factori de risc*” se refera la un *aspect personal legat de stilul de viata, expunerea la factorii de mediu, caracterelor mostenite*.

Factorii de risc sunt parte a lantului cauzal pentru o anume afectiune; prezenta unuia dintre factorii de risc implica o *crestere directa a probabilitatii de aparitie* a unei boli.

Factorii de mediu pot influenta *tesutul periodontal sanatos* sau *lezionat* si pot “*amprenta*” inflamatia gingivala preexistenta, ducand la un raspuns al gingiilor sau peridontiului, mai agresiv sau mai slab in intensitate.

Diferentele genetice innascute se pot observa dupa:

1. *tipul de acumulare a placii dentare*,
2. posibilitatea *aparitiei secundare a inflamatiei*, care se poate manifesta ca:
 - *gingivita*, care la anumiti subiecti poate continua sa evolueze spre
 - *periodontita*.

Anumite **conditii generale** duc la *cresterea prevalentei, incidentei* si *severitatii gingivitelor* si **BP**. Dintre acestea:

- *diabetul zaharat* in cadrul caruia **BP** este considerata ca una dintre *complicatii*,

- tratamentul cu **Fenitoin** (*anticonvulsivant*) care afecteaza primordial *dintii anteriori*,

- **infecția HIV** care este asociată cu manifestări orale: **gingivita lineară eritematoasă**, **gingivita ulcero-necrotică**, **periodontita severă localizată**, **stomatita severă necrotică distructivă** – ce lezionează **gingia** și **osul**; poate că aceste leziuni nu sunt specifice – dar sunt exacerbate la indivizii imuno-deprimati,
- **stresul emoțional** (monitorizat prin creșterea corticosteroizilor circulatori/măsurati în urină) – crește incidența **gingivitei ulcero-necrotice**,
- **tulburările hematologice** – în funcție de natura afecțiunii:
 - de exemplu în **sindroamele histiocitare** (cu necroze tisulare, pierderi osoase semnificative) în care diagnosticul se pune prin **biopsia țesutului de granulație**,
 - în **deficiențele cantitative ale PMN** care sunt asociate în general cu manifestări **periodontale**, dezvoltând chiar **forme maligne**,
 - în cazul **neutropeniei benigne familiale, cronică ciclică** – dezvoltă leziuni frecvent severe, cu **pungi adânci periodontale** și **extinse**, **pierdere generalizată osoasă** – în perioada **dentitiei definitive**,
 - **formele acute de leucemie**, dezvoltă frecvent leziuni periodontale: **hipertrofie gingivală** din cauza **infiltrării cu celule leucemice** (în **leucemia acută monocitară**, **leucemiile limfatice cronice**),
 - **trombocitopenia** asociată **hemoragiilor gingivale**.
- **afecțiuni genetice**:
 - **sindromul Down** (fig. 131)– însoțit de o **periodontită precoce generalizată** – la prima dentitie și continuă la vârsta adultă; prevalența și severitatea este crescută, iar dinții afectați sunt **incisivii** și **zona molarilor**.

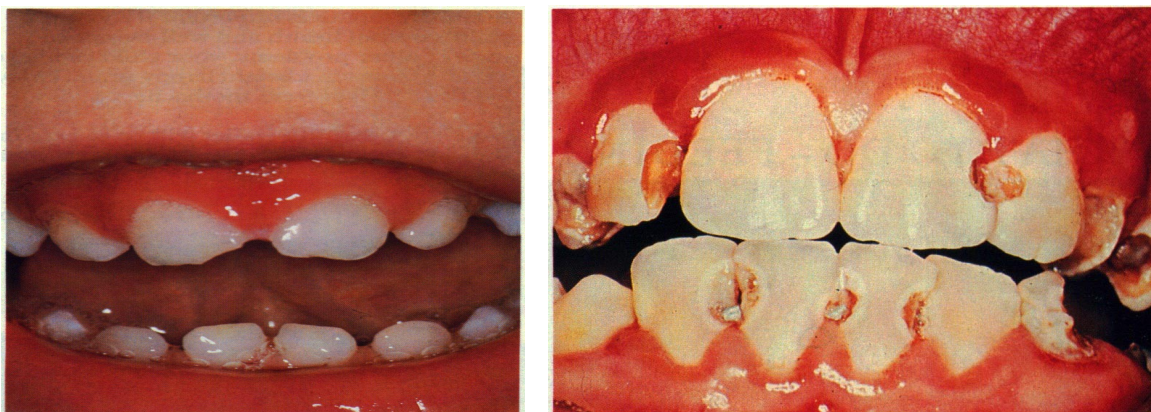


Fig. 131– Gingivita (stanga) și carii dentare (dreapta) la pacienți cu sindrom Down

- **sindromul de deficiență de adeziune leucocitară** (boala autosomal recesivă, cu deficit de receptori de adeziune); există **afectări inflamatorii severe ale periodontului**,

- **granulomatoza cronică** – fagocitele (PMN și monocitele) nu pot fagocita din cauza incapacității de a utiliza calea oxidativă,
- **sindromul Papillon-Lefevre** (fig. 132) – când există leziuni hiperkeratozice tegumentare, cheratoza palmo-plantară și **periodondita generalizată severă**, cu debut la pubertate.



Fig. 132– Eruptia dentară la un pacient cu sindromul Papillon-Lefevre

- **hipofosfatazia** – când există o scădere a fosfatazei alcaline serice, cu **pierdere severă osoasă** și a **dintilor temporari**,
 - **deficiențele calitative ale PMN** – asociate funcției PMN, acompaniate frecvent cu **distrucții ale peridontiului anumitor dinți**, de exemplu în **sindromul Chediak-Higashi** (boala genetică rară) există o **gingivită severă, generalizată**, cu pierdere extinsă osoasă și pierdere prematură a dinților,
 - **sindromul Ehler-Danlos** – cu deficiențe de sinteză de collagen și susceptibilitate crescută la **periodontopatii**.
- **varsta** – prevalența bolii periodontale crește odată cu vârsta:
- unele studii au arătat că **rata distrucției periodontale** este relativ constantă de-a lungul vieții adulte, până la 70 de ani, cu **amprentarea** procesului de către **schimbările hormonale** și a **osteoporozei**.
 - **semnele clinice** sunt exagerate și gingia este mai edematiată și inflamată la indivizii **“furtuni hormonale”**, cum sunt copiii în perioada pubertății și femeile gravide,
 - **fumatul** tinde să reducă inflamația gingivală, probabil datorită **efectului nicotinei** – care induce **vasoconstricție locală**, reducându-se astfel **edemul tisular** și **fluxul fluidului gingival crevicular**.

Forma distructivă a BP este o **consecință a interacțiunii factorilor gazdei** (microorganismele ce colonizează cavitatea bucală) cu factorii **genetici, de mediu, sex, fumat, socio-economic** și anumite **afecțiuni sistemice**.

Studiile clinice au aratat ca *microorganismele* colonizeza rapid suprafata dintilor, cand un individ nu se mai spala pe dinti (o perioada relativ limitata: 10-20 de zile) dupa care **semne clinice** si **microscopice** ale **gingivitei** devin evidente. Modificarile *inflamatorii secundare* pot fi rezolvate cu o *igiena orala corecta*.

Placa dentara este **initiatoarea bolii periodontale**, dar *daca* afecteaza un anumit subiect, forma bolii si progresiunea ei, depind de **mecanismele de aparare ale gazdei**.

Tipul placii (fig. 133) (respectiv tipul microorganismului ce exista la acest nivel) cat si **cantitatea**, pot influenta **crucial** interventia factorilor de mediu.



Fig. 133– Placa dentara

Gingivita (fig. 134) este socotita ca o **conditie premergatoare** dezvoltarii **periodontitei**, astfel *preventia periodontitei* este o *masura primara* pentru **BP**.



Fig. 134– Gingivita

Microorganismele care formeaza placa dentara si cauzeaza gingivite – o fac prin *eliberarea de produsi bacterieni*, ce induc **secundar inflamatie tisulara**.

Studiile clinice au aratat importanta **indepartarii placii bacteriene supra** si **subgingivala**, in **tratarea gingivitelor** si **periodontitelor**.

Este evident ca **patogeneza BP** este foarte complexa si multifactoriala. Specificitatea de localizare si predilectia pentru **BP** si **gingivita**, este probabil in relatie cu *retentia* placilor bacteriene in arii specifice, cum sunt *lucrarile restaurative*, *marginii deficitare ale coroanelor*.

Dintre **microorganismele** implicate **in patologia peridontiului** si considerate ca **factori de risc** se pot mentiona:

- ***Prevotella intermedia*** (fig. 136) (alaturi de hemoragiile gingivale si calculus) a fost corelata cu *pierderea aderentei dintre dinte si peretele alveolar*;



Fig.136 – *Prevotella intermedia* (ME)

- ***Porfiromonas gingivalis*** (fig. 137) si ***Tannerella forsythia*** – sunt asociate cu *risc crescut de pierdere a aderarii* (identificarea lor este utilizata ca o masura a intensitatii BP, in functie de varsta, placa, fumat, diabet).



Fig.137 – *Porphiromonas gingivalis*

Factorii sistemici influenteaza toate *formele de BP*, primordial prin *efectele* ce le induc asupra sistemului imun si apararii anti-inflamatorii: unul dintre exemple, este *reducerea numarului si functiei PMN* (polimorfonuclearelor neutrofile) cu *amplificarea ulterioara a distructiei periodontale*.

PULPA DENTARA SI PATOLOGIA INFECTIOASA

Forma matura a papilei dentare este pulpa dentara, inconjurata de un tesut mineralizat, dentina, care are rol de protectie (fig. 138); fiind un sistem de protectie inextensibil, dentina imprima pulpei dentare o tensiune intratisulara crescuta, trasatura ce amprenteaza patologia pulpara.

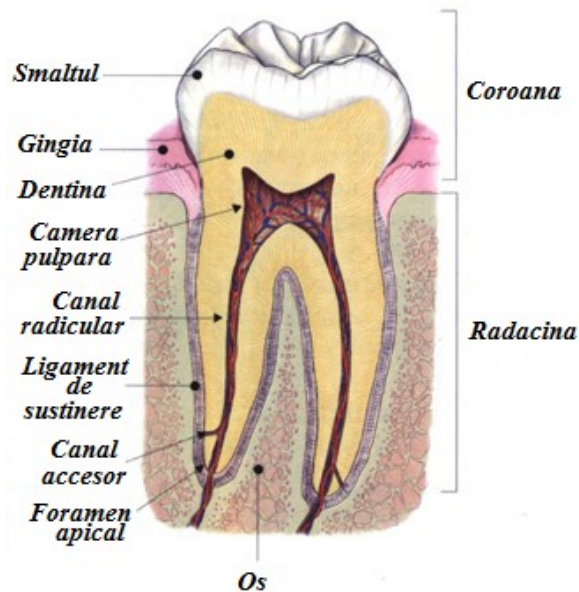


Fig. 138– Secțiune prin dinte

Din cauza *functionalitatii* și *patologiei comune*, acest sistem trebuie considerat ca un **complex pulpodentinar**.

Compartimentul celular

Celulele cu rol defensiv la nivel pulpar sunt reprezentate de **macrofage**, **celule dendritice**, **polimorfonuclearele neutrofile**, **limfocite**, **plasmocitele** și **mastocitele**.

Macrofagele au abilitatea de a fi *mobile* în prezența *stimulilor de tip inflamator*; sunt reprezentate de **histiocit** (macrofagul fix, autohton) și de **celulele monocitare circulante** ce s-au fixat la acest nivel.

Funcțiile macrofagelor, au la baza participarea la:

- fagocitoza și pinocitoza (procesarea și prezentarea antigenului, limfocitelor Th),
- procesul de îndepărtare a detritusurilor tisulare și celulare,
- interacțiunea cu alte celule ce participă la inflamatie,
- sinteza unei varietăți mari de citokine proinflamatorii (de exemplu IL-1).

Celulele dendritice participă alături de macrofage în **procesul de supraveghere imună a pulpei dentare** cu o slabă activitate de tip fagocitar.

Polimorfonuclearele neutrofile își fac prezența doar în condiții de **inflamatie locală**.

Limfocitele sunt prezente cel mai frecvent în **procesele inflamatorii cronice**:

- **limfocitele B** participă la răspunsul imun de tip umoral prin sinteza de anticorpi specifici de către plasmocite (limfocite B activate).
- dintre **limfocitele T**, la nivel pulpar predomină **limfocitele Ts** (supresoare).

Mastocitele (celulele bazofile fixate tisular) se întâlnesc doar în situația unui **proces inflamator cronic**.

Compartimentul extracelular al pulpei dentare

Este alcătuit din **substanța fundamentală**, **fibre de collagen** și **lichid interstital**.

Substanța fundamentală reprezintă un sistem coloidal exercitând un potent efect de apărare cu **limitarea difuziunii microorganismelor**.

Dintre proteoglicanii ce constituie **substanța fundamentală**, cei mai importanți sunt **acidul hialuronic** și **condroitin – sulfatul**.

Orice **agresiune locală** duce la **alterarea substanței fundamentale**, prin **modificări metabolice**, **inhibarea funcțiilor celulare** și **demineralizări neregulate**, cu efecte evidente de **limitare a răspunsului** în caz de **agresiune inflamatorie**.

Dintre **funcțiile substanței fundamentale** se pot menționa:

- implicarea în **constituirea unei bariere locale** împotriva difuziunii microorganismelor și a toxinelor microbiene, în condițiile în care agresorii nu posedă sistem enzimatic de depolimerizare a acidului hialuronic sau a condroitin-sulfatului (de exemplu streptococul beta-hemolitic care sintetizează hialuronidază, favorizează difuziunea microorganismelor),
- asigură **comunicarea** dintre celulele implicate în răspunsul inflamator,
- conține **componente plasmactice** (inclusiv anticorpi implicați în răspunsul imun umoral local),

- asigurarea **homeostaziei organului pulpar** (echilibrul dinamic între depolimerizarea și repolimerizarea substanței fundamentale); gradul de polimerizare a substanței fundamentale sta la baza fiziologiei și implicațiilor fiziopatologice ale acestuia.

Fibrele conjunctive pulpare sunt reprezentate de: **colagen**, **reticulina** și **elastina**.

Colagenul este proteina predominantă în pulpa dentară; în **pulpa dentară** există **tipul I** și **III de colagen**.

Unul din **rolurile fibrelor conjunctive pulpare** este ca **mențin homeostazia locală** prin **flexibilitatea stării de agregare a fibrelor de colagen**.

Prezența **acidozei** sau **colagenazelor** duce la **disocierea fasciculelor fibrelor de colagen** urmată de **depolimerizarea** lor,

Secundar depolimerizării:

- se asigură o cale directă de acces a celulelor fagocitare spre situsul inflamator (**efect benefic**),
- crește infiltrația seroasă, fiind o barieră împotriva atragerii fibroblastilor spre focarul inflamator (**efect defavorabil**).

Lichidul interstitial este un transudat plasmatic cu compoziție asemănătoare plasmei, iar principala sursă a lichidului interstitial sunt capilarele.

Presiunea intrapulpara (dependentă de presiunea lichidului interstitial) prezintă variații în diferite circumstanțe:

- **fiziologice** (practic la fiecare sistolă),
- **patologice** – în situații asociate cu inflamatie locală.

Circulația pulpara

Asigură **comunicarea pulpei dentare** cu restul sistemului circulator, la nivelul **foramenului apical**.

Pulpa dentară este un organ intens vascularizat, cu **rol** în **adaptarea fluxului sanguin pulpar** în funcție de:

- existența **zonelor de sinteză intensă** (zonele de dentinogeneza) sau
- **raspunsul defensiv** (faza inflamatiei locale reversibile).

Venulele limfatice pulpare au **rol antiinflamator** (drenarea produsilor toxici) și de **vindecare a țesutului pulpar** în **etapa inflamatiei reversibile**.

La nivelul **pulpei dentare** există o **inervatie** extrem de bogată, unele dintre **neuropeptide**, cum este **substanța P**, este considerată agent al **inflamatiei neurogene**, ce induce sinteza de **histamina**, **bradikinina** și **prostaglandine**.

Inflamatiia pulpara (pulpita)

Inflamatiia pulpara poate fi privita ca si **totalitatea reactiilor locale** (legate de functia si structura pulpei dentare inflamate) cu scopul de a compensa si restabili tesutul pulpar.

Integritatea peretilor duri care acopera pulpa, reprezinta o **bariera eficienta** impotriva agentilor patogeni; orice **uzura exagerata** (inclusiv manevre de slefuire in conditii tehnice incorecte) **dezechilibre functionale** si **morfologice**, induce **alterari locale** cu favorizarea efectelor diverselor noxe externe.

Cresterea patologica a presiunii intrapulpare (mai mare de 10 mmHg) induce tulburari functionale locale (autoagresiune impotriva tuturor structurilor pulpare) ce vor amplifica reactiile inflamatorii locale.

Schimburile intre **mediul bucal** si **camera pulpara** au loc pe 2 cai:

- primordial prin **foramenul apical** dar si
- prin **canaliculele dentare**.

Dintre **functiile organului pulpar** se pot mentiona:

1. formarea **dentinei primare** (structurata inca din **perioada preeruptiva**),
2. formarea **dentinei secundare** (ce se formeaza **post-eruptie dentara**),
3. formarea **dentinei tertiare** (prin reactia pulpara consecutiva unor **stimuli patogeni**: de exemplu in cursul **proceselor carioase**),
4. **remineralizarea matricei dentinare**, secundar leziunilor carioase demineralizante,
5. **labilitatea structurii celulare pulpare** care in prezenta inflamatiei permite, transformarea fibroblastului in histiocit (celula fagocitara a acestei structuri),
6. modificarile in consistenta substantei fundamentale in conditii de inflamatie, facilitand **difuzibilitatea procesului inflamator**,
7. asigura un **pH-ul alcalin** (datorat fosfatilor si carbonatilor locali si favorizeaza tamponarea mediului in conditii de inflamatie locala; daca mecanismele de aparare locala sunt depasite, capacitatea locala de neutralizare este afectata, in timp:
 - se epuizeaza mecanismele de mentinere a unui pH alcalin,
 - se dezvolta un pH-ul acid cu efecte nefavorabile asupra pulpei dentare:
 - favorizarea depolimerizarii mucopolizaharidelor,
 - cresterea permeabilitatii locale,
 - degradarea tisulara si celulara cu dezvoltarea colectiei purulente, cu incetinirea formarii de dentina de reactie.

Dintre multiplele **etiologii ale pulpitelor, inflamatiia** ocupa un **rol central**.

Cel mai frecvent, **inflamația locală** se datorează **agresiunii microbiene**, care poate acționa fie:

- **direct** (prin patrunderea agresorului în pulpa dentară) sau
- **indirect** (ca rezultat al patrunderii intracanaliculare a produsilor sintetizați de către microorganisme, de exemplu a exotoxinelor).

Evoluția pulpitei este fie:

- **favorabilă**, spre vindecare cu **restitutio ad integrum** (când inflamația este reversibilă cu intervenție terapeutică în timp util) sau
- **nefavorabilă** (pană la necroza locală).

Evoluția procesului inflamator este condiționată de **gradul de virulență a agresorului** și de **capacitatea de apărare locală a țesutului agresat**.

Intervalul de timp scurs din momentul agresiunii până la apariția primelor simptome de inflamație locală (până la 14 ore) a fost denumită **“tăcerea fiziopatologică”**.

Chiar dacă din punct de vedere **clinic** este o perioadă **“mută”**, ea este **foarte activă la nivel celular și subcelular**, în ceea ce privește **reacțiile locale** de tip: **biochimic** și de **apărare locală** (sinteza de citokine proinflamatorii, aflux de celule fagocitare din circulația sanguină etc).

În urma unor studii extrem de complexe, s-a stabilit chiar **o ordine de intrare “în scenă” a mecanismelor de apărare locală**:

1. **activarea unei kinaze** ce aparține fibroblastilor,
2. **formarea intracelulară de polipeptide toxice** ce vor activa **vasodilatația locală**,
3. **intervenția altor mediatori ai inflamației: exudina, leucotaxina, histamina**, participând la **amplificarea hiperemiei locale** (vasodilatație cu aflux de citokine proinflamatorii și fagocite circulante).

Dacă în această etapă se intervine terapeutic eficient, vindecarea poate avea loc cu **“restitutio ad integrum”** cu **restabilirea echilibrului funcțional**.

Dacă **starea de vasodilatație locală persistă**, va apărea **procesul de marginatie leucocitară**, cu scăderea tensiunii O_2 la acest nivel, secundar **hipoxia** va accentua **vasodilatația locală**.

Acest lucru va duce în continuare la **extravazarea plasmelor** (cu conținut bogat în fibrină, și globuline); **creșterea volumului fluidului local** mai participă și la **depolimerizarea substanței fundamentale**.

Odată cu **diapedeza leucocitară**, **infiltratul seros** se transformă într-un **infiltrat sero-celular**, cu dezvoltarea unei **pulpite purulente**, care fără intervenție terapeutică corectă va duce la apariția **gangrenei pulpare**.

Ca **raspuns** la **agresiunea locala**, **pulpa dentara** isi intensifica procesele metabolice celulare, cu cresterea secundara a consumului de O_2 , **ciclul Krebs** este blocat la nivelul producerii de **acid piruvic** si **lactic**, cu **acumularea** lor la nivel **pulpar**.

Consecinta acestor evenimente este **scaderea pH-ului pulpar**, care odata cu epuizarea mecanismelor locale de compensare, va favoriza **depolimerizarea acidului hialunoric** si **acidului condroitinsulfuric** din **substanta fundamentala**.

Gangrena pulpara reprezinta **mortificarea aseptica** sau **septica a pulpei dentare**; in cazul **etiologiei microbiene**, cel mai frecvent implicati sunt:

- *enterococii* (*S. faecalis*),
- *stafilococul alb*,
- *lactobacili*,
- *candida albicans* (fig. 139).

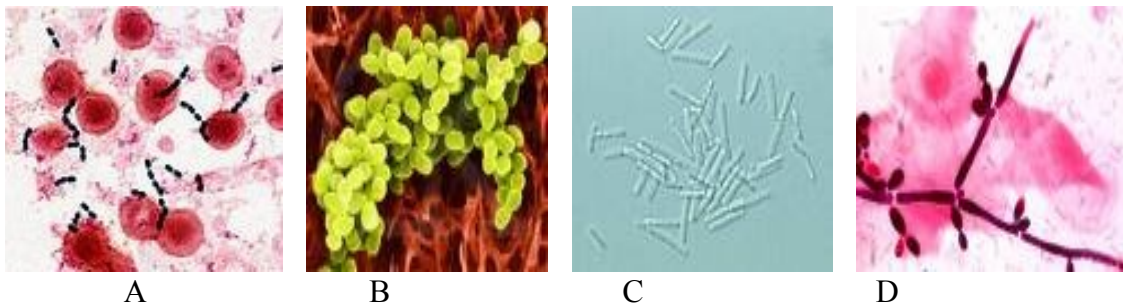


Fig. 139- *Enterococii* (A), *stafilococul alb* (B), *lactobacilii* (C), *Candida albicans* (D)

Patologia carioasa

Cariile reprezintă **disolutia localizată a smaltului (demineralizare)** prin **producerea de acid** – în mod special prin **catabolismul carbohidraților din alimente (în cursul metabolismului bacteriilor din placa dentară)** (fig. 140).

Funcția de tamponare a salivei este dependentă de valoarea **pH-ului plăcii** (care în condiții fiziologice este neutru).



Fig.140 – Cariii dentare

În condiții de **scădere a pH-ului local**, din cauza **productiei locale de acid** (mai ales de acid lactic) ***Lactobacilli* acido-toleranți** și ***S. mutans*** sunt favorizați de acest mediu.

Etapile inițiale de dezvoltare a cariilor sunt **reversibile** și **remineralizarea** poate apărea în special **în prezența fluorurilor**.

La vârsta mai înaintată **regresia gingiilor** pot expune radacina, la atacul carios. Incidența crește prin consum excesiv de sucroză.

Toate procedurile preventive, restaurative și protetice – influențează dezvoltarea cariilor.

Diferențele în funcțiile salivare pot influența **cantitatea și compoziția streptococilor în biofilmele orale**.

Gazda sanatoasă este protejată **împotriva degradării carioase** prin 3 mecanisme:

1. **acțiunea de curățare a limbii și mucoaselor bucale;**
2. **efectul tampon al salivei** – al cărei pH neutru spală bacteriile și acizii și furnizează substraturile esențiale pentru remineralizarea și repararea leziunilor suprafețelor dentare;
3. **efectul protector al unui înveliș acelular**, de **origine salivară** care acționează ca și o barieră la atacul acid din alimente și bacterii.

Alte mecanisme de aparare includ:

- *flora rezisenta normala,*
- *descuamarea celulara de suprafata,*
- *lizoenzimele salivare,*
- *lactoferina,*
- *lactoperoxidaze.*

Gingivitele si stomatitele

Sunt afectiuni inflamatorii, care afecteaza intr-un procent mare populatia, chiar de la varsta tanara.

Epiteliul jonctional (EJ) in virtutea *structurii si functiei unice*, ofera ***o bariera eficienta*** impotriva ***patogenilor periodontali bacterieni*** si a ***produsilor*** lor.

Oricum, ***patogenii periodontali*** (in special ***P.gingivalis***) pot altera integritatea lui, permitand ***raspandirea subgingivala*** a bacteriilor si a ***antigenelor*** lor.

Reactia inflamatorie duce la ***degradarea tesutului de conexiune***, intai *in jurul vaselor sanguine* si apoi *in regiunile adiacente*, ducand la ***dezintegrarea functiei si structurii gingiilor***.

Una dintre modificarile din ***boala periodontala (BP)*** este ***migrarea epiteliului jonctional*** de-a lungul suprafetei radacinii, ducand la formarea:

- unui ***epiteliu jonctional alungit*** si
- a ***pungii gingivale***.

Alterarea structurala este insotita de numeroase ***tulburari functionale***, in primul rand ***directia de migrare a neutrofilelor si a fluxului exudatului crevicular transepitelial*** se schimba drastic. Acest fenomen se datoreaza faptului ca suprafata libera a epiteliului, este acum detasata de la baza sacului (*in relatia cu suprafata radacinii dintelui*).

De asemenea, ***suprafata libera dentara*** creste in dimensiune, fiind astfel ***mai mult expusa la placa bacteriana***.

Cand se instaleaza ***gingivita*** (fig. 141), ***tesutul de conexiune de vecinatate a epiteliului de jonctiune*** este ***constant alterat*** de catre ***raspunsul inflamator***.

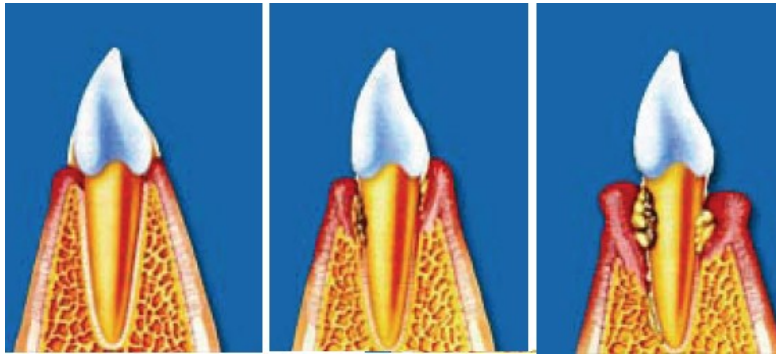


Fig. 141– Evolutia gingivitei

Bacteriile cauzeaza *leziuni tisulare* printr-un *mecanism indirect*, de *exacerbare a raspunsului imun al gazdei*.

Rolul fluidului crevicular

Fluidul crevicular este un *exudat* ce *variaza in compozitie*, se gaseste *in pungile* si *santurile periodontale, intre dinti si gingia marginala*.

Contine :

- componente serice,
- celule inflamatoare,
- tesut conectiv,
- epiteliu,
- flora bacteriana ce traieste pe marginea gingivala sau in santul gingival;

In santul gingival sanatos, fluidul crevicular exista in cantitate foarte mica.

In cursul *inflamatiei*, volumul *fluidul crevicular* creste si *compozitia* lui incepe sa semene cu a unui *exudat inflamator*; *cresterea fluxului* contribuie la spalarea:

- *coloniilor bacteriene* si
- *a metolitolilor lor din santuri*

astfel *restrictionand penetrarea lor* la nivel *local*.

Ruta de difuziune a fluxului crevicular este *prin membrana bazala externa* apoi *prin spatiile intercelulare largi ale EJ* (cu *grosime variabila*) intr-un final ajunge *in santurile gingivale*.

Schimbarile din compozitia fluidului crevicular se datoreaza fie:

- *bacteriilor*,

- *metabolitilor/enzimelor sau*
- *reactiilor de tip inflamator, ce par a fi mai intense la nivelul **EJ coronar**.*

Agentii bacterieni ce exista *in fluidul crevicular* si sunt *implicati in BP* sunt:

- *endotoxinele,*
- *H₂S,*
- *acidul butiric,*
- *acidul propionic,*
- *colagenaza bacteriana si*
- *alte proteaze (hialuronidaza, neuraminidaza etc).*

Factorii gazdei asociati inflamatiei sunt:

- *proteinele sistemului Complement,*
- *prostaglandinele,*
- *diferite citokine,*
- *enzime intra-celulare,*
- *produsi de degradare celulara,*
- *lactat dehidrogenaza,*
- *poliamine,*
- *peptide colagenice.*

Tot aici exista **agentii antimicrobieni** si **enzimele derivate din leucocite** – cum sunt :

- *lizozomii,*
- *fosfataza alcalina,*
- *β-glicuronidaza,*
- *catepsina D,*
- *elastaza,*
- *colagenaza,*
- *lactoferina,*
- *osteonectina si*
- *fibronectina.*

Moleculele biologice active pe care le contine *fluidul crevicular*, au un potential crescut de *influentare a cresterii EJ*, la fel ca si *bacteriile orale*, amandoua fiind *in competitie* pentru *suprafetele dentare la nivelul interfetei dento-gingivale*.

BIBLIOGRAFIE

<http://pathmicro.med.sc.edu/book/immunol-sta.htm>
<http://image.bloodline.net/category>
<http://www.microbiologybytes.com/iandi/index.html>
<http://www-immuno.path.cam.ac.uk/~immuno/part1.html>
<http://www.bio.davidson.edu/courses/movies.html>
<http://www.bio.davidson.edu/courses/Immunology/bio307.html>
www.daviddarling.info/.../B/bacteria.html
www.peteducation.com/article.cfm?cls=16&cat=1...
www.peteducation.com/article.cfm?cls=16&cat=1...
www2.kenyon.edu/.../Chap01/Chapter_01a.html
www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/genmicr.htm
focosi.altervista.org/physiobacteria.html
www.bmb.leeds.ac.uk/mbiology/ug/ugteach/newde...
www.biotopics.co.uk/edexcel/bacter.html
www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch005.htm
www.sci.sdsu.edu/.../conjugation-mech.html
library.thinkquest.org/.../DNA.htm
www.answersingenesis.org/tj/v13/i1/viruses.asp
www.bmb.leeds.ac.uk/.../bacterialinfect06.html
web.indstate.edu/thcme/micro/bactGen/Bacgenet.htm
www.nonoil.com/bio/engineering/chapt2.htm
www.ratsteachmicro.com/Bacterial_Genetics/HCO...
www.merck.com/mmpe/sec13/ch163/ch163d.html
www.venomsupplies.com/universalantivenom/immu...
www.devicelink.com/mddi/archive/98/05/024.html

home.earthlink.net/~dayvdanls/Immune_lecture.html
www.tjclarkdirect.com/bacterial_diseases/stre...
www.biotox.cz/.../clostridium_tetani.htm
lastovka.wordpress.com/2006/12/15/f99/
pl.wikipedia.org/wiki/T%C4%99%C5%BCec
www.thaisnews.com/prdnews/leptospirosis/
www.cartage.org.lb/.../GeneralProperties.htm
www.thepigsite.com/pighealth/article/80/antib...
webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.as...
medinfo.ufl.edu/.../bms5300/bugs/staepid.html
www.j-archive.com/showgame.php?game_id=1080
www.unis.org/UNIScienceNet/IBHbio2_knowledge.html
universitas.usal.es/.../Demo1/shigella.html
[http://images.google.com/imgres?imgurl=http://ic.ucsc.edu/~wxcheng/envs23/lecture8/F
G05_02.JPG&imgrefurl=http://ro.wikipedia.org/wiki/Procariot&h=1200&w=1447&sz=2
86&hl=en&start=2&tbnid=oB94U9Biq4qgpM:&tbnh=124&tbnw=150&prev=/images%3
Fq%3Dstructura%2Bcelulei%2Bbacteriene%26gbv%3D2%26svnum%3D10%26hl%3De
n%26sa%3DG](http://images.google.com/imgres?imgurl=http://ic.ucsc.edu/~wxcheng/envs23/lecture8/F
G05_02.JPG&imgrefurl=http://ro.wikipedia.org/wiki/Procariot&h=1200&w=1447&sz=2
86&hl=en&start=2&tbnid=oB94U9Biq4qgpM:&tbnh=124&tbnw=150&prev=/images%3
Fq%3Dstructura%2Bcelulei%2Bbacteriene%26gbv%3D2%26svnum%3D10%26hl%3De
n%26sa%3DG)
www.asnom.org/en/443_amibiase.html
<http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/intest-protozoa.htm>
www.cvm.okstate.edu/.../clinpara/lst11_20.htm
www.istanbulsaglik.gov.tr
www.microbewiki.kenyon.edu
www.case.edu