



UNIVERSITATEA  
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

Diana Uțu  
Alina Jojić  
Mirela Voicu  
Sergio Liga



# MICROBIOLOGIE GENERALĂ

Sintează de curs

MANUALE

Editura „Victor Babeș”  
Timișoara, 2024

**Editura „Victor Babeș”**

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

Tel./ Fax 0256 495 210

e-mail: [evb@umft.ro](mailto:evb@umft.ro)

[www.umft.ro/editura](http://www.umft.ro/editura)

**Director general: Prof. univ. emerit dr. DAN V. POENARU**

**Colecția: MANUALE**

**Coordonator colecție: Prof. univ. dr. CODRUȚA ȘOICA**

**Prof. univ. dr. DANIEL LIGHEZAN**

**Referent științific: Prof. univ. dr. CODRUȚA ȘOICA**

© 2024 Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate.

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

**ISBN 978-606-786-377-2**

# CUPRINS

<b>1. INTRODUCERE ÎN MICROBIOLOGIE .....</b>	<b>5</b>
1.1. DEFINIȚIE.....	5
1.2. ISTORICUL MICROBIOLOGIEI .....	6
1.3. SUBDIVIZIUNILE MICROBIOLOGIEI.....	9
<b>2. ORGANIZAREA MORFOLOGICĂ ȘI STRUCTURALĂ A BACTERIILOR .....</b>	<b>12</b>
2.1. ÎNCADRARE TAXONOMICĂ – CLASIFICARE .....	12
2.2. STRUCTURA CELULEI MICROORGANISMELOR.....	13
2.3. MORFOLOGIA CELULEI BACTERIENE .....	17
2.4. STRUCTURA CELULEI BACTERIENE.....	20
<b>3. FIZIOLOGIA BACTERIANĂ.....</b>	<b>41</b>
3.1. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A BACTERIILOR .....	41
3.2. NUTRIȚIA BACTERIANĂ.....	42
3.2.1. Cerințele nutritive ale bacteriilor cu importanță medicală .....	43
3.3. METABOLISMUL BACTERIILOR .....	44
3.4. CREȘTEREA ȘI ÎNMULȚIREA BACTERIILOR.....	51
3.5. EVOLUȚIA ȘI MULTIPLICAREA BACTERIILOR ÎNTR-UN MEDIU CU RESURSE LIMITATE.....	52
3.6. CULTIVAREA BACTERIILOR .....	56
3.7. CONDIȚII GENERALE PENTRU CULTIVAREA BACTERIILOR.....	57
<b>4. GENETICĂ BACTERIANĂ ȘI REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ.....</b>	<b>61</b>
4.1. EREDITATEA ȘI VARIABILITATEA .....	62
4.2. PLASMIDELE .....	63
4.2.1. Clasificarea plasmidelor .....	63
4.3. TRANSFERUL DE GENE LA BACTERII.....	68
4.4. REZISTENȚA ANTIMICROBIANĂ.....	77
<b>5. RELAȚIA MICROORGANISMELOR CU GAZDA UMANĂ.....</b>	<b>79</b>
5.1. FLORA NORMALĂ A ORGANISMULUI .....	80
5.2. PATOGENITATEA MICROORGANISMELOR.....	84

5.2.1. Patogeneza .....	84
5.2.2. Virulența .....	85
5.2.3. Aderența la suprafețele corpului și multiplicarea microorganismelor .....	85
5.3. TOXINOGENEZA .....	87
5.3.1. Endotoxine .....	87
5.3.2. Exotoxine .....	88
<b>6. INFECȚIA.....</b>	<b>90</b>
6.1. EPIDEMIOLOGIA DE BAZĂ A INFECȚIILOR .....	91
6.2. MODUL DE TRANSMITERE A INFECȚIILOR .....	93
6.3. PROFILAXIA APLICATĂ BOLILOR INFECȚIOASE .....	99
6.4. IMUNOPROFILAXIE (VACCINURILE).....	99
6.5. TIPURI DE IMUNIZARE .....	104
<b>7. ANTIBIOTICE ȘI CHIMIOTERAPICE ANTIINFECȚIOASE .</b>	<b>111</b>
7.1. SCURT ISTORIC .....	111
7.2. PROPRIETĂȚI GENERALE ALE ANTIBACTERIENELOR.....	112
7.2.1. Spectrul de acțiune.....	112
7.2.2. Efect antibacterian .....	112
7.3. CLASE DE ANTIBACTERIENE.....	116
7.3.1. Antibacteriene responsabile de inhibarea biosintezei peretelui celular bacterian.....	116
7.3.2. Antibacteriene responsabile de inhibarea biosintezei proteinelor.....	119
7.3.3. Antibacteriene responsabile de inhibarea funcției membranare bacteriale.....	121
7.3.4. Antibacteriene responsabile de inhibarea sintezei de acid nucleic bacterian.....	121
7.3.5. Antibacteriene de tip antimetaboliți.....	122
7.3.6. Antibacteriene responsabile de inhibarea ATP-micobacterian sintază .....	123
<b>8. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ .....</b>	<b>124</b>

# 1. INTRODUCERE ÎN MICROBIOLOGIE

## 1.1. DEFINIȚIE

Microbiologia este o știință fundamentală care se ocupă cu studiul microorganismelor, fiind formată din termenii "micros" (mic), "bios" (viață) și "logos" (știință).

Această disciplină se concentrează pe studiul microorganismelor de dimensiuni foarte mici ce nu pot fi observate cu ochiul liber. Aceste organisme devin vizibile doar cu ajutorul aparatelor optice capabile să mărească obiectele examinate de zeci, sute, mii sau chiar zeci și sute de mii de ori. Astfel, microbiologia explorează lumea microscopică a acestor organisme, permițând înțelegerea aspectelor lor morfologice, fiziologice, genetice și evolutive. De asemenea, microbiologia are un rol crucial în studiul interacțiunilor microorganismelor cu mediul înconjurător și cu organismele gazdă, inclusiv implicațiile lor în domeniul produselor alimentare și în sănătatea umană.

În absența descoperirii instrumentului optic numit microscop, lumea vastă și diversă a microorganismelor ar fi rămas necunoscută.

Descoperirea și dezvoltarea microscopului au reprezentat un moment de cotitură în istoria științei. Prin utilizarea acestui instrument, cercetătorii au putut vizualiza și studia detaliile ale structurilor și organismelor prea mici pentru a fi observate cu ochiul liber. Acest pas important în dezvoltarea tehnologiei a deschis uși către o nouă înțelegere a vieții microscopice care populează mediul înconjurător și chiar corpul uman.

Microorganismele reprezintă o gamă diversificată de forme de viață extrem de mici, care includ algele, fungi (ciuperci), bacteriile, virusurile, virozii și prionii.

Din datele pe care le avem în prezent, se consideră că microorganismele sunt cele mai vechi, numeroase și diversificate forme de viață de pe Pământ.

Apariția vieții pe Pământ este estimată la aproximativ 3 - 4 miliarde de ani în urmă, însă studiile au demonstrat că unele forme de microorganisme, cum ar fi bacteriile metanogene sau clostridiile, au existat cu cel puțin 2 miliarde de ani în urmă. Aceste descoperiri demonstrează că microorganismele au supraviețuit și au evoluat pe parcursul a miliarde de ani,

adaptându-se la diverse condiții de mediu și jucând un rol crucial în modelarea și menținerea ecosistemelor de-a lungul timpului., importanța lor în funcționarea planetară și în suportul vieții fiind imensă.

Există sute de mii de specii care sunt studiate în domeniul microbiologiei și acestea sunt răspândite în toate cele cinci regnuri ale vieții: Monera, Protista, Fungi (Micetalia), Plantae (Vegetalia) și Animalia.

Microorganismele se găsesc în mod natural în mediul înconjurător, inclusiv în aer, apă, sol, alimente, în corpul oamenilor, animalelor și plantelor.

Majoritatea acestor microorganisme sunt inofensive pentru organismul uman și în unele cazuri pot fi chiar benefice. Oamenii folosesc microorganismele în mod controlat în diferite scopuri practice.

Cu toate acestea, există și un număr limitat de microorganisme care pot cauza boli, fiind denumite patogene. Potrivit diferiților autori și echipamente de diagnostic, se estimează că există aproximativ 720 până la 1.200 de specii patogene care pot provoca infecții la oameni sau animale, unele dintre aceste infecții putând fi foarte grave.

## 1.2. ISTORICUL MICROBIOLOGIEI

**Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)** este considerat pionierul în descoperirea lumii invizibile a microorganismelor. El a fost primul care a observat și a descris cu ajutorul unui microscop simplu, cu o singură lentilă de construcție proprie, "animaculele" (organisme foarte mici și mobile) din diferite medii, precum apa de ploaie, tartrul dentar și apele din canalele de scurgere.

Leeuwenhoek a realizat desene detaliate ale acestor "animacule" și a fost martorul primelor observații asupra unor forme de viață microscopice precum bacteriile, drojdiile și protozoarele, fără să le acorde însă statutul de organisme, deoarece în acea perioadă conceptul modern de microorganisme nu exista încă.

Lucrările și observațiile lui Antonie van Leeuwenhoek au deschis uși către înțelegerea lumii microscopice și au constituit o piatră de temelie în dezvoltarea ulterioară a microbiologiei și a științelor biologice.

**Robert Hooke** a fost un important savant englez care a jucat un rol esențial în istoria biologiei descoperind celula în 1665. El a realizat studii

detaliat folosind microscopul și a observat structura unor materiale, inclusiv a unor bucăți subțiri de cortice vegetală.

Deși Hooke a observat celule vegetale moarte, contribuția sa a reprezentat un moment crucial în istoria biologiei, marcând începutul teoriei celulare. Această teorie a fost consolidată și dezvoltată ulterior de alți mari savanți, cum ar fi **Matthias Schleiden** și **Theodor Schwann**, care au demonstrat că celula reprezintă unitatea fundamentală a vieții și că toate organismele sunt alcătuite din celule.

**Louis Pasteur (1822-1895)**, chimist, biolog și imunolog francez, este considerat unul dintre fondatorii științelor microbiologice și este recunoscut ca geniul microbiologiei. El a adus numeroase contribuții majore în acest domeniu, schimbând fundamental percepția asupra fermentațiilor și a rolului microorganismelor în procesele biologice.

Una dintre cele mai importante realizări ale lui Pasteur a fost demonstrarea că fermentațiile, considerate anterior ca fiind procese pur chimice, sunt de fapt procese biologice determinate de acțiunea microorganismelor, în special a celor anaerobe. Acest lucru a constituit un pas major în înțelegerea rolului microorganismelor în procesele de fermentație și a contribuit la stabilirea conceptului că activitatea unui microorganism poate influența modificările fizico-chimice ale materiei organice.

Pe lângă cercetările sale în domeniul fermentațiilor, Pasteur a evidențiat, de asemenea, natura infecțioasă a unor boli ale vinului și berii. Pentru a combate aceste probleme, el a imaginat procedeul de încălzire blândă - **pasteurizarea** - care a fost ulterior aplicat în industria laptelui și a devenit un procedeu de sterilizare în domeniul medical.

**Alexander Fleming (1881-1955)** a deschis o eră importantă în medicină și biologie prin descoperirea penicilinei, primul antibiotic din istorie. În 1929, el a observat că unele culturi ale mușgaiului *Penicillium* produc o substanță antimicrobiană specifică, numită **penicilină**. Această descoperire a fost un moment revoluționar, deoarece penicilina a devenit primul tratament eficient împotriva infecțiilor bacteriene.

Ulterior, penicilina a fost purificată și dezvoltată ca medicament terapeutic de către **Ernst Boris Chain** și **Howard Florey** în anul 1940. Eforturile lor au dus la obținerea unui produs stabil, atoxic pentru om și animale, care a prezentat o activitate eficientă în tratarea unor specii de microorganisme, salvând milioane de vieți și revoluționând practica medicală.

În anul 1944, **Selman Waksman** a descoperit **streptomicina**, un alt antibiotic important, produs de diverse specii de actinomicete. Această descoperire a deschis calea pentru obținerea de noi antibiotice și a fost deosebit de valoroasă în tratarea unor infecții severe, inclusiv a tuberculozei.

În România, doi savanți de renume mondial, **Victor Babeș** și **Ioan Cantacuzino**, au contribuit semnificativ la fondarea microbiologiei moderne.

**Victor Babeș (1854-1926)** a fost un medic, bacteriolog și anatomo-patolog român cu contribuții remarcabile în domeniul microbiologiei. A lucrat inițial în laboratorul lui Louis Pasteur din Paris, iar apoi în laboratorul lui Robert Koch din Germania. Prin aceste experiențe, și-a însușit tehnicile microbiologice de top și a adus aceste cunoștințe în România.

Victor Babeș a jucat un rol esențial în dezvoltarea microbiologiei medicale în țara sa. El a abordat studiul interacțiunii dintre microorganisme și gazdă, concentrându-se pe investigarea bolilor infecțioase și a modului în care microorganismele afectează organismul uman. Lucrările sale au avut o influență semnificativă asupra medicinei și înțelegerii mecanismelor infecțiilor.

**Ioan Cantacuzino (1863-1934)** a fost un medic român, bacteriolog și imunolog, considerat unul dintre fondatorii imunologiei moderne. A studiat în Franța și Germania, aprofundându-și cunoștințele în domeniul microbiologiei și al imunologiei.

A desfășurat cercetări importante în domeniul bacteriologiei și a adus contribuții semnificative în combaterea bolilor infecțioase, a fost implicat în cercetarea vaccinării împotriva holerei și a tifosului exantematic, precum și în studiul difteriei și tetanosului. Lucrările sale au avut un impact profund în domeniul sănătății publice și au contribuit la dezvoltarea medicinei preventive în România.



### 1.3. SUBDIVIZIUNILE MICROBIOLOGIEI

În prezent, microbiologia s-a dezvoltat semnificativ prin extinderea domeniului său și prin crearea unor noi discipline, cum ar fi imunologia, biochimia bacteriană, citologia și genetica microbiană. Acestea au permis realizarea unor studii fundamentale valoroase referitoare la ereditatea și variabilitatea microorganismelor, cu implicații semnificative în practica medicală, cum ar fi dezvoltarea de noi vaccinuri.

De asemenea, noile industrii biotehnologice, bazate pe procese fermentative, în special cele care se concentrează pe producția de antibiotice, vitamine și alte medicamente de origine microbiană, au devenit esențiale pentru industria farmaceutică. Microbiologia se intersectează cu domenii precum biologia, medicina, farmacia, industria, agronomia și zootehnia, având un domeniu de aplicare vast și numeroase aplicații practice în fiecare dintre aceste sectoare.

**Microbiologia medicală** se concentrează asupra studiului microorganismelor care cauzează infecții la oameni, fie la nivel local, fie în întregul organism, contribuind la dezvoltarea bolilor infecțioase transmisibile. Această disciplină este extrem de complexă și include mai multe subdiviziuni, printre care se numără:

- **bacteriologia** - care se ocupă cu studiul bacteriilor.
- **virologia** - care se concentrează pe studiul virusurilor.
- **micologia** - care se axează pe cercetarea ciupercilor inferioare.
- **protozoologia** - care se ocupă de studiul protozoarelor.

Aceasta este, de asemenea, o ramură a parazitologiei, care se concentrează pe studiul paraziților care pot infecta organismul uman.

Aceste subdiviziuni ale microbiologiei medicale sunt cruciale pentru înțelegerea și combaterea bolilor infecțioase și pentru dezvoltarea de metode de diagnostic și tratament adecvate.

**Microbiologia veterinară** este o ramură a microbiologiei care se concentrează asupra studiului microorganismelor, inclusiv bacterii, viruși, ciuperci inferioare și protozoare, care pot provoca boli și infecții în rândul speciilor animale domestice și sălbatice. Această disciplină include aceleași subdiviziuni ca și microbiologia medicală, dar se axează în special pe microorganismele patogene care afectează diverse specii de animale.

Astfel, microbiologia veterinară cuprinde bacteriologia veterinară (studierea bacteriilor), virologia veterinară (studierea virusurilor), micologia veterinară (studierea ciupercilor inferioare), protozoologia veterinară (studierea protozoarelor) și are ca scop identificarea, diagnosticarea, prevenirea și tratamentul bolilor infecțioase la animale, contribuind astfel la sănătatea și bunăstarea animalelor și la protejarea sănătății publice prin controlul și prevenirea unor boli care pot afecta chiar oamenii.

**Microbiologia vegetală** se concentrează asupra studiului microorganismelor care pot cauza boli ale plantelor și este o subramură a fitopatologiei.

**Microbiologia mediului** extern se dedica cercetării microorganismelor adaptate la condițiile specifice în care ele trăiesc, inclusiv microbiologia apei, microbiologia aerului, microbiologia solului și microbiologia alimentelor.

**Microbiologia industrială** este o ramură a microbiologiei care se concentrează, în general, pe studiul și utilizarea microorganismelor utile în scopuri practice. Aceste microorganisme sunt folosite într-o varietate de industrii, cum ar fi:

- industria alimentară, unde anumite specii de bacterii sau levuri sunt utilizate pentru producerea brânzeturilor, iaurtului, kefirului și a altor produse lactate, precum și pentru producerea pâinii, berii, oțetului, vinului etc.
- industria textilă, unde microorganismele sunt folosite pentru prelucrarea fibrelor naturale, cum ar fi inul, cânepa și iuta.
- industria pielăriei, unde anumite specii microbiene sunt utilizate pentru procesul de tăbăcire a pieilor.
- industria farmaceutică, unde microorganismele au o gamă largă de utilizări, inclusiv producerea unor substanțe prin biosinteza, cum ar fi alcoolii, acizi, vitamine, hormoni, aminoacizi, alcaloizi, antibiotice și multe altele.

**Microbiologia farmaceutică** se ocupă de studiul interacțiunilor microorganismelor în procesele variate care apar în fabricarea și prepararea medicamentelor, o preocupare deosebită pentru farmaciști. Unele microorganisme joacă un rol crucial în acest context, producând principii active farmacodinamice. De exemplu, bacteriile din genurile *Streptomyces* și *Bacillus*, precum și ciupercile din genul *Penicillium*, produc compuși cu acțiune antimicrobiană specifică, cunoscuți sub numele de antibiotice. Alte

microorganismele sunt responsabile pentru sinteza unor compuși precum vitamine, hormoni, acizi aminați etc.

În microbiologia farmaceutică, microorganismele pot avea și un impact negativ în diverse aspecte:

- microorganismele fitopatogene pot afecta plantele pe tot parcursul vieții lor, alterând sau distrugând principiile active farmacodinamice. Aceste plante nu pot fi utilizate în practica farmaceutică.
- fiecare plantă trebuie recoltată într-o anumită perioadă și conservată în condiții de ambalare, temperatură și umiditate adecvate. Neglijarea acestor aspecte poate duce la invazia unui număr mare de microorganisme care pot degrada planta prin procese de fermentație, până la descompunere.
- microorganismele pot contribui la alterarea medicamentelor. Multe medicamente lichide sau solide, în special cele care conțin substanțe organice sau adaosuri de zahăr, oferă medii prielnice dezvoltării microorganismelor. Contaminarea acestor medicamente poate duce la deteriorarea lor, iar în timpul preparării trebuie să se respecte condițiile de asepsie sau sterilizare, urmate de o conservare corespunzătoare.
- cunoașterea microorganismelor patogene, a infecțiilor pe care le pot cauza la om și a măsurilor de profilaxie și tratament (cum ar fi seruri, vaccinuri, antibiotice etc.) este extrem de importantă pentru farmaciști.

## 2. ORGANIZAREA MORFOLOGICĂ ȘI STRUCTURALĂ A BACTERIILOR

### 2.1. ÎNCADRARE TAXONOMICĂ – CLASIFICARE

**Carl Linnaeus (1707-1778)** a fost botanist și zoolog suedez care a împărțit lumea vie în cele două regnuri principale: **regnul vegetal** și **regnul animal**.

Teoria celulară formulată de **Theodor Schwann** în 1839 a afirmat că unitatea structurală de bază a lumii vii este celula. Aceasta a fost o descoperire crucială în dezvoltarea științelor biologice și a pus bazele pentru înțelegerea organizației și funcționării organismelor vii. Pe măsură ce trecem spre lumea invizibilă a microorganismelor, asemănările dintre ele devin mai evidente. Cu toate acestea, există suficiente diferențe de structură și fiziologie în cadrul microorganismelor, ceea ce a dus la împărțirea lor în mai multe diviziuni distincte:

- *protozoare*- acestea sunt microorganisme unicelulare din regnul animal, cu organizare eucariotă, au structuri complexe și pot fi parazite sau libere, fiind cunoscute pentru diversitatea lor.
- *fungi (Miceliu)*- acestea sunt microorganisme unicelulare din regnul vegetal, cu organizare eucariotă, pot fi simpli sau complecși, iar unele specii au proprietăți benefice, fiind folosiți în diverse aplicații industriale.
- *bacterii*- acestea sunt microorganisme unicelulare cu organizare procariotă, adică lipsa unui nucleu bine definit, au un perete celular specific și o structură chimică a acestuia diferită de cea a peretelui vegetal al fungilor.
- *virusuri*- sunt microorganisme patogene alcătuite din proteine și acizi nucleici, având dimensiuni extrem de mici, compuși din material genetic (ARN sau ADN) și lipsiți de sisteme enzimatice. Virusurile sunt paraziți obligatori pe alte celule vegetale, animale sau bacterii, reproducerea lor se face în general prin diviziune simplă.

În sistemul de clasificare a microorganismelor, agenții infecțioși ocupă un loc important în grupurile de organisme care pot provoca boli infecțioase la oameni, animale și plante. Acești agenți infecțioși sunt microorganisme, cum ar fi bacterii, virusuri, paraziți și ciuperci, care pot infecta organismele gazdă și cauza boli.

În cadrul sistemului de clasificare, agenții infecțioși sunt încadrați în diverse categorii taxonomice, în funcție de caracteristicile lor genetice, structurale și fiziologice.

Bacteriile patogene sunt agenții infecțioși patogeni, încadrați în regnul Bacteria, pot fi clasificați în funcție de caracteristicile lor, de exemplu, bacteriile patogene care cauzează tuberculoză sunt încadrate în genul *Mycobacterium*.

Virusurile sunt microorganisme subcelulare și nu sunt încadrate în niciun regn, deoarece nu sunt considerate a fi forme de viață independente. Cu toate acestea, ele sunt încadrate în diverse familii, genuri și specii, în funcție de caracteristicile lor genetice și structurale.

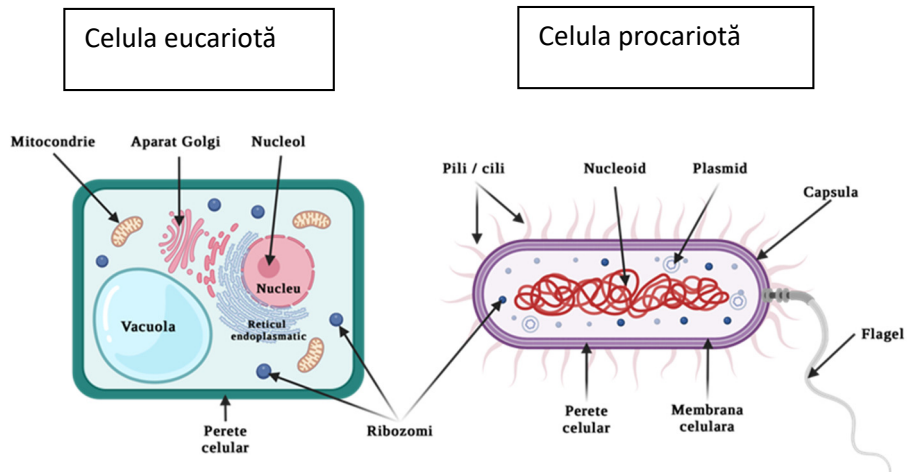
Paraziții sunt organisme care trăiesc în interiorul sau pe suprafața altor organisme și își obțin hrana din gazda lor. Aceștia pot fi protozoare sau helminte (viermi, paraziți). Protozoarele parazite pot fi încadrate în regnul protista, iar helmintele pot fi încadrate în regnul animalia.

Ciupercile patogene, cum ar fi cele care cauzează micoze sau infecții fungice, pot fi încadrate în regnul fungi. Acestea pot fi clasificate în diferite clase și ordine, în funcție de caracteristicile lor.

## 2.2. STRUCTURA CELULEI MICROORGANISMELOR

Unitatea morfologică și funcțională fundamentală a materiei vii o constituie **celula**.

Există două tipuri principale de celule: celulele **procariote** și celulele **eucariote**.



**Figura 1. Structura celulei procariote și a celulei eucariote.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Celula **procariotă** este mai simplă ca organizare, fiind fără nucleu bine delimitat de membrană. În celula procariotă, ADN-ul este dispersat în citoplasmă, sub forma de molecule mari de ADN spiralat sau sferic. Acest tip de celulă este caracteristic bacteriilor și algelor albastre.

Celula **eucariotă**, în schimb, este mai evoluată și se găsește la plante, animale și unele microorganisme precum mucegaiurile și drojdiile. Celula eucariotă se caracterizează prin prezența unui nucleu individualizat, care este prevăzut cu membrană și delimitează nucleul de citoplasmă. În nucleu, ADN-ul formează cromozomii, care conțin informația genetică specifică.

Celula eucariotă poate avea forme și dimensiuni diferite, și este alcătuită din trei componente principale: **citoplasmă**, **nucleu** și **membrana celulară**, constituind protoplastul. Celula eucariotă este înconjurată de un perete celular, care are rol protector și participă la diviziunea celulară. Unele microorganisme pot avea peretele celular acoperit de o capsulă, de cili sau de flageli și de pili (fimbrii).

**Citoplasma** reprezintă un sistem coloidal complex, alcătuit structural din **citoplasmă fundamentală** și din **organite**. În citoplasmă intră ioni de substanțe anorganice și compuși organici, formând materia vie.

**Citoplasma fundamentală** este componenta citoplasmei care nu are o structură bine definită, fiind transparentă și elastică. Aceasta se caracterizează prin mișcare și schimbare continuă, și în interiorul ei au loc majoritatea reacțiilor biochimice din celulă. Este un complex coloidal în care se desfășoară procese esențiale pentru funcționarea celulei.

**Organitele** sunt sisteme structurale subcelulare bine definite ca structură, formă și specializate în activități intra și extracelulare. Există două categorii de organite: comune, care sunt întâlnite în toate celulele organismelor vii, precum reticulul endoplasmatic, ribozomii, complexul Golgi, mitocondriile, lizozomii și centrozomul, și organite cu rol specific unor anumite celule specializate din punct de vedere fiziologic și biologic.

În citoplasmă, pot fi prezente *incluziuni celulare*, structuri bine definite, care pot sau nu să aibă o membrană înconjurătoare, și care îndeplinesc funcții temporare. Aceste incluziuni pot să includă picături de grăsime, granule de proteine sau glicogen, sau alte substanțe dizolvate în apă, reprezentând rezerve de substanțe chimice. În plus, citoplasma poate să conțină și *vacuole*, care sunt compartimente umplute cu soluții apoase de diverse substanțe.

**Reticulul endoplasmatic** este o rețea de canale interconectate care se extinde în citoplasmă în mai multe direcții, și este considerat asemenea unui sistem de transport celular, deoarece îndeplinește rolul de a transporta produse celulare. Prin prezența sa, reticulul endoplasmatic mărește suprafața de schimb dintre substanțele din citoplasmă și spațiul intercelular, contribuind astfel la îmbunătățirea calității și eficienței acestui schimb. În plus, reticulul endoplasmatic poate sintetiza proteine, lipide și hormoni pe care celula ulterior îi poate secreta în mediul intercelular.

**Ribozomii** sunt structuri granulare sferice în interiorul cărora are loc procesul de sinteză a proteinelor, aceștia sunt compuși din ARN ribozomal și proteine.

**Lizozomii** sunt organite sferice care conțin enzime digestive și au rolul de a proteja celulele prin digerarea (lizarea) altor microorganisme, contribuind astfel la apărarea celulară.

**Complexul Golgi** este alcătuit din formațiuni membranoase sub formă de discuri sau pachete așezate în straturi, amplasate în apropierea nucleului, și are un rol important în sinteza și modificarea unor substanțe specifice celulare, precum și în transferul acestor substanțe prin intermediul reticulului endoplasmatic în diferitele compartimente ale spațiului intracelular.

**Mitocondriile** sunt organite celulare care au o formă sferică sau ovoidală și au o textură granulară. Ele conțin sisteme enzimatice implicate în procesele de conversie a energiei în celulă, fiind responsabile pentru producerea energiei celulare.

**Centrozomul** este o componentă celulară sau un organit, vizibil în special în timpul diviziunii celulare, care se află în apropierea nucleului și formează împreună cu masa citoplasmatică din jurul său ceea ce este cunoscut sub denumirea de *centrosferă*. În timpul procesului de diviziune, în jurul centrosferei se formează filamente citoplasmatică radiale numite *astere*. Este important de menționat că centrul celular lipsește în celulele în care nu are loc diviziunea celulară.

În interiorul celulelor pot exista și alte organite sau structuri cu forme variabile, care pot fi pigmentate în mod diferit, acestea sunt cunoscute sub denumiri precum *cromoplaste* sau *cloroplaste* având culori specifice. Aceste organite îndeplinesc roluri importante în procesele celulare, inclusiv în schimburile energetice, reacțiile redox și schimbul ionic atât în interiorul, cât și în exteriorul celulei.

**Nucleul** celulei eucariote se compune din **nucleol**, **carioplasma** (suc nuclear) și **membrana nucleară**.

**Nucleolul** este o structură intranucleară care conține atât ARN cât și ADN, și îndeplinește rolul de a sintetiza ARN-ul, care este apoi transferat în citoplasmă, transmițând informația genetică conținută în ADN și cromozomi către mașinăria celulară responsabilă pentru sinteza proteinelor.

**Carioplasma** este componenta nucleară a celulei și este compusă din citoplasmă, cromatină și lamine (acromatină). Cromatina este formată din acizi nucleici, care sunt legați de proteine filamentoase și reprezintă substratul material al cromozomilor.

**Membrana nucleară** este alcătuită din trei straturi membranoase suprapuse și are pori prin care are loc schimbul de substanțe între nucleu și citoplasmă.

**Membrana celulară**, cunoscută și sub denumirea de membrană plasmatică, este un înveliș extern care prezintă o structură trilaminară, similară cu cea a membranei nucleare. Această structură conferă membranei celulare o permeabilitate selectivă față de diverse substanțe și contribuie la crearea unui potențial electric de membrană și a unei polarități.



Potențialul electric de membrană este menținut de distribuția neuniformă a ionilor de sodiu ( $\text{Na}^+$ ) și potasiu ( $\text{K}^+$ ) în ambele părți ale membranei. Ionii de potasiu sunt preponderent prezenți în partea internă a membranei, în timp ce ionii de sodiu se găsesc în concentrații mai mari în lichidul intercelular. Acest aranjament, împreună cu prezența anionilor în exces în partea internă a membranei, determină o sarcină electrică negativă a stratului interior al membranei.

Membrana devine astfel un sistem bine organizat care îndeplinește două roluri principale. Pe de o parte, separă celula de mediul său înconjurător, iar pe de altă parte, datorită caracteristicilor sale de permeabilitate selectivă, permite comunicarea și schimbul de substanțe cu mediul extern. Această permeabilitate selectivă poate suferi modificări, de exemplu, permeabilitatea pentru ionii de sodiu crește semnificativ, devenind predominantă față de permeabilitatea ionilor de potasiu. Acest fenomen duce la o inversiune a sarcinilor electrice ale celor două straturi ale membranei, cunoscută sub denumirea de depolarizare, care permite schimbul de materiale și energie între celulă și exterior prin transportul unor compuși ionici, chiar și împotriva gradientului de concentrație. Această mișcare ionică se realizează cu consum de energie, asemănătoare unei pompe de lichide.

## **2.3. MORFOLOGIA CELULEI BACTERIENE**

Bacteriile sunt organisme unicelulare asexuate, care se reproduc prin diviziune directă. Ele sunt procariote, ceea ce înseamnă că au un nucleu fără membrană și un singur cromozom circular. Bacteriile sunt haploide, având un singur set de gene, în contrast cu organismele eucariote care sunt diploide (au două seturi de gene).

O celulă bacteriană este alcătuită din structuri esențiale, cum ar fi nucleul (ADN-ul circular), citoplasma, membrana citoplasmatică și peretele bacterian rigid. Acestea alcătuiesc protoplastul bacteriei și reprezintă forma rudimentară de existență a bacteriilor.

Pe lângă structurile esențiale, unele bacterii prezintă și structuri neesențiale, care sunt prezente numai la anumite specii, acestea includ capsula, care reprezintă un al treilea înveliș al bacteriilor, cili sau flagelii, care sunt structuri mobile utilizate pentru deplasare, și fimbriile sau pili, care sunt proiecții scurte utilizate pentru atașarea bacteriilor de suprafețe.

Sporii sunt o a doua formă de existență întâlnită numai la unele specii de bacterii. Acestea reprezintă o formă de rezistență care apare atunci când bacteriile întâlnesc condiții nefavorabile pentru multiplicare. Sporii sunt celule specializate și rezistente care pot supraviețui condițiilor extreme, cum ar fi căldura, uscăciunea sau substanțele chimice, și pot reveni la stadiul vegetativ atunci când condițiile devin favorabile din nou.

Bacteriile pot avea diverse forme, care pot fi clasificate în mai multe categorii:

### ***Forme principale***

- *coc*-bacterii de formă sferică sau ovală.
- *bacil*- bacterii în formă de bastonaș drept.
- *vibion*- bacterii în formă de bastonaș încurbat, cu capetele ascuțite.
- *spirochet*- bacterii în formă de fir spiralat sau elicoidal.

### ***Forme intermediare***

- *cocoidă*- bacterii cu formă ușor alungită, între coc și bacil.
- *cocobacil*- bacterii cu formă de bacil scurt, cu capetele rotunjite.

### ***Forme asimetrice***

- *formă bombată*- bacterii cu formă bombată la una sau la ambele extremități, având aspectul unei măciuci sau haltere.
- *formă lanceolată*- bacterii cu formă alungită, asemănătoare cu o lance.
- *formă reniformă*- bacterii cu formă de rinichi, având o formă concav-convexă.

Această diversitate de forme bacteriene este unul dintre aspectele importante în clasificarea și identificarea bacteriilor. Caracteristicile morfologice, precum forma, mărimea, dispunerea celulară și alte aspecte structurale, pot fi utilizate pentru a diferenția diferite specii bacteriene și pentru a le încadra în taxonomia microbiologică. Această cunoaștere este esențială pentru diagnosticarea și tratamentul bolilor bacteriene, precum și pentru studiul aspectelor ecologice și biologice ale acestor microorganisme.

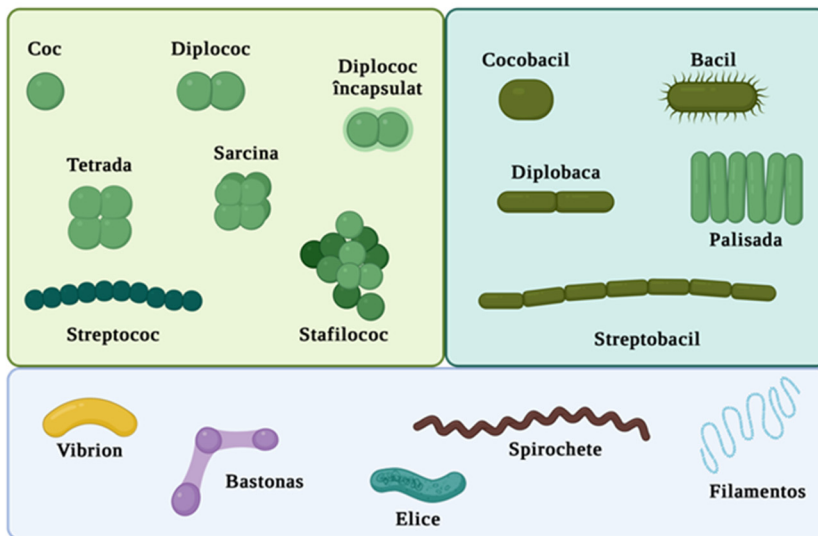
Dimensiunile bacteriilor variază în funcție de specie și pot avea o lungime cuprinsă între 1 și 8  $\mu\text{m}$  sau microni ( $\mu$ ), cu o grosime de 0,1 până la 0,2  $\mu\text{m}$ . Unele bacterii pot atinge lungimi de până la 15  $\mu\text{m}$ . Cele mai mici bacterii sunt micoplasmele și rickettsiile.

Este important să menționăm că dimensiunile bacteriilor pot varia semnificativ în funcție de mediul în care se dezvoltă și de condițiile de creștere. De asemenea, în cazul bacteriilor cu forme variate, dimensiunile pot să difere în funcție de orientarea celulelor sau de stadiul lor de creștere și dezvoltare. În general, există o corelație directă între lungimea și grosimea bacteriilor astfel, speciile de *Bacillus* și *Clostridium*, care sunt cele mai lungi bacterii, sunt și cele mai groase.

Modurile de grupare ale bacteriilor sunt caracteristici importante utilizate în identificarea lor și pot varia în funcție de specie și de condițiile de mediu.

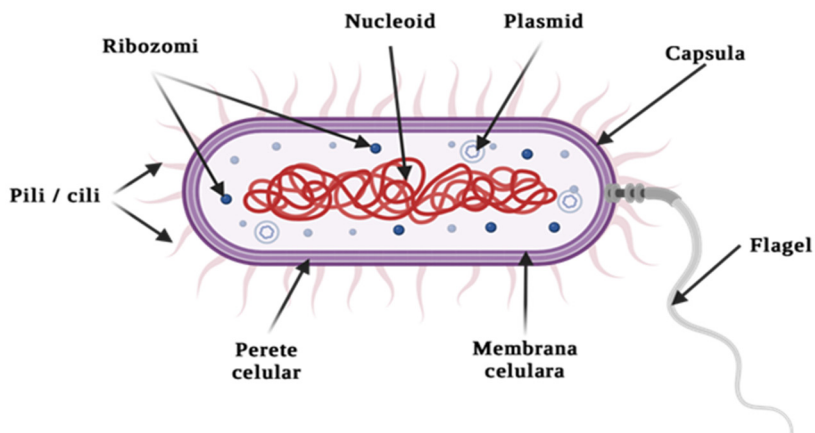
Principalele moduri de grupare întâlnite la bacterii sunt:

- **gruparea diplo-** celulele sunt așezate câte două, formând perechi; de exemplu, *diplococ* (2 coci) și *diplobacil* (2 bacili). Diplobacilii pot fi așezați unul în prelungirea celuilalt în linie dreaptă sau în unghi, dând aspectul de litera V (*Bacilul rujetului*).
- **gruparea strepto-** celulele bacteriene sunt așezate într-un lanț; de exemplu, *streptococ* (lanț format din coci) și *streptobacil* (lanț format din bacili).
- **tetrada-** 4 coci așezați sub forma a doi diplococi alăturați.
- **sarcina-** 8 coci așezați ca două tetrade suprapuse.
- **stafilococ-** grămezi de coci așezați ca boabele unui ciorchine de struguri.
- **gruparea în palisadă ca un grilaj-** mai mulți bacili așezați paralel ca dinții unui pieptene.
- **gruparea în litere chinezești-** grup de câțiva bacili așezați neregulat, alăturați sau suprapuși, unii încrucișându-se.
- **filamentul-** reprezintă un plasmodiu, unde multiplicarea citoplasmei și a materialului nuclear nu este urmată de constituirea pereților celulari și a membranelor citoplasmice separatoare între celule.
- **forme ramificate-** apar foarte rar la bacterii și reprezintă plasmodii, caracteristice actinomicetelor.



**Figura 2. Reprezentare a morfologiei bacteriene.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

## 2.4. STRUCTURA CELULEI BACTERIENE



**Figura 3. Celula procariotă.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Constituenții celulei bacteriene pot fi împărțiți în două categorii distincte:

#### **A. Constituenți intraparietali (obligatorii):**

Peretele celular

Membrana citoplasmatică

Citoplasmă

Nucleoidul și plasmidele

#### **B. Constituenți extraparietali (neobligatorii):**

Capsula

Flagelii (cili)

Fimbriile (pili)

Sporii

**Peretele celular** al bacteriilor are o compoziție variabilă, ceea ce reprezintă un aspect important în analiza și diferențierea acestor microorganisme. În acest sens, în 1884, Hans Christian Gram, un fizician danez, a dezvoltat o metodă pentru a diferenția structurile peretelui celular.

Peretele celular al bacteriilor Gram-pozitive este gros și colorat în violet prin tehnica Gram, având ca unitate de bază *peptidoglicanul*, care este alcătuit din unități repetitive. *Mureina* este structura formată din aceste unități de peptidoglicani, stabilizată de enzima numită *transpeptidază*. Mureina joacă un rol esențial în menținerea formei bacteriei, rezistând presiunilor de aproximativ 2-2,5 atmosfere. Atunci când bacteriile își pierd parțial peretele sub influența penicilinei, pot să formeze sferoplaste (cu urme de perete celular) sau protoplaste (fără perete celular), care sunt fragile și pot fi ușor atacate de fagocite sau sunt sensibile la variații ale presiunii osmotice.

Acesta servește ca o barieră structurală bine definită și rigidă care delimitează celula bacteriană, având are un rol crucial în menținerea integrității celulare, fiind atât de puternic încât previne ruperea celulei bacteriene atunci când presiunea osmotică dintre citoplasmă și mediul exterior devine mare.

Existența peretelui celular a fost observată încă din 1872 de către Conn, iar identificarea sa necesită de obicei utilizarea microscopului electronic.

În celulele bacteriene tinere, peretele celular se află aderent la membrana citoplasmatică, în timp ce la celulele mai mature sau bătrâne, acesta poate fi observat ca fiind mai departe de citoplasmă.

La nivelul microscopului electronic, peretele celular bacterian apare ca un fel de sac gol care păstrează forma bacteriei și are o structură asemănătoare unei plase, formate din fascicule de fibre paralele dispuse în planuri diferite, care se intersectează. Grosimea peretelui celular poate varia, situându-se de obicei între 10 și 35 nm, cu excepții rare în care poate ajunge la 80 nm (de exemplu, în cazul *Lactobacillus acidophilus*).

Pereții celulari ai bacteriilor pot împărți bacteriile în trei grupe principale în funcție de structură și compoziția chimică: *Gram-pozitive*, *Gram-negative* și *acidorezistente*. Un element comun pentru toate aceste tipuri de bacterii este prezența peptidoglicanului sau mureinei în structura peretelui celular. Acesta are rolul de a menține forma bacteriei, rezistând presiunilor de 2-2,5 atmosfere, și contribuie la integritatea celulară. Cu toate acestea, există diferențe semnificative în ceea ce privește cantitatea și aranjamentul structural al proteinelor, polizaharidelor și glucidelor din peretele celular.

Compoziția peretelui celular variază de la o specie de bacterii la alta, iar acest aspect este un factor important în analiza și diferențierea bacteriilor. Metoda dezvoltată de Hans Christian Gram în 1884, cunoscută sub numele de colorația Gram, a permis clasificarea bacteriilor în două categorii principale: Gram-pozitive și Gram-negative. Această clasificare se bazează pe afinitatea peretelui celular față de anumite coloranți, ceea ce permite o diferențiere semnificativă între aceste două tipuri de bacterii.

Peretele celular al bacteriilor Gram-pozitive are peptidoglicanul ca componentă majoră, reprezentând aproximativ 80-90% din greutatea uscată a peretelui celular. Acesta mai conține proteine și polizaharide, inclusiv acizi tecoici, teichuronici, acizi neteichoici și polizaharide neutre.

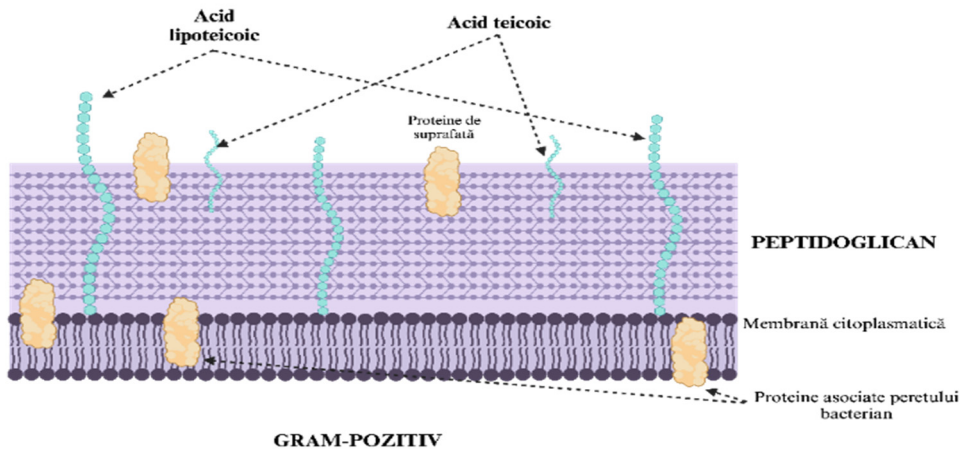
Peptidoglicanul, cunoscut și sub denumirea de mureină, glicopeptid, mucopeptid, glucozamino-peptid sau mucocomplex, este un heteropolimer format din două componente principale: una glicanică și una peptidică. Peptidoglicanul poate fi susceptibil la atacul enzimei lizozim și la penicilina.

Partea glicanică a peptidoglicanului constă în lanțuri lineare formate din diferite N-acetilhexozamine, precum N-acetilglucozamina și acidul N-acetilmuramic, care sunt legate între ele prin legături glicozidice.

Componenta peptidică a peptidoglicanului constă din unități tetrapeptidice, iar unitățile tetrapeptidice din lanțurile glican adiacente sunt, la rândul lor, legate prin intermediul unor punți specializate interpeptidice.

Acizii teichoici (denumiți astfel de la "teichos," care înseamnă "zid" sau "perete") sunt prezenți doar în bacteriile Gram-pozitive. Acești acizi reprezintă molecule polimere lungi și flexibile, alcătuite din ribitol-fosfat, și sunt localizați exclusiv în peretele celular, membrana plasmatică și structurile capsulare ale bacteriilor Gram-pozitive. Acizii teichoici conferă bacteriilor Gram-pozitive mai multe proprietăți importante, ei au un rol esențial în menținerea concentrației de ioni metalici, în special ionul de magneziu ( $Mg^{2+}$ ), în interiorul celulei. De asemenea, acești acizi teichoici au un rol arhitectural, contribuind la menținerea structurii tridimensionale a peretelui celular, ceea ce este vital pentru integritatea celulei.

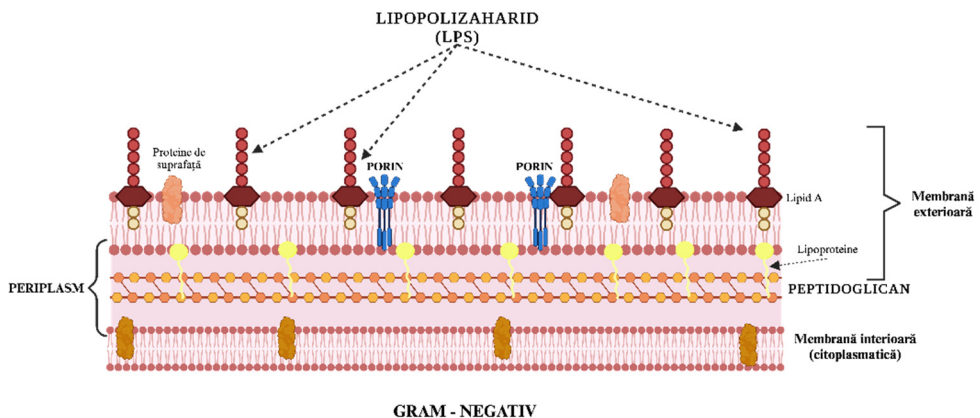
Pe lângă aceste funcții, acizii teichoici pot juca un rol important în patogenitatea unor bacterii Gram-pozitive, contribuind la inhibarea procesului de fagocitoză, adică la evitarea capturării și distrugerii lor de către celulele sistemului imunitar.



**Figura 4. Peretele celular la bacteriile Gram-pozitive.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Peretele celular la bacteriile Gram-negative are o structură mai subțire, este mai complex și stratificat decât cel al bacteriilor Gram-pozitive. De la exterior spre interior, peretele celular Gram-negativ este alcătuit din următoarele componente:

- *membrana externă*: vizualizată la secțiune, apare ca fiind triplu stratificată. Din punct de vedere chimic, membrana externă este formată din fosfolipide, proteine și lipopolizaharide. Această componentă are proprietăți antigenice și prezintă activitate endotoxică.
- *stratul de peptidoglican*: acest strat este electron-dens și are o grosime de aproximativ 1,5 - 3 nm. Din punct de vedere chimic, conține compuși precum acid A-acetilmuramic, N-acetilglucozamină, diaminopimelat, alanină și acid glutamic.
- *stratul periplasmatic*: acesta reprezintă o zonă în care sunt depozitate o serie de enzime și pigmenți. La secțiuni subțiri, acest strat apare ca o zonă cu densitate electronoaptică redusă. Lățimea acestui strat periplasmatic variază în funcție de starea fiziologică a celulei și condițiile de cultivare.



**Figura 5. Peretele celular la bacteriile Gram-negative.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender(BioRender.com).

În schimb, bacteriile acidorezistente, cum ar fi micobacteriile, prezintă un perete celular special, aceste bacterii au un conținut ridicat de lipide, care reprezintă între 20% și 45% din greutatea uscată a celulei. Cantitatea de lipide este direct proporțională cu gradul de patogenitate al



micobacteriilor, fiind cel mai mare la bacteriile precum *M. tuberculosis* și *M. bovis*, și mai mic la micobacteriile cu creștere rapidă, cum ar fi *M. phlei*.

Lipidele micobacteriene joacă un rol important în explicarea caracteristicilor lor tinctoriale, cum ar fi rezistența la colorații cu acido-alcool, și în rezistența lor la condițiile mediului exterior. Principalele componente lipidice includ fosfolipidele, acizii micolinici, micozidele și ceara D.

Peretele celular are multiple roluri esențiale în celula bacteriană:

- *susținere mecanică*- funcționează ca un sistem de susținere mecanică pentru întreaga structură celulară, datorită rigidității sale, contribuie la menținerea formei caracteristice a celulelor bacteriene.
- *diviziune celulară*- peretele celular participă la procesul de creștere și diviziune celulară, este implicat în formarea septelor de diviziune, care permit celulelor să se dividă și să se reproducă.
- *protecție împotriva șocului osmotic*- peretele celular asigură protecția împotriva variațiilor bruște ale presiunii osmotice. Fără prezența sa, membrana plasmatică nu ar rezista presiunii osmotice interne, care poate atinge valori semnificative, cum ar fi aproximativ 5-6 atmosfere în cazul bacteriei *E. coli* sau 20-30 de atmosfere în cazul *Staphylococcus aureus*.
- *receptori pentru bacteriofagi*- anumiți constituenți ai peretelui celular pot acționa ca receptori pentru bacteriofagi, care sunt viruși specializați în infectarea bacteriilor, această interacțiune este importantă în ciclul de viață al bacteriofagilor.
- *reglarea traficului molecular*- peretele celular acționează ca o sită moleculară, controlând trecerea substanțelor nutritive în interiorul celulei, în timp ce împiedică pătrunderea unor substanțe nocive sau pierderea de metaboliți esențiali. Acesta contribuie la menținerea homeostaziei celulare și a mediului intern al bacteriei.

**Membrana citoplasmatică** înconjoară citoplasma bacteriană, servind drept limită între conținutul celular și peretele celular, ea este strâns lipită de peretele celular, acest lipici fiind menținut de diferența de presiune osmotică dintre interiorul celular și mediul extern.

Văzută la microscopul electronic, membrana citoplasmatică apare ca o structură triplu stratificată, având o grosime de aproximativ 7,5 - 10

nanometri. Această structură constă din două straturi întunecate, separate printr-un strat clar.

Membrana citoplasmatică este o membrană semipermeabilă care acționează ca o barieră, reglementează schimburile de substanțe dintre celula bacteriană și mediul exterior și interacționează selectiv cu componentele din jur. Aceasta facilitează atât procesele active specifice cât și difuziunea pasivă, permițând celulei să primească nutrienți și să elimine metaboliții reziduali.

De asemenea, găzduiește enzimele implicate în metabolismul respirator și biosinteza componentelor majore ale peretelui celular, joacă un rol esențial în procesele de creștere și diviziune celulară, inclusiv în formarea septelor de diviziune și a sporilor.

**Citoplasma** reprezintă un sistem coloidal format în principal din apă, aproximativ 80% din compoziția sa totală. În citoplasmă se găsesc o varietate de molecule organice mici, ioni anorganici, enzime și ARN, aspectul citoplasmei poate varia în funcție de stadiul de dezvoltare a culturii bacteriene și de condițiile mediului înconjurător.

În cazul celulelor tinere și în condiții normale de dezvoltare, citoplasma este aderentă la peretele celular și apare ca o masă densă, omogenă și cu o colorare intensă. Cu trecerea timpului și la celulele bătrâne, citoplasma își poate pierde treptat afinitatea pentru coloranții, se poate retrage spre centru și se poate prezenta sub formă granulară.

În interiorul citoplasmei sunt diseminate o serie de formațiuni, inclusiv ribozomi, vacuole gazoase, granule, incluzii și plasmide, fiecare având roluri specifice în funcționarea și metabolismul bacteriilor.

**Ribozomii** sunt componentele majore ale citoplasmei bacteriene și reprezintă aproximativ 40% din greutatea uscată a celulei, conferindu-i un aspect granular fin și uniform.

Ribozomii au o formă relativ sferică, cu un diametru de aproximativ 1,80 nanometri și o constantă de sedimentare de 70S. Din punct de vedere chimic, ribozomii sunt alcătuiți din aproximativ 65-70% acizi ribonucleici (ARNr) și 30-50% proteine, aceste structuri joacă un rol crucial în biosinteza proteinelor în cadrul celulelor bacteriene. Ribozomii sunt locurile în care are loc procesul de traducere al informației genetice din ARN-ul mesager în lanțuri de aminoacizi, formând astfel proteinele structurale și enzimatice necesare pentru funcționarea celulară.

**Incluziile și granulațiile citoplasmaticе** sunt structuri de dimensiuni și forme variabile care pot apărea în interiorul celulelor bacteriene, în funcție de condițiile de mediu și tipul de bacterie, aceste structuri pot varia în componența lor chimică, și anume:

- *incluziile de glicogen și amidon* care pot fi identificate prin colorarea lor cu iod, producând o nuanță de galben-maroon pentru glicogen și albastru pentru amidon. Ele pot fi dispersate în citoplasmă sau se pot prezenta sub forma unor depozite electronoptice dense.
- *incluziile de polifosfați anorganici sau granule de volutină (corpusculi Babeș-Ernst)* apar sub forma unor depozite sferice, dense din punct de vedere electronoptic, cu dimensiuni variabile, acestea pot fi rezerve de fosfor sau alte substanțe necesare bacteriei.
- *granulațiile de sulf* se prezintă sub formă de structuri globulare înconjurate de o membrană de înveliș sunt întâlnite la bacteriile sulfuroase care trăiesc în medii bogate în sulf (H<sub>2</sub>S).
- *crystale și structuri paracrystaline* pot fi observate la unele bacterii sporulate din genurile *Bacillus* și *Clostridium* apar sub forma unor cristale sau structuri paracrystaline cu o ordine specifică și reprezintă un excedent de proteine din învelișul sporal al acestor bacterii.
- *vacuole gazoase* se găsesc la mai multe bacterii acvatice, cum ar fi cianobacterii, bacterii fotosintetizante și bacterii sulfuroase. Funcția exactă a acestor vacuole nu este pe deplin cunoscută, dar se presupune că pot avea roluri în capacitatea de plutire, protecția împotriva luminii puternice și reglarea presiunii osmotice în raport cu mediul extern.

**Materialul nuclear** al bacteriilor, denumit și corp nuclear sau nucleoid, se caracterizează printr-o organizare simplă, lipsind membrana nucleară și nucleolii, care sunt caracteristici celulelor eucariote. Acest corp nuclear al bacteriilor se găsește de obicei în centrul celulei și reprezintă o zonă cu densitate electronoptică mai scăzută decât citoplasma. Deși nu este înconjurat de o membrană nucleară, nucleoidul bacterian este bine delimitat de citoplasmă și poate fi conectat cu membrana citoplasmatică prin intermediul a 1-2 mezozomi.

Dimensiunile și forma nucleoidului bacterian variază semnificativ în funcție de mediu și condiții de cultură. Cromozomul bacterian este o moleculă de ADN dublu catenar, circulară, cu dimensiuni variabile de la o specie la alta. Din punct de vedere chimic, nucleoidul bacterian este un complex format din ADN, ARN și proteine, cu ADN reprezentând aproximativ 80% din conținut,

componenta proteică fiind de aproximativ 10%, iar ARN-ul, în principal ARNr și ARNm în curs de formare, reprezentând aproximativ 10%.

În celulă, cromozomul bacterian este reprezentat sub forma unor bucle supraînfășurate, deși mecanismul exact prin care un cromozom bacterian cu dimensiuni mult mai mari decât lungimea liniară a celulei este împachetat într-un spațiu atât de mic nu este pe deplin înțeles.

Din punct de vedere chimic, ADN-ul bacterian este alcătuit din baze azotate purinice (A și G), baze azotate pirimidinice (C și T), dezoxiriboză (zahăr) și acid fosforic. Combinarea acestor componente formează nucleotidele, care sunt lanțuri polinucleotidice sau catene.

Structura dublu helicoidală a ADN-ului se realizează prin înfășurarea a două lanțuri polinucleotidice, astfel încât bazele azotate sunt orientate spre interiorul structurii, iar A este întotdeauna asociat cu T, în timp ce G este asociat cu C prin legături de hidrogen.

Nucleoidul bacterian conține informația genetică necesară pentru replicarea celulei, precum și pentru organizarea structurală și funcțională a acesteia, informația genetică este înregistrată sub forma secvențelor de nucleotide dispuse într-un anumit mod. Această informație genetică controlează, de asemenea, formarea structurilor specifice, cum ar fi capsulele, ciliile sau sporii, precum și elementele de patogenitate. Prin manipularea materialului genetic bacterian cu factori mutageni, pot fi obținute mutații apatogene, care pot fi folosite în producția de vaccinuri.

Plasmidele reprezintă elemente genetice separate de cromozomul bacterian, având capacitatea de a se replica independent. Acestea conțin informație genetică esențială pentru creșterea și adaptarea bacteriilor. Există o diversitate semnificativă de plasmide, cu peste 1000 de tipuri identificate până în prezent, cele mai multe fiind găsite la bacteriile Gram negative, de exemplu, la *Escherichia coli* s-au identificat 269 de tipuri diferite de plasmide.

În funcție de modul în care se relaționează cu cromozomul bacterian, plasmidele pot fi clasificate în două categorii principale:

- ***plasmide integrate în cromozomul bacterian*** acestea sunt sub controlul strict al cromozomului și se replică odată cu acesta.
- ***plasmide neintegrate (libere)*** aceste plasmide sunt fizic independente de cromozom.

Ele se subdivizează în două subgrupe:

- *plasmide mari*: sunt strâns legate de cromozomul bacterian și sunt supuse unui control riguros, sunt menținute într-un număr limitat de copii, de obicei de 1-3 copii pe cromozom, și pot fi implicate în procesele de conjugare.
- *plasmide mici*: se găsesc într-un număr mare în celulă și nu sunt supuse unui control strict al replicării, de obicei ele nu participă la procesele de conjugare.

Prezența plasmidelor aduce beneficii bacteriilor purtătoare, conferindu-le avantaje biologice și metabolice, aceste avantaje includ o mai mare capacitate de adaptare și rezistență la

diverse condiții de mediu. De asemenea, unele plasmide pot fi transmise de la o celulă la alta, ceea ce poate duce la câștigarea sau pierderea anumitor caracteristici.

Joacă un rol semnificativ în dezvoltarea rezistenței multiple la antibiotice prin mai multe mecanisme, inclusiv prin introducerea de gene de rezistență la antibiotice. Ele pot, de asemenea, să crească virulența și patogenitatea bacteriilor prin codificarea de determinanți genetici responsabili de producerea de toxine sau hemolizine, de exemplu, plasmida Ent poate conține gene pentru enterotoxine, iar plasmida Hly poate conține gene pentru hemolizine la *Escherichia coli*.

În plus, plasmidele pot păstra informație genetică adițională, care, deși nu este vitală, poate oferi bacteriilor avantaje selective în anumite circumstanțe, unele plasmide pot conține gene pentru rezistența la antibiotice, extinzând astfel gama de medicamente la care bacteriile devin rezistente.

**Mezozomii** sunt structuri membranoase care se formează prin înfășurarea sau invaginarea membranei citoplasmice în interiorul bacteriilor. Acestea sunt prezente în special la bacteriile Gram pozitive, dar ocazional pot fi întâlnite și la bacteriile Gram negative. Deși la prima vedere pot părea a fi formațiuni citoplasmice, mezozomii sunt în realitate considerați formațiuni extracitoplasmice din cauza modului lor de formare și conexiunii cu spațiul periplasmatic.

Există trei tipuri principale de mezozomi, în funcție de forma lor:

- *mezozomi lamelari*- au o structură plană sau lamelară.
- *mezozomi veziculari*- au o formă veziculară sau de vezicule.
- *mezozomi tubulari*- au o structură tubulară.

În ceea ce privește localizarea lor în celulă, mezozomii se pot împărți în trei categorii:

- *mezozomi septali*- sunt localizați în zona septului celular, care este locul de diviziune a celulei bacteriene, joacă un rol important în controlul replicării cromozomului și plasmidelor prin transmiterea semnalelor biochimice care au loc în apropierea suprafeței celulei.
- *mezozomi periferici*- se găsesc în periferia celulei bacteriene și pot avea diverse funcții, inclusiv participarea la reacții de fosforilare, oxidoreducere și transport de electroni. Cu toate acestea, rolul lor în aceste procese este mai puțin important decât al membranelor citoplasmatică.
- *mezozomi nucleari*- sunt localizați în apropierea materialului nuclear și sunt implicați în procese legate de replicarea și transmiterea materialului genetic bacterian.

Mezozomii au un rol semnificativ în controlul replicării cromozomului și a plasmidelor, contribuind la transmiterea semnalelor biochimice la nivelul celulei, de asemenea, ei pot participa la reacții de fosforilare, oxidoreducere și transport de electroni, deși într-o măsură mai mică decât membrana citoplasmatică. Mai mult, pot fi implicați în procese secretorii, precum producția și eliberarea de exoenzime, cum ar fi penicilinaza.

**Constituenți extraparietali sau neobligatorii** reprezintă o varietate de structuri formate în afara peretelui celular, unele dintre ele sunt comune tuturor bacteriilor, în timp ce altele sunt specifice doar anumitor tipuri de bacterii.

**Capsula** și stratul mucos sunt componente extraparietale care nu se regăsesc la toate bacteriile. Uneori, acestea sunt prezente la bacteriile cu o virulență mai mare, cum ar fi anumite tulpini de streptococi și stafilococi. Capsula este, în cea mai mare parte, formată dintr-un material macromolecular cu o textură vâscoasă și gelatinoasă.

În funcție de proprietățile lor, capsulele pot fi împărțite în două tipuri principale:

- *capsulă rigidă*- acest tip de capsulă este compactă și nu are tendința de a include particule fine, asemănătoare tușului de cerneală.
- *capsulă flexibilă*- cunoscută și sub numele de capsulă mucoidă, este deformabilă și are capacitatea de a include particule fine.

În funcție de grosimea lor și de modul în care se înconjoară celula bacteriană, capsulele pot fi de două tipuri:

- *microcapsulă*- aceasta are o grosime mai mică de 0,2 μm și este formată dintr-un strat subțire de substanță mucoidă care învelește celula bacteriană, acest tip de capsulă se găsește la unele bacterii Gram-negative, cum ar fi *Pasteurella multocida*.
- *macrocapsulă*- cunoscută ca și capsulă propriu-zisă, este o formațiune morfologic distinctă care învelește fiecare celulă sau perechi de celule. Are o grosime mai mare de 0,2 μm și poate fi observată la microscopul optic prin diferite tehnici de colorare. Exemple de bacterii cu macrocapsule includ *Bacillus anthracis*, *Klebsiella pneumoniae* și *Diplococcus pneumoniae*.

Stratul mucos este o structură amorfă și neorganizată, constând din componente vâscoase care se distribuie fără o ordine specifică în jurul celulei bacteriene sau se dispersează în mediul înconjurător. Aceasta conferă mediului un grad de vâscozitate crescut, cum ar fi bacteriile *Francisella tularensis*, *Pseudomonas aeruginosa* și mixobacteriilor, printre altele.

Capsula are un rol esențial în supraviețuirea bacteriilor, deoarece le ajută să evite factorii de rezistență din organism, atât din mediul umoral, cât și din cel celular.

Prin încapsulare, bacteriile dobândesc protecție împotriva acțiunii fagocitelor, în două moduri principale:

- ***prevenirea adeziunii la suprafața leucocitelor***, capsula împiedică bacteriile să se lege de celulele albe ale sângelui (leucocitele), ceea ce face dificilă detectarea și capturarea lor de către sistemul imunitar;
- ***blocarea fluxului de fagocite***, capsula poate împiedica mișcarea și migrația eficientă a fagocitelor către bacterii, aceasta face ca bacteriile să rămână nepenetrabile și, prin urmare, se pot multiplica fără obstacole și să cauzeze boala.

Datorită acestui mecanism de protecție, bacteriile patogene pot prospera în corpul gazdă și pot provoca infecții grave.

**Cilii** sau **flagelii** sunt structuri filamentoase, flexibile și subțiri, cu o lungime variabilă care poate ajunge până la 80 μm, numărul și poziția cililor pe suprafața bacteriei sunt caracteristici specifice speciei, regulate genetic.

În funcție de aceste caracteristici, bacteriile se împart în următoarele categorii:

- *atriche*, aceste bacterii sunt lipsite de cili.
- *monotriche* au un singur cil dispus polar (de exemplu, *Vibrio*).
- *amfitriche* au câte un cil la fiecare pol.
- *lopotriche* au un smoc de cili la unul sau ambele capete ale celulei.
- *peritriche* au cili dispuși pe toată suprafața celulei (de exemplu, *Clostridium tetani*, *Proteus vulgaris*).

Cercetările privind structura cililor cu ajutorul microscopului electronic au evidențiat că aceștia sunt alcătuiți din trei componente morfologic distincte:

- *corpusculul bazal*- este componenta prin care ciliul se atașează de corpul celulei bacteriene, este format din patru discuri dispuse paralel: M (membrana citoplasmatică), S (spațiul periplasmatic supramembranos), P (strat de peptidoglican) și L (strat lipopolizaharidic din membrana externă), acestea se presupune că se leagă de una dintre componentele peretelui celular, formând astfel o structură complexă complet montată în peretele celular și membrana citoplasmatică.
- *cârligul*- este o structură situată în afara corpului celulei bacteriene și are o formă îndoită sau în spirală. Structural, este format din subunități de 30-40 Å, dispuse într-un aranjament helical. Această formațiune este ușor de observat în cazul unor bacterii, precum *Bacillus brevis* și *Bacillus circulans*.
- *filamentul flagelar*- reprezintă partea flexibilă care se leagă de capătul distal al cârligului. În medii lichide, filamentul flagelar este bine dezvoltat și depășește de câteva ori lungimea corpului bacteriei, de obicei, acestea sunt răsucite, dar sunt fragile și se pot rupe ușor.

Pentru evidențierea cililor, pot fi utilizate tehnici speciale de colorare sau de mordansare cu tanin, iar impregnarea cu azotat de argint poate mări grosimea lor făcându-i astfel vizibili la microscopul optic obișnuit. Evidențierea lor este, de obicei, mai eficientă la microscopul electronic.

Din punct de vedere chimic, toate componentele cililor bacterieni sunt alcătuite din molecule proteice și au importante proprietăți antigenice. Aceste molecule proteice sunt cunoscute sub numele de antigene flagelare și sunt notate cu H, fiind de asemenea numite flageline.



Atât filamentul flagelar, cât și cârligul sunt formate dintr-un singur tip de molecule proteice, capabile de autoasamblare în schimb, corpusculul bazal este alcătuit din mai multe tipuri de molecule proteice.

Proteinele care formează cili bacterieni prezintă un mare polimorfism, cu greutatea moleculară care variază între 33.000 și 66.000 daltoni. Acest polimorfism poate chiar să apară la aceeași celulă bacteriană.

Moleculele de flagelină care compun filamentul flagelar se autoasamblează pentru a forma structuri tubulare cu o simetrie bine definită. Studiile de microscopie electronică au arătat că subunitățile proteice sunt aranjate într-o spirală de-a lungul filamentului. Procesul de autoasamblare începe la capătul distal al cârligului, care acționează ca nucleu pentru polimerizarea monomerilor de flagelină. Creșterea în lungime a filamentului continuă prin adăugarea și polimerizarea ulterioară a monomerilor de flagelină.

Cilii au rolul de a acționa ca organite locomotoare pentru bacterii, realizând mișcarea prin rotația filamentului flagelar, această mișcare de rotație seamănă cu o înșurubare în mediu. Motorul care asigură rotația cililor este corpusculul bazal, iar energia necesară pentru această mișcare este furnizată de ATP.

La bacteriile peritriche, rotația poate avea loc în sens orar (adică în sensul acelor de ceasornic), ceea ce permite rostogolirea și schimbarea direcției, sau în sens antiorar (opus acelor de ceasornic) pentru deplasarea în linie dreaptă, în cazul bacteriilor monotriche, mișcările de deplasare în linie dreaptă sunt întrerupte de scurte mișcări de recul.

Cilii pot fi separați de bacterii, iar când sunt inoculați la animale, acestea vor produce anticorpi specifici. Acești anticorpi au aplicații semnificative în identificarea serologică a bacteriilor și sunt deosebit de valoroși pentru diagnosticul și studiile epidemiologice.

**Pilii și fimbriile** sunt apendici subțiri, filamentari, care se găsesc în număr mare pe suprafața multor bacterii. Acești apendici sunt mai bine studiați în cazul bacteriilor Gram-negative, cum ar fi *E. coli*, *Pseudomonas*, dar pot fi găsiți mai rar și la bacteriile Gram-pozitive, cum ar fi *Corynebacterium* și *Streptococcus*.

Pilii sunt prea subțiri pentru a fi vizibili direct la microscopul optic obișnuit, dar pot fi observați cu ajutorul microscopului electronic. Aceștia au o structură rigidă în comparație cu cilii, fiind mai scurți și mai numeroși, dispunerea lor pe suprafața bacteriei poate fi peritrichă, adică se pot găsi pe

întreaga suprafață sau în jurul întregului organism bacterian. Dimensiunile pililor variază între 0,2 și 20  $\mu\text{m}$ .

Originea pililor se află la nivelul membranei citoplasmice a bacteriei, dar, spre deosebire de cilii, ei nu prezintă un aparat corespunzător corpusculului bazal. Acești apendici au roluri diverse în bacterii, inclusiv în aderarea la suprafețe, formarea de biofilme și schimbul de material genetic prin conjugare.

Există 6 tipuri de pili, denumite I, II, III, IV, pili comuni și pili F, care se deosebesc în funcție de caracteristicile lor morfologice, numărul și funcțiile biologice pe care le îndeplinesc. În ultimii ani, există o tendință de a face o distincție semnificativă între termenul "fimbrii" și cel de "pili".

Tipurile I - IV includ fimbriile și au un rol important în aderarea bacteriilor la suprafețe. Acești fimbrii sunt adesea determinați de gene cromozomale și pot fi prezenți în număr mare, ajungând la sute pe o celulă bacteriană, contribuie la capacitatea bacteriilor de a se atașa de alte celule sau de suprafețe, ceea ce poate fi crucial în patogeniza lor.

Pili de conjugare de tip F (sau pili de sex) sunt codificați de plasmide transmisibile și sunt implicați în procesul de conjugare între bacterii. Acești pili reprezintă calea de transfer efectiv a materialului genetic între bacterii în timpul conjugării, de asemenea, funcționează ca receptori specifici sau pentru bacteriofagi. Pe suprafața unei celule bacteriene, se pot găsi între 1 și 10 astfel de pili F.

Din punct de vedere chimic, pili și fimbriile au o structură proteică, tipurile I - IV de pili (fimbriile) sunt alcătuiți din subunități proteice, cunoscute sub numele de fimbriine, cu o masă moleculară de aproximativ 16.000 daltoni. Aceste subunități proteice sunt dispuse într-o aranjare helicoidală, formând o structură tubulară, în interiorul acestui tub se delimitază o cavitate.

Pe de altă parte, pili sexuali de tip F sunt constituiți dintr-o fosfoglicoproteină numită pilină, cu o masă moleculară mai mică de aproximativ 11.800 de daltoni. Această pilină joacă un rol esențial în funcționarea pililor F în procesul de conjugare bacteriană.

Datorită naturii lor proteice, pili și fimbriile au proprietăți antigenice specifice, care diferă de cele ale flagelilor. De asemenea, este important de menționat că, dacă sunt îndepărtați mecanic sau distrusi, pili pot fi reconstituiți cu ușurință de către bacterie, ceea ce le conferă o capacitate de adaptare și reparație remarcabilă.

Pilii și fimbriile au mai multe funcții în bacterii:

- atât pilii de conjugare, cât și fimbriile comune conțin receptori pentru bacteriofagi. Aceasta înseamnă că acești apendici pot servi ca puncte de atașare pentru bacteriofagi, care sunt virusuri care infectează bacteriile.
- pilii de conjugare acționează ca niște "cârlige retractile" care aduc în contact bacteriile donatoare și receptoare în timpul procesului de conjugare bacteriană, această interacțiune permite transferul efectiv de material genetic între bacterii, cum ar fi plasmide sau fragmente de ADN.
- fimbriile comune (tipurile I-IV) mediează aderența bacteriilor la suprafețe, inclusiv la celulele epiteliale. Acest lucru favorizează colonizarea bacteriilor și poate juca un rol crucial în patogeniza infecțiilor bacteriene.
- pilii pot interacționa și se pot întrepătrunde unii cu alții, ceea ce duce la formarea de pelicule la suprafața mediilor lichide. Aceasta favorizează creșterea bacteriilor saprofite în apele stagnante sau slab oxigenizate în profunzime.
- anumite tipuri de pilii au capacitatea de a aglomera sau aglutina celulele, inclusiv globulele roșii de la anumite specii de animale. Acest fenomen poate fi folosit pentru a grupa și clasifica tulpinile bacteriene, cum ar fi în cazul *E. coli*.

**Spinii**, cunoscuți și sub numele de spicule bacteriene, sunt apendici pericelulari care se găsesc la anumite bacterii Gram-negative. Acești apendici sunt rigizi, au o formă tubulară și pot fi observați la microscopul electronic în preparate, ca niște structuri drepte care se dispun perpendicular pe suprafața bacteriilor. Numărul de spini variază între 1 și 15 pe o singură celulă bacteriană, și aceștia par a fi distribuiți aleatoriu pe suprafața celulei.

Structura spinilor constă într-un filament cu o formă tubulară, cu un diametru de aproximativ 65 nm și o lungime cuprinsă între 1 și 3  $\mu\text{m}$ . Acești spinii sunt legați de suprafața membranei externe a peretelui celular, iar zona de legare poate avea o formă conică. Spinii pot fi ușor detașați de la suprafața bacteriilor, fie prin tratament cu proteaze, fie prin agitare.

Deși există multe caracteristici cunoscute despre spinii bacterieni, semnificația lor biologică rămâne în mare parte necunoscută. Motivul pentru care bacteriile dezvoltă acești spinii și rolul lor exact în biologia bacteriană

nu sunt încă pe deplin înțelese. Aceste structuri pot avea funcții specializate sau pot fi rezultatul evoluției bacteriilor în medii specifice, dar sunt necesare cercetări pentru a dezvălui cu precizie rolul și importanța lor biologică.

**Glicocalixul** este o structură alcătuită dintr-o masă de filamente polizaharidice atașate de lipopolizaharide, care se găsește pe suprafața celulelor. Această structură creează o acoperire asemănătoare unei pânze pe suprafața celulei și joacă un rol important în asigurarea aderenței ferme și adesea specifice a celulei, la alte celule sau suporturi neanimate.

Glicocalixul nu este prezent în culturile pure de laborator, ci se formează doar la celulele aflate în condiții naturale. Sub microscopul electronic, celulele care prezintă glicocalix sunt înconjurate de o rețea de fibre care le leagă între ele și de alte celule sau suprafețe inerte.

Glicocalixul are mai multe funcții importante, prezența lui la bacteriile patogene le conferă o serie de proprietăți, cum ar fi:

- aderența la celule, ajută bacteriile să se atașeze ferm de alte celule sau suprafețe, ceea ce poate fi esențial în procesele de infectare;
- menținerea în medii naturale, poate ajuta bacteriile să rămână ancorate în mediile naturale, contribuind la supraviețuirea și creșterea lor;
- rezistență mărită la îndepărtare sub acțiunea cauzelor mecanice, poate proteja bacteriile împotriva îndepărtării mecanice, ceea ce le permite să rămână fixate în locurile dorite;
- rezistență mărită în competiție cu bacteriile antagonice, această structură poate conferi un avantaj bacteriilor în competiția cu alte bacterii pentru resurse și aderență la suprafețe;
- rezistență la atacul bacteriofagilor, poate contribui la protejarea bacteriilor împotriva infecțiilor cu bacteriofagi;
- împiedică fagocitoza, poate să împiedice celulele fagocitare, precum macrofagele, să fagociteze bacteriile, protejându-le astfel de eliminarea lor din organism;
- rezistență la acțiunea factorilor protectori din organismul gazdă, ajută bacteriile patogene să evite sau să reziste acțiunii sistemelor de apărare ale organismelor gazdă.

**Sporul bacterian** reprezintă o formă primitivă de diferențiere celulară, constând în formarea unei noi tipuri de celule în interiorul celei vegetative. Această celulă diferențiată se deosebește de celula-mamă prin caracteristici ultrastructurale, chimice și enzimaticе.

Cunoscut și sub numele de endospor, este o structură sferică sau ovală, refringentă, cu dimensiuni variabile în funcție de specie și de stadiul de dezvoltare al culturii bacteriene, precum și de condițiile de mediu. În medie, dimensiunile unui spor bacterian se situează în intervalul de 0,5/0,9-1,5 μm, de obicei, într-o singură celulă bacteriană se formează un singur spor. Cu toate acestea, există excepții, în care s-au descris două sau mai mulți spori în aceeași bacterie. Bacteriile Gram-pozitive, cum ar fi cele din genurile *Bacillus* și *Clostridium*, sunt cele mai cunoscute pentru capacitatea lor de a forma spori, unele bacterii din genul *Sarcina* au și ele această capacitate.

Sporul bacterian reprezintă o strategie de supraviețuire în fața condițiilor nefavorabile ale mediului, aceasta permite bacteriilor să supraviețuiască în condiții extreme, cum ar fi lipsa nutrienților sau expunerea la substanțe chimice nocive, până când mediul devine din nou prielnic pentru creșterea lor.

Procesul de morfogeneză al sporului bacterian implică trei stadii distincte:

- stadiul preparativ, este caracterizat prin detașarea unui segment din cromozomul bacterian și condensarea citoplasmei în jurul acestui segment. În acest proces, se formează o structură specializată, cunoscută sub numele de prespor, care va da naștere sporului.
- stadiul de prespor, unde se formează un sept care delimitează presporul, procesul de divizare este important pentru a separa presporul de celula-mamă și a-i conferi independență.
- stadiul de spor matur, la acest stadiu, sporul își reduce dimensiunile și suferă maturizarea. Sporul matur este rezistent și capabil să supraviețuiască în medii nefavorabile până când condițiile devin favorabile din nou pentru germeni.

Forma, dimensiunile și localizarea sporului în forma vegetativă (sau sporangiu) pot varia în funcție de specie, diametrul sporului poate fi mai mic sau mai mare decât cel al formei vegetative, ceea ce poate sau nu provoca deformarea acesteia. De asemenea, poziția sporului în interiorul celei vegetative poate fi variabilă, fiind așezat central, subterminal (cu aspect de suveică), terminal (cu aspect de băț de chibrit sau rachetă de tenis) sau lateral.

Sporii bacterieni trec adesea într-o stare de repaus relativ, cunoscută sub numele de criptoliză, în care activitatea metabolică este redusă. Această stare le permite să supraviețuiască perioadelor de stres sau condițiilor nefavorabile până când revin la activitate completă în mediul potrivit.

Structura unui spor bacterian, observată de la exterior la interior, este următoarea:

- exosporium, reprezintă cea mai externă structură a sporului fiind membranoasă, deși nu este esențial pentru supraviețuirea sporului, exosporiul poate juca un rol în protejarea acestuia împotriva factorilor de mediu.
- peretele sporal, sub exosporium, se găsește peretele sporal, care are o structură lamelară complexă. Peretele sporal este una dintre componentele esențiale ale sporului, asigurându-i rezistența împotriva stresorilor din mediu, acesta conține diverse straturi de compuși, inclusiv proteine și polizaharide, care contribuie la rezistența sporului la condiții dure.
- citoplasma sporală (sau sporoplasma), este o componentă internă a sporului și este delimitată de o membrană citoplasmatică. În interiorul citoplasmei se pot găsi particule mici cu un diametru de aproximativ 10 nm, care reprezintă ribozomi. Această componentă este relativ redusă în cantitate.
- componenta centrală (sâmburele) este o structură internă a sporului care conține materialul genetic, adică ADN-ul bacterian. Acest material genetic este într-un stadiu de deshidratare înaltă și nu conține ARN (acid ribonucleic). Sâmburele conține, de asemenea, o substanță specifică numită acid dipicolinic sub formă de sare de calciu. Această sare are un rol crucial în rezistența sporului la căldură, menținerea stării de criptoliză (stare de repaus relativă) și în procesul de germinare ulterioară a sporului.

Compoziția și caracteristicile proteinelor din învelișurile sporale bacteriene sunt distincte față de cele ale celulelor vegetative, cu diferențe notabile în proporția de aminoacizi și reactivitatea imunologică. Enzimele prezente în spori au o greutate moleculară mai mică decât cele din forma vegetativă, dar sunt mult mai rezistente la temperaturi ridicate, de asemenea, sporul conține o cantitate mai mare de ioni de calciu (Ca) și magneziu (Mg) comparativ cu forma vegetativă. Conținutul de apă din spor este mai scăzut, conține săruri de fosfor și potasiu, în spori sunt absente incluziile de  $\beta$ -hidroxibutirat și enzimele ciclului Krebs.

Germinarea este procesul de transformare a sporului în forma vegetativă și are loc atunci când spori ajung în condiții favorabile de hrană, umiditate, pH și temperatură. Acest proces se desfășoară în trei faze distincte, pe parcursul aproximativ a 90 de minute:

- faza de activare, în această fază, sporul este activat pentru germinare, ceea ce presupune schimbări în structura și reactivitatea sa. Acest proces poate implica evenimente precum scindarea unor legături chimice sau modificări ale proteinelor de pe suprafața sporului.
- faza de germinare propriu-zisă care implică procesele de hidratare și schimbări chimice în spor, care conduc la transformarea acestuia într-o celulă vegetativă activă. Aceasta poate implica activarea enzimelor și a metabolismului, pregătind sporul pentru reproducere.
- faza de degradare, sporul devine o celulă vegetativă complet activă, capabilă să se înmulțească și să se dezvolte în mediul înconjurător. Aceasta implică deschiderea învelișurilor sporale și activarea proceselor metabolice necesare pentru creșterea și divizarea celulară.

Evidențierea sporilor bacterieni poate fi dificilă datorită caracteristicilor lor. Sporii au o permeabilitate redusă, o densitate mare a conținutului și o afinitate scăzută pentru coloranți, ceea ce face să nu fie ușor de colorat cu metodele obișnuite. În mod normal, sporii pot să nu se coloreze deloc sau pot fi observați doar ca un contur.

Sporii bacterieni au mai multe roluri esențiale în viața microorganismelor și în relația lor cu mediul înconjurător:

- conservarea materialului genetic, prin sporulare, speciile bacteriene pot conserva materialul lor genetic pe termen lung, asigurând astfel perpetuarea speciilor, acest mecanism de conservare a ADN-ului este deosebit de important în contextul evoluției și adaptării bacteriilor la medii variabile.
- rezistența la condiții de mediu nefavorabile, sporii bacterieni au o rezistență notabilă la condițiile de mediu dure, aceasta include rezistența la radiații, uscăciune, temperaturi ridicate și alți factori de stres. Prin formarea sporilor, bacteriile pot supraviețui perioadelor de condiții nefavorabile și pot reveni la starea lor vegetativă atunci când mediul devine prielnic.
- persistența surselor de infecție, sporii pot rezista pentru perioade lungi de timp în mediul înconjurător, asigurând persistența surselor de

infecție. Aceasta poate fi relevantă în contextul agenților patogeni care pot cauza boli infecțioase, sporiile pot rămâne viabili în mediu și pot infecta gazda când condițiile devin favorabile.

- rezistența la căldură și substanțe chimice, sporiile bacterieni sunt extrem de rezistenți la temperaturi ridicate, putând tolera expuneri la temperaturi de până la 120°C timp de câteva ore. De asemenea, aceștia rezistă la contactul îndelungat cu anumite substanțe antibacteriene, cum ar fi formolul sau alcoolul, această rezistență este crucială pentru supraviețuirea sporiilor în medii ostile.



## 3. FIZIOLOGIA BACTERIANĂ

### 3.1. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A BACTERIILOR

Compoziția chimică a bacteriilor este similară cu cea a tuturor organismelor vii, conține aproximativ 20 de elemente din tabelul periodic și poate fi împărțit în trei grupe:

#### Elemente de bază

- hidrogen (H)- participă la formarea legăturilor covalente și este prezent în molecule organice precum apa.
- carbon (C)- formează scheletul structural al compușilor organici.
- azot (N)- este prezent în aminoacizi, componente ale proteinelor, și în bazele azotate ale acizilor nucleici.
- oxigen (O)- esențial pentru respirația celulară, prezent în compuși organici și apă.
- fosfor (P)- component al acizilor nucleici și al moleculelor de energie, cum ar fi ATP.
- sulf (S)- participă la structura proteinelor și la alte molecule organice.
- Aceste elemente sunt esențiale pentru structura și energia celulelor vii, fiind componente cheie ale proteinelor, lipidelor și zaharidelor.

**Elementele prezente în concentrații sub 1%**, mai ales sub formă ionizată, includ  $K^+$  (potasiu),  $Na^+$  (sodiu),  $Mg^{2+}$  (magneziu),  $Cl^-$  (clor),  $Ca^{2+}$  (calciu), aceste elemente joacă un rol crucial în funcțiile celulare.

Au impact în diverse aspecte ale biologiei bacteriene, cum ar fi:

- activarea enzimelor, ionii precum  $Mg^{2+}$  pot servi ca și cofactori esențiali în activarea unor enzime, au roluri semnificative în catalizarea reacțiilor biochimice din celulă.
- permeabilitatea sistemului membranal, ionii de  $Ca^{2+}$  pot influența permeabilitatea membranei celulare, jucând un rol în reglarea trecerii substanțelor prin membrana bacteriană.
- vascozitatea citoplasmei, anumiți ioni pot afecta proprietățile fizice ale citoplasmei, inclusiv vascozitatea, care poate influența mobilitatea și difuzia moleculelor în interiorul celulei.

**Oligoelementele**, precum  $Mn^{2+}$  (mangan),  $Fe^{2+}$  și  $Fe^{3+}$  (fier în formă redusă și oxidată),  $Co^{2+}$  (cobalt),  $Cu^{2+}$  (cupru),  $MoO_4^{2-}$  (molibden în formă de anion),  $SeO_3^{2-}$  (seleniu în formă de anion),  $WO_4^{2-}$  (wolfram în formă de anion), sunt prezente în celula bacteriană în cantități foarte reduse, sub 0,001%. Aceste elemente joacă un rol crucial în metabolismul bacterian, deoarece fac parte din structura unor coenzime esențiale pentru desfășurarea corectă a proceselor biochimice.

Bacteriile au, în medie, un conținut de apă de aproximativ 85% din masa lor celulară. Acest conținut ridicat de apă este esențial pentru funcționarea corectă a celulei bacteriene și pentru desfășurarea proceselor metabolice. Apa îndeplinind mai multe roluri esențiale în cadrul celulei bacteriene și anume:

- solubilizare și transport, apa servește ca mediu de solubilizare pentru substanțele chimice, inclusiv electroliți și substanțe neelectrolitice, facilitând transportul acestora în interiorul celulei.
- mediu reactiv pentru reacții metabolice, cum ar fi hidroliza și reacțiile anabolice, au loc în mediu apos.
- participare directă la reacții chimice, inclusiv hidroliza, care implică descompunerea unor molecule sub acțiunea apei.
- unitate fizico-chimică și biologică, împreună cu substanțele anorganice și macromoleculele organice, apa formează o unitate fizico-chimică și biologică în cadrul celulei care este esențială pentru menținerea integrității structurale și funcționale a celulei bacteriene.

### 3.2. NUTRIȚIA BACTERIANĂ

Nutriția bacteriană cuprinde toate procesele prin care bacteriile obțin din mediul înconjurător substanțele esențiale pentru supraviețuirea, creșterea și reproducerea lor. În ceea ce privește respirația bacteriană, aceasta reprezintă modalitatea prin care bacteriile își generează energia necesară pentru activitatea metabolică.

Bacteriile se diferențiază în funcție de *sursele de energie* pe care le utilizează, împărțindu-se în două categorii principale:

- **bacterii fotosintetizante** care utilizează energia luminii pentru a sintetiza compuși proprii.

- **bacterii chimiosintetizante** acestea își procură energia prin intermediul unor reacții de oxido-reducere ale unor substanțe.
- Bacteriile care oxidează substanțe anorganice sunt numite **lithotrofe**, iar cele care oxidează substanțe organice sunt denumite **chemoorganotrofe**.

De asemenea, bacteriile sunt clasificate în funcție de *sursa de carbon* în:

- **bacterii autotrofe** acestea sintetizează compuși organici pornind de la substanțe anorganice, având CO<sub>2</sub> drept sursă principală de carbon.
- **bacterii mixotrofe** utilizează atât substanțe organice, cât și CO<sub>2</sub> ca surse de carbon.
- **bacterii heterotrofe** acestea se bazează exclusiv pe substanțe organice ca sursă de carbon.

În ceea ce privește *sursa de azot*, majoritatea bacteriilor de interes medical obțin azotul din aminoacizi, însă unele utilizează și sărurile de amoniu, cum ar fi *Escherichia coli* sau *Salmonella*.

*Sursa de oxigen* pentru dezvoltarea bacteriilor este variabilă și va fi discutată în contextul reacțiilor de energogeneză.

### 3.2.1. Cerințele nutritive ale bacteriilor cu importanță medicală

Bacteriile cu relevanță medicală, cu foarte puține excepții, sunt în mare parte *heterotrofe* și dependente de chimiosinteză. Pentru a se reproduce, acestea necesită substanțe organice, ioni variabili, oligoelemente și factori de creștere precum vitaminele B1, B2, acidul pantotenic, biotina, lactoflavina, acidul folic.

Cererea de substanțe organice diferă semnificativ între speciile bacteriene, de exemplu, *Escherichia coli* se dezvoltă eficient în medii care conțin o singură sursă organică de carbon, cum ar fi glucoza, acetatul sau succinatul. Aceste medii trebuie să furnizeze, de asemenea, o sursă de azot (de exemplu, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), ioni esențiali pentru dezvoltare (cum ar fi K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>), și oligoelemente precum Cl<sup>-</sup>, Co, Cu, Mo, Ni, Se, Zn.

Pe de altă parte, altele bacterii depind de substanțe organice precum aminoacizii, purinele, pirimidinele, vitaminele, factorii de creștere, pe care nu le pot sintetiza singure. Aceste bacterii sunt adaptate la habitatul lor natural,

cum ar fi organismul uman sau animal, care furnizează aceste substanțe necesare pentru creștere și multiplicare.

Pe măsură ce cerințele nutritive ale bacteriilor cresc, dependența lor față de o gazdă naturală devine mai accentuată. Astfel, o categorie distinctă în rândul bacteriilor heterotrofe este reprezentată de *bacteriile paratrofe*. Aceste bacterii, precum cele din genul *Rickettsia* cărora lipsesc anumite enzime sau cele din genul *Chlamydia* care nu pot realiza procese de energogeneză, sunt incapabile să se înmulțească decât în interiorul celulelor vii, prin urmare, aceste bacterii au un habitat natural obligator intracelular.

Diferențele în necesitățile nutritive pot exista chiar și în interiorul aceleiași specii bacteriene. Prin mutații sau alte mecanisme ale variabilității genetice, unele tulpini pot pierde capacitatea de a sintetiza anumiți compuși esențiali pentru dezvoltare, depinzând de prezența acestora în mediul înconjurător, astfel de tulpini sunt denumite *auxotrofe*, în timp ce tulpinile originale de unde au derivat se numesc *prototrofe*.

Un exemplu ilustrativ este reprezentat de tulpinile prototrofe ale *E. coli*, principalul agent etiologic al infecțiilor urinare, care sunt capabile să sintetizeze timidina, necesară pentru replicarea ADN-ului, prin urmare, în condițiile uroculturilor obișnuite unde lipsește timidina, rezultatele vor indica constant fals sterile, deoarece tulpina auxotrofă prezentă în urină nu poate să se dezvolte în absența acestui nucleotid.

### 3.3. METABOLISMUL BACTERIILOR

Metabolismul bacterian cuprinde totalitatea proceselor biochimice care au loc în celula bacteriană, inclusiv interacțiunile cu mediul înconjurător, și are ca finalitate creșterea și multiplicarea bacteriei. Aceste procese se împart în trei categorii principale:

- **reacții catabolice**- acestea constau în fragmentarea substratului nutritiv în unități componente, eliberând energie în proces, acest tip de reacții contribuie la descompunerea și extragerea energiei din moleculele organice.
- **reacții metabolice intermediare**- în aceste etape, energia rezultată din reacțiile catabolice este stocată în compuși macroergici, asigurând o sursă de energie pentru procesele ulterioare, astfel, energia este capturată și menținută în forme accesibile pentru celulă.

- **reacții anabolice**- acestea implică sinteza substanțelor necesare pentru creșterea și funcționarea celulei bacteriene, consumând energie, celula își sintetizează propriile componente, precum proteine, acizi nucleici și alți compuși esențiali.

Toate aceste procese sunt catalizate de enzime, al căror mod de funcționare este controlat genetic, activitatea enzimelor este fin ajustată pentru a se adapta eficient condițiilor în care bacteriile cresc și se multiplică. Controlul genetic asigură o reglare precisă a intensității acestor reacții metabolice în funcție de mediul înconjurător și necesitățile celulei bacteriene.

## Reacțiile catabolice

Bacteriile heterotrofe descompun substanțele organice din mediul înconjurător printr-o serie de reacții enzimatice, parcurgând în principiu câteva faze distincte:

- **descompunerea extracelulară**, bacteriile, în special cele care trăiesc în medii umane, secretă exoenzime hidrolitice pentru a descompune macromoleculele din mediu, cum ar fi proteinele, acizii nucleici, colagenul, mucopolizaharidele și lipidele. Aceste exoenzime nu numai că descompun aceste substanțe organice, ci pot de asemenea să funcționeze ca factori de patogenitate.
- **absorbția substanțelor din mediu**, bacteriile absorb substanțele prin trei mecanisme distincte:
  - *pasiv* prin difuziune în funcție de diferența de concentrație a unei substanțe între interiorul și exteriorul celulei, un exemplu este absorbția pasivă a glicerolului;
  - *activ* prin fosforilare, cu consum de energie, a substanței care urmează să fie absorbită, de exemplu, glucoza este absorbită numai sub forma glucozo-6-fosfatului;
  - *activ* cu consum energetic prin legarea la permeaze, acest mecanism implică legarea substanțelor de proteinele de transport numite permeaze. Prin acest mecanism, bacteriile pot absorbi substanțe la concentrații mai mari decât cele din mediul înconjurător.

Un aspect remarcabil în metabolismul bacteriilor este transportul transmembranar al fierului, esențial pentru procesele lor de multiplicare. În țesuturile organismelor, fierul nu se găsește în formă liberă, ci este legat de proteine precum transferina și siderofilina. Bacteriile au produs mecanisme

ingenioase pentru absorbția fierului prin secreția de siderofori, substanțe chelatoare de fier care extrag fierul din complexele sale și îl fac astfel absorbabil.

Procesul metabolic al bacteriilor cuprinde mai multe etape, printre care:

- **pregătirea substanțelor pentru oxidare**, aceasta include reacții precum decarboxilarea, dezaminarea și fosforilarea, care pregătesc moleculele pentru procesul de oxidare.
- **oxidarea substanțelor cu eliberare de energie sau respirația bacteriană**, este definită ca o pierdere de electroni sau ioni de hidrogen. Substanța care se oxidează este donatorul, în timp ce cea care se reduce este acceptorul de hidrogen, această reacție generează o substanță oxidată, una redusă și o cantitate specifică de energie liberă.

Substanța de bază pentru producerea de energie în multe bacterii este glucoza, un monozaharid care poate fi metabolizat pe mai multe căi, în funcție de capacitatea lor oxidativă.

Aceste procese complexe evidențiază adaptările ingenioase ale bacteriilor pentru a asigura resursele necesare creșterii și multiplicării lor în mediile variate în care se găsesc.

**Respirația**, aici, acceptorul final de hidrogen este oxigenul atmosferic. Bacteriile care efectuează respirația utilizează oxigenul pentru a finaliza lanțul lor respirator și a elibera energie.

Procesul de respirație în bacterii este strâns legat de sistemul lor membranar, inclusiv membrana citoplasmatică și mezozomii. Respirația generează o cantitate semnificativ mai mare de energie în comparație cu fermentația, datorită faptului că oxidarea substratului este urmată de oxidarea de transfer. În acest proces, electronii sunt transportați de-a lungul lanțului respirator, care include componente precum citocromii, flavoproteinele și ubiquinona, până la acceptorul final de hidrogen, care în cazul respirației bacteriene este oxigenul atmosferic, acest lanț respirator este asociat cu fosforilarea oxidativă.

Prin urmare, în urma degradării complete a unei molecule de glucoză, bacteriile obțin o cantitate notabilă de energie, tradusă în 38 de molecule de ATP. Totuși, în cazul unei degradări incomplete, determinată de absența unor enzime oxidative, cantitatea de energie eliberată este mai mică.

**Fermentația**, în acest proces, acceptorul final de hidrogen este o substanță organică, bacteriile care se angajează în fermentație utilizează această cale atunci când oxigenul nu este disponibil, generând energie în absența unei surse externe de oxigen.

În acest proces metabolic compușii organici servesc drept donori și acceptori de electroni, și are loc pe următoarele căi metabolice:

- *glicoliza prin calea Emden-Meyerhof* această cale metabolică transformă o moleculă de glucoză în două molecule de acid piruvic, energia rezultată în acest proces este stocată în două molecule de ATP.
- *fermentația secundară* a piruvatului, după glicoliză, piruvatul poate suferi fermentație secundară, conducând la producerea de diverse produse metabolice, aceste fermentații pot include fermentația lactică, alcoolică, propionică, butirică sau mixtă (de exemplu, lactica și formica), în funcție de produsii specifici ai metabolismului.
- *căi alternative de metabolizare a glucozei*, folosite pentru metabolizarea glucozei, cum ar fi calea fosfatilor și calea Entner-Doudoroff, aceasta din urmă este specifică pentru genul *Pseudomonas*.

Aceste căi metabolice oferă bacteriilor posibilitatea de a adapta și diversifica utilizarea glucozei și de a produce o varietate de produse metabolice în funcție de necesitățile și condițiile mediului înconjurător.

**Respirația anaerobă**, în acest caz, acceptorul final de hidrogen este oxigenul prezent într-o sare anorganică, precum nitrat sau sulfat, care se va reduce. Este important să subliniem că termenul "respirație anaerobă" folosit pentru a descrie bacteriile strict anaerobe se referă, de fapt, la fermentație în absența oxigenului.

Această diversitate de strategii metabolice permite bacteriilor să se adapteze la diferite condiții de mediu și să utilizeze surse variate de energie pentru a-și susține funcțiile vitale.

Din punct de vedere practic, bacteriile pot fi împărțite în funcție de necesarul lor de oxigen în următoarele categorii:

- **bacterii strict aerobe**, aceste bacterii se dezvoltă numai în prezența oxigenului atmosferic și utilizează exclusiv respirația aerobă, având oxigenul ca acceptor final de hidrogen. Exemple includ *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis*.

- **bacterii strict anaerobe**, nu se dezvoltă decât în absența oxigenului, iar prezența acestuia poate fi toxică chiar și la o presiune redusă (de exemplu,  $10^{-5}$  atm). Aceste bacterii utilizează fermentația ca proces energogenetic exclusiv în condiții anaerobe, evitând oxidarea substratului. Dacă fermentația are loc în prezența oxigenului, pot apărea radicali de superoxid ( $O_2^-$ ) foarte toxici. Bacteriile strict anaerobe, spre deosebire de cele aerobe, nu au enzimele superoxid dismutază și catalază, care sunt implicate în neutralizarea acestor radicali, de exemplu bacteriile din genurile *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*.
- **bacterii facultativ anaerobe**, se pot dezvolta atât în prezența, cât și în absența oxigenului atmosferic, ele pot utiliza respirația aerobă, fermentația, iar unele chiar respirația anaerobă, majoritatea speciilor de interes medical sunt facultativ anaerobe, cum ar fi enterobacteriile.
- **bacterii anaerobe aerotolerante**, utilizează doar fermentația în prezența oxigenului atmosferic, fără a implica oxigenul în reacțiile lor energogenetice, ele tolerează oxigenul datorită prezenței enzimelor superoxid dismutază și catalază în echipamentul lor enzimatic, sau aceste enzime există în mediul de cultură, de exemplu, bacteriile din genul *Streptococcus* lipsite de catalază, dar pot fi cultivate în condiții aerobe pe medii care conțin sânge, unde sângele acționează ca o sursă de catalază.
- **bacterii microaerofile**, aceste bacterii utilizează atât respirația, cât și fermentația, dar necesită o concentrație mai mare de bioxid de carbon decât cea din atmosferă pentru reacții de carboxilare, specii precum cele din genurile *Neisseria*, *Brucella*, *Campylobacter* sunt exemple de bacterii microaerofile ce necesită concentrații de bioxid de carbon mai ridicate, în intervalul de 6-10%.

În principiu, reacțiile energogenetice ale bacteriilor prezintă asemănări fundamentale cu cele ale celulelor eucariote. Aceste reacții includ:

- glicoliza prin calea Embden-Meyerhoff poate avea loc atât în condiții de aerobioză, cât și anaerobioză.
- calea pentozofosfatilor, produce  $NADPH_2$ , un important donator de ioni de hidrogen pentru reacțiile anabolice.
- beta-oxidarea acizilor grași, descompune acizii grași în unități mai mici, generând energie.



- ciclul acizilor tricarboxilici, un ciclu metabolic implicat în eliberarea de energie prin oxidarea acizilor organici.
- dezaminarea oxidativă și transaminarea aminoacizilor, procese de eliminare a grupelor amino din aminoacizi, generând molecule care pot intra în căile metabolice.
- oxidarea de substrat, implică procesul de oxidare a diferitelor substanțe organice, generând energie.
- fosforilarea oxidativă, un proces cheie în generarea de ATP, în care energia eliberată în timpul transferului de electroni este utilizată pentru a sintetiza ATP.

Liniile metabolice specifice diferitelor specii bacteriene variază semnificativ în funcție de substratul prezent în mediul de creștere și de bagajul genetic al bacteriei, spre exemplu, *Bacteroides fastidiosus* poate cataboliza doar acidul uric sau produsele de degradare ale acestuia, în timp ce *Pseudomonas multivorans* poate utiliza peste 100 de substraturi diferite ca sursă de carbon.

Cunoașterea cerințelor nutriționale ale bacteriilor este esențială pentru pregătirea mediilor corespunzătoare pentru cultivarea lor, iar înțelegerea performanțelor metabolice ale acestor microorganisme este crucială, deoarece, împreună cu caracteristicile morfologice, constituie criteriile de bază pentru identificarea lor.

## **Reacții metabolice intermediare**

În cadrul reacțiilor intermediare ale proceselor de oxidare, energia generată este transformată în energie chimică, fie sub forma unor tioesteri precum Acetyl~SCoA, fie sub forma de ATP. Această energie stocată poate fi ulterior eliberată atunci când este necesară pentru inițierea unor reacții catabolice sau pentru sinteza moleculelor cu rol structural sau funcțional.

Prođușii intermediari obținuți în timpul acestor reacții de oxidare pot fi utilizați de bacterie pentru a sintetiza substanțe specifice propriilor sale necesități. Astfel, aceste procese nu numai că furnizează energie esențială pentru diversele activități metabolice ale bacteriilor, ci și contribuie la producerea de molecule complexe cu funcții variate, inclusiv structurale și funcționale.

## Reacții anabolice

Reacțiile anabolice reprezintă procese prin care celula bacteriană sintetizează, cu consum energetic, molecule complexe cu rol structural (macromolecule) și funcțional (enzime) din compuși simpli obținuți în timpul reacțiilor catabolice sau intermediare. Aceste reacții includ, de asemenea, sinteza unor substanțe cu rol de rezervă energetică, cum ar fi incluziile de polizaharide și lipide.

Din perspectiva biosintezelor, bacteriile au practic posibilități nelimitate, exemple notabile includ complexitatea structurilor membranare ale bacteriilor și structura peretelui celular, componente pe care celula bacteriană le poate sintetiza adesea dintr-un singur compus organic prezent în mediu.

Capacitatea de biosinteză variază între specii bacteriene, unele bacterii pot sintetiza toți aminoacizii, nucleotidele, monozaharidele și coenzimele din substanțe simple, rezultate în cursul reacțiilor catabolice și intermediare ale metabolismului, în contrast, altele sunt dependente de aportul extern al acestor substanțe.

Bacteriile de interes medical ocupă un loc intermediar în această gamă, având capacități variate de biosinteză, performanțele biosintetice ale microorganismelor sunt exploatate în diverse industrii, inclusiv industria farmaceutică, care obține antibiotice, aminoacizi și vitamine prin activitatea dirijată a microorganismelor. Industria alimentară beneficiază și ea de capacitățile biosintetice ale bacteriilor în producerea brânzeturilor și a băuturilor alcoolice, iar unele bacterii sunt promițătoare pentru decontaminarea apelor poluate cu hidrocarburi alifatiche.

Reglarea metabolismului are ca scop adaptarea economică a reacțiilor și a intensității lor la substratul nutritiv prezent în mediul în care trăiește bacteria. Aceasta se realizează prin modularea activității enzimelor bacteriene, a căror structură alosterică favorizează inactivarea lor de către produsul final, ale cărui formare au catalizat-o.

### 3.4. CREȘTEREA ȘI ÎNMULȚIREA BACTERIILOR

Creșterea și înmulțirea bacteriilor sunt rezultatul proceselor nutritive și metabolice bacteriene. Viteza de multiplicare a bacteriilor este extraordinar de rapidă. Printr-un calcul ipotetic, s-a constatat că dacă o bacterie se divide la fiecare 20 de minute, atunci într-o zi ar rezulta  $1 \times 10^{21}$  de celule dintr-o singură celulă bacteriană cultivată într-un mediu nelimitat, aceasta ar echivala cu o masă de aproximativ 4.000 de tone.

Cu toate acestea, în realitate, o rată atât de rapidă de înmulțire a bacteriilor nu este posibilă. Acest lucru este împiedicat de epuizarea substanțelor nutritive și a factorilor de creștere, pe de o parte, și de acumularea metabolitilor toxici, pe de altă parte. Astfel, există bariere naturale în mediul înconjurător care reglează și limitează ritmul de creștere bacteriană, menținând un echilibru în ecosistem.

Marea majoritatea a bacteriilor se reproduc prin diviziune binară, un proces în care o celulă mamă se dividă în două celule fiice, totuși, există excepții notabile, cum ar fi *Chlamydiile*, care trec printr-un ciclu de dezvoltare unic în lumea bacteriană. Înainte de diviziune, celula bacteriană experimentează o creștere în volum, însoțită de dublarea materialului nuclear și a componentelor citoplasmatică. Acest proces conduce la un dezechilibru între masa și volumul celulei bacteriene, atunci când acest dezechilibru atinge un punct critic, are loc diviziunea celulei mamă, rezultând două celule fiice identice cu celula părinte.

În cazul bacililor, diviziunea are întotdeauna loc pe un plan perpendicular față de lungimea bacteriilor, asigurând o orientare uniformă. În schimb, la coci, planurile de diviziune pot fi variate. Celulele fiice rezultate pot să se separe imediat după diviziune sau să rămână conectate, generând o configurație specifică, utilă pentru identificarea bacteriilor, cum ar fi cele din genurile *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*.

În cazul diviziunii bacteriilor Gram-pozitive, aceasta are loc prin formarea unui sept între cele două celule fiice, în schimb, bacteriile Gram-negative se divid prin strangulare directă. Aceste diferențe în modul de diviziune contribuie la diversitatea structurală și la caracteristicile de recunoaștere a diferitelor tipuri de bacterii.

### 3.5. EVOLUȚIA ȘI MULTIPLICAREA BACTERIILOR ÎNTR-UN MEDIU CU RESURSE LIMITATE

Atunci când se introduce un inocul (un număr redus) de celule bacteriene într-un mediu de cultură proaspăt și se incubează într-o atmosferă propice speciei respective, bacteriile vor experimenta creștere și multiplicare. Intervalul de timp dintre două diviziuni celulare consecutive se numește timp de generație. Evaluând numărul de celule bacteriene la diferite intervale de timp de la momentul inoculării și reprezentând grafic raportul dintre acest număr și timpul scurs, se pot obține două curbe caracteristice în funcție de celulele bacteriene luate în considerare.

Aceste curbe pot reprezenta fie o numărătoare totală a germenilor, care include toate celulele bacteriene care au luat naștere, atât cele vii cât și cele moarte, fie o numărătoare a germenilor viabili. Aprecierea numărului de microbi viabili este deosebit de importantă în practică, deoarece indică numărul de bacterii capabile să se înmulțească în continuare, astfel se poate face distincția între totalul de celule și celulele care sunt încă capabile să susțină procesul de creștere și diviziune, furnizând informații relevante pentru evaluarea stadiului activ al populației bacteriene.

Multiplicarea bacteriilor în mediu limitat cuprinde următoarele faze:

*Faza de lag-* reprezintă o perioadă în care nu se observă o creștere numerică semnificativă a celulelor bacteriene, chiar dacă acestea își măresc volumul și manifestă o activitate metabolică intensă. Durata acestei faze variază în funcție de specie, condițiile de mediu și numărul inițial de celule din inocul, intervalul de timp este cel în care celulele se adaptează la noile condiții de mediu.

În această etapă, dacă mediul în care sunt inoculate diferă de cel din care provin, celulele bacteriene trebuie să-și ajusteze echipamentul enzimatic la noile condiții, renunțând la secreția unor enzime și înlocuindu-le cu altele. În faza de lag, pot apărea mutații sau se poate produce selecția de mutante capabile să crească sau să se înmulțească în noul mediu. Sensibilitatea bacteriilor la agenții chimioterapici este crescută în această fază.

Pentru majoritatea bacteriilor de interes medical, durata fazei de lag este de aproximativ jumătate de oră, în timp ce pentru formele sporulate aceasta poate ajunge la 3-4 ore. Este o perioadă crucială în evoluția culturii bacteriene, în care adaptarea la mediul nou și ajustarea activității metabolice sunt procese esențiale pentru succesul ulterior al creșterii și înmulțirii celulare.

*Faza exponențială sau logaritmică* în ciclul de creștere bacteriană este precedată de o fază de accelerare, în care celulele bacteriene încep să se înmulțească din ce în ce mai rapid. Aceste celule se divid constant prin fisură binară, generând o progresie logaritmică în raportul dintre numărul bacteriilor și timp, care este liniar. Această rată intensă de multiplicare este posibilă doar *in vitro*, în mediul *in vivo* aceasta este semnificativ încetinită de mecanismele de apărare antiinfecțioase ale gazdei. Durata acestei perioade este influențată de aceleași condiții de mediu ca și faza anterioară, dar și de specie. De exemplu, *E. coli* are un timp de generație de aproximativ 10 minute, în timp ce *Mycobacterium tuberculosis* depășește 25 de ore. Sensibilitatea la antibiotice a microbilor rămâne crescută în această fază.

Compoziția mediului de cultură se modifică pe parcursul acestei faze, pe de o parte datorită consumului de substanțe nutritive și pe de altă parte din cauza acumulării de metaboliti. Faza de înmulțire logaritmică este ulterior urmată de o perioadă de încetinire, care se instalează odată cu epuizarea resurselor sau acumularea de produși metabolici.

*Faza staționară* reprezintă stadiul în ciclul de creștere bacteriană în care multiplicarea în progresie logaritmică nu mai este posibilă, iar rata de înmulțire scade treptat, conducând bacteriile către această fază de stabilizare. În această etapă, numărul bacteriilor rămâne constant, sugerând că numărul celulelor care se nasc este echivalent cu cel al celulelor care mor. Totuși, în realitate, numărul constant de bacterii rezultă dintr-o echilibrare între înmulțire și deces.

În faza staționară, celulele bacteriene nu mai cresc ci manifestă o activitate metabolică endogenă. Aceasta implică sintetizarea de rezerve de energie și produși intermediari necesari pentru menținerea vieții în noile condiții. Încetarea multiplicării în această fază se datorează, în principal, epuizării unui factor nutritiv esențial din mediu, numit factor limitant, și acumulării de produse toxice, cum ar fi acizii organici, care prin scăderea pH-ului în mediu, limitează multiplicarea bacteriilor. Sensibilitatea tulpinilor la agenții chimioterapici scade în faza staționară.

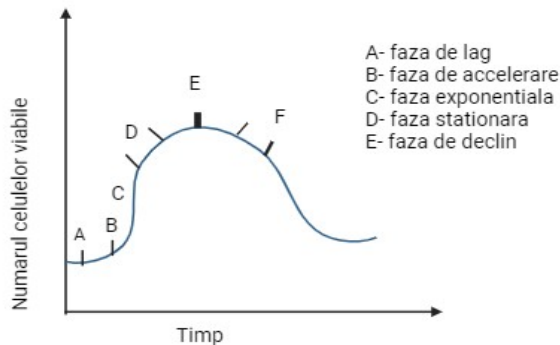
Datorită schimbării condițiilor de viață, bacteriile prezintă modificări ale morfologiei și fiziologiei lor, atât în comparație cu alte faze ale ciclului de creștere, cât și în comparație cu faza exponențială, de exemplu, bacteriile Gram-pozitive pot deveni Gram-negative pe froturiile colorate, pierzând capacitatea de a reține cristalul violet. În această fază, celulele conțin cantități mari de polizaharide și lipide, substanțe absente în faza de multiplicare exponențială.

La începutul fazei staționare, unele specii bacteriene produc metaboliți secundari cu distribuție taxonomică precisă, incluzând antibiotice, colicine și exotoxine. De asemenea, sporogeneza la bacteriile sporulate începe la sfârșitul fazei exponențiale sau la începutul fazei staționare, durata fazei staționare variază, durând în general câteva ore, în funcție de specie și condiții de mediu.

*Faza de declin*, care se întinde pe parcursul mai multor zile, se caracterizează prin reducerea numărului de bacterii, evidențiindu-se o discrepanță între curba care ilustrează numărul total de bacterii și cea care reprezintă bacteriile viabile. Această scădere este determinată de epuizarea substanțelor nutritive și acumularea de substanțe toxice pentru bacterii. La acești factori se adaugă, în cazul unor specii bacteriene, proprietatea de autoliză, care implică eliberarea conținutului citoplasmatic în mediul înconjurător. În timpul acestei faze, se observă modificări semnificative în ceea ce privește forma, dimensiunile și caracteristicile tintoriale ale bacteriilor.

Pe măsură ce toate bacteriile mor, cu excepția celor sporulate, cultura înregistrează autosterilizarea. Această fază de declin reflectă condițiile nefavorabile din mediul de creștere, inclusiv lipsa resurselor esențiale și acumularea de substanțe toxice.

Cultivarea bacteriilor în medii limitate este frecvent utilizată în laboratoarele de bacteriologie medicală pentru stabilirea diagnosticului infecțiilor bacteriene. Caracteristicile culturale devin deosebit de importante în identificarea bacteriilor, iar această fază de declin oferă indicii semnificative despre modul în care bacteriile răspund la condițiile de mediu și cum se schimbă în timp.



**Figura 6. Multiplicarea bacteriilor.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Atunci când se dorește creșterea unei mase microbiene semnificative sau producerea unor compuși bacterieni în scopuri de cercetare, dezvoltare de vaccinuri sau în diverse industrii precum cea farmaceutică sau alimentară, cultivarea bacteriilor se efectuează în sisteme deschise. În aceste sisteme, mediul de cultură este înlocuit continuu cu un mediu proaspăt, iar masa de bacterii nou-formată este îndepărtată simultan. Acest proces menține bacteriile într-o fază logaritmică de creștere, prezentând o curbă de înmulțire cu aspect liniar. Pentru a realiza aceste culturi continue, se utilizează echipamente specializate precum chimiostate sau turbidistate.

### **Înmulțirea bacteriilor în organism**

Observând curba de multiplicare a bacteriilor într-un mediu limitat, putem deduce că, după intrarea în organism a unui număr redus de microbi, poate să apară o infecție. Un exemplu în acest sens este meningita, în care meningococul se reproduce rapid, punând în pericol viața pacientului în absența unui tratament antiinfecțios adecvat.

Cu toate acestea, nu toate bacteriile se divid cu aceeași rapiditate. *Bacilul tuberculos*, de exemplu, cu un timp de generație de 24 de ore, se va multiplica lent și va cauza o infecție cu evoluție insidioasă și cronică.

Agenții infecțioși prezenți doar în organismele infectate vor supraviețui în medii *in vitro* doar în condiții de temperatură, osmolaritate și pH similare cu cele din corpul uman. Microorganismele care au și alte habitate decât cel uman cresc într-un interval mai larg, iar necesitățile nutriționale ale unui microb reflectă în general mediul său specific. De exemplu, gonococii, care trăiesc aproape exclusiv în organismul uman, necesită condiții de cultivare *in vitro* mai specifice, în timp ce bacterii precum *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și altele, care supraviețuiesc frecvent în mediul înconjurător, se dezvoltă în medii de cultură mai simple.

Habitatul în organism al agenților infecțioși este un alt aspect important. Bacteriile cu habitat extracelular sunt expuse acțiunii anticorpilor, sistemului complementului și fagocitozei, spre deosebire de bacteriile care se multiplică intracelular și sunt protejate de acești factori, scăpând uneori de supravegherea imunologică.

Bacteriile dezvoltă mecanisme adaptative pentru a depăși barierele care le stau în cale în timpul multiplicării lor. Este important să menționăm că, chiar și atunci când multiplicarea bacteriilor este oprită, simpla lor prezență în organism poate constitui un stimul imunologic permanent, cu consecințe benefice sau, dimpotrivă, dăunătoare.

### 3.6. CULTIVAREA BACTERIILOR

Cunoașterea cerințelor nutritive ale bacteriilor reprezintă un aspect crucial în bacteriologia medicală, deoarece stă la baza elaborării mediilor de cultură destinate izolării diverselor specii bacteriene din eșantioane biologice sau patologice.

În primele etape ale dezvoltării bacteriologiei, prepararea mediilor de cultură era o activitate artizanală, iar numeroși bacteriologi au intrat în istoria microbiologiei prin contribuția lor la dezvoltarea mediilor specifice, care își poartă și astăzi numele. De exemplu, menționăm mediul Loeffler, utilizat pentru cultivarea *Bacilului difteric*, mediul Löwenstein-Jensen, destinat *Bacilului lui Koch*, sau mediul selectiv Wilson-Blair, folosit pentru identificarea *Salmonelilor*, printre multe altele.

Prin investigarea cerințelor nutritive ale diferitelor specii bacteriene, s-au dezvoltat medii de cultură adecvate pentru aproape toate bacteriile de interes medical. Speciile bacteriene care nu pot fi cultivate în laborator sunt foarte puține, cum ar fi *Mycobacterium leprae* și unele spirochete, printre care se numără *Treponema pallidum*.

Cultivarea bacteriilor în scopuri diagnostice se confruntă, în esență, cu două provocări principale:

1. alegerea unui mediu de cultură optim, care să faciliteze izolarea tuturor bacteriilor ce ar putea fi prezente în proba examinată.
2. obținerea bacteriilor în culturi pure, astfel încât acestea să poată fi identificate cu precizie.



### 3.7. CONDIȚII GENERALE PENTRU CULTIVAREA BACTERIILOR

Un mediu de cultură obișnuit trebuie să conțină apă, substanțe organice, minerale, oligoelemente și factori de creștere. Pentru a satisface aceste necesități, se utilizează diferite substraturi biologice nutritive complexe care includ următoarele ingrediente:

- *peptonul* obținut prin hidroliza enzimatică sau acidă a proteinelor de origine animală (cum ar fi făina de oase). Peptonele nu au o compoziție chimică foarte bine definită, dar constituie o sursă universală de azot, sub formă de peptide și aminoacizi, potrivită pentru cultivarea majorității bacteriilor.
- *extractul de carne* obținut prin deshidratarea decoctului de carne de vită, conține creatină, xantină, hipoxantină, acid uric, acid adenilic, glicocol, uree, glutamină ca surse de azot, precum și glicogen, hexozofosfați, acid lactic, ca surse de carbon.
- *extractul de drojdie* obținut prin cultivarea controlată a drojdiilor și conține numeroase vitamine, în special cele din grupul B.

Alte ingrediente importante includ:

- *clorura de sodiu* adăugată în mediile obișnuite într-o concentrație de 0,9%. Pentru cultivarea bacteriilor halofile, concentrația poate crește până la 10%.
- *mono sau polizaharidele și alcoolii*, glicerina, manitol și alți alcoolii pot îmbogăți mediile, oferind surse de carbon ușor accesibile pentru multe bacterii.

**Cultivarea microbilor în medii lichide** este o practică frecvent utilizată pentru a stimula înmulțirea microorganismelor care sunt prezente într-un produs într-un număr mic. Un mediu lichid simplu, des întâlnit în laboratoarele de bacteriologie, este bulionul, preparat din decoct de carne de vită, peptonă și clorură de sodiu, cu toate acestea, cultivarea în medii lichide are dezavantajul că nu permite obținerea unei culturi pure.

Caracteristicile culturale ale microbilor în medii lichide sunt diverse, de exemplu, bacteriile din familia *Enterobacteriaceae* pot tulbura uniform mediul, în timp ce altele, precum bacteriile strict aerobe (*Pseudomonas*, *Nocardia*), pot forma pelicule la suprafața mediului. Există și bacterii care

formează agregate, dezvoltându-se sub forma de grunji care se depun pe pereții eprubetei sau la fundul mediului, cum este cazul *Streptococcus*. Unele bacterii secretă pigmenți solubili în mediul de cultură, precum bacilul piocianic (*Ps.aeruginosa*).

**Cultivarea bacteriilor pe medii solide** reprezintă un avans semnificativ în tehnicile de diagnostic, deoarece permite dezvoltarea distinctă a microorganismelor sub forma de colonii izolate. O colonie bacteriană reprezintă o micropopulație rezultată din înmulțirea unui singur microb pe un mediu și este în general vizibilă cu ochiul liber.

Cel mai simplu mediu solid este geloza simplă, obținută prin adăugarea la bulion a unei substanțe gelificabile, de obicei geloza, un polizaharid obținut din alga marina agar-agar. La acest mediu simplu se pot adăuga diverse ingrediente (sânge de oaie, ser, ascita, extract de drojdie) pentru a cultiva bacteriile cu cerințe specifice.

Caracteristicile culturale sunt esențiale în identificarea microbilor și pot fi evaluate cu ochiul liber sau cu ajutorul unei lupe. Elementele descrise în general includ dimensiunea, forma, pigmentul, consistența, aderența la mediu, activitatea hemolitică și alte modificări produse de microorganisme în mediul respectiv.

Colonii cu aspect neted, margini regulate și care se suspendă uniform în ser fiziologic sunt denumite "colonii de tip S" (smooth), în timp ce coloniile aceleiași specii, cu suprafață rugoasă, relief și margini neregulate, care aglutinează spontan în ser fiziologic, sunt clasificate ca "colonii de tip R" (rough). În general, cu unele excepții, coloniile de tip S sunt asociate cu tulpini virulente, în timp ce cele de tip R sunt considerate nevirulente.

Cultivarea microbilor pe medii solide permite și numărarea bacteriilor într-un anumit produs, aspect deosebit de important în evaluarea unor infecții unde criteriul de implicare etiologic este numărul bacteriilor în produsul examinat, cum ar fi în cazul infecțiilor urinare.

**Mediile speciale** presupun situații în care izolarea și cultivarea unui anumit microorganism necesită medii speciale care să favorizeze selectarea sa din medii intens contaminate sau să îi ofere condiții optime de creștere. Aceste medii speciale sunt proiectate pentru a satisface cerințele specifice ale anumitor microorganisme și pentru a inhiba creșterea altora, facilitând astfel identificarea și izolarea celor căutați.

**Mediile de îmbogățire** sunt medii lichide concepute pentru a favoriza înmulțirea preferențială a unui anumit microorganism într-un amestec

complex, de exemplu, există medii cu conținut crescut de clorură de sodiu (1-10%), în care se pot dezvolta doar bacteriile halofile, precum stafilococul (mediul Chapman lichid) și enterococul.

Unele medii de îmbogățire includ factori selectivi, cum ar fi selenitul de sodiu, care permite dezvoltarea salmonelilor din materiile fecale. Alte medii se bazează pe proprietatea anumitor microorganisme de a se dezvolta la un pH mai acid sau mai alcalin decât majoritatea speciilor bacteriene de interes medical, de exemplu, *Vibrionul holeric* se dezvoltă preferențial la un pH alcalin, în timp ce *Brucela* se dezvoltă bine la un pH acid.

Aceste medii specializate permit selecția și înmulțirea microorganismelor de interes în ciuda prezenței altor microorganisme într-un amestec. Utilizarea mediilor de îmbogățire este crucială în laboratoarele de microbiologie pentru izolarea și identificarea eficientă a anumitor patogeni sau microorganisme de interes medical.

Mediile selective sunt deosebit de utile în izolarea și identificarea bacteriilor, simplificând semnificativ acest proces. Atunci când un mediu de îmbogățire se solidifică, rezultă un mediu selectiv, avantajos pentru obținerea microbilor sub forma de colonii izolate. Utilizarea acestor medii a facilitat considerabil procedurile de izolare și identificare a bacteriilor în domeniul microbiologiei.

**Mediile selective** se bazează pe particularitățile metabolice ale unor specii microbiene sau, mai ales, pe rezistența naturală a acestora la antibiotice. Ele sunt utilizate frecvent în laboratoarele de bacteriologie, oferind posibilitatea de a izola orice microb dintr-un amestec complex, cultivându-l într-o cultură pură. Această abordare simplifică identificarea și studiul fiecărui microorganism în parte.

Prin solidificarea mediilor de îmbogățire și transformarea lor în medii selective solide, microbiologii pot obține colonii izolate, permițând astfel o evaluare clară și distinctă a fiecărui microb prezent într-un eșantion. Aceasta contribuie la precizia diagnosticului și la înțelegerea detaliată a diversității microbiene în diverse probe și medii.

Mediile de diagnostic diferențial sunt medii de cultură concepute pentru a evidenția anumite proprietăți fiziologice și caracteristici biochimice ale tulpinilor bacteriene prin care acestea pot fi identificate, de exemplu, multe specii bacteriene pot fi recunoscute în funcție de zaharurile pe care le fermentă. Mediile de diagnostic cu zaharuri conțin zahărul în cercetare și un

indicator de pH, dacă bacteria înmulțită în acest mediu fermentează zahărul, culoarea mediului se schimbă după câteva ore datorită scăderii pH-ului.

În trecut, mediile de cultură erau pregătite manual în laboratoarele de bacteriologie, însă astăzi producția lor a devenit o industrie puternică. Există mii de companii angajate într-o concurență continuă, rezultând elaborarea unor medii de cultură din ce în ce mai performante. Aceste avansuri nu numai că facilitează și îmbunătățesc diagnosticul microbiologic, dar și contribuie la progresul asistenței medicale în acest domeniu.

## 4. GENETICĂ BACTERIANĂ ȘI REZISTENȚA ANTIINFEȚIOASĂ

Conceptul de gen ca entitate fizică moștenită, care determină o anumită caracteristică a organismului, datează din primele zile ale geneticii. În prima jumătate a secolului al XX-lea, biologii moleculari au fost preocupați de compoziția genelor. Deoarece se știa că genele trebuie să fie localizate pe cromozomi, iar cromozomii din celulele sunt compuși în mare parte din proteină și acid dezoxiribonucleic (AND), o presupunere rezonabilă a fost că genele trebuie să fie alcătuite din una dintre aceste substanțe. La început, proteina era considerată ca fiind cea mai probabilă candidată, deoarece, din ceea ce se știa despre structura moleculară la acea vreme, oferea mai multe posibilități de variație, esențiale pentru a explica mii de gene pe care orice organism trebuie să le posede.

Drumul pentru a dovedi că ADN-ul este de fapt "substanța vieții" a fost lung și dificil. În continuare, vom menționa câteva dintre experimentele cheie care au furnizat dovezi cruciale.

În 1928, Fred Griffith a efectuat o serie de experimente care nu numai că au demonstrat pentru prima dată fenomenul de transfer genetic la bacterii (subiect pe care îl vom detalia mai târziu în acest capitol), dar au reprezentat primul pas către demonstrarea că ADN-ul era materialul genetic. Griffith a arătat că era posibilă transferarea caracteristicilor moștenite de la un tip de bacterie la altul, dar la acel moment componenta celulară responsabilă pentru acest fenomen nu era cunoscută.

În anii 1930, s-au făcut încercări de izolare și identificare a principiului de transformare, așa cum a devenit cunoscut, iar în 1944, Avery, MacLeod și McCarty au publicat un articol care, pentru prima dată, a propus ADN-ul ca material genetic. Avery și colegii săi au demonstrat că atunci când ADN-ul a fost inactivat prin tratament enzimatic, capacitatea de transformare a fost pierdută dintr-un extract celular.

Carbhidrații sau orice altă componentă celulară inactivată în mod similar, a menținut acest principiu de transformare, cercetătorii continuând să caute dovezi pentru a elucida cu adevărat misterul materialului genetic.

Cu toate acestea, a fost nevoie de câțiva ani în plus până când rezultatele experimentale ale lui Alfred Hershey și Martha Chase au fost combinate cu modelul pentru structura ADN-ului dezvoltat de Watson și

Crick. Aceste descoperiri au jucat un rol esențial în consolidarea acceptării universale a rolului central al ADN-ului în genetica organismelor. Astfel, ADN-ul a devenit recunoscut drept materialul genetic fundamental al vieții.

Genetica bacteriană se ocupă cu studiul eredității și variației observate în bacterii. Toate caracteristicile ereditare ale bacteriilor sunt codificate în ADN-ul lor, care este prezent în cromozomi, precum și în materialul genetic extracromozomial, cunoscut sub numele de plasmidă.

## **4.1. EREDITATEA ȘI VARIABILITATEA**

Ereditatea și variabilitatea sunt concepte importante în biologie și se aplică și la bacterii. Iată cum se manifestă aceste concepte în cazul bacteriilor:

### **Ereditatea la bacterii**

Materialul genetic la bacterii este de obicei sub formă de ADN (acid dezoxiribonucleic), asemănător cu organismele eucariote. Acest ADN poartă informația genetică și este transmis de la o generație la alta.

Bacteriile se reproduc prin diviziune celulară simplă, prin scindarea în două a celulei mamă. În timpul acestui proces, materialul genetic (ADN) este replicat și împărțit între cele două celule fiice, asigurând astfel transmiterea informației genetice.

### **Variabilitatea la bacterii**

Variabilitatea genetică la bacterii este generată prin mutații, care sunt modificări ale secvenței de ADN. Aceste mutații pot apărea în timpul replicării ADN-ului sau ca răspuns la agenți mutageni (cum ar fi radiațiile sau substanțele chimice).

Bacteriile pot experimenta recombinație genetică, care este procesul prin care materialul genetic este schimbat între bacterii, inclusiv prin transferul de plasmide sau ADN între bacterii în timpul conjugării (transfer genetic direct) sau în timpul transformării (absorbția de ADN străin din mediu).

## 4.2. PLASMIDELE

Plasmidele sunt moleculele de ADN circulare, dublu catenare, extracromozomiale care există în stare liberă în citoplasma bacteriilor.

*Aspecte esențiale ale plasmidelor:*

- bacteriile pot câștiga sau pierde plasmide în decursul vieții lor supraviețuind și fără ele și sunt capabile să se replice independent.
- acestea pot fi prezente în mod individual sau în mai multe exemplare, până la peste 40 de plasmide pe celulă.
- dacă plasmidele se integrează cu ADN-ul cromozomial al bacteriilor, se formează epizoame.
- procesul de eliminare a plasmidelor din bacterii este cunoscut sub numele de "curing" (vindecare, curățire).

### 4.2.1. Clasificarea plasmidelor

#### *I. Bazată pe capacitatea de a efectua conjugarea*

- **Plasmide conjugative** sau plasmide **auto-transmisibile** care au capacitatea de a facilita transferul de material genetic între bacterii prin intermediul procesului numit conjugare. Aceste plasmide conțin gene specifice care le permit să efectueze acest transfer de material genetic și să medieze formarea unui tub de conjugare între celula donatoare și celula receptoare.

#### **Principalele caracteristici ale plasmidelor conjugative:**

- *Transfer de gene*- plasmidele conjugative permit bacteriilor să transfere material genetic, inclusiv plasmide și fragmente de ADN, de la o bacterie donatoare la o bacterie receptoare.
- *Tub de conjugare*- pentru a realiza transferul de gene, plasmidele conjugative mediază formarea unui tub de conjugare, care este o structură (punți de citoplasmă) de contact fizic între cele două bacterii implicate în proces. Acest tub de conjugare facilitează transferul materialului genetic.

- *Mecanism de transfer*- plasmidele conjugative conțin un set de gene specifice numite gene de conjugare, care sunt responsabile pentru producerea proteinelor și structurilor necesare pentru formarea tubului de conjugare și transferul de gene.
- *Autonomie*- plasmidele conjugative pot exista în mod autonom în citoplasma bacteriilor, ceea ce înseamnă că ele există în afara cromozomului bacterian.
- *Transfer direcțional*- transferul de gene prin conjugare are loc în mod direcțional, de la bacteriile donatoare la cele receptor. De obicei, bacteriile care conțin plasmide conjugative sunt denumite "F+" (F pozitive), iar cele care nu conțin astfel de plasmide sunt denumite "F-" (F negative).
- **Plasmide nonconjugative** sau plasmide **non-transmisibile**. Acestea nu pot transfera ele însele materialul genetic.

### **Principalele caracteristici ale plasmidelor non-conjugative:**

- *Lipsa genelor de conjugare*- plasmidele non-conjugative nu conțin genele specifice numite "gene de conjugare" care sunt necesare pentru a efectua transferul de gene prin conjugare. Aceste plasmide nu pot forma tubul de conjugare.
- *Funcții diverse*- deși plasmidele non-conjugative nu pot efectua transferul de gene prin conjugare, ele pot conține alte gene cu funcții variate. Aceste funcții pot include rezistența la antibiotice, producerea de enzime specifice sau alte caracteristici care pot oferi un avantaj selectiv bacteriilor care le poartă.
- *Reproducere independentă*- plasmidele non-conjugative se pot replica independent în celulele bacteriene gazdă și pot fi păstrate în aceste celule pe termen scurt sau lung, în funcție de circumstanțe.
- *Efecte fenotipice*- genele transportate de plasmidele non-conjugative pot conferi bacteriilor gazdă anumite avantaje sau caracteristici fenotipice, precum rezistența la antibiotice sau capacitatea de a metaboliza anumite substanțe.



## ***II. Bazată pe compatibilitate***

### ***Plasmide compatibile și plasmide incompatibile***

Doar ***plasmidele compatibile*** pot coexista în interiorul unei celule bacteriene fără a se exclude reciproc sau a interfera una cu cealaltă. Aceasta înseamnă că bacteriile gazdă pot transporta și păstra mai multe plasmide compatibile în același timp în interiorul lor. Compatibilitatea se referă la capacitatea acestor plasmide de a coexista armonios și de a se replica în aceeași celulă gazdă.

***Plasmidele incompatibile*** sunt plasmide extracromozomiale care nu pot coexista sau se exclud reciproc în aceeași celulă bacteriană. Acest fenomen are loc de obicei atunci când două sau mai multe plasmide au sisteme de replicare sau caracteristici moleculare incompatibile, astfel încât nu pot exista simultan în aceeași celulă gazdă. Cu alte cuvinte, atunci când o bacterie transportă deja o plasmidă incompatibilă, nu poate păstra o altă plasmidă incompatibilă în același timp.

## ***III. Bazată pe funcție***

**În raport cu funcția pe care o îndeplinesc există mai multe clase de plasmide:**

### **• *Plasmide de fertilitate sau F-plasmide***

**Caracteristicile plasmidelor de fertilitate (F-plasmide):**

- *Rol în conjugare*- plasmidele F sunt esențiale pentru inițierea și medierea procesului de conjugare bacteriană. Ele conțin toate genele necesare pentru formarea tubului de conjugare și pentru transferul materialului genetic de la celula donatoare (F+) la celula receptoare (F-).
- *Formarea tubului de conjugare*- plasmidele F conțin genele necesare pentru a forma structura numită "tub de conjugare" sau "pili de sex". Acest tub de conjugare permite transferul de gene și de plasmide între celule.
- *Conținut genetic variabil*- în plus față de genele necesare pentru conjugare, plasmidele F pot conține și alte gene, inclusiv gene de

rezistență la antibiotice sau gene de virulență. Astfel, ele pot transfera nu numai capacitatea de a efectua conjugarea, ci și alte caracteristici bacteriene importante.

- *Reversibilitate*- plasmidele F pot, uneori, să se integreze în cromozomul bacterian, transformându-se în ceea ce se numește un episom F (F'). Acești episomi pot apoi să fie transferați în timpul conjugării, ceea ce duce la transmiterea unor gene bacteriene corelate cu plasmida F'.
- F+ și F- bacteriile care conțin o plasmidă F sunt denumite "F+" (F pozitive), în timp ce cele care nu au plasmida F sunt "F-" (F negative). Procesul de conjugare are loc atunci când o bacterie F+ (donatoare) vine în contact cu o bacterie F- (receptor).

**Plasmide de rezistență (R)** conțin gene care conferă rezistență la diferite antibiotice.

Plasmidele de rezistență reprezintă un exemplu clar al adaptării bacteriilor la presiunea selectivă exercitată de utilizarea antibioticelor. Ele pot juca un rol semnificativ în răspândirea rezistenței la antibiotice și au o importanță considerabilă în domeniul medical și în cercetarea microbiologică.

#### **Caracteristicile plasmidelor de rezistență (plasmide R):**

- *Gene de rezistență*- plasmidele R conțin gene care produc proteine sau enzime care conferă bacteriilor rezistență la unul sau mai multe tipuri de antibiotice. Aceste gene pot codifica enzime care distrug antibioticul, proteine care pompează antibioticul din celulă sau alte mecanisme care reduc eficacitatea antibioticului.
- *Transfer de gene*- plasmidele R sunt adesea plasmide conjugative, ceea ce înseamnă că au capacitatea de a transfera aceste gene de rezistență de la o bacterie la alta prin intermediul procesului de conjugare bacteriană. Acest transfer de gene poate duce la răspândirea rezistenței la antibiotice în întreaga populație bacteriană.
- *Amplificare*- plasmidele R pot amplifica și multiplica genele de rezistență, ceea ce poate duce la creșterea nivelului de rezistență la antibiotice într-o celulă gazdă.

Există plasmide R specifice pentru diverse clase de antibiotice, cum ar fi plasmidele de rezistență la beta-lactamine (de exemplu, plasmidele care conferă rezistență la peniciline), plasmidele de rezistență la aminoglicozide, tetraciclina, sulfamide și altele.

Răspândirea rezistenței la antibiotice prin intermediul plasmidelor R este o preocupare majoră în domeniul medical, deoarece face ca tratamentul infecțiilor bacteriene să fie mai dificil și mai ineficient. Utilizarea judicioasă a antibioticelor și monitorizarea rezistenței bacteriene sunt importante pentru gestionarea acestei probleme.

***Plasmide Col*** conțin gene care codifică pentru bacteriocine.

Plasmidele de tip Col, sunt un grup de plasmide care se găsesc în bacteriile coliforme, cum ar fi *Escherichia coli*. Plasmidele Col conțin gene care sunt responsabile pentru sinteza și secreția bacteriocinelor care sunt niște proteine pe care le produc atât bacteriile gram pozitive cât și cele gram negative. Ele pot avea diverse efecte, inclusiv omorârea sau inhibarea creșterii bacteriilor concurente. Bacteriocinele pot fi folosite ca o armă în competiția pentru resurse în mediul înconjurător. Atunci când o bacterie conține un astfel de plasmid Col și îl exprimă, poate produce bacteriocine și le poate elibera în mediul său înconjurător pentru a inhiba sau ucide alte bacterii.

***Plasmide de virulență*** codifică factori de virulență, cum ar fi toxinele și adevinele.

***Plasmide metabolice***

Plasmidele metabolice, cunoscute și sub denumirea de plasmide de metabolism sau plasmide catabolice, sunt tipuri speciale de plasmide găsite în bacterii. Acestea conțin gene suplimentare care permit bacteriilor să metabolizeze sau să descompună substanțe specifice din mediu. În esență, plasmidele metabolice conferă bacteriilor capacitatea de a utiliza și de a beneficia de compuși chimici sau de molecule organice pe care nu le-ar putea metaboliza în mod normal.

## ***Plasmidele vectori***

Datorită capacității lor de a transfera ADN-ul de la o celulă la alta, plasmidele au devenit vectori importanți în ingineria genetică. Plasmidele conțin anumite situsuri în care genele pot fi introduse artificial prin tehnologia ADN recombinant. Astfel de plasmide pot fi folosite pentru producția de proteine sau terapie genetică.

## **4.3. TRANSFERUL DE GENE LA BACTERII**

Transferul de gene la bacterii poate fi împărțit în mod larg în două categorii:

- transferul vertical de gene (transmiterea genelor de la părinți la urmași)
- transferul orizontal de gene (transmiterea genelor de la o bacterie la alta).

Acest lucru se întâmplă prin:

### **1. TRANSFORMARE**

Transformarea este procesul de preluare aleatorie a unui fragment de ADN liber sau dezgolit din mediul înconjurător de către o celulă bacteriană și încorporarea acestei molecule în cromozomul său într-o formă ereditară.

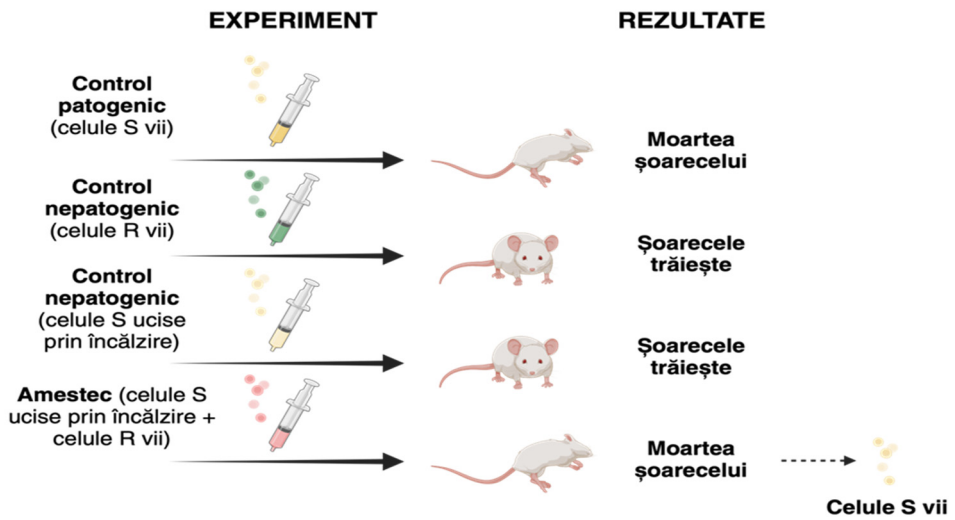
• La ora actuală există studii efectuate pe mai multe genuri bacteriene printre care se numără *Streptococcus*, *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Acinetobacter* și *Pseudomonas*.

**Experimentul lui Griffith** (1928) pe șoareci folosind tulpinile de pneumococi a furnizat dovezi directe ale transformării.

Este un experiment istoric în domeniul geneticii și bacteriologiei care a fost realizat de către bacteriologul britanic Frederick Griffith în 1928. Acest experiment a fost fundamental pentru înțelegerea transformării genetice la bacterii și a fost un pas important în dezvoltarea teoriei genetice.

Experimentul lui Griffith a fost realizat folosind două tipuri de bacterii pneumococice (*Streptococcus pneumoniae*), care cauzează pneumonie la mamifere, inclusiv la oameni:

1. tipul S (Smooth)- aceste bacterii au o capsulă de polizaharide în jurul lor, care le conferă rezistență la sistemul imunitar al gazdei. Bacteriile de tip S sunt patogene și pot provoca boala.
2. tipul R (Rough)- aceste bacterii nu au o capsulă de polizaharide și sunt mai puțin virulente, adică nu cauzează boala în mod normal.



**Figura 7. Experimentul lui Griffith.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Experimentul lui Griffith a constatat în următoarele etape:

- Griffith a injectat cobai cu bacterii de tip S, iar cobaii au dezvoltat pneumonie și au murit.
- El a injectat apoi cobai cu bacterii de tip R și aceștia au rămas sănătoși, deoarece bacteriile de tip R nu au putut cauza boala.
- Într-un alt set de experimente, Griffith a încălzit bacteriile de tip S până când au fost ucise, apoi le-a injectat în cobai, iar cobaii au rămas sănătoși. Acest lucru a demonstrat că bacteriile de tip S ucise nu au fost capabile să cauzeze boala.
- Într-un experiment ulterior, Griffith a mixat bacteriile de tip S ucise cu bacteriile de tip R vii și a injectat amestecul în cobai. Acest lucru a dus la moartea cobailor, iar bacteriile de tip S au fost găsite în organismul lor la autopsie.

Această descoperire a lui Griffith a condus la concluzia că materialul genetic din bacteriile de tip S ucise a fost transferat în bacteriile de tip R vii. Acest proces de transformare genetică a fost ulterior înțeles mai bine și a deschis calea pentru studierea transformării bacteriene și a ADN-ului ca material genetic. Experimentul lui Griffith a fost un pas important în evoluția înțelegerii geneticii și a influențat cercetările viitoare în domeniu.

## 2. TRANSDUCȚIE

Transducția este definită ca transmiterea unei părți de ADN de la o celulă bacteriană la alta prin intermediul unui bacteriofag.

### Tipuri de transducție

*Transducție generalizată*- implică transferul oricărei părți a genomului bacterian donor la bacteriile-receptoare intermediat de fagii virulenți.

*Transducție restrânsă sau specializată*- aici, doar un segment genetic specific al cromozomului bacterian care este prezent în apropierea ADN-ului bacteriofagului este transdus intermediat fiind de fagii temperați.

### Rolul transducției

- Pe lângă ADN-ul cromozomial, transducția este, de asemenea, o metodă de transfer a epizoamelor și plasmidelor.
- Rezistența la medicamente se obține prin transducție, de exemplu rezistența la penicilină codificată de plasmide pentru stafilococi.
- Se utilizează pentru obținerea de diferite tratamente, ca o metodă de inginerie genetică, în deficiențe metabolice congenitale.

**Bacteriofagii**, cunoscuți și sub numele de fagi, sunt un tip de virus care infectează și se reproduc în bacterii. Aceste virusuri sunt paraziți intracelulari obligatori ai bacteriilor, ceea ce înseamnă că au nevoie de o bacterie gazdă pentru a se reproduce și nu pot infecta celule eucariote, cum ar fi cele umane.

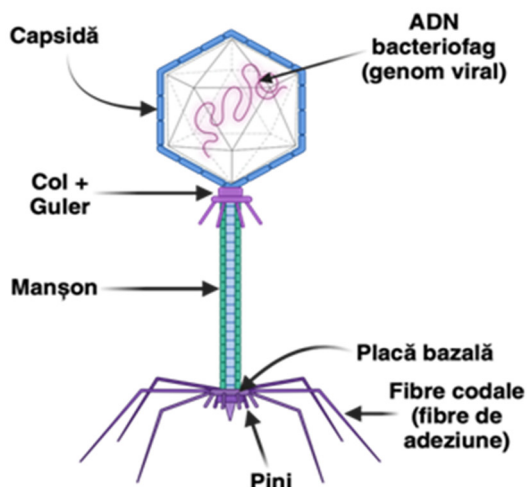
Bacteriofagii au o structură foarte simplă, formată în principal dintr-o capsidă proteică care înconjoară materialul lor genetic, care poate fi AND/ARN. Atunci când un bacteriofag infectează o bacterie, acesta

injectează materialul său genetic în celula bacteriană și folosește resursele acesteia pentru a se multiplica.

Compoziția bacteriofagului constă din 2% lipoizi, 3% hidrați de carbon, proteine în procent de 50%, acid dezoxiribonucleic 40%, 1-6% ARN, fiind determinată pe fagul stafilococic pentru prima dată de Schlessinger în anul 1933 cu ajutorul tehnicilor de purificare a enzimelor.

### **Un bacteriofag are următoarele componente structurale principale:**

- ❖ *Capsidă*- este stratul exterior al unui bacteriofag și este compusă din proteine. Are rolul de a proteja materialul genetic al virusului (ADN sau ARN) împotriva deteriorării și de a ajuta la atașarea fagului de bacteriile țintă.
- ❖ *ADN sau ARN*- acesta este materialul genetic al bacteriofagului.  
Materialul genetic conține informațiile necesare pentru replicarea și producerea de noi copii ale fagului în celulele gazdă bacteriene.
- ❖ *Coada (manșon)*- bacteriofagii au o structură alungită numită coadă care se atașează la capsidă. Coada servește la aderarea bacteriofagului la receptorii specifici de pe suprafața bacteriilor gazdă și la injectarea materialului genetic în interiorul celulei bacteriene.
- ❖ *Placă bazală și fibre codale (fibre de adeziune)*- aceste componente au rol în atașarea de bacteriile gazdă și în procesul de injectare a materialului genetic în celulă.



**Figura 8. Structura bacteriofagului.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender(BioRender.com)

**Conversia litică** se referă la tranziția unui ciclu de viață al unui bacteriofag, în care bacteriofagul se multiplică și distruge gazda bacteriană, denumită și ciclu litic. În acest ciclu, bacteriofagul infectează o bacterie gazdă, se reproduce în interiorul acesteia și apoi determină liza sau distrugerea bacteriei gazdă, eliberând noii fagi produși pentru a infecta alte bacterii.

Iată cum se desfășoară un ciclu litic al unui bacteriofag:

- *Adsorbția*- bacteriofagul se leagă de receptorii specifici de pe suprafața bacteriei gazdă. Această etapă este esențială pentru a asigura atașarea fermă a fagului la gazda bacteriană.
- *Pătrunderea în celulă*- bacteriofagul injectează materialul său genetic (ADN sau ARN) în interiorul bacteriei gazdă.
- *Replicarea și asamblarea*- materialul genetic al bacteriofagului preia controlul asupra celulei gazdă, determinând-o să producă noi copii ale fagului. Acești noi fagi se asamblează în interiorul bacteriei gazdă.
- *Liza*- pe măsură ce noii fagi se acumulează în interiorul bacteriei gazdă, aceasta se umple până la punctul în care se lizează. Acest lucru eliberează noii fagi în mediu pentru a infecta alte bacterii gazdă.



Ciclul litic este caracterizat de distrugerea activă a bacteriei gazdă în timpul procesului de replicare a fagului. Acest lucru este opus ciclului lizogenic, unde materialul genetic al bacteriofagului se integrează în genomul bacteriei gazdă și poate rămâne latent pentru o perioadă mai lungă de timp, fără a provoca liza bacteriei gazdă.

Conversia litică este esențială pentru ca fagi să se înmulțească și să se răspândească în medii bacteriene, fiind un mecanism prin care aceștia contribuie la controlul populațiilor bacteriene.

### **Conversia lizogenică**

În timpul ciclului de viață temperat sau lizogenic, ADN-ul bacteriofagului rămâne integrat în cromozomul bacterian ca profag.

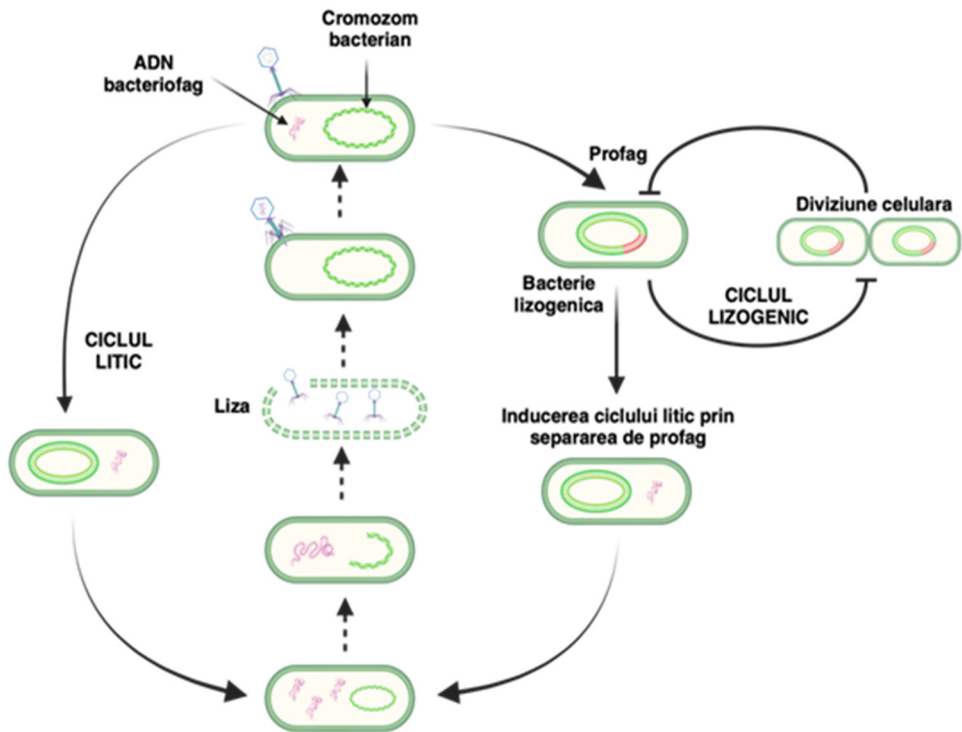
#### **Etapele conversiei lizogenice:**

- *Integrarea în genom*- în ciclul lizogen, bacteriofagul integrează materialul său genetic (ADN sau ARN) în genomul bacteriei gazdă. Această integrare se realizează printr-un proces numit lizogenie sau fagogenie.
- *Inactivare temporară*- după integrare, bacteriofagul și gazda formează o relație simbiotică în care bacteriofagul rămâne inactiv și nu declanșează procesul de replicare și liză a bacteriei gazdă. Acest stadiu se numește stadiul de profag.
- *Reproducere pasivă*- bacteriofagul se reproduce pasiv odată cu bacteriile gazdă de fiecare dată când acestea se divid. Materialul genetic al profagului este transmis la fiecare generație de bacterii gazdă.

*Reactivarea*- în anumite condiții, precum stresul ambiental sau daune la nivelul ADN-ului bacteriei gazdă, profagul poate fi reactivat. Acest lucru declanșează trecerea bacteriofagului de la stadiul lizogen la ciclul litic.

- Profagul acționează ca un element cromozomial suplimentar care codează noi caracteristici pentru celulele fiice.
- ADN-ul bacteriofagului poate codifica pentru diverse toxine regăsite în bacterii.

Iată câteva exemple: Toxinele A și C din exotoxina piogenică *Streptococcus* (SPE), toxinele *Botulinum* C și D, toxina colerică, toxina difterică și *E. coli* (Verocytotoxina).



**Figura 10. Conversia litică și lizogenică a bacteriofagului.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

***Variabilitatea la bacterii se mai poate produce și prin alte mecanisme:***

**Mutații-** sunt schimbări ale secvenței de ADN a unei bacterii. Aceste mutații pot apărea spontan ca urmare a erorilor în replicarea ADN-ului sau pot fi induse de factori mutageni, cum ar fi radiațiile sau substanțele chimice. Mutațiile punctiforme sunt reversibile fiind afectat un singur nucleotid în acest proces.

Procese ireversibile sunt deleția și inserția (pierdere respectiv adăugare) de la două până la mii de nucleotide ducând la schimbării esențiale ale secvenței AND.

Efectele mutațiilor conduc la dezvoltarea unor caracteristici noi la organismele individuale, cum ar fi:

- dezvoltarea rezistenței la tratamentul cu medicamente chimioterapice
- modificarea structurii antigenice
- pierderea specificității unor receptori pentru bacteriofagi
- pierderea capacității de a sintetiza anumiți metaboliți.

Mutația către fenotipuri chimiorezistente ne interesează în mod deosebit și poate apărea în două moduri distincte:

- prin mutații rapide și bruște (one step), în care bacteriile devin rezistente într-o singură etapă de mutație la un antibiotic.
- prin mutații multiple și succesive (multi-step), care conduc la apariția unei mutante rezistente la concentrații crescute de antibiotic.

Mutațiile naturale sunt rare, iar cele induse sunt cauzate de agenți mutageni precum radiatiile X, UV, derivatii acridinici și agenți alchilanți. Acești agenți selectează mutanții pentru a forma o populație bacteriană cu caracteristici noi, putând chiar să ducă la pierderea unui plasmid în totalitate prin afectarea mecanismelor de replicare, astfel încât plasmidele să nu mai fie moștenite de generațiile următoare.

**Conjugarea** se referă la transferul materialului genetic de la o bacterie (donatoare sau masculină) la alta bacterie (receptor sau feminină) prin împerechere și formarea tubului de conjugare. A fost descoperită pentru prima dată de Lederberg și Tatum în 1946. Primul pas în această cercetare s-a făcut la Universitatea din Stanford unde a fost utilizată o tulpină de *E. Coli* care atunci când era supusă iradierii cu radiații electromagnetice oferea variante, diferite de tulpina neiradiată, cu cerințe ridicate de nutriție în mediile de cultură. Varianta inițială a fost denumită prototrofă iar cele obținute ulterior auxotrofe. Cei doi cercetători au cultivat pe același mediu variante diferite auxotrofe evidențiind recombinarea lor. Prototrofismul obținut era rezultatul unei recombinări efectuată în două etape.

În prima etapă se conjugă germenii prin formarea tubului de conjugare (punți de citoplasmă) și se pot evidenția mai multe caractere ereditare datorate neomogenității microbiene fiind obținut un număr mare de prototrofi. Ele au fost denumite Hfr (high frequency of recombination) și pot fii integrate în cromozomul bacterian comportându-se ca un epizom.

În a doua etapă proprietățile ereditare se manifestă diferit, prin formarea recombinărilor și exprimarea genică a informațiilor dobândite.

Conjugarea joacă un rol important în transferul plasmidelor care codează pentru rezistența la antibiotice [factorul de transfer al rezistenței (RTF)] și producția de bacteriocine [factorul colicinogenic (Col)].

- Factorul R (sau factorul de rezistență) este o plasmidă care are două componente.
- Factorul de transfer al rezistenței (RTF) este plasmida responsabilă pentru transferul conjugat (similar factorului F).
- Determinantul de rezistență (r) codifică rezistența la un medicament. Un factor R poate avea mai multe determinante r.

### ***Recombinarea genetică.***

În lumea procariotelor, se întâlnesc diverse modalități de recombinare genetică, bazate pe capacitatea ADN-ului de a forma heteroduplexe și de a integra fragmente străine de ADN. Recombinarea naturală apare atunci când două molecule de ADN omoloage se găsesc în aceeași celulă. Recombinarea prin transpoziție constă în inserarea de noi secvențe de ADN într-o gazdă fără a fi necesară omologia între acestea. În plus, există recombinarea situs-specifică care are loc între secvențe specifice de nucleotide ale moleculelor de ADN bacterian și ADN fagic. Pentru ca recombinarea să aibă loc, este necesară prezența secvențelor omoloage în ambele molecule și a unui complex enzimatic particular care facilitează recunoașterea și integrarea secvențelor implicate în procesul de recombinare.

Aceste mecanisme de reorganizare a materialului genetic contribuie la variație în populațiile bacteriene și joacă un rol esențial în adaptarea la medii în schimbare, dezvoltarea rezistenței la antibiotice și în evoluția bacteriilor.

## 4.4. REZISTENȚA ANTIMICROBIANĂ

Rezistența antimicrobiană poate fi de două tipuri: intrinsecă și dobândită.

- *Rezistența intrinsecă* este abilitatea nativă a unei bacterii de a rezista la o anumită clasă de antibiotice.
- *Rezistența dobândită* este apariția rezistenței în bacterii prin dobândirea genelor rezistente la medicamente, fie prin mutații sau prin transfer.

Mecanismele de rezistență antimicrobiană la bacterii sunt diverse.

Iată câteva dintre acestea:

1. *Scăderea permeabilității la nivelul peretelui celular*: anumite bacterii modifică structura membranei celulare, împiedicând astfel intrarea antimicrobianelor în celulă. Această strategie a fost observată în multe bacterii gram-negative, cum ar fi speciile *Pseudomonas*, *Enterobacter* și *Klebsiella* împotriva unor medicamente precum imipenem, aminoglicozide și chinolone.
2. *Pompele de extruzie*: anumite bacterii posedă pompe de extruzie care facilitează eliminarea medicamentului din celulă imediat după intrarea lui, reducând astfel acumularea intracelulară de substanță activă.  
Această strategie a fost observată în:
  - *Escherichia coli* și alte *Enterobacteriaceae* împotriva tetraciclinelor și cloramfenicolului.
  - *Stafilococi* împotriva macrolidelor și streptograminelor.
  - *Staphylococcus aureus* și *Streptococcus pneumoniae* împotriva fluorochinolonei.
3. *Prin modificarea siturilor țintă antimicrobiene* în interiorul bacteriilor.

Această strategie a fost observată în:

- MRSA (*Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină), VRE (*Enterococci* rezistenți la vancomicină)
  - rezistența la streptomycină în *Mycobacterium tuberculosis*- din cauza modificării proteinelor ribozomale sau a 16SrRNA.
  - rezistența la rifampicină în *Mycobacterium tuberculosis*- din cauza mutațiilor în ARN polimerază.
  - rezistența la chinolone (observată în *S. aureus* și *S. pneumoniae*): din cauza mutațiilor în enzima ADN girază.
4. *Prin inactivarea enzimatică*: anumite bacterii pot inactiva agenții antimicrobieni prin producerea diverselor enzime, cum ar fi:
- enzimele de modificare a aminoglicozidelor (cum ar fi acetiltransferazele, adeniltransferazele și fosfotransferazele), acestea distrug structura aminoglicozidelor.
  - enzimele beta-lactamază sunt capabile să hidrolizeze inelul beta-lactamic (site-ul activ) al antibioticelor beta-lactamice, dezactivând astfel proprietățile lor antibacteriene.

Această inactivare enzimatică se observă atât la bacterii gram-pozitive, cât și la cele gram-negative. Sunt codificate pe plasmide și sunt transferate de la o bacterie la alta, în principal prin conjugare (cu excepția *Staphylococcus aureus*, unde sunt transferate prin transducție).

## 5. RELAȚIA MICROORGANISMELOR CU GAZDA UMANĂ

### MICROBIOCENOZELE CORPULUI UMAN

În natură microorganismele nu există sub formă de culturi pure, ci se găsesc alături de numeroase alte organisme, fie microbiene, fie non-microbiene, cu care trebuie să concureze într-o luptă continuă pentru supraviețuire. Această conviețuire poate depăși simpla împărțire a aceluiași mediu, unele microorganisme formează asociații fizice strânse cu alte tipuri de organisme, ceea ce poate aduce beneficii speciale atât pentru una, cât și pentru cealaltă parte. Toate aceste asocieri sunt numite simbioze.

**Simbioza (provine din limba greaca syn = cu și bios = viață)** și semnifică o conviețuire obligatorie între organisme diferite, din care ambele părți obțin beneficii, termenul fiind utilizat prima dată de chirurgul și microbiologul german Heinrich Anton de Bary în anul 1879.

Putem identifica trei forme de relații simbiotice:

**Parazitism** este o asociere în care unul dintre parteneri își obține parțial sau în totalitate cerințele nutritive trăind în/sau pe celălalt (gazdă), care, de obicei, suferă daune ca rezultat.

**Mutualism** reprezintă o asociere din care ambele părți obțin beneficii. Această relație este adesea obligatorie, ceea ce înseamnă că ambele părți sunt dependente una de cealaltă pentru supraviețuire. Atunci când mutualismul nu este obligatoriu, este numit protocooperare.

Acest tip de relație devine evident prin utilizarea unor medii de cultură cu strat nutritive insuficient, în care niciuna dintre speciile cercetate nu poate supraviețui independent. Thomas Rivers a evidențiat că bacteriile din speciile *Haemophilus canis* și *Haemophilus parainfluenzae* nu se dezvoltă când sunt cultivate separat în apă peptonată. Cu toate acestea, într-o asociere, acestea manifestă o creștere abundentă. Analiza activității metabolice a acestor bacterii a demonstrat că fiecare sintetizează un factor de creștere esențial pentru celălalt.

**Comensalism** este o asociere din care unul dintre participanți (numit comensal) obține beneficii, în timp ce celălalt nu obține niciun beneficiu și nici nu este vătămat. De obicei, relația nu este obligatorie.

Microbiota se moștenește prin dinamica nașterii, având diferite rezultate dependente. Pe parcursul vieții sale, ea evoluează odată cu gazda, iar alegerile de stil de viață au un impact semnificativ asupra homeostaziei microbiomului.

## 5.1. FLORA NORMALĂ A ORGANISMULUI

**Populații rezidente** (flora normală, microbiota, populație microbiană indigenă, microflora), aceste sinonime definesc microorganisme care trăiesc în mod obișnuit în și pe corpul uman pe o perioadă îndelungată. Ele s-au adaptat la viață în anumite nișe și joacă roluri importante în diferite procese fiziologice. Vasta majoritate a florei normale sunt bacterii, dar pot include și fungi, virusuri și alte microorganisme. Exemple includ bacteriile găsite în tractul gastro-intestinal, pe piele, în cavitatea bucală și în tractul vaginal.

**Populații tranzitorii** acestea sunt microorganisme care locuiesc temporar în corp, și nu se stabilesc pe termen lung. Ele sunt adesea dobândite prin contact cu mediul înconjurător, microorganismele putând fi prezente pentru o perioadă scurtă de timp înainte de a fi eliminate sau înlocuite de populațiile rezidente. Microorganismele tranzitorii nu devin o parte stabilă a florei normale a corpului.

Este important de menționat că termenul "flora normală" este folosit în mod obișnuit pentru a se referi la populațiile rezidente, deoarece acestea sunt cele care alcătuiesc comunitatea microbiană stabilă care trăiește în și pe corpul uman în absența unei infecții. Tocmai de aceea, țesuturile interne ale unui individ sănătos sunt considerate în mod normal sterile, ceea ce înseamnă că sunt lipsite de o colonizare microbiană semnificativă în condițiile normale. Cu toate acestea, anumite zone, precum tractul gastro-intestinal și tractul respirator superior, găzduiesc populații microbiene rezidente semnificative.

Microbiocenoza este esențială pentru funcționarea corectă a organismelor gazdă, inclusiv a oamenilor. Ele ajută la digerarea alimentelor, producerea de vitamin din complexul B și vitamina K, întărirea sistemului imunitar și protejarea împotriva invaziei microorganismelor patogene. O perturbare a echilibrului microbiomului sau a microflorei poate contribui la apariția unor afecțiuni medicale și poate avea un impact semnificativ asupra sănătății noastre. De aceea, cercetarea asupra microbiomului și a microflorei este în continuă dezvoltare și devine tot mai importantă în medicină.



În funcție de zona anatomică fiecare microbiocenoză prezintă anumite caracteristici:

**Microflora tegumentului**, cunoscută și sub numele de microbiom cutanat, reprezintă totalitatea microorganismelor care trăiesc pe suprafața pielii umane și în straturile superficiale ale acesteia. Aceste microorganisme includ bacterii, fungi, virusuri și alți microbi. Microbiomul cutanat este complex și diversificat, jucând un rol esențial în menținerea sănătății pielii și în protecția împotriva agenților patogeni.

Microbiomul cutanat este format dintr-o varietate de specii microbiene, cuprinzând un număr de  $10^3$ - $10^4$  microorganisme pe  $\text{cm}^2$  de piele. Cele mai comune tipuri de bacterii care populează pielea sunt *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus aureus* și *Propionibacterium* regasite în glandele sebacee, în stratul cornos și la baza foliculului pilos.

**Microflora tractului respirator** este colonizată cu un număr de  $10^6$  –  $10^8$  UFC/ml cu preponderență de *Staphylococcus epidermidis* și *S. aureus* în cavitatea nazală, bacterii nesporulate anaerobe (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Actinomyces*) care se regăsesc la nivelul criptelor amigdalene, în șanțurile gingivale și în pungile parodontale, cavitatea bucală fiind dominată de *Streptococcus viridans* și *mutans*. La nivelul faringelui putem întâlni diferite specii de *Streptococi* (*viridans*, *pyogenes*, *pneumoniae*), *Staphylococi* (*epidermidis*, *aureus*) și chiar *Haemophilus influenzae*.

Stadiile de dezvoltare a microflorei la nivelul cavității bucale:

- La naștere gura este sterilă în primele 4-12 ore primele bacterii cu care se colonizează fiind lactobacilli și streptococi.
- Nou-născutul la 2-3 săptămâni de viață se colonizează cu *Streptococcus salivarius*, stafilococi, *Neisseriae*, *Moraxella catarrhalis*.
- În jurul vârstei de 6 luni-1 an perioadă în care începe să apară dentiția de lapte regăsim-*Streptococcus mutans*, *Streptococcus parasanguis*.
- La pubertate întâlnim în plus *Bacteroides* și spirochete, 10<sup>8</sup> bacterii/mL de salivă cu un potențial >700 de specii.

## Microflora colonului

Încărcătura microbiană a intestinului gros este  $10^9$ - $10^{11}$  UFC/g, conținând peste 350 specii, aceste microorganisme fiind patogene dacă ajung în alte regiuni anatomiche.

*Escherichia coli* reprezintă 0,1% din populația totală care este predominant anaerobă. Clostridiile sunt constant regăsite în cantități de ordinul  $10^5$ - $10^9$  UFC/g. *Proteus*, *Stafilococi*, *Klebsiella*, *Bacteroides fragilis* apar în cantități de până la  $10^7$  UFC/g.

Un adult elimină  $3 \times 10^{13}$  bacterii/zi, 25%-35% din masa fecală fiind reprezentată de bacterii.

La nivelul stomacului cea mai întâlnită bacterie fiind *Helicobacter pylori*, aciditatea menținând numărul microorganismelor la maximum  $10^3$ - $10^5$ , cu excepția cazului în care obstrucția la nivelul pilorului favorizează proliferarea cocciilor și bacililor gram-pozitivi.

## Microflora tractului urogenital

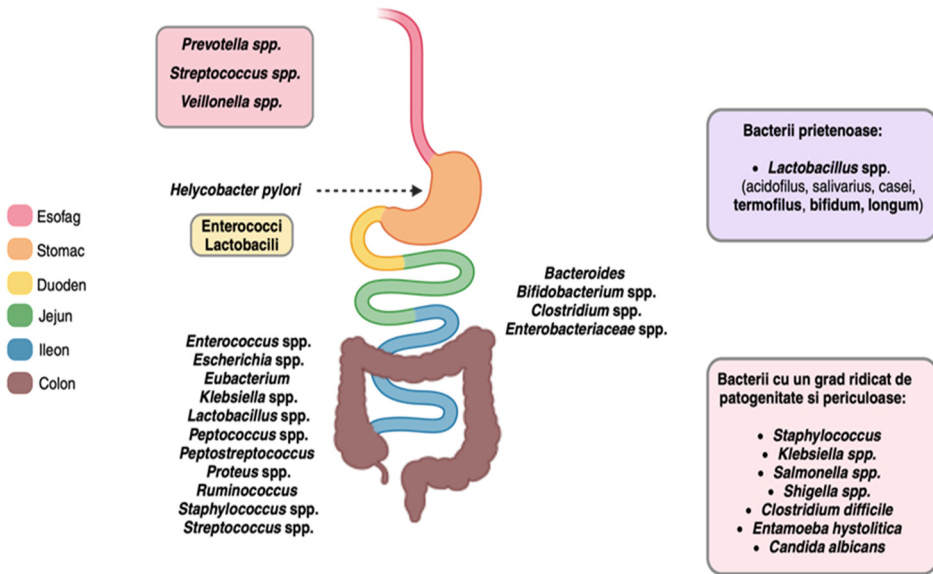
Tractul urinar superior (rinichi, uretere, vezică) este în mod normal steril. La nivelul uretrei anterioare la bărbați regăsim flora similară cu cea a pielii plus anume bacterii enterice și enterococi.

La nivelul vaginului există o microbiocenoză complexă:

- *la naștere* - similară cu cea a mamei (pH 5).
- *nou-născut* - similară cu pielea + bacterii enterice + streptococi (pH 7).
- *la pubertate* - lactobacili + similară cu pielea + anaerobi + streptococi (pH 5).
- *la menopauză* - revenire la flora prepubertară.
- În perioada reproductivă domina *Lactobacillus spp* și *Bifidobacterium spp* (bacilli DÖderlein) multiplicarea lor fiind favorizată de nivelul hormonal și de pH-ul acid creat de acidul lactic.

Tot la nivel vaginal putem regăsi și izola frecvent *Candida spp*, *Eubacterium spp* și *Bacteroides spp*.

## Cele mai importante bacterii:



**Figura 11. Flora normală a organismului.** Această imagine a fost obținută cu ajutorul programului BioRender (BioRender.com).

Beneficiile generale ale florei normale sunt:

- Sinteza de vitamine K și B utilizate de gazdă.
- Competiția cu patogenii pentru nutrienți și locuri de colonizare.
- Antagonism direct împotriva patogenilor.
- Stimularea dezvoltării țesuturilor imunologice.
- Stimularea activității sistemului imunitar prin producerea de anticorpi naturali.

Efectele dăunătoare generale ale florei normale includ:

- Competiția cu gazda pentru nutrienți.
- Sinergismul bacterian între flora normală și potențialii patogeni.
- Toxinemie de grad scăzut produsă în gazdă.
- Boli endogene și infecții oportuniste.

Dacă ar fii să facem o clasificare după patogenitate a microorganismelor le-am putea împărți în patru mari grupe.

- I. **Microorganismele nepatogene** pe care le putem regăsi în jurul nostru, dar nu dezvoltându-se în gazda umană, deci ele nu produc patologii.
- II. **Microorganismele condiționat patogene** sunt simbioți și devin agenți patogeni în anumite circumstanțe cum ar fi slăbirea sistemului imunitar, utilizarea prelungită a antibioticelor, dezechilibrele microbiomului.
- III. **Microorganismele accidental patogene** au nevoie de condiții speciale de multiplicare chiar dacă reușesc să migreze în zone sterile, ei fiind tot germeni simbioți sau saprofiți ai mediului înconjurător.
- IV. **Microorganismele patogene** ce produc întotdeauna infecții cu consecințe importante.

## 5.2. PATOGENITATEA MICROORGANISMELOR

### 5.2.1. Patogeneza

Patogeneza este rezultatul interacțiunii complexe dintre agentul patogen și gazda sa. Originea cuvântului este din limba greacă unde pathos=boala, genesis=naștere.

Un microb trebuie să parcurgă anumite etape pentru a se putea manifesta ca patogen:

- să pătrundă în organism
- să reușească să persiste prin neutralizarea barierelor antimicrobiene
- să înceapă să se multiplice și să se răspândească în organism
- să producă daune organismului gazdă
- să se poată disemina și persista în mediul înconjurător.

### 5.2.2. Virulența

Virulența este un caracter de tulpină (nu de specie) ce indică gradul de patogenitate, măsurabilă în laboratoare prin determinarea dozei letale (LD).

Există mai multe tipuri de LD, iar fiecare oferă informații specifice despre nivelul de virulență a unei bacterii. Cele mai comune tipuri de doze letale sunt LD50, LDLo și LD100:

1. LD50 (Doza Letală pentru 50%): LD50 reprezintă doza sau concentrația unei toxine sau numărul de microorganisme care provoacă moartea a 50% din populația testată. Acesta este un indicator comun al toxicității acute. Pentru a determina LD50, se efectuează teste pe animale de laborator, de obicei șoareci sau șobolani. Aceste teste implică administrarea diferitelor doze ale toxinei pentru a observa efectele asupra animalelor.
2. LDLo (Doza Letală Mică): LDLo este doza minimă cunoscută care a dus la decesul unei persoane sau animal în studii anterioare. Este important să menționăm că LDLo poate fi extrem de periculoasă .
3. LD100 (Doza Letală pentru 100%): LD100 reprezintă doza sau concentrația unei toxine care provoacă moartea tuturor organismelor testate. Acesta este un indicator al unei toxicități foarte ridicate.

Pentru a determina aceste doze letale, sunt efectuate teste de toxicitate pe animale de laborator în studii controlate și etice.

### 5.2.3. Aderența la suprafețele corpului și multiplicarea microorganismelor

După ce depășesc mecanismele de apărare înnăscute, primul pas în procesul de infecție constă în atașarea patogenului la suprafețele și structurile corpului. Microorganismul poate pătrunde prin înțepături de insecte, prin tegument lezat sau chiar prin tegument intact (Leptospirele), digestiv, conjunctival, respirator, urogenital sau prin procedee medicale. Este un pas esențial, deoarece fără atașare, patogenul nu poate să se stabilească și să se înmulțească până la un punct critic în care începe să provoace efecte adverse.

Există mai multe mecanisme diferite prin care anumiți patogeni se atașază la suprafețe și inițiază infecțiile:

- Unii patogeni se atașează și se înmulțesc doar la suprafața celulelor epiteliale mucoase, cum ar fi *Vibrio cholerae*.
- Alții se atașează la suprafața mucoasă și apoi pătrund în celulele epiteliale și încep să se înmulțească, exemplu fiind *Shigella Dysenteriae*.
- Există și patogeni care traversează stratul de epiteliu și se răspândesc în țesuturile mai profunde prin intermediul sistemului circulator, așa cum se întâmplă cu *Streptococcus Pneumoniae*.
- Fixarea pe receptori se desfașoară cu ajutorul adezinelor bacteriene care pot fii fimbriile (oligomerii proteici) sau acele adezine nefimbriale care la unii microbi poate fii capsula. La *Salmonella typhimurium* si *Bordetella pertussis* este o hemaglutinină sau cum este în cazul *Streptococcului pyogenes*, fibronectina regăsită în spațiul extracelular al organismului facilitează această aderență.

Invazia gazdei se produce cu ajutorul unor exoenzime secretate de bacterii producând la locul de intrare un proces local inflamator.

**Tabelul 1. Tipuri de exoenzime și mecanismul lor de acțiune**

EXOENZIMA	Mecanism de acțiune	Exemple de bacterii
Hialuronidaza si Colagenaza	Degradează acidul hialuronic respectiv colagenul	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
Coagulaza	Accelerează formarea de fibrină și inactivează unele substanțe bactericide	<i>Staphylococcus aureus</i>
Enzime hidrolitice	Degradează IgA	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Enzime citolitice	Distruge macrofagele și polimorfonuclearele neutrofile	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>
Fibrinolizina	Lizează fibrina din împrejurul leziunii	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

## 5.3. TOXINOGENEZA

O curiozitate naturală despre cum aceste organisme unicelulare pot avea un impact atât de mare asupra sănătății umane ar putea fi detaliată prin prisma faptului că bacteriile nu cauzează întotdeauna daune prin simpla lor prezență, ci mai degrabă prin substanțele pe care le eliberează. Aceste toxine pot fi împărțite, în linii mari, în două grupuri - **endotoxine și exotoxine** - fiecare având caracteristici distincte.

### 5.3.1. Endotoxine

Celulele bacteriene gram-negative produc aceste toxine, ele având în structura pereților celulari lipopolizaharide (LPS), iar acest material extrem de toxic poate fi eliminat în mediul înconjurător.

Acest lucru poate să se întâmple atunci când celulele sunt în viață, dar, mai important, și atunci când ele mor. LPS (denumite și endotoxine sau pirogene) sunt foarte stabile termic și provoacă o serie de efecte toxice și imunogene, ele fiind eliberate în timpul fagocitării celulei bacteriene de către macrofag. În cazul în care aceste endotoxine se regăsesc în cantitate mare în sânge apar reacții adverse grave cum ar fi coagularea intravasculară diseminată, sau pot provoca febră prin interferența cu centrul termoreglator din hipotalamusul creierului. Ele nu acționează direct asupra temperaturii corpului, ci determină eliberarea de pirogeni endogeni din macrofagele din organism.

La nivelul sistemului cardiovascular, inițial, endotoxinele pot cauza hipertensiune arterială, tahicardie, dar ulterior pot duce la hipotensiune progresivă și profundă. Acest lucru poate duce la șoc și chiar deces.

Endotoxinele stimulează eliberarea de citokine (cum ar fi interleukinele și kininele) din macrofage și alte celule ducând la un efect toxic generalizat. Șocul endotoxic poate fi cauzat și de unele substanțe parenterale care inițial au fost contaminate cu bacilli gram negative eliminați prin sterilizare și care au produs aceste toxine.

**Testul *Limulus amoebocyte lysate* (LAL)** este folosit pentru a depista prezența endotoxinelor bacteriene în produsele farmaceutice și biomedicale și are la bază sângele crabului potcoavă. Crabul potcoavă, Horseshoe Crab (*Limulus polyphemus*), trăiește în apele adânci de lângă

coastele Americii de Nord, Canadei și Asiei de sud-est și are un rol crucial în lupta împotriva endotoxinelor.

Ceea ce este important de menționat este că sângele crabului potcoavă are capacitatea de a forma un cheag solid atunci când este extras din animal. Acest fenomen se datorează prezenței endotoxinelor bacteriene care reacționează cu conținutul amoebocitelor, celulele sanguine circulante ale crabului. Procesul de extragere a sângelui se realizează în condiții sterile, fără a afecta crabii, care sunt ulterior eliberați înapoi în mediul lor natural.

Amoebocitele, după ce sunt colectate și lizate, sunt transformate într-un reactiv LAL. Acest reactiv are o sensibilitate foarte mare și poate detecta chiar și cantități infime (de ordinul nanogramelor) de endotoxine bacteriene.

**Testul LAL** este un instrument esențial pentru asigurarea calității și siguranței produselor medicale și farmaceutice, ajutând la detectarea contaminării cu endotoxine care pot reprezenta un risc pentru pacienți.

### 5.3.2. Exotoxine

Exotoxinele au o structură proteică și sunt produse de bacteriile patogene și eliberate în afara celulei bacteriene. Acestea sunt un grup foarte divers de molecule care au o gamă extinsă de efecte și unele dintre ele apar menționate în literatura de specialitate ca fiind cele mai puternice otrăvuri cunoscute. Aceste toxine au proprietatea de a devenii nevirulente, dar cu o structură nealterată în urma prelucrării chimice, tratate la cald cu formol, putând deveni în acest fel anatoxine. Aceștia odată ajunși în organism formează anticorpi antitoxină fără să producă infecție, acesta este motivul pentru care sunt utilizate în producerea de vaccinuri.

Aceste exotoxine sunt alcătuite din două lanțuri polipeptidice A (activity) și B (binding) care permit conexiunea dintre receptor și toxină. Ele pot fi împărțite după mecanismul de acțiune în neurotoxine (cu acțiune la nivel neuronal), enterotoxine (cu acțiune predilectă pe celule intestinale), micotoxine (mușcăiuri) și alte toxine care nu pot fi incluse în clasele mai sus menționate.



**Tabelul 2. Exemple de exotoxine**

BACTERIA	TOXINA	MECANISM DE ACȚIUNE	EFACT BIOLOGIC
<i>Clostridium tetani</i>	Tetanospasmina	La nivelul gangliozidelor blocând eliberarea mediatorului la nivelul sinapsei	Neuropatii motorii, demienilizări, convulsii
<i>Clostridium botulinum</i>	Toxina botulinică	Inhibă acetilcolina	Pareză spastică
<i>Vibrio Cholerae</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Escherichia coli</i>	Toxina holerică (enterotoxina termolabilă)	Activează adenilatciclaza	Sindrom diareic cu dezechilibru hidroelectrolitic
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Toxina difterică	Inhibă secreția proteică	Efecte necrotice
<i>Staphylococcus aureus</i>	TSST-1 (Toxina sindromului de șoc toxic-1)	Asupra limfocitelor T-helper	Eliberarea masivă de IL-1 și IL-2, șoc toxic
<i>Streptococcus β hemolitic de grup A</i>	Enterotoxina Dick	Inhibă secreția proteică	Sindrom scarlatinos
<i>Bordetella pertussis</i>	Pertusigen	Anulează inhibiția adenilat-ciclazei	Crește producția de insulină, sensibilizare la histamină
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxină	Acțiune pe acizii nucleici și lizosomi	Efecte mutagene, cancerigene, necroză tisulară

Unii patogeni, cum ar fi *Vibrio cholerae*, rămân atașați la situl primar de infecție și își produc efectele adverse pur și simplu prin producerea de toxine. Alții, cum ar fi *Shigella Dysenteriae*, pătrund în celulele epiteliale care căptușesc tractul gastro-intestinal și cauzează daune semnificative. Cu toate acestea, există și un număr de patogeni care pătrund în corp printr-o cale și apoi se deplasează prin diverse mijloace către alte regiuni ale organismului, poate chiar în fluxul sanguin.

## 6. INFECȚIA

Infecția poate fi detectată doar prin investigații de laborator, atât prin identificarea agentului patogen cât și prin modificările imunologice (anticorpilor specifici de tip IgM). Evoluția poate fi acută urmată de instalarea imunității. Infecția nemanifestă clinic (fără simptomatologie) este întâlnită în special la organismele cu un sistem imunitar ridicat sau în cazul infecțiilor produse de microorganisme cu virulență scăzută.

### **Infecția subclinică**

Este caracterizată de absența simptomelor evidente. Infecția asociată cu această formă de boală produce leziuni organice relativ minore, care nu se manifestă clinic. Evoluția bolii subclinice poate lua două direcții: poate ajunge la vindecare prin eliminarea microorganismului patogen și recuperarea leziunilor organice sau poate duce la cronicizarea infecției. În acest ultim scenariu, după luni sau ani de la momentul infecției, pot apărea diverse manifestări clinice, semnificând evoluția către o boală cronică.

### **Infecție locală**

Microorganismele patogene sunt inițial restrânse la locul de intrare, aici, ele se înmulțesc, generând leziuni locale, cum ar fi rinita acută, sau abcese. Infecția locală are posibilitatea de a se vindeca, sau poate avansa către o formă de infecție mai extinsă, fie la nivel regional, fie la nivel generalizat în întregul organism.

### **Infecție regională**

Infecția se extinde de la portalul de intrare la ganglionii limfatici regionali prin vasele limfatice.

### **Infecție generalizată (sistemică)**

Microorganismul patogen sau substanțele toxice pe care le produce se răspândesc de la locul de intrare către diverse organe și țesuturi ale corpului. Această diseminare are loc de obicei prin intermediul sistemului circulator sanguin, cu o frecvență mai mică prin sistemul limfatic și în mod excepțional, prin alte căi, cum ar fi calea nervoasă.

## **Evoluția bolii sistemice cuprinde mai multe etape:**

- **Incubație:-** perioada dintre intrarea microorganismului și apariția primelor simptome. Putem vorbi despre incubație scurtă în cazul toxiinfecțiilor alimentare până la 7 zile, o incubație medie în cazul tetanosului de până la 21 de zile și incubație lungă între 50-160 zile în hepatita B sau în cazul tuberculozei unde putem vorbi despre o incubație de ani de zile.
- **Debut:-** începutul simptomelor și semnelor evidente ale bolii. Acestea pot apărea lent, etapizat sau brusc.
- **Perioada de stare:-** faza în care boala atinge punctul culminant, iar simptomele sunt adesea cele mai severe.
- **Descrescere (declin):-** simptomele încep să scadă în intensitate, iar starea pacientului începe să se îmbunătățească.
- **Convalescența:-** perioada de recuperare după boală, în care organismul se reechilibrează funcțional.

Este important să menționăm că aceste etape pot varia în funcție de tipul specific de infecție și de modul în care sistemul imunitar al individului răspunde la agentul patogen, astfel încât putem vorbi de vindecare (completă, sau cu sechele), cronicizare sau exitus.

## **6.1. EPIDEMIOLOGIA DE BAZĂ A INFECȚIILOR**

Pentru a implementa măsuri eficiente de control al infecțiilor, este esențial să se ia în considerare aspectele de bază ale epidemiologiei unei infecții, cum ar fi ruta de transmitere și factorii de risc ai gazdei.

**Incidența și caracteristicile unei infecții depind de:** organismul patogen, care poate fi dobândit fie endogen (din flora normală a gazdei), fie exogen (din mediul înconjurător).

### **1. Infecție endogenă**

Infecția endogenă apare atunci când un agent patogen deja prezent în organism cauzează infecția. De obicei, agentul patogen face parte din flora normală a gazdei. Utilizarea antibioticelor și expunerea la mediul spitalicesc pot modifica flora normală a gazdei și pot favoriza dezvoltarea organismelor rezistente.

## 2. Infecție exogenă

Infecția exogenă apare atunci când agentul patogen provine din afara organismului. De obicei, acesta este dobândit din mediu prin diverse căi, inclusiv aeriană, contact direct sau căi percutanate.

**Infecția nosocomială**, cunoscută și sub denumirea de infecție asociată asistenței medicale, este o infecție care se dezvoltă într-un cadru medical, cum ar fi un spital sau o altă unitate de îngrijire medicală. Aceste infecții sunt adesea asociate cu serviciile de sănătate și pot să nu fie prezente sau în curs de incubare la momentul internării pacientului.

Infecțiile nosocomiale pot fi cauzate de diverse bacterii, iar cele mai cunoscute și preocupante includ:

- *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA)- această bacterie este rezistentă la tratamentul cu antibiotice din clasa beta-lactamelor, inclusiv meticilina și oxacilina. MRSA poate provoca infecții severe ale pielii, sângelui și altor organe și este o problemă comună în mediile spitalicești.
- *Enterococcus* rezistent la vancomicină (VRE)- enterococii sunt bacterii care pot cauza infecții ale tractului urinar, sângelui și leziunilor tegumentare. Rezistența la vancomicină face tratamentul acestor infecții mai dificil.
- *Clostridium difficile* este o bacterie care poate cauza infecții intestinale, în special la persoanele cărora li s-au administrat antibiotice. Infecțiile cu *C. difficile* pot fi recurente și pot duce la simptome severe, inclusiv diaree severă.
- *Klebsiella pneumoniae* rezistentă la carbapeneme este o bacterie gram-negativă care poate provoca infecții severe ale tractului urinar, sângelui și plămânilor. Rezistența la carbapeneme face tratamentul mai dificil.
- *Pseudomonas aeruginosa* este o bacterie gram-negativă și poate provoca infecții ale plămânilor, tractului urinar și plăgilor, mai ales la pacienții cu sistemul imunitar slăbit.
- *Acinetobacter baumannii* este o altă bacterie gram-negativă care poate provoca infecții severe, în special la pacienții critici internați în unități de terapie intensivă.

Este important să subliniem că prevenirea și controlul infecțiilor nosocomiale implică respectarea unor practici stricte de igienă și control al infecțiilor în cadrul instituțiilor medicale, precum și utilizarea judicioasă a antibioticelor pentru a reduce riscul apariției bacteriilor rezistente.

## 6.2. MODUL DE TRANSMITERE A INFECȚIILOR

Pentru a cauza o infecție, un patogen trebuie să contamineze o gazdă. Această contaminare se poate produce cu microorganismele eliberate prin fecale, picături de salivă, exudate cutanate, sânge și altele. Un factor important în transmiterea bolii este cât timp poate supraviețui patogenul în mediul din afara gazdei.

### I. Contaminarea fecală

Tractul intestinal găzduiește miliarde de bacterii, majoritatea dintre ele fiind inofensive. Cu toate acestea, un număr de patogeni importanți pot infecta intestinalele, iar fecalele devin astfel o sursă majoră de infecție, în special în cazul pacienților care suferă de afecțiuni gastro intestinale.

Iată câteva exemple de patogeni transmiși pe această cale:

#### **Febra tifoidă- *Salmonella typhi***

Bacteriile sunt eliminate în fecalele purtătorilor asimptomatici și în fecale/urină pacienților cu boală activă. Unii pacienți netratați elimină organisme timp de multe luni. Organismele se localizează în vezica biliară, iar aceștia devin purtători cronici de tifos.

Igiena necorespunzătoare răspândește microorganismul în alimentele și sursele de apă comune. Muștele răspândesc boala de la fecale la alimente.

#### **Salmoneloza- *Salmonella typhimurium***

Produce gastroenterită comună manifestată prin diaree, crampe abdominale și febră.

Epidemiologia bolii este mai complexă decât în cazul lui *S. Typhi* și *Paratyphi A*, multe infecții fiind dobândite prin contact direct și indirect cu animalele infectate și alimentele.

*Salmonellele* se găsesc în carne de pui, ouă și lapte crud.

## **Holera- *Vibrio cholerae***

Holera este o boala diareică acută cauzată de ingestia apei, a fructelor de mare și a altor alimente contaminate. Statistic s-a arătat ca în fiecare an în întreaga lume 1.3-4 milioane de persoane se îmbolnăvesc de holeră, dintre care 21.000-143.000 decedează.

Boala se manifestă cu diaree și vărsături care pot varia ca severitate. Simptomele apar după o perioadă de incubație de 12 ore până la 5 zile.

## **Disenteria bacilară- *Shigella dysenteriae***

Principala sursă de infecție este excreția pacienților infectați și a celor convalescenți; purtătorii pe termen lung sunt rari.

Răspândirea directă are loc prin calea fecală/orală, iar răspândirea indirectă se produce prin alimentele contaminate și obiecte înanimate. Muștele servesc ca și vectori mecanici. Epidemiile apar în zone supraaglomerate cu igienă precară.

## **II. Picăturile de expirație (picăturile lui PflÜgge)**

De fiecare dată când tușim, strănutăm sau chiar vorbim, expulzăm nori de picături de salivă minuscule din gură, care vor conține bacteriile prezente în tractul respirator în acel moment. Picăturile mai mari vor cădea pe pământ și vor contamina suprafețele din apropiere. Umiditatea din particulele mai mici se va evapora foarte rapid, iar reziduurile, care conțin proteine și bacterii viabile, cunoscute sub numele de nuclei de picături, fiind foarte mici, rămân suspendați pentru perioade semnificative de timp, pot călători pe curenții de aer și pot fi suficient de mici pentru a putea fi inhalați. Particulele mai mari de 5 mm, dacă sunt inhalate, se vor ciocni de stratul de mucus care captează tractul respirator superior și vor fi eliminate prin sistemul de transport mucociliar. Particulele mai mici (<5 mm) vor rămâne suspendate în tractul respirator și pot ajunge în părțile inferioare ale plămânilor, unde pot cauza boala.

Iată câteva exemple importante de patogeni care se transmit prin picături de expirație:

### **Infecțiile streptococice- *Streptococcus spp***

40-70% din populație este purtătoare de streptococi la nivelul faringelui. *Streptococcus pneumoniae* ajunge la plămâni prin inhalare. Se fixează în alveole și declanșează o reacție inflamatorie.

### **Difterie- *Corynebacterium diphtheriae* (Klebs-Loeffler-Bazillus)**

Boala se răspândește prin contact cu pacienții infectați și purtătorii. Mucoasa conjunctivă sau respiratorie este poarta de intrare pentru tulpinile mai toxicogene care pot provoca formarea pseudeomembranelor. Acestea, atunci când ajung în laringe, pot conduce adesea la deces prin sufocare. Toxina bacteriană produsă de aceste tulpini distruge țesuturile cardiace, renale și hepatice.

### **Tuberculoza- *Mycobacterium tuberculosis***

Tuberculoza este o infecție produsă de bacilul Koch care se transmite prin aer și afectează mai ales plămânul.

Odată ajuns în alveolele pulmonare, microbul este fagocitat de către macrofage, care sunt responsabile cu distrugerea lui. Pătrunderea microbului în organism declanșează o reacție de apărare mai amplă, numită infecție tuberculoasă, care poate fi identificată prin teste speciale cum sunt intradermoreacția – IDR la PPD (Purified Protein Derivative) sau testul Quantiferon prin recoltare și analiză specifică din plasmă.

Persoana infectată nu manifestă simptomele bolii și nu poate transmite infecția altora. Se estimează că aproximativ o treime din populația globală este infectată cu *Mycobacterium tuberculosis*. În unele cazuri, bacteriile din organismul persoanei infectate pot deveni active și pot cauza tuberculoză.

De obicei, debutul bolii are loc după cel puțin câteva săptămâni sau luni de la momentul infectării, în cea mai mare parte în primul an de la contactul inițial. Uneori, bacteriile pot rămâne latente în macrofagele corpului uman pentru perioade lungi de timp, chiar și mai multe decenii, până când găsesc o ocazie de a declanșa boala atunci când sistemul imunitar se slăbește. Pacienții sunt contagioși când boala este activă și manifestă.

### **III. Contact direct**

Un număr mic de patogeni au ruta de intrare în corp prin piele sau membranele mucoase. Acestea includ o varietate de boli profesionale și boli cu transmitere sexuală. Unele dintre aceste organisme nu pot supraviețui mult timp în mediu fără o gazdă.

### **Antrax- *Bacillus anthracis***

Această afecțiune este întâlnită frecvent în rândul fermierilor, medicilor veterinari și lucrătorilor care lucrează cu piei și blănuri. Sursele primare de infecție sunt caprele, oile și bovinele.

Antraxul cutanat reprezintă 95% din cazurile de infecție, și are o rată scăzută de mortalitate.

În schimb, antraxul pulmonar reprezintă doar 5% din cazuri, dar este caracterizat de o mortalitate inevitabilă.

### **Bruceloza- *Brucella abortus***

Rezervorul acestei boli este reprezentat de bovine, care elimină organisme patogene prin lapte. Infecția se poate dobândi prin contact direct cu țesuturile animalelor sau prin ingestia laptelui lor. Aceasta este considerată o boală profesională a lucrătorilor din domeniul agricol.

### **Sifilis- *Treponema pallidum***

Se transmite prin contact sexual, unde simplul contact al corpului este suficient pentru transmitere. Această bacterie poate pătrunde în organism prin membranele mucoase sau prin piele. Pacienții care au leziuni netratate sunt cei mai contagioși. De asemenea, o mamă poate transmite transplacentar boala către făt.

### **Gonoreea- *Neisseria gonorrhoeae***

Această infecție se transmite prin contact sexual. Există și cazuri în care unele persoane pot fi purtători asimptomatici pentru săptămâni sau luni. Microorganismul poate tranversa bariera placentară.

## **IV. Mușcătura (înțepătură) de animal**

Acest grup cuprinde bolile care sunt transmise prin intermediul vectorilor animalii (în principal insecte), și ar putea include infecții importante precum malaria, rabia, boala somnului, febra galbenă și febra dengue. Principalele boli bacteriene și rickettsiale răspândite prin intermediul vectorilor insectelor sunt prezentate mai jos.

### **Febră recurentă- *Borrelia recurrentis***

Această boală este răspândită în regiuni precum Africa și Orientul Mijlociu. Epidemiile au tendința să apară atunci când standardele normale de igienă se deteriorează. Ultima epidemie cunoscută în Europa a avut loc în timpul celui de-al Doilea Război Mondial și a dus la un număr de aproximativ 50.000 de decese. Forma epidemică a bolii este transmisă de către păduchi de corp, în timp ce forma endemică se răspândește prin mușcătura de căpușă.



## **Boala Lyme- *Borrelia burgdorferi***

Această boală artritică a fost pentru prima dată raportată în Old Lyme, Connecticut, în 1975. Este cea mai răspândită infecție transmisă de căpușe în emisfera nordică. Anual, Statele Unite înregistrează aproximativ 4.000 de cazuri, în timp ce Regatul Unit raportează între 300 și 400 de cazuri.

## **Febra galbenă (yellow jack-ciuma galbenă, vomito negro sau pesta americană)**

Infectarea cu virusul febrei galbene, un tip de ARN virus din genul *Flavivirus*, poate cauza probleme grave de sănătate și, în cazurile severe, poate fi fatală. Deși majoritatea persoanelor infectate pot prezenta o evoluție asimptomatică sau cu simptome ușoare și să se recupereze complet, pentru cei care dezvoltă simptome, intervalul de timp între contractarea infecției și debutul bolii este în general de 3 până la 6 zile. Simptomele inițiale ale febrei galbene pot include: febra bruscă, frisoane, mialgii, fatigabilitate. Aceste simptome se ameliorează în aproximativ o săptămână de la debut, dar există cazuri în care unele simptome, cum ar fi oboseala și slăbiciunea, pot persista timp de câteva luni.

## **Rabia-virusul rabic, genul *Lyssavirus*, familia *Rhabdoviridae***

Rabia, cunoscută și sub numele de turbare, este o boală infecțioasă virală ce afectează mamiferele, fiind cauzată de virusul rabic iar în prezent este recunoscută ca o formă de meningoencefalită difuză. Acest virus neurotrop aparține genului *Lyssavirus* din familia *Rhabdoviridae* și se găsește în saliva animalelor infectate.

Primele simptome ale rabiei pot include febră și parestezie la locul expunerii inițiale. Aceste simptome sunt urmate de alte semne precum spasme, agitație extremă, paralizie a anumitor părți ale corpului, confuzie și pierderea conștienței. De obicei, după debutul simptomelor, rabia duce aproape întotdeauna la deces. Intervalul de timp între expunere și debutul simptomelor variază de obicei între una și trei luni, însă poate fi de la mai puțin de o săptămână până la peste un an, în funcție de cum ajunge virusul la sistemul nervos central.

Transmiterea rabiei la oameni are loc, în mod obișnuit, prin zgârierea sau mușcătura de către un animal infectat sau prin contactul cu saliva acestuia.

## **Malaria-*Plasmodium falciparum***

Malaria este o afecțiune infecțioasă provocată de paraziții din genul *Plasmodium* și transmisă prin înțepătura țânțarului *Anopheles*. Această boală

se caracterizează prin friguri puternice și intermitente și reprezintă o problemă majoră în regiunile tropicale și subtropicale.

Paraziții *Plasmodium* se multiplică în globulele roșii din sânge, declanșând simptome precum febra, anemia, manifestări similare gripei și, în cazuri grave, pot apărea complicații precum coma și chiar decesul.

### **Boala somnului- Tripanosomiaza umană africană- *Trypanosoma brucei*.**

Tripanosomiaza umană africană, cunoscută și sub numele de boala somnului, este o afecțiune parazitară transmisă de musca țețe din genul *Glossina* și cauzată de un grup de paraziți denumiți *Trypanosoma brucei*. Există două subtipuri principale: *Trypanosoma brucei gambiense*, care determină de obicei o boală lentă și progresivă, și *Trypanosoma brucei rhodesiense*, care are o evoluție mai rapidă și poate afecta sistemul nervos central în câteva săptămâni sau luni.

Cursul bolii este adesea divizat în două etape distincte. Prima etapă, cunoscută și sub denumirea de stadiu hemolinfatic, este caracterizată de răspândirea paraziților prin fluxul sanguin și limfatic către diferite organe, cum ar fi ficatul, splina, glandele endocrine sau inima. A doua etapă survine atunci când paraziții invadează sistemul nervos central, acest stadiu fiind denumit meningoencefalitic.

### **Iată câteva noțiuni epidemiologice:**

**Incidența:** măsoară frecvența apariției unor noi cazuri de infecție într-o populație într-un anumit interval de timp.

**Prevalența:** reflectă numărul total de cazuri ale unei infecții într-o populație într-un moment dat sau într-un interval de timp.

**Sporadic:** se referă la o boală infecțioasă care apare rar, fără un model sau o regulă clară. Aceste boli sunt văzute doar ocazional și de obicei fără o concentrație geografică.

**Epidemie:** creșterea bruscă a numărului de cazuri într-o anumită regiune sau populație.

**Pandemie:** o epidemie extinsă, care afectează multiple țări sau continente.

**Prevalența:** măsoară numărul total de cazuri ale unei boli într-o anumită populație la un moment dat, atât cazurile noi, cât și cele existente deja.

## 6.3. PROFILAXIA APLICATĂ BOLILOR INFECȚIOASE

Măsurile de profilaxie reprezintă ansamblul de strategii și acțiuni menite să prevină îmbolnăvirea și să reducă răspândirea bolilor. Acestea pot varia în funcție de tipul de boală și de modul de transmitere a agentului patogen.

Iată câteva măsuri de profilaxie (nespecifice și specifice):

### **Izolare și carantină**

Pacienții cu boli transmisibile pot fi izolați pentru a preveni răspândirea infecției în cadrul comunității sau unității medicale.

### **Curățenie și dezinfectare**

Menținerea unui mediu curat și dezinfectarea regulată a suprafețelor pot reduce riscul de contaminare cu agenți patogeni. Igiena respiratorie, alimentară sau personală sunt foarte importante.

### **Vaccinarea**

Vaccinurile sunt esențiale pentru prevenirea unor boli specifice. Programul de vaccinare variază în funcție de țară și regiune, imunizarea activă fiind completată de cea pasivă prin seroterapie și chimioprofilaxie.

## 6.4. IMUNOPROFILAXIE (VACCINURILE)

Vaccinurile au un rol esențial în sănătatea și securitatea mondială, integrarea imunizării în serviciile obișnuite de îngrijire a sănătății oferind un anumit control asupra morbidității și mortalității legate de boli, în special în rândul sugari și copiilor.

Niciun procedeu medical nu este absolut lipsit de riscuri, iar evaluarea acestora pentru fiecare individ trebuie să echilibreze cu atenție beneficiile aduse atât persoanei în cauză, cât și întregii populații. Această dualitate impune două provocări esențiale pentru comunitățile din domeniul medical și al sănătății publice în privința vaccinurilor:

- să dezvolte în continuare vaccinuri mai eficiente și mai sigure
- să ofere o educație exhaustivă pacienților și publicului în general despre avantajele și riscurile legate de utilizarea vaccinurilor. Deoarece imunitatea la bolile infecțioase se dobândește fie prin

infectare, fie prin imunizare, programele de vaccinare susținute pentru fiecare cohortă de naștere vor rămâne esențiale pentru controlul bolilor infecțioase prevenibile prin vaccin, până când agenții etiologici vor putea fi eradicați din toate regiunile lumii.

## CALENDAR NAȚIONAL DE VACCINARE 2024

***In primele 24 de ore de viață Vaccin hepatitic B (Hep B)***

***Între 2-7 zile de la naștere Vaccin de tip Calmette Guérin (BCG)***

**Vaccinul împotriva hepatitei B (HepB)** este administrat în prima zi de viață a nou născutului. În cazul în care mama este confirmată pozitivă pentru antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg), se administrează atât HepB, cât și 0,5 mL de imunoglobulină anti-hepatită B (HBIG) în primele 12 ore de la naștere. În situația în care statusul HBsAg al mamei este necunoscut, se efectuează administrarea *HepB* în primele 12 ore de la naștere.

După doza inițială la naștere, seria de vaccinare cu *HepB* trebuie completată fie cu *HepB* monovalent, fie cu un vaccin combinat care conține *HepB*. A doua doză este recomandat să fie administrată la vârsta de 1–2 luni, iar doza finală trebuie administrată la vârsta de  $\geq 24$  de săptămâni. Nou-născuții proveniți din mame HBsAg-pozitive ar trebui testați pentru HBsAg și anticorpi anti-HBsAg după finalizarea a cel puțin 3 doze de *HepB*, în intervalul de vârstă cuprins între 9 și 18 luni.

Este permisă administrarea a patru doze de *HepB* atunci când se utilizează vaccinuri combinate după doza de la naștere. Dacă se optează pentru *HepB* monovalent în dozele ulterioare celei de la naștere, nu este necesară o doză suplimentară la vârsta de 4 luni.

**Vaccinul BCG**, denumirea provenind de la *bacilul Calmette–Guérin*, este un vaccin folosit în principal pentru combaterea tuberculozei. Acesta oferă o protecție variabilă, cu o durată între zece și douăzeci de ani. Vaccinul reduce riscul de infectare cu aproximativ 20% la copii și previne dezvoltarea bolii în jumătate dintre cazurile deja infectate.

Inițial dezvoltat din *Mycobacterium bovis*, care se găsește la bovine, tulpina *BCG* din acest vaccin este încă viabilă, chiar dacă a fost atenuată. Vaccinul *BCG* a fost utilizat în scopuri medicale pentru prima dată în 1921 și se află pe lista medicamentelor esențiale ale Organizației Mondiale a Sănătății. Anual, aproximativ 100 de milioane de copii beneficiază de acest vaccin.

Vaccinul *BCG* este folosit pentru imunizarea activă împotriva tuberculozei și se administrează imediat după naștere, începând cu a patra zi de viață, prin injectare intradermică. Studii din 1994 au indicat o reducere a riscului de dezvoltare a infecției tuberculozice cu aproximativ 50%, iar în 2014 s-a demonstrat că reduce infecțiile cu 19–27% și împiedică progresia de la o infecție latentă la una activă cu aproximativ 71%.

### *La 2 , 4 și 11 luni*

***Vaccin diftero-tetano-pertussis acelular-poliomielitic-Haemophilus B-hepatitic B (DTPa-VPI-Hib-Hep. B) Vaccin pneumococic conjugat***

**Vaccinul acelular DTaP**, destinat combaterii difteriei, tetanosului și tusei convulsive sau pertussisului, face parte din programul național de imunizare, asigurând protecție împotriva celor trei afecțiuni. Procesul de primovaccinare implică administrarea a trei doze de vaccin, începând de la vârsta de 2 luni, cu un interval de 60 de zile între ele. După prima vaccinare, se efectuează revaccinarea în două etape, cu o doză de 0,5 ml în primul rapel la 6 luni de la primovaccinare și în cel de-al doilea rapel la 18 luni de la primul rapel.

**Vaccinul pneumococic** poate fi administrat în orice moment al anului. De regulă, se administrează trei doze în primul an de viață: la 2 luni, 4 luni și apoi la 12 luni, fără a fi necesare revaccinări ulterioare.

Vaccinul conjugat 13-valent (PVC13) este destinat sugarilor și copiilor cu vârsta de până la 5 ani., acest vaccin fiind inactivat și conjugat. Acest proces implică obținerea de fragmente din bacterie, care sunt apoi legate de o proteină pentru a spori eficacitatea vaccinului.

### ***La 12 luni și 5 ani Vaccin rujeolic-rubeolic-oreion (ROR)***

Vaccinul *ROR* constă într-o formulă care cuprinde variante atenuate ale virusurilor vii responsabile de rujeolă, oreion și rubeolă. Acest ser stimulează sistemul imunitar al organismului pentru a produce anticorpi eficienți împotriva celor trei afecțiuni tipice copilăriei.

Istoria vaccinării *ROR* începe în 1960, când se utiliza vaccinări individuale pentru fiecare patologie în parte, trecând la varianta combinată din 1971. În România, vaccinarea *ROR* a debutat în 1979, devenind parte a programului obligatoriu de vaccinare începând cu anul 2004.

Procesul de vaccinare începe în jurul vârstei de 1 an și se finalizează în jurul vârstei de 5 ani. Mai precis, conform schemei naționale de vaccinare, prima doză de vaccin *ROR* se administrează între 12 și 15 luni, iar a doua doză are loc la începutul școlii, în jurul vârstei de 5 ani.

### ***La 6 și 14 ani Vaccin diftero-tetano-pertussis acelular-poliomielitic (DTPa-VPI)***

La vârsta de 6 ani, se efectuează rapelul cu vaccinul tetravalent, care include protecție împotriva difteriei, tetanosului, tusei convulsive acelulare și poliomielitei (DTPa-VPI).

**Tabelul 3. Calendar național de vaccinare 2024**

Vârstă	Tipul de vaccin
În primele 24 de ore de la naștere	Hep B
2-7 zile	BCG
2, 4, 11 luni	DTPa-VPI-Hib-Hep. B
2, 4, 11 luni	PVC13
1 și 5 ani	ROR
6 și 14 ani	DTPa-VPI

La vârsta de 14 ani, se recomandă rapelul cu vaccinul trivalent, care oferă protecție împotriva difteriei, tetanosului și tusei convulsive acelulare (DTPa).

**Există și alte vaccinuri recomandate, administrate opțional, printre care se numără:**

### **Vaccinul rotaviral**

Protejează împotriva diareei cauzate de rotavirus, fiind un vaccin cu virus viu atenuat.

Se administrează oral în două sau trei doze, începând cu primele șase săptămâni de viață, cu un interval de cel puțin 30 de zile între doze.

### **Vaccinul varicelic**

Oferă protecție împotriva varicelei (cunoscută și sub denumirea de "vărsat de vânt"), fiind un vaccin cu virus viu atenuat (tulpina Oka).

Se administrează subcutanat, atât la adulți cât și la copii, în două doze, la un interval de șase săptămâni, începând cu vârsta de nouă luni.

### **Vaccinul meningococic**

Previne anumite forme de boli produse de meningococ, inclusiv meningite.

Se administrează una sau mai multe doze, variind în funcție de tipul de vaccin și vârsta pacientului.

### **Vaccinul hepatitic A**

Se administrează într-o singură doză, cu revaccinare la 6-12 luni.

Protejează împotriva Hepatitei A, cunoscută și sub denumirea de boala "mâinilor murdare".

### **Vaccinul HPV (*Human Papillomavirus*)**

Poate fi bivalent, tetravalent sau nanovalent și se administrează intramuscular.

Se recomandă două sau trei doze între 9 și 26 de ani, cu posibilitatea administrării ulterioare la recomandarea medicului ginecolog.

Oferă protecție împotriva cancerului de col uterin, leziunilor precanceroase ale colului, unor forme de cancer laringian, cancerului vulvar, vaginal, penian, anal.

Vaccinul oferă protecție și împotriva verucilor genitale (*Condyloma acuminata*).

## 6.5. TIPURI DE IMUNIZARE

Imunizarea reprezintă procesul de conferire temporară a imunității față de o anumită boală infecțioasă prin administrarea diverselor produse imunobiologice. Există două categorii principale de imunizare:

### **Imunizare Activă (vaccinarea)**

Induce producția de anticorpi proprii în organism prin administrarea unui vaccin sau anatoxine, o reacție specifică ce contribuie la dezvoltarea unei imunități durabile.

În perioada de latență postvaccinare se pot administra agenți de imunizare pasivă precum imunoglobulinele sau serurile specifice, pentru a asigura o protecție imediată doar în situații în care acest interval poate fi critic.

### **Imunizare Pasivă (seroterapia)**

Transferă temporar imunitatea prin administrarea de anticorpi preformați, sub forma de imunoglobuline totale, specifice sau seruri specifice.

Protecția este imediată, dar de durată limitată.

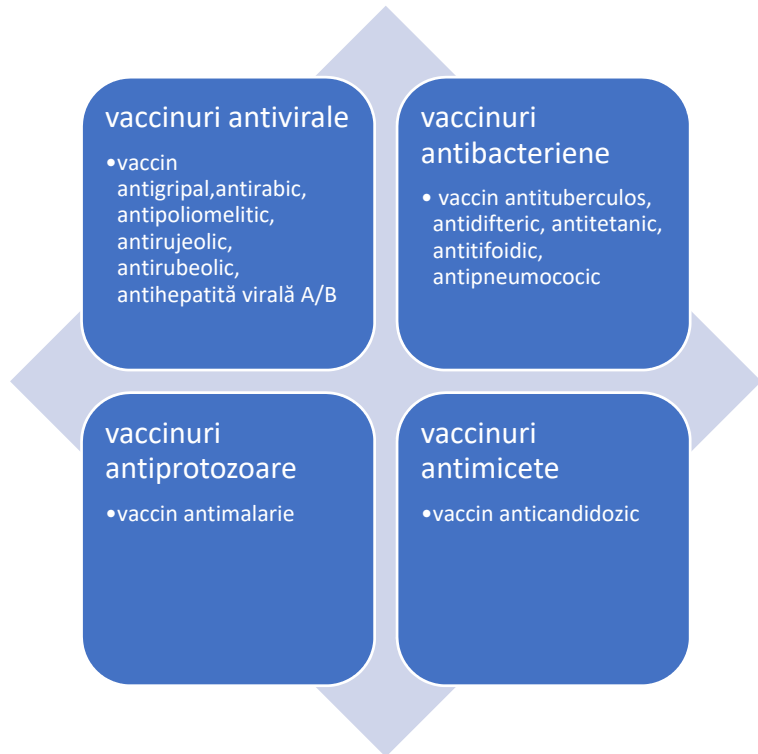
Deși termenii "imunizare" și "vaccinare" sunt adesea utilizați interschimbabil, aceștia nu sunt sinonimi. Imunizarea descrie procesul de inducere sau furnizare a imunității prin mijloace active sau pasive, în timp ce vaccinarea se referă strict la administrarea unui vaccin sau a unei anatoxine. Prin urmare, acest proces de vaccinare nu garantează automat imunizarea.



## Imunizarea activă

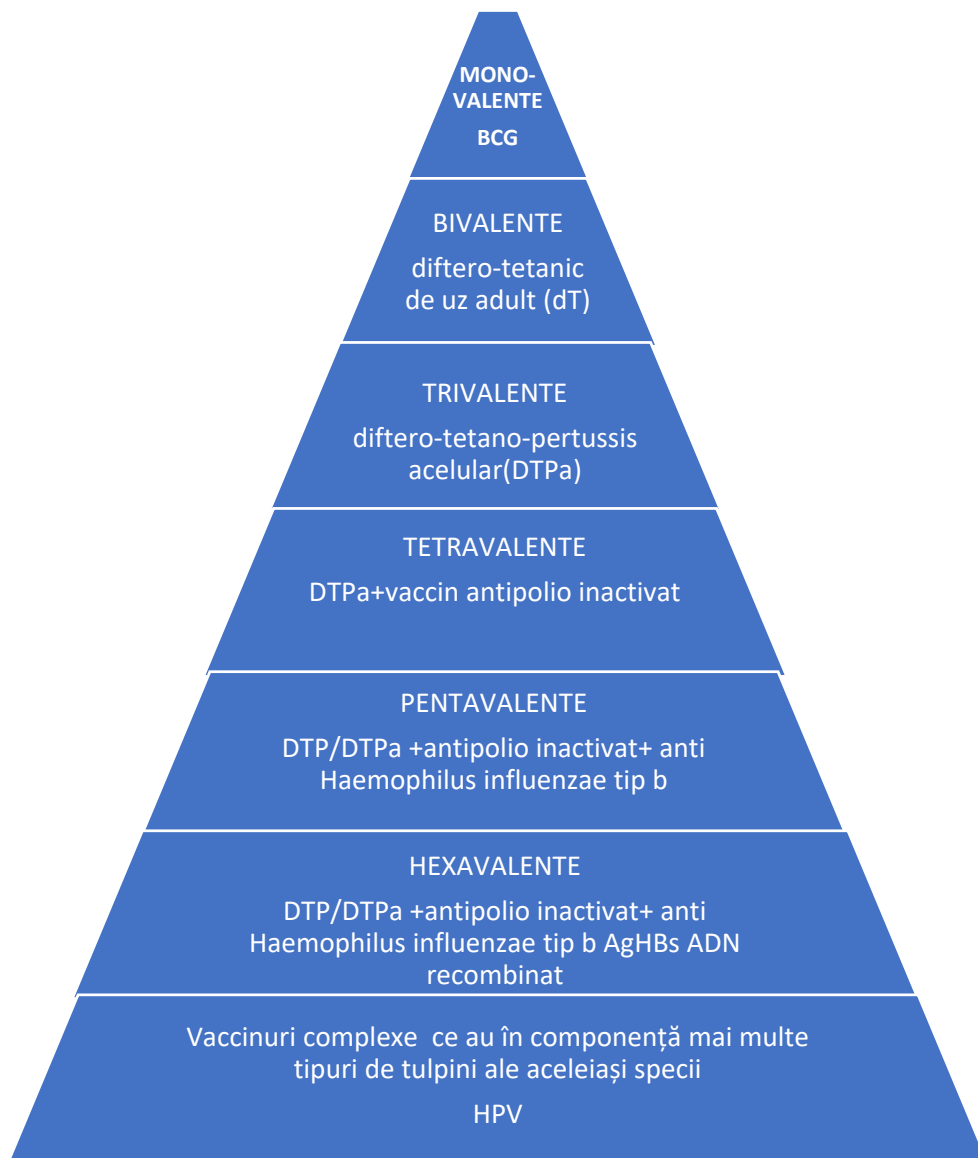
### CLASIFICAREA VACCINURILOR

#### 1. După natura antigenului



**Figura 12. Clasificarea vaccinurilor în funcție de natura antigenului.**

## 2. După numărul de componente antigenice.



**Figura 13. Clasificarea vaccinurilor în funcție de conținutul de componente antigenice.**

### **3. Clasificarea vaccinurilor în funcție de modul de preparare**

#### **Vaccinurile corpusculare vii, ele putând fi atenuate sau supraatenuate**

Aceste vaccinuri conțin microorganisme integrale cu o virulență redusă, obținută prin modificarea calității lor patogene. Cu toate acestea, aceste microorganisme păstrează capacitatea de replicare și de inducere a unui răspuns imun.

Metodele de atenuare includ pasaje repetate ale agentului patogen la diferite gazde animale, pe medii de cultură sau o combinație a acestor două metode, precum și ingineria genetică pentru realizarea mutațiilor. Acest tip de vaccin oferă o imunizare asemănătoare cu cea obținută prin boală dar au risc teratogen deci nu le putem administra gravidelor.

#### **Vaccinurile corpusculare cu bacterii inactivate**

Aceste vaccinuri au în compoziție lizate bacteriene omorâte prin agenți chimici (formaldehidă, acetone, fenol), radiații, ultrasunete sau expunere la căldură (60°C–1 oră).

#### **Anatoxine bacteriene**

Anatoxinele reprezintă toxine microbiene care au fost reduse în toxicitate prin intermediul procedurilor fizice sau chimice și sunt utilizate în fabricarea vaccinurilor. Acestea nu mai prezintă toxicitate, dar rămân caracterizate prin proprietățile lor antigenice, având capacitatea de a stimula sistemul imunitar pentru a dezvolta o protecție împotriva toxinei originare din care au fost obținute. Vaccinul antitetanic, antidifteric sau cu anatoxină pertussis sunt doar câteva exemple.

#### **Vaccinuri subunitare (acelulare)**

Aceste vaccinuri conțin fragmente purificate selectate din agentul patogen viral sau bacterian. Există mai multe tipuri de vaccinuri acelulare: pe baza de subunități proteice, cu polizaharide sau conjugate subunitar. Vaccinurile subunitare au deja o răspândire largă, inclusiv cele destinate combaterii hepatitei B, vaccinurile acelulare împotriva tusei convulsive, vaccinul pneumococic bazat pe polizaharide și vaccinul MenACWY (Polizaharidă Neisseria meningitidis serogrup A,C,W,Y). Acesta din urmă

conține polizaharide de la patru specii de bacterii implicate în boala meningococică, alături de componente de difterie și tetanos sub formă de subunități conjugate.

### **Vaccinuri ARN mesager (ARNm)**

Vaccinurile ARNm utilizează informația genetică a patogenului pentru a sintetiza un antigen specific, cu scopul de a stimula producerea de anticorpi protectivi împotriva infecției.

Vaccinurile ARNm pot fi clasificate în două categorii: non-replicative și replicative. Vaccinurile replicative includ și secvențele necesare pentru replicarea ARN-ului în interiorul celulei, ceea ce duce la o sinteză crescută a antigenului. Vaccinurile non-replicative prezintă avantajul unui control mai facil asupra tipului de răspuns imun indus, sunt mai ușor de produs și pot fi depozitate în condiții mai puțin restrictive.

### **Imunizarea pasivă**

Imunizarea artificială pasivă se efectuează prin administrarea de preparate biologice care conțin anticorpi (seruri imune, imunoglobuline, gamma-globuline, etc.), având scopul de a realiza seroterapie sau seroprofilaxie. Acest tip de imunizare conferă o imunitate imediată după administrarea preparatului, dar este temporară, având o durată limitată în timp, cu maxim 3 săptămâni. Este important de menționat că atunci când anticorpii exogeni sunt eliminați din organism, acesta devine din nou susceptibil la infecție.

Serurile imune reprezintă preparate biologice care conțin anticorpi specifici îndreptați împotriva diverselor agenți patogeni. Acestea sunt clasificate în funcție de proveniență în:

#### **Seruri imune omologe**

**De la convalescenți** obținute de la persoane care s-au recuperat deja de la o anumită boală și au dezvoltat anticorpi specifici.

**De la voluntari imunizați activ (seruri hiperimune)** produse de la persoane care au fost intenționat expuse la agentul patogen pentru a stimula producția de anticorpi.

**Din sângele donatorilor și sângele placentar (seruri standarde, normale)**

Seruri standard obținute de la donatori care nu au fost supuși la o imunizare activă și nu au trecut recent printr-o boală specifică.

Seruri normale din sângele placentar sunt cele recoltate din sângele cordonului ombilical și pot conține anticorpi transferați de la mamă la făt.

**Serurile imune heterologe** sunt obținute prin hiperimunizarea animalelor precum cai, cămile sau lame. Aceste seruri prezintă avantaje și dezavantaje importante:

### **Avantaje**

Titru dozat de anticorpi (Ac): serurile imune heterologe sunt caracterizate de un conținut măsurabil și controlat de anticorpi, facilitând administrarea unei doze precise. Deoarece provin de la animale, aceste seruri nu prezintă riscul transmiterii unor infecții umane, precum HIV sau virusuri hepatice.

### **Dezavantaje**

Eliminare rapidă (aproximativ 7 zile): serurile imune heterologe au o durată de acțiune limitată, fiind eliminate relativ rapid din organism, ceea ce poate necesita administrarea frecventă a dozelor.

Conținând proteine străine, aceste seruri pot determina o reacție imună în organismul uman, cunoscută sub denumirea de sensibilizare, care poate genera reacții alergice sau alte efecte secundare.

Utilizarea serurilor imune heterologe implică o atentă evaluare a raportului beneficii-riscuri și este adaptată la necesitățile specifice ale pacienților sau situațiilor medicale în care sunt aplicate.

**Serurile imune native**, pe lângă imunoglobuline (Ig), conțin și alte proteine ale sângelui, cum ar fi albuminele, care pot produce reacții alergice. În contrast, serurile imune purificate și concentrate sunt lipsite de albumine, acestea fiind eliminate prin procedee speciale precum precipitarea cu sulfat de amoniu, digestia enzimatică sau electroforeza.

Imunoglobulinele (gamma-globulinele) sunt componente esențiale ale serurilor imune. Acestea se obțin din seruri omologe rafinate prin procedee care extrag exclusiv gamma-globulinele și obțin o concentrație a imunoglobulinelor de 15-20 de ori mai mare față de serul nativ. Există două tipuri principale de imunoglobuline:

**Ig normale-** extrase din amestecuri de plasmă provenite de la sute sau mii de donatori sau din sânge placentar. Acestea sunt utilizate în seroprofilaxia rujeolei, hepatitei A și în terapia pacienților cu deficit umoral primar.

**Ig hiperimune (specifice)** obținute din seruri de la convalescenți sau de la persoanele imunizate împotriva unor agenți patogeni specifici, cum ar fi Ig anti-antrax, Ig anti-leptospirozică.

Separarea și purificarea imunoglobulinelor din seruri permit utilizarea lor în diverse aplicații medicale, având beneficii în seroterapie, seroprofilaxie și tratamentul unor afecțiuni imunologice. Eliminarea albuminelor din seruri imune purificate contribuie la reducerea riscului de reacții alergice.

## 7. ANTIBIOTICE ȘI CHIMIOTERAPICE ANTIINFEȚIOASE

**Antibioticele**, cunoscute și sub numele de **antibacteriene**, alcătuiesc o clasă de medicamente, având ca mediu de proveniență microorganismele (bacterii și mucegaiuri) sau obținute prin cale sintetică sau semisintetică, fiind de fapt cele mai importante substanțe medicamentoase implicate în profilaxia și tratamentul infecțiilor de etiologie bacteriană de diverse tipuri.

**Chimioterapicele antiinfecțioase** sunt substanțe chimice, numite în unele cărți de specialitate biomolecule antiinfecțioase, ce prezintă un efect antibacterian, fiind deosebite de antibiotice prin mediul de proveniență și diferitele căi de sinteză (chimică sau prin biotehnologie).

### 7.1. SCURT ISTORIC

Alexander Fleming (1881-1955), un medic cu specialitate în microbiologie, a dorit să găsească un tratament cu o mai bună aderență terapeutică pentru infecțiile rănilor provocate de către război. Fleming s-a concentrat în special pe *S. aureus* datorită rolului său activ în infecțiile provocate de aceste răni de război. El a fost interesat de noi compuși care ar putea fi folosiți pentru combaterea infecțiilor bacteriene produse de acest stafilococ, dar accentul său principal a fost pus pe diferiți compuși antibacterieni, unul dintre ei fiind arsenamina, un derivat al arsenului care a fost cunoscut la vremea respectivă datorită succesului său imens în tratarea unor cazuri de sifilis.

În 1928, Fleming s-a întors din vacanță și-a examinat niște plăci Petri vechi de stafilococi în laboratorul său de cercetare de la Spitalul Mary Techers din Londra, fără să știe că va face primii pași în descoperirea și introducerea antibioticelor în lumea medico-farmaceutică mondială. A observat că dezvoltarea mucegaiului pe cutia Petri (identificată ulterior ca și tulpină de *Penicillium notatum*) a inhibat creșterea stafilococică. Experimentele realizate ulterior au demonstrat că penicilina extrasă din mucegai prezintă efect antibacterian împotriva streptococilor, meningococilor și *Corynebacterium diphtheriae*, agentul cauzal al difteriei.

Fleming și colegii săi au fost creditați cu descoperirea și identificarea penicilinei, dar izolarea și producția de masă au fost realizate de o echipă de

cercetători de la Universitatea Oxford sub conducerea lui Howard Florey (1898–1968) și Ernst Chain (1906–1979). Datorită muncii lor importante, Fleming, Florey și Chain au primit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină în anul 1945.

## 7.2. PROPRIETĂȚI GENERALE ALE ANTIBACTERIENELOR

### 7.2.1. Spectrul de acțiune

Antibioticele care prezintă un *spectru îngust* vizează numai anumite subspecii specifice de agenți patogeni bacterieni. Ca de exemplu: anumite antibiotice cu spectru îngust sunt limitate la țintirea bacteriilor gram-pozitive, în timp ce altele sunt limitate la țintirea bacteriilor gram-negative. Cea mai eficientă abordare este utilizarea unui antimicrobian cu spectru îngust și minimizarea daunelor colaterale ale microbiotei normale, atunci când agentul patogen responsabil pentru infecție a fost identificat.

Un antibiotic cu *spectru larg* vizează o gamă largă de bacterii, inclusiv specii gram-pozitive și gram-negative, și este frecvent utilizată ca și terapie empirică pentru abordarea ținută asupra unei game largi de agenți microbieni potențiali patogeni. Antibioticele cu spectru larg sunt utilizate în tratamentul infecțiilor polimicrobiene (infecții mixte produse de mai multe specii bacteriene) sau ca și măsură preventivă împotriva infecțiilor în timpul procedurilor chirurgicale sau invazive. Atunci când un antibiotic cu spectru îngust nu reușește să obțină efectul terapeutic dorit, din cauza dezvoltării rezistenței de către agentul patogen țintă, antibioticele cu spectru larg pot fi alese pentru tratarea infecției.

### 7.2.2. Efect antibacterian

Antibioticele pot avea *efecte bacteriostatice sau bactericide* asupra bacteriilor țintă:

- *Antibioticele cu efect bacteriostatic inhibă creșterea bacteriană*, printr-un mecanism reversibil, astfel multiplicarea bacteriană poate prezenta o recurență odată ce acesta nu mai este administrat de către pacient.
- *Antibioticele cu efect bactericid*, pe de altă parte, *distrug bacteriile pe care le vizează*.



Decizia utilizării antibioticelor cu efect bacteriostatic sau bactericid depinde de tipul de infecție, modul de dezvoltare a acesteia și de starea imună a pacientului.

**Modul de acțiune al antibacterienelor / antibioticelor**, mai bine spus modul în care acestea distrug microorganismele la nivel de tip celular, este unic și selectiv pentru fiecare clasă de antibiotice, așa cum este rezumat în **Tabelul 4**.

**Tabelul 4. Modul de acțiune al diferitelor clase de antibiotice**

MOD DE ACȚIUNE	TARGET	CLASA DE ANTIBIOTICE
<b>Inhibarea biosintezei peretelui celular bacterian</b>	Proteinele binding-penicilin	<i><math>\beta</math>-lactamine</i> : peniciline, cefalosporine, monobactame, carbapeneme
	Subunități de peptidoglican Proteinele de transport ale subunităților de peptidoglican	Glicopeptide  Bacitracin
<b>Inhibarea biosintezei proteinelor</b>	Subunitatea 30S ribozomală	Aminoglicozide, Tetraciline
	Subunitatea 50S ribozomală	Macrolide, Lincosamide, Cloramfenicol, Oxazolidinone
<b>Inhibitori ai funcției membranare bacteriene</b>	Lipopolizaharide, membrana internă și externă	Polimixin B, Colistin, Daptomicin
<b>Inhibarea sintezei de acid nucleic bacterian</b>	ARN	Rifampicin
	ADN	Fluorochinolone
<b>Antimetaboliți</b>	Enzima NADH-dependentă pentru sinteza acidului folic	Sulfonamide, Trimetoprim
	Enzima NADH-dependentă pentru sinteza acidului micolic	Hidrazida acidului isonicotinic
<b>Inhibitor de ATP-micobacterian sintază</b>	ATP-micobacterian sintază	Diarilchinoline (ex: Bedaquilin)

Antimicrobienele vizează de asemenea și clasele de microorganisme, de tipul fungilor, protozoarelor, helminților și virusurile, iar unele dintre ele vizează chiar mai multe tipuri de microroganisme. Tabelul 5 prezintă diferitele clase terapeutice de **antimicrobiene antifungice**, clasificate după modul de acțiune, cu exemple pentru fiecare dintre ele.

**Tabelul 5. Diferitele clase terapeutice de antimicrobiene antifungice**

<b>MOD DE ACȚIUNE</b>	<b>CLASĂ DE ANTIMICROBIENE ANTIFUNGICE</b>	<b>UTILIZARE TERAPEUTICĂ INFECTIOASĂ</b>
<b>Inhibarea sintezei de ergosterol</b>	Imidazoli (Miconazol, Ketoconazol, Clotrimazol)	Infecții fungice ale pielii, infecții cu <i>Candida vaginalis</i>
	Triazoli (Fluconazol)	Infecții sistemice, infecție aftoasă orală și meningită criptococică
	Alilamine (Terbinafina)	Infecții dermatofitice ale pielii, infecții ale unghiilor de la mâini și picioare
<b>Blocarea legării de ergosterol în membrana celulară</b>	Poliene (Nistatin, Amfotericina B)	Infecții fungice ale pielii, gurii și vaginului, infecții fungice ale intestinului  Infecții fungice sistemice
<b>Inhibarea sintezei peretelui celular</b>	Echinocandine (Caspofungin)	Aspergiloza
	Nikkomicin Z	Coccidioidomicoză
<b>Inhibarea microtubulilor și a diviziunii celulare</b>	Griseofulvina	Infecții cutanate dermatofitice

Există câteva mecanisme prin care antibacterienele antiprotozoare vizează protozoarele infecțioase, la fel și antibacterienele antihelmintice (Tabel 6 și Tabel 7).

**Tabelul 6. Diferitele clase terapeutice de antimicrobiene antiprotozoare**

<b>MOD DE ACȚIUNE</b>	<b>CLASĂ DE ANTIMICROBIENE ANTIPROTOZOARE</b>	<b>UTILIZARE TERAPEUTICĂ INFECTIOASĂ</b>
	Proquanil	Tratamentul și prevenirea malariei (terapia combinată cu Atovaquonă)
<b>Inhibarea sintezei de acid folic</b>	Sulfadiazina	Malarie, Toxoplasmoză
	Pirimetamina	Malarie (terapia combinată cu Sulfadoxină)
<b>Inhibarea transportului de electroni în mitocondrii</b>	Naftochinone	Malarie, Toxoplasmoză
<b>Inhibarea sintezei de ADN</b>	Nitroimidazoli	Infecții cauzate de <i>Giardia lamblia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> și <i>Trichomonas vaginalis</i>
	Pentamidina	Leishmanioză
<b>Producerea de specii reactive de oxigen</b>	Artemisinin	Malarie
<b>Inhibarea proteinei de detoxifiere a hemului (PfHDP)</b>	Chinoline (Clorochina, Mepacrina, Meflochina)	Malarie și infecții cu <i>E. histolytica</i>

**Tabelul 7. Diferitele clase terapeutice de antimicrobiene antihelmintice**

<b>MOD DE ACȚIUNE</b>	<b>CLASĂ DE ANTIMICROBIENE ANTIHELMINTICE</b>	<b>UTILIZARE TERAPEUTICĂ INFECTIOASĂ</b>
<b>Inhibarea formării microtubulilor, reducând absorbția glucozei</b>	Benzimidazoli (Albendazol)	Infecții cu helminți
<b>Blocarea transmisiei neuronale</b>	Ivermectina	Boli provocate de viermi rotunzi, Strongiloidiaza, tratamentul insectelor parazitare
<b>Inhibarea producției de ATP</b>	Niclosamida	Infecții intestinale cu Tenia
<b>Inducerea influxului de Ca<sup>2+</sup></b>	Praziquantel	Schistosomiază
<b>Inhibarea sintezei de ARN</b>	Tioxantene	Schistosomiază

## **7.3. CLASE DE ANTIBACTERIENE**

### **7.3.1. Antibacteriene responsabile de inhibarea biosintezei peretelui celular bacterian**

Mai multe clase diferite de antibacteriene blochează etapele biosintezei peptidoglicanului, făcând celulele mai sensibile la liza osmotică. Majoritatea celulelor bacteriene sunt învelite de un strat rigid de peptidoglican, numit **mureină**, ce protejează bacteria împotriva presiunii osmotice în concordanță cu factorii exogeni la care este supusă aceasta. Peptidoglicanul are un grad ridicat de legături peptidice încrucișate numite  $\beta$ -(1-4)-N-acetilhexosamină. Porțiunea D-alanil-alanină a lanțului peptidic este legată încrucișat de reziduurile de glicină, în prezența proteinelor de legare ale penicilinei (proteine binding-penicilin). Pentru a rămâne în viață, bacteriile trebuie să sintetizeze în mod necesar peptidoglicanul, prin procese biochimice de *transglicozilare* și *transpeptidare*.

**7.3.1.1.  $\beta$ -LACTAMINE:** Peniciline, cefalosporine, monobactami, carbapenemi

Țintele principale ale  $\beta$ -lactaminelor sunt proteinele de legare ale penicilinei. Inelul de  $\beta$ -lactam imită porțiunea D-alanil-alanină a lanțului peptidic, care este în mod normal legat de aceste proteine, astfel încât acestea nu vor mai participa la biosinteza peretelui celular. Prin acest mecanism se va produce liza bacteriană, deoarece peretele celular subțire nu va mai poate proteja bacteria de mediul puternic hipotonic.

**7.3.1.1.1. PENICILINE** - previn finalizarea biosintezei de peptidoglican, o componentă cheie a peretelui celular bacterian.

*Reprezentanți:*

a) **Peniciline naturale (Penicilina G, Penicilina V)** - prezintă un spectru relativ îngust care cuprinde: coci gram-pozitiv (excepție stafilococul penicilinazo-secretor), coci gram-negativ (*Neisseria* spp.), bacili gram-pozitiv, spirochete (treponeme, *Leptospira*), genul *Actinomyces*.

b) **Peniciline antistafilococice (Meticilina, Oxacilina, Nafcilina)** - prezintă un spectru antimicrobian asemănător cu penicilinele naturale, dar acționează pe stafilococi penicilinazo-secretori.

c) **Aminopeniciline (Ampicilina, Amoxicilina)** - prezintă un spectru asemănător penicilinei G, dar cuprinde în plus și bacterii de tipul bacilli gram-negativi (excepție *Pseudomonas aeruginosa*).

d) **Peniciline active pe *Pseudomonas aeruginosa* (Ticarcilina, Azlocilina)** - cuprind în spectrul antimicrobian și coci gram-pozitivi (*Enterococcus* spp., streptococi) și gram-negativi.

e) **Peniciline active pe *Enterobacteriaceae* (Mecilinam, Temocilina)** - spectru antimicrobian îngust.

### **7.3.1.1.2. CEFALOSPORINE**

Prezintă din punct de vedere chimic structura beta-lactamică, descoperite în culturile de *Cephalosporium acremonium*. În ziua de astăzi, sunt utilizate în terapie antibacterienele obținute prin semisintează, substituite cu diverși radicali în poziția a-7-a a inelului beta-lactamic și în poziția 3 a inelului dihidrotiazinic.

*Reprezentanți:*

a) **Cefalosporine de generația I (Cefazolina, Cefalexin etc.)** - spectru antibacterian asemănător penicilinei G și cuprinde în plus stafilococul penicilinazosecretor și inactive pe stafilococi rezistenți la Meticilina.

b) **Cefalosporine de generația a-II-a (Cefuroxim, Cefaclor, Cefoxitin etc.)** - spectru antibacterian superior celor din generația I, cuprinzând diferiți germeni rezistenți (exemple: *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter aerogenes*).

c) **Cefalosporine de generația a-III-a (Cefotaxim, Ceftriaxon etc.)** - utilizare doar în cazuri selecționate de maximă urgență având spectrul antibacterian activ pe bacilli gram-negativ multirezistenți, *H. influenzae*, coci gram-negativi (*Neisseria pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*), anumite specii de *Enterobacteriaceae*.

d) **Cefalosporine de generația a-IV-a (Cefepim, Cefpirom etc.)** - spectru antimicrobian activ pe bacterii gram-pozitive și bacili gram-negativi.

e) **Cefalosporine de generația a-V-a (Ceftarolin, Ceftobiprol)** - spectru antimicrobian activ pe MRSA, *Listeria* spp., *Enterococcus faecalis*.

#### 7.3.1.1.3. CARBAPENEMI (Imipenem, Meropenem, Ertapenem)

Spectru antibacterian foarte larg, cuprinzând atât bacterii gram-pozitive, cât și bacterii gram-negative aerobe și anaerobe - *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* spp. (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp.), *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella* spp.

7.3.1.1.4. **MONOBACTAMI (Aztreonam)** - activi pe bacilli gram-negativi aerobi, inclusiv *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 7.3.1.2. GLICOPEPTIDE

Au fost descoperite în anii 1950 ca și antibiotice naturale extrase din *Amycolatopsis orientalis*. Similar cu beta-lactaminele, acestea inhibă biosinteza peretelui celular și prezintă efect bactericid.

Reprezentantul clasei este **Vancomicina**, având efect bactericid împotriva bacteriilor gram-pozitive, dar nu este activă împotriva bacteriilor gram-negative din cauza incapacității sale de a penetra membrana exterioară proteoasă.

### 7.3.1.3. BACITRACIN

Constă dintr-un grup de antibiotice peptidice similare din punct de vedere structural, izolate inițial din *Bacillus subtilis*, ulterior din *Bacillus licheniformis*. Blochează activitatea proteinelor de transport ale subunităților de peptidoglican, responsabile pentru transportul precursorilor peptidoglicanului de la citoplasmă la exteriorul celulei, în cele din urmă, împiedicând astfel încorporarea lor în peretele celular.

Eficient împotriva unei game largi de bacterii, inclusiv a organismelor gram-pozitive găsite pe organul cutanat (*Staphylococcus epidermidis*). Este utilizat în microbiologie ca și standard de clasificare a unor clase mari de microorganisme.

### 7.3.2. Antibacteriene responsabile de inhibarea biosintezei proteinelor

#### 7.3.2.1. Subunitatea 30S ribozomală

##### 7.3.2.1.1. AMINOGLICOZIDE

Sunt antibacteriene cu structuri chimice foarte polare, care se leagă de subunitatea 30S a ribozomilor bacterieni, afectând astfel capacitatea de funcționare a complexului ribosomal și perturbarea membranei citoplasmatică. Include antibacteriene puternice cu spectru larg precum **Streptomicina, Gentamicina, Neomicina și Kanamicina**. Cu toate acestea, aminoglicozidele s-au dovedit a fi nefrot toxice, neurotoxice și ototoxice.

Spectru de acțiune: gram-negativi multi-rezistenți (*Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*), *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*.

##### 7.3.2.1.2. TETRACICLINE

Spre deosebire de aminoglicozide, acestea au efect bacteriostatic, inhibând sinteza proteinelor prin blocarea asocierii ARNt cu ribozomii în timpul procesului de translație. Tetraciclinele sunt produse în mod natural de diferite tulpini de *Streptomyces*, fiind descoperite pentru prima dată în anii 1940. De asemenea au fost sintetizate și câteva tetracicline semisintetice (**Doxiciclina, Tigeciclina**).

Spectru de acțiune: coci gram-pozitiv și gram-negativ (streptococci, stafilococci, *Neisseria spp.*), bacilli gram-pozitiv și gram-negativ (*Bacillus anthracis*, *Listeria*, *Brucella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia*, *Legionella*,

*Enterobacter*, *H. influenzae*), *Treponema pallidum*, *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.*, rickettsi.

### 7.3.2.2. Subunitatea 50S ribozomală

#### 7.3.2.2.1. MACROLIDE

Antibacteriene cu efect bacteriostatic și spectru larg, care permit inhibarea formării legăturilor peptidice între diferitele combinații specifice de aminoacizi. Prima macrolidă a fost **Eritromicina**, fiind izolată în anul 1952 din *Streptomyces erythreus*. Macrolidele semisintetice includ **Azitromicina** și **Telitromicina**.

Spectru de acțiune: coci gram-pozitiv și gram-negativi, bacili gram-pozitivi, *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella*, *Chlamydia pneumoniae*, rickettsi.

#### 7.3.2.2.2. LINCOSAMIDE

Includ **Lincomicina** și **Clindamicina**. Deși sunt distincte din punct de vedere structural de macrolide, lincosamidele sunt similare în modul lor de acțiune cu macrolidele prin legarea la subunitatea ribozomală 50S, prevenind formarea legăturii peptidice. Lincosamidele sunt deosebit de active împotriva infecțiilor streptococice și stafilococice.

#### 7.3.2.2.3. CLORAMFENICOL

Produs de *Streptomyces venezuelae*, a fost descoperit în anul 1947, iar în anul 1949 a devenit primul antibiotic cu spectru larg aprobat de FDA. Deși este un antibiotic natural, este de asemenea și primul medicament antibacterian produs pe cale sintetică.

Spectru de acțiune: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Haemophilus Influenza*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella enterica Typhi*, *Brucella*, rickettsi.

#### 7.3.2.2.4. OXAZOLIDINONE (Linezolid)

Antibacteriene cu spectru larg, inhibitori sintetici de sinteză a proteinelor care se leagă de subunitatea ribozomală 50S a bacteriilor gram-pozitive și gram-negative.

Spectru de acțiune: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus* (inclusiv MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus*



*agalactiae, Streptococcus pneumonia, Streptococcus pyogenes* (streptococul beta-hemolitic de grup A), streptococi viridians (*S. mutans, S. salivarius, S. anginosus, S. mitis, S. sanguinis, S. bovis*).

### **7.3.3. Antibacteriene responsabile de inhibarea funcției membranare bacteriele**

Polimixinele sunt antimicrobiene polipeptidice naturale care au fost descoperite pentru prima dată în anul 1947, izolate din *Bacillus polymyxa*, dar numai **Polimixina B și Polimixina E (Colistin)** au fost utilizate clinic. Interacționează cu componenta lipopolizaharidică a membranei exterioare a bacteriilor gram-negative, perturbând în cele din urmă atât membranele exterioare, cât și cele interioare, producând liza bacterienă.

Spectru de acțiune: *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii*.

**Daptomicina** este o lipopeptidă ciclică produsă de *Streptomyces roseosporus*, vizează în mod specific bacteriile gram-pozitive.

### **7.3.4. Antibacteriene responsabile de inhibarea sintezei de acid nucleic bacterian**

#### **7.3.4.1. ANTIBACTERIENE RESPONSABILE DE INHIBAREA SINTEZEI DE ARN BACTERIAN (Rifampicina)**

Funcționează prin blocarea activității ARN polimerazei în bacterii. Enzimele ARN polimerazei din bacterii sunt structural diferite de cele din eucariote, asigurând toxicitate selectivă împotriva celulelor bacteriene.

Spectru de acțiune îngust cu activitate împotriva bacteriilor gram-pozitive și limitat la bacteriile gram-negative. Activă împotriva *Mycobacterium tuberculosis*.

#### **7.3.4.2. ANTIBACTERIENE RESPONSABILE DE INHIBAREA SINTEZEI DE ADN BACTERIAN (Fluorochinolone)**

Reprezentanți: **Ciprofloxacina, Levofloxacina.**

Inhibă activitatea ADN-girazei, fiind eficiente împotriva unui spectru larg de bacterii gram-pozitive și gram-negative.

### 7.3.5. Antibacteriene de tip antimetaboliți

#### 7.3.5.1. INHIBITORI AI ENZIMEI NADH-DEPENDENTĂ PENTRU SINTEZA ACIDULUI FOLIC (Sulfonamide, Trimetoprim)

**Sulfonamidele** sunt printre cei mai vechi agenți antibacterieni sintetici, analogi structurali ai acidului para-aminobenzoic, un intermediar timpuriu în sinteza acidului folic. Prin inhibarea enzimei implicate în producerea acidului dihidrofolic (dihidropteroatsintetaza), sulfonamidele blochează biosinteza bacteriană a acidului folic și, ulterior, a pirimidinelor și purinelor necesare pentru sinteza acidului nucleic. Acest mecanism de acțiune asigură inhibarea bacteriostatică a creșterii împotriva unui spectru larg de agenți patogeni gram-pozitivi și gram-negativi.

Spectru de acțiune larg: coci gram-pozitivi și gram-negativi (streptococ, meningococ, gonococ, meningococ), bacili gram-pozitivi și gram-negativi (*Clostridium tetani*, *Brucella*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*), *Mycoplasma spp.*, *Actinomyces spp.*, toxoplasme, plasmodii.

**Trimetoprimul** este un analog structural al acidului dihidrofolic și inhibă dihidrofolatreductaza, care este responsabilă pentru o etapă ulterioară a căii metabolice al acestuia.

Spectru de acțiune: *Neisseria gonorrhoeae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*

#### 7.3.5.2. INHIBITORI AI ENZIMEI NADH-DEPENDENTĂ PENTRU SINTEZA ACIDULUI MICOLIC (Izoniazida)

**Izoniazida** este un antimetabolit cu toxicitate specifică pentru *Mycobacterium spp.*, folosit de mult timp în combinație cu Rifampicină sau Streptomycină în tratamentul tuberculozei.

Prezintă acțiune asupra unei enzime intracelulare de peroxidază bacteriană, formând astfel dinucleotid-adenin-izoniazid-nicotinamidă și fosfat-adenin-dinucleotidic-izoniazid-nicotinamidă, astfel în cele din urmă previne sinteza acidului micolic, care este esențială pentru pereții celulelor micobacteriene.

### **7.3.6. Antibacteriene responsabile de inhibarea ATP-micobacterian sintază**

**Bedaquilin**, reprezentând clasa antibacteriană sintetică a compușilor numiți diarilchinoline, utilizează un nou mod de acțiune care inhibă în mod specific creșterea micobacteriană. Deși mecanismul specific nu a fost încă elucidat, acest compus pare să interfereze cu gradientul de ioni de hidrogen responsabil pentru sinteza ATP-ului prin procesul de fosforilare oxidativă, ceea ce conduce la reducerea producției de ATP.

Datorită efectelor sale secundare, inclusiv hepatotoxicitatea și aritmia cardiacă potențial letală, utilizarea sa este rezervată cazurilor grave, netratabile de tuberculoză.

## 8. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- 1 Amal Kumar Dhara, Amit Kumar Nayak, Debprasad Chattopadhyay, In Developments in Microbiology, Antibiotics - Therapeutic Spectrum and Limitations, Academic Press, 2023, pages 167-181, ISBN 9780323953887.
- 2 Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE., Defining the normal bacterial flora of the oral cavity, J Clin Microbiol. 2005 Nov;43(11):5721-32.
- 3 Ardelean I., Microbiologie generală, Vol. 1, Editura Ars Docendi București, 2008
- 4 ARDELEAN I., Microbiologie generală volumul 2, Editura Ars Docendi București, 2012
- 5 Ashutosh Kar Pharmaceutical Microbiology, New age International Publishers, 2008
- 6 Atudosiei N.L, P. Stefanescu, E. Stefanescu- „, Microbiologie generală și aplicată”, Ed. Universitas București, 2000
- 7 Azoicăi Doina, Îndreptar de vaccinare în cabinetul medicului de familie, Ediția a-II-a, Editura Almaltea, 2023
- 8 Bañuls AL, Sanou A, Van Anh NT, Godreuil S, Mycobacterium tuberculosis: ecology and evolution of a human bacterium, J Med Microbiol. 2015 Nov;64(11):1261-1269.
- 9 Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML et al: Manual of Clinical Microbiology. ASM Press; 12th edition, 2019.
- 10 E Canouï, O. Launay, History and principles of vaccination, 2018 published by Elsevier.
- 11 D.Buiuc, Microbiologie medicală, Editura Gr. T Popa, Iași, ediția VI, 2003
- 12 Connie R. Mahon, Donald C. Lehman, George Manuselis, Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition 2015
- 13 Cai R, Cheng C, Chen J, Xu X, Ding C, Gu B., Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the mucus layer in the colon, Gut Microbes. 2020 Jul 3;11(4):680-690.

- 14 Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ., Skin microflora and bacterial infections of the skin., J Investig Dermatol Symp Proc. 2001 Dec;6(3):170-4.
- 15 D'Amelio P, Sassi F., Gut Microbiota, Immune System, and Bone, Calcif Tissue Int. 2018 Apr;102(4):415-425
- 16 Emil C. Gotschlich and Vincent A. Fischetti, The career of Maclyn McCarty, Journal Exp Med (2005)
- 17 Estee Torok, Ed Moran, Fiona Cooke, Oxford Handbook of infectious diseases and microbiology, second edition Oxford Medical Publications
- 18 Emanoil Ceaușu. Tratat de Boli Infecțioase. Volumul 1, Editura Medicală. 2018. ISBN 978-973-39-0847-0
- 19 Emanoil Ceaușu. Tratat de Boli Infecțioase. Volumul 2, Editura Medicală. 2020. ISBN 978-973-39-0877-7
- 20 Ghidul pentru prevenirea și limitarea fenomenului de rezistență la antimicrobiene (AMR) și a infecțiilor asociate asistenței medicale (IAAM) – Boli Infecțioase, Epidemiologie, Microbiologie, accesate la adresele, Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș” din București, 2022
- 21 Gold HS, Vancomycin-resistant enterococci:mechanisms and clinical observations. Clin Infect Dis. 2001;33:210-219
- 22 Hernandez, Victoria, "The Hershey-Chase Experiments (1952), by Alfred Hershey and Martha Chase". Embryo Project Encyclopedia ( 2019-06-23 ). ISSN: 1940-5030
- 23 Hanlon Geoffrey and Norman Hodges, Essential Microbiology for Pharmacy and Pharmaceutical Science, School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton, UK, John Wiley & Sons, Ltd 2013
- 24 Hugo and Russell's Phaemaceutical Microbiology seventh edition, edited by Stephen P Denyer Cardiff University
- 25 Hutchings Matthew I, Andrew W Truman, Barrie Wilkinson, Antibiotics: past, present and future, Current Opinion in Microbiology, Volume 51,2019, pages 72-80, ISSN 1369-5274.
- 26 Irina Maria Brumboiu, Ioan Stelian Bocean. Vaccinuri și vaccinări în practica medicală, Editura medicală universitară “Iuliu Hațieganu”, ClujNapoca, 2005: 38; 75-124;145-161

- 27 Ilya S Korotetskiy, Sergey V Shilov, Tatyana Kuznetsova, Analysis of Whole-Genome Sequences of Pathogenic Gram-Positive and Gram-Negative Isolates from the Same Hospital Environment to Investigate Common Evolutionary Trends Associated with Horizontal Gene Exchange, Mutations and DNA Methylation Patterning, *Microorganisms* 2023 Jan 27;11(2):323.
- 28 LAZĂR VERONICA, LUMINIȚA GABRIELA MĂRUȚESCU, MARIANA CARMEN CHIFIRIUC, *MICROBIOLOGIE GENERALĂ ȘI APLICATĂ*, 2017, ISBN: 978-606-16-0835-5
- 29 Mahon CR, Lehman DC: *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th edition, St. Louis, Missouri, Elsevier, 2019, ISBN 9780323482189
- 30 Moldovan Roxana, Licker Monica, Hogeia Elena, Bădițoiu Luminița, *Microbiologie Generală*, UMFT 2015
- 31 METHOT PIERRE-OLIVIER, *Bacterial Transformation and the Origins of Epidemics in the Interwar Period: The Epidemiological Significance of Fred Griffith's "Transforming Experiment"*, *Journal of the History of Biology*, 2015.
- 32 Maheswary T, Nurul AA, Fauzi MB., *The Insights of Microbes' Roles in Wound Healing: A Comprehensive Review.*, *Pharmaceutics*. 2021 Jun 29;13(7):981.
- 33 Ordeanu Viorel, *Microbiologie farmaceutica. Note de curs*, ISBN/ISSN: 978-606-27-1130-6, Editura: Hamangiu
- 34 ORDEANU Viorel, *Microbiologie generala si farmaceutica, lucrari practice*, Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila", Bucuresti 2012
- 35 Pommerville Jeffrey C., *Fundamentals of Microbiology*, Twelfth Edition Jones and Bartlett Learning
- 36 Popa Gabriela Loredana, 2008, *Microbiologie farmaceutică*, Ed. Renaissance
- 37 Plotkin S. *History of vaccination*. *Proc. Natl. Acad. Sci* 2014; 111:12283–7.
- 38 Poudel, A., Lau, E. T. L., Deldot, M., Campbell, C., Waite, N. M., & Nissen, L. M. (2019). *Pharmacist role in vaccination: Evidence and challenges*. *Vaccine*. doi:10.1016/j.vaccine.2019.08.060

- 39 Pathak JL, Yan Y, Zhang Q, Wang L, Ge L., The role of oral microbiome in respiratory health and diseases, *Respir Med.* 2021 Aug-Sep;185:106475.
- 40 Pines A., Microbiotica in women., *Climacteric.* 2015 Oct;18(5):666-8.
- 41 Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, et al. (2014). „Effect of BCG vaccination against Mycobacterium tuberculosis infection in children: systematic review and meta-analysis”. *BMJ.* 349
- 42 Schlievert P M, K M Bettin and D W Watson, Reinterpretation of the Dick test: role of group A streptococcal pyrogenic exotoxin. *Infect Immun* 1979 Nov;26(2):467-72
- 43 Saraf VS, Sheikh SA, Ahmad A, Gillevet PM, Bokhari H, Javed S, Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis, *Arch Microbiol.* 2021 Sep;203(7):3793-3802.
- 44 Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L., 2012, *Microbiology: An Introduction*, ed. a 12-a, Editura Benjamin Cummings
- 45 Verma D, Garg PK, Dubey AK., Insights into the human oral microbiome., *Arch Microbiol.* 2018 May;200(4):525-540.
- 46 World Health O (februarie 2018). „BCG vaccines”. *Weekly Epidemiological Record.* 93 (8): 73–96.
- 47 Willey J., Sherwood L., Woolverton C.J., 2016, *Prescott's Microbiology*, editia a 10-a, Editura McGraw-Hill Education
- 48 Yang Y, Qu L, Mijakovic I, Wei Y., Advances in the human skin microbiota and its roles in cutaneous diseases, *Microb Cell Fact.* 2022 Aug 29;21(1):176.
- 49 Zarnea G., *Tratat de microbiologie generală*, Vol. 1 Editura Academiei, 1983
- 50 Zepp F. *Principles of Vaccination.* *Methods Mol. Biol.* Clifton NJ 2016; 1403:57–84.