



UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

CURS DE MICROBIOLOGIE

PARTE GENERALĂ

**Roxana Moldovan
Monica Licker
Elena Hogeia
Delia Muntean
Luminița Bădițoiu**

MANUALE

Editura „Victor Babeș”
Timișoara, 2025

Autori:

Prof. univ. dr. Roxana Moldovan

Prof. univ. dr. Monica Licker

Conf. univ. dr. Elena Hoge

Prof. univ. dr. Delia Muntean

Conf. univ. dr. Luminița Bădițoiu

Coautori:

Asistent univ. dr. Silvana Vulpie

Asistent univ. dr. Oana Izmendi

Asistent univ. dr. Dan Vulcănescu

Asistent univ. dr. Adela Voinescu

Editura „Victor Babeș”

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

Tel./Fax 0256 495 210

e-mail: evb@umft.ro

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

Director general: Prof. univ. dr. Sorin Ursoniu

Colecția: MANUALE

Coordonatori colecție: Prof. univ. dr. Codruța Șoica

Prof. univ. dr. Daniel Lighezan

Referent științific: Prof. univ. dr. Andrei Anghel

© 2025

Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate. Reproducerea parțială sau integrală a textului, pe orice suport, fără acordul scris al autorilor este interzisă și se va sancționa conform legilor în vigoare.

ISBN 978-606-786-516-5

CUPRINS

1. INTRODUCERE	8
2. LOCUL AGENȚILOR INFECȚIOȘI ÎN SISTEMATICA MICROORGANISMELOR	14
2.1. <i>Protiste</i>	14
2.2. <i>Procariote</i>	15
2.3. <i>Virusuri, viroizi și prioni</i>	16
3. MORFOLOGIA ȘI STRUCTURA BACTERIILOR	18
3.1. <i>Morfologia bacteriilor</i>	18
3.1.1. Dimensiuni	18
3.1.2. Formă	18
3.1.3. Așezare	19
3.2. <i>Studiul morfologic al bacteriilor</i>	20
3.3. <i>Structura celulei bacteriene</i>	22
3.3.1. Componentele obligatorii	23
3.3.2. Componente bacteriene neobligatorii	29
4. FIZIOLOGIA BACTERIANĂ	35
4.1. <i>Compoziția chimică a bacteriilor</i>	35
4.2. <i>Nutriția bacteriană</i>	36
4.2.1. Necesitățile nutritive ale bacteriilor de interes medical	36
4.3. <i>Metabolismul bacterian</i>	37
4.3.1. Reacțiile catabolice	37
4.3.2. Reacții intermediare	40
4.3.3. Reacții anabolice	40
4.4. <i>Creșterea și înmulțirea bacteriilor</i>	41
4.4.1. Curba de creștere și înmulțire a bacteriilor într-un mediu limitat	41
4.4.2. Curba de creștere și înmulțire a bacteriilor în culturi continue	44
4.4.3. Înmulțirea bacteriilor în organism	44
4.5. <i>Influența factorilor de mediu asupra înmulțirii bacteriilor</i>	47
4.5.1. Temperatura	47
4.5.2. pH-ul	48
4.5.3. Umiditatea	48
4.5.4. Concentrația de bioxid de carbon	49
4.5.5. Ultrasunetele	49
4.5.6. Presiunea hidrostatică	49
4.5.7. Presiunea osmotică	49
4.5.8. Electricitatea	50
4.5.9. Radiațiile	50
4.6. <i>Metode de cultivare a bacteriilor</i>	51
4.6.1. Condiții generale pentru cultivarea bacteriilor	52

5. GENETICA BACTERIANĂ	53
5.1. <i>Suportul material al eredității</i>	53
5.1.1. Structura ADN	54
5.1.2. Replicarea ADN	55
5.2. <i>Organizarea materialului genetic la bacterii</i>	55
5.2.1. Cromozomul bacterian	55
5.2.2. Formațiunile genetice extracromozomiale	56
5.3. <i>Variabilitatea la bacterii</i>	61
5.3.1. Mutația	61
5.3.2. Transferul de material genetic	62
5.3.3. Transformarea	63
6. CHIMIOTERAPICE ANTIINFECȚIOASE	71
6.1. <i>Clasificare</i>	71
6.2. <i>Farmacocinetica</i>	72
6.3. <i>Efecte nedorite ale administrării agenților antimicrobieni</i>	73
6.4. <i>Rezistența bacteriilor la antibiotice</i>	74
6.4.1. Mecanismele rezistenței dobândite	74
6.4.2. Suportul biochimic al rezistenței	75
6.4.3. Transformarea unei tulpini într-o populație rezistentă	75
6.5. <i>Principalele clase de agenți terapeutici antibacterieni</i>	77
6.5.1. Inhibitori ai sintezei peretelui celular	77
6.5.2. Agenți tensioactivi ce lezează membrane citoplasmatică	84
6.5.3. Inhibitori ai sintezei proteice	85
6.5.4. Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici	91
6.6. <i>Utilizarea chimioterapicelor antiinfecțioase</i>	93
6.7. <i>Terapia empirică</i>	95
7. PATOGENITATEA MICROBIANĂ	96
7.1. <i>Clasificarea microorganismelor după patogenitate</i>	96
7.2. <i>Flora normală a organismului</i>	97
7.2.1. Flora normală a pielii	98
7.2.2. Flora normală a cavității bucale și a vestibului nazal	98
7.2.3. Flora normală a tubului digestiv	98
7.2.4. Flora normală a tractului urogenital	99
7.3. <i>Rolul florei normale</i>	99
8. FACTORII DE PATOGENITATE AI BACTERIILOR	102
8.1. <i>Factori de pătrundere și aderență</i>	103
8.1.1. Fimbriile	103
8.1.2. Adezine nefimbriale	104

8.2.	<i>Factori de invazie microbiană</i>	104
8.2.1.	Exoenzime	104
8.2.2.	Endocitoza și translocarea	105
8.3.	<i>Toxine bacteriene</i>	105
8.3.1.	Exotoxine	105
8.3.2.	Endotoxine	106
9.	REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ NATURALĂ	108
9.1.	<i>Factorii genetici</i>	108
9.2.	<i>Barierile anatomice</i>	109
9.3.	<i>Mecanisme de recunoaștere moleculare a agenților infecțioși în cadrul rezistenței antiinfecțioase înăscute</i>	113
9.3.1.	Molecule de suprafață comune asociate agenților infecțioși-PAMPs	113
9.3.2.	Receptorii de recunoaștere a moleculelor de suprafață- PRR	114
9.4.	<i>Mecanismele umorale ale rezistenței naturale</i>	117
9.4.1.	Cascada de activare a complementului	117
9.4.2.	Mediatorii inflamației	122
9.4.3.	Mecanisme celulare nespecifice	126
10.	REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ DOBÂNDITĂ	132
10.1.	<i>Antigenele</i>	132
10.1.1.	Definiție. Antigene complete. Haptene	132
10.1.2.	Factori care influențează imunogenitatea	134
10.1.3.	Antigene microbiene	135
10.1.4.	Superantigene	136
10.2.	<i>Sistemul celular imunocompetent</i>	137
10.2.1.	Organele limfoide primare	137
10.2.2.	Organele limfoide secundare	137
10.2.3.	Celulele implicate în răspunsul imun	140
10.2.4.	Celule cu origine limfoidă - limfocitele	143
10.2.5.	Receptorii pentru antigen a limfocitelor	146
10.2.6.	Anticorprii	147
10.2.7.	Răspunsul imun	154
10.2.8.	Concluzii	161
10.3.	<i>Fenomene de hipersensibilitate</i>	162
10.3.1.	Reacția de tipul I (de tip imediat sau anafilactică)	163
10.3.2.	Reacțiile de tip II citotoxic-citolitic	165
10.3.3.	Reacțiile de tip III prin complexe imune	167
10.3.4.	Reacțiile de tip IV mediate celular	169
11.	INFECȚIA	173
11.1.	<i>Patogenia infecțiilor</i>	173
11.1.1.	Contaminarea	173
11.1.2.	Pătrunderea	174

11.1.3.	Multiplicarea	174
11.1.4.	Localizarea infecției	175
11.2.	<i>Etapele evolutive ale infecției</i>	175
11.3.	<i>Efectele nocive ale infecției</i>	176
11.3.1.	Alterări organice și funcționale datorate agenților infecțioși	176
11.3.2.	Alterări datorate reacțiilor de apărare antiinfecțioasă	176
11.4.	<i>Manifestările clinice ale infecției</i>	177
11.5.	<i>Noțiuni de epidemiologie a infecțiilor</i>	178
11.5.1.	Factori determinanți	179
11.5.2.	Factori favorizanți	182
11.5.3.	Manifestarea procesului epidemiologic	183
11.6.	<i>Profilaxia bolilor infecțioase</i>	184
11.7.	<i>Infecția asociată asistenței medicale (IAAM)</i>	184
12.	IMUNIZAREA ARTIFICIALĂ ACTIVĂ ȘI PASIVĂ	187
12.1.	<i>Imunoprofilaxia artificială activă</i>	187
12.1.1.	Clasificarea vaccinurilor	187
12.1.2.	Principii de vaccinare	191
12.2.	<i>Imunoprofilaxia artificială pasivă</i>	192
	Bibliografie	195

1. INTRODUCERE

Omul trăiește într-un mediu populat de numeroase microorganisme, multe dintre ele aflându-se chiar în interiorul organismului său. Deși nu au putut fi vizualizate mult timp, efectele lor au fost observate din vechime, fiind folosite empiric la dospirea pâinii, fermentarea vinului sau berii, dar și la conservarea alimentelor prin sterilizare. Abia în secolul XIX, prin cercetările lui Pasteur, s-a descoperit rolul microorganismelor în etiologia bolilor infecțioase.

Noțiunea de contagiune este cunoscută din antichitate, fiind menționată în Vechiul Testament și analizată de medici și filosofi. **Thucidide** a explicat apariția epidemiilor printr-un „contagium animatum”, iar **Varo** a emis ipoteza existenței unor „animalia minuta” responsabile de boli precum malaria.

Hippocrate a atribuit epidemiile „aerului otrăvit”, fundament al teoriei miasmelor, menținută până în secolul XIX. În paralel, **Fracastoro** a formulat teoria contagiunii, conform căreia bolile infecțioase se transmit prin „seminaria morbi”. Ambele teorii au stat la baza măsurilor de igienă și a carantinei, precursori ale epidemiologiei moderne.

În 1675, **Antoni van Leeuwenhoek** a observat pentru prima dată microorganismele („animalcule”) cu ajutorul unor lentile șlefuite de el însuși, descriind formele lor fundamentale. În anul 1695 Leeuwenhoek își publică întreaga operă într-o carte intitulată „Arcanae naturae microscopiorum detecta”. Dar nici Leeuwenhoek și nici contemporanii săi nu au realizat importanța extraordinară a descoperirii sale, atenția savanților îndreptându-se, spre originea, nu spre rolul acestor microorganisme. Astfel s-a adoptat „teoria generației spontane” care susținea că microorganismele apar „din nimic”, acolo unde se află material organic în putrefacție. Teoria s-a menținut până în secolul al XIX-lea, în ciuda încercărilor repetate ale unor savanți de a demonstra contrariul.

Abatele **Lazzaro Spallanzani (1729-1799)** arată că fierberea infuziilor și izolarea recipientului împiedică apariția generației spontane.

Începând din secolul al XVII s-au ridicat tot mai frecvent voci care au pledat pentru rolul microorganismelor în etiologia infecțiilor, dar ele nu au fost luate în seamă. Astfel, Robert Boyle sugerează, în 1663, că unele boli trebuie să rezulte în urma unor fermentații.

La sfârșitul secolului al XVIII-lea, medicul englez Edward Jenner publică rezultatele obținute prin imunizarea artificială a oamenilor împotriva variolei. Bazându-se pe observațiile populare, în legătură cu faptul că îngrijitorii de vaci care se îmbolnăveau de vaccina vacilor nu mai făceau variolă, el inoculează lichid din pustulele vaccinale de pe ugerul vacilor la om, instituind astfel vaccinarea antivariolică.

Înainte de enunțarea teoriei microbiene a infecțiilor Ignaz **Semmelweis (1818-1865)**, reduce mortalitatea leuzelor într-una din cele două clinici vieneze de obstetrică, de la 18% la 1,27%, obligând personalul sanitar și studenții care lucrau la disecția cadavrelor să se spele pe mâini cu clorură de var. **Joseph Lister**, chirurg din Edinburgh, introduce în clinica sa asepsia prin pulverizarea acidului carbolic în sălile de operație, scăzând astfel drastic numărul de infecții postoperatorii ale plăgilor.

Elaborarea teoriei microbiene a bolilor infecțioase este meritul lui **Louis Pasteur (1822 - 1895)**, fondatorul microbiologiei medicale ca știință.

Profesor de chimie, Pasteur descoperă că fermentația vinului, a berii, a oțetului, precum și fermentația lactică sunt rezultatul activității unor anumiți microbi, introducând astfel noțiunea de specificitate. El introduce metoda de sterilizare care-i poartă numele - pasteurizarea, utilizată și astăzi pe scară largă în industria alimentară.

Pasteur combate teoria generației spontane printr-o serie de experiențe simple, arătând că autogeneza nu este posibilă și că microbi provin din mediul înconjurător. Încălzind la fierbere bulion în baloane cu gâtul neînchis dar foarte lung și încovoiat “în gât de lebădă”, el constată că bulionul rămâne limpede timp îndelungat. Discreditând definitiv teoria generației spontane, Pasteur a început să se preocupe de cauzele care determină apariția bolilor infecțioase. El descoperă foarte mulți microbi, în diverse produse patologice, ceea ce îi permite să prezinte în 29 aprilie 1878 celebra lucrare “*La théorie des germes et ses applications a la médecine et a la chirurgie*”. Această teorie expune pentru prima oară ideile fundamentale ale teoriei microbiene.

La solicitarea crescătorilor de vite, Pasteur cercetează boala numită “dalac” sau “cârbune”, care decima cirezile de vite și oi ce pășteau pe pășunile contaminate cu spori de bacili cârbunoși. Combinând acțiunea căldurii și învechirii, Pasteur a scăzut virulența bacilului cârbunos preparând două vaccinuri: vaccinul Pasteur I mai puțin atenuat și vaccinul Pasteur II mai atenuat. După obținerea celor două vaccinuri, efectuează în anul 1891 celebra experiență de la Pouilly Le Fort inoculând 24 de oi, 6 vaci și o capră, întâi cu vaccin Pasteur II și după 7 zile cu vaccin Pasteur I. După alte 7 zile inoculează atât lotul vaccinat cât și un lot martor de animale nevaccinate cu bacil cârbunos virulent. După 24 de ore toate animalele martor, nevaccinate, au murit de infecție cârbunoasă, pe când cele vaccinate nu au făcut boala.

Tot lui Pasteur i se datorează vaccinul antirabic, pe care l-a preparat fără să cunoască natura virală a agentului etiologic. După experimentarea eficientă pe animale, s-a efectuat în 6 iulie 1885 prima vaccinare încununată de succes la un copil, Joseph Meister, mușcat de un câine turbat. În urma acestei remarcabile realizări s-au strâns, prin eforturi internaționale, fonduri pentru construirea unui Institut de Cercetări la Paris care poartă numele lui Pasteur.

Contemporan cu Pasteur, **Robert Koch (1843-1910)** își începe cariera ca medic de țară, prima sa descoperire fiind sporul bacilului cârbunos, în timp ce examina cultura acestui germene pe un preparat nativ între lamă și lamelă.

El introduce în practica bacteriologică examinarea morfologică a microbilor pe frotiuri fixate și colorate. În cultivarea microbilor folosește gelatina pentru solidificarea mediilor de cultură și obține primele colonii izolate. Agar-agarul a fost introdus în practica de laborator de un colaborator a lui Koch, Hesse, la sugestia soției sale, Angelina Hesse.

Koch anunță descoperirea bacilului tuberculozei în anul 1882 la ședința Societății de Ftiziologie din Berlin și formulează celebrele sale postulate, care, cu excepția agenților infecțioși necultivabili, stau la baza implicării microorganismelor în etiologia maladiilor infecțioase. Pentru a considera că un microb este agentul patogen al unei boli infecțioase el trebuie:

- să se găsească constant în organismul bolnavilor ce prezintă aceleași semne de boală,
- să poată fi cultivat și să dea culturi cu aceleași caractere,
- cu aceste culturi să se poată reproduce boala experimental la animal, de la care să se izoleze același microb.

În anul 1884, **Hans Christian Gram** introduce colorația care îi poartă numele și care este și astăzi cel mai frecvent utilizată colorație în laboratorul de bacteriologie.

Dezvoltarea microbiologiei a avut un impact deosebit asupra igienei, epidemiologiei bolilor transmisibile și chirurgiei prin generalizarea antisepsiei și asepsei.

Daniel Elmer Salmon și **Theobald Smith** descoperă în 1886 că pesta porcină poate fi prevenită și prin administrarea de bacterii omorâte. Această descoperire a fost punctul de pornire pentru prepararea de către Waldemar Haffkine a unor vaccinuri din tulpini bacteriene omorâte, ca cele împotriva holerei (1895) și ciumei (1897).

Emile Roux și Alexandre Yersin arată în 1888 că patogenitatea bacilului difteric se datorează unei exotoxine. Elev a lui Robert Koch, **Kitasato Shibasaburo**, cultivă pentru prima oară bacilul tetanic și demonstrează posibilitatea imunizării pasive prin administrarea de seruri imune, preparate pe animal. Aplicația practică a acestei descoperiri a fost seroterapia, care s-a aplicat prima oară cu succes la un bolnav de difterie în anul 1893. Gaston Ramon detoxifică toxina difterică prin tratarea ei cu formol, o denumește anatoxină și o folosește în vaccinarea antidifterică. Același principiu stă și la baza vaccinării antitetanice.

Savantul rus **Ilia Mecinikov (1845-1916)**, elev a lui Pasteur, este fondatorul teoriei celulare a imunității. El descoperă rolul fagocitozei, arată că omul și animalele dispun de mijloace naturale de apărare, reprezentate de leucocite și celulele sistemului macrofagic, care au proprietatea de a îngloba și digera unii microbi pătrunși în organism.

Cercetările lui Mecinikov au fost precedate de observațiile lui Lister cu privire la puterea bactericidă a sângelui. Hans Buchner descoperă în serul proaspăt un factor termolabil, alexina, care s-a dovedit, ulterior, a fi identică cu sistemul de proteine

plasmatică, foarte important în apărarea antiinfecțioasă a organismului, descoperit și denumit de Paul Ehrlich, complement. În continuare, serologia face mari progrese.

Ca urmare a acestor descoperiri, la sfârșitul secolului XIX s-au conturat 2 școli de imunologie: cea germană, partizana teoriei imunității umorale, exponentul ei fiind **Paul Ehrlich** și cea franceză, care prin **Ilia Mecinikov** susținea teoria imunității celulare.

În anul 1905, **Von Pirquet**, care cerceta hipersensibilitatea face afirmația șocantă pentru acea vreme și anume, că răspunsul imun nu este întotdeauna benefic, ci poate avea consecințe grave asupra organismului.

În anul 1892 se naște o nouă știință - **virusologia** - o dată cu descoperirea de către botanistul rus **Ivanovski** a virusului mozaicului tutunului. El a arătat că mozaicul tutunului este produs de un agent care trece prin filtrele bacteriologice și care poate fi transmis de la o plantă la cealaltă. În anul 1898 Beijerinck confirmă descoperirea lui Ivanovski și intuiește deosebirea dintre virusuri și bacterii.

În continuare se dezvoltă metodele de cultivare și izolare a virusurilor. Astfel, Ross Granville Harrison din SUA (1907), francezul Alexis Carrel (1909) și Montrouse Burows, tot din SUA (1909-1910), pun bazele cultivării virusurilor pe culturi celulare. P. Rous (1911), E. Goodpasture și Alice Woodruff (1931), M.F. Burnet (1933) izolează virusurile pe ouă embrionate, tehnică ce a fost utilizată pe scară largă înainte de generalizarea cultivării virusurilor pe culturi celulare.

În 1931 **Ernst Ruska și Max Knoll** construiesc primul microscop electronic, inventatorul microscopului fiind însă **Leo Szilard**.

În eforturile de a găsi mijloace terapeutice eficiente în tratamentul bolilor infecțioase se înscriu cercetările lui **Paul Ehrlich**, creatorul teoriei moderne a dezinfecției și chimioterapiei selective.

Căutând "glonțele magic" care să omoare microbii dar să nu lezeze organismul, sintetizează peste 600 de produși arsenicali. Al 606-lea preparat - salvarsanul - se dovedește activ asupra spirochetelor și este introdus în anul 1911 în tratamentul sifilisului și al unor boli produse de protozoare.

Studiind fagocitoza în infecția streptococică la șoareci, Domagk descoperă în 1932 sulfamidele.

În anul 1928 **Alexander Fleming** observă că culturile de stafilococi sunt inhibitate de o substanță, secretată de un mucegai, *Penicillium notatum* pe care a denumit-o penicilină. Penicilina este introdusă în practica medicală doar în anul 1941 după purificarea și stabilizarea ei de către doi chimiști de la Oxford, **Florey și Chain**. Descoperirea antibioticelor a deschis o eră nouă în medicină, producând o adevărată revoluție în terapia bolilor infecțioase, modificând profilaxia și evoluția acestora. Din păcate, însă, rezistența la chimioterapice antiinfecțioase nu a întârziat să apară, și stă în centrul atenției cercetătorilor în domeniu, deoarece s-au descris tulpini microbiene rezistente la toate chimioterapicele ce se utilizează în prezent.

Progresele esențiale în microbiologie s-au obținut prin dezvoltarea microscopiei electronice care a relevat date de importanță fundamentală privind morfologia și structura agenților infecțioși și prin genetica moleculară, ale cărei metode a descifrat genomul multor specii bacteriene. În acest context se intensifică cercetările privind patogenitatea microorganismelor, respectiv a mecanismelor prin care acestea sunt capabile să producă infecțiile.

Dezvoltarea tuturor științelor biologice după anul 1950 este tributară microbiologiei care a furnizat geneticii un model experimental unic, reprezentat de *Escherichia coli*, ca prototip al organizării structurale și funcționale a celor mai simple sisteme biologice. Astfel, s-a descoperit codul genetic, biosinteza proteinelor, mecanismele reglării genetice, mecanismele variabilității la bacterii etc. Prin tehnici de inginerie genetică s-a realizat clonarea ADN, procedeu care permite studiul structurii și funcționalității genelor.

Prin aceleași tehnici s-au implantat unor bacterii ca, de exemplu, bacilului coli, gene care codifică sinteza de interferoni, a unor hormoni (insulina, somatotropină) sau a altor substanțe care ar fi greu sau imposibil de obținut prin metode chimice.

De asemenea a fost introdusă genoterapia, care constă în adăugarea, modificarea sau îndepărtarea unei gene la nivel celular în vederea corectării unor deficiențe metabolice precum și în tratarea unor infecții (SIDA) sau maladii proliferative. Această posibilitate modernă de tratament este la început, dar perspectivele sunt extraordinar de promițătoare.

În prezent dezvoltarea microbiologiei este tributară matematicii, informaticii, fizicii și chimiei, iar microbiologia la rândul ei a pătruns în diverse domenii ca: industria chimică, alimentară, petrolieră, farmaceutică etc., fiind o știință indispensabilă secolului XX.

Microbiologia românească se prezintă cu descoperiri importante și cu numeroși savanți care au adus contribuții valoroase atât în patologia infecțioasă cât și în imunologie.

Victor Babeș (1854-1926) este întemeietorul microbiologiei românești. El și-a făcut studiile la Budapesta și Viena, lucrând apoi la Berlin, Paris alături de Virchow, Koch și Pasteur. Vine ca profesor de bacteriologie și anatomie patologică la București, preocupându-se de cele mai variate probleme de bacteriologie, anatomie patologică, igienă, parazitologie. Cercetările sale sunt cuprinse în 1005 lucrări. În anul 1885 publică la Paris, împreună cu Victor Cornil, primul tratat de bacteriologie din lume intitulat "*Les bactéries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et l'histologie pathologique des maladies infectieuses*". Dintre descoperirile sale menționăm: granulele metacromatice la bacilul difteric (corpusulii Babeș-Ernst), peste 40 de specii microbiene și două specii de protozoare din genul *Babesiella*. El a fost preocupat de studiul turbării, leprei, tuberculozei, pelagrei etc. și a introdus la noi în țară vaccinarea antirabică, seroterapia antirabică și antidifterică. De asemenea organizează primul institut de cercetări medicale din România, "Institutul Victor Babeș" și primele laboratoare de igienă și bacteriologie din țară.

Ion Cantacuzino (1863-1934) a studiat la Paris filozofia, științele naturale și medicina. În anul 1901 devine profesor la catedra de medicină experimentală din București. Opera sa științifică cuprinde studii în domeniul holerei, arătând rolul imunității celulare și umorale. În anul 1913 aplică în armata română, aflată în plină epidemie de holeră, vaccinarea antiholerică cu vaccin omorât. În anul 1906 introduce în țară, imediat după Franța, vaccinarea antituberculoasă cu BCG. Fiind ministrul sănătății, înființează prin legea sanitară din 1910, primele sanatorii de tuberculoză, primele spitale de boli infecțioase, iar în 1921 la București “Institutul de Seruri și Vaccinuri I. Cantacuzino”, care a devenit cea mai importantă școală de microbiologie românească.

Constantin Levaditi (1874 - 1953), elev a lui Victor Babeș, a fost profesor la Institutul Pasteur din Paris. Personalitate deosebită, are studii de valoare în imunologie, virusologie, bacteriologie, parazitologie și chimioterapie. Împreună cu elevul său St. Nicolau pune bazele învățământului virusologic în țara noastră. Activitatea “Institutului de Virusologie St. Nicolau” a fost continuată de Prof.Dr. Nicolae Cajal.

Alte personalități marcante ale microbiologiei românești au fost: C. Ionescu Mihăiești, M. Ciucă, D. Combiescu, G. Zotta, M.Nasta, A. Ciucă, P. Condrea, Cornelia Combiescu, G. și Alice Magheru, M. Marbe, Aristia Dîmboviceanu, Lidia și I.Mesrobeanu, Eugenia Soru, Olga Bonciu, N. Nestorescu, Gh.Istrati, M. Georgescu, Eugenia și M.Duca și mulți alții.

2. LOCUL AGENȚILOR INFECȚIOȘI ÎN SISTEMATICA MICROORGANISMELOR

Înainte și mult timp după descoperirea microorganismelor, organismele vii au fost împărțite în două regnuri, animal și vegetal, nebănuindu-se posibilitatea existenței unor alte forme de viață.

În secolul trecut s-a observat, însă, că microorganismele prezintă nu numai asemănări dar și diferențe față de celulele de tip animal și vegetal. Sesizând aceste diferențe, Haeckel propune în 1866 reunirea microorganismelor cunoscute într-un regn aparte, PROTISTA, care să cuprindă algele, protozoarele, fungii și bacteriile.

În secolul trecut, prin dezvoltarea mijloacelor de cercetare, s-a demonstrat că microorganismele, încadrate inițial în acest regn, diferă în mod fundamental unele de celelalte. Astfel, celulele bacteriene au o structură mult mai simplă, fiind desemnate ca celule de tip procariot, iar algele, protozoarele și fungii au o structură complexă de tip eucariot. Ca urmare, termenul de Protista s-a restrâns asupra organismelor unicelulare de tip eucariot, bacteriile fiind trecute într-un regn aparte – PROCARIOTE

2.1. Protiste

Algele sunt microorganisme eucariote, acvatic, fotosintetizante, care formează un grup heterogen, de la dimensiuni microscopice până la forme gigante, pluricelulare, filamentoase. Se cunosc 16.000 de specii, dar nu prezintă interes medical (cu excepția agar-agarului din care se obține agarul, ce servește la prepararea mediilor de cultură solide).

Mycetele sau ciupercile microscopice sunt celule eucariote grupate în 4 clase. Există în jur de 148.000 de specii (2020), din care doar 400 sunt de interes medical.

Protozoarele sunt microorganisme unicelulare eucariote foarte evolute structural și în general mobile, asemănându-se cu celulele animale. Cele de interes medical se încadrează în 4 clase: flagelata, rhizopoda, sporozoa și ciliata.

Tabelul 2.1. - Caracterele diferențiale dintre celulele procariote și eucariote

CARACTER	PROCARIOTE	EUCARIOTE
Nucleul	• este un nucleoid sau echivalent nuclear reprezentat de o moleculă circulară de ADN; • nu are membrană nucleară;	• nucleu adevărat cu nucleoli și învelit de membrana nucleară; • are nucleoli, fiind un nucleu adevărat;
Citoplasma	• lipsită de mitocondrii și reticul endoplasmatic; • ribozomi: 70S;	• mitocondrii și reticul endoplasmatic prezent; • ribozomi: 80 S;
Perete celular	• rigid, prezent la toate procariotele cu excepția clasei Mollicutes;	• prezent numai la ciuperci
Dimensiune	• bacterii 1 - 5 μ; • chlamydii 0,2 - 0,5 μ; • rickettsii 0,3 - 0,5 μ;	• protozoare 1 - 150 μ • levuri 5 - 10 μ • mușcari
Înmulțire	• asexuată prin diviziune binară	• asexuată și sexuată

2.2. Procariote

Archaeobacteriile sunt lipsite de interes pentru medicină. Ele sunt bacterii termofile, producătoare de metan.

Eubacteriile cuprind un număr foarte mare de bacterii, dintre care cele de interes medical sunt:

- bacteriile clasice - cu forme variate și cu perete celular,
- chlamydiile - bacterii cu parazitism intracelular obligatoriu și care prezintă un mecanism de multiplicare unic în lumea bacteriilor,
- rickettsiile - bacterii cu habitat intracelular (cu o excepție), dar cu diviziune directă, întâlnită la majoritatea bacteriilor,
- micoplasmele - bacterii cărora le lipsește în mod natural peretele celular.

În prezent sunt incluse în Eubacterii și Cyanobacteriile sau algele albastre, care sunt microorganisme acvatice. Ele prezintă interes medical numai pentru că pot ajunge întâmplător în soluțiile perfuzabile, producând accidente grave prin substanțele pirogene pe care le conțin.

2.3. Virusuri, viroizi și prioni

Virusurile sunt entități infecțioase, care se deosebesc fundamental de formele celulare de viață. Ele sunt formate dintr-un singur acid nucleic (ADN sau ARN), învelit de o capsidă proteică și sunt parazite obligatoriu intracelulare. Virusurile sunt particule inerte în stare extracelulară dar, după ce pătrund într-o celulă vie, deviază metabolismul acestuia în scopul propriei replicări.

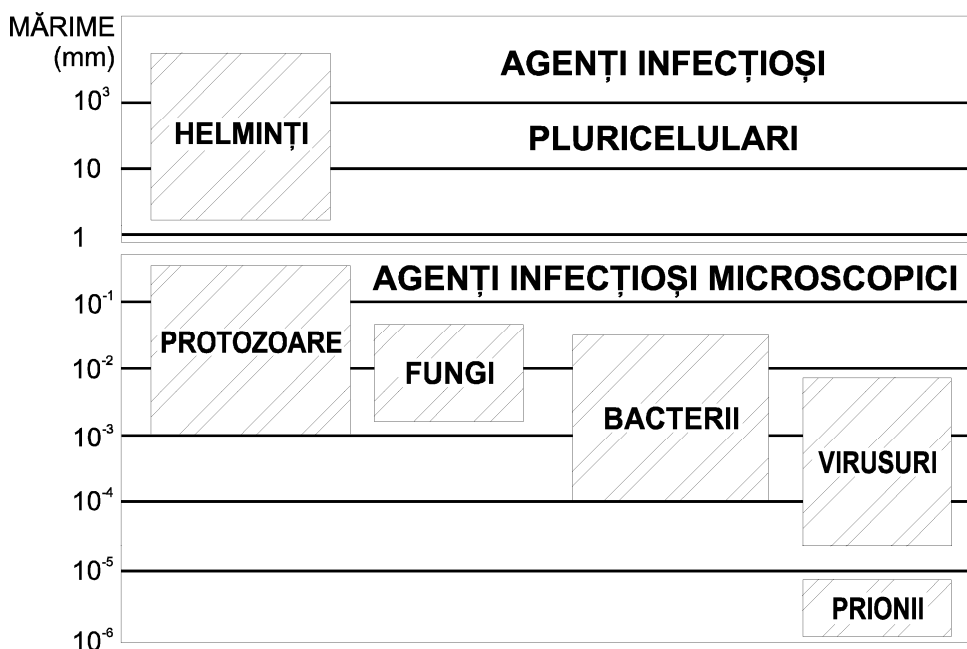


Figura 2.1. Dimensiunile bacteriilor în comparație cu alți agenți infecțioși.
(adaptata după Roitt, 2017)

Tabelul 2.2. - Caractere diferențiale între bacterii și virusuri

CARACTER	BACTERII	VIRUSURI
Dimensiuni	1 - 10 μ	20 - 300 nm
Structură	celulară	subcelulară
Conținutul în acizi nucleici	ADN și ARN	ARN sau ADN
Multiplicarea	pe medii inerte	replicate de către celula gazdă
Prezența enzimelor metabolice	DA	NU
Sensibilitate la antibioticele uzuale	DA	NU

Viroizii au o structură și mai simplă, fiind alcătuiți doar dintr-un acid nucleic cu GM mică. Unii dintre ei produc boli transmisibile la plante. Virusurile și virozii alcătuiesc împreună regnul VIRA.

Prionii. Sunt agenți infecțioși de natură proteică, cauza unor boli degenerative ale sistemului nervos cum sunt encefalopatia spongiformă a bovideelor, boala Kuru (în Guatemala), insomnia familială letală, boala Creutzfeldt-Jakob, etc. Se presupune, de asemenea, că boala Alzheimer este de natură prionică. Prionii sunt proteine a căror structură primară este aceea a proteinelor normale din celula nervoasă, dar a căror structură terțiară și cuaternară se abate de la cea a proteinelor normale. Termenul de prioni a fost introdus de Stanley B. Prusiner în 1982.

La agenții infecțioși microscopici se adaugă paraziții multicelulari cum sunt helminții și artropodele, cu structură complexă și cu studiul cărora se ocupă parazitologia.

Microbiologia medicală studiază următoarele aspecte legate de agenții infecțioși:

- biologia agenților infecțioși,
- relația dintre agenții infecțioși și organismul uman,
- patogenia agenților infecțioși,
- apărarea antiinfecțioasă naturală și dobândită,
- bazele profilaxiei bolilor infecțioase,
- bazele terapiei antiinfecțioase,
- diagnosticul etiologic al infecțiilor.

3. MORFOLOGIA ȘI STRUCTURA BACTERIILOR

3.1. Morfologia bacteriilor

3.1.1. *Dimensiuni*

Lumea bacteriană este populată de entități microscopice ce nu pot fi văzute cu ochiul liber. Dimensiunile sunt atât de reduse, încât un volum de 1cm^3 poate cuprinde 10^{12} bacterii cu o greutate de aproximativ 1g, iar într-un mediu lichid limpede sunt necesare cel puțin 1-10 milioane de bacterii pentru a produce o turbiditate sesizabilă macroscopic. În intestinul nostru sunt prezente în jur de 10-100 de trilioane de bacterii, numărul lor depășind cu mult cel al celulelor noastre.

Dimensiunea bacteriilor se exprimă în micrometri ($1\mu=10^{-3}\text{ mm}$), variațiile fiind în funcție de specie, formă, mediu și vârsta culturii. În general, este cuprinsă între 1-10 μ .

3.1.2. *Formă*

În raport cu forma lor deosebim 4 categorii de bacterii: rotunde (cocii), alungite (bacili), încurbate (spirili, spirochete, vibrioni) și filamentoase (actinomycetele).

- cocii sunt bacterii rotunde (genul *Staphylococcus*), ovalare (genul *Streptococcus*), lanceolate (*Streptococcus pneumoniae*), reniforme (genul *Neisseria*) cu $\varnothing$ de 0,8 - 1 μ ;

- bacili sunt bacterii cu formă alungită de bastonaș cu dimensiuni între 1,5 - 10 μ . La bacili este importantă examinarea extremităților, aspectul acestora având rol în identificarea lor. Astfel, bacili pot prezenta capetele rotunjite (familia *Enterobacteriaceae*), tăiate drept (*Bacillus anthracis* - bacilul cărbunos), măciucate (*Corynebacterium diphtheriae* - bacilul difteric), în formă de suveică (*Fusobacterium*);

- cocobacili sunt bacterii ușor alungite, fiind forme intermediare între coci și bacili (*Yersinia pestis*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*);

- vibrionii sunt bacterii încurbate în formă de virgulă (*Vibrio cholerae*);

- spirilii sunt bacterii spiralate având 1-2 spire rigide (*Spirillum volutans*);

- spirochetele sunt bacterii spiralate cu corpul flexibil având 12-20 de spire (*Treponema pallidum*), foarte multe spire strânse (*Leptospira*) sau 2-3 spire (*Borrelia*);

- actinomycetele sunt bacterii foarte asemănătoare fungilor și formează filamente sau hife lungi și ramificate care se rup, rezultând forme bacilare (*Actinomyces*).

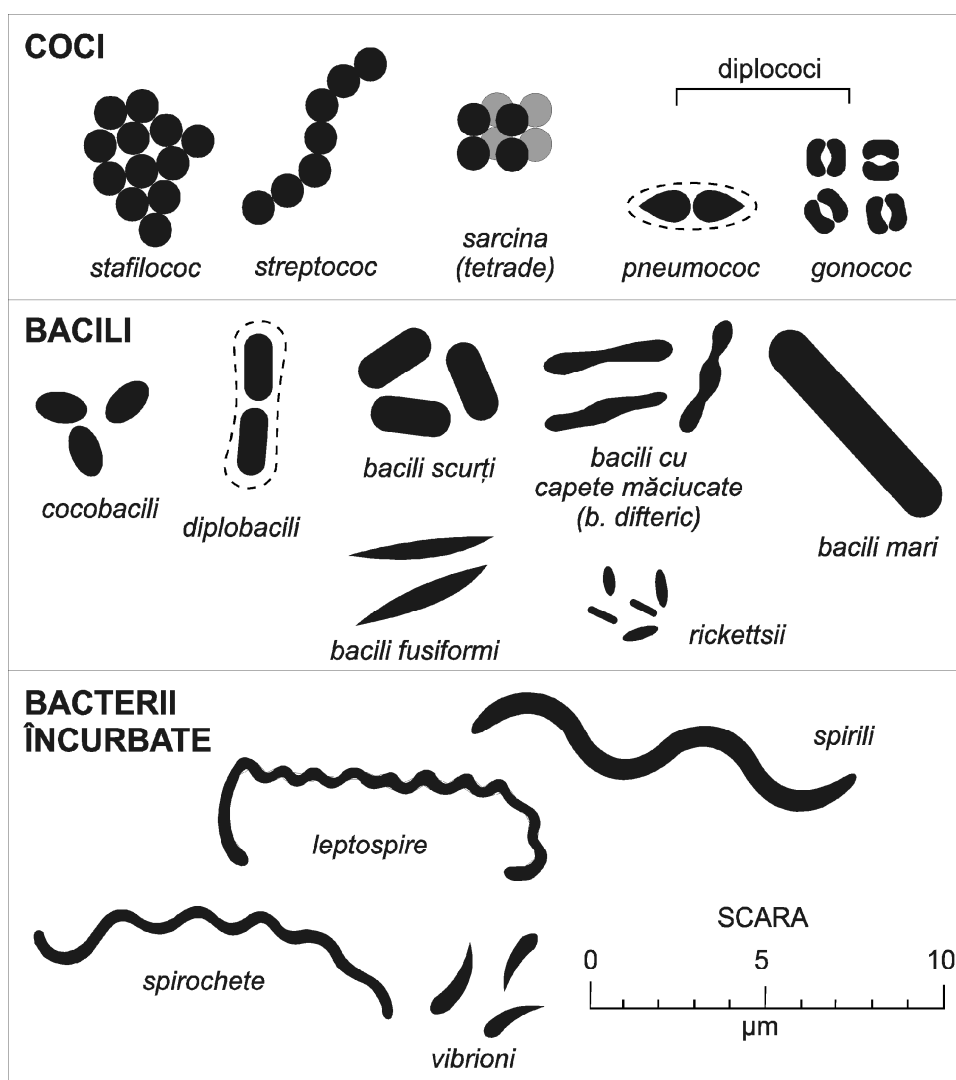


Figura 3.1. Morfologia bacteriană (adaptat după Carroll, 2023).

3.1.3. Așezare

Bacteriile sunt organisme unicelulare care se multiplică prin diviziune binară. La unele specii, după diviziune urmează separarea completă a celulelor fiice, rezultând bacterii izolate. La alte specii, după diviziune, celulele fiice rămân legate între ele, grupându-se în mod caracteristic datorită unei substanțe vâscoase dispusă fie pericelular, fie localizată în anumite regiuni determinând diferite tipuri de așezare a celulelor.

Așezarea bacteriilor permite deseori recunoașterea acestora la nivel de gen, prin examinarea la microscopul optic a preparatelor colorate efectuate din culturi, sau direct din produsul recoltat de la pacient.

Cocii se așează:

- în grămezi sau asemănător unei ciorchini de struguri ca, de exemplu, germenii din genul *Staphylococcus*;
- în tetrade la genul *Micrococcus*;
- în baloturi de câte 8 coci orientați în cele 3 direcții ale spațiului la genul *Sarcina*;
- în lanțuri la genul *Streptococcus*;
- în diplo, ca două flăcări de lumânare care se unesc prin bazele lor, la specia *Streptococcus pneumoniae*;
- în diplo, ca două boabe de cafea care se privesc față în față prin concavitățile lor ca, de pildă, la *Neisseria gonorrhoeae* (gonococ) și *Neisseria meningitidis* (meningococ);
- izolați, care nu sunt de interes medical.

Bacilii se așează:

- cel mai ades izolați și în poziții întâmplătoare unul față de celălalt ca, de exemplu, majoritatea bacililor gram-negativi;
- grupați câte doi (diplobacili) sau în lanțuri scurte ca, de exemplu, genul *Klebsiella*;
- dispuși în lanțuri ca bacilii din genul *Bacillus* (bacilul cărbunos);
- dispuși în mod caracteristic sub forma unor majuscule sau litere chinezești cum sunt bacilii difterici (*Corynebacterium diphtheriae*);
- în palisadă, ca scândurile unui gard (bacilii difterimorfi).

3.2. Studiul morfologic al bacteriilor

Examinarea microscopică este deseori primul pas în identificarea unor bacterii. Caracterele morfologice și tinctoriale încadrează bacteriile într-unul din grupurile majore stabilind conduita diagnosticului bacteriologic. Elementele morfologice importante în identificarea unei bacterii sunt: dimensiunea, forma, așezarea, prezența unor structuri speciale ca, de pildă, endospori, flageli, capsulă sau incluzii intracelulare.

Colorația gram reprezintă cea mai importantă metodă de colorare folosită în microbiologie. Proprietatea bacteriilor de a se colora diferit prin această colorație exprimă diferențe de structură ale peretelui celular.

A se vedea tehnica efectuării frotiurilor și tehnica de colorare în îndreptarul de lucrări practice.

Tabelul 3.1. Exemple de bacterii gram-pozitive de interes medical

FORMA BACTERIILOR	FAMILIA/GRUPUL	GENUL
Coci	<i>Micrococaceae</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>Micrococcus</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>
	Diverse	<i>Leuconostoc</i> <i>Peptostreptococcus</i>
Bacili	Sporulați	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>
	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>
	Diverse	<i>Propionibacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Listeria</i>

Tabelul 3.2. Exemple de bacterii gram-negative de interes medical

FORMA BACTERIILOR	FAMILIA/GRUPUL	GENUL
Coci	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria</i>
	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>
Bacili	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Proteus</i> <i>Morganella</i> <i>Yersinia</i>
	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>
	<i>Spirillaceae</i>	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Pasteurella</i> <i>Haemophilus</i>
	Diverse	<i>Brucella</i> <i>Bordetella</i>
	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella</i>
	<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i>

Tabelul 3.3. Bacterii de interes medical care nu se colorează gram

FAMILIA / ORDINUL	GENUL	COLORAȚII
<i>Spirochaetales</i>	<i>Treponema</i> <i>Borrelia</i> <i>Leptospira</i>	• Impregnare argentică Giemsa, • Imunofluorescență,
<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	• Colorație cu iod Giemsa, • Imunofluorescență,
<i>Mycopasmataceae</i>	<i>Mycoplasma</i> <i>Ureaplasma</i>	
<i>Rickettsiaceae</i>	<i>Rickettsia</i> <i>Coxiella</i>	• Giemsa, gimenez, • Albastru de Victoria

Tabelul 3.4. Bacterii acido alcoolo rezistente de interes medical

FAMILIA	GENUL	SPECIA
<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. leprae</i> Mycobacterii non-tuberculoase (MNT)

3.3. Structura celulei bacteriene

Unitatea morfofuncțională a bacteriilor este celula, un complex autoorganizat de molecule organice care schimbă energie cu mediul înconjurător și este capabilă să-și regleze în mod autonom funcțiile vitale.

Bacteriile au o structură foarte complexă, fiind alcătuite din componente obligatorii, prezente la toate speciile bacteriene (nucleu, citoplasmă, membrană citoplasmatică, mezosomi, perete celular) și componente facultative ce se găsesc doar la unele specii (capsulă, flageli, fimbrii, spor).

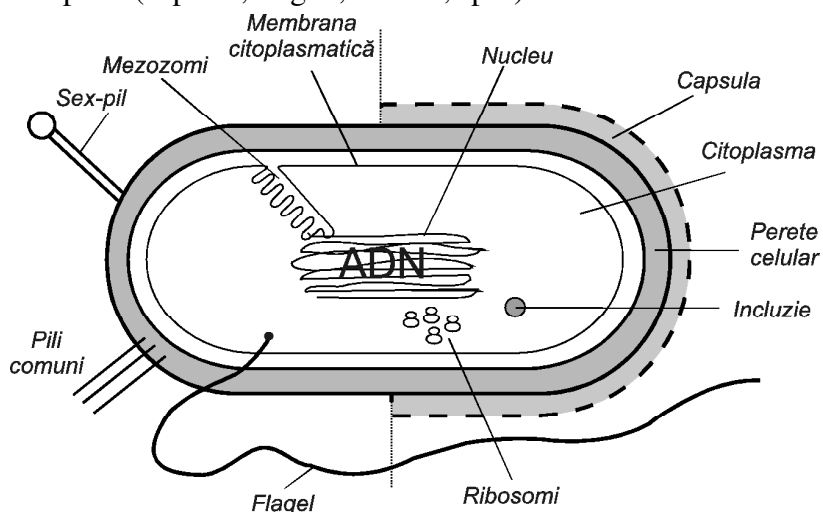


Figura 3.2. Structura celulei bacteriene (adaptat după Carroll, 2023).

3.3.1. *Componentele obligatorii*

1. *Nucleul bacterian*

Este un nucleoid sau echivalent nuclear, cu o structură primitivă în comparație cu nucleul celulelor eucariote și reprezintă 2% din greutatea uscată a bacteriei. Nucleoidul este format dintr-o moleculă circulară de ADN, organizată sub forma unui cromozom haploid care este în contact direct cu citoplasma datorită lipsei membranei nucleare. Molecula de ADN dublu spiralat este la rândul ei suprahelicată în jurul unui miez de ARN, dispoziție necesară funcționalității materialului nuclear.

În mod obișnuit, nucleoidul este situat în centrul celulei bacteriene și poate fi legat de membrana citoplasmatică prin intermediul mezozomilor.

Funcția nucleului bacterian constă în depozitarea informației genetice necesară autoreplicării, organizării structurale și funcționale a celulei bacteriene, deci a caracterelor ce definesc specia.

Antibioticele care acționează la nivelul nucleului bacterian sunt: quinolonele (inhibiția sintezei ADN), rifampicina (inhibiția sintezei ADN), sulfonamidele (inhibiția sintezei acidului folic).

2. *Citoplasma*

Situată între materialul nuclear și fața internă a membranei citoplasmatică, citoplasma este un sistem coloidal alcătuit din 80% apă, în care se găsește o cantitate mare de molecule organice, ioni anorganici, enzime, ARN (de transport, mesager și ribozomial), vacuole și incluzii. Este lipsită de organele celulare prezente la celulele eucariote cum sunt reticulul endoplasmatic, aparatul Golgi, mitocondriile, centrul celular, ergastoplasma.

La microscopul optic citoplasma apare omogenă, amorfă, iar la cel electronic fin granulată, datorită unui număr mare de ribozomi. Se apreciază că o celulă bacteriană are 20.000 de ribozomi ce conțin 80-90% din ARN-ul citoplasmatic.

Ribozomii sunt structuri sferice cu diametru de aproximativ 180nm și constanta de sedimentare de 70S. Din punct de vedere chimic sunt alcătuiți din 65-70% ARN și 30-35% proteine. Ribozomii reprezintă sediul sintezelor proteice din celulă.

Incluziile citoplasmatică, descrise la unele specii bacteriene, sunt formațiuni structurale inerte, temporare, de diferite dimensiuni, variind în funcție de specia bacteriană și condițiile de mediu. Incluziile sunt structuri legate de activitatea metabolică a celulei bacteriene și reprezintă un material de rezervă care poate fi folosit ca sursă de energie.

Antibioticele care inhibă sinteza proteică de la nivelul ribozomilor sunt: aminoglicozidele, oxazolidinonele (linezolid), cloramfenicolul, ciclilinele, macrolidele și lincosamidele, acidul fusidic.

3. Membrana citoplasmatică

Este o membrană fină (6,5-7nm), elastică, lipsită de rezistență mecanică ce mărginește la exterior citoplasma bacteriilor și o separă de peretele celular. Pe secțiune apare trilaminată, fiind alcătuită din două straturi fosfolipidice dispuse cu părțile hidrofobe față în față. Printre moleculele fosfolipidice se găsesc molecule proteice, situate fie la nivelul unuia dintre cele două straturi fosfolipidice, fie le traversează, fiind expuse la ambele fețe ale membranei. Această structură dinamică, fluidă, temporară și reversibilă în funcție de factorii de mediu este o “structură în mozaic”, descrisă de Singer și Nicholson.

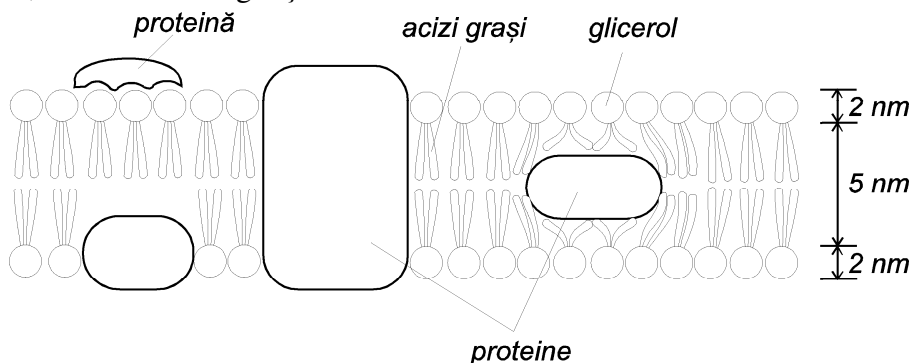


Figura 3.3. Structura membranei citoplasmaticice (adaptat după Nicolson, 2022).

Funcțiile membranei citoplasmaticice:

- este o membrană cu permeabilitate selectivă, îndeplinind funcția de barieră osmotică ce reglează schimburile celulei bacteriene, în ambele sensuri cu mediul înconjurător. Permeabilitatea selectivă a membranei citoplasmaticice permite realizarea în interiorul celulei, pentru unele substanțe, a unor concentrații mai mari decât în afara celulei,
- secretă numeroase enzime hidrolitice ce se eliberează în mediul înconjurător unde scindează substratul nutritiv în unități absorbabile,
- unele proteine legate de membrana citoplasmatică joacă rolul de chemoreceptori,
- îndeplinește rolul mitocondriilor de la celulele eucariote, fiind sediul enzimelor lanțului respirator și al fosforilării oxidative, deci centrul energogenezei celulare,
- este sediul sintezei acizilor grași, a fosfolipidelor,
- este implicată în sinteza peretelui celular, al polizaharidelor capsulare, participând activ la creșterea și diviziunea celulei bacteriene, la formarea sporului bacterian,
- constituie o posibilă țintă pentru acțiunea unor chimioterapice ca, de pildă, polimixinele.

Antibioticele care inhiba membranele bacteriene sunt: polimixinele.

4. *Mezozomii*

Sunt structuri membranare care se formează prin invaginarea membranei citoplasmatică sub formă de buzunar sau în deget de mână, prezente la bacteriile gram - pozitive și ocazional la cele gram - negative. Ei nu formează în citoplasmă cavități inerte, ci sunt deschise spre spațiul periplasmic (spațiul dintre membrana citoplasmatică și peretele celular) și sunt în contact direct cu materialul nuclear.

După morfologia lor, mezozomii sunt lamelari, veziculari și tubulari, iar dispoziția lor în celula bacteriană poate fi septală, periferică și nucleară.

Funcțiile mezozomilor:

- participă la replicarea cromozomului bacterian și diviziunea celulară,
- participă la reacțiile de fosforilare oxidativă și oxidoreducere, dar în măsură mai mică decât membrana celulară,
- sediul unor enzime hidrolitice care îndeplinesc rolul enzimelor lizozomale de la celulele eucariote,
- sinteza și secreția unor exoenzime, ca de exemplu penicilinaza sau cefalosporinaza,
- sinteza peretelui celular și formarea sporului bacterian.

5. *Peretele celular*

Componentă celulară obligatorie care înconjoară membrana citoplasmatică, peretele celular este o structură rigidă, specifică bacteriilor. El este format dintr-un strat bazal, asemănător la toate bacteriile și un strat al structurilor superficiale, foarte diferențiat, în funcție de care bacteriile manifestă caractere tinctoriale diferite: bacterii gram - pozitive, gram- negative și acido-alcoolorezistente.

Structura stratului bazal. Peptidoglicanul sau mureina este structura chimică responsabilă de rigiditatea peretelui celular și care asigură forma și rezistența mecanică a bacteriei. Prezent la toate bacteriile, el constă dintr-un schelet, format din molecule lungi paralele polizaharidice de N-acetil-glucozamină și acid N-acetil-muramic. Moleculele de acid N-acetil-muramic din lanțurile vecine sunt legate între ele prin punți polipeptidice, transversale, a căror structură diferă la bacteriile gram-pozitive de cele gram-negative și chiar de la specie la specie. Astfel, de fiecare moleculă de acid N-acetil-muramic se leagă un tetrapeptid ce conține D și L aminoacizi. De exemplu, tetrapeptidul la *Staphylococcus aureus* este format din L-alanină - D-glutamină - L-lizină - D-alanină, iar la bacteriile gram negative conține acid diaminopimelic.

La bacteriile gram - pozitive două tetrapeptide de pe 2 lanțuri paralele învecinate sunt legate printr-un pentapeptid. La bacteriile gram - negative, tetrapeptidele se leagă între ele printr-o simplă legătură peptidică. Menționăm că acidul diaminopimelic și acidul N-acetil-muramic sunt componente care nu au fost găsite în natură decât la bacterii.

Structura stratului structurilor speciale. Deosebim 3 tipuri de structuri speciale: gram-pozitiv, gram-negativ și acido-alcoolerezistent.

La *bacteriile gram - pozitive*, peptidoglicanul reprezintă 50-90% din greutatea uscată a peretelui celular, are o grosime de 15-30 nm și conține până la 200 de lanțuri paralele de mureină.

Stratul structurilor speciale este redus și alcătuit din polimeri hidrosolubili care sunt acizii theicoici: acidul ribitoltheicoic și gliceroltheicoic. Aceștia pot pătrunde până la membrana citoplasmatică legându-se covalent de această - acizii theicoici de membrană sau numai până la perete - acizi theicoici de perete. Ei reprezintă antigenele de suprafață ale bacteriilor gram-pozitive.

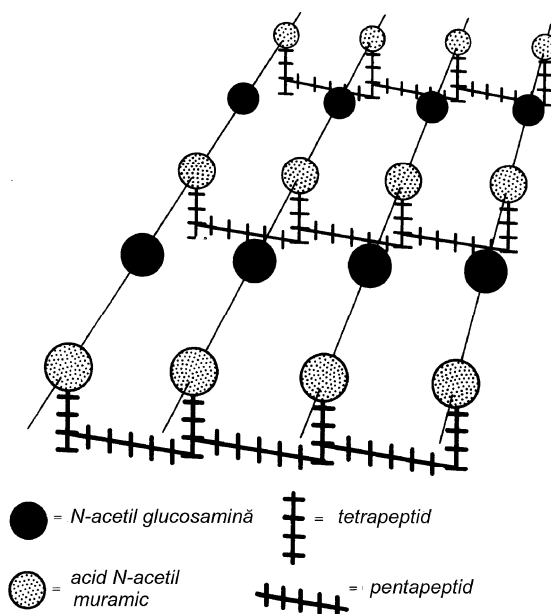


Figura 3.4. Structura peptidoglicanului (adaptată după Murray, 2021).

Peretele celular al bacteriilor gram-pozitive este sensibil la acțiunea lizozimului care rupe legăturile dintre acidul N-acetil muramic și N-acetilglucozamină și a penicilinei care inhibă sinteza peptidoglicanului.

La *bacteriile gram-negative*, peptidoglicanul are o grosime de 4-5nm, reprezentând numai 10% din greutatea uscată a bacteriei. Stratul superficial este însă mult mai complex decât la bacteriile gram – pozitive, fiind alcătuit dintr-o membrană externă, lipoproteine și lipopolizaharidul de perete.

Membrana externă este formată dintr-un strat dublu fosfolipoproteic ce cuprinde o cantitate foarte mare de molecule proteice. Aceste proteine, bine definite la majoritatea speciilor bacteriene, sunt denumite Omp (outer membrane proteins) sau Momp (major outer membrane proteins). Membrana externă se leagă de protoplast prin intermediul unei lipoproteine și a proteinei OmpA din membrana externă.



Figura 3.5. Structura lipopolizaharidului (adaptată după Murray, 2021).

Proteinele nespecifice ale membranei externe cu funcție de porine, cum sunt trimerii OmpF și OmpC, delimitează canale umplute cu apă prin intermediul cărora pot difuza în spațiul periplasmic substanțe hidrosolubile.

Proteinele specifice au funcții de transport pentru anumite substanțe, unele dintre ele fiind și receptori pentru bacteriofagi. De exemplu, proteina LamB este responsabilă pentru transportul maltozei și receptor pentru fagul lambda al bacilului coli.

Proteinele de suprafață pot avea la unele bacterii rol în patogenitate, ca de exemplu cele 7 proteine de suprafață al shigellelor care le asigură invazivitatea.

Deasupra membranei externe a bacililor gram-negativi se află *lipopolizaharidul de perete (LPZ) sau endotoxina* bacililor gram-negativi. Aceasta este alcătuită din:

- lipidul A care are o structură particulară, fiind format din unități dizaharidice de glucozamină, legate de beta-hidroxiacizi grași cu 10-16 atomi carbon fixați direct de membrana externă,

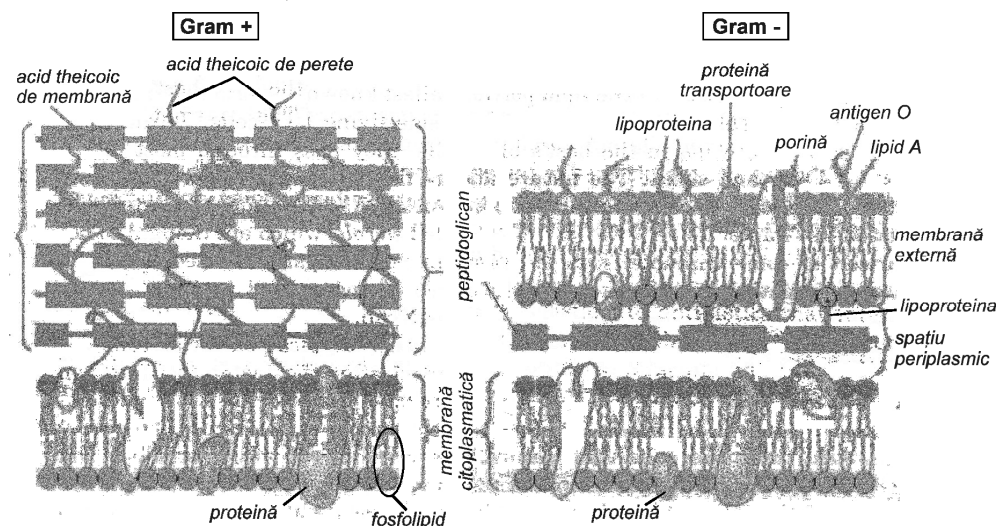


Figura 3.6. Peretele celular la bacteriile gram pozitive și gram negative. (adaptată după Talaro, 2023)

- miezul sau “core”, numit și antigen R, comun tuturor bacteriilor gram - negative și care include 2 zaharuri caracteristice: acidul keto-deoxyoctanoic și o heptoză.

- unități monozaharidice repetitive (15-40) care sunt specifice de specie și tip și constituie antigenul O al bacteriilor gram-negative.

LPZ este o toxină termolabilă, care se eliberează în mediul înconjurător de către bacteriile gram-negative, numai după liza lor și foarte reactivă în organismul gazdă. Astfel, lipidul A produce febră, activează mecanismele apărării antiinfecțioase și în exces produce șocul endotoxic cu evoluție gravă, chiar fatală.

Spațiul periplasmic. Sistemul structural dublu al peretelui celular la bacteriile gram-negative creează un compartiment ce se întinde de la membrana celulară până la membrana externă, numit spațiu periplasmic. El conține peptidoglicanul și un gel care favorizează nutriția bacteriei prin conținutul în enzime degradative ca, de pildă, fosfataze, nucleaze, proteaze etc. Tot aici sunt prezente enzimele de inactivare ale unor antibiotice cum sunt beta-lactamazele și cefalosporinazele.

Bacteriile acido-alcoolorezistente de interes medical sunt *bacilul tuberculos* și *bacilul leprei* al căror perete celular se aseamănă cu cel al bacteriilor gram-pozitive. Structurile speciale conțin acid micolic și o ceară ce conferă acestor bacterii caractere tinctoriale deosebite și rezistență crescută la factorii de mediu. Astfel dacă după o încălzire de scurtă durată ce topește cerurile, un colorant pătrunde în celula bacteriană, decolorarea acesteia sub acțiunea acizilor sau alcoolilor nu se mai produce ca la alte bacterii. Acest caracter se numește acido-alcool-rezistență. Bacteriile acido-alcool-rezistente se colorează foarte slab cu colorația gram, evidențierea lor făcându-se la cald prin tehnica Ziehl-Neelsen.

Bacterii cu perete alterat sau formele L. Sunt bacterii cu stratul bazal viciat sub acțiunea unor factori din mediu ca, de exemplu, lizozimul și penicilina, care lizează, respectiv împiedică sinteza peptidoglicanului.

Bacteriile lipsite total de perete celular se numesc protoplaști și provin din rândul bacteriilor gram - pozitive, iar cele cu perete parțial lezat, sferoplaști din bacteriile gram-negative, care își pierd mai greu peretele.

Formele L sunt foarte sensibile la variațiile osmotice, putând supraviețui numai în condiții speciale de osmolaritate, dar sunt foarte rezistente la antibioticele beta-lactamice. Dacă factorii nocivi dispar din mediu, formele L se pot transforma în bacterii normale prin resinteza peretelui celular.

Funcțiile peretelui celular:

- asigură forma, rezistența mecanică și osmotică a bacteriei;
- asigură protecția membranei citoplasmice față de presiunea internă a celulei bacteriene, care este foarte mare: 5-6 atm la *E. coli*, 20-30 atm la *S. aureus*;
- reglează traficul molecular de perete în ambele sensuri, deci schimbul de substanțe dintre bacterie și mediul înconjurător, fiind permeabil pentru molecule cu o GM mai mică de 10.000 daltoni și cu un diametru mai mic de 1nm;
- stochează unele enzime în spațiul periplasmic la bacteriile gram-negative ce vor fi eliberate după necesități, spre deosebire de bacteriile gram-pozitive care își elimină enzimele direct în mediul extern;

- prezintă receptori pentru bacteriofagi;
- este sediul antigenelor de suprafață, fiind deci implicat în răspunsul imun al macroorganismului;
- este sediul unor factori de patogenitate;
- are rol în diviziunea bacteriană și în procesul de sporulare.

Antibioticele care inhibă sinteza peretelui celular sunt cel mai bine reprezentate: beta-lactamine (peniciline, cefalosporine, carbapeneme), glicopeptide, bacitracina, cicloserina, etambutol. Iar pe membrana externă acționează polimixinele.

3.3.2. **Componente bacteriene neobligatorii**

1. *Capsula*

Majoritatea bacteriilor patogene și comensale sunt capabile să producă *in vivo* un material de înveliș extracelular.

Capsula este un înveliș compact, intim legat de celula bacteriană, cu o lățime de cel puțin 0,2μm. Este vizibilă pe preparatele uzuale sau în colorațiile negative sub forma unui halou clar ce înconjoară bacteria.

Din punct de vedere chimic, capsula tuturor bacteriilor de interes medical este de natură polizaharidică (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella* etc.) cu excepția capsulei bacilului cărbunos care este polipeptidică.

Capsula are rol în rezistența bacteriilor față de fagocitoză, fiind astfel un factor de virulență. Variantele necapsulate ale acelorași specii sunt nepatogene. De exemplu, *Streptococcus pneumoniae*, de tip S, capsulat, produce la șoarecele alb o septicemie mortală, pe când varianta necapsulată nu este patogenă.

Capsula este o structură cu proprietăți antigenice specifice (antigenele K) care permit diferențierea unor serotipuri în cadrul speciei.

Bacteriile nu sintetizează material capsular *in vitro* pe mediile uzuale, coloniile rezultate fiind rugoase, de tip R = "rough". Pe medii speciale, însă, bacteriile pot crește capsulate, coloniile fiind mucoase, de tip S = "smooth".

Structura descrisă mai sus este "capsula clasică" a bacteriilor, la care ne referim atunci când vorbim de bacterii capsulate. La unele bacterii s-au mai evidențiat și alte structuri de înveliș, cum sunt:

Microcapsula care este o structură discretă cu o grosime sub 0,2μm care nu se evidențiază la microscopul optic, ci numai prin metode imunologice sau electronomicroscopice (*Neisseria gonorrhoeae*). Ea constituie un factor de virulență.

Stratul mucos, glicocalixul este un strat amorf și vâscos ce învelește bacteria. El este format din lanțuri lungi de polizaharide, cum sunt levanii și dextranii, cu rol major în adezivitatea bacteriilor de suprafețe. Astfel, *Streptococcus mutans* produce cantități mari de dextran și levan prin intermediul cărora se atașează de suprafața dinților contribuind la formarea cariilor și a plăcii dentare. Un alt exemplu este

Pseudomonas aeruginosa, care secretă un strat mucos dens care îi crește rezistența la antibiotice.

Funcțiile capsulei:

- este un factor de aderență și colonizare a bacteriilor pe suprafețe;
- protejează bacteriile de diferiți agenți antibacterieni din mediu cum sunt: bacteriofagii, colicinele, complementul, lizozimul sau alte enzime bacteriolitice;
- protejează bacteriile de acțiunea fagocitelor, fiind deci un factor de virulență;
- reprezintă sediul antigenelor capsulare, importante în identificarea acestor bacterii.

2. Cilio sau flagelii bacterieni

Sunt appendici filamentoși ai speciilor bacteriene mobile, cu originea în citoplasma bacteriană, și servesc ca organe de locomoție. Ei sunt prezenți mai ales la bacili (Enterobacteriaceae) dar și la unii coci (enterococi). Ciliile sunt structuri helicoidale, cu dimensiunea în general mai mare decât cea a celulei bacteriene căreia îi aparțin (2-15/2-20 nm) și se evidențiază microscopic prin colorații speciale.

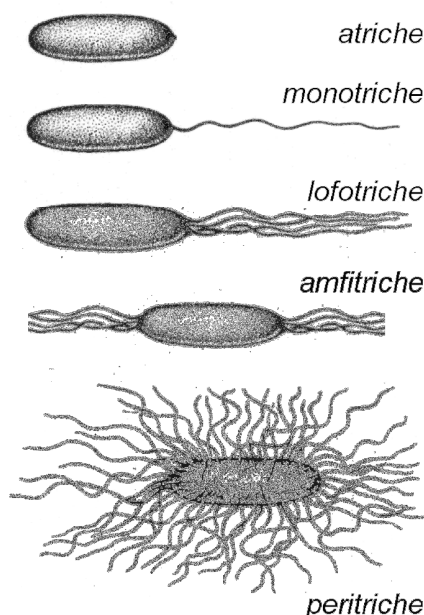


Figura 3.7. Dispoziția cililor (adaptată după Schaechter, 2021).

Dispoziția și numărul cililor sunt caracteristice speciei. S-au descris bacterii atriche (fără cili), monotriche - cu un cil polar (*Vibrio cholerae*), lofotriche - cu un smoc de cili situat la unul din poli bacteriei - (*Pseudomonas fluorescens*), amfitriche - cu ciliile situați la ambii poli ai bacteriei (la genul *Spirillum*) și peritriche - cu ciliile dispuși pe întreaga suprafață a bacteriei (*Salmonella*, *E.coli*, *Proteus* etc.).

Structura cililor este tubulară, ei fiind formați dintr-o proteină contractilă, flagelina, sub formă polimerizată. Cilul se atașează de bacterie printr-un corpusul bazal și un cârlig de articulație aflate în citoplasma bacteriei. Corpusul bazal se inseră prin cârligul de articulație de membrana citoplasmatică și peretele celular.

Mobilitatea și direcția mișcării cililor pot fi influențate de concentrația unor substanțe din mediu (chimiotactism pozitiv sau negativ) și de temperatură. Ei sunt sediul antigenelor flagelare (H), importante în identificarea bacteriilor.

Cilii bacterieni nu se observă decât pe preparate colorate special. În practica de rutină nu se evidențiază flagelii, ci mobilitatea bacteriilor, fie prin examinarea lor pe un preparat nativ între lamă și lamelă în care se urmăresc mișcările bacteriilor, fie prin însămânțarea tulpinii pe un mediu semisolid prin înțeparea în profunzime a mediului. Dacă bacteria crește nu numai pe traseul însămânțării și difuzează în mediu, ea este mobilă.

Rolul cililor constă în asigurarea mobilității bacteriilor. Având rol în locomoție, pot fi considerați factori de virulență ai bacteriilor.

3. *Pilii bacterieni*

Numeroase specii bacteriene gram-negative au pe suprafața lor niște apendici filamentoși, rigizi, mai scurți decât flagelii, în număr mare (100-500/celulă) și cu dispoziție în general peritriche. Ei se evidențiază numai prin microscopie electronică.

Din punct de vedere chimic sunt polimeri proteici de pilină, dispuși helicoidal într-o structură tubulară. Natura proteică a pililor le conferă proprietăți antigenice. Din punct de vedere funcțional, pilii se împart în:

- sex pili - codificați de formațiunile genetice extracromozomiale (plasmide) și care prezintă o importanță deosebită în transferul de material genetic între bacterii. Sunt prezenți mai ales la bacteriile gram-negative (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*),

- pili comuni sau pili de aderență (fimbrii), în număr mare, codificați cromozomial, și care servesc bacteriilor la fixarea fermă de mediul de cultură sau de celulele pe care se află. Ei constituie, deci, un factor important de virulență (de exemplu la gonococ). În afară de aderență, pilii comuni mai au și proprietăți antifagocitare.

Ambele categorii de pili prezintă antigene specifice piliare și pot fi receptori pentru bacteriofagi.

Deci pilii au rol în transferul de material genetic între bacterii, precum și în aderență.

4. *Sporul bacterian*

Unele bacterii se transformă în spori, care sunt forme primitive de diferențiere celulară, cu rezistență crescută la factorii de mediu și care apar endocelular în condiții

nefavorabile de viață. Sporogeneza se întâlnește numai la 2 genuri de bacterii de interes medical, *Clostridium* (anaerob) și *Bacillus* (aerob) care sunt bacili gram pozitivi.

Sporii nu sunt forme de înmulțire ale bacteriilor. Dintr-o bacterie vegetativă se formează un singur spor, care în condiții favorabile de viață va da naștere unei singure celule bacteriene.

Forma sporului poate fi rotundă sau ovală. Diametrul sporilor este mai mic la bacilii sporulați aerobi, nedepășind diametrul bacteriei (genul *Bacillus*), pe când la genul anaerob *Clostridium*, sporul are un diametru mai mare decât bacteria, producând deformarea acesteia. Acest caracter al sporului se numește “caracter clostridial” și este important în identificarea bacililor gram-pozitiv anaerobi.

Poziția sporului bacterian constituie un caracter taxonomic. Poate fi centrală, ca la bacilul cărbunos (*Bacillus anthracis*), subterminală, ca la *B.cereus*, sau terminală, ca bacilul tetanic.

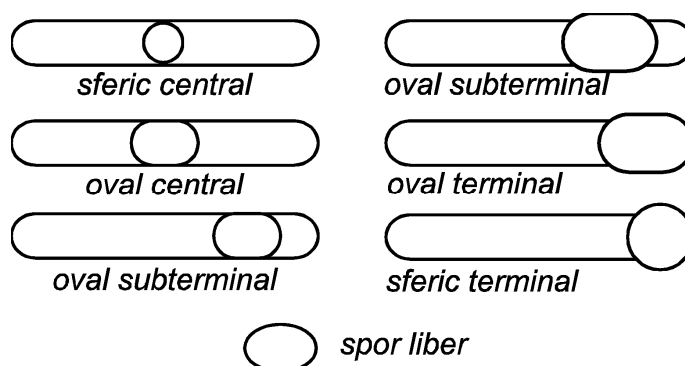


Figura 3.8. Poziția sporului bacterian (adaptată după Murray, 2021).

În colorațiile obișnuite sporul apare ca o zonă incoloră în corpul bacterian. El se evidențiază însă prin colorații speciale, la cald, care permeabilizează învelișurile sporale pentru coloranți (colorația Möller). Pe preparatele native între lamă și lamelă efectuate din culturi, sporiile apar ca niște formațiuni rotunde, refringente.

Ultrastructura și compoziția chimică a sporilor asigură acestora o mare rezistență la agenții fizici și chimici, ceea ce face ca ei să fie considerați forme de rezistență ale bacteriilor. De importanță deosebită pentru medicină este rezistența sporilor la căldură, de care trebuie să se țină cont la sterilizare.

Sporularea. Este un proces ce se declanșează în condiții nefavorabile de viață, când bacteriile sunt lipsite de surse nutritive. Ea presupune formarea unor structuri noi și dispariția altor structuri caracteristice formei vegetative ale bacteriei.

Din punct de vedere morfologic, sporularea începe prin condensarea materialului nuclear la un capăt al celulei. Acesta va fi separat de un sept ce provine din invaginarea membranei citoplasmice. Septul crește, se desprinde de membrana

citoplasmatică și formează în jurul materialului nuclear o membrană dublă ale cărei fețe sunt cele ce sintetizează peretele bacterian. Acesta este stadiul de prespor. Cele două lamele ale membranei presporale vor sintetiza învelișurile sporale: *peretele sporat* și *cortexul* situate între cele două lamele ale membranei presporale și *o tunică proteică* și *exosporiumul* în afara membranei presporale.

Structura sporului variază de la specie la specie, dar organizarea generală se aseamănă. De la interior spre exterior, sporul este format din:

- core sau protoplastul sporat, format din materialul nuclear înconjurat de membrana citoplasmatică. Aici este depozitat ADN și o substanță care are rol în rezistența sporului la căldură - dipicolinatul de Ca, care nu s-a mai evidențiat nicăieri în natură,
- cortexul intern sau peretele sporat format din peptidoglican și care este peretele celular primordial,
- membrana externă sau cortexul sporat, care este stratul cel mai gros al sporului și care conține și el un peptidoglican, cu o structură particulară, foarte sensibil la lizozim. Autoliza acestui strat este momentul cheie în transformarea sporului în forma vegetativă,
- tunica proteică este formată din proteine chitinoase cu numeroase legături disulfitice. Ea este impermeabilă, fiind responsabilă de rezistența sporilor la unele dezinfectante,
- exosporiumul este prezent numai la unii spori și conține lipoproteine și zaharide.

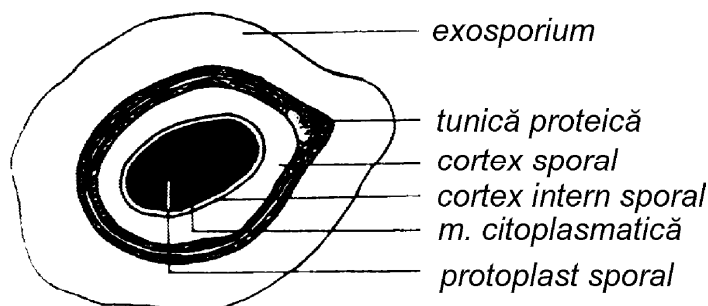


Figura 3.9. Structura sporului (adaptată după Murray, 2021).

Germinarea sporului. În condiții de mediu favorabile, sporul germinează și va da naștere unei bacterii vegetative identice cu aceea în care s-a format. Germinarea are loc în 3 etape:

Activarea sporului. Se produce când acesta întâlnește condiții favorabile de viață, dar și un factor care să lezeze învelișul sporat (mecanic sau chimic ca, de exemplu, lizozimul, compuși cu grupări sulfhidrilice libere etc.).

Inițierea este declanșată de un mediu nutritiv bogat. Pentru unii spori triggerul este L-alanina, iar pentru altele adenzina. Acesta duce la activarea unei enzime autolitice care degradează cortexul sporal. Are loc absorbția de apă, eliberarea dipicolinatului de calciu și degradarea unor compuși sporali.

Dezvoltarea sporului. Protoplastul sporal se transformă în bacterie vegetativă, care trece printr-o perioadă metabolic activă de refacere a constituenților celulari normali și a echipamentului enzimatic complet.

4. FIZIOLOGIA BACTERIANĂ

4.1. Compoziția chimică a bacteriilor

Compoziția chimică a bacteriilor este asemănătoare tuturor organismelor vii. Ea cuprinde în jur de 20 de elemente ale sistemului periodic, care se pot împărți în trei grupe:

- elementele de bază, H, C, N, O, P și Sulf, care intră în compoziția substanțelor cu rol primordial structural și energetic a oricărei celule vii (proteine, lipide și zaharide),

Tabelul 4.1. Compoziția moleculară medie a unei celule bacteriene

Substanțe	% din greutatea totală	% din greutatea uscată	greutatea moleculară	numărul de molecule la o celulă
Masă totală (5x10 ⁻¹³ g)	100	-	-	-
Apă	80	0	10 ¹	1 × 10 ¹⁰
Substanțe anorganice	1,3	6,5	10 ¹ - 10 ²	10 ⁸
Substanțe organice cu moleculă mică	1,3	6,5	10 ² - 10 ³	10 ⁷
Lipide	2	10	10 ³	10 ⁸
Polizaharide	2	10	10 ⁴ - 10 ⁶	10 ⁷
Proteine	10	50	10 ⁴ - 10 ⁶	10 ⁶ - 10 ⁷
ARN	3	15	10 ⁴ - 10 ⁶	10 ⁷
ADN	0,4	2	10 ⁹ - 10 ¹⁰	10 ¹

- elemente în concentrație sub 1% și mai ales sub forma ionizată cum sunt K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Cl⁻, Ca²⁺ etc. cu rol funcțional în procesele de activare a unor enzime (Mg), în permeabilitatea sistemului membranal al celulei bacteriene (Ca), în vâscozitatea citoplasmei etc.

- oligoelementele, cum sunt Mn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Cu²⁺, MoO₄²⁻, SeO₃²⁻, WO₄²⁻ etc., ce se găsesc în celula bacteriană în cantități foarte reduse, sub 0,001%, și care intră în structura unor coenzime absolut necesare desfășurării metabolismului,

- conținutul în apă al bacteriilor se situează în medie la 85% din masa celulară. Apa este faza în care se solubilizează, sunt transportați electroliții și substanțele neelectrolitice și mediul în care se petrec toate reacțiile metabolice. Ea participă la multe din aceste reacții (hidroliză, reacții anabolice etc.) și formează împreună cu substanțele anorganice și macromoleculele organice conținute o unitate fizico-chimică și biologică.

4.2. Nutriția bacteriană

Nutriția bacteriană reprezintă totalitatea proceselor prin care bacteriile își procură din mediul înconjurător substanțele necesare supraviețuirii, creșterii și înmulțirii, iar respirația bacteriană modalitatea de a-și produce energia necesară activității metabolice.

Sursa de energie. În funcție de sursa de energie pe care o folosesc, bacteriile se împart în:

- fotosintetizante, care utilizează energia luminoasă pentru sinteza compușilor proprii și
- chimiosintetizante, care își procură energia prin reacții de oxido-reducere a unor substanțe. Bacteriile care oxidează substanțele anorganice se numesc lithotrofe, iar cele care oxidează substanțe organice chemoorganotrofe.

Sursa de carbon. După sursa de carbon, bacteriile se clasifică în:

- autotrofe, care sintetizează compuși organici pornind de la substanțe anorganice, sursa de carbon fiind CO_2 ,
- mixotrofe, care folosesc ca sursă de carbon atât substanțe organice cât și CO_2 ,
- heterotrofe, care utilizează ca sursă de carbon numai substanțe organice.

Sursa de azot a bacteriilor de interes medical o constituie în general aminoacizii, dar unele bacterii utilizează și sărurile de amoniu (*Escherichia coli*, *Salmonella* etc.).

Necesarul de oxigen pentru dezvoltarea bacteriilor este variabil și va fi discutat în cadrul reacțiilor de energogeneză.

4.2.1. Necesitățile nutritive ale bacteriilor de interes medical

Bacteriile de interes medical sunt, cu foarte puține excepții, chimiosintetizante heterotrofe. Ele au nevoie pentru multiplicare de substanțe organice, diverși ioni, oligoelemente și factori de creștere (vitaminele B_1 , B_2 , acid pantotenic, biotină, lactoflavină, acid folic etc.).

Necesarul de substanțe organice este foarte diferit de la o specie bacteriană la alta. Astfel, de pildă, *Escherichia coli* cultivă foarte bine pe medii care au în compoziție o singură sursă organică de carbon (glucoză, acetat sau succinat), o sursă de azot $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, ioni esențiali dezvoltării (K^+ , Mg^{2+} etc.) și oligoelemente (Cl^- , Co , Cu , Mo , Ni , Se , Zn etc.). Alte bacterii au nevoie de substanțe organice ca aminoacizi, purine, pirimidine, vitamine, factori de creștere etc. pe care nu le pot sintetiza, deoarece sunt adaptate la habitatul lor natural (organismul uman sau animal), care le asigură aceste substanțe.

Cu cât necesitățile nutritive bacteriilor sunt mai mari cu atât dependența lor față de o gazdă naturală crește. Astfel, o categorie aparte în cadrul bacteriilor heterotrofe sunt *bacteriile paratrobe*. Ele sunt lipsite de unele enzime (genul *Rickettsia*) sau nu

sunt capabile de energogeneză (genul *Chlamydia*) și nu se pot înmulți decât în celule vii, având deci un habitat natural obligator intracelular.

Necesitățile nutritive diferă chiar și în cadrul aceleiași specii. Astfel, prin mutații sau alte mecanisme ale variabilității genetice, unele tulpini pierd proprietatea de a sintetiza un compus necesar dezvoltării, înmulțirea depinzând de prezența acestuia în mediu. Astfel de tulpini se numesc auxotrofe, iar tulpinile originale din care au provenit se numesc prototrofe.

4.3. Metabolismul bacterian

Metabolismul bacterian cuprinde totalitatea reacțiilor biochimice care au loc în celula bacteriană, precum și cele care sunt determinate de microorganism în mediul înconjurător. Ele au ca scop final creșterea și multiplicarea bacteriei și se împart în:

- reacții catabolice, prin care se fragmentează substratul nutritiv în unități componente cu eliberare de energie,
- reacții metabolice intermediare, prin care energia rezultată din primele reacții este înmagazinată în compuși macroergici și
- reacțiile anabolice, prin care celula bacteriană își sintetizează substanțele proprii, cu consum energetic.

Toate aceste reacții sunt catalizate de enzime a căror activitate este controlată genetic astfel încât intensitatea lor să fie cât mai eficient adaptată condițiilor în care bacteria crește și se înmulțește.

4.3.1. Reacțiile catabolice

Bacteriile heterotrofe catabolizează substanțe organice din mediul înconjurător printr-o succesiune de reacții enzimatice, care parcurg în principiu 4 faze:

- descompunerea extracelulară a substanțelor organice în unități mai mici sub acțiunea unor exoenzime. La bacteriile care au ca habitat omul, macromoleculele din mediul ambiant sunt reprezentate de proteine, acizi nucleici, collagen, mucopolizaharide, lipide etc. Pentru scindarea acestor substanțe bacteriile invazive secretă exoenzime hidrolitice, care pot fi în același timp și factori de patogenitate.
- absorbția substanțelor din mediul extern se face prin 3 mecanisme:
 - pasiv în funcție de diferența de concentrație a unei substanțe în interiorul și exteriorul celulei ca, de exemplu, în cazul glicerolului;
 - activ prin fosforilarea, cu consum energetic, a substanței ce urmează a fi absorbită ca, de pildă, glucoza care se absoarbe numai sub formă de glucozo-6-fosfat;
 - activ cu consum energetic prin legarea substanțelor de proteinele de transport numite permeaze. Printr-un astfel de mecanism se absorb substanțele pe care celula bacteriană le depozitează în concentrații foarte mari față de concentrația din mediu.

Astfel dacă celula bacteriană este lipsită de permeaza pentru lactoză, aceasta nu poate fi absorbită nici dacă bacteria, complet lipsită de lactoză, se află într-o soluție cu conținut foarte mare de lactoză.

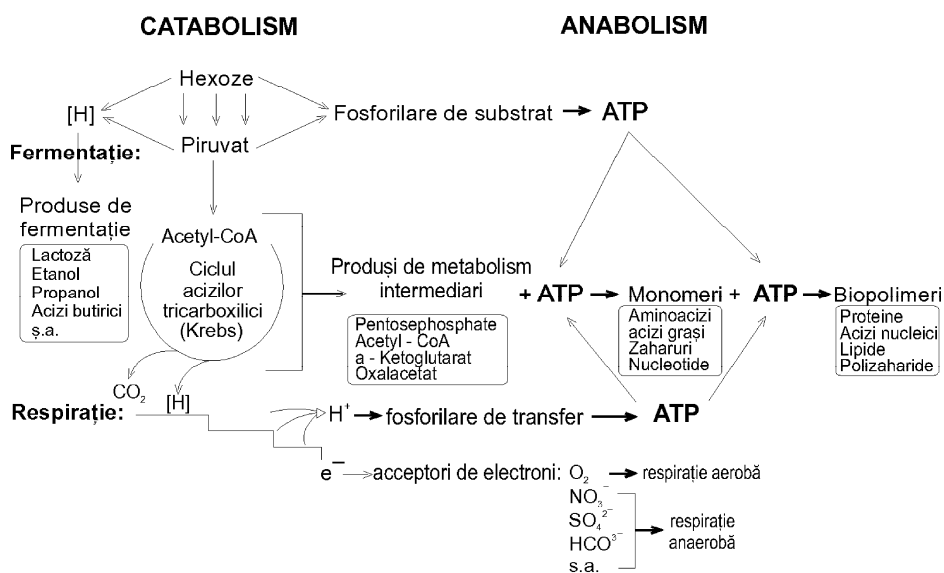


Figura 4.1. Schema generală a metabolismului bacterian (adaptată după Cowan, 2021).

O mențiune specială o merită transportul transmembranal de fier, necesar bacteriilor în multiplicare. În țesuturile organismului fierul nu se găsește în stare liberă ci legat de proteine, cum sunt transferina și siderofilina. Bacteriile au dezvoltat mecanisme ingenioase de absorbție a fierului prin secreția sideroforilor, substanțe chelatoare de fier care scot fierul din combinațiile sale făcându-l absorbabil.

- pregătirea substanțelor pentru oxidare prin reacții de decarboxilare, dezaminare, fosforilare etc. și

- oxidarea substanțelor cu eliberare de energie sau respirația bacteriană. Oxidarea se definește ca o pierdere de electroni sau de ioni de hidrogen. Substanța care se va oxida este donorul, iar cea care se reduce, acceptorul de hidrogen. Deci, în urma oxidării va rezulta o substanță oxidată, o substanță redusă și o anumită cantitate de energie liberă. Substanța energogenetică de bază este la multe bacterii glucoza, monozaharid ce poate fi metabolizat pe mai multe căi în funcție de performanțele oxidative ale bacteriilor.

La bacterii deosebim în funcție de acceptorul final de hidrogen, 3 tipuri de oxidație:

- *Respirația*, în care acceptorul final de hidrogen este oxigenul atmosferic și care este legată de sistemul membranal al bacteriilor (membrana citoplasmatică, mezozomi).

- *Fermentația*, în care acceptorul final de hidrogen este o substanță organică. Fermentația folosește compuși organici ca donori și acceptori de electroni și se produce pe următoarele căi metabolice:
 - glicoliza pe calea Emden Meyerhof care transformă o moleculă de glucoză în 2 molecule de acid piruvic, energia rezultată fiind înmagazinată în 2 molecule de ATP,
 - fermentația secundară a piruvatului care poate fi lactică, alcoolică, propionică, butirică, mixtă (lactică, formică) în funcție de producții de metabolism rezultați,
 - căi alternative de metabolizare a glucozei cum sunt șuntul fosfaților și calea Entner-Doudoroff, aceasta din urmă specifică genului *Pseudomonas*.
- *Respirația anaerobă*, în care acceptorul final de hidrogen este oxigenul prezent într-o sare anorganică (nitrat sau sulfat) care se va reduce. Subliniem că termenul de respirație anaerobă pe care îl folosim, noi bacteriologii, pentru a desemna bacteriile strict anaerobe se referă de fapt la fermentație în absența oxigenului.

Din punct de vedere practic, bacteriile se împart, după necesarul de oxigen, în:

- *bacterii strict aerobe*, care se dezvoltă numai în prezența oxigenului atmosferic, folosind exclusiv respirația aerobă și deci oxigenul ca acceptor final de hidrogen. Astfel de bacterii sunt, de exemplu, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium diphteriae*, *Mycobacterium tuberculosis* etc.

- *bacterii strict anaerobe*, care nu se dezvoltă decât în absența oxigenului, prezența lui fiind foarte toxică culturii chiar la o presiune de numai 10^{-5} atm. Aceste bacterii folosesc ca reacție energogenetică exclusiv fermentația, în condiții anaerobe, deci oxidația de substrat. Dacă fermentația se produce în prezența oxigenului, se formează radicali de superoxid (O_2^-) foarte toxici. Bacteriile strict anaerobe, spre deosebire de cele aerobe, sunt lipsite de superoxiddismutază care transformă radicalul superoxid în apă oxigenată și catalază care descompune apa oxigenată. Exemple de bacterii strict anaerobe sunt cele din genul *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* etc.

- *bacterii facultativ anaerobe*, care se pot dezvolta atât în prezența cât și în absența oxigenului atmosferic. Ele utilizează ca reacții energogenetice respirația aerobă, fermentația iar unele chiar și respirația anaerobă. Majoritatea speciilor de interes medical sunt facultativ anaerobe (de pildă, enterobacteriile).

- *bacterii anaerobe aerotolerante* folosesc numai fermentația în prezența aerului atmosferic, fără participarea oxigenului la reacțiile energogenetice. Ele tolerează oxigenul în mediu fie pentru că au în echipamentul enzimatic superoxiddismutază și catalază, fie că enzimele există în mediul de cultură. Astfel, bacteriile din genul *Streptococcus* sunt lipsite de catalază, dar pot fi cultivate în condiții de aerobioză pe medii cu sânge, care suplinește catalaza.

- *bacterii microaerofile* folosesc respirația și fermentația, dar necesită o concentrație mai mare de bioxid de carbon decât cea din atmosferă pentru reacții de carboxilare. Astfel, unele specii, ca cele din genurile *Neisseria*, *Brucella*, *Campylobacter*, necesită concentrații de bioxid de carbon de 6-10%.

Liniile metabolice folosite de diferitele specii bacteriene variază foarte mult, în funcție de substratul care este prezent în mediul în care bacteria se înmulțește și de dotarea genetică a bacteriei.

Cunoașterea pretențiilor nutritive ale bacteriilor este esențială pentru prepararea unor medii corespunzătoare cultivării lor, iar cunoașterea performanțelor metabolice ale microorganismelor este importantă prin faptul că, alături de morfologie, constituie criteriile de bază în identificarea lor.

4.3.2. **Reacții intermediare**

Energia rezultată în urma oxidării va fi transformată în energie chimică, fie sub forma unor tioesteri, ca de exemplu Acetyl~SCoA, fie sub formă de ATP. Energia astfel stocată va fi eliberată la nevoie pentru amorsarea unor reacții catabolice sau pentru sinteza unor molecule cu rol structural sau funcțional. Unii din produșii intermediari rezultați pe parcursul reacțiilor de oxidare pot fi utilizați de bacterie la sinteza unor substanțe proprii.

4.3.3. **Reacții anabolice**

Sunt reacții prin care celula bacteriană își sintetizează din compuși simpli, rezultați în timpul reacțiilor catabolice sau intermediare și cu consum energetic substanțe cu rol structural (macromolecule) și funcțional (enzime). La acestea se adaugă sinteza unor substanțe cu rol de rezervă energetică (incluzii de polizaharide și lipide).

Din punct de vedere al biosintezelor, bacteriile au posibilități practic nelimitate. Este suficient să ne gândim la complexitatea structurilor membranare ale bacteriilor și la structura peretelui celular, componente pe care celula bacteriană și le sintetizează, uneori, numai dintr-un singur compus organic prezent în mediu.

Posibilitatea reacțiilor de biosinteză diferă de la specie la specie. Astfel, unele bacterii sunt capabile să sintetizeze toți aminoacizii, nucleotidele, monozaharidele și coenzimele din substanțe simple, rezultate în cursul reacțiilor catabolice și intermediare ale metabolismului. Alte bacterii însă sunt lipsite de unele linii anabolice, fiind dependente de aportul din exterior al substanțelor ce se sintetizează pe aceste căi. Bacteriile de interes medical se situează între cele două extreme.

Performanțele biosintetice ale microorganismelor sunt exploatate în diferitele ramuri ale industriei, în care obținerea pe calea sintezei chimice a unor produși ar fi imposibilă sau nerentabilă. Astfel, industria farmaceutică obține antibioticele, unii aminoacizi și vitamine prin activitatea dirijată a microorganismelor, industria

alimentară, brânzeturile și băuturile alcoolice etc. Unele bacterii sunt capabile să metabolizeze hidrocarburi alifatice, ele fiind speranța decontaminării apelor poluate cu țiței.

Reglarea metabolismului are ca scop adaptarea economică a reacțiilor și a intensității lor la substratul nutritiv existent în mediul în care trăiește bacteria, astfel încât ele să asigure creșterea și înmulțirea acesteia. Reglarea se efectuează prin modularea activității enzimelor bacteriene, a căror structură alosterică favorizează inactivarea lor de către produsul final a cărui formare au catalizat-o.

4.4. Creșterea și înmulțirea bacteriilor

Creșterea și înmulțirea bacteriilor este rezultatul nutriției și al metabolismului bacterian.

Viteza de multiplicare a bacteriilor este foarte mare. S-a făcut un calcul ipotetic din care rezultă că, dacă la fiecare 20' are loc o diviziune, dintr-o celulă bacteriană cultivată într-un mediu nelimitat ar lua naștere într-o zi 1×10^{21} celule, ceea ce ar corespunde unei mase de 4.000 de tone. În realitate, o asemenea rată de înmulțire a bacteriilor nu este posibilă, fiind împiedicată de epuizarea substanțelor nutritive și a factorilor de creștere, pe de o parte, și de acumularea metaboliților toxici, pe de altă parte.

Bacteriile se divid în marea lor majoritate prin diviziune binară, cu excepția chlamydiilor, care au un ciclu de dezvoltare unic în lumea bacteriană. Diviziunea este precedată de creșterea în volum a celulei bacteriene, dedublarea materialului nuclear și a componentelor citoplasmatică, ceea ce duce la un dezacord între masa și volumul celulei bacteriene. Când acest dezacord atinge un punct critic se produce diviziunea celulei parentale în două celule fiice, identice cu celula din care au provenit.

La bacili diviziunea se face întotdeauna după un plan perpendicular pe lungimea bacteriilor, în timp ce la coci planurile de diviziune sunt variate. Celulele fiice se pot separa imediat după diviziune sau pot rămâne legate una de cealaltă, rezultând o așezare caracteristică, utilă în recunoașterea bacteriilor ca, de exemplu, a celor din genul *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria* etc.

Diviziunea bacteriilor gram pozitive are loc prin formarea unui sept între cele două celule fiice, pe când bacteriile gram negative se divid prin strangulare directă.

4.4.1. Curba de creștere și înmulțire a bacteriilor într-un mediu limitat

Dacă se introduce un inocul (un număr redus) de celule bacteriene dintr-o cultură pură într-un mediu de cultură proaspăt și se incubează într-o atmosferă prielnică speciei respective, bacteriile vor crește și se vor înmulți, iar timpul care trece de la o diviziune celulară la următoarea se numește timp de generație. Dacă se apreciază numărul de celule bacteriene la intervale diferite de timp de la momentul inoculării

și reprezentăm grafic raportul care se stabilește între acest număr și timpul care s-a scurs, vom obține două curbe caracteristice în funcție de celulele bacteriene luate în calcul.

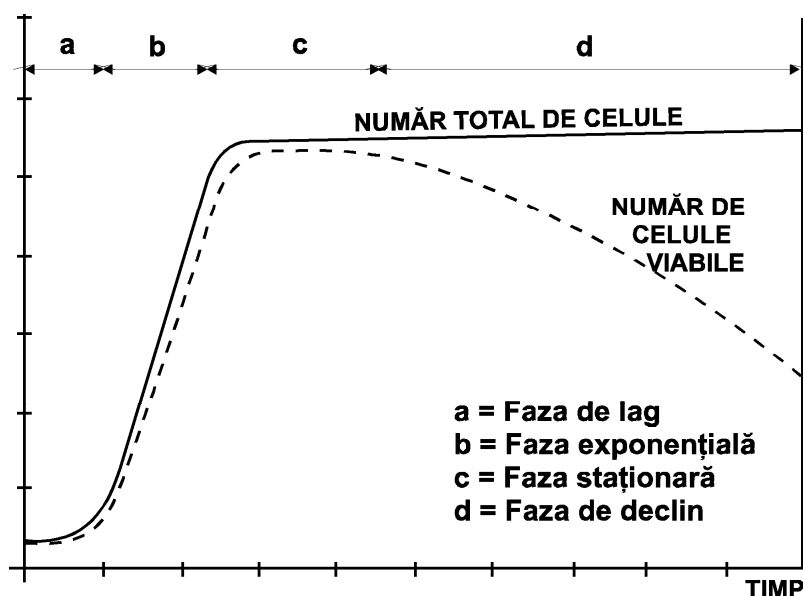


Figura 4.2. Reprezentarea grafică a înmulțirii celulelor bacteriene (adaptată după Cowan, 2021)

- o numărătoare totală a germenilor ce cuprinde toate celulele bacteriene care au luat naștere, atât cele vii cât și cele moarte, sau
- o numărătoare a germenilor viabili, cu o deosebită importanță practică și care apreciază numărul de microbi capabili să se înmulțească în continuare.

Curba de multiplicare a bacteriilor în mediu limitat cuprinde următoarele faze:

- *Faza de lag*. În această perioadă nu se remarcă o creștere a numărului de celule, cu toate că ele cresc în volum și dovedesc o activitate metabolică intensă. Durata acestei faze variază în funcție de specie, condițiile de mediu, de numărul de celule din inocul și este intervalul de timp în care celulele se adaptează noilor condiții de mediu. Astfel, dacă mediul în care sunt inoculate celulele bacteriene diferă de mediul din care au provenit, ele vor trebui să-și readapteze echipamentul enzimatic noilor condiții, renunțând la secreția unor enzime pe care le vor înlocui cu altele. În această fază se pot induce mutații sau se produce selecția unor mutante capabile să crească sau să se înmulțească pe noul mediu. Sensibilitatea bacteriilor față de chimioterapice este crescută. La majoritatea bacteriilor de interes medical, durata ei este în jur de 1/2 de oră, iar la formele sporulate 3-4 ore.

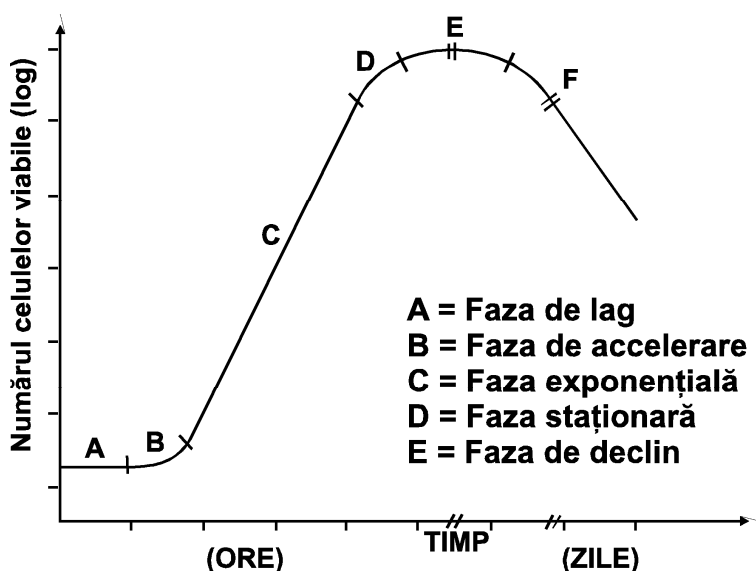


Figura 4.3. Curba de multiplicare a bacteriilor într-un mediu limitat (adaptată după Talaro, 2023).

• *Faza exponențială* sau *logaritmică* este precedată de o fază de accelerare în care celulele bacteriene încep să se înmulțească din ce în ce mai repede. Celulele se divid constant prin fuziune binară, deci în progresie *logaritmică*, raportul dintre numărul bacteriilor și timp fiind *liniar*. Această rată intensă de multiplicare este posibilă doar *in vitro*, *in vivo* ea fiind mult frânată de mecanismele apărării antiinfecțioase. Durata acestei perioade este dependentă de aceleași condiții de mediu ca și faza precedentă dar și de specie. Astfel *E.coli* are un timp de generație de aproximativ 10 minute iar *Mycobacterium tuberculosis* peste 25 ore. Sensibilitatea la antibiotice a microbilor rămâne crescută. Compoziția mediului de cultură se modifică până la sfârșitul acestei faze pe de o parte datorită consumului principiilor nutritive iar pe de altă parte, acumulării de metaboliți. Faza de înmulțire *logaritmică* este urmată de o perioadă de încetinire după care se instalează

• *Faza staționară*. Multiplicarea bacteriilor în progresie *logaritmică* nu mai este posibilă, rata de înmulțire scade treptat până când bacteriile trec în faza staționară. Numărul bacteriilor rămâne constant, de unde s-ar putea deduce că numărul bacteriilor care se nasc este egal cu cel al bacteriilor care mor. În realitate, însă, numărul bacteriilor rămâne constant deoarece ele nici nu se înmulțesc și nici nu mor. În această fază, celulele nu mai cresc, ci are loc o activitate metabolică endogenă, prin care celula își sintetizează rezerve de energie și produși intermediari necesari menținerii în viața în noile condiții. Încetarea multiplicării în faza staționară se datorează în principal epuizării unui factor nutritiv esențial din mediu, numit factor limitant și acumulării unor produși toxici cum sunt, de pildă, acizii organici care, prin scăderea pH-ului mediului, limitează multiplicarea bacteriilor. În această fază scade sensibilitatea tulpinilor la chimioterapice.

Data fiind schimbarea condițiilor de viață ale bacteriilor, acestea vor prezenta modificări ale morfologiei și fiziologiei lor, atât unele față de celelalte, cât și comparativ cu faza exponențială.

În faza staționară celulele conțin cantități mari de polizaharide și lipide, substanțe pe care nu le găsim în faza de multiplicare exponențială. La începutul fazei staționare, unele specii bacteriene produc anumiți metaboliți secundari cu distribuție taxonomică foarte riguroasă. Acești metaboliți includ antibiotice, colicine și exotoxine.

Inițierea sporogenezei la bacteriile sporulate se petrece la sfârșitul fazei exponențiale sau la începutul fazei staționare. Durata fazei staționare este în general de câteva ore.

- *Faza de declin* care durează mai multe zile se caracterizează prin scăderea numărului de bacterii, remarcându-se o divergență între curba care ilustrează numărul total de bacterii și cea care reprezintă bacteriile vii. Ea se datorează scăderii substanțelor nutritive și acumulării de substanțe toxice pentru bacterii. La acești factori se adaugă la unele specii bacteriene proprietatea de autoliză cu eliberarea conținutului citoplasmatic în mediu. Modificările morfologice sunt pregnante atât în ceea ce privește forma, dimensiunile cât și caracterele tinctoriale. În timp mor toate bacteriile, cu excepția celor sporulate, și cultura se autosterilizează.

Cultivarea bacteriilor în mediu limitat este utilizată în laboratoarele de bacteriologie medicală, pentru stabilirea diagnosticului unei infecții bacteriene, caracterele culturale sunt deosebit de importante în identificarea bacteriilor.

4.4.2. Curba de creștere și înmulțire a bacteriilor în culturi continui

Când se urmărește obținerea unei mase mari microbiene sau a unor produși bacterieni pentru cercetare, preparare de vaccinuri, diversele industrii (farmaceutică, alimentară etc.), cultivarea bacteriilor se face în sisteme deschise, în care mediul de cultură este permanent înlocuit cu mediu proaspăt, îndepărtându-se în același timp masa nou formată de bacterii. Bacteriile vor fi mereu în fază logaritmică, curba de înmulțire având un aspect liniar. În acest fel se obțin culturile continui, pentru realizarea cărora este necesar un chimiostat sau un turbidistat.

4.4.3. Înmulțirea bacteriilor în organism

Urmărind curba de multiplicare a bacteriilor într-un mediu limitat, putem deduce că după pătrunderea în organism a unui număr mic de microbi, se poate produce o infecție. Un astfel de exemplu este meningita, în care meningococul se înmulțește foarte rapid punând viața pacientului în pericol dacă nu se intervine cu un tratament antiinfecțios.

Tabelul 4.2. Timpul de generație a unor bacterii *in vivo* și *in vitro*

Microorganism	in vitro	in vivo
<i>E. coli</i> și <i>Staphylococcus</i>	20-30 minute	4-6 ore
<i>Salmonella typhimurium</i>	30 minute	5-12 ore
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	24 ore	câteva zile
<i>Mycobacterium leprae</i>	nu se cultivă	2 săptămâni
<i>Treponema pallidum</i>	nu se cultivă	30 de ore

Pe de altă parte, însă, nu toate bacteriile se divid repede. Baciul tuberculos, de pildă, a cărui timp de generație este de 24 de ore, se va înmulți lent și va produce o infecție cu evoluție insidioasă, cronică.

În organism, creșterea și multiplicarea bacteriilor este diferită de multiplicarea *in vitro*, fiind stresată de necesități nutritive (prin competiție cu flora normală) și prin mecanismele de apărare antiinfecțioasă. Condițiile pe care microorganismele le întâlnesc în organism le selectează pe acelea care cresc în anumite limite de temperatură, osmolaritate și pH.

Agenții infecțioși pe care îi găsim numai în organismele infectate vor supraviețui *in vitro* numai în condițiile de temperatură, osmolaritate și pH apropiate organismului nostru.

Microorganismele care au și alt habitat decât omul cresc în limite mai largi, necesitățile nutritive ale unui microb reflectând, în general, habitatul lui. Astfel, gonococii, care trăiesc aproape numai în organismul uman, au pretenții nutritive mai mari necesitând pentru cultivarea *in vitro* medii speciale, pe când *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și alte specii, care supraviețuiesc frecvent în mediul înconjurător, numai medii minimale.

La aspectele menționate se adaugă habitatul în organism al agenților infecțioși. Astfel, bacteriile cu habitat extracelular sunt expuse acțiunii anticorpilor, complementului, fagocitozei, spre deosebire de bacteriile ce se înmulțesc intracelular și care sunt protejate de acțiunea acestor factorii și scapă uneori supravegherii imunologice.

Bacteriile dezvoltă mecanisme adaptative care să ocolească barierele ce se opun înmulțirii lor. Precizăm că și în condițiile în care multiplicarea bacteriilor este oprită, simpla lor prezență în organism poate constitui un permanent stimul imunologic cu urmări benefice sau dimpotrivă, dăunătoare.

La nivelul organismului uman, atât bacteriile, cât și fungii pot exista ca celule unice, plutitoare libere (planctonice) sau sub forma unor grupuri de celule numite biofilme. **Biofilmul microbial** constă dintr-un consorțiu structurat de celule microbiene înconjurat de o matrice polimerică auto-produsă. În plus față de microorganisme, matricea de biofilm poate conține, de asemenea, elemente provenite de la gazdă, cum ar fi fibrină, trombocite sau imunoglobuline. Infecțiile cauzate de biofilme pot fi monomicrobiene sau polimicrobiene.

Se consideră că două treimi dintre bolile umane implică formarea de biofilme. Bacteriile Gram-pozitive, Gram-negative, fungii și protozoarele pot dezvolta asemenea biofilme pe suprafața dispozitivelor medicale. *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella* și *Serratia* sunt cele mai răspândite specii de bacterii care creează biofilme pe echipamentul medical. Dezvoltarea biofilmelor este o activitate dinamică, proces care progresează prin faze distincte: atașare, formarea microcoloniilor, producție de matrice extracelulară, maturare și dispersie (Figura 4.4).

Antibioticele, dezinfectantele, precum și mecanismele de apărare ale gazdei sunt mai puțin eficiente împotriva celulelor microbiene care se dezvoltă într-un biofilm, deoarece sunt diferite din punct de vedere fiziologic de celulele planctonice ale aceluiși organism.

Potrivit Centrului pentru Prevenirea și Controlul Bolilor (CDC), patologia legată de biofilme este una dintre cele mai mari probleme de siguranță medicală cu care se confruntă sistemele de sănătate. Prin urmare, se fac cercetări pentru a înțelege mai bine mecanismele complexe care stau la baza formării și funcționării acestora. Utilizarea tehnicilor moderne de microscopie și biologie moleculară, au condus la îmbunătățiri semnificative în tratamentul bolilor provocate de biofilme.

De asemenea, Grupul de Studiu al Biofilmelor din cadrul Societății Europene de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase (ESGB) susține că sunt necesare abordări noi pentru investigarea infecțiilor asociate biofilmelor la gazda umană. Scopul final al ESGB constă în îmbunătățirea profilaxiei și terapiei infecțiilor asociate biofilmelor. Pentru atingerea acestor obiective este necesară o abordare multidisciplinară, implicând cercetători specialiști în microbiologie clinică, moleculară precum și microbiologia mediului.

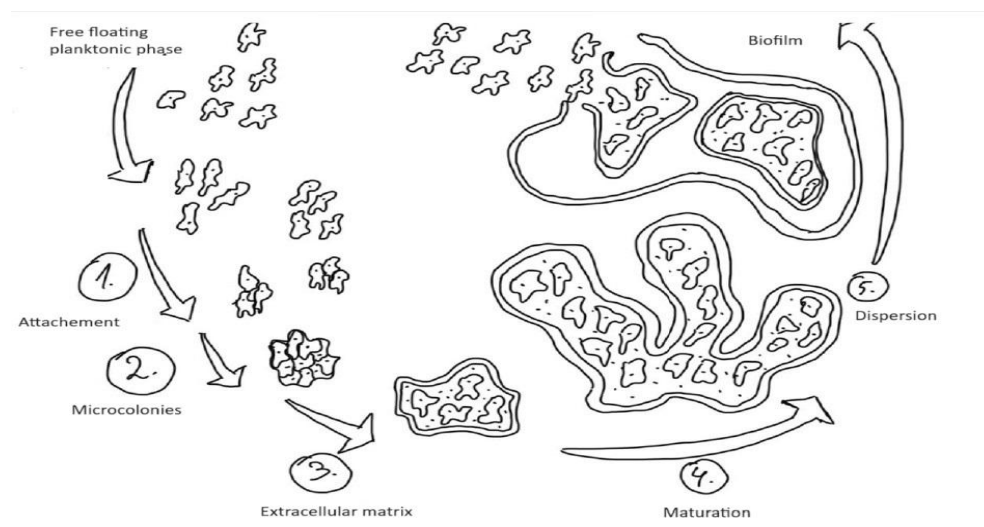


Figura 4.4 Etapele formării biofilmului (adaptat după Voinescu, 2024)

4.5. Influența factorilor de mediu asupra înmulțirii bacteriilor

Unii parametri fizici ai mediului înconjurător influențează în mod hotărâtor creșterea și multiplicarea microorganismelor.

4.5.1. Temperatura

Temperatura optimă de dezvoltare a bacteriilor este cea a habitatului lor natural. În funcție de această temperatură, bacteriile se împart în psihrofile, care se înmulțesc optim la 20°C dar și sub această temperatură, mezofile, cu temperatura optimă cuprinsă între 20-40°C și termofile, care se înmulțesc optim la peste 45°C. Bacteriile mezofile sunt cele patogene deoarece se înmulțesc la temperatura organismului, fiind denumite și bacterii “homeoterme”.

Limitele de temperatură în care aceste bacterii pot să crească sunt însă mai mari și variază de la specie la specie. Astfel, gonococul și meningococul nu suportă variații mai mari de 1-2°C față de temperatura optimă, spre deosebire de enterobacterii, care cresc în limite foarte largi.

Tabelul 4.3. Temperatura optimă de multiplicare a bacteriilor

Bacterii	Temperatura minimă C°	Temperatura optimă C°	Temperatura maximă C°
psihrofile	0	15-20	30
mezofile	2-25	18-45	30-50
termofile	25-45	peste 55	60>100

Microorganismele sunt sensibile la temperaturile ridicate, aplicația practică a acestui aspect fiind sterilizarea.

Temperaturile moderat scăzute, ca, de pildă, cea de +4°C din frigider, nu distrug bacteriile, dar opresc în general înmulțirea lor prelungindu-le viabilitatea. Din acest motiv, majoritatea produselor biologice sau patologice destinate examenului bacteriologic se păstrează în aceste condiții. Totuși, există tulpini microbiene care se înmulțesc și la temperatura frigiderului ca, de exemplu, tulpinile criogene de *Pseudomonas aeruginosa*, ce se înmulțesc la 0°C și tulpini din familia *Enterobacteriaceae* (*E.coli*) care se înmulțesc la +5°C. Acest aspect trebuie luat în calcul de către medicul bacteriolog, mai ales acolo unde implicația etiologică a unui germene într-o infecție se bazează pe criteriul numeric.

Congelarea. Dacă o suspensie bacteriană este supusă înghețului la temperaturi nu prea mici față de 0°C, cristalizarea apei determină formarea unor spații ce conțin soluții concentrate de săruri care nu cristalizează decât la temperaturi mult mai joase (-20°C pentru NaCl de exemplu), când soluțiile devin saturate și pot cristaliza. Aceste concentrații ridicate de săruri minerale, la care se adaugă cristalele de apă, vor leza structurile bacteriene. Prin înghețare nu vor fi omorâte toate celulele unei

suspensii, dar înghețul și dezghețul repetat scad foarte mult numărul de bacterii viabile.

Conservarea prin congelare. Temperatura congelatoarelor casnice (-10°C) nu este destul de scăzută pentru a permite conservarea bacteriilor. Temperatura optimă este cea realizată de CO_2 (-78°C) sau de azotul lichid (-180°C). Conservarea bacteriilor, a virusurilor prin congelare este favorizată de adaosul de glicerol sau dimethylsulfoxid. Acești agenți chimici induc o solidificare amorfă, vitroasă care înlocuiește solidificarea prin cristalizare.

4.5.2. *pH-ul*

Bacteriile se pot dezvolta în limite largi de pH, cele patogene pentru om dezvoltându-se optim la un pH de 7,2-7,4. Există și excepții ca, de pildă, bacteriile din genul *Brucella* care cresc la un pH de 6,0 și vibrionul holerici la pH de 9,0. Lactobacilii, prezenți în flora vaginală normală se dezvoltă chiar și la un pH de 3,9.

Unele bacterii modifică ele însăși prin procesele metabolice pH-ul mediului. Această modificare poate opri înmulțirea lor sau chiar distruge cultura. Din acest motiv, multe medii au în compoziția lor soluții tampon care mențin pH-ul în limite convenabile.

Modificarea de către o bacterie a pH-ului unui mediu poate avea valoare deosebită în identificarea unui microb și poate fi sesizată prin adăugarea în mediu a unui indicator de pH. Foarte multe bacterii se identifică biochimic prin proprietatea lor de a fermenta diferite zaharuri. Această capacitate se evidențiază tocmai prin înșămânțarea unei bacterii pe mai multe medii ce conțin fiecare alt zahăr și un indicator de pH. În cazul fermentării, acidifierea va determina schimbarea culorii mediului.

4.5.3. *Umiditatea*

Apa liberă este absolut necesară creșterii și multiplicării microbilor. Necesarul de apă variază în funcție de specie. Astfel, datorită conținutului sărac în apă a unor alimente cum sunt gemul de fructe, pâinea, unele sorturi de cașcaval, arahidele etc., multiplicarea bacteriilor este practic imposibilă, în timp ce mucegaiurile se pot dezvolta foarte bine chiar și în aceste condiții.

Prin liofilizare (desicare bruscă la -78°C), care este o metodă de conservare a microbilor, se extrage practic întreaga apă liberă din celulele bacteriene, ceea ce are ca urmare creșterea stabilității biopolimerilor și încetarea metabolismului. Bacteriile liofilizate se păstrează ani de zile.

4.5.4. **Concentrația de bioxid de carbon**

Cu toate că bacteriile de interes medical nu pot folosi bioxidul de carbon ca sursă de carbon, acesta este absolut necesar reacțiilor de carboxilare în biosinteza unor substanțe proprii celulei bacteriene (aminoacizi, purine, pirimidine etc.). Necesarul de bioxid de carbon al bacteriilor este diferit. Astfel, unele specii (*Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*) sunt dependente de prezența lui în concentrații ridicate până la 10% în atmosfera în care se dezvoltă, pe când altele ca, de exemplu, *S.aureus* se dezvoltă la concentrația obișnuită de CO₂ din atmosferă (0,03%), dar nu și într-o atmosferă complet lipsită de CO₂.

Astăzi, incubarea produselor patologice din care se urmărește izolarea bacteriilor se efectuează în termostate cu CO₂ (6%), deoarece dezvoltarea lor este superioară celei din termostatele obișnuite.

4.5.5. **Ultrasunetele**

Ultrasunetele cu o frecvență peste 20.000 de cicli/s sunt bactericide. Bacteriile și virusurile sunt distruse de ultrasunete într-un interval de o oră. Ultrasonarea microorganismelor se folosește mai puțin pentru sterilizare, cât pentru a obține diferite componente bacteriene sau virale, cum sunt: enzime, pereți celulari, acizi nucleici bacterieni în scopul cercetării acestora. O altă aplicație practică a sonicării constă în identificarea de bacterii de pe suprafața dispozitivelor medicale (proteze/stenturi, etc.).

4.5.6. **Presiunea hidrostatică**

Bacteriile obișnuite sunt rezistente la presiunea atmosferică. Formele vegetative suferă alterări la 300 de atm și sunt omorâte la 600 de atmosfere, presiune întâlnită în oceane la o adâncime de 6000m.

4.5.7. **Presiunea osmotică**

Bacteriile se înmulțesc optim pe medii izotonice, rezistența lor la variațiile presiunii osmotice fiind incomparabil mai mare decât cea a celulelor organismelor superioare. Această rezistență se datorează peretelui celular.

Într-un mediu puternic hipertonic, bacteriile vor pierde apa din citoplasmă și vor muri. Acest fenomen se numește plasmoliză.

Dacă presiunea osmotică a mediului este foarte scăzută, apa va pătrunde în celulă, care se va umfla devenind turgescență. Moartea bacteriei se produce prin plasmoliză.

Creșterea presiunii osmotice a unui mediu prin adaos de NaCl sau zaharuri stă la baza conservării unor alimente.

Există însă bacterii osmofile, dintre care cele halofile sunt capabile să se înmulțească în soluții hipersaline (bacteriile din genul *Staphylococcus* și *Enterococcus*). Pe baza acestei proprietăți se prepară unele medii de îmbogățire și selective așa cum este mediul hiperclorurat Chapman pentru stafilococi. Acesta conține 7,5g NaCl la 100 ml de mediu, spre deosebire de mediile obișnuite care conțin doar 5g/l. Dintre bacteriile osmofile menționăm și pe cele zaharofile, care sunt capabile să se înmulțească pe medii cu conținut mare de glucide (6g%). Acest aspect este important pentru unele medicamente, ca de pildă, siropurile care, în ciuda conținutului ridicat de zaharoză, se pot altera în urma contaminării cu aceste bacterii.

4.5.8. **Electricitatea**

Electricitatea sub formă de curenți galvanici, curenți de joasă sau înaltă frecvență nu afectează bacteriile. Dacă însă curentul electric este trecut printr-un mediu lichid, bacteriile pot fi afectate sub acțiunea unor ioni sau produși chimici rezultați în urma electrolizei.

4.5.9. **Radiațiile**

4.5.9.1. *Razele neionizante*

Razele ultraviolete. Puterea bactericidă a razelor luminoase devine perceptibilă la o lungime de undă de 330nm, crescând pe măsură scăderii lungimii de undă a luminii UV. Timpul necesar distrugerii microorganismelor depinde de intensitatea luminii, distanța de sursa de emisie și mediul în care se găsesc microorganismele. Mecanismul bactericid al razelor UV constă în inducerea formării în celula bacteriană a unor dimeri de timină care interferează replicarea ADN. Alterările altor elemente structurale bacteriene sunt neglijabile.

Fotoreactivarea. Modificările induse în celulele bacteriene prin razele UV sunt reversibile, eficiența sterilizării prin aceste raze nefiind prea performantă. Astfel, dacă se expune o cultură bacteriană care a fost iradiată cu raze UV la lumină vizibilă, o parte din dimerii de timină se vor disocia și bacteriile aparent omorâte își reiau activitatea metabolică și înmulțirea. Aceasta poate depăși de sute de ori activitatea inițială a culturii neiradiată.

În scop practic lămpile cu vapori de mercur se folosesc pentru a reduce numărul de bacterii existente în aer în sălile de operație, în laboratoare, în încăperi în care sunt adăpostite animale de experiență etc.

Efectul bactericid al razelor solare se datorează conținutului în raze UV (300-400nm). În condiții naturale efectul bactericid al luminii solare este mai mare în țările sudice unde conținutul în raze UV este mare. Semple și Greig au arătat în India (1909) că bacilii tifici expuși pe lenjerie albă la soare sunt distruși în două ore, pe când la întuneric își păstrează viabilitatea peste 6 zile.

S-a observat însă că expunerea la lumina puternică solară poate omorî bacteriile chiar când radiațiile UV sunt ecranate, datorită sensibilității la lumină a unor substanțe necesare metabolismului bacterian cum sunt riboflavina și porfirinele. Astfel, expunerea la lumina solară a fiolelor în care se află BCG1 va avea ca urmare pierderea viabilității și deci a eficienței vaccinului.

Sensibilizarea fotodinamică. Razele luminoase vizibile au o acțiune bactericidă slabă, care poate însă fi crescută până la nivelul acțiunii razelor UV dacă sunt trecute prin coloranți fluorescenți ca, de pildă, eozina, roșu bengal etc.

4.5.9.2. Radiațiile ionizante

Mecanismul bactericid al acestor raze constă în formarea în celulă a unor radicali cu viață scurtă și protoni. Acești produși vor altera bazele azotate și legăturile dintre ele. Efectul bactericid al razelor ionizante depinde de cantitatea de energie absorbită, temperatură, presiunea parțială a oxigenului, conținutul în substanțe organice, prezența unor substanțe protectoare ca alcoolii alifatici sau substanțe bogate în grupări sulfhidrilice, specia microorganismului și conținutul în apă. Sporii sunt în general mai rezistenți decât formele vegetative ale bacteriilor, excepție fiind o bacterie nesporulată, *Micrococcus radiodurans*, care este cel mai rezistent microorganism la radiații. El rezistă la doze de 200 de ori mai mari decât restul bacteriilor datorită faptului că este echipat cu mecanisme deosebit de eficiente de reparare a alterărilor acizilor nucleici.

4.6. Metode de cultivare a bacteriilor

Cunoașterea necesităților nutritive ale bacteriilor este foarte importantă în bacteriologia medicală, deoarece stă la baza preparării mediilor de cultură destinate izolării diverselor specii bacteriene din produsele biologice sau patologice.

La începuturile dezvoltării bacteriologiei, prepararea mediilor a fost artizanală, numeroși bacteriologi intrând în istoria microbiologiei prin mediile pe care le-au preparat și care le poartă și astăzi numele. Astfel, amintim, de exemplu, mediul Loeffler pentru cultivarea bacilului difteric, mediul Löwenstein-Jensen pentru bacilul lui Koch, mediul selectiv Wilson-Blair, etc.

Prin cercetarea necesităților nutritive ale diferitelor specii s-au realizat medii adecvate pentru aproape toate bacteriile de interes medical, speciile necultivabile fiind foarte puține, ca de pildă, *Mycobacterium leprae* și unele spirochete printre care *Treponema pallidum*.

Cultivarea bacteriilor în scop diagnostic pune în esență două probleme:

- alegerea unui mediu de cultură optim, care să permită izolarea tuturor bacteriilor care ar putea fi prezente în produsul de examinat și
- obținerea bacteriilor în culturi pure, pentru a putea fi identificate.

4.6.1. **Condiții generale pentru cultivarea bacteriilor**

Un mediu de cultură uzual trebuie să conțină apă, substanțe organice, minerale, oligoelemente și factori de creștere. Pentru satisfacerea acestor necesități se utilizează diferite substraturi biologice nutritive complexe care au în compoziția lor aceste ingrediente. A se vedea informațiile din îndreptarul de lucrări practice.

Cultivarea microbilor pe medii lichide. Mediile lichide se folosesc cel mai adesea pentru înmulțirea unor microbi care se găsesc în număr mic într-un anumit produs. Cel mai simplu mediu folosit în laboratorul de bacteriologie este bulionul care se prepară din decoct de carne de vacă, peptonă și clorură de sodiu. Cultivarea unui produs pe medii lichide are dezavantajul că nu permite însă obținerea unei culturi pure.

Caracterele culturale ale microbilor pe medii lichide diferă. Astfel, bacteriile aparținând familiei *Enterobacteriaceae* tulbură uniform mediul, altele, ca de pildă bacteriile strict aerobe (*Pseudomonas*, *Nocardia*) formează pelicule la suprafața mediului. Altele formează agregate care se dezvoltă sub formă de grunji ce se depun pe peretele eprubetei sau la fundul mediului (*Streptococcus*). Unele bacterii secretă în mediu pigmenți difuzibili ca de exemplu bacilul piocianic (*P.aeruginosa*).

Cultivarea bacteriilor pe medii solide. Introducerea mediilor de cultură solide a însemnat un progres uriaș în tehnicile de diagnostic, deoarece permite dezvoltarea distinctă a microbilor, sub formă de colonii izolate. O colonie bacteriană este o micropopulație ce rezultă din înmulțirea unui singur microb pe un mediu, vizibilă în general cu ochiul liber.

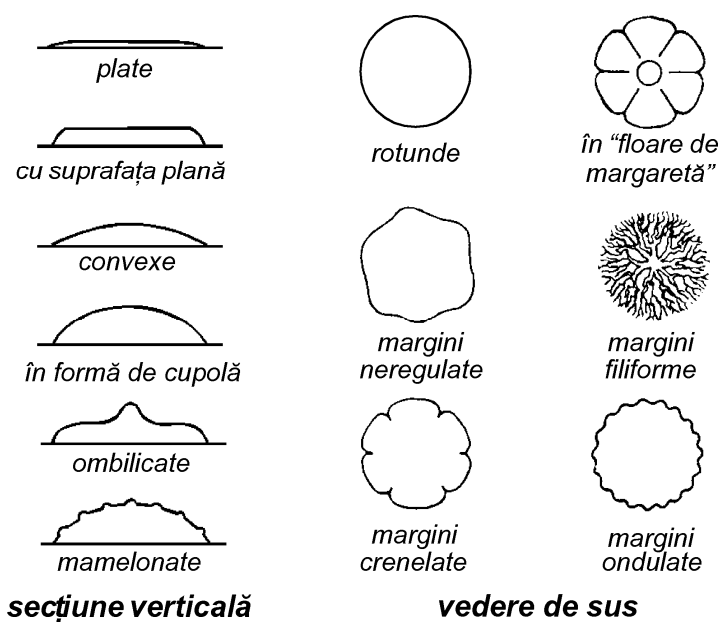


Figura 4.5. Caractere culturale ale bacteriilor pe medii solide
(adaptată după Popovici, 2019)

5. GENETICA BACTERIANĂ

Ereditatea este însușirea generală biologică a tuturor viețuitoarelor de a transmite caracterele specifice speciei la urmași iar variabilitatea, apariția unor caractere diferite de cele ale genitorilor.

Dintre cele două laturi ale geneticii bacteriene, variabilitatea este cea care interesează medicina în mod deosebit. Modificarea zestrei ereditare la bacterii dă naștere unor tulpini bacteriene noi care, prin virulență și rezistența la chimioterapice, se adaptează mai bine condițiilor de mediu și înlocuiesc bacteriile mai puțin adaptabile. Un exemplu foarte sugestiv în acest sens îl reprezintă modificarea etiologiei infecțiilor asociate asistenței medicale (IAAM). Astfel, agenții etiologici ai hospitalismului clasic ca, de pildă, bacteriile din genurile *Clostridium* și *Streptococcus*, se întâlnesc astăzi extrem de rar, ei fiind înlocuiți cu agenții etiologici ai hospitalismului modern care sunt tulpini multirezistente la antibiotice ce aparțin speciilor *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, familiei *Enterobacteriaceae* etc.

Pentru a înțelege mecanismele variabilității, vom schița, pe scurt, bazele structurii, replicării și funcționalității materialul genetic la bacterii.

5.1. Suportul material al eredității

Totalitatea caracterelor unei bacterii sunt determinate genetic, informațiile fiind codificate de ADN. Expriamarea manifestă a acestor caractere constituie fenotipul unei tulpini, iar informațiile care le codifică genotipul.

Genetica moleculară, în general, a avut ca punct de pornire studiul bacteriilor și bacteriofagilor.

În anul 1892 August Weisman susținea, deja, că esența eredității constă în transmiterea la descendenți a unei substanțe nucleare cu structură moleculară specifică. Cunoașterea precisă a substanței care păstrează și transmite caracterele ereditare a parcurs un drum lung, care a început în anul 1928 prin experiențele bacteriologului englez Fred Griffith.

Griffith a pornit de la observația că pneumococul de tip S, virulent, capsulat, injectat la șoarecele alb produce la acesta septicemie mortală, în timp ce injectarea pneumococului de tip R, nevirulent, necapsulat, sau a pneumococului de tip S capsulat omorât prin căldură rămâne fără efect. Injectând însă un amestec dintr-o tulpină de pneumococ de tip R necapsulat, nevirulent, viu și o tulpină de pneumococ de tip S, capsulat, omorât prin căldură, la șoarece, acesta a dezvoltat o septicemie mortală. Prin hemocultură s-a izolat pneumococ viu, de tip S, capsulat. Griffith a tras concluzia că pneumococul viu de tip R necapsulat a preluat un “principiu transformant” de la pneumococul de tip S omorât, principiu ce îi permite sinteza factorului de virulență - capsula.

Precizarea naturii acestui principiu transformant este meritul unui colectiv format din Avery, McLeod și McCarty, care în anul 1944 au extras diferite substanțe din pneumococul virulent (polizaharid capsular, lipide, proteine, acizi nucleici) și au arătat că transformarea pneumococului de tip R se face numai în prezența acidului dezoxiribonucleic (ADN) provenit de la pneumococul de tip S.

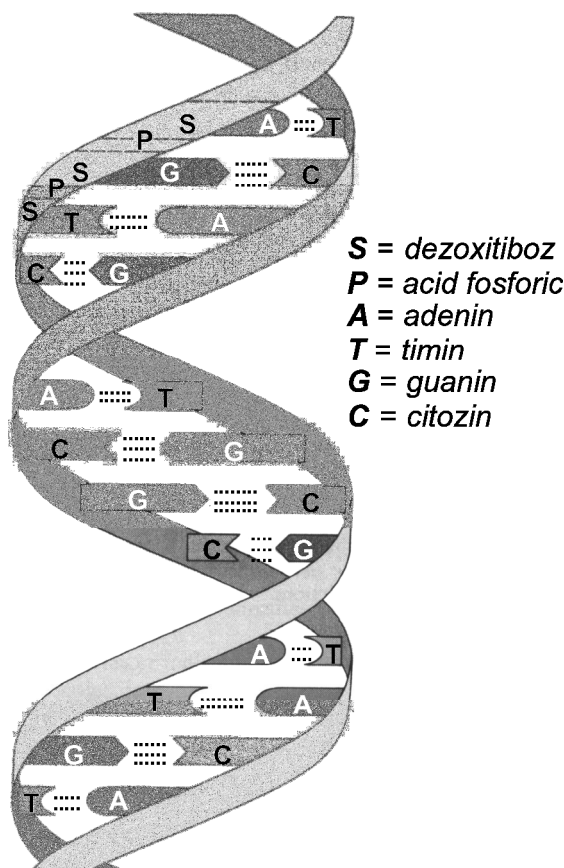


Figura 5.1. Structura ADN (adaptată după Janeway, 2017)

Dovada hotărâtoare că ADN este depozitarul informației genetice a fost adusă după descoperirea bacteriofagului de către Twort și d'Herelle, independent în 1915 și 1917. Atunci s-a demonstrat că bacteriofagul își injectează numai ADN în celula gazdă și că acesta singur este capabil să determine în celula gazdă sinteza de bacteriofagi compleți, identici cu cei de la care provenea acidul nucleic.

5.1.1. **Structura ADN**

ADN este format din 2 catene spiralate complementare și de polaritate inversă (modelul Watson, Crick și Wilkins), fiecare fiind rezultatul polimerizării într-o

anumită ordine a unităților structurale de bază a acizilor nucleici, nucleotidele. Acestea sunt formate la rândul lor dintr-o moleculă de dezoxiriboză, o moleculă de acid ortofosforic și dintr-una din bazele azotate purinice - adenina (A) și guanina (G) - sau pirimidinice - citozina (C) și timina (T).

Scheletul spiralei este format din acidul ortofosforic și dezoxiriboză de care se leagă bazele azotate. Complementaritatea celor două lanțuri de nucleotide se realizează prin relațiile sterice ce se stabilesc între bazele complementare, iar legăturile prin punți de hidrogen.

Proporția de baze complementare este constantă în cadrul unei specii, raportul adenină-timină/guanină-citozină (AT/GC) servind drept criteriu taxonomic de bază în clasificarea modernă a bacteriilor.

5.1.2. **Replicarea ADN**

Structura dublu spiralată a ADN permite replicarea lui identică, semiconservativă. Spirala se deschide ca un fermoar la locul inițial al replicării sub acțiunea unei ADN-giraze. Pe fiecare spirală se va sintetiza o spirală nouă, complementară, cu participarea ADN - polimerazei (I, II, III) din direcția capătului 5' terminal spre capătul 3' terminal.

A se citi Transcripția, translația, reglarea activității genelor din cursul de biochimie și genetica medicală.

5.2. **Organizarea materialului genetic la bacterii**

Genomul bacterian este alcătuit din repliconi, care sunt formațiuni genetice ce se pot replica independent. Astfel, se descriu:

- cromozomul bacterian
- elemente genetice extracromozomiale - plasmide
 - genomul bacteriofagilor
- elementele genetice transpozabile
 - fragmentele de inserție (IS)
 - transpozonii (Tn).

5.2.1. **Cromozomul bacterian**

Majoritatea genelor bacteriene se găsesc într-un cromozom haploid, echivalent nuclear care codifică informațiile absolut necesare supraviețuirii speciei în condiții normale.

Cromozomul la *Escherichia coli* este format dintr-o moleculă circulară dublu spiralată de ADN ce reprezintă 80% din greutatea lui, dintr-o componentă proteică,

ARN-polimeraza care reprezintă 10%, iar restul de 10% din ARNm și ARNr în curs de sintetizare.

Pe lângă dispoziția dublu spiralată spre dreapta a catenelor de ADN (o spiră = 10 baze), acestea suferă o suprahelicare spre stânga (o spiră suprahelicată = 15 spire). Acest mod de organizare denumit “supercoil” sau “supertwist” asigură pe de o parte “împachetarea” economică a ADN și pe de altă parte o configurație optimă activității funcționale a ADN (replicare, transcripție, recombinare). Modelul de împachetare a nucleului bacterian a fost descris de Pettijohn și Hecht (1973) pentru *E. coli* și se pare că are un caracter general la bacterii.

5.2.2. *Formațiunile genetice extracromozomiale*

5.2.2.1. *Plasmidele*

Plasmidele sunt formațiuni genetice autonome, extracromozomiale, libere în citoplasmă, reprezentate de molecule circulare de ADN care se replică independent de cromozom. Denumirea de plasmide le-a fost dată de Lederberg în 1952, iar importanța lor practică a fost sesizată în 1963 de Watanabe, o dată cu descoperirea posibilității transmiterii prin plasmide a rezistenței la antibiotice între bacterii .

Bacteriile conțin foarte frecvent plasmide, descriindu-se peste 1.000 de tipuri diferite. Lungimea acestor molecule variază între 1-150 mm și greutatea moleculară între 2-3 milioane (3×10^3 până la 450×10^3 perechi de baze). Plasmidele mici se găsesc de obicei într-o celulă bacteriană în 10-40 de copii, pe când cele mari în număr mai redus de 1-3 copii. În aceeași celulă nu pot coexista mai multe plasmide înrudite (cu mecanism comun de control al replicării), ele fiind incompatibile, spre deosebire de cele neînrudite (cu mecanism distinct de reglare al replicării), care sunt compatibile. Compatibilitatea exprimă competiția plasmidelor pentru un anumit situs de legare în celula bacteriană.

Plasmidele pot fi:

- *conjugative*, care se pot transfera singure la alte bacterii, ca de exemplu plasmidele de rezistență la antibiotice R,

- *neconjugative*, care nu pot părăsi ele însăși bacteria de origine, ci numai prin intermediul unui alt plasmid conjugativ sau a unui bacteriofag (de exemplu plasmidul care codifică secreția de beta-lactamază la *S.aureus*)

- *episomi*, care se pot integra prin recombinare în cromozomul bacterian, pierzându-și astfel autonomia de replicare. Un exemplu de episom este factorul de sex F (plasmidul F sau factorul de fertilitate).

Determinanții genetici esențiali ai plasmidelor codifică informațiile legate de replicarea lor autonomă, iar cei accesorii caractere fenotipice neesențiale supraviețuirii celulei bacteriene în condiții naturale: gene de transfer (tra), de rezistență la antibiotice (factorul R), de secreție a colicinelor (factorul col), de secreție a unor toxine, de metabolizarea unor substraturi, de rezistență la unii ioni și

compuși organometalici etc. Unele plasmide nu au un efect observabil asupra fenotipului bacteriei și se numesc plasmide criptice.

Pentru medicină importantă este cunoașterea plasmidelor de virulență și a celor care conferă bacteriilor rezistența la antibiotice.

Plasmidele de virulență poartă determinanții genetici ai unor factori de virulență la bacterii, ca de exemplu secreția de enterotoxină (termolabilă și termostabilă) și factorul de colonizare la *Escherichia coli*, hemolizina la *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* și *E.coli*, exfoliantina la *S. aureus*, gena de invazivitate la *Shigella* etc.

Plasmidele R -de rezistență la chimioterapice (Factorul R) sunt molecule circulare de ADN care constau în esență din două regiuni genetice distincte: genele care codifică rezistența la antibiotice "R", care pot fi unice sau multiple și genele care conferă plasmidului capacitatea de a se transfera "FTR".

Rezistența la peste 90% din tulpinile de spital este de natură plasmidică. Existența acestor plasmide se explică prin aglomerarea mai multor gene de rezistență R, pe același plasmid, prin fenomenul transpoziției repetate de material genetic. Plasmide de rezistență au fost evidențiate la genurile *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Serratia* din familia *Enterobacteriaceae*, la genurile *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Pasteurella*, *Campylobacter*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, și *Corynebacterium*. Plasmidele prezente la bacilii gram-negativi sunt mai mari decât cele evidențiate la bacteriile gram-pozitive.

Plasmidul F se mai numește și plasmid de sex, sau factor de fertilitate și conține, pe lângă alți determinanți genetici, genele de transfer *tra*. Plasmidul F se poate transmite altor celule bacteriene prin conjugare. El se poate integra în cromozomul bacterian putând media transferul de gene cromozomiale de la o celulă bacteriană donor la cea receptor. În funcție de prezența factorului F, bacteriile se împart în:

- bacterii F- lipsite de factorul F, denumite celule femele și care sunt receptoare de material genetic,
- bacterii F+, masculine, care au factorul F+, autonom, ca plasmid în citoplasmă și care sunt celule donoare,
- bacterii Hfr care au factorul F+ integrat în cromozom, de asemenea masculine,
- bacterii F' care au factorul F+ ca plasmid autonom, după ce acesta a fost integrat în cromozom și l-a părăsit rupând un fragment ADN din cromozom. și aceste celule sunt donoare, deci masculine.

5.2.2.2. *Bacteriofagii*

Sunt virusuri care parazitează bacteriile. Se cunosc 6 grupe morfologice de bacteriofagi, cei mai bine studiați fiind bacteriofagii T ai bacilului coli.

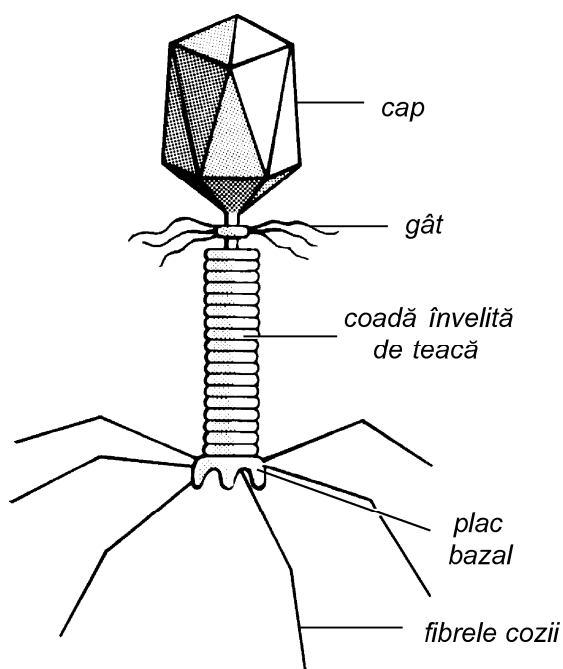


Figura 5.4. Structura bacteriofagului (adaptată după Fields, 2020)

Morfologie. Bacteriofagii sunt formați dintr-un cap hexagonal, un gât și o prelungire numită picior (coadă). Capul este alcătuit dintr-un înveliș proteic caracteristic virusurilor (capsida) și adăpostește ADN. Coada este un cilindru rigid învelit într-un manșon proteic asemănător miozinei și se termină cu o placă hexagonală ce conține o enzimă de tipul lizozimului. De placa bazală se prind 6 fibre cu rol în fixarea bacteriofagului pe suprafața bacteriei.

Atașarea bacteriofagului pe suprafața peretelui bacterian este determinată de existența unor receptori de perete, specifici. Această specificitate este de tip enzimatic și stă la baza lizotipiei. După atașare are loc contracția manșonului proteic și bacteriofagul își injectează numai ADN în celula bacteriană.

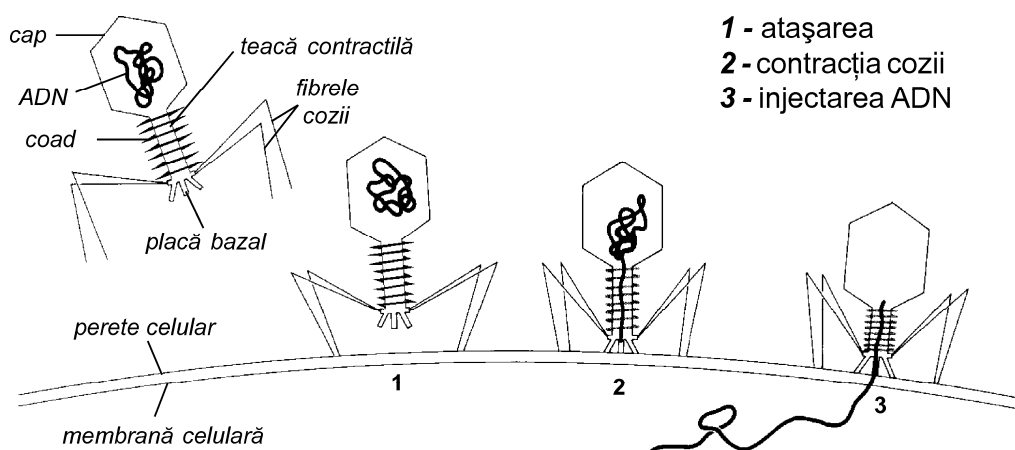


Figura 5.5. Pătrunderea bacteriofagului în celula bacteriană (adaptată după Fields, 2020).

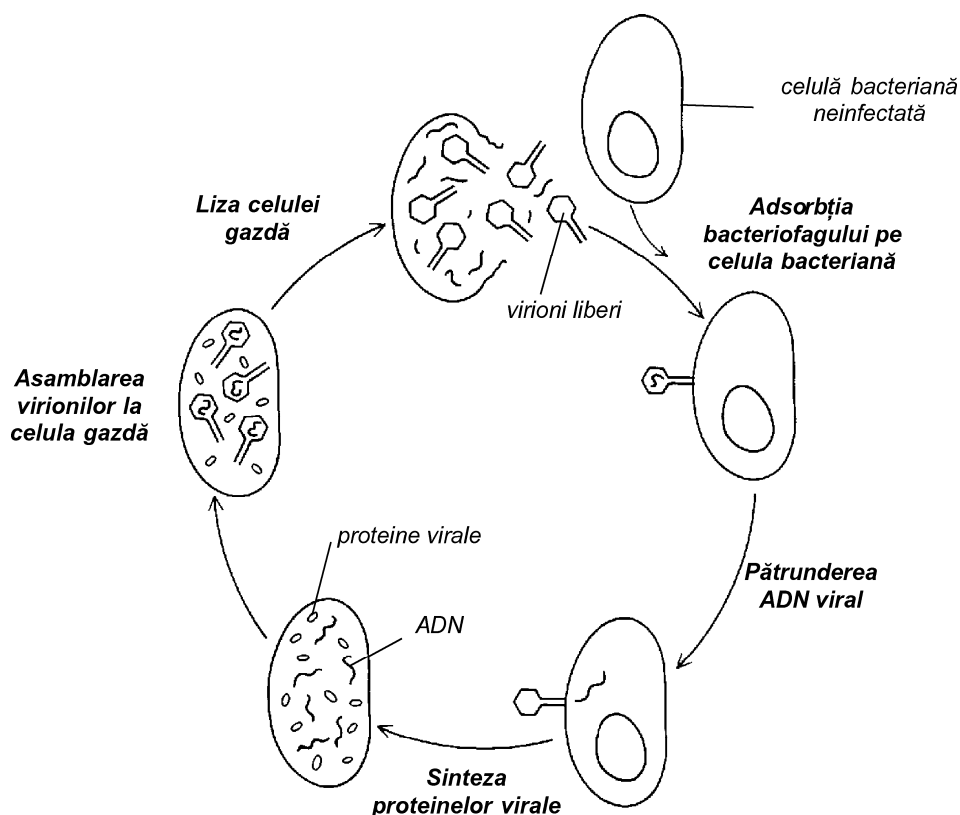


Figura 5.6. Ciclul litic al bacteriofagilor (adaptată după Fields, 2020).

După pătrunderea genomului fagic în celula bacteriană, acesta va determina sinteza de noi bacteriofagi identici cu cel de la care a provenit ADN. ADN se replică prin replicare semiconservativă, iar ribozomii bacterieni vor sintetiza proteinele

capsidale și ale cozii. După asamblarea noilor virusuri ele vor părăsi celula bacteriană care se lizează. Acesta este ciclul litic al bacteriofagilor, iar ei se numesc fagi virulenți.

Dar nu întotdeauna relațiile bacteriofag-bacterie evoluează în acest fel. Uneori genomul bacteriofagului se va integra în cromozomul bacterian încadrându-se și funcțional în acesta. În această situație el nu se mai replică decât în același timp cu cromozomul bacterian, deci în timpul diviziunii bacteriene și se numește profag. Acest ciclu este ciclul lizogen iar bacteriofagii se numesc fagi temperați.

Lizogenia are următoarele consecințe pentru bacteria în cauză:

- bacteria lizogenizată este imună la infecția cu același bacteriofag, dar nu pentru alți bacteriofagi

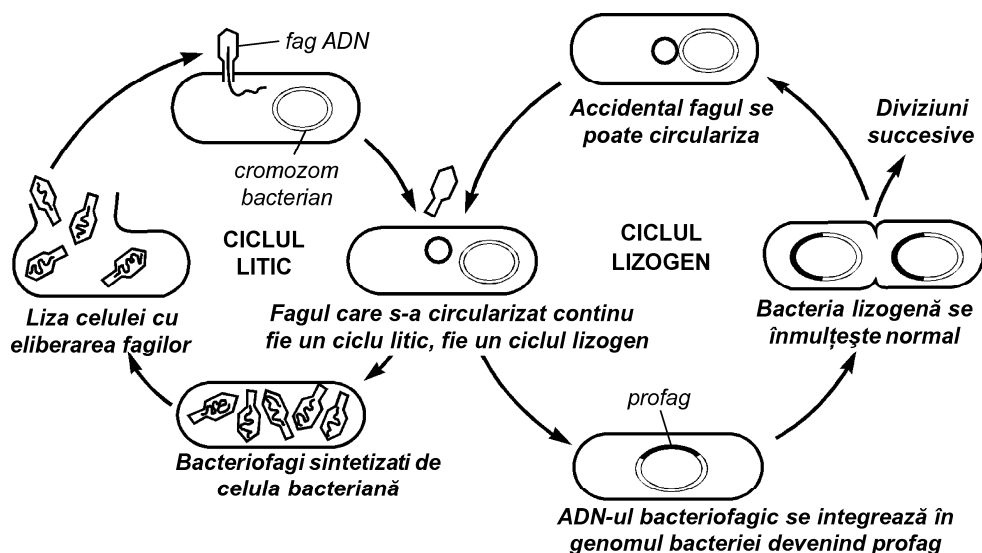


Figura 5.7. Ciclul lizogen al bacteriofagilor λ la *E. coli* (adaptată după Fields, 2020).

- profagul codifică el însuși unele caractere pe care le dobândește astfel bacteria lizogenă. Un exemplu clasic în acest sens este toxigenza la bacilul difteric care este codificată de un profag ce se află în cromozomul bacterian. Tulpinile de bacili difterici care nu sunt lizogenizate de acest profag, nu sunt capabile să secrete toxina și sunt, deci nepatogene,

- transducția, mecanism de transfer genetic de la o bacterie la alta, mediată de bacteriofagi și asupra căreia vom reveni la variabilitatea bacteriană.

5.2.2.3. *Elemente genetice transpozabile*

Elementele genetice transpozabile sunt fragmentele de inserție (IS), transpozonii (Tn) și integronii.

IS și Tn sunt fragmente mici de ADN cu limite structurale bine precizate care se pot integra repetat în mai multe situsuri dintr-un genom. Existența lor a fost presupusă încă în anul 1931 și în anul 1952 de Barbara Mc Clintock care le-a denumit “gene săltărețe” (jumping genes). Descoperirea a fost primită cu mult scepticism și neîncredere la vremea respectivă, dar timpul a dovedit importanța ei, autoarea fiind onorată cu premiul Nobel în anul 1983.

Integronii reprezintă sisteme de captură și expresie a genelor sub forma de casete, elemente mobile capabile să fie integrate sau excizate printr-un mecanism de recombinare specifica, mediate de o integrază. Integronii sunt incapabili de autoreplicare și sunt purtați pe cromozomi, plasmide, sau pot fi vehiculați printr-un element transpozabil. În funcție de natura genelor care codifică integraza, există mai multe clase de integroni. Trei dintre ele (clasele 1, 2, 3) sunt bine caracterizate și sunt implicate în diseminarea rezistenței la antibiotice.

5.3. Variabilitatea la bacterii

Bacteriile sunt supuse aceluiași legi ale eredității, unitare lumii vii, cu unele particularități dictate de organizarea materialului genetic. Astfel, în timpul diviziunilor succesive (în lipsa unui accident genetic) toți descendenții unei bacterii sunt identici între ei și identici cu celula din care provin. Aceasta este descendența verticală cu formare de “clone” de indivizi identici, stabilitatea fiind posibilă datorită cromozomului haploid cu set unic de gene.

Variabilitatea la bacterii, latură a geneticii care are implicații deosebite în medicina practică, poate fi explicată prin două procese fundamentale:

- variația fenotipică, care reprezintă schimbarea unor însușiri ale bacteriilor, ca adaptare la condițiile mediului înconjurător, fără să intervină vreo modificare în genomul bacterian și

- variația genotipică, ce rezultă prin modificarea genomului.

Variabilitatea la bacterii se produce prin: mutații, transfer de material genetic și transpoziție.

5.3.1. *Mutația*

Modificările spontane ale genomului se numesc mutații și constau din modificarea secvenței de nucleotide dintr-o genă. Ele pot fi punctiforme, inversii, inserții, deleții și mutații secundare.

Mutațiile punctiforme afectează un singur nucleotid în cadrul unei gene și sunt reversibile. Consecințele unei astfel de mutații pot fi:

- înlocuirea unui codon cu altul, ceea ce se va traduce prin înlocuirea unui aminoacid cu altul din structura unui polipeptid. Această mutație se numește “mutație cu sens greșit”,

- apariția unui codon nonsens. Mutația nonsens împiedică sinteza în continuare a unui polipeptid.

Insertia și deleția înseamnă adăugarea, respectiv pierderea a două până la sute sau chiar mii de nucleotide, procesul fiind ireversibil. Acest tip de mutație duce la modificarea importantă a secvenței de aminoacizi, fiind denumită “mutație cu schimbare de proiect”.

Mutațiile duc la apariția unor indivizi cu caractere noi, cum sunt rezistența la chimioterapice, structură antigenică modificată, pierderea unor receptori specifici pentru bacteriofagi, pierderea capacității de sinteză a unui metabolit etc.

Din punct de vedere medical interesează în mod deosebit mutația care stă la baza rezistenței antimicrobiene, care se poate produce dintr-o dată, adică “one-step”, sau în mai multe etape, “multi-step”.

Prin mutație “one-step” bacteria devine rezistentă brusc “peste noapte” la un antibiotic, pe când prin mecanism multi-step se produc mutații multiple, succesive, până ia naștere o mutantă rezistentă la concentrații ridicate de antibiotic. Astfel prima mutantă va fi puțin mai rezistentă decât tulpinile sălbatice din care provine, mutantă a doua mai rezistentă decât mutantă 1 etc.

Dat fiind faptul că mutațiile naturale sunt rare, este necesar un mijloc care să selecteze mutantă pentru ca aceasta să se transforme într-o populație bacteriană cu proprietăți noi.

Rata mutației poate fi crescută în mod considerabil prin agenți mutageni, ca, de pildă, raze X, UV, derivați acridinici, agenți alchilanți etc.

Mutațiile spontane sau induse pot duce la “pierderea” integrală a unui plasmid printr-o modificare ce produce deficiențe ale mecanismului de replicare, astfel încât plasmidele nu vor mai fi “moștenite” de celulele fiice.

5.3.2. *Transferul de material genetic*

Organismele superioare se reproduc sexuat. Materialul genetic a 2 indivizi de sex opus se transmite combinat urmașilor. Bacteriile se înmulțesc vegetativ prin diviziune directă, deci materialul genetic provine de la o singură celulă. Cu toate acestea există și la bacterii mecanisme care permit schimbul de material genetic de la o bacterie la alta. Dat fiind faptul că aceste mecanisme nu urmează legile sexuale ale transmiterii caracterelor ereditare, ele se numesc mecanisme parasexuale. Transmiterea materialului genetic de la celula donor la celula receptor este unidirecțională și se realizează prin transformare, transducție și conjugare.

5.3.3. Transformarea

Reprezintă transferul de material genetic de la o celulă donor la una receptor sub forma de ADN pur, eliberat fie prin liza celulei donor, fie prin extracție chimică. Acest proces a fost observat pentru prima oară de către Griffith, la pneumococi în 1928. ADN-ul pneumococilor virulenți, capabili să sintetizeze capsula, s-a transferat la mutante R, nevirulente, acestea din urmă dobândind capacitatea de a sintetiza capsula. Transformarea s-a pus în evidență ulterior la numeroase alte genuri (*Streptococcus*, *Haemophilus*, *Bacillus*, *Neisseria*, *Salmonella* etc.) și se petrece nu numai între tulpinile aceleiași specii, ci și între specii diferite.

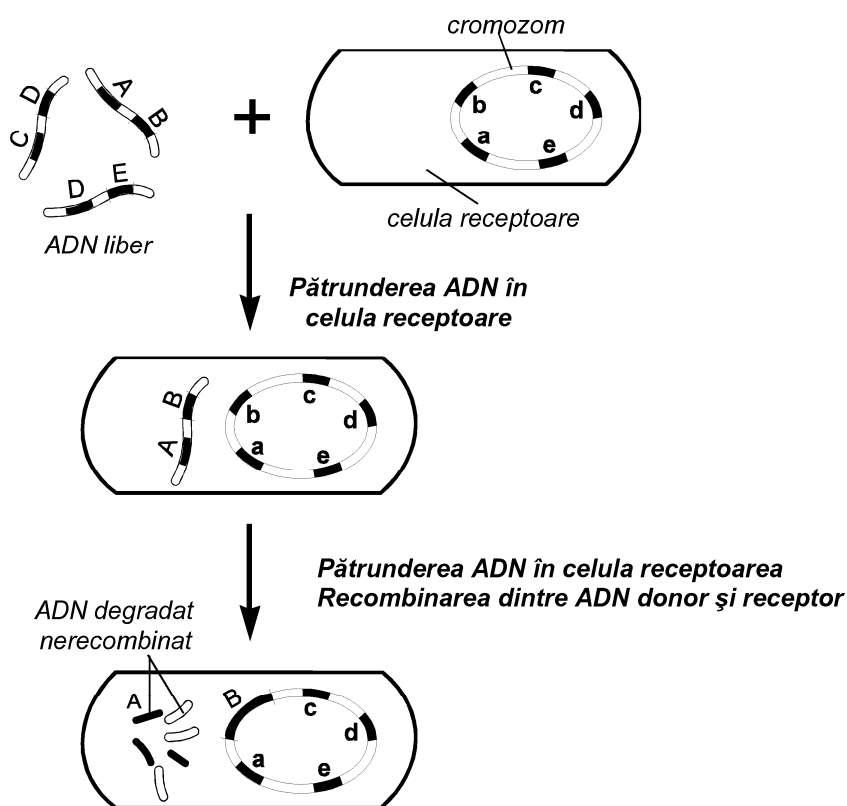


Figura 5.8. Transformarea (adaptată după Talaro, 2023)

Transformarea genetică este posibilă numai dacă bacteria receptoare se află în stare de competență, stare care permite înglobarea de ADN străin. Competența este o stare fiziologică temporară a bacteriei, care variază în funcție de specie și de faza de multiplicare în care se află bacteria. În timpul stării de competență se modifică structura peretelui celular, care devine mai poros, încărcat electropozitiv, favorizând legarea ADN-lui străin.

Transformarea depinde în egală măsură și de unele proprietăți ale ADN transformant, cum sunt structura dublu catenară și o dimensiune minimă a moleculei de 1×10^6 daltoni.

Cu toate că transformarea s-a descoperit experimental și se practică astăzi pe scară foarte largă în tehnicile de inginerie genetică, ea se petrece în mod natural în mediile în care trăiesc împreună multe specii bacteriene și unde procesul de liză a celulelor bacteriene este frecvent, ca de exemplu în colon. Aici se pun în libertate cantități mari de ADN care, dacă întâlnește celule bacteriene în stare de competență, va pătrunde și se va recombină cu genomul acestora, conferindu-le caractere noi.

Majoritatea bacteriilor nu sunt în mod natural capabile de transformare, dar experimental s-au dezvoltat metode de inducere artificială a stării de competență foarte utile ingineriei genetice.

5.3.3.1. *Transducția*

Transducția reprezintă un transfer de gene cromozomiale de la o celulă bacteriană la alta, mediat de bacteriofagi. Unii bacteriofagi sunt capabili să transfere orice genă bacteriană (transducție generalizată), iar alții numai anumite gene (transducția specializată).

Transducția generalizată este mediată de fagii virulenți, litici, care după pătrunderea în celula bacteriană se multiplică și determină liza celulei gazdă. În timpul lizei celulei bacteriene, cromozomul acesteia se fragmentează. Se poate întâmpla, ocazional, ca un fragment cu o dimensiune apropiată de cea a genomului fagic să se integreze în capsida bacteriofagului, în locul genomului fagic. Astfel de fagi sunt defectivi și nu se vor mai putea replica, dar pot pătrunde în alte celule bacteriene injectându-le ADN-ul, ce provine de fapt din genomul celulei donoare. ADN-ul se va integra în cromozomul celulei receptoare prin recombinare, conferindu-i acesteia caractere noi, ca, de exemplu, rezistența la antibiotice, proprietăți ce țin de patogenitatea bacteriei etc.

Transducția specializată este mediată de fagii temperați. După pătrunderea ADN-lui bacteriofagului temperat în celula bacteriană, acesta suferă inițial un proces de circularizare după care se inseră în cromozom prin recombinare sub forma de profag. Inserția în cromozom se face pe baza homologiei dintre 10 perechi de baze ale ADN fagic și bacterian. Profagul devine parte integrantă a cromozomului bacterian, se va replica o dată cu acesta și nu independent, deoarece este supus unui proces de represie din partea genomului gazdă.

Bacteriile care au integrate în cromozomul lor un profag sunt în stare de lizogenie. În anumite condiții, însă, are loc un proces de derepresie și genomul bacteriofagic părăsește cromozomul bacterian devenind din nou autonom. Când părăsește cromozomul bacterian poate detașa din acesta un fragment de ADN care va rămâne legat de genomul bacteriofagic. Acest bacteriofag nu se va putea înmulți, fiind defectiv, dar va putea intra în altă celulă integrându-se în cromozomul acesteia

tot sub formă de profag. Fragmentul provenit de la prima celulă bacteriană poate să codifice diferite caractere (rezistența la antibiotice, secreția unor enzime, toxine etc.), ce se vor manifesta fenotipic la noua bacterie gazdă.

Cel mai bine studiat exemplu de transducție specializată este cea mediată de fagul lambda și gena bacteriană ce codifică degradarea galactozei (lambda-gal).

Transducția specializată nu trebuie să se confunde cu conversia lizogenă. În acest caz caracterul nou al celulei bacteriene este codificat chiar de genomul bacteriofagului temperat. Fenomenul a fost descris pentru prima oară la *Corynebacterium diptheriae*, toxigenza fiind tributară prezenței unui fag temperat în cromozomul bacterian.

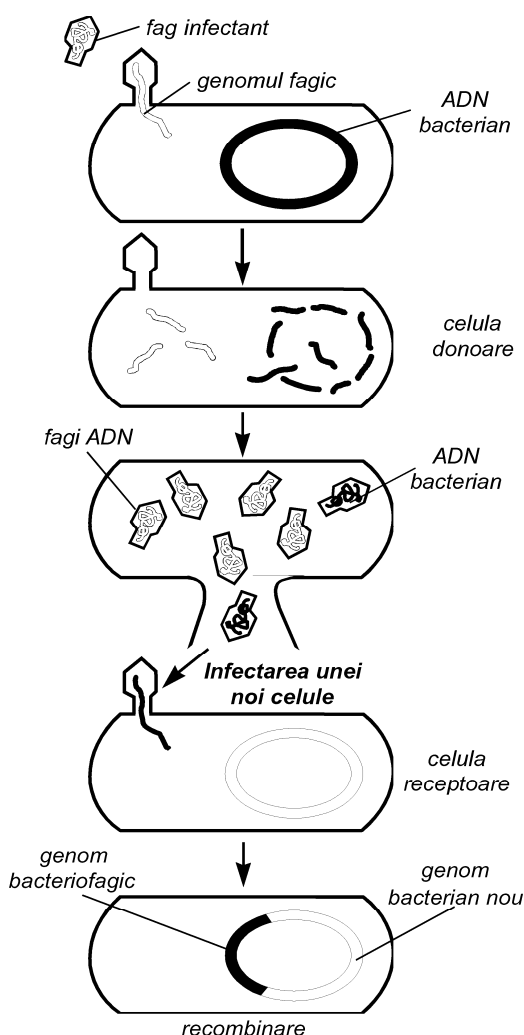


Figura 5.9. Transducția generalizată. (adaptată după Talaro, 2023).

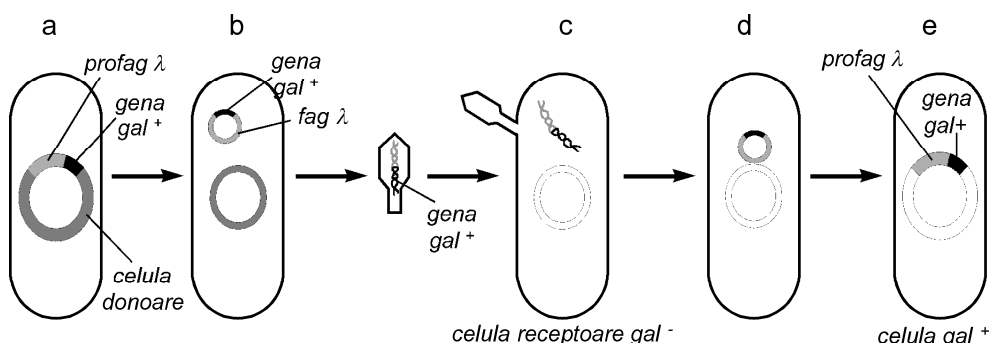


Figura 5.10. Transducția specializată (adaptată după Talaro, 2023).

Profagul λ se află în cromozom lângă gena gal^+ care codifică enzimele de catabolizare a lactozei (a). Fagul λ se circularizează la un moment dat și rupe din cromozom gena gal^+ (b). Fagul λ va infecta o altă celulă (c) și se va integra în cromozom transferând și gena gal^+

5.3.3.2. Conjugarea

Conjugarea este transferul de material genetic de la o bacterie donoare la una receptoare printr-un proces de împerechere, ce se realizează prin contactul direct dintre cele două celule. Prin conjugare se pot transmite plasmide, precum și gene cromozomiale (prin intermediul factorului F^+).

Conjugarea la bacilii gram negativi. Factorul F^+ poate fi situat într-un plasmid, favorizând transferul acestuia, sau în cromozomul bacterian, făcând posibil transferul unor gene cromozomiale de la o bacterie la alta. Celulele bacteriene care au factorul F^+ integrat în cromozom se numesc Hfr (high frequency of recombination), deoarece ele pot transfera material genetic cromozomial cu o frecvență mare, ceea ce duce la recombinarea unor gene din cromozomul bacteriei donoare cu material genetic al cromozomului celulei receptoare.

Transferul prin conjugare a plasmidelor este condiționat de prezența în plasmid a genelor de transfer *tra*, care sunt responsabile de sinteza sex-pilului și de transferul plasmidului.

Conjugarea începe prin sinteza sex-pilului care va adera de receptori specifici prezenți pe peretele celular al bacteriei receptoare. După formarea legăturii dintre celula donor și cea receptor are loc replicarea de transfer a plasmidului. O catenă parentală de ADN va rămâne în celula donor, iar a doua va trece în celula receptoare, pe tiparul lor sintetizându-se catene complementare.

Din punct de vedere medical importante sunt plasmidele conjugative de rezistență - plasmidele R.

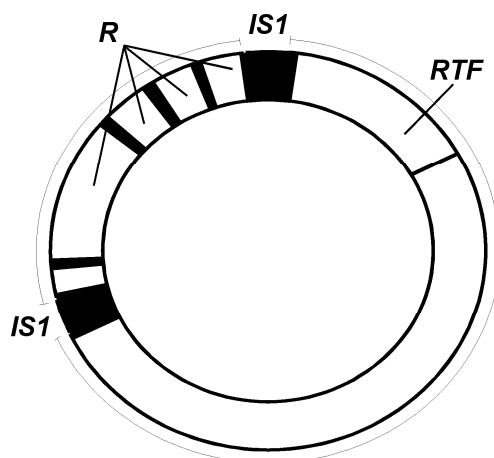


Figura 5.11. Plasmid de rezistență (adaptată după Carroll, 2023).

R = determinanți R care codifică rezistența la antibiotice

IS1 = fragmente de inserție

RTF = gene ce codifică replicarea și transferul plasmidului R

Dintre proprietățile plasmidelor de rezistență ale bacililor-gram negativi, 3 sunt de interes medical deosebit :

- frecvența transferării: frecvența transferului multor plasmide sălbatice pe receptori adecvați este relativ scăzută 10^{-4} / cel., și se datorează faptului că plasmidele tulpinilor sălbatice sunt reprimare, adică produc un represor care inhibă activitatea propriei gene de transfer. Dacă se incubează donorii și receptorii împreună mai multe ore, numărul de celule recombinante crește;

- spectrul de gazde: plasmidele transferabile R circulă între specii diferite. Acest transfer are loc și în laborator și în macroorganism. S-a descris astfel transferul de plasmide de la bacilul coli nepatogen la salmonele sau shigelle. Nu s-a observat însă transferul plasmidelor de la bacterii gram-negative la cele gram-pozitive;

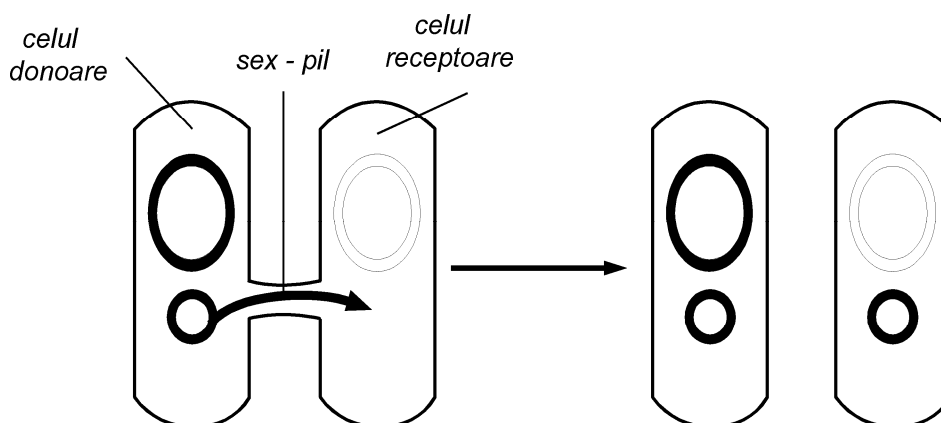


Figura 5.12. Transferul prin conjugare al plasmidelor (adaptată după Carroll, 2023).

- determinanții de rezistență “R”: caracteristici pentru plasmidele conjugative sunt determinanții de rezistență multipli. La tulpinile izolate din spitale s-au evidențiat plasmide ce au factori de rezistență față de toate antibioticele uzuale (ampicilina, cefalosporine, streptomicina, tetraciclina, cloramfenicol, kanamicina, gentamicina, sulfonamide).

Conjugarea la bacterii gram-pozitive.

S-au descris procese de împerechere și la bacteriile gram-pozitive ca, de pildă, la genurile *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Clostridium*, procesul bazându-se pe performanța celulei receptoare.

Celula receptoare produce un peptid cu moleculă mică (GM=1000 daltoni) care determină sinteza unor substanțe proteice de agregare de către celula donoare cu afinitate pentru unele substanțe adezive de pe suprafața receptorului. Se produce astfel o legătură strânsă între receptor și donor cu formarea unei punți intercelulare care permite transferul de material genetic.

5.3.3.3. *Transpoziția*

Transpoziția presupune integrarea într-un genom al unui element genetic transpozabil din aceeași moleculă de ADN sau din alta prezentă în aceeași celulă. Elementele genetice transpozabile sunt secvențele de inserție –IS, transpozonii și integronii.

Secvențele de IS au în jur de 1000 de baze și fac parte în mod normal din cromozom sau plasmide. Ele sunt prezente în mai multe copii și sunt flancate la cele 2 capete a aceleași nucleotide, dar în ordine inversată. Acestea înrămează secvența ce codifică proteine necesare procesului de transpoziție. IS nu conferă ele însăși un caracter nou celulei, dar pot produce după inserția lor modificări în expresia genelor adiacente inserării.

Transpozonii se împart după mecanismul de transpoziție în două clase, I și II.

Transpozonii de clasa I sau retrotranspozoni sunt transcriși inițial în ARN prin intermediul unei reverstranscriptaze. ARN-ul este recopiat într-un ADN care se va insera într-o altă poziție în materialul genetic al bacteriei. Reverstranscriptaza este codificată de transpozon.

Transpozonii de clasa II cuprind familia de transpozoni TnA care se translocă după modelul transpoziției replicative, adică prin reduplicarea Tn înainte de translocare. Tn original rămâne pe loc, iar copia se inseră în noul situs. La proces participă 2 enzime: transpozaza și rezolvaza.

Integronii sunt elemente transpozabile formate din ADN și care codifică o recombinază site-specifică precum și o regiune de recunoaștere care permite altor secvențe cu zone similare de recunoaștere să se integreze în integron prin recombinare. Elementele nou integrate se numesc casete. Integronul poate dobândi casete ce codifică multirezistența la antibiotice. Integrarea într-un plasmid a acestor integroni vor conferi plasmidului gene de rezistență la un număr mare de antibiotice din cele mai diferite clase.

Aplicații

Insertia oricărei gene între două elemente transpozabile face posibil transferul ei prin recombinare neomologă, în aceeași celulă pe o moleculă de ADN neînrudit structural.

Astfel, prin transpoziție se pot produce deleții, inversii, transpuneri de determinanți genetici de pe un plasmid pe altul sau chiar fuzionarea stabilă a unor repliconi compleți, de pildă a două plasmide.

Evoluția rezistenței la antibiotice a bacteriilor nu poate fi concepută astăzi fără fenomenul de transpoziție.

Studii moleculare au relevat posibilitatea ca genele de rezistență la antibiotice să fi apărut cu mult timp înainte, la microorganismele producătoare de antibiotice. Acești determinanți genetici au fost mobilizați și au pătruns prin mecanismele transferului genetic la bacteriile importante din punct de vedere clinic.

Mecanismele transpoziției sunt responsabile de formarea plasmidelor cu multirezistență, prin inserarea succesivă pe un plasmid a determinanților genetici de rezistență situați între două elemente transpozabile de pe alte plasmide.

Clonarea genelor este o formă deosebită de recombinare nelegitimă genetică *in vitro*. Astfel, plasmidele ușor transmisibile de la o bacterie la alta sunt folosite frecvent ca vectori pentru transferul și clonarea de material genetic de la o bacterie la alta sau între organisme foarte îndepărtate din punct de vedere filogenetic. Prin această tehnică se introduc în genomul bacterian gene care codifică **sinteza unor substanțe ca, de exemplu, interferoni, insulină, STH** etc., a căror obținere pe cale chimică ar fi fie imposibilă, fie foarte costisitoare.

Bacteria preferată a ingineriei genetice este *Escherichia coli*, care în mod natural nu este capabilă de transformare, dar căreia *in vitro* i s-au introdus în genom cei mai diverși determinanți genetici provenind de la organisme îndepărtate filogenetic, cum sunt omul și animalele.

Diagnosticul molecular reprezintă utilizarea probelor de acizi nucleici în diagnosticul **bolilor bolilor infecțioase** (dg COVID 19: evidențierea prin teste PCR a ARN viral de SARS –CoV-2), **neoplasmelor, bolilor ereditare**.

În microbiologie foarte importantă este **identificarea genelor de rezistență** cu ajutorul echipamentelor bazate de tehnici de biologie moleculară, permițând un tratament antibiotic ținut și rapid.

O altă aplicație constă în amprenta ADN, care permite **diferențierea indivizilor prin utilizarea unor fragmente minuscule de țesut sau probe de sânge**.

Terapia cu bacteriofagi reprezintă o altă aplicație valoroasă a geneticii bacteriene. Creșterea rezistenței bacteriilor la antibioticele utilizate în mod obișnuit creează nevoia de a căuta și dezvolta forme alternative de tratament.

Terapia fagică se potrivește perfect acestei tendințe. Fagii care infectează și ucid bacteriile în mod selectiv putând fi adesea singura opțiune terapeutică care salvează vieți. Legalizarea completă a acestei metode de tratament ar putea ajuta la rezolvarea problemei bolilor infecțioase multirezistente la scară globală.

6. CHIMIOTERAPICE ANTIINFEȚIOASE

În anul 1909 Paul Ehrlich, în căutarea “glontelui magic care să omoare microbul dar să nu lezeze organismul”, sintetizează salvarsanul, activ asupra tulpinilor de *Treponema pallidum* și a altor spirochete. Fleming descoperă în 1929 penicilina, secretată de mucegaiul *Penicillium notatum*, iar de atunci au fost descoperite nenumărate substanțe antimicrobiene, care au dus la o creștere spectaculoasă a ratei de supraviețuire după infecții. Din păcate însă, utilizarea antibioticelor în infecțiile bacteriene, a determinat în decurs de 50 de ani, apariția sub presiune selectivă a fenomenului de rezistență.

Ca urmare, producerea de antimicrobiene a devenit o industrie care, fiind în permanentă concurență cu apariția tulpinilor rezistente, caută produși noi față de care microorganismele să fie sensibile.

Introducerea unui nou antibiotic în practica medicală este evaluat la 200 milioane de dolari și parcurge mai multe etape care durează aproximativ 10 ani.

6.1. Clasificare

Substanțele antimicrobiene se clasifică după mai multe criterii, dintre care de importanță medicală sunt:

- ***Acțiunea bactericidă sau bacteriostatică asupra microorganismelor***

Un antibiotic bacteriostatic, care oprește doar înmulțirea bacteriilor, nu le va putea elimina din țesuturi fără intervenția factorilor rezistenței naturale și dobândite.

În absența acestor mecanisme, nici antibioticele bactericide nu sunt eficiente, deoarece într-o populație bacteriană există întotdeauna câteva tulpini cu rezistență fenotipică, așa-numite tulpini persistente (persister) care apar în culturile *in vitro* cu o frecvență de $1/10^6$ - $1/10^8$. După întreruperea antibioterapiei, aceste tulpini se vor înmulți și vor produce recidive.

Împărțirea antibioticelor în bacteriostatice și bactericide este artificială, deoarece acțiunea statică sau/și cidă este condiționată și de concentrația chimioterapicului, timpul de acțiune și specia bacteriană asupra căreia acționează.

- ***Spectrul de acțiune***

Spectrul de acțiune al unui antibiotic este reprezentat de totalitatea speciilor bacteriene sensibile la acel antibiotic.

Spectrul natural cuprinde toate speciile bacteriene sensibile la un chimioterapic în momentul introducerii sale în terapie.

Este foarte important ca medicului practician să cunoască spectrul natural al antibioticelor, deoarece atunci când nu există posibilitatea efectuării antibiogrammei

el va trebui să aleagă un antibiotic la care microorganismul este în mod natural sensibil. Prospectul care însoțește antibioticele indică medicului spectrul natural.

Spectrul actual al unui antibiotic cuprinde tulpinile microbiene sensibile la un anumit antibiotic, la un moment dat, într-o zonă limitată și depinde în mare măsură de antibioticele utilizate în zona respectivă. Spectrul actual este mai restrâns decât cel natural, deoarece în timpul scurs de la introducerea chimioterapicului în practică are loc apariția tulpinilor rezistente.

• *Mecanismul de acțiune*

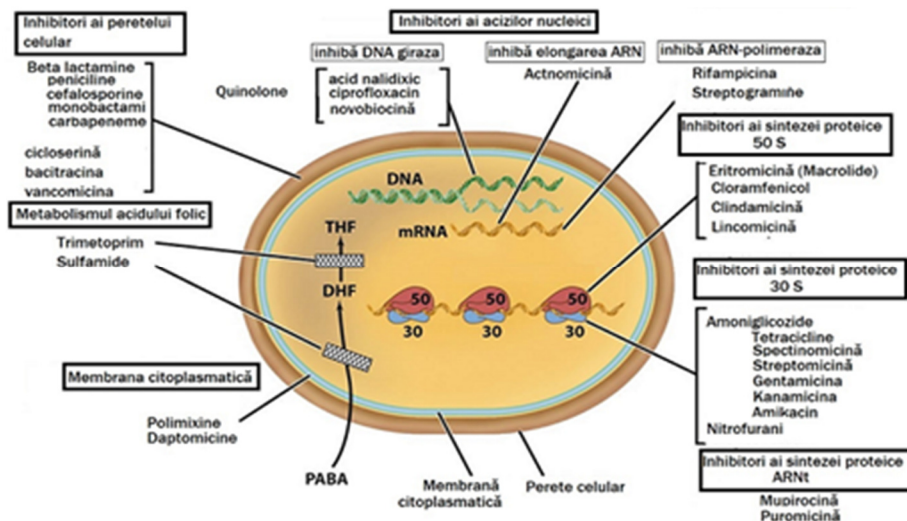


Figura 6.1. Mecanismul de acțiune al antibioticelor (adaptată după Murray, 2021)

6.2. Farmacocinetica

Terapia antibiotică poate fi eficientă numai dacă în focarul infecțios se realizează concentrații de antibiotic biologic active asupra germenilor patogeni.

Concentrația minimă inhibitorie (CMI) a unui antibiotic pentru o anumită tulpină bacteriană este cea mai mică concentrație care inhibă complet multiplicarea tulpinii respective.

Concentrația minimă bactericidă (CMB) a unui antibiotic pentru o tulpină este concentrația minimă care omoară tulpina. Cu cât CMI sau CMB sunt mai mici față de nivelul seric maxim pe care îl poate atinge un antibiotic, cu atât acesta este mai activ.

Majoritatea antibioticelor se administrează la intervale fixe de timp, în funcție de perioada de înjumătățire a antibioticului. În unele cazuri, timpul de înjumătățire este atât de scurt încât este necesară administrarea continuă a antibioticului prin perfuzie.

La administrarea intermitentă a unui antibiotic, concentrația plasmatică depinde de doză, de intervalul administrării, de absorbția și eliminarea antibioticului. Cu cât perioada de resorbție este mai lungă cu atât concentrația va fi mai mică. Prin eliminare se înțeleg procesele prin care se inactivează principiul activ al unui antibiotic sau se elimină din organism. De obicei eliminarea are loc prin filtrare glomerulară sau prin secreție tubulară. Mai rar, unele antibiotice se pot elimina prin intestin, după ce urmează un ciclu enterohepatic de retrorezorbție sau sunt metabolizate în ficat prin reacții de oxidare, reducere, hidroliză sau conjugare.

6.3. Efecte nedorite ale administrării agenților antimicrobieni

Cu toate că antibioticele au o acțiune selectivă asupra microbilor, ele pot avea efecte secundare nefavorabile asupra macroorganismului uneori chiar și în doze terapeutice. Acestea sunt:

- selecția microorganismelor rezistente: administrarea agentului antimicrobian duce la distrugerea germenilor sensibili și proliferarea celor rezistenți, care se vor multiplica, devenind dominanți, putând fi transmiși și altor indivizi; pentru prevenirea acestui efect, se recomandă administrarea simultană a mai multor agenți, deseori cu mod de acțiune diferit.
- efecte toxice propriu-zise se datorează supradozării relative sau absolute a antibioticului și apar mai ales la pacienți cu tulburări ale funcției renale sau hepatice, la gravide, la sugari, copii etc. Pentru a preveni apariția acestor efecte și a evita instalarea efectelor cumulative (de exemplu ototoxicitatea streptomisinei), este obligatorie stabilirea unei concentrații serice optime și urmărirea dozei totale de antibiotic administrată,
- reacțiile alergice reprezintă o problemă serioasă a chimioterapiei. Utilizarea frecventă a antibioticelor sub cele mai diverse forme (unguente, sprayuri etc.) crește posibilitatea de sensibilizare. Cea mai gravă formă de sensibilizare este cea la penicilină, deoarece poate produce șoc anafilactic cu evoluție letală în lipsa unei intervenții terapeutice prompte și competente,
- efectele biologice se referă la modificarea florei normale a organismului, factor de bază în rezistența naturală antiinfecțioasă. Distrugerea florei normale duce la înmulțirea compensatorie masivă a unor germeni rezistenți care vor produce infecții postantibiotice greu de tratat. De pildă, după tratamente intempestive cu antibiotice cu spectru larg, care distrug flora normală a cavității bucale, a tubului digestiv, precum și pe cea vaginală, se produc infecții, de tipul colitei pseudomembranoase produse de *Clostridium difficile* sau al vaginitei produse de fungi din genul *Candida*.

6.4. Rezistența bacteriilor la antibiotice

Se deosebesc două tipuri de rezistență a bacteriilor la antibiotice:

- rezistența naturală, care este un caracter de specie, determinat genetic, deci absolut, și
- rezistența dobândită, care apare la tulpinile unor specii natural sensibile la un anumit antibiotic. Ea este relativă, deoarece desemnează rezistența unei tulpini la concentrațiile de antibiotic utilizate în terapie.

Numărul tulpinilor cu rezistență dobândită este în continuă creștere, în apariția acestui fenomen esențiale fiind:

6.4.1. *Mecanismele rezistenței dobândite*

Rezistența la antibiotice se instalează prin mecanisme negenetice și genetice.

Mecanismele negenetice, de importanță mai redusă, constau în esență în:

- inactivitatea metabolică a celulei bacteriene. O serie de antibiotice acționează numai în faza de multiplicare a bacteriilor. Astfel, de pildă, micobacteriile supraviețuiesc în țesuturi ani de zile inactive din punct de vedere metabolic, fără a se înmulți, rezistând astfel la acțiunea antibioticelor bacteriostatice;
- lipsa țintei de atac pentru antibiotic. Formele L ale bacteriilor (cele care au pierdut peretele celular) sunt foarte rezistente la antibioticele care acționează asupra acestei structuri celulare (beta-lactamine).

Mecanismele genetice prin care o celulă bacteriană dobândește rezistența sunt cele ale variabilității bacteriene: mutația și adaosul de material genetic (transformare, transducție, conjugare și transpoziție).

O celulă bacteriană poate deveni rezistentă la un antibiotic printr-o singură mutație (one-step mutation). Astfel rezistența la streptomycină poate fi dobândită prin alterarea unei proteine ribozomale, iar schimbarea unui singur aminoacid din dehidropteroat-sintetază, enzimă necesară sintezei de acid folic, scade afinitatea bacteriei pentru sulfamide. Rezistența se poate instala și prin mutații succesive (multistep), ca, de exemplu, rezistența la penicilină a gonococului.

Mecanismul cel mai frecvent prin care se instalează rezistența la antibiotice este transferul plasmidelor de rezistență (sau plasmide R) de la o bacterie la alta. Plasmidele R pot conține determinanți genetici care codifică rezistența la unul sau mai multe antibiotice ce aparțin unor familii diferite, deci cu structură diferită.

Plasmidele pot trece barierele de specie, astfel că aceleași gene de rezistență R se regăsesc la bacterii ce aparțin unor specii diferite. De exemplu, plasmidul TEM-1, cel mai frecvent plasmid ce codifică sinteza beta-lactamazei la enterobacterii, este regăsit la *Neisseria gonorrhoeae* (gonococ) și *H. influenzae*.

Numărul factorilor R de pe un plasmid de rezistență se poate înmulți prin intermediul transpozonilor ("gene săltărețe") deoarece aceștia se pot integra atât în

cromozom precum și în plasmide. Unii “supergermeni” izolați în spitale pot avea până la 15 factori de rezistență R. Stabilitatea lor este mai mare dacă se integrează în cromozom, diseminarea lor depinzând deci de rapiditatea multiplicării bacteriene. Translocarea transpozonilor este posibilă din cromozom în plasmide și chiar de la plasmidele netransmisibile la cele transmisibile, ceea ce permite o diseminare foarte rapidă a genelor de rezistență printre bacterii.

6.4.2. **Suportul biochimic al rezistenței**

Caracterele noi pe care le dobândește celula bacteriană rezistentă, mecanismele biochimice prin care eludează acțiunea antibioticului sunt în principiu următoarele:

- transformarea țintelor moleculare sensibile în ținte rezistente. Acest mecanism presupune o modificare la nivelul structurii de care se atașează antibioticul, astfel încât accesul antibioticului să nu mai aibă loc. Un asemenea exemplu îl constituie PBP-urile pentru beta-lactamine, ribozomii pentru macrolide sau modificarea unei subunități a ADN-girazei (locul de acțiune al quinolonelor), care asigură rezistența la aceste antibiotice.
- scăderea concentrației antibioticului în celula bacteriană se realizează prin
 - scăderea permeabilității peretelui celular și a membranei citoplasmice, sinteza de către bacterie a unui număr crescut de situsuri de combinare cu antibioticul, sinteza unor metaboliți antagoniști, folosirea unei căi metabolice care ocolește substanța inhibată de antibiotic și un eflux activ de antibiotic,
 - realizarea unui eflux activ prin proteine transportoare, situate în membrana citoplasmică, ce realizează un eflux superior influxului de antibiotic (asigură rezistența enterobacteriilor la tetraciline și quinolone),
 - impermeabilitatea (descrisă în cazul tulpinilor de *P.aeruginosa* carbapenem-rezistente),
- inactivarea chimioterapicului prin producerea unor enzime inhibitoare. Astfel de enzime sunt de pildă, beta-lactamazele care hidrolizează inelul beta-lactamic al penicilinelor și cefalosporinelor, aminoglicozidazele cu acțiune pe aminoglicozide (streptomycină, gentamicină etc.), acetiltransferaza care inactivează cloramfenicolul etc. Secreția lor este codificată în general de plasmide R.

6.4.3. **Transformarea unei tulpini într-o populație rezistentă**

Într-o populație de bacterii sensibile există întotdeauna un număr redus de tulpini rezistente. Înlocuirea populației sensibile cu una rezistentă se realizează prin selecție. De pildă, dacă intestinul gros este populat de *E.coli* sensibil la tetraciclină și în populația respectivă există o singură tulpină rezistentă la tetraciclină,

administrarea acestui antibiotic va elimina întreaga populație, cu excepția tulpinii respective. Aceasta, nemaifiind supusă competiției, se va înmulți în mod compensator și va înlocui populația dispărută.

Tulpinile rezistente se pot transmite de la purtătorul tulpinii la un alt organism prin contact direct. Purtătorii cei mai frecvenți de tulpini cu multirezistență fac parte din personalul medical din spitale. Datorită utilizării antibioticelor se formează cantități mari de aerosoli încărcăți cu aceste substanțe, pe care personalul medical le inhalează zilnic. În acest fel tulpinile sensibile de *Staphylococcus aureus*, de exemplu, din faringele și vestibulul nazal al unei persoane vor dispărea, dar vor persista cele câteva tulpini rezistente ce vor repopula faringele.

Germenii multi- drog rezistenți (MDR) sau supergemenii sunt microorganisme (în principal bacterii) care au devenit rezistente la mai multe clase de agenți antimicrobieni. Din această categorie fac parte:

- tulpinile de *S.aureus* metilino-rezistent (MRSA), *S.epidermidis* metilino-rezistent (MRSE), rezistente la numeroși agenți antistafilococici; tratamentul infecțiilor produse de acești germeni poate fi făcut cu vancomicină, sau cu unul din agenții nou introduși în terapie (Quinopristin/Dalfopristin, Linezolid) ; tulpinile numite VISA (*S.aureus* intermediar rezistent la vancomicină) au dezvoltat rezistență la dozele uzuale de vancomicină, necesitând doze mult mai mari în terapie
- tulpinile VRE (*Enterococcus* rezistent la vancomicină) – rezistente la majoritatea agenților antimicrobieni, incluzând vancomicina, sunt cauză frecventă a infecțiilor nosocomiale ale tractului urinar
- tulpini multirezistente de *M. tuberculosis* (MDR-TB), sunt considerate a fi cauze frecvente ale deceselor în lume
- tulpini MDR de Gram negative (*Enterobacterales*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., etc.)
- tulpini de *S.pneumoniae* și *H. influenzae* rezistente la beta-lactamine, devenite apoi MDR.

6.5. Principalele clase de agenți terapeutici antibacterieni

6.5.1. *Inhibitori ai sintezei peretelui celular*

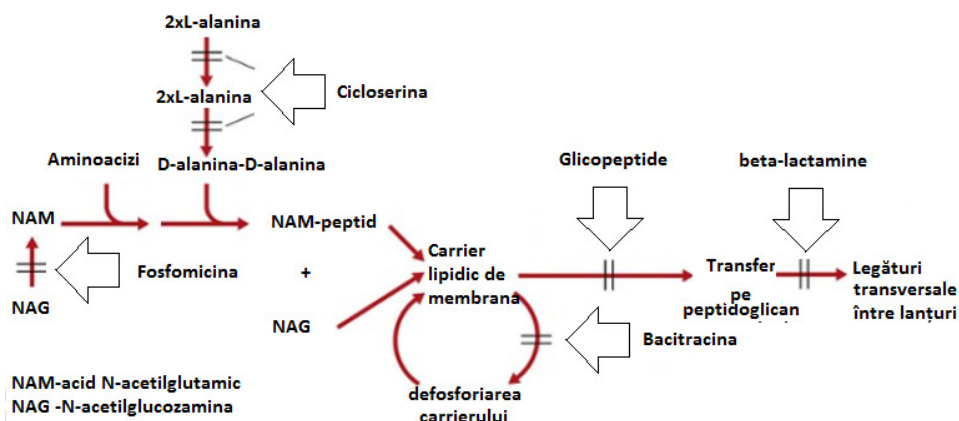


Figura 6.2. Nivelul la care acționează inhibitorii sintezei peretelui celular (adaptată după Carroll, 2023)

6.5.1.1. *Beta-lactaminele*

Structură. Beta-lactaminele reprezintă un grup mare de antibiotice, care cuprinde penicilinele, cefalosporinele și alte antibiotice care au în structura lor inelul beta-lactamic.

Mecanism de acțiune. Beta-lactaminele inhibă sinteza peretelui celular prin legarea lor de enzimele care intervin în faza finală a acestui proces (PBPs - penicillin binding proteins).

Inhibiția acestor enzime împiedică legarea transversală a lanțurilor de polizaharide cu acumularea consecutivă a subunităților de mureină. Acestea, la rândul lor, activează un sistem enzimatic autolitic care va duce la liza celulei bacteriene.

Toxicitatea. Beta-lactaminele sunt netoxice, dar produc frecvent alergii. Astfel, administrarea penicilinei la pacienți sensibilizați duce la declanșarea fenomenelor alergice de tip I, a căror intensitate poate merge până la șoc anafilactic cu edem glotic, bradicardie și moarte. Este cu desăvârșire contraindicată administrarea penicilinei în condiții ambulatorii la persoane la care nu s-a testat sensibilitatea la penicilină sau interpretarea testului nu este sigură, deoarece în cazul declanșării șocului anafilactic, este necesară o intervenție promptă, calificată care, în general, nu este posibilă decât în condiții oferite de spital.

S-a remarcat de asemenea un efect neurotoxic la administrarea unor doze foarte mari de beta-lactamine.

Rezistența bacteriilor la beta-lactamine. Principalul mecanism prin care se instalează rezistența la beta-lactamine este secreția de beta-lactamaze, care vor inactiva antibioticul înainte de legarea sa de peretele bacterian. Genele care codifică sinteza acestor enzime pot fi prezente atât în cromozom cât și în plasmide. Există peste 200 beta-lactamaze diferite, unele sunt specifice pentru peniciline (penicilinaze), cefalosporine (cefalosporinaze), sau carbapeneme (carbapenemaze), în timp ce altele au un spectru larg de activitate, inclusiv unele capabile să inactiveze majoritatea antibioticelor β -lactamice. Beta-lactamazele sunt împărțite în patru clase, de la A la D.

- clasa A este detectată la o varietate largă de bacterii: *Pseudomonas* și *Enterobacterales*, și este reprezentată de:
 - penicilinaze SHV și TEM,
 - β -lactamaze cu spectru extins (BLSE) sunt β -lactamaze cu activitate împotriva tuturor penicinelor și cefalosporinelor (inclusive cele cu spectru larg), rezultate în urma unor mutații simple punctiforme ale genelor care codifică aceste enzime,
 - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemaza (KPC): asigură rezistență la toate β -lactaminele și poate fi identificată doar prin metode moleculare de detectare a genelor de rezistență.
- Carbapenemazele din clasa B sunt reprezentate de metallo- β -lactamaze (necesită zinc pentru a fi active) și sunt larg distribuite în bacteriile gram-negative; nu pot fi detectate eficient prin metodele tradiționale de testare a susceptibilității.
 - cea mai frecvent întâlnită: New Delhi metallo- β -lactamaza [NDM]-după locul de origine
 - organismele care le produc sunt rezistente la majoritatea antibioticelor β -lactamice.
- ⊖ Carbapenemazele din clasa D au fost descrise în principal la *Acinetobacter* și codifică rezistența la toate antibioticele β -lactamice;

Alte mecanisme prin care bacteriile devin rezistente la beta-lactamine sunt scăderea permeabilității învelișurilor bacteriene și modificarea țintei antibioticului în așa fel încât acesta să nu se mai poată lega de structurile bacteriene respective. Mecanismul este foarte important, deoarece modificarea proteinelor de care se leagă beta-lactaminele de peretele celular (PBP) conferă tulpinii respective rezistență la toate beta-lactaminele. Acest tip de rezistență se întâlnește la tulpinile de stafilococi din spital, deci cu mare potențial nosocomial. Depistarea acestor stafilococi se face prin testarea sensibilității la meticilină, deoarece rezistență la meticilină (MRSA) semnifică rezistență la toate beta-lactaminele.

Penicilinele sunt produse de mucegaiul *Penicillium notatum* și *Penicillium chrysogenum* având în structura lor un nucleu comun, acidul 5-aminopenicilanic. Prin înlocuirea sau adaosul unor radicali se obțin penicilinele semisintetice cu spectru mai larg și stabile față de penicilinaze.

Peniciline naturale: Benzyl penicilina, Penicilina G potasică, sodică, Procain Penicilina (Efitard), Benzantin penicilina (Moldamin, Retarpen) administrate parenteral și Ospen cu administrare orală.

Spectru de acțiune:

- coci și bacilli gram pozitivi: stafilococi, streptococi, enterococi, bacilli din genul *Bacillus*
- coci gram negativ: gonococ, meningococ
- germeni anaerobi (deasupra diafragmului): *Clostridium*, *Bacteroides*, *Actinomyces*
- spirochete: *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*

Penicilinele naturale au avut un impact enorm asupra tratamentul infecțiilor, dar în timp au dovedit unele dezavantaje cum sunt:

- administrate oral sunt inactivate sub acțiunea sucului gastric
- sensibilitate la penicilinaze
- lipsa de activitate asupra bacililor gram negativi

Aceste dezavantaje au fost corectate de *Penicilinele semisintetice*. Dintre acestea menționăm:

- peniciline rezistente la penicilază – Oxacilina, Meticilina. Nafcilina. Acestea au un spectru îngust ce cuprinde numai coci gram pozitivi: stafilococi, streptococi;
- aminopeniciline: Ampicilină (administrare orală, intravenoasă, intramusculară) amoxicilină (administrare orală). Spectrul de acțiune cuprinde:
 - bacterii gram-pozitive: stafilococi, streptococi, enterococi, listerii, bacilul cărbunos, etc.
 - bacterii gram-negative: enterobacterii
- peniciline cu spectru larg:
 - carboxypeniciline (Carbenicillină, Ticarcillină administrare orală, intravenoasă). Spectrul cuprinde:
 - bacterii gram-negative: enterobacterii, bacilul piocianic, bacterii anaerobe
 - ureidopeniciline (Piperacilină, Mezlocilină). Spectrul cuprinde
 - bacterii gram-pozitive: streptococi viridans, enterococi
 - bacterii gram-negative: enterobacterii, bacil piocianic
 - germeni anaerobi

Inhibitori ai beta-lactamazelor: cresc activitatea antibacteriană a penicinelor, doar atunci când rezistența bacteriană este rezultat al producerii de beta-lactamaze. Dintre inhibitorii beta - lactamazelor menționăm:

- acidul clavulanic
 - utilizat cu amoxicilină = Augmentin, Amoksiklav
 - utilizat cu ticarcilină = Timentin

- sulbactam
 - utilizat cu ampicilină = Unasyn
- tazobactam
 - utilizat cu piperacilină = Tazocin, Zosyn

Cefalosporine. Cefalosporinele sunt antibiotice beta-lactamice, ce au ca parte activă acidul 7-amino-cefalosporanic și care se extrag din mucegaiul *Cephalosporium acremonium*.

Cefalosporinele se clasifică în mai multe generații, ceea ce le deosebește fiind spectrul de acțiune. Această împărțire este arbitrară pentru că există o diferență în ceea ce privește spectrul lor chiar în cadrul aceleiași generații.

Ele au același mecanism de acțiune ca și penicilinele, având, însă, un spectru mai larg, o rezistență mai bună față de acțiunea beta-lactamazelor și proprietăți farmacokinetice superioare. Majoritatea cefalosporinelor sunt cu administrare parenterală însă au apărut și preparate cu administrare orală. Toate cefalosporinele traversează placenta. Bariera hemato-encefalică o traversează numai cefalosporinele de generația a 3-a și a 4-a fiind opțiunea terapeutică la copiii cu meningită cu *Haemophilus influenzae*. Eliminarea cefalosporinelor se face pe cale renală, prin filtrare glomerulară și secreție tubulară. Excepție face Ceftriaxona, care se elimină pe cale biliară, aspect important la pacienții cu insuficiență renală.

Tabelul 6.1. Clasificarea cefalosporinelor

Generația I cu spectru îngust (exemple)	Generația II cu spectru largit (exemple)	Cefamicine cu spectru largit (exemple)	Generația III cu spectru larg (exemple)	Generația IV cu spectru extins (exemple)	Generația V cu spectru extins inclusiv MRSA (exemple)	Cefalosporine cu siderofori (exemple)
Cefalexin, Cefalotin, Cefazolin, Cephapirin, Cefradin	Cefaclor, Cefuroxim	Cefotetan, Cefoxitin	Cefixim, Cefotaxim, Ceftriaxon, Ceftazidim	Cefepime Cefpirom	Ceftobiprol Ceftaroline	Cefiderocol

Spectrul de acțiune. Se poate spune, în general, că fiecare nouă generație este mai eficientă decât precedenta asupra bacililor gram negativi.

Cefalosporinele de primă generație (cu spectru îngust) sunt active asupra cociilor gram pozitivi (stafilococi, streptococi) cu excepția stafilococilor meticilino-rezistenți și a enterococilor. Activitatea lor pe flora gram negativă este modestă. Se administrează în infecții ale pielii sau profilactic înainte de intervenții chirurgicale.

Cefalosporinele de generația a doua (cu spectru lărgit) Sunt mai puțin active pe cocci gram pozitivi, dar active pe bacilii gram negativi ca, de pildă, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus* dar NU pe *Pseudomonas aeruginosa*. Se administrează mai ales în infecții de tract respirator superior și inferior, sinuzite, otite și în chirurgia colorectală fiind active pe bacilii gram negativi anaerobi (*Bacteroides*).

Cefamicinele au o activitate similară cu cefalosporinele cu spectru lărgit, dar sunt mai puțin susceptibile la β -lactamaze.

Cefalosporinele de generația a treia au un spectru larg care cuprinde bacterii gram pozitive și gram negative. Cele de *generația a patra* au un spectru și mai extins, inclusive pe Gram negativi secretori de cefalosporinaze, iar *generația a cincea*, inclusiv pe MRSA.

Cefiderocol este o cefalosporina nouă, care nu se încadrează oficial în niciuna dintre cele 5 generații tradiționale, dar care depășește spectrul obișnuit al generațiilor clasice, prin asocierea cu un siderofor, care are o afinitate mare pe ionii de Fe, strategie exploatată pentru a livra antibioticul direct în celula bacteriană, sporindu-i eficiența și pătrunderea chiar și în interiorul bacteriilor rezistente.

Cefalosporinele de generația a patra au spectru extins, cu acțiune asupra cocilor gram pozitivi asemănătoare cu cea din generația întâi și asupra bacteriilor gram negative (inclusiv *Pseudomonas aeruginosa*) fiind totodată mai rezistente la acțiunea BLSE. Se administrează în infecțiile asemănătoare cu cefalosporinele de generația a treia.

Ceftobiprolul, reprezintă o cefalosporină nouă, *de generația a cincea*, cu spectru extins, recent introdusă în terapie, cu o puternică activitate bactericidă mai ales asupra: tulpinilor de MRSA, *S.pneumoniae* rezistent la penicilină, *Pseudomonas aeruginosa*. Calea de administrare este intravenoasă, dar ar putea fi disponibil și sub formă orală.

Cefalosporinele cu spectru extins oferă avantajul unei stabilități crescute la β -lactamaze. Din păcate, bacteriile gram-negative au dezvoltat rapid rezistență la majoritatea cefalosporinelor și cefamicinelor (în principal prin producție de β -lactamază), ceea ce a compromis semnificativ utilizarea acestor agenți.

Alte clase de β -lactamine: *Carbapenemele* (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) sunt antibiotice cu spectru larg, active împotriva majorității bacteriilor gram-pozitive și gram-negative aerobe și anaerobe. Excepție fac: MRSA, *Enterococcus faecium* și anumite specii de bacili gram-negativi (*Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, unele *Pseudomonas*).

De asemenea, noile combinații de carbapeneme cu inhibitori (imipenem relebactam, meropenem vaborbactam), pot fi luate în considerare ca opțiuni terapeutice pentru bacteriile Gram negative extensiv rezistente (XDR)

Monobactamii (aztreonam) sunt antibiotice cu spectru îngust, active doar împotriva bacteriilor aerobe gram-negative. Bacteriile anaerobe și cele gram-pozitive sunt rezistente la monobactami. Aztreonam avibactam este o combinație de

monobactami cu inhibitori, recent introdusă, care se dovedește a fi de asemenea o opțiune terapeutică utilă pentru infecțiile cauzate de bacterii gram negative carbapenem rezistente producătoare de metallo- β -lactamaze (MBL).

6.5.1.2. Glicopeptidele

Sunt polipeptide cu moleculă mare, fiind reprezentate de vancomicină, teicoplanină și daptomicină și se obțin din *Streptomyces orientalis*. Au un spectru de acțiune îngust fiind active numai asupra bacteriilor gram-pozitive.

Rezistența bacteriilor la glicopeptide se transmite prin intermediul plasmidelor conjugative și este destul de rară. S-au semnalat tulpini rezistente de enterococi, listerii, leuconostoc etc.

Rezistența intrinsecă se întâlnește la unele specii de enterococi (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*). Pe de altă parte, *E. faecium* și *E. faecalis* au dobândit rezistență la vancomicină. Genele care conferă această rezistență (în principal vanA și vanB), sunt adesea localizate pe plasmide și au compromis semnificativ utilitatea vancomicinei în tratamentul infecțiilor cu enterococi.

Vancomicina se administrează în general parenteral. Mecanism de acțiune:

- interferează elongația peptidoglicanului, fiind bactericide în faza de multiplicare a bacteriilor,
- afectarea permeabilității membranei citoplasmatică,
- afectarea sintezei de ARN bacterian.

Spectrul de acțiune este îngust, fiind activă pe majoritatea bacteriilor gram pozitive:

- tulpinile de *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile*, *Streptococcus viridians* sunt foarte sensibile,
- tulpinile de *Staphylococcus aureus* și *Staphylococcus epidermidis*, sunt în majoritate sensibile, dar vancomicina acționează inclusiv pe tulpinile MRSA,
- tulpinile de streptococi anaerobi sau microaerofili, bacilul difteric, bacilul cărbunos,
- *Enterococcus faecalis* este inhibat de niveluri serice de vancomicină obținute cu doze uzuale; dar multe tulpini de enterococi sunt rezistente la vancomicină. Rezistența este dată de plasmidele de rezistență ce poartă o genă *VanA* ce codifică o proteină cu structură modificată la nivelul membranei citoplasmatică.

Bacteriile gram negative sunt rezistente în mod natural la vancomicină, deoarece acestea au molecula prea mare pentru a putea pătrunde prin membrana externă a peretelui celular.

Administrarea lor este indicată în infecțiile produse de bacterii gram-pozitive rezistente la beta-lactamine, precum și la pacienții alergici la peniciline. Sunt indicate în:

- infecții stafilococice severe: endocardite, septicemii, pneumonii, meningite, determinate de tulpini metilicilino-rezistente sau survenite la bolnavii alergici la beta- lactamine,
- endocardita cu: *S. epidermidis* pe cord protezat, (când vancomicina se asociază cu rifampicina și un aminoglicozid), *Enterococcus faecalis* (se indică asocierea cu un aminoglicozid),
- colita pseudomembranoasă cu *Clostridium difficile* (se administrează pe cale orală timp de 5-7 zile).

Teicoplanina este un antibiotic macromolecular cu structură chimică complexă glicopeptidică apropiată de cea a vancomicinei.

Spectru de acțiune. Este bactericid asupra bacteriilor gram pozitive cum sunt *S.pneumoniae*, *S. pyogenes* și alți streptococi, *Enterococcus faecalis*, *S. epidermidis*, *S.aureus* (tulpini MSSA și MRSA), *Corynebacterium J.K.*, *Listeria*, *Clostridium*, *Propionibacterium acnes* și de 2-3 ori mai activă decât vancomicina.

Indicații terapeutice:

- infecții ale pielii și țesuturilor moi, tractului urinar, tractului respirator inferior, oaselor și articulațiilor, septicemii, endocardite și peritonite în conexiune cu dializa peritoneală continuă,
- infecții potențial severe cu germeni gram pozitivi (stafilococice) la care terapia cu peniciline și cefalosporine a eșuat,
- profilaxia antimicrobiană în chirurgia ortopedică cu risc de infecție cu germeni gram pozitivi.

Oritavancinul – este un glicopeptid, un derivat semisintetic de vancomicină. Acoperă spectrul bacteriilor gram pozitive, incluzând tulpinile de MRSA. Se administrează intravenos, timpul de înjumătățire fiind foarte lung. Este eficient în infecțiile tegumentare, ale țesuturilor moi, precum și în bacteriemii/septicemii, inclusiv în cele produse de enterococi vancomicino-rezistenți.

Telavancinul. Este un derivat de vancomicină, aparținând tot clasei lipoglicopeptidelor, cu mecanism dublu de acțiune, atât prin inhibarea sintezei peretelui celular, cât și prin efect direct asupra funcțiilor membranei bacteriene. Posedă un timp de înjumătățire relativ lung. Se studiază administrarea lui în pneumonii nosocomiale, precum și în infecții tegumentare sau ale țesuturilor moi.

Dalbavancinul - face parte din cea de-a 2-a generație de lipoglicopeptide, fiind un derivat de teicoplanină. Are efecte bactericide prin inhibarea sintezei peretelui celular. Este un preparat cu timp de înjumătățire extraordinar de lung (8,5 zile), administrându-se într-o singură doză săptămânal. Se elimină pe cale renală și non-renală, iar efectele secundare predominante sunt de tip gastrointestinal. Este eficient în infecțiile tegumentare, ale țesuturilor moi, precum și în bacteriemii/septicemiile post-cateterizare centrală sau periferică.

Daptomicina. Este un antibiotic înrudit clinic cu glicopeptidele. Inhibă sinteza peretelui bacterian, având efect bactericid. Este indicat în infecții stafilococice și

enterococice. Unele tulpini de enterococi pot fi rezistente. Se elimină în proporție de 50% pe cale renală. La concentrații mari are efect oto-și nefrotoxic important.

Glicopeptidele sunt în general alergene, nefrotoxice (tranzitoriu și reversibil), ototoxice (cu pierderea definitivă a auzului la niveluri serice mari). Pot produce efecte la locul de administrare cum sunt eritemul, durerea, abcesul și tromboflebitele.

6.5.1.3. *Bacitracina*

Bacitracina este un antibiotic cu structura polipeptidică care din cauza toxicității ridicate se utilizează doar în aplicații locale în infecțiile cutanate. Este activă numai pe bacteriile gram-pozitive prin mecanisme multiple: împiedică sinteza peretelui celular prin inhibiția unei enzime ce transportă precursorii peptidoglicanului, alterează membrana celulară și perturbă transcripția ARN.

6.5.1.4. *Isoniazida, cicloserina și etionamida*

Aceste chimioterapice se utilizează în tratamentul tuberculozei. Cicloserina inhibă două enzime care catalizează sinteza peretelui celular, iar etionamida și izoniazida interferează multiplicarea micobacteriilor la mai multe nivele. Rezistența se instalează prin scăderea permeabilității peretelui celular și modificarea moleculelor țintă.

Cycloserina este eficientă asupra bacilului tuberculos și asupra unor mycobacterii atipice. Ea se asociază în mod obligatoriu cu alte chimioterapice antituberculoase.

Isoniazida are efect bactericid atât extra cât și intracelular și trece de bariera hemato-encefalică. Dezavantajul este instalarea rapidă a rezistenței față de acest chimioterapic și efectele secundare cum sunt reacțiile alergice, hepato și neurotoxicitatea.

Etionamida este un tuberculostatic cu indicații în formele acute și grave de tuberculoză rezistentă la tratament.

6.5.2. ***Agenți tensioactivi ce lezează membrane citoplasmatică***

Polimixinele. Polimixina B și colistinul (polimixina E) sunt antibiotice cu o structură ciclică polipeptidică cu acțiune bactericidă și asupra bacteriilor în fază de latență.

Mecanism de acțiune: Grupările amino libere acționează asupra membranei celulare asemănător detergenților cationici, distrugând structurile fosfolipidice ale acesteia.

Sunt active numai pe bacilii și cocobacilii aerobi gram-negativi (inclusiv pe *Pseudomonas*) cu excepția speciilor de *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*. Germenii gram-pozitivi sunt rezistenți.

Datorită nefrotoxicității crescute, utilizarea sistemică a fost abandonată în multe țări, prescrierea colistinului fiind justificată doar în cazul tulpinilor multirezistente (MDR) sau extensiv rezistente (XDR) și numai în lipsa altor antibiotice cu acțiune similară.

Se administrează local, în otite externe, infecții oculare și cutanate. La pacienții cu mucoviscidoză, administrarea de polimixină sub formă de inhalații poate amâna colonizarea pulmonară cu *Pseudomonas aeruginosa*. Nu se asociază cu aminoglicozidele (efect aditiv).

Din păcate, rezistența la colistin devine din ce în ce mai răspândită, ducând la apariția unor microorganisme rezistente la aproape toate antibioticele (XDR).

6.5.3. *Inhibitori ai sintezei proteice*

6.5.3.1. *Aminoglicozidele*

Aminoglicozidele se extrag din speciile *Micromonospora* și *Streptomyces*. Ele conțin în molecula lor streptidină sau 2-dezoxistreptidină. Prin adăugarea unor radicali diferiți se obțin preparate semisintetice.

Aminoglicozide se clasifică în 3 generații:

- generația I cuprinde aminoglicozide de biosinteză cum sunt: streptomicina, neomicina, kanamicina, tobramicina, spectinomicina produse de *Streptomyces* spp.
- generația II: cuprinde aminoglicozide de biosinteză cum sunt: gentamicina, tobramicina, sisomicina produse de *Micromonospora* spp.
- generația III cuprinde aminoglicozide de semisinteză cum sunt amikacina, netilmicina etc.

Mecanism de acțiune. Aminoglicozidele sunt bactericide prin blocarea legării formylmethionyl-tRNA de ribozomi, împiedicând practic inițierea sintezei lanțurilor polipeptidice și determină, de asemenea, o decodificare incorectă a informației de pe ARNm, prin legarea lor ireversibilă de ribozomi.

Spectrul de acțiune cuprinde mai ales:

- *Francisella tularensis* – streptomicina, gentamicina
- bacili gram-negativi (inclusiv *Pseudomonas*, cu excepția Kanamicinei), dar și unele bacterii gram-pozitive (*Staphylococcus* spp.).
- *Neisseria gonorrhoeae* rezistent la penicilină. Uretritele gonococice se tratează cu spectinomicina, aminoglicozid cu spectru foarte îngust, activă numai pe gonococ.

Mycobacterium tuberculosis. Streptomicina este antibioticul de prima linie în tratamentul tuberculozei. Kanamicina și amikacina sunt antituberculoase din linia a doua, utilizate doar pentru tratamentul tuberculozei rezistente la medicamentele din prima linie. Toate aminoglicozidele sunt active față de bacilii tuberculoși, dar din cauza toxicității unui tratament îndelungat se utilizează doar streptomicina.

- *Enterococcus* este natural rezistent la aminoglicozide (rezistență de nivel scăzut) datorită unui transport inefficient al acestor antibiotice prin membrana citoplasmatică. Pentru tratamentul infecțiilor produse de enterococi se recomandă asocierea gentamicinei cu penicilina, ampicilina sau vancomicina.
- Streptococii și flora bacteriană anaerobă sunt în mod natural rezistente la aminoglicozide. Datorită spectrului larg de acțiune, sunt utilizate mai puțin pentru tratamentul infecțiilor comunitare, și mai des în infecțiile sistemice și infecțiile nosocomiale.

Pot fi administrate sub formă de monoterapie sau în asociere cu alte antibiotice care le potențează efectul (beta-lactamine, glicopeptide, rifampicină, fluorochinolone).

Toxicitatea aminoglicozidelor. Antibioticele acestei familii sunt:

- nefrotoxice, dozele terapeutice fiind practic egale cu cele toxice. Monitorizarea funcției renale (diureza, ureea, creatinina serică, clearance-ul creatininei) este obligatorie la 2-4 zile; nefrotoxicitatea este de obicei reversibilă după întreruperea tratamentului.
- ototoxice (cu afectarea componentei cohleare și vestibulare); ototoxicitatea este frecvent ireversibilă.

Rezistența la aminoglicozide. Cel mai frecvent mecanism prin care bacteriile devin rezistente este secreția unor enzime (acetilaze, fosforilaze, nucleotidiltransferaze) care alterează structura aminoglicozidelor. Sinteza lor este codificată de plasmide transferabile de la o specie la alta. La acest mecanism se mai adaugă scăderea permeabilității peretelui celular, alterarea mecanismului de transport prin membrana citoplasmatică și modificarea unor molecule țintă de pe ribozomi astfel încât legarea antibioticului este împiedicată.

6.5.3.2. *Tetraciclina*

Tetraciclina are o structură ciclică cu posibilități multiple de atașare a unor radicali diferiți.

Mecanism de acțiune. Sunt antibiotice bacteriostatice, care inhibă sinteza proteică prin blocarea atașării moleculelor de aminoacyl-tRNA de ribozomi. Acest efect nu se exercită numai asupra celulei bacteriene, ci și asupra celulei de tip eucariot. Tetraciclina se absorbe optim pe cale digestivă și se elimină pe cale renală. Sunt antibiotice cu penetrare intracelulară.

Principalii reprezentanți ai acestei familii sunt tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina, dimetilclortetraciclina, doxiciclina, minociclina, vibramicina etc.

Spectru de acțiune și utilizare: au un spectru foarte larg, care cuprinde practic toate bacteriile, inclusiv micoplasmele și bacteriile cu habitat intracelular (chlamydii și rickettsii). Sunt indicate în pneumoniile pneumococice, tifos exantematic, tularemie, psitacoză, bruceloză, holeră, antrax, gonoree. Mai pot fi utilizate și în tratarea infecției cu *Helicobacter pylori* (la bolnavii cu ulcer gastric).

Utilizarea lor se restrânge însă din cauza rezistenței tot mai crescute a bacteriilor față de aceste antibiotice.

Toxicitatea. Administrarea tetraciclinelor duce la o perturbare a florei normale a intestinului favorizând dezvoltarea în exces a unor bacterii (*S.aureus*) sau fungi (*Candida*) cu producerea consecutivă a unui sindrom diareic greu de tratat.

Tetracicinele perturbă metabolismul osos, motiv pentru care nu se administrează la gravide și la copii. La copii se acumulează în oase și dinți, determinând astfel afectarea smalțului dentar, a pigmentației dentare. De asemenea nu se administrează la pacienți cu insuficiența hepatică și renală.

La nivelul SNC produc (mai ales minocyclina) așa numitul sindrom „Pseudotumor cerebri” (sindrom fals de hipertensiune craniană).

Rezistența la tetracicine este foarte răspândită. Celulele bacteriene devin rezistente la acțiunea tetraciclinelor prin 3 mecanisme:

- enzimatic - modificarea enzimatică a nucleului tetraciclinelor (printr-o reacție de acetilare) – enzime inactivatoare.
- eflux - mecanism de apărare a organismului, care "respinge" substanțele toxice sau antibioticele. O genă codează o proteină care activează „pompa” de tetraciclina (mutația purinelor).
- protecție ribozomală; o genă activează o proteină, care poate avea diverse efecte în funcție de genă cum sunt blocarea legării tetraciclinei de ribozomi

Glycylcyclinele reprezintă o subclasă a Tetraciclinelor. Exponentul acestora este *Tigecyclina*, derivat semisintetic al Minocyclinei, activă pe bacterii gram-pozitive și gram-negative rezistente la Tetracicine. Sunt refractare la ambele mecanisme de rezistență: eflux și protecție ribozomală.

Spectru de acțiune coci gram pozitivi (inclusiv MRSA și MRSE), enterococci (*Enterococcus faecalis* și *Enterococcus faecium*) rezistenți la vancomicină (VRE), bacili gram-negativi non-fermentativi: *Acinetobacter baumannii* și *Stenotrophomonas maltophilia*, germeni anaerobi.

Indicații

- infecții cutanate complicate ale țesuturilor moi cauzate de: *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* metilicilinio-sensibil (MSSA) și metilicilinio-rezistent (MRSA), *S.*

agalactiae, *S. anginosus*, *S. intermedius*, și *S. constellatus*, *S. pyogenes*, și *B. fragilis*.

- infecții intra-abdominale complicate, cauzate de *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. anginosus*, *S. intermedius*, și *S. constellatus*, *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*, *B. vulgatus*, *C. perfringens*.

Reacțiile adverse sunt asemănătoare tetraciclinelor.

6.5.3.3. Oxazolidone- reprezentant linezolid.

Este un antibiotic de sinteză, descoperit în 1987 care acționează pe bacterii gram pozitive rezistente dar nu este eficient pe bacterii gram negative.

Mecanism de acțiune: inhibă sinteza proteică prin stoparea unirii subunităților 30S și 50S cu formarea 70S. Linezolid-ul se leagă de subunitatea 50S în apropierea peptidyltransferazei și a situsului de legare al Cloramfenicolului. Astfel oprește interacțiunea cu subunitatea 30S.

Rezistența la acest chimioterapic se instalează prin:

- modificarea țintei ceea ce are ca urmare scăderea afinității linezolidului pentru subunitatea ribozomală 50S,
- mecanism de rezistență non-ribozomal prin efluxul (creșterea sau scăderea) antibioticului din celulă.

Nu s-a remarcat existența unei rezistențe încrucișate între Linezolid și beta-lactamine, glicopeptide, lincosamide, quinolone, rifampicină, streptogramine, tetraciline, cloramfenicol.

Spectru de acțiune cuprinde:

- bacterii aerobe gram pozitive cum sunt MRSA, MRSE, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *E. faecium* rezistent la Vancomicină, *E. faecalis*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *S. pneumoniae* rezistent la Penicilină, *S. pyogenes*, *S. intermedius*, *S. agalactiae*, streptococi beta-hemolitici grup C și G, *S. pneumoniae* (inclusiv tulpini rezistente la penicilină), *Corynebacterium jeikeium*, *L. monocytogenes*,
- bacterii aerobe gram negative: *Pasteurella canis*, *Pasteurella multocida*,
- bacterii anaerobe gram pozitive: *C. perfringens*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus*,
- bacterii anaerobe gram negative: *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* sp.,
- *Chlamydia pneumonia*,
- *Mycobacterium tuberculosis*.

Reacții adverse: cefalee, candidoză, oboseală, febră, frison, dureri la locul injectiei, flebită, tromboflebită, anemie, eozinofilie, leucopenie, neutropenie, trombocitopenie, amețea, insomnie, parestezii, alterarea gustului (gust metalic),

vedere încețoșată, hipo- hipertensiune, dureri abdominale, grețuri, vărsături, tulburări de tranzit, gură uscată, glosită, stomatită, sete marcată.

6.5.3.4. *Cloramfenicolul*

Structura. Cloramfenicolul conține un nucleu nitrobenzenic de care se leagă un radical în poziția para.

Mecanismul de acțiune constă în blocarea producerii legăturilor peptidice între aminoacizi. Are același efect și asupra celulei eucariote, fiind deci toxic și pentru aceasta.

Absorția este optimă în tubul digestiv, administrarea obișnuită fiind cea orală. În anumite situații se poate administra și pe cale sistemică. Cloramfenicolul traversează bariera hematoencefalică și are penetrație intracelulară bună. Este inactivat prin conjugare în ficat și eliminat pe cale renală.

Spectrul de acțiune este foarte larg, cuprinzând bacterii gram-pozitive, gram-negative, aerobe și anaerobe, inclusiv bacteriile cu habitat intracelular, cum sunt chlamydiile și rickettsiile.

Toxicitatea. Cloramfenicolul este un antibiotic imunodepresor, foarte toxic, a cărui administrare trebuie evitată. Este contraindicat la gravide, sugari și copii. El acționează asupra măduvei osoase datorită structurii sale nitrobenzenice, putând produce aplazie medulară. Toxicitatea se manifestă sub 2 forme:

- toxicitatea dependentă de doză, după administrare îndelungată de cloramfenicol,
- toxicitatea prin mecanism alergic, care duce la anemie aplastică ireversibilă.

Rezistența la cloramfenicol. Este codificată de plasmide și constă în sinteza unei acetiltransferaze intracelulare care împiedică legarea cloramfenicolului de moleculele țintă de pe ribozomi.

6.5.3.5. *Macrolidele*

Structură. Macrolidele sunt antibiotice cu structură ciclică și se obțin din *Streptomyces erythreus*.

Cel mai frecvent utilizat macrolid este Eritromicina. Din această clasă mai fac parte: Midecamicina, Roxitromicina, Josamicina, Troleandomicina, Claritromicina, Miocamicina, Rokitamicina, Diritromicina, Fluritromicina etc.

Mecanism de acțiune. Macrolidele se leagă de ribozomi blocând translocarea lanțului peptidic în timpul sintezei sale. Sunt antibiotice bacteriostatice și bactericide în funcție de doză. Absorbția are loc pe cale digestivă. Distribuția lor este foarte bună deoarece ele penetrează și intracelular. Eliminarea are loc pe cale biliară și doar o mică parte prin urină. Sunt antibiotice relativ netoxice.

Spectru de acțiune: Eritomicina este activă pe cocii gram-pozitivi aerobi și anaerobi, spirochete și înlocuiește penicilina la pacienții alergici. Se administrează și în infecțiile produse de *Legionella pneumophila* și *Campylobacter jejuni*. La pacienții la care este contraindicată tetraciclina (copii, gravide) se utilizează în tratamentul infecțiilor chlamydiene.

Dintre macrolidele introduse relativ recent în practica medicală, roxitromicina, claritromicina și azitromicina, au o activitate antibacteriană superioară eritromicinei, azitromicina fiind folosită în doză unică în tratamentul infecțiilor chlamydiene.

Rezistența bacteriilor la macrolide, în special la eritromicină, este în creștere și se transmite prin plasmide.

6.5.3.6. *Lincosamidele*

Sunt reprezentate de lincomicină și clindamicină. Ele se leagă de ribozomii celulelor procariote, împiedicând formarea legăturii peptidice. Acțiunea lor este bacteriostatică.

Clindamicina nu traversează bariera hematoencefalică însă difuzează foarte bine în țesutul osos, fiind indicată în tratamentul osteomielitelor stafilococice. Este metabolizată în ficat și se elimină pe cale digestivă.

Spectrul de acțiune este asemănător eritromicinei, dar este mai activă pe bacteriile anaerobe gram-pozitive (*Clostridium*) și gram-negative (genul *Bacteroides*).

Clindamicina nu este toxică, dar administrarea dozelor mari distruge flora intestinală cu producerea unei colite pseudomembranoase cu *Clostridium difficile*, bacterie natural rezistentă la clindamicină. Este utilizată în infecții severe cu anaerobi: sistemice și respiratorii, infecții severe ale pielii și țesuturilor moi, septicemii, infecții intraabdominale (peritonită, abces intraabdominal), infecții pelvine și ale tractului genital la femei, infecții cronice osoase/articulare produse de streptococi/stafilococi.

6.5.3.7. *Streptogramine*

Structură. Streptograminele sunt antibiotice naturale fiind unica clasă a cărei reprezentanți conțin în mod natural cel puțin 2 componenți cu structură diferită dar cu acțiune sinergică. Acești componenți sunt Streptograminele de grup A și B.

Din grupul Streptograminelor A face parte Pristinamicina IIA și Prostnamicina IA iar din Grupul B Pristinamicina IIA și Virginamicina.

Streptograminele semisintetice care sunt mai eficiente menționăm Quinupristina și Dalfopristina cu administrare parenterală.

Mecanism de acțiune. Streptograminele inhibă sinteza proteică la nivel ribozomal atașându-se de aceștia pe situsuri diferite. Rezistența se instalează prin secreția de enzime inactivatoare și eflux de antibiotic.

Spectru de acțiune cuprinde bacterii gram pozitive (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. faecium*), unele bacterii gram negative (*N.gonorrhoeae*, *Branhamella catharralis*, *H. influenzae*, *Mycoplasma*, *Legionella*.) și germeni anaerobi.

Se administrează în infecții ORL, bronhopneumonii, infecții ale pielii cu MRSA, infecții osteoarticulare, prevenirea endocarditei bacteriene în caz de alergie la beta-lactamine.

Efecte adverse sunt dureri musculare, aritmii, ocazional diaree, colită pseudomembranoasă și alergii. Nu este contraindicată în sarcină.

6.5.3.8. *Acidul fusidic*

Structură. Este un chimioterapic cu structură sterolică care blochează sinteza proteică prin legarea sa de factorul de elongație al lanțului polipeptidic, de guanozin-fosfat și de ribozomi.

Se poate administra pe cale orală și intravenos având o penetrare bună în țesuturi, inclusiv în țesutul osos. Se metabolizează în ficat și este eliminat prin bilă.

Spectrul de acțiune cuprinde mai ales cocci gram-pozitivi, fiind indicat în infecțiile cu stafilococi rezistenți la beta-lactamine. Se recomandă asocierea cu alte antibiotice pentru a preveni instalarea rezistenței.

Se administrează în osteomielite, septicemii, endocardite, fibroză chistică, pneumonii, infecții cutanate și ale țesuturilor moi, plăgi chirurgicale sau traumatice infectate. Este un antibiotic „antistafilococic de rezervă”, fiind utilizat pentru infecțiile produse de stafilococi meti-R, în asociere cu alte antibiotice antistafilococice active (după antibiogramă).

Rezistența se instalează prin mutații cromozomiale.

6.5.4. ***Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici***

6.5.4.1. *Rifamicinele*

Rifamicinele sunt derivați semisintetici al rifamicinei B care se obține din *Streptomyces mediterranei*. Ele se leagă de ARN-polimeraza ADN-dependentă blocând sinteza de ARN, având acțiune bacteriostatică și bactericidă.

Spectru de acțiune este larg, cuprinzând bacterii gram pozitive și gram negative. Este un agent important în tratamentul infecțiilor cu *M. tuberculosis* dar și cu alte micobacterii atipice.

Activ pe tulpini de MRSA, se utilizează uneori ca alternativă de tratament în combinație cu trimetoprim-sulfometoxazol pentru eradicarea purtătorilor nazali.

Rezistența la acest chimioterapic se instalează relativ repede. Utilizat în monoterapie, face ca bacteriile să dobândească rapid rezistență.

6.5.4.2. *Quinolonele*

Sunt chimioterapice de sinteză ce blochează ADN-giraza care răspunde de suprahelicarea ADN.

Din grupul quinolonelor de primă generație, fac parte: acidul nalidixic (Negramul), acid oxolinic și cinoxacinul. Prima quinolonă, negramul, s-a folosit mult în tratamentul infecțiilor urinare, datorită activității sale asupra bacililor gram-negativi. În prezent se utilizează mai rar datorită toxicității sale pe de o parte și apariției tulpinilor rezistente pe de altă parte.

Din grupul quinolonelor de a doua generație fac parte fluoroquinolonele (Ciprofloxacinul, Norfloxacinul etc.).

Spectru de acțiune cuprinde coci gram pozitivi (inclusiv MRSA, VRE, *Streptococcus pneumoniae* rezistent la penicilină) și gram negativi, din ordinul *Enterobacterales*, precum și *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* (inclusiv MDR nosocomiale gram negative), germeni anaerobi (Moxifloxacin), *Chlamydia*, *Mycoplasme*.

Moxifloxacină este o quinolonă cu spectru extins, cu activitate îmbunătățită împotriva bacteriilor gram-pozitive (în special streptococi și enterococi). Activitatea împotriva bacililor gram-negativi este similară cu cea a ciprofloxacinului și a altor quinolone înrudite.

Rezistența se instalează prin modificarea țintei și creșterea efluxului de chimioterapic.

Unul din factorii importanți implicați în dobândirea rezistenței este faptul că fluoroquinolonele sunt dintre cele mai utilizate clase de antibiotic în tratamentul ambulatoriu deoarece au spectru larg de acțiune, biodisponibilitate orală, timp de înjumătățire lung și o toleranță bună

6.5.4.3. *Sulfamidele*

Sulfamidele se aseamănă structural cu acidul paraaminobenzoic, grupul para-amino fiind esențial pentru activitatea sulfamidelor.

Mecanismul de acțiune al sulfamidelor este competitiv. Atunci când ele se găsesc în mediu în cantități superioare acidului paraaminobenzoic, necesar sintezei de acid folic, îl vor înlocui pe acesta în metabolismul bacterian blocând astfel sinteza de acid folic și implicit pe cea de ADN. Sulfamidele sunt chimioterapice bacteriostatice. Bacteriile care nu sintetizează acid folic ci îl iau din mediul înconjurător sunt în mod natural rezistente la sulfamide.

Sulfamidele se administrează pe cale orală, se metabolizează în ficat și se elimină prin urină. Ele se utilizează mai ales în infecțiile urinare, spectrul lor de acțiune cuprinzând bacili gram-negativi (cu excepția bacilului piocianic). Cele mai cunoscute sulfamide sunt Sulfanilamida, Sulfamethoxazol, Sulfurazol, Ftalilsulfatiazol etc.

Rezistența la sulfamide este foarte răspândită.

Sulfamidele sunt lipsite în general de efecte toxice, dar pot da alergii cutanate și ocazional depresii medulare.

Biseptol rezultă din combinarea sulfametoxazolului cu trimetoprimului, având acțiune sinergică care depășește cu mult suma acțiunii ambelor substanțe. Are spectru de acțiune larg: coci, bacili gram pozitivi și negativi, fiind folosit în afară de infecțiile urinare, în infecții respiratorii și sistemice. Ca efecte secundare poate produce neutropenie.

Sulfonele sunt substanțe înrudite sulfamidelor. Dintre ele amintim Dapsona folosită în tratamentul leprei.

6.6. Utilizarea chimioterapicelor antiinfecțioase

Chimioterapicul antiinfecțios ideal ar trebui să aibă următoarele calități:

- toxicitate selectivă pentru celula bacteriană,
- spectru larg de acțiune,
- activitate bactericidă,
- să fie lipsit de toxicitate pentru macroorganism,
- timp lung de înjumătățire,
- penetrație optimă în țesuturi.

Tratamentul corect trebuie să țină cont de:

• *particularitățile agentului infecțios*

a) *etiologia infecției*. În lipsa posibilității efectuării antibiogramei, medicul practician trebuie să cunoască sensibilitatea naturală a microbului respectiv și să fie informat asupra procentajului de tulpini care au dobândit rezistență la antibiotice. Spre exemplu, *Escherichia coli* este în mod natural sensibilă la Ampicilină, dar statisticile efectuate pe antibiogramele din diferite laboratoare arată că 80% din tulpinile izolate au devenit rezistente. În consecință, se evită administrarea acestui antibiotic în infecții urinare;

b) *semnificația germenilor izolați din produsele patologice*. Izolarea din zone normal sterile a oricărui microb are o semnificație patologică. Implicația etiologică a unui germene condiționat patogen izolat dintr-un produs natural contaminat este discutabilă și trebuie interpretată cu prudență. Astfel, după un tratament prelungit cu antibiotice pe cale orală se modifică flora faringelui predominând specii selectate cum ar fi, *Pseudomonas* sau *Enterobacter*. În acest caz nu se va interveni în niciun

caz cu antibiotice, ci dimpotrivă se vor evita pentru a crea condiții reînstalării florei normale.

- ***proprietățile chimioterapicului***

- mecanismul de acțiune,
- absorbția, distribuția, metabolizarea și calea de eliminare,
- spectrul de acțiune,
- calea de administrare, dozarea chimioterapicului și infecțiile în care se utilizează,
- toxicitatea,
- costul tratamentului.

- ***starea pacientului***

Dat fiind că o mare parte din agenții antiinfecțioși au și efecte toxice, trebuie cunoscute eventualele suferințe hepatice și renale, precum și statusul imunologic al pacientului.

Terapia combinată. Prin utilizarea concomitentă a două sau mai multor antibiotice se obține o lărgire a spectrului de acțiune, necesară în infecții cu germeni cu rezistență diferită. De asemenea, se întârzie instalarea rezistenței la antibiotice a tulpinilor (ca de exemplu în tuberculoză).

Trebuie ținut însă cont de faptul că două antibiotice administrate concomitent pot acționa în mod diferit:

- indiferent, atunci când acțiunea lor nu se influențează reciproc;
- aditiv, când activitatea lor este mai puternică antibacteriană decât suma activității lor individuale (trimetoprim +sulfametoxazol);
- sinergic atunci când combinațiile de două antibiotice au o activitate bactericidă îmbunătățită comparativ cu activitatea fiecărui antibiotic luat individual;
- antagonic, când efectul antibacterian este mai mic. În general, antagonice sunt antibioticele bacteriostatice cu cele bactericide în faza de replicare a bacteriilor.

Administrarea necontrolată și inutilă de antibiotice va duce la perturbarea ecologică a florei bacteriene normale, factor esențial în apărarea naturală antiinfecțioasă pe de o parte și înlocuirea acesteia, prin selecție, cu tulpini cu rezistență multiplă.

Dacă apariția rezistenței la antibiotice este un fenomen genetic natural care nu poate fi împiedicat, selecția tulpinilor multirezistente, transformarea lor în populații rezistente și răspândirea lor poate fi întârziată de medic. În acest scop, rezistența tulpinilor bacteriene izolate trebuie monitorizată pe plan local și național, iar informațiile prelucrate sunt puse permanent la dispoziția personalului medical, astfel încât cei care prescriu antibioticele să fie informați asupra rezistenței dobândite a germenilor din zona lor geografică și să aibă posibilitatea alegerii corecte a agenților antiinfecțioși terapeutici.

Chimioterapia antifungică și antivirală vor fi tratate în capitolele de micologie și virusologie.

6.7. Terapia empirică

În anumite situații clinicianul este nevoit să inițieze tratamentul empiric, înainte ca rezultatele de laborator să fie disponibile. O serie de factori vor trebui luați în considerare înaintea prescrierii antibioticului:

- alergiile (dacă pacientul este alergic, nu este de dorit administrarea unui antibiotic pentru care există istoric de alergie),
- vârsta, sarcina (anumite antibiotice sunt contraindicate la extremele de vârstă sau în timpul sarcinii),
- pacient spitalizat sau în ambulatoriu (există antibiotice care pot fi administrate doar pe cale intravenoasă, deci nu pot fi prescrise în ambulatoriu),
- valabilitatea antibioticului,
- sediul infecției; dacă este vorba despre o infecție urinară va trebui administrat un antibiotic care se concentrează în urină, pentru tratarea unui abces cerebral clinicianul va selecta un antibiotic care are proprietatea de a străbate bariera hemato- encefalică, etc,
- alte medicamente (pot reacționa încrucișat cu unele antibiotice),
- alte probleme medicale (unele antibiotice pot exercita efecte adverse: nefro, hepatotoxicitate),
- statusul imun al pacientului (în cazul pacienților neutropenici sau imunocompromiși este preferabilă utilizarea antibioticelor cu efect bactericid în defavoarea celor bacteriostatice),
- costul (ori de câte ori e posibil, clinicianul va prescrie antibioticul cel ieftin și cu spectrul cel mai îngust).

7. PATOGENITATEA MICROBIANĂ

7.1. Clasificarea microorganismelor după patogenitate

Între organismul uman și microorganisme (bacterii, virusuri, fungi, protozoare) se stabilesc relații care pot fi de comensalism, mutualism și parazitism.

Comensalismul este o asociație în care un microorganism folosește ca mediu de viață un alt organism fără să-l prejudicieze. Omul este gazda unei flore comensale foarte bogate, prezentă pe piele, mucoase, tract digestiv etc. și care alcătuiește flora normală.

Mutualismul este o relație care se stabilește în beneficiul ambilor parteneri ai asociației. De exemplu, între bacilii lactici și gazda umană există un beneficiu reciproc: vaginul oferă condiții de viață bacililor lactici, iar aceștia la rândul lor acidifică mediul, împiedicând dezvoltarea altor microorganisme.

Parazitismul este o relație care se stabilește în mod cert în beneficiul microorganismului și în detrimentul gazdei umane. Din această categorie fac parte microorganismele patogene.

Microorganismele nu se pot clasifica însă rigid, din punct de vedere al patogenității, deoarece în anumite condiții același microorganism stabilește relații diferite cu gazda umană.

La un capăt al clasificării în funcție de patogenitate se află microorganismele nepatogene care trăiesc în mediul înconjurător și nu găsesc condiții prielnice de dezvoltare în gazda umană, iar la celălalt capăt se află microorganismele patogene care produc întotdeauna îmbolnăviri cu penetrație mare în populație (*Salmonella typhi*, *Yersinia pestis* etc.) sau îmbolnăviri cu consecințe grave (*Streptococcus pyogenes*, *Treponema pallidum*).

Între aceste două extreme se află flora condiționat patogenă care, de regulă, provine din flora normală a organismului și care produce infecții doar în anumite condiții, ca de exemplu, în scăderea rezistenței antiinfecțioase a organismului (în stress, după viroze, după tratament imunodepresor, în SIDA etc.) și în cazul în care colonizează zone anatomice sterile (septicemii, meningite).

Flora accidental patogenă provine din flora comensală a organismului, dar necesită condiții deosebite de înmulțire, chiar dacă pătrunde în zone anatomice sterile. Astfel, streptococii viridans se găsesc în mod normal în faringe și ajung în circulație după extracții dentare sau chiar și după periaje energice ale dinților. La omul sănătos, mecanismele rezistenței naturale antiinfecțioase înlătură streptococii în câteva ore de la pătrunderea lor în sânge, pe când la cei cu vicii valvulare, la care există depozite de fibrină pe endocard, streptococii se vor înmulți producând endocardita lentă malignă. Sunt cunoscute, de asemenea, eșecurile din chirurgia ortopedică și cardiacă datorită pătrunderii, în timpul operației, a tulpinilor de *Staphylococcus epidermidis*, principalul comensal al pielii. Flora condiționat

patogenă și cea accidental patogenă alcătuiesc flora oportunistă, care profită în orice împrejurare de vulnerabilitatea gazdei umane.

De-a lungul timpului ponderea germenilor în etiologia infecțiilor s-a modificat încontinuu. Până la descoperirea rolului microbilor în producerea acestora, patologia infecțioasă a fost dominată clar de bacteriile înalt patogene care au generat de-a lungul secolelor epidemii grave. Astăzi, etiologia infecțiilor este dominată de flora condiționat patogenă. În ultimul deceniu, microbiologia clinică are o nouă problemă legată de diagnosticul microbiologic al infecțiilor care apar la bolnavii cu SIDA. Infecțiile, la acești bolnavi cu imunitatea compromisă, sunt produse de microorganisme condiționat patogene, accidental patogene și uneori chiar și de microorganisme care până în prezent nu au fost deloc s-au foarte rar izolate în infecții.

7.2. Flora normală a organismului

În timpul vieții intrauterine, organismul este steril, fiind ferit de contaminarea ascendentă prin membranele fetale, iar placenta este impermeabilă pentru majoritatea microorganismelor, cu excepția unor virusuri (virusul rubeolic, citomegalic etc.), bacterii (*Treponema pallidum*) și paraziți (*Toxoplasma gondi*). Prima întâlnire a organismului uman cu microorganismele mediului înconjurător se produce în momentul nașterii, când fătul vine în contact cu flora vaginală și cutanată a mamei.

După naștere, organismul este supus unei contaminări continue. Unele din speciile cu care organismul vine în contact dispar foarte repede, iar altele colonizează pielea și suprafețele organismului ce vin în contact cu exteriorul, constituind flora normală a organismului. Organismul uman este populat de foarte multe specii bacteriene și de un număr mai mic de virusuri, fungi și protozoare.

Flora normală a organismului depinde de o serie de factori, cum sunt: vârsta, regimul alimentar, statusul hormonal, starea de sănătate, condițiile de igienă colectivă și personală.

Zonele organismului populate în mod normal cu microorganisme sunt: pielea, tractul respirator superior (vestibul nazal, faringe), tubul digestiv (cavitatea bucală și intestinul gros), tractul urinar (partea anterioară a uretrei) și vaginul.

În zonele intens colonizate, ca, de pildă, în intestinul gros, numărul de bacterii este de 1×10^{12} /ml, pe când în zonele cu floră mai redusă, cum sunt pielea, vaginul, numărul lor nu depășește în mod normal 1×10^6 /ml.

În afară de aceste zone, microorganisme mai pot apărea în număr mic și în mod pasager în restul tractului respirator, digestiv și în uter, fiind rapid îndepărtate de mijloacele de apărare ale organismului. Sângele, lichidul cefalorahidian, lichidele sinoviale, din seroase, țesuturile profunde sunt sterile. Prezența microbilor în aceste zone are întotdeauna o semnificație patologică.

7.2.1. **Flora normală a pielii**

Pielea este populată de multe specii bacteriene, densitatea acestora fiind mai mare în zonele umede, cum sunt axila, zona perineală, zonele interdigitale și scalpul. Specia cel mai des întâlnită, care reprezintă 90% din flora cutanată aerobă este *Staphylococcus epidermidis*. În regiunile umede se poate întâlni și *S. aureus*. În afară de speciile menționate, pe piele se mai găsesc bacili difterimorfi anaerobi, ca, de pildă, *Propionibacterium acnes*. Aceștia din urmă sunt prezenți în foliculii piloși, transpirație, glandele sebacee, se înmulțesc mai ales în pubertate și contribuie la producerea acneei juvenile. La 20% din populație se izolează de pe piele *Clostridium perfringens*. În mod pasager se evidențiază în patul periunghial și pe scalp specii de *Candida*.

7.2.2. **Flora normală a cavității bucale și a vestibului nazal**

Speciile ce colonizează aceste zone anatomice sunt, în general, streptococi, stafilococi, bacili difterimorfi, coci gram-negativi și mai rar ciuperci. Unele din aceste specii, ca, de exemplu, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Candida*, sunt condiționat patogene.

Densitatea florei microbiene este foarte mare în cavitatea bucală, fiind apreciată la 10^{11} celule bacteriene la un g de țesut. Suprafețele dinților și șanțurile gingivale sunt sediul unei bogate flore anaerobe.

Placa dentară este un film format din celule bacteriene ancorate într-o matrice polizahardică secretată de acestea. Dacă igiena cavității bucale este deficitară, placa se îngroașă și sub acțiunea unor specii ca *Streptococcus mutans* se produc cariile dentare. În cavitatea bucală pot coexista și protozoare, ca, de exemplu, *Trichomonas tenax*.

Flora faringiană este reprezentată de streptococi viridans și ocazional de streptococi beta-hemolitici (specie patogenă), la care se adaugă difterimorfi, neisserii hemolitice, stafilococi etc.

Tractul respirator inferior este steril, dar din plămânul persoanelor sănătoase s-a izolat *Pneumocystis jirovecii*. Acest parazit nu are semnificație patologică la aceste persoane, dar poate da pneumonii grave la persoanele imunocompromise, cum sunt bolnavii de SIDA.

7.2.3. **Flora normală a tubului digestiv**

Stomacul conține doar ocazional floră bacteriană acidotolerantă (unii lactobacili și streptococi) dată fiind aciditatea gastrică pronunțată. De pe mucoasa gastrică se izolează frecvent *Helicobacter pylori*, care ar putea constitui cauza unor gastrite și a ulcerului duodenal. La persoane la care se administrează o medicație ce schimbă pH-ul conținutului gastric, flora normală suferă modificări.

Partea incipientă a intestinului subțire conține un număr redus de microbi, care crește vertiginos spre ileon unde se vor găsi streptococi, lactobacili, enterobacterii, specii de *Bacteroides* etc.

Intestinul gros este cea mai populată zonă cu microbi a organismului. Aici, peste 90% din floră este anaerobă, reprezentată mai ales de bacili aparținând genului *Bacteroides*, însoțită de enterobacterii care sunt facultativ anaerobe, la care se adaugă protozoare nepatogene, ca, de pildă *Entamoeba coli*. Tratatamentul cu antibiotice alterează rapid echilibrul care se stabilește între aceste specii cu înmulțirea consecutivă a unor specii mai rezistente la antibiotice cum sunt *Clostridium difficile*, specii din genul *Enterococcus* și *Pseudomonas* care pot produce diaree cu posibilități de evoluție spre colită pseudomembranoasă.

7.2.4. **Flora normală a tractului urogenital**

Uretra anterioară este populată la ambele sexe cu floră asemănătoare celei de pe piele: *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, difterimorfi etc.

Flora vaginală variază în funcție de vârstă. Astfel, până la pubertate flora vaginală conține specii prezente pe piele, iar după pubertate până la menopauză vaginul este populat cu o varietate foarte mare de bacterii, predominante fiind speciile de *Lactobacillus* (bacili Döderlein). Dintre speciile prezente menționăm: stafilococi coagulazo-negativi, streptococi (mai ales din grupul B), enterococi, *Gardnerella vaginalis*, micoplasme, *Mobiluncus* etc. Ocazional pot fi prezente și specii de *Candida*.

7.3. **Rolul florei normale**

Flora normală joacă un rol important atât în menținerea stării de sănătate cât și în producerea unor infecții. Astfel:

- este un factor important în apărarea antiinfecțioasă naturală

Prin prezența lor, microorganismele induc sinteza de anticorpi care, datorită faptului că reacționează încrucișat și cu alte specii microbiene, participă la apărarea antiinfecțioasă a organismului. De asemenea, deprimă înmulțirea florei patogene prin mecanisme competitive pentru un substrat nutritiv, pentru aceiași receptori celulari și producerea de bacteriocine.

- contribuie la nutriția și metabolismul organismului

Flora normală (specii de *Bacteroides* și *E. coli*) sintetizează în intestin unele vitamine, cum sunt vitamina K și vitamine din grupul B. De asemenea, intervine în circuitul hepato-entero-hepatic al unor substanțe cum sunt hormonii steroizi și sărurile biliare.

- constituie sursa majorității infecțiilor oportuniste

Medicul practician întâlnește mai frecvent infecții produse de microorganisme ce fac parte din “flora normală” decât infecții produse de flora patogenă provenită din mediul extern al organismului. Astfel, speciile de *Bacteroides* de pildă, rezidente ale intesinului gros, dacă pătrund în zone sterile ale organismului, produc abcese. *Staphylococcus epidermidis*, cea mai importantă specie a florei normale a pielii, are proprietatea de a se atașa în mod nespecific de catetere de plastic, producând septicemii. De asemenea, *E. coli*, prezent în flora intestinală este cel mai frecvent agent etiologic al infecțiilor urinare. Aceste infecții cu germeni comensali și condiționat patogeni sunt favorizate de administrarea necontrolată a antibioticelor.

Termenul de microbiom (din grecescul micro „mic” și bíos „viață”) a fost folosit pentru prima dată în 1952 pentru a desemna microorganismele identificate într-un anumit mediu. În 1988 definiția a fost actualizată: „o comunitate microbiană caracteristică care ocupă un habitat rezonabil bine definit, care are proprietăți fizico-chimice distincte”. Prin urmare, termenul nu se referă numai la microorganismele implicate, ci include și teatrul lor de activitate”, având ca rezultat formarea unor nișe ecologice specifice.

În 2020, s-a propus o nouă definiție a microbiomului completată cu două propoziții explicative. **Microbiomul** formează un micro-ecosistem dinamic și interactiv predispus la schimbare în timp și dimensiuni, integrat în macro-ecosisteme, inclusiv gazda eucariotă, cu rol crucial pentru funcționarea și sănătatea microbiomului. **Microbiota** reprezintă ansamblul de microorganisme aparținând unor regnuri diferite: Procariote (bacterii), Eucariote (protozoare, ciuperci), teatrul lor de activitate include structuri microbiene, metaboliți, elemente genetice mobile (transpozoni, fagi și virusuri) și resturi de ADN-ul încorporate în condițiile de mediu ale habitatului.

Proiectul Genomului Uman a reprezentat un efort internațional de 13 ani (1990-2003), care a identificat secvențele celor aproximativ 3 miliarde de nucleotide care compun cele 23.000 de gene codificatoare de proteine din acidul dezoxiribonucleic (ADN) uman. A fost urmat de Proiectul Microbiomului Uman, un studiu multinațional de 5 ani, cu scopul de a analiza compoziția genetică a populațiilor microbiene care trăiesc în organismul și pe suprafețele tegumentare ale adulților sănătoși (microbiomul). Se estimează că celulele bacteriene depășesc ca număr celulele umane ale gazdei, cu un raport de 10:1. Populația bacteriană contribuie cu cel puțin 300 de ori mai multe gene unice. Acest proiect a fost lansat în 2007, incluzând colectarea de specimene din nas, gură, piele, intestin și vagin de la voluntari adulți sănătoși. Microbii au fost identificați prin secvențiere. S-a constatat o variație semnificativă în compoziția speciilor și a genelor la nivel individual și în diferite locuri ale corpului, cu cea mai mare diversitate taxonomică și genetică fiind intestinul.

Majoritatea indivizilor împărtășesc un **microbiom central**, definit ca număr de specii prezente într-o anumită zonă la 95% sau mai mulți indivizi. Cel mai mare

număr de specii comune este prezent în cavitatea bucală, nas, intestin și piele, iar cele mai puține specii comune se găsesc în vagin. Acest microbiom central asigură funcții esențiale care trebuie menținute pentru activitățile metabolice și imunologice normale. Restul populației microbiene formează **microbiomul secundar**, cu un număr redus de microorganisme din variate specii și care nu sunt larg distribuite între indivizi, cu funcții de asemenea extrem de importante. La indivizi sănătoși pot exista variațiile interpersonale ale microbiomului, atâta timp cât funcțiile necesare sunt îndeplinite.

Gazda oferă loc de colonizare, nutrienți și o anumită protecție împotriva speciilor nedorite (răspunsuri imune înăscute). Microorganismele oferă funcțiile metabolice necesare, stimulează imunitatea înăscută și reglatoare și previn colonizarea cu agenți patogeni nedorți.

Compoziția microbiotei este influențată de:

- igiena personală (utilizarea săpunului, deodorantelor, apei de gură, exfoliantelor),
- consumul de apă de fântână /versus apa clorinată de oraș,
- o dietă cu mai multe sau mai puține fibre, zaharuri sau grăsimi poate selecta diferite bacterii intestinale,
- utilizarea antibioticelor cu spectru larg, duce la selecția bacteriilor rezistente, având rol în dereglarea microbiomului și pierderea funcțiilor esențiale.

Dacă microbiomul normal caracterizează sănătatea, atunci modificările microbiomului pot semnală apariția bolii. Perturbarea florei normale (disbioză) poate conduce la apariția bolilor prin eliminarea organismelor necesare sau prin permiterea dezvoltării bacteriilor patogene. În urma expunerii la antibiotice și a suprimării florei normale intestinale, *C. difficile* poate prolifera și produce enterotoxine, ducând la inflamația colonului (colită asociată antibioticelor).

Este posibil ca în viitor metodele noi de diagnostic să determine prezența sau absența unui produs specific al unei gene (proteomică) sau a unei funcții metabolice (metabolomică). În viitorul apropiat, analiza microbiomului unei persoane cu proceduri de secvențiere a ADN-ului mai rapide și mai ieftine, ar putea deveni un test diagnostic de rutină, pentru a prezice și trata o gamă largă de boli.

8. FACTORII DE PATOGENITATE AI BACTERIILOR

Patogenitatea este un proces complex și multifactorial, care cuprinde totalitatea mecanismelor biochimice prin care microorganismele produc infecții. În timp ce unele microorganisme (patogene) produc în mod obișnuit infecții la indivizii neimunizați, dar cu rezistența naturală intactă, altele (oportuniste) produc infecții doar la indivizi cu barierele apărării naturale compromise.

Virulența este gradul de patogenitate a unei tulpini în cadrul speciei. Spre deosebire de patogenitate, care este un caracter de specie, virulența este un caracter de tulpină. De exemplu, în cadrul speciei *Corynebacterium diphtheriae* există specii toxigene virulente și netoxigene, deci nepatogene. Chiar și între tulpinile toxigene există o diferență în ceea ce privește cantitatea de toxină secretată.

Dacă am împărți bacteriile după capacitatea de invazie a organismului, la o extremitate s-ar afla **bacteriile toxigene**, care se multiplică discret la poarta de intrare, iar toxina, secretată și apoi vehiculată de sânge în organism, este responsabilă de apariția bolii (cazul bacilului difteric și tetanic, care produc infecția prin multiplicarea lor la poarta de intrare, fără a invada organismul, sau a bacilului botulinic, care își secretă toxina în conservele alimentare).

La cealaltă extremitate se află **bacteriile invazive** pentru care atașarea constituie un prim pas în penetrarea mai adâncă a țesuturilor sterile. Ajunse aici, se vor multiplica, vor secreta diverși factori de patogenitate, rezultatul fiind infecția (bacilul cărbunos, pneumococul etc.).

La aceste două categorii se adaugă **bacteriile sensibilizante**, care prin infecție sensibilizează organismul. Acesta va răspunde prin reacții imunopatologice ce îi sunt nocive și generează leziuni (bacilul tuberculos).

O bacterie poate fi în același timp invazivă, toxigenă și sensibilizantă, ca, de exemplu, *Streptococcus pyogenes*, dotat cu enzime invazive, cu capacitatea de a secreta eritrotoxina (responsabilă de apariția scarlatinei) și de a produce prin mecanism alergic cardita reumatismală, reumatismul poliarticular acut, glomerulonefrita acută etc.

Pentru a produce o infecție, microorganismele trebuie să parcurgă, în general (dar nu în mod obligatoriu), următoarele **etape**:

- atașarea și pătrunderea în organismul gazdă;
- invadarea locală sau generală a organismului;
- multiplicarea în organismul gazdă și secreția unor factori de patogenitate.

8.1. Factori de pătrundere și aderență

Organismul uman are multiple posibilități prin care se opune pătrunderii agenților infecțioși. Totuși, o serie de microorganisme reușesc să evite aceste bariere sau profită de situații deosebite care le permit pătrunderea în organism.

Astfel, **o leziune traumatică care întrerupe integritatea pielii**, principala barieră externă antiinfecțioasă, creează condiții de pătrundere pentru germeni care se găsesc în mod normal pe tegumente (*S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Unele microorganisme pătrund prin înțepăturile unor insecte (*Plasmodium vivax*, *Borrelia burgdorferi*, *Yersinia pestis*) sau prin mușcătura unui animal (virusul rabic), iar altele sunt introduse în organism în timpul unor acte medicale, cum sunt injecțiile, transfuziile (virusurile hepatitice, HIV etc.), operații pe cordul deschis (*S.epidermidis*) etc.

Leptospirele, care sunt bacterii spiralate, pot pătrunde chiar și prin pielea intactă datorită unor mișcări de înșurubare.

Alte căi de pătrundere pentru agenții infecțioși sunt calea digestivă, respiratorie, urogenitală și conjunctivală. Ele sunt prevăzute cu diverse mecanisme de clearance a particulelor străine (lacrimi, mucus, mișcările cililor vibratili etc.) care se opun aderenței microbilor. Microorganismele care reușesc să pătrundă pe aceste căi dispun de mecanisme speciale de aderență, ce depășesc mecanismele rezistenței naturale.

Prima relație care se stabilește între microorganismul infectant și gazda sa este atașarea microorganismului de suprafața celulelor.

Aderența microbilor de organismul gazdă presupune prezența unei sau mai multor adevizine microbiene prezente pe peretele bacterian și un receptor pe celula eucariotă. Adezinele bacteriene sunt fimbriile și adezinele nefimbriale.

8.1.1. Fimbriile

Fimbriile sunt oligomeri proteici care apar ca apendici filamentoși la suprafața celulei bacteriene.

- **fimbriile de tip 1**, sau pilii comuni, sunt prezente la multe specii de *Enterobacteriales*.

- **fimbriile P** sunt prezente pe tulpinile de *Escherichia coli* pielonefritogene.

- **fimbriile S** s-au evidențiat la tulpinile de *E.coli* implicate în meningite

- **fimbriile K88 și K89** se găsesc la tulpinile de *E.coli* enterotoxigene ce produc diaree.

- **fimbriile ce conțin N-metilfenilalanină** au fost evidențiate la o serie de genuri de bacterii gram-negative, cum sunt *Pseudomonas* (bacilul piocianic), *Neisseria* (gonococ și meningococ), *Bacteroides*, *Vibro* etc.

8.1.2. *Adezine nefimbriale*

La unele microorganisme s-au pus în evidență componente nefimbriale care asigură funcția de adezine. Astfel, *Salmonella typhimurium* și *Bordetella pertussis* au la suprafața lor o **hemaglutinină** care le asigură atașarea de celulele țintă.

Capsula unor microbi facilitează uneori atașarea bacteriilor de celulele gazdă pe lângă faptul că este un factor de *inhibiție a înglobării microbilor* de către fagocite.

Pe de altă parte, **unele substanțe din organism** pot facilita la rândul lor aderența bacteriilor. Astfel, fibronectina, o glicoproteină plasmatică ce se găsește și în spațiul extracelular, are proprietatea de a adera la suprafețele mucoase. Unele bacterii care pătrund în organism aderă la rândul lor de fibronectină și prin intermediul ei, de suprafața celulelor epiteliale. Astfel de microorganisme sunt *Streptococcus pyogenes* (streptococul beta-hemolitic de grup A), *Staphylococcus aureus*, *Treponema pallidum*, situsul lor de legare fiind însă diferit.

8.2. Factori de invazie microbiană

Diseminarea bacteriilor în organism se poate face pe mai multe căi:

- din *aproape în aproape*, prin intermediul unor exoenzime și a unor elemente structurale ale bacteriilor;
- prin *endocitoză* și *translocare*;
- pe cale sanguină sau/și limfatică.

8.2.1. *Exoenzime*

Bacteriile secretă numeroase **exoenzime** dintre care o parte, **agresinele**, facilitează invazia în țesuturi. Astfel:

- **hialuronidaza**, sau factorul de difuziune este o enzimă ce hidrolizează acidul hialuronic din substanța fundamentală a țesutului conjunctiv permițând pătrunderea prin țesut a unor bacterii (*Streptococcus pyogenes*, *S.aureus* și *Clostridium welchii*);
- **coagulaza**, enzimă asemănătoare trombinei este produsă de toate tulpinile de *S.aureus*. Ea protejează stafilococii, pe de o parte prin formarea unor bariere de fibrină în jurul stafilococilor și a leziunilor produse de aceștia, iar pe de altă parte prin inactivarea unor substanțe bactericide prezente în serul sanguin;
- **fibrinolizina** secretată, de exemplu, de *Streptococcus pyogenes* și *S.aureus* favorizează difuzarea infecției prin liza fibrinei ce se formează în jurul leziunilor produse de bacteriile respective;
- **enzimele hidrolitice** (lipaze, proteaze, nucleaze) sunt secretate de toate speciile bacteriene indiferent de patogenitatea lor.

- **enzimele citolitice** sunt **hemolizinele** și **leucocidinele**. Astfel, de pildă, *Streptococcus pyogenes* secretă streptolizina O cu acțiune litică asupra hematiilor ce provin de la diverse specii animale.

Pe lângă exoenzimele amintite, un rol important îl au unele **componentele de înveliș ale bacteriilor** ca, de pildă, **capsula** (*Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*), unele **proteine de suprafață** (proteina M a streptococului betahemolitic de grup A) etc. Aceste componente protejează bacteriile de înglobare de către fagocite.

8.2.2. **Endocitoza și translocarea**

Unele bacterii au un **habitat extracelular**, fiind astfel mai accesibile mecanismelor de apărare antiinfecțioasă a organismului, pe când altele se înmulțesc în interiorul celulelor, având deci un **habitat intracelular**. Dintre acestea o parte au un habitat facultativ intracelular (bacilul Koch, *Brucella* etc.) iar altele un habitat obligatoriu intracelular (*Chlamydia trachomatis*).

Habitatul intracelular plasează bacteriile într-un mediu bogat în substanțe nutritive, le scutește de competiția cu alte microorganisme și în același timp le protejează de răspunsul imun. Cele mai invazive bacterii sunt cele cu habitat intracelular deoarece supraviețuirea lor în diverse celule și mai ales în fagocite, favorizează diseminarea lor în organism.

Pătrunderea bacteriilor în celula gazdă se face prin **endocitoză**. O serie de bacterii pătrund în celule doar temporar, pentru a fi apoi ejectate. Acest proces se numește **translocare**.

Microorganismele cel mai bine studiate ce invadează celulele organismului gazdă prin translocare sunt cele din genul *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* și *Bordetella*.

8.3. **Toxine bacteriene**

Toxinele bacteriene sunt **substanțe solubile cu efect toxic** asupra organismului. Ele se împart în **exotoxine**, pe care bacteriile le secretă în mediul înconjurător ca un produs al metabolismului propriu, și **endotoxine**, care fac parte din structura peretelui celular la bacteriile gram-negative și sunt eliberate în mediu numai după moartea bacteriei.

8.3.1. **Exotoxine**

Exotoxinele bacteriene sunt proteine biologice active cu o toxicitate de regulă foarte ridicată. Unele dintre ele sunt cele mai puternice otrăvuri cunoscute.

Exotoxinele sunt puternic imunogene și se transformă prin învechire și sub acțiunea formolului în derivați imunogeni, dar netoxici, numite anatoxine. Fiind netoxice, dar imunogene, anatoxinele constituie baza vaccinării împotriva bolilor produse de bacterii toxigene (tetanos, difterie).

Unele bacterii, ca, de pildă, bacilul difteric, tetanic, botulinic, holerici, au ca singur factor de patogenitate toxigena, iar tabloul clinic este caracteristic toxinei respective.

Exotoxinele bacteriene sunt formate din două domenii funcționale polipeptidice legate prin punți disulfurice, fragmentul A și B. Fragmentul B nu este toxic dar asigură atașarea toxinei de receptorii specifici de pe membrana citoplasmatică a celulei țintă facilitând pătrunderea în celulă a fragmentului A care este toxic. După acțiunea lor, exotoxinele se împart în:

- **toxine care blochează sinteza proteinelor celulare** (toxina difterică),
- **neurotoxine**; din această categorie fac parte cele mai puternice exotoxine, exotoxina tetanică (provoacă paralizia spastică a musculaturii striate survenind moartea) și exotoxina botulinică (produce paralizia flască a musculaturii netede);
- **toxine ce modifică metabolismul celulei**; aceste toxine nu duc la moartea celulei, ci la modificarea unei funcții ale acesteia (toxina holerică, toxina termolabilă a *E.coli*, toxina produsă de *Bordetella pertussis* etc.).

8.3.2. **Endotoxine**

Endotoxina este lipopolizaharidul (LPZ) din membrana externă a peretelui celular al bacteriilor gram-negative și joacă un rol important în patogenia infecțiilor produse de aceste microorganisme. Se compune din 3 unități: un glicofosfolipid ce se numește *lipidul A*, o parte numită *core* formată din zaharuri, etanolamină și acid fosforic și *antigenul O*, un lanț lung, de zaharide, mai puțin obișnuite, specific de specie. Partea activă este *lipidul A*, celelalte având rol de carier.

Efectele endotoxinei nu sunt specifice speciei, ci sunt identice indiferent de la ce bacterii gram negative provine. Ea se eliberează numai după distrugerea bacteriilor. În cantități mici produce “reacții de alarmă” benefice organismului. În cantități mari, însă, produce șocul endotoxic ce poate evolua fatal.

Reacțiile de alarmă

• **febra**. Endotoxina acționează ca un pirogen atunci când în țesuturi apare un număr suficient de mare de bacterii gram-negative care să le permită contactul cu circulația sanguină. Endotoxina determină reacția febrilă prin acțiunea ei asupra macrofagelor care vor secreta pirogeni endogeni (interleukina I, Tumor Necrosis Factor);

• **activarea complementului**-pe cale alternativă, ceea ce favorizează liza bacteriilor și chemotaxia fagocitelor în focarul infecțios;

- *activarea macrofagelor*. Sub acțiunea endotoxinei, macrofagele vor secreta enzime lizozomale în cantități crescute, intensificându-și fagocitoza;

- *stimularea limfocitelor B*. Interleukina I secretată de macrofagele activate de endotoxină induce proliferarea limfocitelor B. Din acest considerent, endotoxina este considerată un imunomodelator.

Șocul endotoxic. Reacțiile descrise anterior fac parte din rezistența antiinfecțioasă. În situația când depășesc anumite limite, ele devin foarte nocive organismului. Acest aspect se întâlnește uneori în septicemiile cu bacili gram-negativi, când în organism se eliberează cantități mari de endotoxină și se produce șocul endotoxic. Acesta se caracterizează prin hipotensiune, coagulare intravasculară diseminată, evoluția fiind gravă. Șocul endotoxic poate apărea și în cazul administrării unor perfuzii în care endotoxina provine de la bacili gram negativi omorâți prin sterilizare. Deci, perfuziile trebuie să fie lipsite total de germeni pentru a exclude posibilitatea existenței endotoxinei.

9. REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ NATURALĂ

Mediul înconjurător conține o infinitate de agenți infecțioși, omul fiind supus unei contaminări permanente. Cu toate acestea, la individul sănătos, infecțiile se produc rar, sunt de obicei de durată limitată și dispar fără sechele, datorită mecanismelor rezistenței antiinfecțioase.

Rezistența antiinfecțioasă este suma tuturor mecanismelor care protejează organismul de infecții și cuprinde:

- *Rezistența antiinfecțioasă naturală*, comună tuturor indivizilor unei specii, necondiționată de un contact anterior cu un agent infecțios și care este reprezentată de totalitatea mecanismelor constituționale înnăscute care se opun penetrării și dezvoltării ~~microbilor~~ patogenilor în organism. Cuprinde factorii genetici, barierele externe, mecanismele de recunoaștere a agenților infecțioși, factorii umorali și celulari.
- *Rezistența dobândită sau imunitatea antiinfecțioasă* se dezvoltă pe parcursul vieții, ca urmare a contaminării continue cu diverși agenți infecțioși și care depinde, deci, de experiența individuală a fiecăruia.

9.1. Factorii genetici

Rezistența antiinfecțioasă de specie. Fiecare specie este genetic rezistentă la anumiți agenți etiologici infecțioși. Astfel, de pildă, omul este rezistent față de virusul Carré, agentul etiologic al jigodiei la câine, la virusul hepatitei câinilor sau la pesta aviară. Pe de altă parte, omul este singura specie care face în mod natural infecția sifilitică, *Treponema pallidum* nefiind patogenă pentru alte specii animale.

Rezistența genetică antiinfecțioasă de specie este absolută. Ea se explică prin condițiile improprii pe care un organism le oferă microorganismului față de care este rezistent și prin lipsa receptorilor celulari specifici pentru agentul infecțios respectiv.

Rezistența individuală. În cadrul aceleiași specii, rezistența antiinfecțioasă prezintă variații de rasă și individuale. Este cunoscut faptul că în timpul unor epidemii, ca, de pildă, în cele de poliomielită, unii indivizi fac forme grave de boală infecțioasă, cu sechele, alții forme fruste iar majoritatea infecției clinic inaparente. De asemenea, în timp ce există purtători sănătoși de streptococ beta-hemolitic de grup A, infecțiile streptococice pot produce în funcție de rezistența individuală, infecții faringiene banale sau complicații alergice severe.

Relația dintre factorii genetici și sensibilitatea la diverși agenți infecțioși este deosebit de importantă, infecțiile constituind de-a lungul timpului factorul cel mai puternic al selecției naturale. S-au evidențiat o serie de gene care sunt responsabile de susceptibilitatea la anumite infecții cum sunt cele cu HIV, virusul hepatitei B, tuberculoza, lepra etc.

Tabelul 9.1. Particularitățile rezistenței naturale și a rezistenței dobândite

Caracteristici	Sistemul imun înnăscut	Sistemul imun adaptativ
Receptori	Codificați genetic	Codificați de gene rezultate în urma rearanjării somatice
Distribuție	Nu este clonală, celulele aparținând aceleiași clase fiind egale	Clonală, fiecare celulă fiind purtătoarea unui anumit receptor
Recunoaște	Tipare moleculare asociate mai multor agenți infecțioși - PAMPs	Detalii moleculare ale proteinelor (peptide), zaharidelor
Discriminarea self/nonself	Este perfectă	Imperfectă, deoarece depinde de experiența imunologică a fiecăruia
Timp de acțiune	Imediat, minute, ore	Zile, săptămâni
Răspuns	Molecule stimulatorie (B7) Citokine (IL-1 β , IL-6) Chemokine (IL-8)	Expansiune clonală: anticorpi și LT sensibilizate Citokine: IL-2, IL-4, γ INF

9.2. Barierele anatomice

Integritatea anatomică a organismului este unul din factorii esențiali în apărarea antiinfecțioasă naturală.

Pielea și mucoasele. Tegumentele și mucoasele constituie bariere mecanice eficiente în prevenirea pătrunderii microbilor în organism.

Pielea intactă este impermeabilă prin structura ei pentru majoritatea microorganismelor, cu unele excepții, ca, de exemplu, leptospirele, virusurile papilloma și dermatofiti. Orice leziune a pielii poate constitui punctul de plecare a unei infecții. Astfel, bacilul piocianic, rezident al florei cutanate normale, infectează aproape întotdeauna plăgile arse.

Acizii grași liberi produși de glandele sebacee și de unele specii microbiene de pe suprafața pielii, acidul lactic, rezultat al metabolismului local, pH-ul scăzut (5-6) și uscăciunea relativă a pielii creează condiții nefavorabile dezvoltării majorității microorganismelor, cu excepția germenilor din genurile *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* etc. și conferă pielii proprietăți autosterilizante. Pe suprafața pielii sunt prezente o serie de substanțe antimicrobiene, mai ales peptide care sunt secretate ca precursori și care sub acțiunea unor proteaze devin defensine și catelicidine active și au asupra bacteriilor o acțiune asemănătoare dezinfectantelor. Proprietatea autosterilizantă a pielii curate este superioară celei murdare. Descuamarea continuă a stratului cornos este, de asemenea, o modalitate de îndepărtare a florei bacteriene de pe piele.

Sub epiderm sunt prezente celulele Langerhans (celule dendritice imature), care fagocitează microbii, și migrează până la primul ganglion limfatic unde inițiază răspunsul imun dobândit (sau adaptativ).

Mucoasele, structuri ce delimitează suprafețele interne ale organismului, găzduiesc un mare număr de microorganisme și se opun pătrunderii acestora în organism, nu atât prin rezistența mecanică, cât prin secrețiile cu proprietăți antibacteriene. Astfel, mucusul cervical, lichidul prostatic, lacrimile sau alte secreții au proprietăți bactericide ce se datorează unor substanțe, dintre care amintim lizozimul, activ mai ales pe flora gram-pozitivă și lactoferina, proteină chelatoare ce spoliază mediul de fierul necesar multiplicării bacteriene. Sub membrana bazală a mucoaselor se află țesutul limfatic atașat mucoaselor – MALT – (mucosal-associated lymphoid tissue) care preia antigenele microbiene și declanșează astfel un răspuns imun adaptativ.

Pe suprafața mucoaselor mai este prezentă IgA - secretor care împiedică atașarea bacteriilor de celule prin fixarea și blocarea unor receptori pentru bacterii, inhibă mobilitatea bacteriană, aglutinează unele microorganisme sau neutralizează toxinele lor.

Tractul respirator este prevăzut cu mecanisme de clearance microbial foarte eficiente. Mucoasa respiratorie este lubrefiată cu un strat de mucus. Acesta are proprietăți tensioactive și surfactante inhibând fixarea bacteriilor de celulele epiteliale.

Microorganismele inhalate în particule de praf sau picături mai mari decât 5 μ aderă de mucoasa tractului respirator superior și sunt readuse prin mișcările cililor vibratili în faringele posterior, de unde sunt fie expectorate, fie înghițite. La mișcările cililor se mai adaugă tusea și strănutul, ambele foarte eficiente în eliminarea diverselor impurități din căile respiratorii. Particulele mai mici de 5 μ ajung până în tractul respirator inferior, unde sunt fagocitate de macrofagele alveolare. Fumul de țigară sau alți poluanți, precum și unele bacterii și virusuri (*B. pertussis*, v. gripal) blochează acest clearance, prin paralizia cililor, favorizând producerea unei pneumonii secundare. Intubația sau traheostomia scad eficiența rezistenței naturale în căile respiratorii. La nivelul alveolelor pulmonare este prezent surfactantul A și D, glicoproteine opsonizante cu rol în potențarea fagocitozei.

Tubul digestiv. Microorganismele sunt supuse deja în cavitatea bucală acțiunii salivei care, prin conținutul de lizozim, lezează peretele celular și membrana citoplasmatică a unor bacterii gram-pozitive. La aceasta se adaugă acțiunea unor anticorpi care se pot găsi în salivă.

În stomac, flora bacteriană suferă o reducere drastică sub acțiunea acidului clorhidric din sucul gastric (pH=1,5). În perioadele de vară crește numărul de toxiiinfecții alimentare deoarece consumul de lichide este mare și sucul gastric se diluează. Creșterea consecutivă a pH-ului permite trecerea microbilor de bariera gastrică și înmulțirea lor eficientă în intestin.

Tripsina și celelalte enzime din suc pancreatic au acțiune bactericidă prin hidroliza proteinelor din peretele celular și membrana celulară, iar bila interferează funcțiile vitale ale membranei celulare având și o acțiune neutralizantă asupra unor toxine bacteriene.

Tractul genito – urinar. Urina este în mod normal sterilă. pH-ul acid și curgerea urinei asigură o spălare permanentă a căilor urinare.

Infecțiile urinare sunt mai rare la bărbați, deoarece uretra este lungă (20cm) limitând accesul microbilor în vezica urinară, spre deosebire de uretra feminină (5cm) care permite mai ușor colonizarea vezicii. Rinichii secretă o glicoproteină, proteina Tamm-Horsfall, care este excretată prin urină și are proprietatea de a fixa bacteriile ca un burete, împiedicându-le să se fixeze de uroteliu.

Staza urinară cauzată prin reflux, hipertrofie de prostată sau calculoză renală favorizează înmulțirea microbilor și deci infecția.

Vaginul este protejat parțial de pH-ul acid rezultat în urma metabolizării glicogenului de către bacilii lactici și care este impropriu dezvoltării unui număr mare de specii microbiene.

Lichidul seminal conține spermă, o poliamină dependentă de pH și care inhibă creșterea florei gram pozitive.

Tabelul 9.2. Bariere externe ale rezistenței naturale

Sediu	Mecanisme de protecție
Piele	• barieră mecanică; • secreția de acizi grași; • prezența de peptide cu activitate antibacteriană (defensine, catelicidine)
Cavitate bucală	• enzime • calprotectina: cation chelator bivalent ce restricționează nutriția microbiană • alfa și beta defensine: peptide ce produc liza osmotică a celulelor bacteriene prin formarea de pori în membrana citoplasmatică • lizozimul: desface legăturile dintre acidul N-acetil muramic și N-acetil glucozamină din peptidoglican, fiind activ pe bacteriile gram pozitive • peroxidaza: oxidează enzimele glicolitice ale bacteriilor • anticorpii din salivă; • acțiunea de spălare a salivei;
Aparat respirator	• mișcarea firelor de păr din vestibulul nazal care captează microbi; • enzimele și capacitatea surfactantă a mucusului; • mișcările cililor vibratili; • macrofagele alveolare

Tract digestiv	● pH-ul gastric (1 - 2;) ● enzimele și anticorpii din mucus; ● mișcările peristaltice; ● flora intestinului gros;
Ochi	● lizozimul din lacrimi; ● acțiunea de spălare a lacrimilor;
Ureche	● acțiunea antimicrobiană a cerumenului;
Aparat genitourinar	● pH-ul vaginal, flora locală; ● pH-ul urinii; ● acțiunea de spălare a urinii.

Majoritatea limfocitelor T și B sunt implicate în imunitatea dobândită. Există însă o subpopulație de limfocite T intraepiteliale și limfocite B1 care se găsesc în epiderm și în epiteliul mucoaselor. Ele au mai degrabă un rol efector în cadrul imunității înnăscute decât în imunitatea adaptativă.

Limfocitele T intraepiteliale, cunoscute sub numele de limfocite $T\gamma\delta$, se găsesc mai ales în piele și mucoase și au o diversitate restrânsă de receptori, cu care recunosc tiparele moleculare comune asociate germenilor patogeni (PAMPs). Ele secretă citokine, potențează fagocitoza și distrug celule infectate.

Limfocitele B-1 se găsesc mai ales în cavitatea peritoneală unde recunosc germeni ce au trecut de peretele intestinal. Limfocitele B1 produc IgM circulanți ce constituie anticorpii naturali. Ambele subpopulații joacă rol de santinelă a mucoaselor în apărarea naturală.

Flora normală. Flora normală are o serie de funcții fiziologice, printre care prevenirea colonizării organismului cu floră patogenă. Mecanismele prin care flora normală se opune multiplicării florei patogene sunt:

- competiția pentru același receptor celular,
- competiția pentru un substrat nutritiv,
- secreția unor produși secundari toxici,
- stimularea sistemului imun, care va produce anticorpi naturali, ce vor reacționa încrucișat cu antigenele florei patogene.

Administrarea abuzivă de antibiotice va distruge echilibrul dintre speciile florei normale și unele specii condiționat patogene sau patogene, lipsind organismul de un mecanism antiinfecțios important. Astfel, tratamentul oral îndelungat cu antibiotice va avea ca urmare apariția diareei prin dezvoltarea necontrolată a unei singure specii ca, de pildă, *S.aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile* etc. care fac parte din flora normală și care se mențin la individul sănătos în anumite limite tocmai datorită antagonismului bacterian.

Așa cum am văzut, organismul este apărat față de unele infecții prin zestrea sa ereditară, care nu permite dezvoltarea anumitor germeni. Organismul se opune la

pătrunderii germenilor la care este sensibil, prin bariere externe anatomice și chimice la care se adaugă flora normală a organismului. Dacă totuși germenii au reușit să străbată aceste bariere și ajung în zonele interne sterile ale organismului, intervin receptori **PRR** (Pattern Recognition Receptors) care recunosc tipare de suprafață, comune multor bacterii, virusuri și fungi care se numesc **PAMPs** (Pathogen Associated Molecular Patterns). Ca urmare se secretă o serie de citokine, se activează complementul și se declanșează inflamația. În focarul inflamator se vor acumula PMN, celule dendritice și macrofage, care vor fagocita agenții infecțioși și vor iniția apoi răspunsul imun dobândit. Bineînțeles că există germeni care au dezvoltat strategii ce ocolesc mecanismele rezistenței naturale și care dau infecții la indivizii neimunizați.

Cu toate că mecanismele rezistenței naturale sunt distincte de cele ale rezistenței dobândite, ele nu pot fi separate deoarece se intrică și acționează sinergic. Răspunsul imun nespecific este "triggerul" răspunsului imun dobândit. De asemenea răspunsul imun natural nu este atât de "nespecific" cum a fost descris inițial. Sistemul imun înăscut dispune de vaste posibilități de recunoaștere a multora dintre agenții infecțioși pătrunși în organism și este cel care ia decizia de a răspunde sau nu la o stimulare externă.

9.3. Mecanisme de recunoaștere moleculare a agenților infecțioși în cadrul rezistenței antiinfecțioase înăscute

9.3.1. Molecule de suprafață comune asociate agenților infecțioși-PAMPs

Dacă un microorganism trece de stratul protector al barierelor anatomice, el întâlnește mecanismele de apărare nespecifice înăscute, umorale și celulare, prezente în lipsa unui contact anterior cu agentul infecțios respectiv.

Sistemul rezistenței naturale recunoaște molecule de suprafață care sunt:

- comune multor agenți infecțioși (bacterii, virusuri, fungi)
- neschimbate în cursul evoluției filogenetice
- neexprimate de țesuturile gazdei

Aceste tipare moleculare comune asociate germenilor se numesc **PAMPs - Pathogen Associated Molecular Patterns**. Majoritatea celulelor sunt capabile să recunoască aceste tipare structurale și s-a demonstrat și existența unor receptori solubili plasmatici cu rol de opsonine ce pot activa complementul după unirea cu PAMPs. Se apreciază că sistemul imun înăscut recunoaște în jur de 10^3 PAMPs. Cele mai importante PAMPs pe care le prezintă agenții infecțioși sunt:

- Lipopolizaharidul de perete al bacteriilor gram negative
- Lipoproteine bacteriene
- Porinele

- Peptidoglicanul bacteriilor gram pozitive
- Acizii teichoici și lipoteichoici
- Lipoarabinomanani prezenți în peretele celular al bacteriilor acidoalcoorezistente
- Zaharide scurte care au la capăt fructoză sau manoză
- Flagelina din flagelii bacterieni
- Acizi nucleici virali și bacterieni
- N-formilmetionina, aminoacid ce intră în alcătuirea proteinelor bacteriene
- Acizi lipoteichoici, glicolipide și zimozan la fungi
- Fosforilcolina din membranele celulare bacteriene

9.3.2. *Receptorii de recunoaștere a moleculelor de suprafață- PRR*

Agenții microbieni care exprimă aceste tipare pot fi recunoscuți și eliminați de celule care utilizează sisteme neschimbate, bine conservate de recunoaștere (patternurile de recunoaștere).

Pentru a recunoaște PAMPs de pe suprafața germenilor pe majoritatea celulelor sunt prezenți receptori corepunzători ce se numesc **PRR – Pattern-Recognition-Receptor**. PRR constituie o clasă de proteine care se exprimă la suprafața celulelor ca răspuns la prezența PAMPs sau în prezența unor semnale venite de la celulele proprii aflate în suferință (DAMPs – Danger Associated Molecules Patterns).

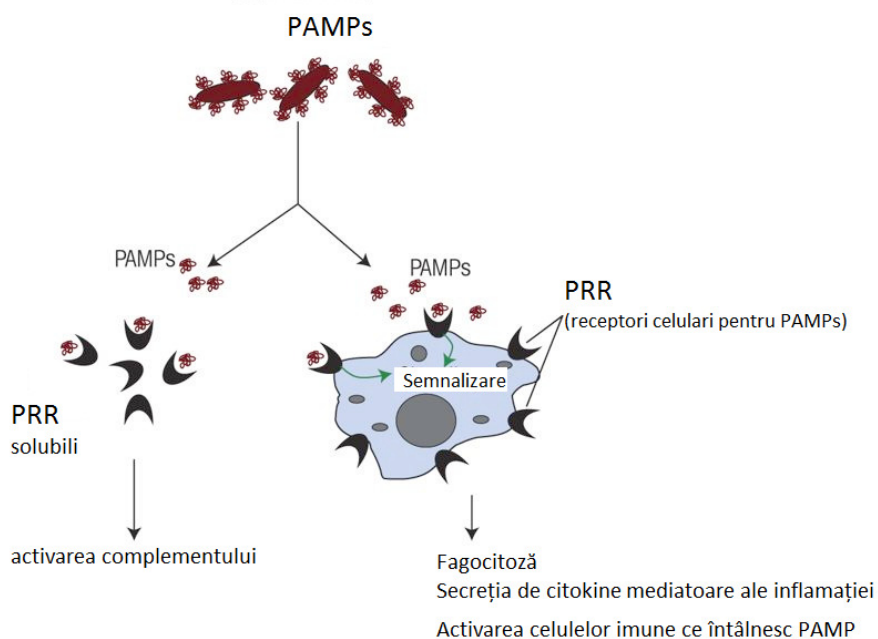


Figura 9.3.1 Relația PAMPs cu PRR (adaptată după Janeway, 2017)

Celulele purtătoare a acestor PRR sunt, mai ales, celulele dendritice, macrofagele, celulele endoteliale, celulele epiteliale ale mucoaselor și limfocitele. Acești receptori sunt codificați de gene ce se moștenesc și nu depind de un contact prealabil cu moleculele de suprafață recunoscute. PRR au fost împărțiți în 3 clase largi în funcție de expresia, localizarea și funcția lor.

9.3.2.1. PRR situați pe sistemul membranar

Atașarea de PAMPs-uri are ca rezultat secreția unor citokine cu rol esențial în inițierea atât a răspunsului imun natural precum și a răspunsului imun dobândit.

Familia receptorilor Toll-like. Numele vine de la asemănarea cu o proteină prezentă la *Drosophyla melanogaster* necesară embriogenezei acestei insecte (Christiane Nüsslein-Volhard, premiul Nobel 1995). Receptorii Toll-like pot fi situați pe membrana citoplasmatică și pe sistemul membranar intracelular (endozomi). Până în prezent se cunosc 13 receptori Toll-like (TLR). Separat, sau în combinație au rol major în apărarea antiinfecțioasă înăscută și declanșarea răspunsului imun specific.

a.TLR situați pe membrana citoplasmatică a celulelor fagocitare și a altor celule

TLR-2: recunoaște peptidoglicanul, lipoproteine bacteriene, acizi lipoteichoici și porine

TLR-4: recunoaște LPZ de perete, manani de la fungi, învelișuri virale, fosfolipide parazitare

TLR-5: recunoaște flagelina

TLR-1 împreună cu TLR-2 recunosc lipopeptide și glicozilfosfatinozitolul de pe suprafața paraziților

TLR-2 împreună cu TLR-6 se leagă de acidul lipoteichoic, peptidoglycan

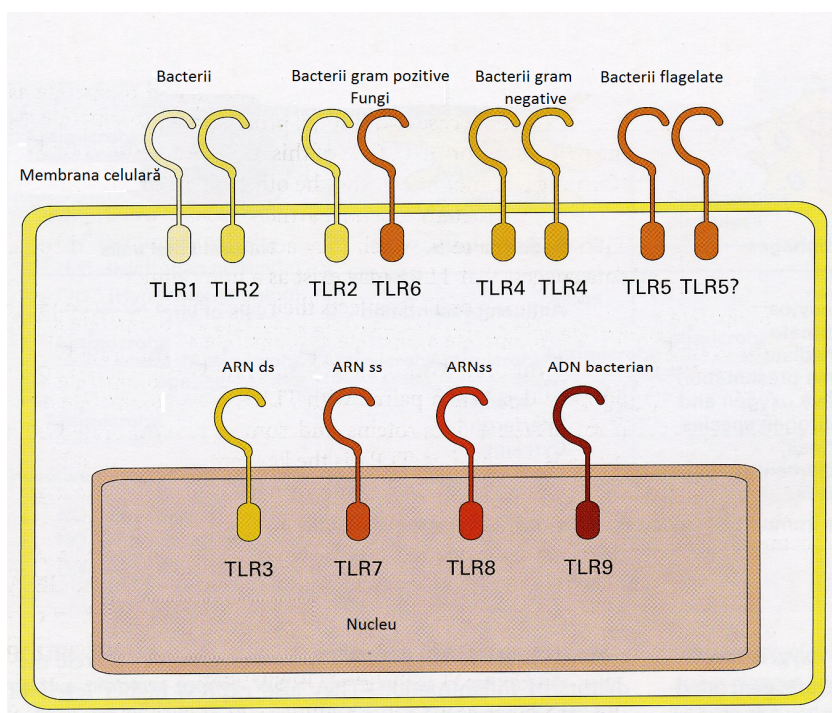


Figura 9.3.2 TLR de suprafață și endozomali ai macrofagelor, PMN și celulelor dendritice (adaptată după Mihăescu, 2021)

TLR care se leagă de PAMPS provenite din peretele celular al bacteriilor stimulează secreția de citokine inflamatoare cum sunt IL-1, IL-6, IL-8, TNF α și IL-12.

b. TLR situați pe membrana sistemului membranelor intracelulare (endozomi)

TLR-3: leagă ARN viral dublu catenar

TLR-7: leagă ARN viral monocatenar cu conținut ridicat de guanină/uracil

TLR-8: leagă ARN viral monocatenar

TLR-9: leagă secvențe de dinucleotide nemetilate de citozină-guanină din genomul bacteriilor și virusurilor

Toll-like receptorii care se leagă de componente virale vor declanșa secreția de interferoni care opresc replicarea virală.

c. PRR care favorizează fagocitoza (endocitari)

Receptorii endocitari sunt situați pe suprafața macrofagelor, PMN și celulelor dendritice și favorizează fagocitoza prin atașarea microorganismelor purtătoare a PAMPs corespondente de aceste celule.

Receptorii pentru manoză: recunosc manoză sau fructoză prezentă pe suprafața microbiană. Sunt importanți în activarea complementului.

Receptori de tip "scavenger": recunosc componente de suprafață ale peretelui celular ca, de pildă, LPZ, peptidoglicanul și acizii teichoici. Recunosc de asemenea celule lezate și infectate

9.3.2.2. *PRR citoplasmatici*

Proteinele NOD sunt proteine citoplasmice care recunosc componente ale peptidoglicanului.

9.3.2.3. *PRR solubili prezenți în plasmă*

PRR care se găsesc liberi în plasmă se leagă de suprafața germenilor și activează complementul. Un astfel de receptor este MBL – o lectină serică (mannan-binding lectin), sintetizată de ficat în cadrul răspunsului de fază acută și care este capabilă să activeze complementul, deci să declanșeze inflamația.

Opsonine: molecule solubile care se leagă cu un capăt de bacterie și cu un capăt de celula fagocitară

- Proteinele de fază acută: MBL (manose binding lectin) și proteina C-reactivă
- Proteinele căii de activare a complementului (C3b)
- Proteinele surfactante din alveolele pulmonare SP-A și SP-D
- Receptori pentru N-formilmetionină a căror legare de bacterii potențează mobilitatea și chemotaxia fagocitelor

9.4. **Mecanismele umorale ale rezistenței naturale**

În esență, pătrunderea microbilor în țesuturi duce la activarea complementului, ceea ce are ca urmare liza celulelor microbiene, pe de o parte, și declanșarea răspunsului inflamator infecțios, pe de altă parte. Cascada de activare a complementului va antrena eliberarea unor mediatori chimici (citokine, proteinele de fază acută, mediatori rezultați din degranularea mastocitelor etc.) care participă direct în procesul inflamator și vor atrage în focarul infecțios fagocitele. Acestea vor înlătura microorganismele invadatoare prin fagocitoză.

9.4.1. *Cascada de activare a complementului*

Complementul este un sistem seric de peste 30 de proteine enzime care, ca și sistemul coagulării și fibrinolizei, se activează în cascadă sub acțiunea unui trigger, rezultatul final fiind bacterioliza și declanșarea inflamației.

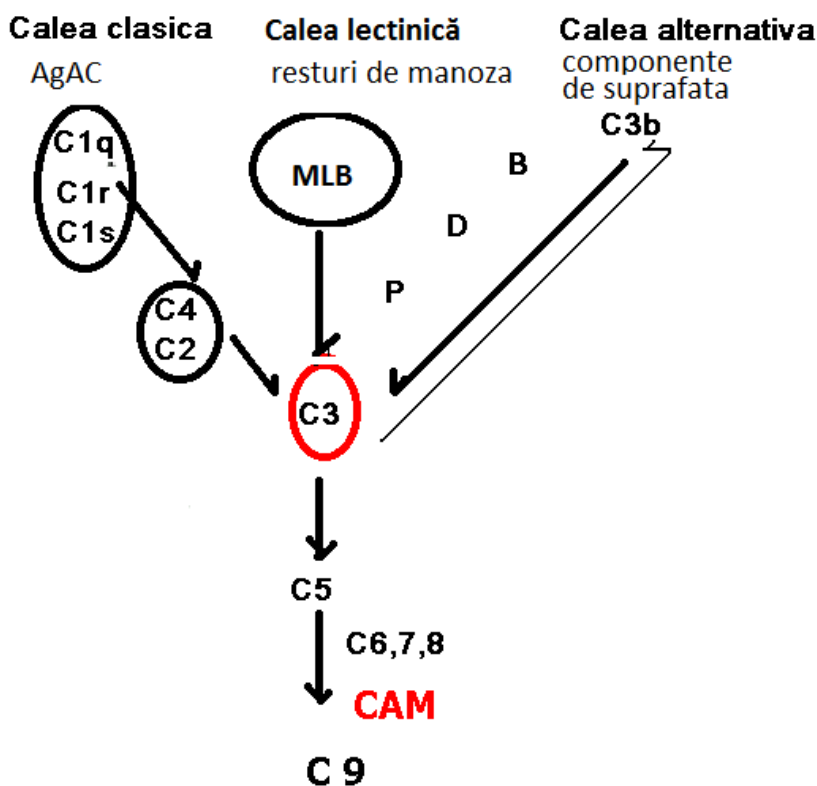
Desemnarea componentelor sistemului complement este îngreunată de numerotarea nelogică în ordinea descoperirii lor și nu în ordinea în care se activează. Componentele majore sunt notate cu C1-C9. Când o componentă se activează, ea se descompune în 2 subunități notate cu literele a și b. De exemplu, factorul C3 se transformă prin activare într-un peptid cu GM mică, notat C3a și unul mai mare, notat C3b. În cazul în care un produs intermediar activat se inactivează, va fi precedat de litera i, de pildă iC3b.

Activarea complementului se poate petrece pe trei căi cu punct de plecare diferit, dar care converg spre aceiași produși finali:

- calea alternativă, mai veche din punct de vedere filogenetic care se activează în absența anticorpilor specifici
- calea lectinică, care este activată de prezența manozei la suprafața bacteriilor, și face parte ca și calea alternativă din rezistența antiinfecțioasă naturală, și
- calea clasică, a cărei activare presupune prezența anticorpilor specifici (IgG și IgM), deci un contact prealabil cu ~~agentul etiologic~~ microorganismul respectiv.

Indiferent de calea de activare, ***momentul esențial în activarea complementului este descompunerea C3 în C3a și C3b sub acțiunea C3-convertazei*** și stabilizarea acesteia prin atașarea de o suprafață. După descompunerea C3, calea este comună celor trei mecanisme de activare, rezultatul fiind formarea complexului de atac al membranei (CAM).

Calea alternativă. În plasma normală C3 este supus permanent unei activări spontane discrete prin clivarea în C3a și C3b. C3b se combină cu factorul B rezultând C3bB. Acesta la rândul său este supus acțiunii factorului D care va transforma C3bB în C3bBb și Ba.



BACTERIOLIZA

Figura 9.4 Schema generală activării complementului (adaptată după Schaechter, 2021).

C3bBb este C3-convertaza căii alternative. Această convertază, rezultată, deci, în mod fiziologic ar putea cliva cantități mari de C3 printr-un feedback pozitiv, asemănător unui cerc vicios, dacă nu ar exista mecanisme foarte riguroase de reglare, prin factorii H și I, ce împiedică activarea spontană a unor cantități mari de C3.

În prezența unor polizaharide de pe suprafața bacteriilor, a endotoxinei și a acizilor teicoici, C3bBb rezultat în urma clivării fiziologice se leagă de suprafața bacteriilor fiind protejat astfel de inactivare. La stabilizarea C3bBb participă și o proteină plasmatică, properdina.

Calea lectinică este activată de lectine serice (MLB-manan-binding-lectin), capabile să se lege de molecule de manoză de pe suprafața microbiană. Acestor lectine li se asociază 2 proteaze, MASP1 și MASP2, enzime ce seamănă cu componentele C1r și C1s ale căii clasice. După fixarea MBL de moleculele de manoză de pe suprafața microbiană, cele două proteaze se atașează de MBL și clivează C4 în C4a și C4b, și C2 în C2a și C2b. C4bC2a este convertaza căii lectinice (similară căii clasice).

Deci, activarea complementului pe calea alternativă și lectinică este rezultatul stabilizării C3bBb (a C3-convertazei) ce poate fi determinată, printre altele, de prezența bacteriilor.

Activarea complementului pe calea clasică se produce de regulă în prezența complexelor antigen-anticorp, deci în urma unui răspuns imunitar. Astfel, bacteriile cu care organismul a mai venit în contact, pătrund în organism și întâlnesc anticorpii corespunzători cu care vor forma complexe antigen anticorp.

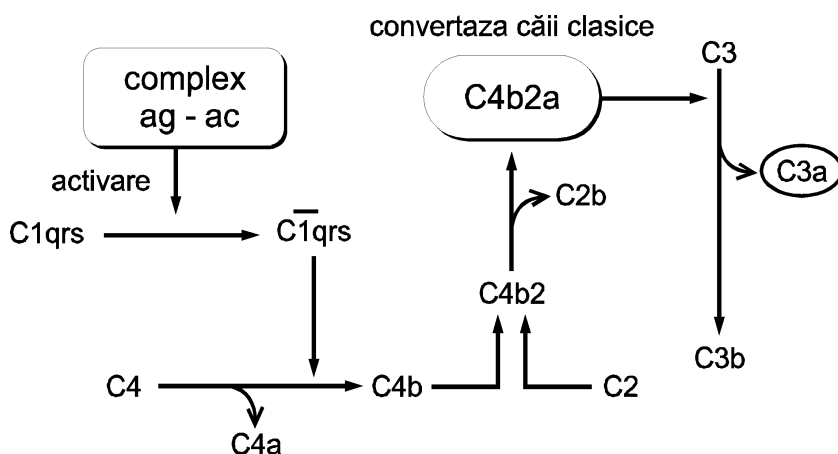


Figura 9.5. Schema activării complementului pe cale clasică (adaptată după Roitt, 2017)

Câte o moleculă de C1q, C1s și două molecule de C1r formează unitatea de recunoaștere care se va lega de complexul antigen-anticorp. Unitatea de recunoaștere va cliva C2 și C4 în C2a, C2b și C4a, C4b. C4b2a va forma C3 convertaza căii clasice, care va cliva C3 în C3a și C3b, piesa esențială în reacțiile următoare.

Formarea complexului de atac al membranei. Indiferent pe ce cale s-a activat complementul, reacțiile următoare sunt comune celor trei căi. C3 convertaza se combină cu C3b formând C5 convertaza (C3b2BbP pentru calea alternativă și C3b4b2a pentru calea clasică și lectinică). C5 se va descompune în C5a și C5b. C5b se fixează pe suprafața celulei pe suprafața căreia se află antigenul - deci în cazul nostru pe suprafața bacteriei. De C5b se vor lega în continuare C6,7,8 care împreună cu mai multe molecule de C9, care polimerizează, formează un complex de atac al membranei ce perforează membrana celulară cu liza consecutivă a celulei bacteriene.

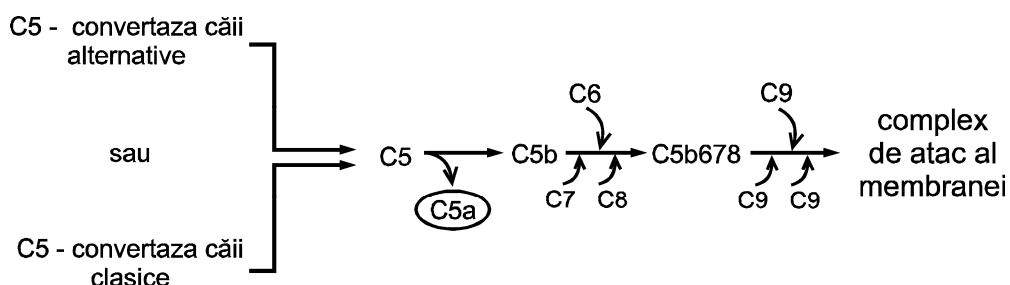


Figura 9.6. Schema formării complexului de atac al membranei (adaptată după Roitt, 2017).

Rolul biologic al complementului

Activarea complementului generează o serie de efecte biologice de o importanță deosebită în rezistența antiinfecțioasă:

- **declanșarea inflamației.** Activarea complementului aduce după sine declanșarea reacției inflamatorii prin produșii intermediari rezultați pe parcursul activării. Astfel, C5a este un puternic factor chemotactic și chemokinet pentru PMN pe care le va aduce în focarul infecțios. C3a și C5a sunt anafilatoxine care vor duce la o degranulare fiziologică a mastocitelor cu eliberarea unor mediatori chimici vasoactivi;

- **citoliza.** Celulele pe care s-a fixat complementul și care în mod fiziologic sunt celulele străine organismului (bacteriile, în cazul de față) sunt lizate sub acțiunea complexului de atac al membranei. În cazuri patologice, complementul se poate fixa de celulele proprii organismului producând distrugerea acestora;

- **opsonizarea.** Fagocitele au pe suprafața lor receptori pentru C3b. Astfel, microbii de care s-a fixat C3b vor adera de celulele fagocitare fiind fagocitați mai eficient.

Deficiențele ereditare ale unor componente ale complementului scad capacitatea de apărare antiinfecțioasă a organismului. Astfel, un deficit de C1q, C1r, C1s, C4, C2 se asociază cu o susceptibilitate crescută pentru infecții cu germeni piogeni. O deficiență de C3 duce la perturbarea activării complementului pe ambele căi. La indivizi cu deficiență de C3 opsonizarea este slabă, eficiența fagocitozei redusă, evoluția infecțiilor putând fi fatală. Deficiența de properdină favorizează infecțiile cu germeni piogeni, remarcându-se în special apariția infecțiilor meningococice cu evoluție fulminantă. Deficiențe ale factorilor C5, C6, C7, C8 și C9 cresc susceptibilitatea pentru infecțiile diseminate cu neisserii.

9.4.2. *Mediatorii inflamației*

9.4.2.1. *Citokine*

Citokinele sunt peptide, asemănătoare hormonilor, cu proprietăți imunomodulatoare, produse de celulele care răspund invaziei microbiene. Ele sunt mesageri chimici care permit comunicarea între celulele sistemului imun, dar și comunicarea cu celulele din afara acestui sistem. Cele care acționează chiar asupra celulelor care le produc sunt denumite autocrine, cele cu efect pe celulele învecinate paracrine, iar cele cu efect pe celule la distanță endocrine. Există multe celule producătoare de citokine, dar cele mai importante sunt macrofagele și limfocitele. Din punct de vedere funcțional distingem 3 categorii de citokine:

- citokinele răspunsului imun înnăscut,
- citokinele răspunsului imun dobândit și
- citokinele care intervin în hematopoeză.

Citokine care intervin în reglarea răspunsului imun înnăscut sunt secretate de macrofage, celule dendritice, LT, NK, celule endoteliale și celulele epiteliilor mucoaselor ca răspuns la stimularea acestora de către PAMPs. Dintre acestea menționăm:

- IL-1: are rol în producerea febrei, creșterea permeabilității vasculare, induce explozia respiratorie în macrofage și PMN
- IL-6: declanșează în ficat sinteza proteinelor de fază acută.
- IL-8: secretată de macrofage la stimularea acestora de IL-1, favorizează migrarea leucocitelor din sânge spre locul inflamației
- TNF α - principala citokină în inflamația acută
 - este un puternic factor chemotactic pentru PMN, contribuind astfel la formarea puroiului în focarul infecțios
 - favorizează agregarea și activarea PMN și eliberarea enzimelor proteolitice din celulele mezenchimale, deci sunt producătoare de leziuni tisulare. În exces produce complicații sistemice - șoc
 - induce răspunsul de fază acută
 - cauzează simptomele generale ale infecției: febra, somnolența, starea de disconfort, durerea musculară.
- IL-12 mediază răspunsul imun natural la germenii cu habitat intracelular. Induce mecanismele imunității mediate celular.

Chemokinele sunt citokine cu GM mică care au rolul de a atrage leucocitele în focarul infecțios și se împart în două categorii:

- Chemokine α , din care fac parte IL-8, factorul trombocitar 4, IFN- γ , factorul de activare a macrofagelor și care atrag în focar mai ales PMN neutrofile și

- Chemokinele β , care atrag monocitele, LT, PMN eozinofile și bazofile și celulele NK.

Citokinele răspunsului imun dobândit le vom descrie la imunitatea dobândită.

9.4.2.2. Interferonii

Interferonii sunt proteine care joacă un rol important în apărarea antiinfecțioasă naturală, constituind prima linie de apărare în infecțiile virale. Ele sunt secretate de celulele infectate cu un virus, sau de prezența în celule a unor substanțe cu rol de inductori de interferoni. Chiar dacă interferonii secretați nu reușesc să salveze celula, ei se vor atașa de suprafața celulelor învecinate, protejându-le pe acestea de infecția virală. Se cunosc 2 tipuri de interferoni:

Interferoni de tip I (glicoproteine GM 20 kD) care mediază rezistența față de virusuri

- IFN- α , - 13 subtipuri, secretat de macrofage și PMN ca urmare a infecției celulelor respective cu un virus sau după stimulare cu diverse componente bacteriene (endotoxina b.gr.-) etc.;
- IFN- β , secretat de fibroblaști în aceleași condiții;

Interferonii de tip II:

- IFN- γ sau interferonul imun secretat de limfocitele T după stimularea acestora cu un antigen față de care limfocitele au fost sensibilizate anterior și de limfocitele NK având activitate antivirală, antimitotică și imunomodulatoare.

Interferonii nu sunt specifici pentru virusul care le-a indus sinteza ci pentru celula producătoare și specia organismului. Astfel, interferonii produși de un animal nu vor fi activi asupra celulelor umane.

În prezent se produce industrial o mare varietate de interferoni umani prin metodele ingineriei genetice. Ei sunt utilizați cu rezultate bune în diverse infecții (hepatită B, C, infecție herpetică, SIDA) și în diverse afecțiuni proliferative cum sunt leucemiile, limfoamele, sindromul Kaposi, etc.

9.4.2.3. Răspunsul de fază acută

Este o reacție generalizată, nespecifică a organismului, stimulată de infecție, inflamație, leziuni tisulare și inconstant de procese proliferative, fiind mediată de citokine dintre care mai importante sunt IL-1, IL-6, TNF α , PGE1 (prostaglandina E1) și interferoni.

Febra este cel mai evident semn al răspunsului de fază acută și este rezultatul acțiunii IL-1, TNF α și alfa interferonului care acționează împreună asupra centrului termoreglării din hipotalamus. La aceasta se adaugă creșterea PMN în sângele

periferic. Se remarcă scăderea fierului și zincului în ser, necesare multiplicării bacteriilor.

Proteinele serice a căror concentrație crește în timpul răspunsului de fază acută sunt: componente ale complementului, proteinele coagulării, proteinele de transport, inhibitori ai proteazelor ce favorizează fagocitoza și stimulează migrația leucocitară.

O proteină de fază acută este proteina C-reactivă (CRP), produsă de celula hepatică stimulată de IL-1. În 24-48 ore de la debutul inflamației acute concentrația serică a CRP crește de mii de ori. CRP se poate lega de polizaharidele unui număr mare de bacterii și fungi. Prin activarea consecutivă a complementului, pe cale alternativă, se facilitează îndepărtarea acestor microorganisme prin bacterioliză și fagocitoză.

9.4.2.4. *Opsoninele și opsonizarea*

Opsoninele sunt substanțe care aderă de suprafața unui microorganism făcându-l accesibil fagocitozei. Există opsonine nespecifice și specifice. C3b, de pildă, opsonină nespecifică care se produce în timpul activării complementului se leagă covalent de microbi. Acest complex, microb-C3b, se leagă de glicoprotein-receptorul pentru C3b prezent pe membrana fagocitelor (CR1). Fiind legat de fagocit, microbul va fi fagocitat eficient.

Alt exemplu de opsonină nespecifică este fibronectina, o glicoproteină cu funcții de opsonină față de bacteriile gram-pozitive. Ea se găsește la suprafața mucoaselor, împiedicând, prin proprietatea de a se lega de flora gram-pozitivă, colonizarea mucoaselor cu floră gram-negativă (de exemplu mucoasa faringiană).

Opsoninele specifice sunt unii anticorpi care, însă, sunt implicați în apărarea antiinfecțioasă dobândită și presupun un contact anterior cu agentul infecțios.

9.4.2.5. *Răspunsul inflamator*

Inflamația acută este rezultatul schimbărilor ce se petrec într-un țesut ca răspuns la o agresiune mecanică, chimică sau infecțioasă.

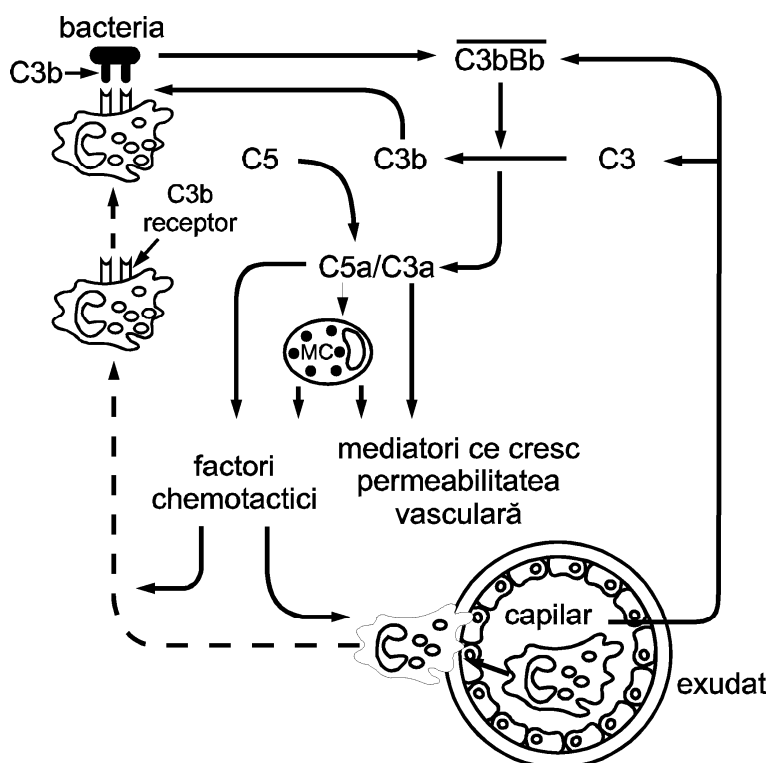


Figura 9.7. Răspunsul acut inflamator mediat prin activarea pe cale alternativă a complementului (adaptată după Roitt, 2017)

Ea este un mecanism de apărare antiinfecțios rapid, care tinde să localizeze infecția și să prevină diseminarea ei. Manifestările locale ale inflamației sunt eritemul (rubor), căldura (calor), durerea (dolor) și edemul (tumor).

Inflamația poate evolua spre vindecare cu *restitutio ad integrum* a țesuturilor sau cu sechele. Deznodământul unei reacții inflamatorii depinde de extinderea procesului inflamator, de microorganismele implicate, precum și de reactivitatea gazdei.

Cele 3 evenimente majore ale inflamației sunt:

- vasodilatația capilară locală,
- modificările structurale microvasculare, și
- acumularea leucocitelor la locul înjuriei.

Vasodilatația capilară. Mediatorii plasmatici ai inflamației, ca, de pildă, complementul, există sub forma unor precursori care, așa cum am văzut, devin biologic activi numai după activare. Activarea C3 a complementului este o etapă critică a inflamației.

C3a și C5a rezultate în cursul activării complementului sunt anafilatoxine puternice ce determină degranularea mastocitelor cu eliberarea unor mediatori chimici.

O parte dintre aceștia sunt preformați, așa cum este histamina. Ea are acțiune vasodilatatoare asupra capilarelor, crescând totodată și permeabilitatea acestora. În consecință, se produce o exudare din capilare spre zona infectată a plasmiei cu mediatorii pe care aceasta îi conține.

Modificările structurale microvasculare și acumularea de leucocite. Sub acțiunea unor mediatorii chimici rezultați în timpul activării complementului și secretați de macrofagele stimulate de toxine bacteriene se modifică endoteliul capilar, care permite adeziunea PMN de acesta.

PMN sunt atrase de factorii chemotactici de natură bacteriană, de cei produși în urma activării complementului și de cei rezultați din degranularea mastocitelor. Ele vor părăsi capilarul prin diapedeză și se vor îndrepta către focarul inflamator unde vor distruge microbii prin fagocitoză.

9.4.3. *Mecanisme celulare nespecifice*

9.4.3.1. *Fagocitoza*

Fagocitoza este proprietatea unor celule de a îngloba și digera particule străine organismului fiind un mecanism important de îndepărtare a microorganismelor și a celulelor lezate. Celulele fagocitare sunt: macrofagele și PMN neutrofile și eozinofile. În anumite condiții și alte celule - fagocite facultative - pot dobândi proprietăți fagocitare, ca, de pildă, fibroblaștii.

Polimorfonuclearele neutrofile operează ca un front în apărarea față de agenții patogeni. Numărul lor crește în timpul unei infecții bacteriene, dar scade în infecțiile virale.

PMN, precum și macrofagele fagocitează o gamă largă de antigene, mai ales bacterii opsonizate. După înglobare, antigenele străine sunt distruse de enzimele lizozomale. PMN au în citoplasma lor granulații primare azurofile ce conțin mieloperoxidază și alte enzime cum sunt beta-glucuronidază, elastaza și catepsina G. Granulațiile specifice, neutrofile conțin lizozim și lactoferină. Aceste enzime hidrolitice și digestive sunt eliberate în fagozom favorizând digestia materialului fagocitat. Frecvent, leucocitele sunt distruse în urma fagocitozei, ca în cazul infecțiilor cu germeni piogeni (stafilococi, streptococi, neisserii). Ele reprezintă celulele “kamikaze” ale apărării antiinfecțioase, deoarece sosesc primele la locul injuriei.

Polimorfonuclearele eozinofile reprezintă 1-3% din totalul leucocitelor sanguine. Numărul lor crește în timpul reacțiilor alergice, în cazul infecțiilor parazitare. Ele iau parte la apărarea antiparazitară și conțin enzime ce metabolizează histamina și leucotrienele fiind astfel capabile să joace un rol important în limitarea reacțiilor alergice. Pe de altă parte, ele conțin proteine toxice, ca, de pildă, proteina majoră bazică ce duce la distrugerea celulelor epiteliale în tractul respirator, fiind responsabile de inflamația cronică în astmul bronșic.

Eozinofilele fagocitează complexe antigen-anticorp precum și unele resturi antigenice ce rezultă din răspunsul imun și care în alte condiții ar duce la boli autoimune.

Polimorfonuclearele bazofile reprezintă aproximativ 0.5% din leucocite și sunt echivalentul mastocitelor tisulare. Bazofilele au granulații mari ce conțin numeroși mediatori chimici și precursorii acestora, ca, de exemplu, histamina, leucotriene, prostaglandine, factori activatori ai trombocitelor, etc. Acești mediatori sunt eliberați, în mod normal, la nevoie, în cantități reduse. Eliberarea lor masivă poate fi dăunătoare și poate duce la reacții alergice de tip I anafilatic, ca: astm bronșic, urticarie, febră de fân sau chiar șoc.

Fagocitele mononucleare includ monocitele din sânge și macrofagele tisulare. Ele sunt capabile să fagociteze microorgansime opsonizate, să distrugă unele dintre ele dar nu pe toate. Unele microorgansime (micobacterii, listerii, brucelle, cryptococi, toxoplasme) supraviețuiesc și se înmulțesc în macrofage. În acest caz celula servește ca factor de diseminare al infecției, protejând microorganismele respective. În cadrul proceselor imunitare mediate celular, monocitele activate pot omorâ germeii patogeni intracelulari.

Fagocitoza prin PMN. PMN apar primele ca răspuns într-o inflamație acută, urmate mai târziu de macrofage. Factorii chemotactici sunt eliberați de numeroși microbi. Acești factori sunt atracțanți puternici pentru celulele fagocitare care au receptori specifici.

Fagocitoza are următoarele etape: chemotaxia, opsonizarea, atașarea, internalizarea și digestia

- Chemotaxia. Fagocitele sunt atrase în focarul infecțios de factori de origine bacteriană și factori chemotactici ce apar în cursul inflamației, cum sunt: C5a, kalicreina produsă de țesuturile lezate, produși rezultați din metabolismul acidului arahidonic (prostaglandine, tromboxan, leucotriene). Aceste substanțe favorizează exprimarea receptorilor pentru C3b al fagocitelor. Fagocitele părăsesc capilarele prin diapedeză.
- Opsonizarea. Reprezintă faza în care microorganismele sunt pregătite pentru fagocitoză și aderă de fagocite. Această aderare comportă 4 modalități ce definesc eficiența fagocitozei.

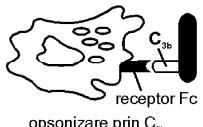
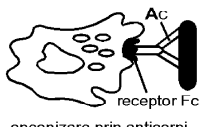
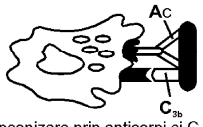
FAGOCIT	OPSONIZARE	ADERENȚĂ	EFICIENȚĂ
1 	—	—	+/-
2  opsonizare prin C _{3b}	+	+	++++
3  opsonizare prin anticorpi	++	++	++++
4  opsonizare prin anticorpi și C _{3b}	+++	+++	+++++

Figura 9.8. Eficiența fagocitozei în funcție de opsonizare
(adaptată după Roitt, 2017)

Menționăm că ultimele două posibilități aparțin rezistenței antiinfecțioase dobândite, deoarece presupun participarea anticorpilor rezultați în urma unui răspuns imunitar.

- Înglobarea. După atașare, particulele sunt înglobate într-o vacuolă formată din membrana citoplasmatică. Această vacuolă, sau fagozom, va fuziona cu lizozomii primari pentru a forma fagolizozomii în care enzimele lizozomale vor declanșa digestia. Totodată are loc explozia respiratorie care este de fapt o activare puternică a metabolismul oxidativ al PMN.

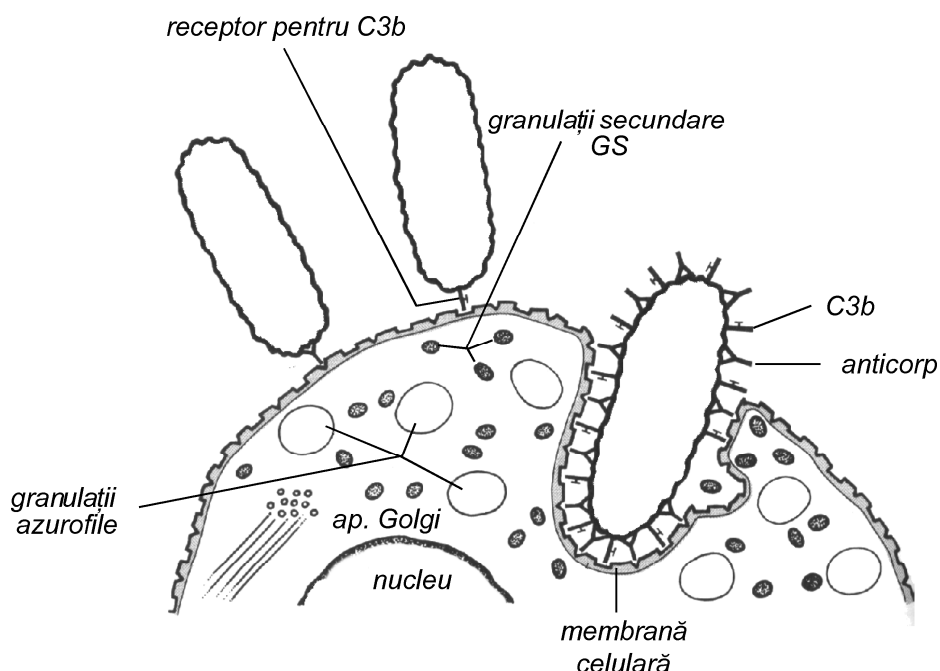


Figura 9.9. Înglobarea unei bacterii opsonizate de C3b și IgG
(adaptată după Schaechter, 2021)

- Digestia. Distrugerea microbilor sub acțiune enzimelor lizozomale se petrece prin două mecanisme:
 - mecanismele dependente de oxigen sunt consecința “exploziei respiratorii” (intensificare bruscă a metabolismului) ce însoțește fagocitoza și pe parcursul căreia se formează ioni de superoxid (O_3^-), oxigen atomic (O^-), radicali hidroxili, peroxid de hidrogen (H_2O_2) și hipoclorit. Toți acești produși sunt puternic bactericizi
 - mecanismele bactericide independente de oxigen se datorează unor *enzime hidrolitice* (catepsina, glicozidaza, arilsulfataza) ce digeră peretele celular al microbilor,
 - defensine: proteine cationice care se leagă de peretele celular și determină formarea unor canale ce străpung peretele;
 - lizozimul care atacă peptidoglicanul;
 - lactoferina care spoliază mediul de fierul necesar bacteriilor.

Fagocitoza prin PMN este principalul mecanism de apărare față de bacteriile piogene.

Fagocitoza prin macrofage. Rolul fagocitozei prin PMN este distrugerea bacteriilor. Macrofagele intervin mai târziu în focarul infecțios, unde vor fagocita microbi și detritusurile celulare rezultate în urma leucocitelor distruse la locul

injuriei. Fazele fagocitozei prin macrofage sunt asemănătoare cu cele descrise mai sus, dar, spre deosebire de PMN, macrofagele se pot activa dacă sunt stimulate corespunzător. Ele se activează sub acțiunea unor substanțe ce apar în urma prezenței microorganismelor, ca, de pildă, C3b și γ -interferon, unele componente bacteriene, cum ar fi endotoxinele, și de limfocitele Tdh în cadrul răspunsului imun celular. Cu toate acestea, unele bacterii, protozoare sau fungi sunt capabile să supraviețuiască și să se multiplice în macrofagul neactivat (micobacterii, brucelle, criptococi, listerii etc.). După activare unele dintre ele pot fi distruse. Deci, fagocitoza efectuată de macrofage este eficientă asupra microorganismelor cu habitat intracelular. Uneori, însă, microorganismele nu sunt distruse și supraviețuiesc pe durată lungă în macrofag, rezultatul fiind inflamația cronică.

Fagocitoza prin macrofage are, pe lângă rolul de a îndepărta bacteriile, mai ales cele cu habitat intracelular, și cel de a iniția răspunsul imun. Macrofagele sunt celule prezentatoare de antigen care după prelucrarea acestuia îl prezintă limfocitelor Th sensibilizate, deci a celor cu memorie. Limfocitele Th naive sunt stimulate de celulele dendritice care sunt celule prezentatoare de antigen (CPA) profesioniste.

aderarea bacteriilor de macrofag

înglobarea bacteriilor de macrofag



formarea fagolizozomilor



eliberarea bacteriilor distruse



antigenul bacterian prelucrat , reținut în celulă pentru a fi prezentat sistemului imun

Figura 9.10. Fagocitoza prin macrofage (adaptată după Delves, 2017).

9.4.3.2. Limfocitele NK

Celulele NK sunt limfocite citotoxice naturale care există deja la naștere. Ele nu sunt fagocite, dar pot ataca și distruge în mod nespecific celule infectate cu virusuri sau chiar celule tumorale.

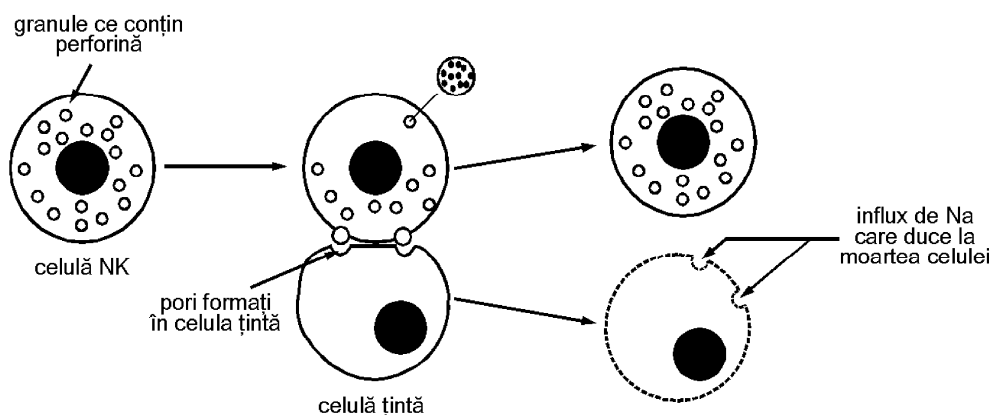


Figura 9.11. Acțiunea limfocitelor NK asupra celulelor tumorale sau virus infectate (adaptată după Delves, 2017).

În contact cu celulele infectate, celulele NK secretă o perforină înrudită cu C9 a complementului. Aceasta polimerizează pe membrana celulei țintă și formează aici canale ce distrug integritatea acestora.

10. REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ DOBÂNDITĂ

Apariția unor substanțe străine organismului este recepționată de sistemul imun care:

- discriminează “selful” de “non-self”;
- răspunde prin efectori umorali și celulari care vor elimina ceea ce este străin organismului, menținând astfel individualitatea și integritatea acestuia;
- memorează acest răspuns

Funcționalitatea sistemului imun se bazează pe complementaritatea sterică dintre doi parteneri.

Primul partener, perceput de sistemul imun ca non-self, se numește antigen și are capacitatea de a induce modificări biologice ale sistemului imun, care constau, în esență, în apariția efectorilor imuni umorali (anticorpi) și/sau celulari (limfocite sensibilizate).

Partenerul reacției imune care provine din partea organismului se numește anticorp în ser și secreții și receptor pentru antigen când se constituie ca parte componentă a membranei celulare a limfocitelor (BCR pentru limfocitul B și TCR pentru limfocitul T).

Reacțiile imunologice care au loc între antigen și efectorii imuni a căror formare a indus-o pot avea consecințe diferite asupra organismului. La o extremitate a acestor reacții stau cele fiziologice, care asigură imunitatea organismului și pe care omul încearcă să le provoace artificial prin imunizare pasivă (seroterapie) sau activă (vaccinare). La cealaltă extremitate stau reacțiile imunopatologice, care sunt defavorabile organismului, fie că sunt îndreptate spre un agent infecțios, fie spre propriile antigene pe care organismul nu le mai recunoaște ca proprii (reacții autoimune). În aceste cazuri omul caută să intervină prin depresia reacțiilor imunologice.

10.1. Antigenele

10.1.1. *Definiție. Antigene complete. Haptene*

Antigenele sunt substanțe capabile de a interacționa specific cu receptorii pentru antigen (anticorp, BCR1, TCR2). Datorită configurației de suprafață, antigenele sunt recunoscute de organism ca străine, ca “non-self”. În unele situații patologice chiar și unele substanțe proprii ale organismului pot deveni antigenice, nemaifiind recunoscute de organism ca self.

Un agent infecțios, indiferent de natura lui, este un mozaic de antigene capabile, fiecare în parte, să producă un răspuns imunitar.

Antigenele complete au două proprietăți de bază:

- imunogenitatea, care este capacitatea unui antigen de a induce un răspuns imunitar (umoral sau/și celular), și
- antigenicitatea, care este proprietatea antigenelor de a reacționa în mod specific cu efectorii imuni (anticorpi, limfocite sensibilizate T sau B) a căror producere au indus-o.

Haptenele sunt antigene incomplete lipsite de imunogenitate, deci de proprietatea de a induce ele înșile un răspuns imunitar, dar sunt capabile să reacționeze cu anticorpi specifici. Contradicția din definiția de mai sus se explică prin faptul că o haptenă devine imunogenă legată covalent de o moleculă mai mare, numită “carrier”. Anticorpii care se vor forma vor reacționa la un contact ulterior și cu haptena liberă fără ca aceasta să fie asociată cu carrierul.

Epitopii. Grupările unui antigen care sunt recunoscute de organism ca “non-self” se numesc epitopi. Partea complementară a efectorilor imuni (anticorpi sau receptori de pe suprafața limfocitelor) se numește paratop. Un antigen poartă în general mai mulți epitopi diferiți față de care organismul va produce tot atâția efectori imuni cu paratopi diferiți. S-au descris și antigene cu epitopi identici repetitivi. Aceste antigene sunt în general polizaharide.

Poziția epitopilor într-un antigen este diferită și în funcție de această poziție pot fi recunoscuți de limfocitele - T sau B.

Epitopii care vor fi recunoscuți de anticorpi sau *limfocitele B* sunt proeminențe ale unor molecule ghemuite la suprafața antigenului și se numesc *epitopi structurali sau epitopi B*. Acești epitopi nu sunt imunogeni decât în stare nativă, denaturarea substanței modificând imunogenitatea acestor epitopi.



Figura 10.1.Epitop B – structural (adaptată după Alberts, 2022)

Limfocitele T recunosc doar epitopi situați în interiorul moleculei de antigen (care este o proteină) și care sunt *peptide scurte* (8-10 aminoacizi). Acești epitopi liniari se numesc *epitopi secvențiali sau epitopi T*. Ei sunt recunoscuți de

limfocitele Th doar după prelucrarea antigenului de către celulele prezentatoare de antigen (CPA) și după ce ajung la suprafața acestora, în asociere cu antigenul de histocompatibilitate de clasa II (MHC-II).



Figura 10.2. Epitop T – secvențial (adaptată după Alberts, 2022).

Deci, limfocitul B recunoaște epitopul ca o parte a moleculei intacte de antigen, pe când limfocitul T își vede epitopul corespunzător doar după descompunerea moleculei proteice.

Antigenele pot fi timodependente stimulând sistemul imun prin intermediul limfocitelor T după prelucrare macrofagică și timoindependente care stimulează direct limfocitele B, în stare nativă, fără intervenția limfocitelor T. Antigenele timodependente sunt proteine, iar cele timoindependente sunt în general polizaharidele și antigenele cu epitopi repetitivi.

10.1.2. **Factori care influențează imunogenitatea**

Antigenele trebuie să aibă o anumită configurație de suprafață și o structură chimică ce le conferă caracterul de “non-self”, deci de străin de organism.

Natura chimică a antigenelor este foarte variată. Cele mai bune antigene sunt proteinele urmate de polizaharide, care sunt antigene și haptene foarte bune, apoi de lipide și acizi nucleici, care sunt cel mai ades haptene.

Intensitatea răspunsului imun față de un antigen este în funcție de natura chimică, persistența în organism, doza, ritmul, intervalul și calea de administrare. Cunoașterea răspunsului în funcție de acești factori stă la baza elaborării calendarului de vaccinare.

Administrarea antigenelor cuplate cu adjuvanți induce un răspuns imunitar mai intens, deoarece crește perioada de remanență a antigenului în organism.

Studiul răspunsului imun față de antigenele cuplate și necuplate cu adjuvanți este foarte important, deoarece antigenele de pe suprafața bacteriilor nu induc niciodată răspunsuri imune în stare pură, ci cuplate cu corpul bacterian, a cărui componente cu rol adjuvant, influențează răspunsul imun.

10.1.3. **Antigene microbiene**

Microorganismele sunt mozaicuri de antigene. Acestea sunt fie structurale legate de structura microorganismului (bacterii, virusuri fungi etc.), fie solubile, secretate de microorganism în mediul înconjurător (enzime, exotoxine).

Dintre antigenele structurale, cele mai importante sunt antigenele de suprafață (polizaharidele capsulare, componente ale peretelui celular, capside și anvelope virale, etc.). Componentele microbiene interne pot fi și ele antigenice, dar numai în cazul în care se eliberează în mediu după liza bacteriei.

Antigenele care sunt implicate în patogenitatea agenților infecțioși se numesc antigene de patogenitate. Dintre acestea amintim câteva exemple:

- antigenele capsulare (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella*, *Bacillus anthracis*, antigenul de înveliș Vi al bacilului tific, antigenul K al bacilului coli enteropatogen etc.) cu rol antifagocitar
- antigenele de perete (antigenul O din peretele bacteriilor gram-negative, proteina M la *Streptococcus pyogenes*, proteina A la *Staphylococcus aureus*),
- exoenzimele (coagulaza, hemolizinele secretate de *Staphylococcus aureus*, fibrinolizinele streptococului beta-hemolitic de grup A etc.),
- exotoxinele (difterică, tetanică, diferitele enterotoxine etc.)

Imunogenitatea antigenelor microbiene depinde de mai mulți factori, cum sunt: predispoziția genetică a gazdei, cantitatea, forma de prezentare a antigenului, care practic nu este niciodată pur, fiind combinat cu diverși adjuvanți sau carieri ce aparțin peretelui bacterian, cililor, capsulei etc. La acești factori se mai adaugă variabilitatea antigenică a unor microorganisme și modificările pe care le pot suferi antigenele bacteriene în organism.

Răspunsul imunitar diferă, de asemenea, în funcție de habitatul bacteriilor în organismul infectat, Astfel, agenții infecțioși care se înmulțesc în mediul extracelular induc un răspuns predominant umoral, pe când cei cu habitat facultativ sau obligatoriu intracelular un răspuns predominant celular.

Structura antigenică a agenților infecțioși este importantă deoarece pe baza ei putem recunoaște diferiții agenți prin intermediul serurilor imune care conțin anticorpi specifici cunoscuți. Antigenele pe baza cărora agenții infecțioși se încadrează în diferite unități taxonomice (specii, tipuri, subtipuri) se numesc antigene de specificitate. De pildă, salmonelele se împart în grupe pe baza antigenului “O” prezent în peretele celular și în tipuri pe baza antigenelor flagelare “H”. Același antigen poate fi antigen de patogenitate precum și de specificitate. Astfel,

polizaharidul capsular al pneumococului este în acelaș timp factor de patogenitate precum și criteriu de clasificare a speciei în tipuri. Virusurile gripale se impart în tipuri și subtipuri de asemenea pe baza structurii antigenice.

10.1.4. **Superantigene**

Superantigenele sunt antigene T-dependente care stimulează în mod nespecific, necontrolat și dramatic proliferarea limfocitelor T. Legate de MHC II de pe suprafața CPA, ele nu se leagă de situsul specific pentru antigen al limfocitului T (TCR) activând o singură clona de limfocite (0.001-0.0001% din limfocitele T) ci în mod nespecific de porțiunea laterală a acestuia, având afinitate pentru lanțurile de tip V β ale TCR (receptor pentru antigen al limfocitului T). Acest fapt are ca urmare activarea policlonală a limfocitelor T (pâna la 83% din limfocitele T). Cantitatea enormă de citokine secretate de numărul mare de limfocite T activate, în mod nespecific, determină manifestări clinice foarte grave, cum este șocul. Există o mare varietate de superantigene exogene, dintre care amintim unele exotoxine bacteriene și virusuri. Astfel, de pildă, exotoxinele secretate de *S.aureus*, eritrotoxinele streptococice, diferitele enterotoxine sunt superantigene responsabile de manifestările clinice a căror gravitate merge pâna la șoc.

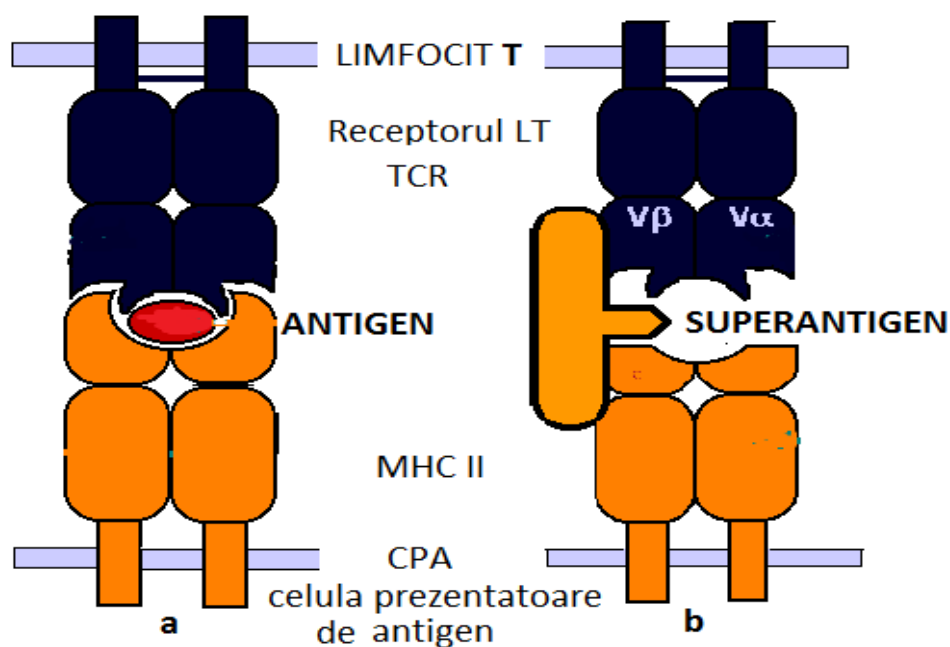


Figura 10.3. Modul de legare a superantigenelor (adaptată după Abbas, 2022)

În figură sunt reprezentate două modalități de stimulare a limfocitelor T. Astfel, în prima situație (a), antigenul prelucrat de CPA este prezentat limfocitului Th care stimulat va urma calea fiziologică a răspunsului imun. Din situația a doua (b) rezultă capacitatea superantigenului de a se lega nespecific de partea laterală a limfocitelor T care au în structura receptorului lor lanțul V β .

În organism pot lua naștere în mod patologic superantigene endogene care stau la baza multor imunopatii.

10.2. Sistemul celular imunocompetent

Organele sistemului imun sau organele limfoide sunt răspândite în tot organismul și implicate în creșterea, diferențierea și activitatea limfocitelor.

Precursorul tuturor celulelor implicate în răspunsul imun este celula sușă, omnipotentă, care apare în insulele lui Wolf din sacul vitelin, în primul trimestru al vieții intrauterine. De aici vor migra spre ficat și splină în trimestrul II. În trimestrul III ajung în măduva roșie, de unde vor migra mai departe în organele limfoide primare.

10.2.1. *Organele limfoide primare*

Sunt măduva osoasă roșie și timusul. În aceste organe limfocitele devin celule imunocompetente, dobândind repertoriul de recunoaștere a antigenelor și proprietatea de a deosebi “selful” de “non-self”. Acest proces de “școlarizare” se desfășoară în absența antigenelor din mediul extern.

În timus proliferază limfocitele T, din care 10% dobândesc caracterul imunocompetent, iar restul de 90% sunt distruse.

La păsări, limfocitele B migrează și se diferențiază într-un organ numit bursa lui Fabricius. La mamifere, deci și la om, ele rămân în măduva roșie și se diferențiază aici, măduva roșie fiind și un organ limfoid secundar.

10.2.2. *Organele limfoide secundare*

După diferențierea lor în organele limfoide primare, limfocitele B și T migrează pe calea vaselor sanguine și limfatice în organele limfoide secundare, care sunt ganglioni limfatici, splina, amigdalele și țesutul limfoid atașat mucoaselor (MALT).

Limfocitele imunocompetente care populează organele limfoide secundare sunt celule antigen-reactive. Deci spre deosebire de organele limfoide primare, unde instruirea se face în absența antigenului, în organele limfoide secundare prezența acestuia este obligatorie.

Ganglionii limfatici au rolul unui filtru pentru antigenele venite pe cale limfatică și care vor fi preluate de celulele prezentatoare de antigen (CPA): macrofage, celulele foliculare dendritice).

Sub capsula conjunctivă a ganglionilor se află sinusul subcapsular, marginat de macrofage. Limfocitele și antigenele ajung din alte regiuni aici prin vasele limfatice aferente.

Zona corticală a ganglionului conține limfocitele B organizate în foliculi limfoizi, care prezintă centrii germinali dacă au fost stimulați antigenic.

Zona paracorticală conține limfocite T care sunt în contact strâns cu celulele dendritice (prezentatoare de antigen).

Zona medulară conține limfocitele T și B, plasmocite, dispuse în cordoane și macrofage așezate de-a lungul traveelor conjunctive. În trecerea limfei de la vasul limfatic aferent spre cel eferent, antigenele sunt fagocitate de macrofagele din zona medulară.

Fiecare ganglion limfatic are o vascularizație arterială și venoasă proprie. Limfocitele circulante intră în ganglion la nivelul endoteliului specializat al venulelor postcapilare a zonei paracorticeale. Limfocitele nu pot părăsi ganglionul decât prin vasul limfatic eferent. Pentru a ajunge din nou în circulația sanguină trebuie să străbată toată circulația limfatică până la vena subclaviculară.

Splina este formată din pulpa roșie implicată în distrugerea eritrocitelor îmbătrânite și pulpa albă care reprezintă țesutul limfoid al splinei. Acest țesut este organizat în jurul arteriolelor centrale, constituind arii limfoide periarteriolare. Ele cuprind o zonă adiacentă arteriolei care conține limfocite T, în jurul acestei zone dispunându-se limfocitele B, organizate fie în foliculi primari nestimulați, fie în foliculi secundari stimulați ce conțin centri germinali. În zona marginală a centrilor germinali se găsesc macrofage și celule dendritice. Limfocitele intră și părăsesc splina pe cale sanguină, deoarece splina nu dispune de un drenaj limfatic asemănător ganglionilor limfatici.

Sistemul imun al mucoaselor (MALT) este format din țesut limfoid atașat mucoasei gastrointestinale, respiratorii și a tractului uro-genital și este deosebit de important în apărarea antiinfecțioasă dobândită deoarece este principala barieră antiinfecțioasă față de microorganismele care pătrund în organism pe cale digestivă, respiratorie și urogenitală.

Mai bine cunoscut este țesutul limfoid asociat bronhiilor (BALT) cu rolul de a capta antigenele venite pe calea aerului și țesutul limfoid asociat intestinului (GALT) care preia antigenele venite pe cale digestivă.

BALT este format din foliculi și alte agregate limfocitare dispuse în întreg sistemul bronșic, mai ales la bifurcația bronșilor, bronhiilor și bronhiolelor. Dispune de o rețea foarte organizată de capilare, arteriole, venule și vase limfatice eferente ceea ce arată că joacă un rol de filtru pentru toate antigenele care ajung aici, fie pe

cale respiratorie, fie circulatorie. Antigenele venite pe cale respiratorie sunt preluate de celulele M sau Owen.

GALT este alcătuit din plăcile lui Peyer (aglomerări submucoase de limfocite B și T de-a lungul intestinului care sunt stimulate de antigenele ce pătrund pe cale digestivă) și limfocitele intraepiteliale.

Situate deasupra plăcilor lui Peyer înspre lumenul intestinal se află celulele M sau celulele lui Owen. Ele au formă de potcoavă cu concavitatea spre plăcile Peyer și sunt specializate în preluarea antigenelor din intestin. Ele vor prelua antigenul prin pinocitoză, dar nu îl prelucrează ci îl eliberează prin transcitoză la celălalt pol unde este preluat de celulele dendritice. Acestea vor prezenta epitopii limfocitelor T și B ducând la diferențierea acestora. Celule M pot prelua în anumite situații proteine solubile precum și antigene particulare cum sunt unele virusuri, bacterii și protozoare. În general pătrunderea acestora din urmă ar trebui să fie împiedicată de IgA secretor ce se află pe mucoasa digestivă, dar unele microorganisme au dezvoltat mecanisme de eludare a acestei bariere de apărare.

Limfocitele B sensibilizate de antigen și care vor produce IgA părăsesc plăcile lui Peyer și ajung mai întâi în ganglionii limfatici regionali (mezenterici). De aici, urmând calea vaselor eferente, ajung în canalul toracic și în circulația generală. Majoritatea acestor limfocite B reintră în lamina proprie a mucoasei intestinale, fenomen denumit "homing limfocitar". O mică parte din limfocitele B care au părăsit inițial intestinul, părăsesc torentul sanguin și se îndreaptă spre alte țesuturi limfoide mucoase (tract respirator, urogenital, bronșii etc) sau în glande cu secreția exocrină (salivare, mamare) unde se vor transforma tot în plasmocite secretoare de IgA. În acest fel informația antigenică este răspândită în întreg organismul.

După așezarea lor, ele se maturează spre plasmocite secretoare de IgA dimer. Cele două molecule de IgA sunt legate între ele printr-un lanț J, apoi trec prin celulele epiteliale dobândind piesa secretorie. De la contactul celulelor M cu un antigen trec 30-50 de zile până la apariția anticorpilor pe suprafața mucoasei respiratorii.

Deci, pătrunderea antigenelor pe cale respiratorie și digestivă poate duce la apariția unor anticorpi protectori de tip IgA la suprafața mucoasei nazale, bronșice sau intestinale. Cunoașterea acestui proces este foarte important deoarece stă la baza vaccinărilor pe cale orală pe de o parte sau declanșează fenomene de hipersensibilizare pe de altă parte (astm bronșic, alergii alimentare).

Inițierea răspunsului imun produs de un agent infecțios care străbate barierele externe ale apărării antiinfecțioase naturale depinde de calea de pătrundere. Astfel, dacă agentul infecțios pătrunde direct în circulație va ajunge în splină unde va iniția un răspuns imunitar. Dacă pătrunde prin piele, datorită unui traumatism, de pildă, va fi transportat de la locul inflamației prin limfă la ganglionii limfatici regionali, care vor servi ca sediu al răspunsului imun. În fine, dacă străbate mucoasa digestivă sau respiratorie va ajunge în țesutul limfoid atașat mucoaselor (MALT), unde se va produce și răspunsul imun. Aici se vor produce anticorpi (IgA) care vor ajunge la

suprafața mucoaselor respective, iar o parte din limfocite vor migra la alte organe limfoide, astfel ca informația antigenică să ajungă în întreg organismul.

10.2.3. *Celulele implicate în răspunsul imun*

Pentru a avea spațiu suficient pentru celulele care potențial pot recunoaște milioane de antigene invadante, sistemul imun menține foarte puține celule pentru fiecare specificitate. Când apare un antigen, aceste câteva celule specifice sunt stimulate și proliferază formând o clonă. Ulterior sunt implicate mecanisme supresoare care stăpânesc această proliferare.

Pentru a produce un răspuns imunitar, un antigen trebuie să interacționeze cu o serie de celule prezente în sânge și diferite țesuturi. Acestea sunt celulele prezentatoare de antigen (CPA) și limfocitele T și B.

În interacțiunea dintre antigen și aceste celule de o importanță majoră sunt antigenele de histocompatibilitate (MHC) de pe suprafața acestor celule.

10.2.3.1. *Antigenele de histocompatibilitate (MHC)*

Responsabil de respingerea grefei în transplant este un grup de gene de histocompatibilitate, numit și complexul MHC, care codifică glicoproteine membranare împotriva cărora se îndreaptă reacția imună. Există atât de multe gene ale MHC (Major Hystocompatibility Complex), încât este puțin probabil să existe două persoane care să aibă antigenele identice. Ele au fost denumite inițial HLA întrucât au fost descoperite pe suprafața leucocitelor umane (human leukocyte antigens).

Cu timpul însă, s-a descoperit că rolul lor biologic este extrem de important deoarece prin participarea nemijlocită la recunoașterea de către limfocitele T a antigenelor, inițiază răspunsul imun care stă la baza rezistenței antiinfecțioase dobândite. Ele interacționează direct cu antigenul, pe care îl prezintă limfocitelor T. Se deosebesc trei clase de antigene majore de histocompatibilitate: MHC-I, MHC-II și MHC-III.

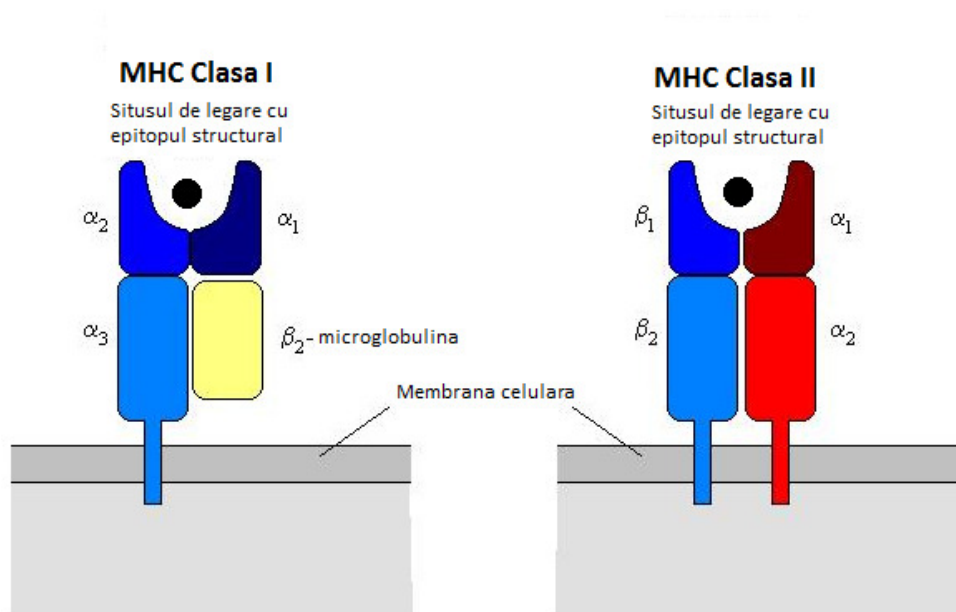


Figura 10.4. Antigenele de histocompatibilitate (adaptată după Abbas, 2022)

MHC-I se găsește pe membrana celulară a tuturor celulelor nucleate ale organismului. În structura MHC-I se remarcă un lanț greu, format din 3 domenii, legat de o beta-2-microglobulină (Fig. 10.4) și are rol în recunoașterea de către organism a celulelor infectate și tumorale. MHC I prezintă limfocitelor Tc epitopi reprezentați de peptide scurte provenite din *antigene endogene* care sunt:

- proteine codificate de agenți infecțioși cu habitat intracelular (bacterii, virusuri, protozoare)
- proteine care au părăsit accidental fagozomii în timpul fagocitozei
- antigene tumorale

Aceste antigene sunt degradate în organele celulare numite proteazomi, până la nivel de epitopi care se vor atașa de MHC I și transportate la suprafața celulelor. Aici vor fi recunoscute de limfocitele Tc, care inițiază răspunsul imun celular ce constă în distrugerea celulei infectate sau tumorale.

MHC-II se găsește numai pe suprafața celulelor prezentatoare de antigen, adică a celulelor dendritice, a macrofagelor și a limfocitelor B. *Deci celulele prezentatoare de antigen sunt capabile să exprime la suprafața lor atât MHC I cât și MHC II.*

MHC II prezintă limfocitelor Th epitopii proveniți din antigene exogene. *Antigenele exogene* sunt antigene rezultate din descompunerea agenților infecțioși (bacterii, fungi, protozoare) după ce au fost fagocitați de către celulele dendritice și macrofage. În aceste celule, antigenele sunt descompuse în interiorul fagozomilor, eliberându-se epitopii care sunt peptide scurte. Acești epitopi vor ajunge la suprafața CPA în asociație cu antigenele MHC II și prezentați limfocitelor Th.

10.2.3.2. Celulele prezentatoare de antigen (CPA)

CPA sunt celulele care au proprietatea de a prezenta antigenele limfocitelor T. Ele cuprind în primul rând celulele **dendritice**, care sunt CPA profesioniste, **macrofagele**, și **limfocitele B**.

Celulele dendritice au această denumire deoarece au prelungiri foarte lungi și ramificate prin care se ancorează de țesutul în care se află. Ele au fost descoperite în 1868, în structura pielii de Paul Langerhans, student la vremea aceea și uitate. Redescoperite de Ralph Steinman în 1973 (premiul Nobel), ele capătă o importanță din ce în ce mai mare în declanșarea răspunsului imun dobândit, studiul lor deschizând perspective foarte promițătoare în terapia cancerului.

De origine mieloidă, comună cu cea a macrofagelor, ele sunt prezente în toate organele limfoide și la nivelul interfețelor organismului cu mediul înconjurător (piele, mucoase) și se constituie ca adevărate santinele ale organismului față de orice invazie străină. Celulele dendritice sunt, de asemenea implicate în reacția opusă răspunsului imun - imunitoleranța față de propriile antigene.

Majoritatea celulelor dendritice care circulă în organism sunt imature. Fiind situate strategic la interfața cu mediul extern, ele înglobează diverși agenți infecțioși sau alte antigene. După înglobarea acestora, celulele dendritice se maturează, prelucreează antigenele înglobate și capacitatea lor de a forma complexe epitopi – MHC crește.

Intrucât celulele dendritice exprimă la suprafața lor atât MHC I cât și MHC II, ele pot prezenta atât antigene exogene limfocitelor T- helper naive în asociere cu MHC II, cât și limfocitelor T- citotoxice, în asociere cu MHC I. După ce limfocitele T naive au fost stimulate de celulele dendritice, ele devin accesibile la o nouă stimulare cu acelaș antigen prin restul celulelor prezentatoare de antigen: macrofage și limfocite B.

În afară de stimularea antigenică a limfocitelor T, celulele dendritice determină calitatea răspunsului imun. În funcție de citokinele secretate, limfocitele Th se vor diferenția în limfocite Th1 sau Th2.

Există în prezent un interes foarte mare pentru celulele dendritice deoarece ele oferă o posibilitate eficientă de terapie, în diverse afecțiuni maligne precum și în imunopatii.

Macrofagele. Sistemul mononuclear macrofagic este alcătuit din celule cu origine mieloidă, precursorul lor comun fiind monoblastul. Ele părăsesc măduva roșie, intră în sânge unde se numesc monocite și reprezintă 10% din leucocitele sanguine. După câteva zile părăsesc circulația, pătrund în diverse țesuturi, devenind macrofage mature. Denumirea lor depinde de zona anatomică în care au migrat. Astfel, ele se numesc macrofage alveolare în plămân, microglii în țesutul nervos, celule Kupffer în ficat, osteoclaste în schelet, celulele mezangiale renale etc. Macrofagele au pe suprafața lor receptori pentru C3b a complementului și pentru Fc a imunoglobulinelor. Ele intervin în apărarea antiinfecțioasă prin fagocitoză, dar

rolul lor esențial constă în relațiile pe care le stabilesc cu limfocitele Th, cărora le prezintă antigenul. Macrofagele secretă IL-1 cu activitate de stimulare asupra limfocitului Th, care la rândul lui secretă IFN- γ care activează macrofagele. Spre deosebire de celulele dendritice care prezintă antigenele limfocitelor naive, macrofagele prezintă antigenele numai limfocitelor T cu memorie, deci antigene cu care organismul a mai venit în contact.

Indiferent de tipul de CPA, ele au la suprafața lor antigene de histocompatibilitate (MHC) de clasa I și II. După înglobarea antigenului, CPA prelucrează antigenul degradându-l până la nivel de peptid format din 8-10 aminoacizi. Acest peptid ajunge la suprafața CPA asociat antigenului MHC de clasa II și este prezentat limfocitului Th, care nu recunoaște antigenul decât în această asociere. Când CPA prezintă antigenul limfocitului T, ele secretă o monokină - IL-1 care are acțiune stimulatorie asupra limfocitului Th.

Atunci când celulele organismului (deci și CPA) au în interiorul lor un microorganism cu parazitism obligatoriu intracelular, acesta va determina schimbări ale structurii antigenice de suprafață și acestea vor fi recunoscute de limfocitele Tc în asociație cu MHC de clasa I.

În concluzie, celulele prezentatoare de antigen sunt responsabile de prelucrarea antigenului, și prezentarea acestuia limfocitelor Th în asociație cu MHC-II și secreția de IL-1. Dar pot fi recunoscute și de limfocitele Tc, atunci când își modifică structura antigenică de suprafață.

10.2.4. *Celule cu origine limfoidă - limfocitele*

Limfocitele alcătuiesc 10 -15% din elementele seriei albe sanguine. Cele aproximativ un trilion de celule limfocitare (1kg) poartă responsabilitatea majoră a sistemului imun. Ele nu pot fagocita, dar demonstrează alte proprietăți speciale:

- poartă pe suprafața lor receptori specifici care permit fiecărei celule să reacționeze cu un anumit antigen. Aceasta constituie baza specificității imunologice;
- se divid după stimularea antigenică și formează clone celulare cu specificitate identică. Unele limfocite au durată de viață lungă reținând informația antigenică timp îndelungat, chiar toată viața. Aceasta este baza memoriei imunologice;
- limfocitele sunt vehiculate de sânge și limfă, memoria specifică dobândită în urma unui răspuns imunologic repartizându-se întregului organism.

Limfocitele cu funcționalitate diferită au aspect asemănător la microscopul optic, dar au markeri de suprafață ce pot fi identificați cu anticorpi monoclonali. Astfel se identifică limfocitele B și limfocitele T cu subpopulațiile corespunzătoare și celulele nule.

Limfocitele B reprezintă 2-12% din limfocitele circulante. Ele au pe suprafața lor markerul CD19 și antigene MHC de clasa II.

Când limfocitul B este stimulat corespunzător prin limfocitul T-helper sau mai rar de antigene timoindpendente, el începe să se dividă transformându-se în limfoblaști care dau naștere la plasmoblaști, apoi la plasmocite. Toate celulele provenite dintr-un singur limfocit B aparțin unei singure clone celulare, producătoare a milioane de anticorpi identici care vor fi eliberați în mediul intern. Pe suprafața limfocitelor B se găsește B Cell Receptor (BCR) care permite celulelor B să recunoască antigenele specifice. Limfocitele B pot îndeplini și rolul de CPA. Limfocitul Th astfel stimulat, va secreta la rândul său citokine care vor determina diferențierea LB în plasmoblaști și plasmocite, adică în celule secretoare de anticorpi.

Cele mai multe limfocite B sunt sub control direct al limfocitelor T-helper care stimulează activitatea lor. Există însă și limfocite timoindpendente, care nu necesită cooperarea cu limfocitele T reglatoare fiind stimulate direct de antigen.

După stimulare antigenică, limfocitele se diferențiază, în afară de plasmocite secretoare de anticorpi, și în limfocite B cu memorie, care sunt celule cu viață lungă, fiind responsabile de un răspuns umoral rapid la o stimulare ulterioară cu același antigen.

Limfocitele T reprezintă 69-80% din limfocitele circulante.

Ca și limfocitele B, ele recunosc în mod specific un număr imens de antigene ceea ce înseamnă că și ele trebuie să dispună de un mecanism care să le garanteze variabilitatea receptorilor. Principiul mecanismului de sinteză a receptorilor este asemănător celui prin care se sintetizează anticorpii.

Markerii de suprafață a limfocitelor T. La suprafața limfocitelor T se găsesc markerii care individualizează subpopulațiile de limfocite T.

La toate categoriile funcționale de limfocite T este prezentă molecula CD3 care se asociază cu receptorul pentru antigen al limfocitului T.

Limfocitele T helper (Th) alcătuiesc o subpopulație de limfocite cu rol major în apărarea antiinfecțioasă. Ele activează limfocitele B, care devin plasmocite secretoare de anticorpi, activează macrofagele în vederea distrugerii germenilor cu habitat intracelular și activează limfocitele Tc care vor distruge celule tumorale sau infectate. Pentru a-și îndeplini aceste funcții ele sunt activate la rândul lor prin stimularea antigenică de către celulele dendritice. Celulele dendritice secretă interleukine care vor duce la diferențierea limfocitelor Th naive în limfocite Th efectoare. Celulele dendritice dictează direcția în care se vor diferenția limfocitele Th:Th1 sau Th2

Th1 - stimulează imunitatea celulară

- secretă γ -interferon care activează macrofagele parazitare de germeni cu habitat intracelular (Mycobacterium leprae, Mycobacterium tuberculosis), crescând astfel eficiența fagocitozei
- secretă limfokine care stimulează producerea de anticorpi opsonizanți

Th2 – stimulează imunitate umorală

- răspunsul față de alergene
- răspunsul față de helminți,

Th reg -sunt implicate în toleranța imunologică, homeostazia limfocitară și reglarea răspunsului imun

Th17 –sunt implicate în răspunsul imun față de germeni cu habitat extracelular, infecții fungice și reacții autoimune.

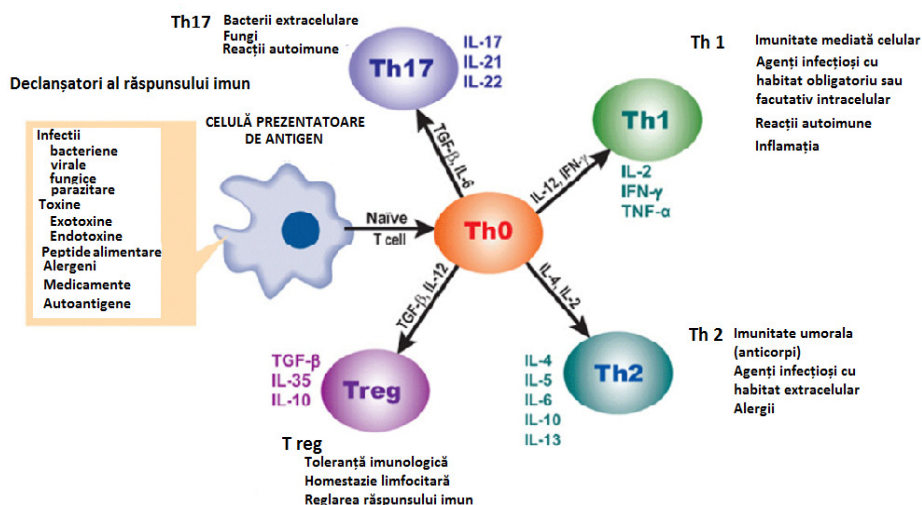


Figura 10.5.Diferențierea limfocitelor Th după stimularea imunologică (adaptată după Masopust, 2013)

Limfocitele T citotoxice (Tc) sunt stimulate prin antigene care sunt exprimate la suprafața celulei gazdă ca de pildă, celulele virus infectate, celule infectate cu microbi cu habitat intracelular sau celule tumorale pe care sistemul imun nu le mai recunoște ca self. Markerul de suprafață este tot CD8+.

Limfocitele T cu memorie se formează în timpul răspunsului primar, ele având o viață de aproximativ 40 de ani. Memoria lor imunologică însă se întinde pe o perioadă de 10-15 ani.

În concluzie:

- limfocitele B vor duce la sinteza de anticorpi și sunt responsabile de imunitatea umorală,
- limfocitele T citotoxice vor distruge celule gazdă care și-au pierdut caracterul de “self”, cum sunt celulele virus infectate sau tumorale. Ele răspund de imunitatea celulară,
- limfocitele T helper au rol reglator. Stimularea limfocitelor T citotoxice și a limfocitelor B timodependente nu poate avea loc în absența limfocitelor Th,

Recunoașterea antigenului este punctul nodal al răspunsului imunitar și se bazează pe complementaritatea sterică dintre antigen și moleculele implicate în recunoașterea sa, respectiv receptori pentru antigene ai limfocitelor și anticorpii.

10.2.5. Receptorii pentru antigen a limfocitelor

10.2.5.1. Receptorii pentru antigen a limfocitelor B (BCR)

Majoritatea limfocitelor B exprimă la suprafața lor 2 clase de imunoglobuline: IgM și IgD. Numărul limfocitelor circulante care prezintă pe suprafața lor IgG, IgA sau IgE este redus, spre deosebire de limfocitele din țesutul limfoid asociat mucoaselor care au pe suprafața lor mai ales IgA. Pe lângă imunoglobulinele cu rol de receptori, limfocitele B mai posedă pe suprafața lor MHC de clasa II, cu rol important în cooperarea intercelulară.

Receptorii pentru antigen ai limfocitelor B, respectiv imunoglobulinele de suprafață, recunosc antigenele în stare nativă, respectiv epitopii structurali sau epitopii B ai antigenelor. Reamintim că antigenele timodependente sunt recunoscute de limfocitele B numai în prezența limfocitelor T-helper, pe când cele timoindependente fără intervenția acestora.

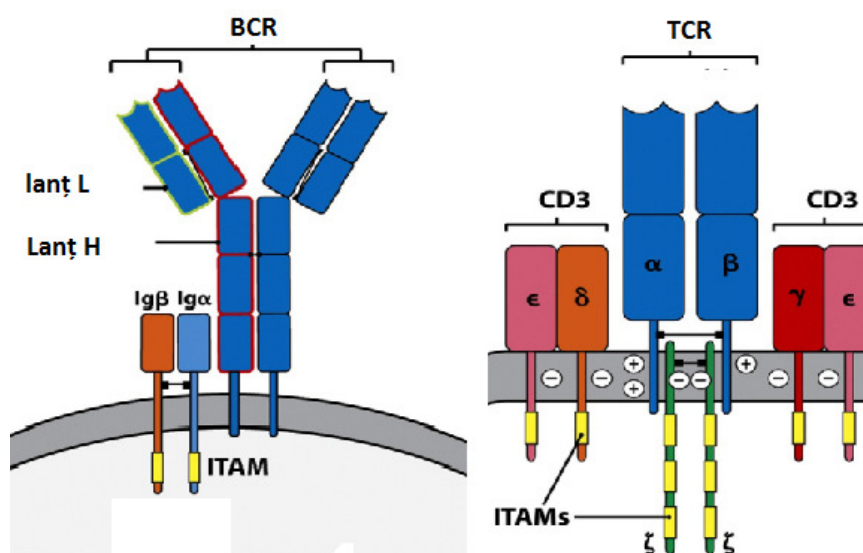


Figura 10.6. Receptorii pentru antigen ai limfocitului B (BCR) și T (TCR)
(adaptată după Janeway, 2017)

10.2.5.2. Receptorii pentru antigen a limfocitelor T

TCR este receptorul pentru antigen al limfocitului T. Este format din două lanțuri polipeptidice α,β sau γ,δ.

O minoritate a limfocitelor T au pe suprafața lor receptorul pentru antigen TCR format tot din două lanțuri cu dispoziție asemănătoare γ și δ .

10.2.6. *Anticorpții*

10.2.6.1. Structura generală a anticorpilor

Unitatea de bază a anticorpilor este formată din 2 lanțuri identice grele, H (heavy) cu GM de 50.000 - 70.000 Da și 2 lanțuri identice ușoare L (light), cu GM în jur de 25.000 Da, care se asamblează în formă de T sau Y. Lanțurile sunt legate între ele de forțe necovalente hidrofobe și prin punți disulfurice: o punte între lanțurile L și H și cel puțin două între lanțurile H în funcție de clasa și subclasa de anticorp. Unitatea monomerică are o GM în jur de 150.000 Da.

Imunoglobulinele se clasifică în funcție de lanțurile pe care le conțin în 5 clase: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. De exemplu imunoglobulina G conține 2 lanțuri grele γ și două lanțuri ușoare κ sau λ . Aceași imunoglobulină conține sau lanțuri κ sau λ .

147

antigen-binding) și un fragment Fc (fragment cristalizabil), iar sub acțiunea papainei, la nivelul aminoacidului, 224 în două fragmente Fab și un fragment Fc.

Fragmentele Fab reprezintă capetele $-NH_2$ terminale ale moleculei, fiind purtătoare, fiecare, a unui situs de combinare cu antigenul.

Paratopul, structura esențială a anticorpului, este situsul de interacțiune cu epitopul, format din regiuni hipervariabile și variabile ale lanțurilor H și L. Fiecare imunoglobulină conține doi paratopi identici ce se află în regiunea hipervariabilă a lanțurilor H și L. Deci, un anticorp este bivalent.

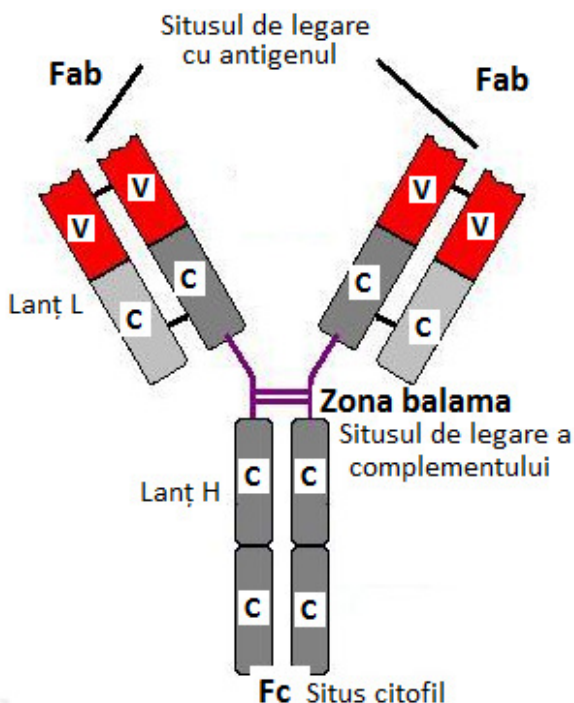


Figura 10.7. Structura de bază a imunoglobulinelor (adaptată după Alberts, 2022).

Dacă se cercetează secvența de aminoacizi a lanțurilor grele și a lanțurilor ușoare în cadrul unei clase de imunoglobuline, se observă o enormă diversitate a acestora la capătul NH_2 - terminal al lanțurilor, pe când restul domeniilor (unul C-terminal la lanțul ușor și 2 domenii mijlocii și unul terminal la lanțurile grele) demonstrează o structură constantă. Regiunile NH_2 terminale a lanțurilor grele H și a lanțurilor ușoare se notează cu V_H , respectiv V_L .

Partea constantă a lanțului ușor se numește C_L . Partea constantă la lanțului greu cuprinde 3 regiuni diferite C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} . Aceste regiuni sunt stabilizate prin punți disulfurice intracatenare și se numesc domenii. De domeniile C_{H2} se leagă lanțuri oligozaharidice.

Cele 2 situsuri de legare cu antigenul sunt situate în domeniile variabile. Regiunea balama este un segment al lanțurilor grele localizat între CH_1 și CH_2 și ea schimbă unghiul dintre Fab și Fc după legarea anticorpului cu antigenul. Astfel, Fab este perpendicular pe Fc, imaginea tridimensională a imunoglobulinelor amintind de litera T

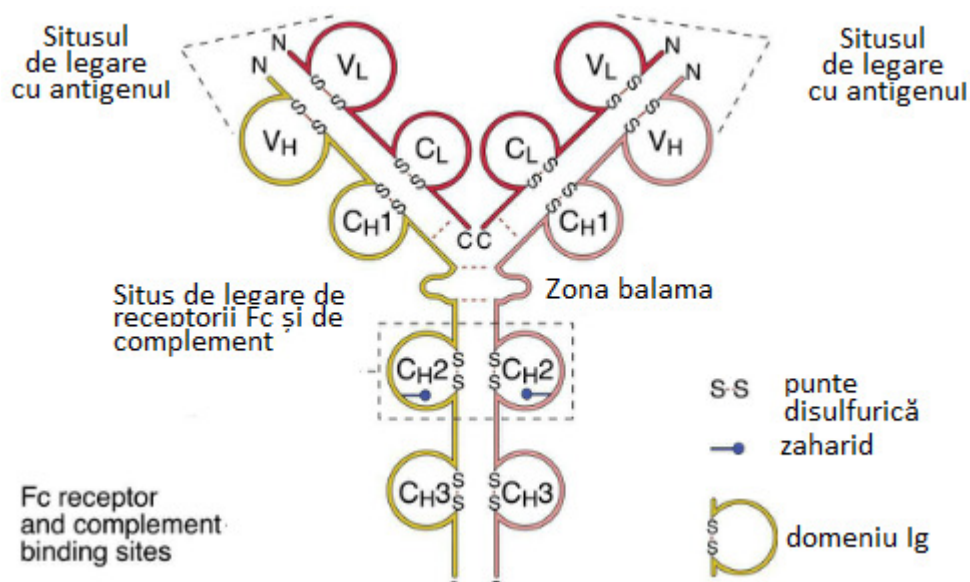


Figura 10.8. Structura de bază a imunoglobulinelor (adaptată după Alberts, 2022)

În momentul combinării anticorpului cu antigenul, acest unghi se schimbă, molecula luând forma unui Y. Prin această modificare se dezvălește situsul de combinare al Fc cu factorul C1q al complementului și se declanșează activarea acestuia pe cale clasică.

Aspectul paratopului depinde de pliarea domeniilor variabile, care la rândul lor este în funcție de secvența de aminoacizi din această regiune.

Fragmentul Fc, situat la extremitatea -COOH terminală a moleculei, poartă situsuri citofile (prin care unele imunoglobuline se pot fixa de anumite celule ca, de pildă, neutrofile, macrofage, bazofile), situsuri de fixare a complementului și markerii izotipici și alotipici al lanțurilor H.

Specificitatea anticorpilor. Anticorpii, fiind proteine, sunt la rândul lor antigenici. Specificitatea imunoglobulinelor este :

- izotipică și corespunde structurii diferitelor clase și subclase de lanțuri grele și ușoare, prezente la toți indivizii unei specii. La om, de pildă, izotipurile sunt determinate de prezența în moleculă a lanțurilor ușoare lambda sau kappa și a lanțurilor grele alfa 1, alfa 2, gama 1,2,3,4, miu 1,2, delta sau epsilon,

- alotipică ce rezultă din structura constantă a imunoglobulinelor unui grup de indivizi în cadrul unei specii,
- idiotipică ce este proprie fiecărui anticorp în parte și este definită de structura zonei hipervariabile.

b) Caracterele biologice principale ale imunoglobulinelor

Lanțurile grele definesc clasa de imunoglobulină și conferă acesteia proprietăți caracteristice.

10.2.6.2. *Imunoglobulina G*

IgG reprezintă 70% - 80% din imunoglobulinele serice, concentrația ei fiind de 8-16mg/ml. Concentrația normală este atinsă la vârsta de 5-8 ani. Dimensiunea mică a moleculei (GM 15 KD) face posibilă pătrunderea ei și în țesuturi. IgG se împarte în 4 subclase IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4, care diferă între ele structural prin secvența aminoacizilor în Fc al lanțurilor H și prin numărul și sediul legăturilor disulfurice dintre lanțurile H și L și dintre lanțurile H.

Proprietatea IgG1 și IgG3 de a se lega prin Fab de antigenul bacterian (opsonizare) și prin Fc de receptorii de pe suprafața PMN și a macrofagelor favorizează înglobarea bacteriilor de către aceste celule, potențând fagocitoza. În afară de IgG4, toate celelalte subclase de IgG sunt capabile să activeze complementul pe cale clasică după unirea cu antigenul specific (de exemplu o celulă bacteriană), ceea ce are ca urmare citoliza dacă antigenul este situat la suprafața unei celule (bacteriene de exemplu). Clasa IgG cuprinde, în afară de anticorpi opsonizanți, și anticorpi neutralizanți (antitoxine), precipitanți (precipitine) și aglutinanți (aglutinine). IgG trec prin placentă de la mamă la făt, asigurând rezistența antiinfecțioasă a sugarului în primele luni după naștere.

Timpul de înjumătățire a IgG serică este de 21 de zile, cu excepția IgG3 care este metabolizată după 7 zile.

10.2.6.3. *Imunoglobulina A*

IgA reprezintă 17% din totalul imunoglobulinelor. Ea apare în ser ca monomer, cu GM de 160.000 Da și o constantă de sedimentare de 7S, într-o concentrație de 200 mg/100ml și este formată de plasmocitele din ganglionii limfatici și splină. Nu este capabilă să fixeze complementul, dar reacționează cu antigenele din torentul circulator. Se presupune, de pildă, că antigenele din intestin ce au pătruns prin bariera intestinală și au ajuns în sânge sunt fixate de IgA și vor fi eliminate prin ficat.

Cea mai mare parte a IgA este prezentă extravascular sub formă de dimer - IgA secretor (S-IgA) - în secrețiile epiteliilor (lacrimi, salivă, mucus bronșic etc.) și la suprafața mucoaselor. Cea mai mare parte a S-IgA este produsă de plasmocitele

țesutului limfatic asociat mucoasei intestinale dar și ale celui asociat celorlalte mucoase (respiratorii, nazale etc.).

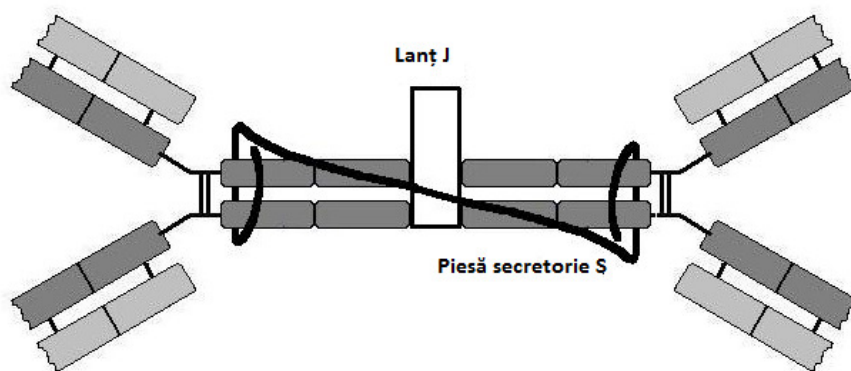


Figura 10.9. Structura S-IgA (adaptată după Roitt, 2017).

S - IgA este alcătuită din 2 molecule de IgA, legate printr-un lanț J (join) glicolipidic și o componentă secretorie polipeptidică (CS). Componenta secretorie se adaugă dimerului în celula epitelială și facilitează transportul IgA prin epiteliu și secreția sa în salivă, lacrimi, lapte și protejează S - IgA de acțiunea enzimelor digestive. Ca și IgA seric, S - IgA nu poate fixa (activa) complementul pe cale clasică ci numai alternativă, deci nu poate participa la opsonizare. Fixează însă bacterii și virusuri prin Fab formând complexe imune și împiedică astfel fixarea acestor agenți infecțioși de celulele epiteliale ale mucoaselor. Această “neutralizare” este cea mai importantă funcție antiinfecțioasă a S-IgA pe mucoase. IgA are două subclase IgA1 și IgA2. IgA 1 se găsește predominant sub formă monomerică deci în ser, iar IgA2 mai ales sub forma de S-IgA.

Concentrația normală de S-IgA este atinsă la vârsta de 10-11 ani, ceea ce explică frecvența infecțiilor respiratorii la copii.

La una din 700 de persoane se constată un deficit de S-IgA, Dacă acest deficit nu este compensat de o activitate crescută de IgM sau dacă se adaugă și un deficit de IgG, persoanele afectate sunt susceptibile de a face frecvent infecții respiratorii și intestinale.

10.2.6.4. *Imunoglobulina M*

IgM se prezintă sub forma unei structuri mari (IgM-macroglobulină) pentamerice cu o greutate moleculară de 900.000 Da și constantă de sedimentare de 19S. Cei 5 monomeri de IgM sunt legați între ei printr-un lanț J. Datorită greutății moleculare mari, IgM nu trece prin placentă. Reprezintă 6-7% din totalul imunoglobulinelor serice, concentrația fiind de 0,5-2mg/ml. Această concentrație

este atinsă la vârsta de 1 an. Timpul de înjumătățire a IgM este de 6 zile. Se cunosc 2 subclase de IgM - IgM1 și IgM2, fără a se evidenția însă diferențe în activitatea lor biologică.

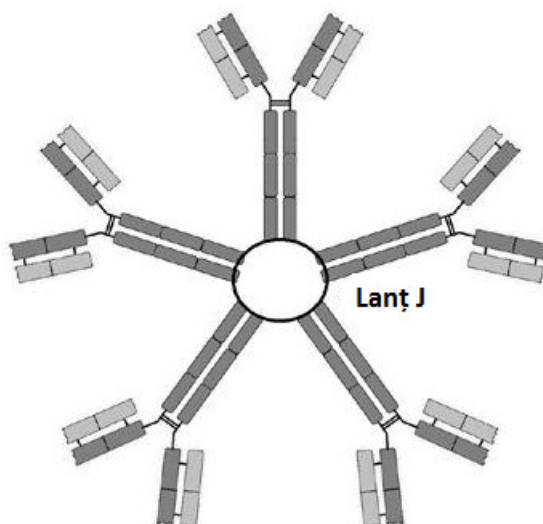


Figura 10.10.- Structura IgM (adaptată după Roitt, 2017).

În contextul răspunsului imun, IgM este clasa de anticorpi care apare în răspunsul primar. Prezența anticorpilor IgM față de un anumit agent infecțios indică o infecție acută, recentă. Reprezintă mare parte din “anticorpii naturali”, ca de exemplu isoaglutininele de grup (anti-A, anti- B), sunt IgM.

Datorită structurii pentamerice, IgM are 10 situsuri de combinare cu o configurație care permite legarea preferențială de antigenele corpusculare. Așadar, este deosebit de eficace în legarea microorganismelor, producând aglutinarea acestora. Prin fixarea complementului se realizează concomitent opsonizarea bacteriilor. IgM activează complementul pe cale clasică favorizând deci și bacterioliza.

10.2.6.5. *Imunoglobulina E*

Este o Ig monomer, cu GM 190.000 și costantă de sedimentare 9S. Timpul de înjumătățire este de 2-4 zile. Nu fixează complementul. Se găsește în cantități extrem de mici în serul persoanelor sănătoase, dar în concentrații crescute la persoane alergice. IgE sunt anticorpi citofili, care se leagă prin Fc de receptorii specifici de pe suprafața leucocitelor bazofile și a mastocitelor. În contact cu alergenul specific, care le-a indus producerea, are loc degranularea acestor celule cu eliberarea unor mediatori chimici (histamină, serotonină, leucotriene, prostaglandine), responsabili de manifestările alergice de tip I anafilactic.

10.2.6.6. *Imunoglobulina D*

IgD a fost evidențiată ca un anticorp legat de suprafața membranei celulare a 90% din limfocitele B. În ser se găsesc doar urme. Nu se cunoaște exact rolul acestei Ig, dar se presupune că ar constitui un receptor pentru antigene la suprafața limfocitelor B.

10.2.6.7. *Anticorpi monoclonali*

Urmașii unui limfocit B vor forma o clonă, și atâta timp cât nu apare o mutație somatică în clona respectivă, toți descendenții clonei vor da naștere unui singur tip de anticorp.

În decursul răspunsului imun normal se activează mai multe clone de limfocite B, care produc anticorpi cu afinitate mai mare sau mai redusă pentru antigenul respectiv, astfel că în ser vom găsi un amestec ~~de~~ de anticorpi în a căror moleculă secvența de aminoacizi va fi diferită. Acest aspect se explică prin faptul că cele mai multe antigene au mai mulți epitopi. Astfel, dacă două antigene pot avea pe lângă epitopii specifici și epitopi comuni, vor induce formarea de anticorpi policlonali care vor reacționa cu ambele antigene prin epitopii comuni (reacție încrucișată).

În mod natural anticorpi monoclonali apar prin malignizarea plasmocitelor (în mielomul multiplu) care secretă un anticorp monoclonal în cantități mari. Proteina secretată de plasmocitele bolnavilor cu mielom multiplu (proteina Bence-Jones), care se elimină prin urină, reprezintă de fapt lanțuri ușoare L monoclonale. Ele au avut un rol important în descoperirea structurii imunoglobulinelor.

Dificultatea de a obține anticorpi monoclonali *in vitro* a constatat în imposibilitatea de cultivare a limfocitelor B.

Anticorpii monoclonali s-au obținut în laborator prin izolarea în cadrul unui răspuns imun policlonal a unui singur limfocit B și hibridizarea lui cu o celulă tumorală care să-i confere “imortalitate”. Produsul de fuziune, hibridomul, unește imortalitatea celulei tumorale cu specificitatea celulei B. Anticorpii monoclonali sunt reactivi foarte valoroși întrucât recunosc un singur epitop. Ei nu reacționează încrucișat decât în cazuri de excepție când structurile sunt extrem de asemănătoare.

Anticorpii monoclonali au o largă utilizare atât în cercetare, terapie cât și în practica de rutină a oricărui laborator. Cu ajutorul anticorpilor monoclonali marcați cu o substanță fluorescentă (de obicei izotiocianatul de fluoresceină) se evidențiază prin microscopie în UV antigene bacteriene sau virale în produsele patologice sau biologice recoltate de la bolnavi, fiind astfel posibil un diagnostic rapid și precis în infecții în care agentul etiologic este greu de cultivat (infecții chlamydiene, herpetice, sifilis etc.). De asemenea, terapia cu anticorpi monoclonali este utilizată în numeroase patologii (neoplasme, boli autoimune, infecții, etc.)

10.2.7. Răspunsul imun

10.2.7.1. Răspunsul imun umoral

Soarta antigenelor, deci și a microorganismelor care pătrund în organism, depinde de calea de pătrundere și de penetrarea barierelor externe ale apărării antiinfecțioase. Dacă microorganismul pătrunde direct în sânge, va ajunge în splină unde va avea loc și răspunsul imun. Microorganismele care pătrund în tegument ajung pe cale limfatică la primul ganglion limfatic, iar cele care au reușit să traverseze mucoasele (digestivă, respiratorie) vor ajunge în sistemul limfatic atașat mucoaselor (MALT).

Indiferent de calea de pătrundere a antigenului (cu excepția celor timoindependente), acesta va fi preluat de celulele dendritice, dacă organismul vine pentru prima oară în contact cu antigenul respectiv. Aici, antigenele vor fi digerate de enzimele lizomale până la eliberarea epitopilor secvențiali, care sunt întotdeauna peptide scurte.

Epitopii secvențiali ajung la suprafața celulei dendritice la primul contact cu antigenul sau a macrofagului (dacă organismul a mai venit în contact cu acel antigen), care îl prezintă limfocitului Th în asociație cu complexul major de histocompatibilitate MHC de clasa II.

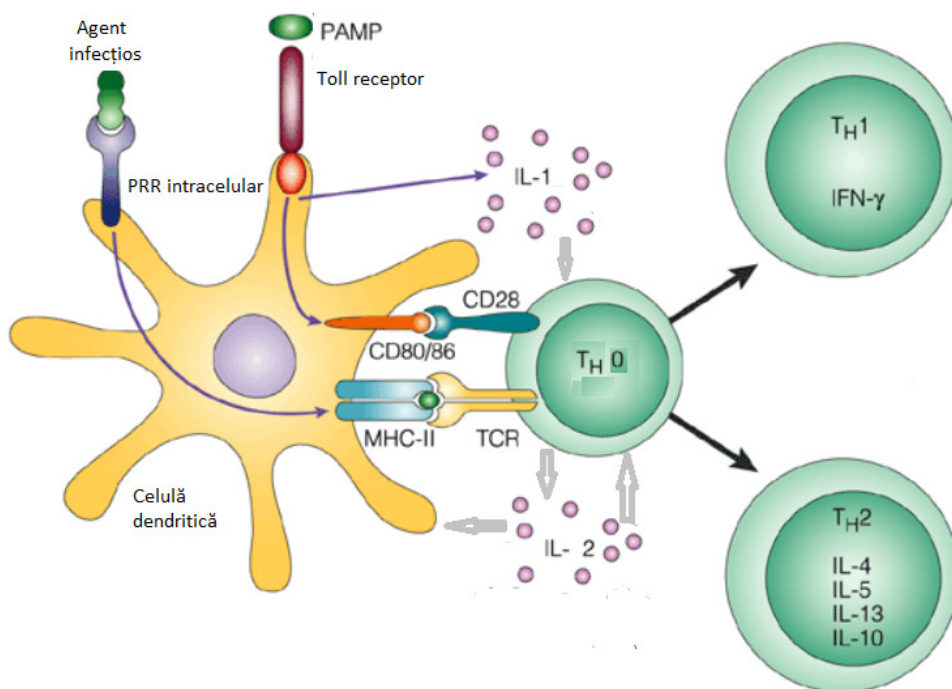


Figura 10.12. Stimularea limfocitului T helper (adaptată după Masoput, 2013)

În contact cu un limfocit Th a cărui receptor este complementar antigenului prezentat în asociație cu MHC de clasa II și poartă la suprafață antigenul CD4, se produce un semnal care va stimula secreția de Interleukină-1 (IL-1) de către CPA. Aceasta va acționa asupra limfocitului T-helper care va secreta IL-2, care induce creșterea celulelor ce au receptori pentru această interleukină, printre care chiar limfocitul Th (activare autocrină).

Stimularea limfocitului Th este esențială în răspunsul imun, deoarece Th va stimula în continuare limfocitele B, care vor produce efectorii umorali ai imunității (anticorpii) și celulele Tc, efectorii imunității celulare.

Limfocitele B pot fi stimulate de antigene timoindependente care sunt în general antigene cu epitopi repetitivi - polizaharide, lipide- niciodată proteine. Aceste antigene au proprietatea de a stimula direct limfocitele B, fără participarea limfocitelor T. Aceste antigene induc un răspuns discret în anticorpi și fără memorie imunologică.

Antigenele proteice sunt timodependente și necesită participarea limfocitelor T. Limfocitul B, recunoaște în mod specific antigenul prin BCR care este de fapt o imunoglobulină. După aceea prezintă antigenul prelucrat în asociere cu MHC de clasa II limfocitelor Th naive sau, activate deja la rândul lor, de același antigen prezentat de celulele dendritice. Când limfocitul Th “vede” același epitop T pe macrofag și pe limfocitul B, el va stimula și limfocitul B.

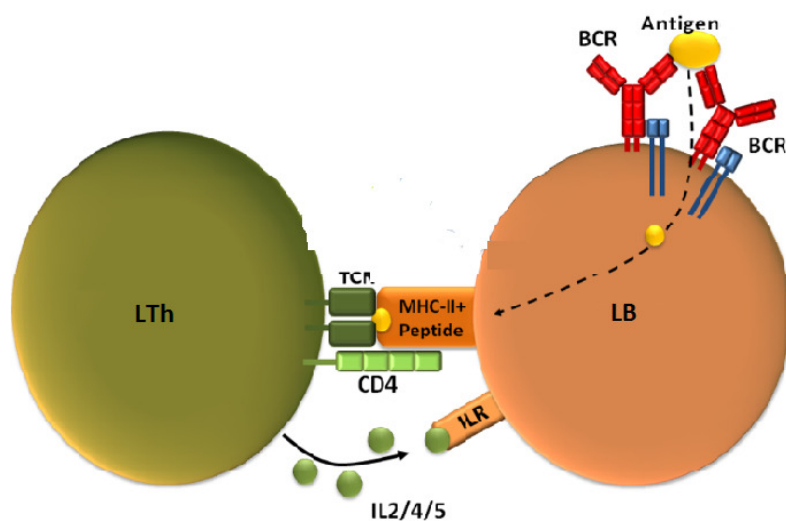


Figura 10.13. Stimularea limfocitului B cu antigen timodependent (adaptată după Abbas, 2023)

Limfocitul Th va secreta după activare un factor de creștere și un factor de diferențiere pentru limfocitele B, care se vor transforma în limfoblaști, plasmoblaști și în final plasmocite secretoare de anticorpi.

În decursul răspunsului imun o parte din limfocitele Th și B se vor diferenția în limfocite T, respectiv B de memorie care vor iniția la o stimulare ulterioară cu același antigen un răspuns secundar mai rapid și eficient.

În afară de antigenele timodependente mai există și antigene timoindependente.

10.2.7.2. Rolul anticorpilor în apărarea antiinfecțioasă

Anticorpii au un rol esențial în apărarea antiinfecțioasă față de bacteriile cu habitat extracelular.

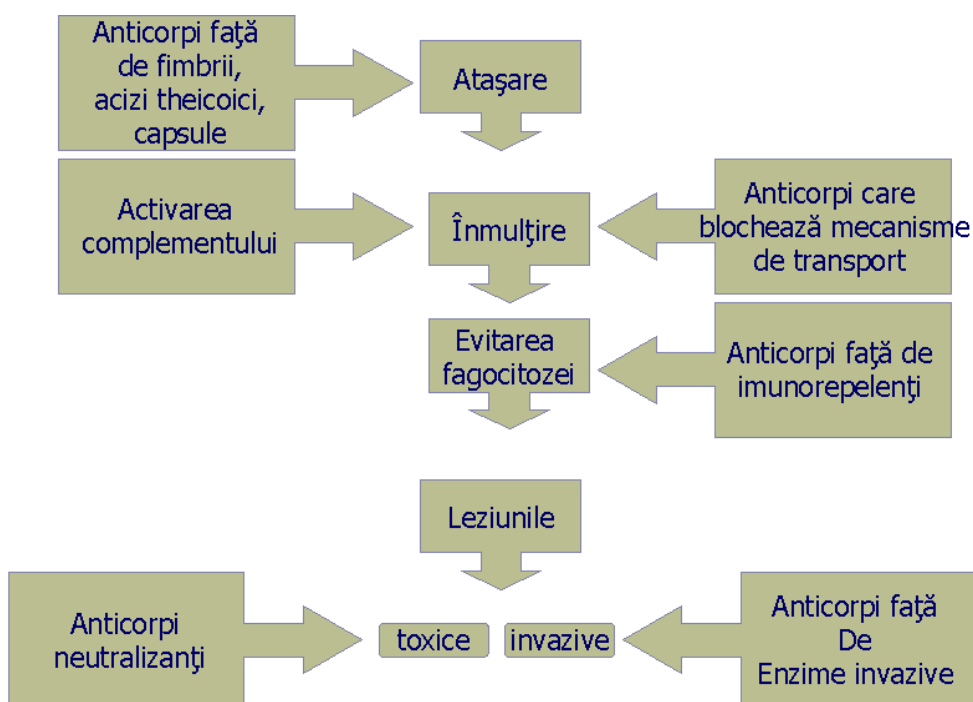


Figura 10.14. Rolul anticorpilor în apărarea antiinfecțioasă (adaptată după Janeway, 2017).

Efectul blocant și neutralizant al anticorpilor. Uneori este suficientă doar prezența anticorpilor pentru a preveni apariția infecției. De pildă, IgA de pe suprafața mucoaselor se unește cu unele antigene de suprafață a bacteriilor, blocând astfel atașarea de receptori specifici de pe mucoase.

Față de bacteriile toxigene, cum sunt baciul difteric, botulinic sau tetanic, organismul produce anticorpi antitoxici care se leagă de toxinele microbiene împiedicând atașarea și, respectiv, pătrunderea lor în celulele țintă.

Anticorprii pot produce imobilizarea și aglutinarea microorgansimelor. Cei mai buni anticorpi imobilizanți sunt IgM care au 10 situsuri de combinare la care se adaugă favorizarea fagocitozei și activarea complementul.

Opsonizarea. Bacteriile sunt pregătite pentru fagocitoză prin opsonizare cu opsonine nespecifice (C3b a complementului, proteina C-reactivă, fibronectina) și anticorpi care sunt opsonine specifice. Bacteriile capsulate, ca de pildă pneumococii, nu sunt accesibili fagocitozei. Dacă însă ele sunt opsonizate de anticorpi IgG anticapsulari, aceștia se vor fixa cu fragmentul Fc de fagocit și cu Fab de bacterie. În acest fel, fagocitoza va fi posibilă și eficientă.

Liza bacteriilor. Prin unirea IgG sau IgM cu antigenele de suprafață a bacteriilor are loc activarea complementului pe cale clasică, ceea ce va determina fenomenul de bacterioliză.

În orice caz, bacteriile cu habitat extracelular sunt eliminate în final prin fagocitoză.

Citotoxicitatea anticorpodependentă. Anticorprii sunt implicați și în rezistența față de microorganisme cu habitat intracelular, și anume în citotoxicitatea mediată celular anticorpodependentă. Astfel, IgG se vor fixa prin fragmentul lor Fab de antigenele virale sau provenite de la alți agenți cu habitat intracelular (fungi, bacterii) și exprimate la suprafața celulelor infectate, iar cu fragmentul Fc de receptorii pentru Fc de pe suprafața limfocitelor NK (killer). Acestea vor distruge celula infectată prin perforarea membranei celulare, printr-un mecanism asemănător complementului.

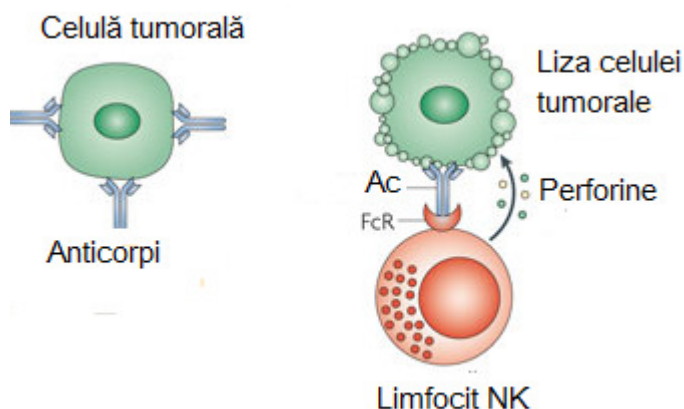


Figura 10.15. Citotoxicitatea anticorpodependentă (adaptată după Janeway, 2017).

10.2.7.3. Răspunsul imun celular și rolul său în apărarea antiinfecțioasă

O serie de microorganisme au habitat obligatoriu sau facultativ intracelular. Astfel, virusurile, unele bacterii (chlamydii și rickettsii), precum și unele protozoare au un parazitism intracelular obligatoriu, replicarea lor fiind dependentă în totalitate

de celula gazdă. Alte bacterii, ca de pildă bacilul tuberculos, bacilul leprei, au un habitat facultativ intracelular.

Aceste microorganisme sunt protejate de acțiunea anticorpilor și organismul este nevoit să-și dezvolte alte mecanisme de apărare care se bazează mai ales pe imunitatea mediată celular.

Imunitatea mediată celular cuprinde în esență 3 procese:

- distrugerea de către limfocitele T citotoxice CD8+ (ajutate de limfocitele Th) a celulelor care conțin un microorganism în fază replicativă (de obicei un virus)
- activarea prin γ IFN și alte citokine a macrofagelor pentru a le face capabile să distrugă microorganismul care se dezvoltă chiar în interiorul lor (bacilul tuberculos, bacilul leprei, toxoplasma, legionella etc.)
- citotoxicitatea anticorpendentă (descrisă la rolul anticorpilor)

a) În prima situație răspunsul celular este declanșat de limfocitul Th activat de macrofag. Astfel, un virus este fagocitat de macrofag, care prezintă limfocitului Th epitopul secvențial în asociație cu MHC de clasa II. Acestea vor stimula evoluția Th spre Th1.

Antigenele virale modifică imunogenicitatea acestor celule, care devin astfel “non-self”. Celulele nucleate ale organismului au la suprafața lor MHC de clasa I, în asociație cu care antigenul de suprafață apărut datorită infecției virale va fi “văzut” de limfocitele Tc. Acestea se vor înmulți sub acțiunea IL-2 secretate de către limfocitul Th1 stimulat de macrofage. Rezultatul va fi că limfocitele Tc activate vor secreta citotoxine letale pentru celula virus infectată.

Ca și în cazul limfocitelor Th și B, o parte din Tc se vor diferenția în limfocite Tc de memorie, capabile să inițieze un răspuns celular mai prompt la un al doilea contact cu același antigen.

b) În infecțiile cu germeni cu habitat facultativ sau obligatoriu intracelulari (TBC, lepră etc.), un rol important îl au macrofagele și limfocitele Th. Acestea secretă limfokine care activează macrofagele și recrutează și alte celule participante. Împreună vor iniția un răspuns inflamator, denumit “de tip întârziat” Acest răspuns inflamator poartă denumirea de “întârziat” deoarece, spre deosebire de răspunsul inflamator inițiat de anticorpi, care apare în timpul cel mai scurt (minute sau ore), el apare după cel puțin 24-48 de ore, sau chiar mai târziu.

O parte din microorganismele care își desfășoară ciclul de viață și supraviețuiesc în macrofage mor, iar produsele lor de degradare prelucrate vor ajunge la suprafața acestor celule. Macrofagul va prezenta limfocitului Th aceste antigene în asociație cu antigenul MHC de clasa II. Limfocitul Th va declanșa secreția de γ IFN care va transforma macrofagul într-un macrofag activat sau “furios”.

Factorii de activare **ali** macrofagelor (mai ales γ IFN) vor activa mecanisme microbicide puternice care vor reuși de regulă distrugerea microorganismului aflat în celulă, dar nu întotdeauna.

Aglomerarea și proliferarea macrofagelor și a limfocitelor vor determina formarea unui focar inflamator.

Activarea macrofagelor are două fațete: este benefică dacă se petrece în limite fiziologice, dar este nocivă atunci când depășește în intensitate anumite limite deoarece procesul inflamator produce leziuni ale țesuturilor în care se petrece. Ea stă la originea unor inflamații cronice (tuberculoză, lepră - vezi hipersensibilitatea de tip IV mediată celular).

10.2.7.4. Răspunsul primar și secundar

Procesele imunogenetice descrise mai sus se petrec atunci când organismul vine în contact pentru prima oară cu un antigen timodependent și ele sunt desemnate ca răspuns imunologic primar. Așa cum s-a văzut, pe lângă celulele și moleculele efectoare, iau naștere limfocitele cu memorie care sunt limfocite cu viață lungă. La o nouă întâlnire cu antigenul, receptorii pentru antigen se găsesc în concentrație mai mare decât la prima întâlnire. Ca urmare probabilitatea întâlnirii partenerilor de reacție potriviți crește, reacția imunogenetică decurgând mai rapid.

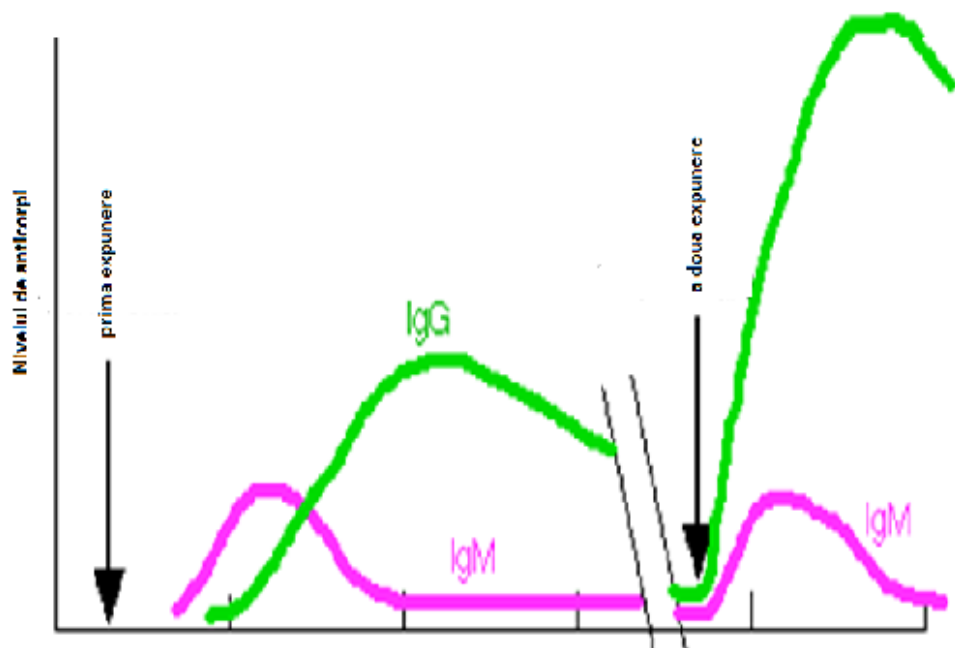


Figura 10.16. Răspunsul imun primar și secundar (adaptată după Delves, 2017).

Răspunsul primar. În urma stimulării antigenice, răspunsul în anticorpi parcurge 4 faze:

- o perioadă de latență, a cărei durată depinde de natura antigenului și care durează în general 2 săptămâni,
- o fază de creștere, în cursul căreia apar anticorpii, titrul lor crescând în progresie geometrică,
- o faza în platou, în care anticorpii se mențin la un nivel costant pentru câteva săptămâni și,
- o fază de descreștere, în care anticorpii sunt metabolizați și dispar.

Răspunsul secundar se deosebește de cel primar prin:

1. cinetica răspunsului. Faza de latență în răspunsul secundar este mai scurtă (3-5 zile), faza de platou prelungită (luni) și descreșterea mai lentă (luni, ani, uneori pe toată viața).
2. nivelul de anticorpi. Titrul maxim de anticorpi este în general de 10 ori mai mari decât în răspunsul primar.
3. clasa de anticorpi. Anticorpii din răspunsul primar sunt IgM, iar cei din răspunsul secundar IgG.
4. afinitatea anticorpilor. În răspunsul secundar, afinitatea anticorpilor față de antigen este mai mare decât în răspunsul primar.

Amplitudinea crescută și rapiditatea răspunsului secundar sau a unor rapeluri ulterioare sunt posibile datorită memoriei imunologice. Limfocitele B de memorie au pe suprafața lor receptori pentru antigene cu afinitate mai mare pentru antigen, și după contactul cu acesta proliferază foarte repede transformându-se în plasmocite producătoare de IgG specifice. Nu se știe precis dacă și receptorii pentru antigen ai limfocitelor T au afinitate mai mare pentru antigen decât în răspunsul primar, dar s-a constatat că răspunsul secundar se produce la o stimulare cu cantități mai mici de antigen.

Cunoașterea dinamicii de apariție a anticorpilor în răspunsul primar și secundar este importantă pentru calendarul de vaccinare.

Răspunsul imun la antigene timoindependente diferă prin faptul că stimularea limfocitelor B, cu proliferarea și transformarea lor în plasmocite secretoare de IgM, are loc în răspunsul primar într-un timp mai scurt decât în cel indus de antigene timodependente fără participarea limfocitelor T. Producția de anticorpi este inferioară celei timodependente.

Răspunsul secundar la antigenele timoindependente este similar celui primar, cantitatea de anticorpi fiind mică și reprezentată tot de IgM, dovedind lipsa unei memorii imunologice

10.2.7.5. *Reglarea răspunsului imun*

Răspunsul imun față de stimularea antigenică este supus unor mecanisme riguroase de reglare care împiedică multiplicarea la nesfârșit a efectorilor imuni. Se cunosc 5 mecanisme ce stau la baza menținerii homeostaziei imunitare:

1. Durata de viață relativ scurtă a celulelor efectoare. Plasmocitele, de pildă, au o durată de viață de câteva zile.

2. Scăderea progresivă a cantității de antigen până la dispariția sa. Scopul însuși al apărării antiinfecțioase este eliminarea agenților infecțioși din organism. Îndepărtarea lor înseamnă implicit dispariția stimulării antigenice.

3. Legarea anticorpilor de antigene previne recunoașterea în continuare a acestora de către limfocitele B. În consecință, proliferarea lor și diferențierea spre plasmocite va fi oprită.

4. Limfocitele Treg, care au un rol limitativ asupra răspunsului imunitar, proliferază pe măsură ce se înmulțesc limfocitele Th. Acest mecanism de feedback permite autoreglarea activității celor două subpopulații de limfocite

5. Un mecanism deosebit de interesant de reglare este cel prin rețeaua idiotipică propusă de Niels Jerne. Această teorie se bazează pe două proprietăți ale moleculei de anticorpi, și anume de a reacționa cu antigenul și a fi la rândul ei antigenică.

Fiecare regiune hipervariabilă - idiotip - a unui anticorp este el însuși o structură antigenică. Ca orice antigen, acest idiotip va declanșa formarea de anticorpi anti-idiotip. Paratopul lui (situsul de legare cu antigenul) va fi identic cu antigenul care a determinat formarea anticorpului original fiind "o imagine internă" a antigenului și se comportă la rândul său ca un antigen, generând anticorpi anti-idiotip care sunt identici cu primul anticorp. Acest proces se autorepetă. Anticorpii antiidiotip împiedică la rândul lor unirea anticorpilor cu antigenul substituindu-se acestuia.

10.2.8. **Concluzii**

Cu toate că am descris separat factorii rezistenței antiinfecțioase naturale și dobândite, ei nu acționează niciodată separat, ci se intrică în vederea eliminării agentului infecțios.

Dacă urmărim evoluția unui agent infecțios în organism el va fi obligat să treacă prin toate mecanismele rezistenței antiinfecțioase care se vor desfășura în 3 etape.

În prima etapă, asupra microorganismului vor acționa factorii apărării nespecifice prin barierele externe ce se opun atașării și pătrunderii. Odată ajuns în țesuturile sterile, microorganismul va fi supus acțiunii factorilor interni ai rezistenței naturale, care sunt: complementul, interferonii, citokinele, substanțe bacteriolitice, fagocitoza prin PMN și macrofage, celulele NK etc. În anumite situații, microorganismul va fi distrus prin activitatea bacteriolitică a complementului și prin fagocitoză. Dacă distrugerea și eliminarea microorganismului este incompletă, se vor distruge PMN și vor interveni macrofagele care au rolul de a face "curățenie pe câmpul de bătaie" și de a prelucra antigenul pentru a-l prezenta limfocitelor. Cu aceasta se inițiază a doua etapă a răspunsului antiinfecțios.

Etapă următoare constă în stimularea sistemului celular imunocompetent care va produce efectorii imuni (anticorpii și limfocitele sensibilizate) față de microorganismul respectiv. Majoritatea antigenelor microbiene determină răspunsul imun numai în prezența limfocitelor Th. O mică parte din antigenele microbiene (polizaharide capsulare, epitopi repetitivi) sunt timoidenpendente stimulând direct limfocitele B, fără intervenția limfocitelor Th.

A treia etapă constă în acțiunea concertată, sinergică a celor două componente ale apărării antiinfecțioase: înăscută și dobândită. Astfel, anticorpii vor activa, în combinație cu antigenul, complementul pe cale clasică, mult mai eficient decât pe cale alternativă și vor neutraliza toxinele bacteriene și unele enzime citolitice (leucocidine, hemolizine). La aceasta se adaugă citotoxicitatea mediată prin anticorpi a celulelor K și NK.

Pe de altă parte, limfokinele secretate de limfocitele Th activează macrofagele prin amplificarea randamentului distrugerii prin fagocitoză a paraziților cu habitat intracelular.

Rezultatul acțiunii efectorilor imuni asupra antigenelor nu are însă întotdeauna un efect benefic asupra organismului. Uneori, răspunsul imun este neadecvat. Astfel, în unele situații sistemul imun nu mai are capacitatea de a discrimina “selful” de “non-self”, ceea ce constituie baza bolilor autoimune. Alteori, în imunodeficiențe, răspunsul este deficitar, lipsa unor efectori imuni producând infecții repetate și greu de controlat. În fine, răspunsul imun poate depăși în intensitate răspunsul normal determinând fenomenele de hipersensibilitate.

10.3. Fenomene de hipersensibilitate

În evoluția unor infecții, efectorii imunitari pot contribui, alături de agentul etiologic, la patogenia bolii prin sensibilizarea la unele antigene microbiene. Răspunsurile imune care apar într-o manieră improprie sau exagerată corespund termenului de hipersensibilitate. Aceste reacții sunt denumite reacții alergice, iar antigenele implicate, alergeni.

Reacțiile de hipersensibilizare apar la indivizi sensibilizați în prealabil printr-un contact anterior cu antigenul, deci sunt reacții secundare. P.G. Coombs și R.A. Gell clasifică în 1963 reacțiile de hipersensibilitate în 4 tipuri, în funcție de viteza de reacție și natura efectorilor imuni implicați:

- tipul I - reacții mediate de anticorpi IgE (reagine),
- tipul II - reacții citolitic-citotoxice, mediate de anticorpi formați față de antigenele de pe suprafața celulelor, cu participarea complementului, celulelor K și macrofagelor,
- tipul III - reacții mediate de complexe imune cu participarea complementului,
- tipul IV - reacții mediate de limfocitele T sensibilizate.

Deși tratate separat, reacțiile de hipersensibilitate apar în realitate rar complet izolate una de cealaltă, deoarece mecanismele lor se intrică.

10.3.1. **Reacția de tipul I (de tip imediat sau anafilactică)**

Principalele elemente care participă la această reacție sunt: anticorpii citofili IgE, mastocitele, precum și o serie de mediatori foarte activi din punct de vedere biologic. Toate acestea sunt responsabile de simptomele clinice ale alergiei, care pot apare în doar câteva minute (reacție imediată).

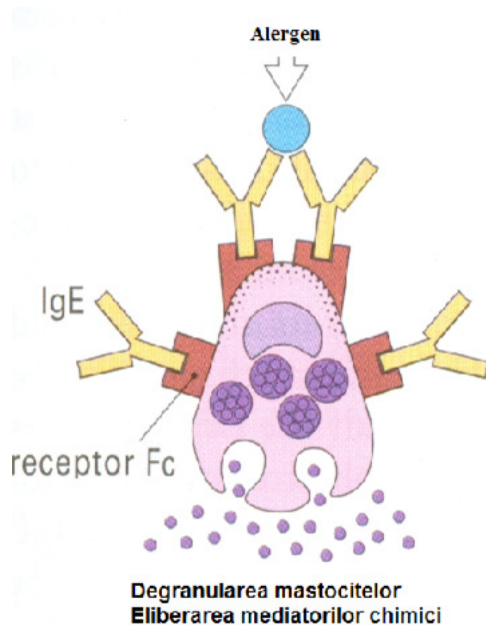


Figura 10.17. Reacția de hipersensibilitate de tip I (adaptată după Abbas, 2023)

Alergenele care induc acest tip de hipersensibilitate sunt foarte variate ca, de pildă, polenul, sporii de mucegai (*Aspergillus*), praful de casă, părul animalelor, unele alimente (ouă, lapte, căpșuni, ciocolată etc.), seruri terapeutice, medicamente (penicilina), veninul unor insecte (viespi) etc.

Primul pas în desfășurarea reacției de tip I este reprezentat de contactul alergenului cu organismul, cea mai frecventă cale de pătrundere a acestor antigene fiind cea respiratorie. Alergenele se pot afla în forme mai mult sau mai puțin pure (polenul), sau cuplate cu particulele de praf inhalate și depozitate pe mucoasa respiratorie. După depozitarea în epiteliu, sau penetrarea filmului de mucoasă, alergenul este preluat de celulele prezentatoare de antigen (CPA). Acestea prezintă alergenul limfocitelor Th. Limfocitele Th activate vor secreta interleukinele IL4, IL13 și IL5. IL4 și IL13 vor acționa asupra limfocitului B care sub acțiunea acestor interleukine se va transforma în plasmocit care va produce în loc de IgG, IgE.

Interleukina 5 va induce eozinofilie. Limfocitele Th activate induc apoi transformarea limfocitelor B în plasmocite producătoare de IgE.

La pacienții atopici, cu mecanismul de control al producției de IgE perturbat, este deseori depășită producția de anticorpi chiar după un contact scurt, cu o doză scăzută de alergen. Producția de IgE la locul de pătrundere al alergenui sensibilizează mai întâi celula mastocitară. Excesul de IgE pătrunde apoi în secrețiile mucoase și în circulație și se leagă prin fragmentul Fc de bazofilele circulante și mastocitele din țesuturi.

A doua etapă a reacției de tip I este activarea celulelor mastocitare și este declanșată de o nouă întâlnire cu alergenul.

Alergenul se va uni cu IgE fixate pe mastocite și va determina o reacție încrucișată între două molecule de IgE cu interconexiuni ale receptorilor Fc la nivelul membranei iritate a celulei mastocitare. Degranularea apare ca o consecință a influxului de Ca^{++} . Granulele, conținând mediatori deja sintetizați, migrează spre suprafața celulelor mastocitare, fuzionează cu membrana externă și își eliberează conținutul (histamina, serotonina, leucotriene și prostaglandine, factori chemotactici). În urma interacțiunii IgE fixate pe mastocit cu alergenul se eliberează din mastocit acid arahidonic sub acțiunea enzimatică a fosfolipazei A_2 . Acidul arahidonic este metabolizat de lipooxigenază, sau ciclooxigenază, producând noi substanțe mediatore. Pe calea lipooxigenazei se produc leukotriene, iar pe cea a ciclooxigenazei, prostaglandine și tromboxan.

În a treia fază a reacției de tip I, mediatorii produc variate efecte care dau naștere simptomatologiei clinice.

La nivelul tractului respirator, histamina eliberată determină contracția musculaturii netede a bronhiilor (bronhoconstricția) în decurs de câteva minute. În același timp, mediatorii chemotactici eliberați favorizează invadarea mucoasei de către granulocitele eozinofile și neutrofile, limfocite și trombocite, în decurs de câteva ore. Aceste celule inflamatorii eliberează ele însele mediatori, unii dintre ei toxici, de exemplu, așa-numita “proteină bazică majoră a eozinofilelor”. Acești mediatorii cauzează o reacție întârziată, la 6-10 ore de la contactul cu alergenul, tradusă prin: bronhoconstricție, secreție de mucus și edem al mucoasei. Reacția indusă de celulele inflamatorii determină o creștere a hiperreactivității bronșice și formează baza alergiei sau inflamația astmatică a mucoasei respiratorii.

Când antigenul sensibilizant (alergenul) este inoculat parenteral în doză suficient de mare (penicilină, procaină, seruri heteroloage etc.) apare o reacție sistemică manifestată prin urticarie, fenomene asfixice, șoc și colaps circulator cu deznodământ adesea fatal.

Când alergenul este inoculat în doză foarte mică (înțepături de albină) sau depus pe o mucoasă (polenuri, praf de casă, mușegaiuri, alimente ca: ouă, pește, fragi), expresia clinică a fenomenului este mai mult sau mai puțin circumscrisă la tegument (urticaria), la mucoasa nazală și conjunctivă (febra de fân), la căile respiratorii

inferioare (astmul bronșic). Sensibilizările spontane față de antigene care pătrund în organism pe cale digestivă sau respiratorie se numesc și reacții atopice.

Evoluția unor infecții se poate însoți de fenomene anafilactice: viroze ale copilului (de exemplu, cu virusul sincițial respirator), astmul intrinsec (sensibilizare la antigene ale bacteriilor care infectează tractul respirator inferior), lambliaza, helmintiaze (ascaridioză, echinococoză etc.).

Depistarea sensibilizărilor anafilactice este obligatorie, mai ales atunci când se administrează un produs cunoscut pentru reacțiile anafilactice pe care le produce.

Testul intradermic este indicat înainte de administrarea penicilinelor, a procainei, a serurilor imune heterologe. La câteva minute de la inocularea intradermică a unei mici doze de alergen, la persoanele sensibilizate, apare o papulă urticariană înconjurată de o aureolă congestivă și însoțită de prurit. Fenomenele dispar după aproximativ o oră. Riscul șocului anafilactic impune medicului care face testarea să lucreze cu diluții mari de antigen și să aibă la dispoziție o medicație corespunzătoare și antișoc.

10.3.2. *Reacțiile de tip II citotoxic-citolitic*

Reacțiile de tip II se datorează anticorpilor Ig G, mai rar IgM, care se formează în organism față de antigene situate la suprafața unor celule sau țesuturi. Antigenele pot aparține unor celule străine sau proprii dacă acestea nu mai sunt recunoscute ca “self” sau și-au modificat antigenitatea. Leziunile se produc prin 2 mecanisme:

- legarea anticorpilor de celula țintă cu activarea pe cale clasică a complementului și citoliză consecutivă,
- citotoxicitatea mediată de anticorpi IgG și limfocitele NK, Tc, macrofage, etc

În reacțiile posttransfuzionale, anticorpi de tip IgM reacționează cu antigene de grup ABO ale eritrocitelor, fiind responsabile de aglutinare, activarea complementului seric și hemoliza intravasculară.

antigene celulare de suprafață

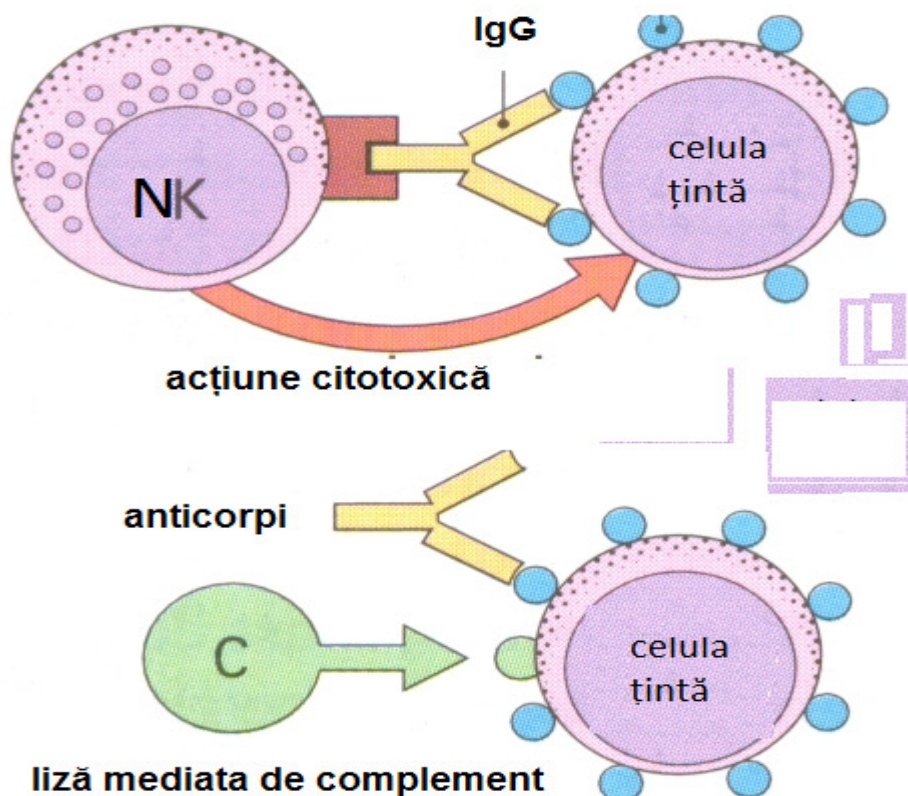


Figura 10.18. Hipersensibilitatea de tip II (adaptată după Abbas, 2023)

Anemia hemolitică a nou-născutului, datorită incompatibilității Rh, este produsă de anticorpi materni de tip IgG care recunosc antigene specifice Rh (factorul D) de pe suprafața eritrocitelor nou-născutului.

Sindromul Goodpasture poate fi considerat un exemplu tipic de reacție de tip II. Este produsă de anticorpi de tip IgG specifici față de antigene ale membranei alveolare pe care organismul nu le recunoaște ca "self". Aceste antigene determină creșterea titrului anticorpilor din ser, care vor reacționa încrucișat și cu antigene ale membranei bazale a glomerulului renal, precum și cu cele alveolare activând complementul seric. Membranele sunt apoi lezate și ca urmare a activității granulocitelor, rezultă hemoragia și necroza glomerulară.

Reacția de tip II poate fi indusă și de medicamente, rezultatul fiind o anemie hemolitică. Medicamentul sau produșii de metabolism ai acestuia se fixează pe membrana eritocitară devenind din haptenă, antigen complet. Eritrocitul nu mai este recunoscut ca "self" și se vor forma anticorpi antieritrocitari. Aceștia se vor uni cu medicamentul de pe suprafața eritrocitelor, vor activa complementul, rezultatul fiind liza acestor eritrocite.

Reacția de tip II apare și în unele infecții, ca, de pildă, în infecțiile streptococice (cardita reumatismală), în care se sintetizează anticorpi față de unele antigene streptococice ce au asemănare cu un antigen al fibrei miocardice. Hipersensibilitatea citotoxică-citolitică se mai întâlnește în infecții cu mycoplasme, virusuri (hepatită B), protozoare (malaria) etc.

10.3.3. **Reacțiile de tip III prin complexe imune**

Leziunile produse de reacțiile de tip III sunt inițiate de complexe imune antigen-anticorp nefagocitate care, formate în cantitate mare, sau persistente în circulație, activează complementul și determină leziuni la locul depunerii lor. La persoanele sănătoase, complexe antigen-anticorp sunt rapid fagocitate de macrofage, dar în anumite circumstanțe (de obicei când există un exces de antigen), ele persistă și stau la baza a numeroase afecțiuni.

Antigenele care induc această reacție sunt foarte variate. Dintre speciile microbiene care pot determina acest tip de hipersensibilitate menționăm : *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*, *Plasmodium vivax*, virusul hepatitei B, virusul Epstein Barr etc.

Anticorpii implicați sunt IgG și IgM, deci activatori de complement.

Complexele antigen-anticorp pătrund prin epiteliul vascular, se depun pe membrana bazală a vaselor și activează complementul. C3a și C5a, care sunt anafilatoxine, vor crește permeabilitatea vasculară, iar C5a (factor chemotactic) va determina afluxul de PMN. Activarea complementului, eliberarea enzimelor lizozomale ale PMN vor produce alterarea membranei bazale. Simptomatologia clinică depinde de sediul reacției.

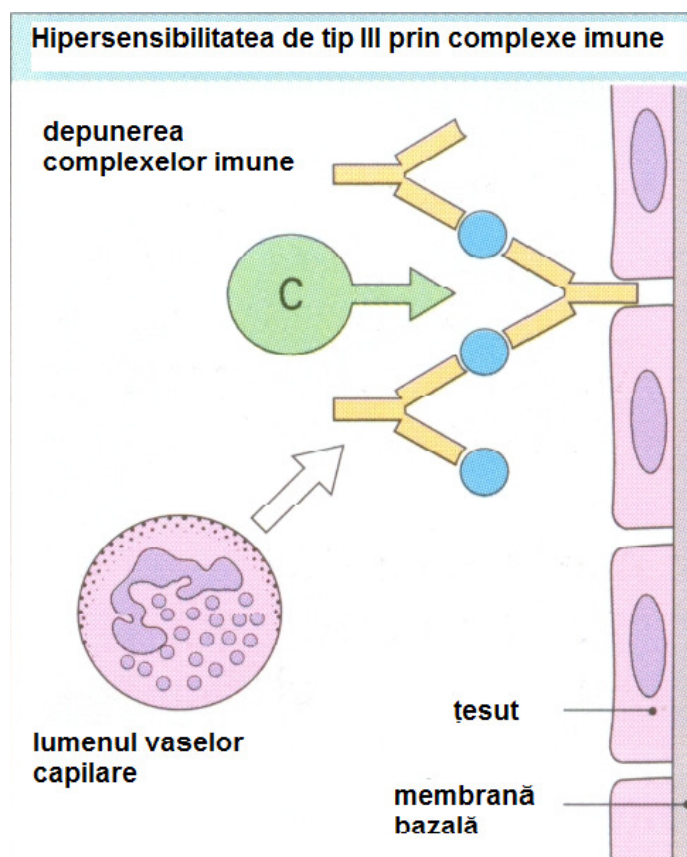


Figura 10.19. Hipersensibilitatea de tip III (adaptată după Abbas, 2023)

Reacția de tip Arthus este o reacție locală. Arthus a inoculat în mod repetat iepuri cu ser de cal. După circa 20 de zile, la locul reinoculării subcutanate a serului de cal a observat apariția, la interval de 3-8 ore, a unor modificări inflamatorii (congestie, edem, peteșii, infiltrat celular), uneori și necroză, persistente 2-3 zile.

Este vorba de fapt despre o reacție a complexelor imune, locală, declanșată după inocularea de antigene la nivel tegumentar.

Antigenul inoculat reacționează cu anticorpi de tip IgG la nivelul pereților vasculari, cu formare de complexe imune. Acestea determină activarea fracțiunii C3a și C5a ale complementului seric, precum și agregarea trombocitară și eliberarea de enzime vasoactive. Aceste enzime determină creșterea permeabilității vasculare și edem local. Granulocitele părăsesc vasele, fagocitează complexe imune și secretă enzime lizozomale. Se poate produce, de asemenea și o degranulare mastocitară cu apariția reacțiilor inflamatorii locale.

O reacție locală de tip Arthus este plămânul de fermier datorată inhalării prafului provenit de la fân mucegăit. Personalul care participă la fabricarea brânzei fermentate de mucegaiuri (*Penicillium casei*) este susceptibil să facă prin același mecanism alveolită alergică extrinsecă. Cronicizarea implică și reacțiile de tip IV.

Reacții locale de tip III se produc și prin eliberarea persistentă locală de antigen de către un agent infecțios. Astfel, infecția cu o filarie (*Wuchereria bancrofti*) este relativ benignă, dar parazitul mort care se află în vasele limfatice inițiază o reacție inflamatoare responsabilă de obstrucția vaselor limfatice cu edeme limfatice gigante: elefantiaza.

Chimioterapia antiinfecțioasă poate determina o eliberare masivă de antigene microbiene prin omorârea microbilor, ceea ce va determina reacții mediate de complexe imune grave, ca, de pildă, eritemul nodos leproso ce apare la pacienții bolnavi de lepră tratați cu dapsonă.

Boala serului este o reacție de tip III generalizată și apare la pacienți cărora li s-au administrat, în scop terapeutic, doze mari de ser imun heterolog (ser antidifteric sau antitetanic preparat pe cai).

După 7-10 zile de la administrarea serului apar în circulație anticorpi față de proteinele de cal. Dacă proteinele nu au fost înlăturate din circulație până la apariția anticorpilor, aceștia se vor uni cu ele și complexe imune formate se vor depune pe pereții vaselor. Prin activarea complementului se vor leza pereții vaselor la care se adaugă leziunile datorate enzimelor lizozomale pe care PMN, "frustrate" de a nu putea fagocita complexe depuse pe pereții vaselor, le eliberează aici.

În scurt timp pacienții devin febrili, prezintă rash urticarian, adenită generalizată, splenomegalie, tumefieri și dureri articulare, leucocitoză cu neutrofilie și eozinofilie, scăderea complementului seric. Frecvent apare albuminurie, care traduce leziuni de glomerulonefrită.

Infecții cronice cauzate de streptococi hemolitici, stafilococi, virusuri hepatice (stimulare antigenică persistentă) pot duce la continua formare de complexe imune și afectarea consecutivă a organelor vizate. Un exemplu este glomerulonefrita care apare la 2-3 săptămâni de la debutul unei infecții cu anumite serotipuri de *Streptococcus pyogenes*. Mecanismul patogenic este similar bolii serului.

10.3.4. **Reacțiile de tip IV mediate celular**

Reacțiile de hipersensibilitate de tip IV sunt antigen-specifice, dependente de limfocitele T, fiind rezultatul unei interacțiuni exagerate dintre un antigen și mecanismele imunității celulare. Mecanismele reacției de tip IV sunt:

- hipersensibilitatea întârziată și
- citotoxicitatea mediată celular.

Hipersensibilitatea de tip întârziat are la bază activarea limfocitelor Th1 de către agenți infecțioși intracelulari (bacterii, protozoare, fungi, unele virusuri) precum și de unele substanțe (nichel, vopsele de păr, cosmetice, azbest, etc). Th1 sensibilizate vor da naștere unei clone de celule sensibilizate. Este faza de sensibilizare HS de tip IV.

La întâlnirea ulterioară cu acelaș antigen urmează faza efectoră a HS IV. Limfocitele Th1 vor secreta o serie de mediatori chimici (IFN-gamma, TNF-beta, IL-2 și IL-3) și diverse chemokine (IL-8, factor chemotactiv și activator al macrofagelor, factor de inhibiție a migrării macrofagelor).

Macrofagele activate vor secreta la rândul lor o serie de mediatori biologic activi, cum sunt unele citokine, radicali liberi ai oxigenului, enzime lizozomale cu puternică activitate microbicidă.

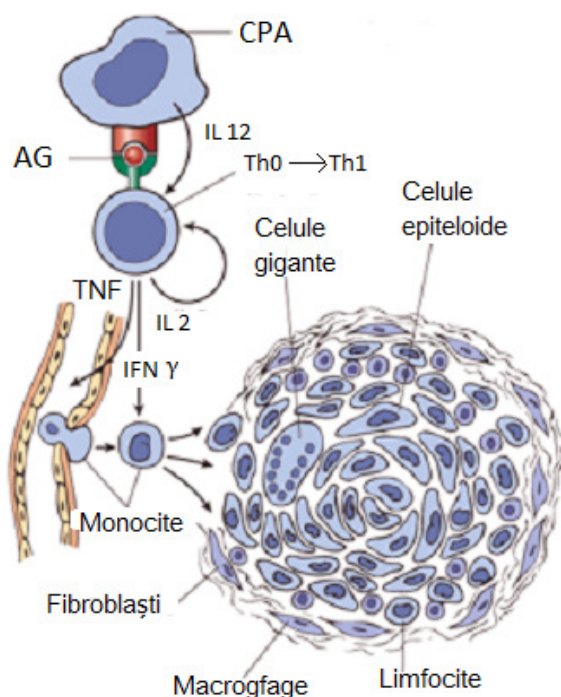


Figura 10.20. Hipersensibilitatea de tip IV (adaptată după Abbas, 2023)

Toate reacțiile descrise anterior se încadrează, de fapt, în apărarea antiinfecțioasă față de infecții cronice cu bacterii intracelulare (tuberculoza, lepra, bruceloza etc.), infecții micotice (histoplasmoza, blastomicoza etc.), infecții virale (oreionul, infecția herpetică etc.) și infecții parazitare (leishmanioza etc.).

Când aceste mecanisme nu reușesc eliminarea microorganismului, antigenele persistente ale acestuia vor provoca o reacție de hipersensibilitate cronică locală. Limfocitele T sensibilizate vor elibera continuu limfokine care provoacă acumularea în focar și activarea unui mare număr de macrofage neinfectate, dintre care o parte se vor transforma în *celule epiteloides*, iar altă parte vor fuziona formând *celule gigante*.

Leziunile tisulare se produc datorită citotoxicității nediscriminatorii a macrofagelor activate. Dacă stimularea antigenică continuă, evoluția se face spre reacția granulomatoasă. Granulomul imun tipic (din tuberculoză) are un centru

format din macrofage, celule epiteloide (macrofage transformate), și celule gigante ce rezultă din celulele epiteloide. Centrul granulomului poate fi parțial necrotic. Miezul central este înconjurat de un inel de limfocite și fibroblaști, iar ca rezultat al sintezei crescute de collagen, granulomul devine fibros.

Manifestările clinice ale hipersensibilității de tip întârziat sunt reacția la tuberculină, reacția granulomatoasă, dermatita de contact, diabetul de tip I, tiroidita Hashimoto, scleroza multiplă, etc.

Reacția de tip tuberculinic. Robert Koch a descris pentru prima dată acest tip de reacție la pacienți bolnavi de tuberculoză pulmonară. După administrarea subcutanată de tuberculină (lipoproteină a bacilului Koch), pacienții prezentau o stare generală alterată, febrilități. La locul inoculării apărea o reacție inflamatorie însoțită de tumefacție tegumentară. Focarul inflamator este format din limfocite, monocite și fibre deteriorate de collagen. Vasele sanguine din vecinătatea focarului vor fi înconjurate de limfocite și macrofage. Are loc eliberarea de limfokine de către limfocitele T_{dh}, care determină atragerea macrofagelor, activarea și reținerea lor la nivelul focarului inflamator. Edemul și eritemul consecutiv ating maximum de intensitate la 2-3 zile. În caz de reinfecție, sau atunci când macrofagele sunt incapabile să distrugă antigenul, poate apare o transformare gradual

a reacției tuberculinice într-o reacție granulomatoasă.

Reacția de hipersensibilitate granulomatoasă. Este forma cu cea mai importantă semnificație clinică, dat fiind faptul că există un număr mare de afecțiuni caracterizate prin perturbări ale imunității mediate de către limfocitele T, ceea ce se traduce prin formarea de granuloame. Microorganisme persistente (în tuberculoză, lepră), care nu pot fi digerate sau eliminate de către macrofage duc la formarea granuloamelor.

Alergia de contact (eczema de contact). Fenomenul a fost descris atât la om cât și la animale, apariția eczemei fiind determinată de contactul direct al antigenului cu tegumentele, dând o reacție care prezintă un maximum de intensitate la 2-3 zile. Cele mai comune antigene cauzatoare ale eczemelor de contact sunt haptene de tipul nichelului, cauciucului etc. Moleculele haptenice mici sunt capabile să penetreze tegumentele, fixându-se la nivelul proteinelor normale ale organismului. Complexele formate sunt antigenice și vor fi preluate de celulele dendritice și prezentate limfocitelor T.

Celulele dendritice sau *celulele Langerhans* transportă antigenele de la nivel tegumentar, pe cale circulatorie la ganglionii limfatici regionali. Complexul format de haptena și MHC clasa II este recunoscut de limfocitele T_{dh}. Limfokinele eliberate determină apariția infiltratului celular mononuclear după maximum 15 ore. Infiltrația este însoțită de edem epidermic cu formare de mici vezicule. Uneori se pot observa și efecte la distanță, dar extinderea inflamației eczematoase este de regulă limitată la aria tegumentară expusă contactului cu haptena.

Testarea reactivității mediată celular. Numărul în creștere al persoanelor cu deficiențe ale imunității mediată celular, unele congenitale, altele dobândite, sau

induse iatrogen (prin medicație antitumorală, imunosupresivă), explică interesul pentru testarea acestui tip de reactivitate.

Intradermoreacția este cea mai simplă posibilitate de a depista hipersensibilitatea întârziată. Majoritatea persoanelor normale răspund cu reacții de tip întârziat la inocularea intradermică a antigenelor de *Candida*, tuberculină etc. Răspunsul negativ la inocularea acestor antigene indică o deficiență a reactivității mediată celular. O reacție exagerată semnifică o hipersensibilizare la antigenul utilizat. Cea mai utilizată reacție este reacția Mantoux de testare a reactivității la tuberculină. Se efectuează în școli pentru a depista copiii care nu sunt sensibilizați la bacilul tuberculos pentru a fi vaccinați, pe cei imunizați și pe cei hipersensibilizați pentru a fi investigați dacă nu cumva au dezvoltat o infecție tuberculoasă.

Hipersensibilitatea întârziată mediată de limfocitele Tc- citotoxice. Limfocitele Tc (CD8) sunt ele însăși citotoxice după stimulare antigenică și interacțiunea cu Th (CD4).

Aceste celule au efect citotoxic direct asupra celulelor țintă prin limfokinele pe care le secretă. Limfocitele Tc sunt stimulate de antigene prezente pe suprafața celulelor pe care organismul nu le recunoaște ca "self", cum sunt celulele virus infectate, celule tumorale sau țesuturile transplantate.

Dintre limfokinele secretate de T citotoxice, cea mai importantă este perforina care se aseamănă cu fracțiunea C9 a complementului. Ca și aceasta, se inseră pe membrana celulei țintă, polimerizează și formează canale transmembranare ce permit influxul de sodiu și deci liza celulei. Limfocitele Tc sunt protejate de activitatea perforinei printr-o substanță numită protectină. Limfocitele Tc joacă rol esențial în respingerea grefelor de țesuturi și organe.

11. INFECȚIA

Procesul infecțios este rezultatul interacțiunii a două componente: agentul infecțios infectant cu factorii săi de patogenitate și organismul cu mijloacele sale de apărare.

11.1. Patogenia infecțiilor

În orice infecție au loc următoarele evenimente, care în majoritate, se petrec consecutiv, într-o perioadă limitată de timp:

- contaminarea (întâlnirea cu agentul infecțios),
- pătrunderea și multiplicarea în organismul gazdă prin eludarea rezistenței antiinfecțioase,
- producerea injuriilor morfologice și funcționale, care se datorează în parte acțiunii directe a agentului infecțios și în mod paradoxal, cel mai frecvent, reacțiilor de apărare ale organismului,
- deznodământul infecției, care poate fi vindecarea cu sau fără sechele, exitusul sau coexistența pe timp îndelungat a celor doi parteneri ai infecției: agentul infecțios și organismul.

11.1.1. Contaminarea

Prima întâlnire a organismului cu microbii se produce în momentul nașterii, fătul ducând o viață intrauterină sterilă din punct de vedere microbiologic. El este apărat de membranele fetale iar placenta permite pătrunderea unui număr foarte redus de microorganisme din circulația mamei, cum sunt, de pildă, unele virusuri (rubeolic, rujeolos, citomegalic, HIV etc.), bacterii (*Treponema pallidum*) și unii paraziți (*Toxoplasma gondi*).

În timpul nașterii nou-născutul vine în contact cu microorganismele prezente în canalul vaginal și pe pielea mamei. El nu este expus acestei contaminări total neprotejat, ci moștenește de la mamă, pe cale sanguină, un repertoriu bogat de anticorpi la care se adaugă cei din colostrul și laptele matern. Aceștia îi asigură o protecție relativă față de infecții până când va începe să-și dezvolte propriile mecanisme de apărare antiinfecțioasă.

Din microorganisme cu care organismul vine în contact pe parcursul existenței sale, o parte vor dispărea de pe suprafața organismului, o parte vor coloniza pielea și mucoasele și doar o mică parte vor produce infecții propriu-zise. Contaminarea poate fi endogenă și exogenă.

Infecțiile exogene sunt cele care rezultă în urma contactului cu agentul infecțios din mediul înconjurător. Agenții infecțioși pot contamina organismul în cele mai

variate împrejurări: pe cale digestivă, respiratorie, contact sexual, manevre medicale, promiscuitatea cu animalele, mușcăturile de insecte etc.

Infecțiile endogene rezultă în urma contaminării cu germeni de pe suprafața mucoaselor și a pielii. Aceste microorgansime produc infecții dacă traversează barierele anatomice și pătrund în țesuturi. Astfel, *E. coli* face parte din flora normală a intestinului, dar dacă pătrunde în căile urinare, va determina apariția unei infecții la acest nivel.

Pe de altă parte, agenți infecțioși din flora normală a organismului, care nu produc infecții la individul sănătos, le vor produce la indivizi cu deficiențe imune (supuși unui tratament imunosupresor, cu deficiențe imune genetice, cu deficiențe imune dobândite).

În ambele situații contaminarea are loc cu mult înainte de producerea infecției propriu-zise.

11.1.2. **Pătrunderea**

Microorganismele pătrund în organismul gazdă:

- în zone anatomice care sunt în relație directă cu exteriorul, fără traversarea barierelor epiteliale, cum sunt tubul digestiv, căile respiratorii, căile urinare, căile genitale, conjunctiva etc. Astfel de microorgansime sunt, de pildă, *Vibrio cholerae* (holera), *Bordetella pertussis* (tusea convulsivă), *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli* (infecțiile urinare) etc.,

- în țesuturile profunde cu trecerea microorganismelor prin barierele anatomice reprezentate de piele și mucoase. Unele microorganisme pot trece direct prin pielea intactă cum sunt leptospirele, iar altele pot traversa epiteliul mucoasei respiratorii, digestive, a tractului genitourinar și conjunctiva,

- direct în sânge sau în țesuturile profunde prin leziuni traumatiche, mușcătura unor animale (virusul rabic, *Pasteurella multocida*), înțepăturile unor insecte (*Plasmodium falciparum*) sau prin diverse acte medicale efectuate fără respectarea normelor de asepsie (HIV, virusul hepatitei B, rickettsii etc.).

11.1.3. **Multiplificarea**

Numărul de microorgansime care pătrund în organism (mărimea inoculului) este în mod obișnuit prea mic pentru a produce simptome. Agenții infecțioși trebuie să învingă mecanismele de apărare antiinfecțioasă ale gazdei și să se înmulțească la un nivel corespunzător pentru ca prezența lor în organism să se facă simțită. În general, microorganismele se multiplică mai încet *in vivo* decât *in vitro*, tocmai din cauza reacțiilor de apărare pe care le declanșează.

Intervalul care trece de la pătrunderea agentului infecțios până la apariția simptomatologiei clinice se numește perioadă de incubație.

Microorgansimele cu habitat extracelular sunt supuse acțiunii complementului, lizozimului, anticorpilor, fagocitozei etc., pe când cele cu habitat intracelular sunt protejate de acești factori, înmulțirea lor fiind protejată.

11.1.4. **Localizarea infecției**

Un proces infecțios poate fi localizat atunci când germenii se multiplică într-o zonă relativ limitată a organismului, ca, de pildă, un abces sau furuncul.

Infecția se poate propaga de la poarta de intrare prin continguitate din aproape în aproape și prin diseminare la distanță pe cale sanguină sau/și limfatică. În cel din urmă caz rezultă infecția sistemică sau generalizată. Dintr-un proces infecțios localizat, germenii pot fi vehiculați de sânge sau limfă la diferite organe inițiind o localizare secundară.

Prezența bacteriilor în sânge se numește bacteriemie, iar multiplicarea lor în sânge septicemie.

Toxemia este prezența în sânge a unei toxine secretate sau eliberate de microb fie în afara organismului (toxina botulinică prezentă în conserve), fie în organism (endotoxina bacteriilor gram-negative când se produce o liză masivă a acestora în sânge).

11.2. **Etapele evolutive ale infecției**

Infecțiile au în general următoarele etape evolutive:

- **perioada de incubație** este intervalul de timp care trece de la pătrunderea microbului în organism până la apariția primelor simptome. Durata ei depinde atât de microorganism cât și de rezistența organismului. În funcție de durata medie a perioadei de incubație deosebim boli cu perioadă de incubație scurtă de 1-7 zile (toxiinfecții alimentare, meningite, difterie, gonoree etc.), cu incubație medie de 8-21 de zile (febra tifoidă, tetanos etc.) și cu incubație lungă de zeci de zile (hepatita B, 60-180 de zile) și foarte lungă de ani de zile (tuberculoză, SIDA, lepră etc.).

- **debutul bolii** reprezintă apariția primelor simptome și poate fi brusc sau insidios.

- **perioada de stare.** În această perioadă se manifestă semnele clinice și paraclinice caracteristice bolii.

- **perioada de convalescență** în care se refac leziuni și se restabilesc funcțiile perturbate. Această perioadă este importantă deoarece acum pot apare recăderi, complicații sau cronicizarea infecției. În cazul unei evoluții favorabile se produce vindecarea cu sau fără sechele. În cazuri nefavorabile, boala evoluează spre exitus sau spre cronicizare.

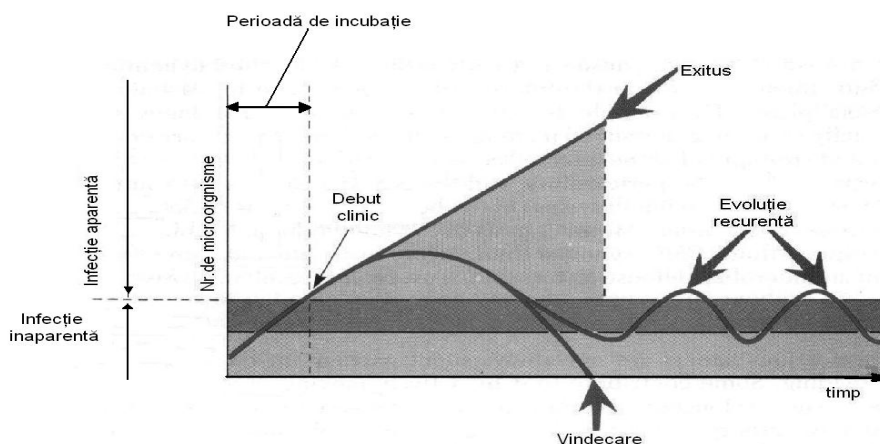


Figura 11.1. Etapele evolutive ale bolii infecțioase (adaptată după Barer, 2019)

11.3. Efectele nocive ale infecției

11.3.1. *Alterări organice și funcționale datorate agenților infecțioși*

Alterări mecanice. Obstrucțiile mecanice se datorează reacției inflamatorii a gazdei ca răspuns la prezența microorganismului (obstrucția căilor respiratorii în difterie).

Distrugere celulară. Bacteriile distrug celulele prin toxinele pe care le secretă și care sunt otrăvuri foarte puternice. Acestea acționează fie în apropierea porții de intrare (*Shigella* asupra celulelor epiteliului intestinal), fie la distanță de locul unde sunt produse (*Corynebacterium diphtheriae*). La acțiunea toxinelor se mai adaugă cea a enzimelor hemolitice și leucolitice.

Alterări farmacodinamice ale metabolismului. Toxina tetanică modifică metabolismul celulelor motoare ducând la paralizii spastice, iar cea botulinică interferează eliberarea de acetilcolină la nivelul sinapselor colinergice, rezultatul fiind paralizia flască. În ambele cazuri moartea se produce prin paralizia mușchilor respiratori. Toxina holerică crește nivelul de AMP-ciclic în celulele epiteliului intestinal, ceea ce are ca rezultat eliminarea unor cantități mari de apă în intestin cu producerea consecutivă a diareei. Moartea survine prin deshidratare.

11.3.2. *Alterări datorate reacțiilor de apărare antiinfecțioasă*

De cele mai multe ori simptomele infecțiilor nu sunt produse numai de microorganismul infectant, ci și de reacțiile gazdei.

Puroiul. Cea mai frecventă consecință a inflamației este puroiul, care constă dintr-un amestec de leucocite vii și distruse, bacterii și un exudat. El rezultă în urma migrării rapide a leucocitelor polimorfonucleare neutrofile în focarul infecțios,

stimulate de substanțe chemotactice produse chiar de bacterii, dar și de țesuturi sau PMN.

Abcesul. Când puroiul se constituie într-o colecție, vorbim de un abces. De exemplu, furunculul se produce prin obstrucția unei glande sebacee, ceea ce oferă bacteriei *S.aureus*, prezentă în mod normal pe piele, oportunitatea de a se înmulți eficient și de a produce infecția. Localizarea unui abces este esențială pentru prognostic. Astfel, furunculele cutanate sunt dureroase, dar prognosticul nu este grav în general, pe când localizarea unui abces la nivel cerebral este fatală.

Reacția de fază acută. Prezența bacteriilor în țesuturi determină o reacție generalizată cunoscută sub denumirea de răspuns de fază acută și care este un mecanism al rezistenței antiinfecțioase naturale. Dacă intensitatea acestei reacții depășește nivelul fiziologic, ea determină tulburări foarte grave.

Endotoxinele bacteriilor gram-negative pot induce și ele răspunsul de fază acută. În doze mici, endotoxinele produc febră și mobilizează unele mecanisme de apărare antiinfecțioasă. În cantități mari, ele induc șocul endotoxic și coagularea intravasculară diseminată.

Răspunsul imun la infecții este umoral și celular și în anumite condiții poate avea un efect nociv asupra organismului.

Răspunsul umoral. Nu are întotdeauna un efect protector. La persoane cu predispoziție alergică este posibilă sensibilizarea organismului față de anumite antigene bacteriene, ceea ce duce la instalarea unor stări de hipersensibilitate mediate umoral (de tip I, II sau III). Astfel, sunt foarte bine cunoscute mecanismele umorale prin care se produc complicațiile alergice poststreptococice cum sunt cardita reumatismală (hipersensibilitate de tip II) și glomerulonefrita acută (hipersensibilitate de tip III).

Răspunsul celular mediat de limfocitele T citotoxice, K, NK și macrofage poate depăși în intensitate limitele fiziologice fiind asociat cu inflamația cronică. Acest aspect se întâlnește mai frecvent în infecțiile cu germeni cu habitat predominant intracelular (tuberculoză, lepră) și virusuri.

11.4. Manifestările clinice ale infecției

Manifestările clinice ale infecției sunt multiple, fiind influențate de o serie de variabile, cum sunt factorii genetici ai gazdei și ai agenților infecțioși, doza infectantă, calea de pătrundere, factorii de patogenitate ai microbilor, rezistența antiinfecțioasă a gazdei, considerente anatomice, factorii de mediu și de alți factori.

Unele infecții au în general, același tablou clinic la majoritatea indivizilor (holeră, ciumă, dizenterie, rabie etc.). Alteori, evoluția este diferită în funcție de rezistența individului și patogenitatea agentului infecțios. Astfel, la unii indivizi infecția poate fi urmată de starea de boală, deci evoluează cu manifestări clinice, iar la cei la care organismul este capabil să-și mobilizeze rapid și eficient mijloacele de

apărare, menținând multiplicarea agenților infecțioși la un prag scăzut, de o infecție inaparentă, care va determina doar modificări imunologice, decelabile prin teste de laborator. Între aceste două extreme există diferite nuanțe care pot fi reprezentate sub forma unui “iceberg”(Figura 11.2).

După aspectul evolutiv, infecțiile sunt acute, cronice, latente și lente.

Infecțiile acute evoluează într-un timp limitat, rezultatul fiind în general vindecarea. Exemple de infecții acute sunt bolile infecto-contagioase ale copilăriei (rujeolă, varicelă, rubeolă, oreion etc.).

În infecțiile cronice agentul patogen acționează timp îndelungat în organism. Ele rezultă fie din cronicizarea unei infecții acute (hepatita B), fie în urma infecției cu germeni care dau boli cu evoluție cronică (tuberculoză, sifilis, lepră etc.).

Infecțiile latente sunt infecții în care agentul infecțios se găsește în organism pentru o perioadă îndelungată, se înmulțește intermitent și produce recidive (infecția herpetică).

Infecțiile lente afectează încet și progresiv sistemul nervos central. Unele sunt de natură virală, ca, de exemplu, panencefalita subacută sclerozantă produsă de virusul rujeolic.

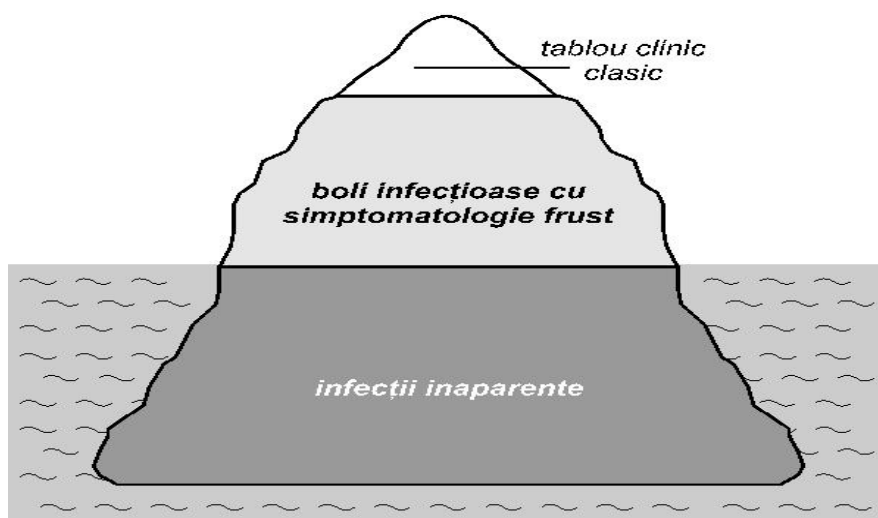


Figura 11.2. Conceptul de iceberg al bolii infecțioase (adaptată după Barer, 2019).

11.5. Noțiuni de epidemiologie a infecțiilor

Epidemiologia este știința medicală care se ocupă cu studiul frecvenței și răspândirii bolilor în masa populațională, a factorilor determinanți și favorizanți care contribuie la apariția/ extinderea lor, în vederea stabilirii și aplicării măsurilor preventive și de control.

Epidemiologia bolilor infecțioase, cea mai veche dintre ramurile Epidemiologiei, se ocupă cu evidențierea procesului epidemiologic, de la apariție și până la stingere, cu elaborarea și instituirea măsurilor de profilaxie și combatere și cu asigurarea unei practici clinice de bună calitate.

În Epidemiologia bolilor transmisibile se folosesc 3 noțiuni fundamentale:

- *Procesul infecțios* - ce reprezintă complexitatea de reacții biologice și modificări histopatologice locale sau generale care apar în urma interacțiunii dintre microorganism și macroorganism, în condițiile generate de mediul extern;
- *Focarul epidemiologic* – se referă la procesul infecțios precum și la totalitatea legăturilor cu procesele infecțioase anterioare și ulterioare. Un focar epidemiologic este constituit din mai multe cazuri noi de boală (2 sau 3), apărute într-o colectivitate, între care se pot stabili legături de filiație sau mai rar, dintr-un singur caz de boală rară (poliomielită, holeră, Ebola, etc.). Filiația cazurilor este legătura ce se poate stabili între îmbolnăviri, pe perioada de incubatie maximă a bolii;
- *Procesul epidemiologic* – reprezintă totalitatea proceselor și mecanismelor fiziopatologice dar și a perturbărilor economico-sociale, ce apar într-o populație agresionată de un agent patogen. Este format dintr-o succesiune de focare epidemiologice cu legătură între ele. În constituirea fiecărui proces epidemiologic intervin factori determinanți (fără de care nu se poate realiza procesul) și factori favorizanți, cu rol secundar dar care pot accentua manifestarea procesului epidemiologic.

11.5.1. **Factori determinanți**

a. *Sursa de infecție (termeni sinonimi – izvor de infecție, rezervor de infecție)* - reprezintă organismul sau mediul care adăpostește agentul patogen, permite supraviețuirea și multiplicarea lui și de unde se elimină în mediul extern, cu posibilitatea de transmitere la o gazdă susceptibilă.

- *Omul* este principalul izvor de infecție în cazul antroponozelor (boli cu transmitere strict interumană: rujeolă, rubeolă, scarlatină, hepatite virale, etc.). Omul poate fi sursă de germeni în cazul în care are o infecție acută (manifestată tipic sau atipic, inclusiv inaparentă) sau cronică. Poate fi contagios în perioada de incubatie (în rujeolă, rubeolă, parotidită, tuse convulsivă, gripă, viroze respiratorii, etc.), în perioada de stare (în majoritatea afecțiunilor infecțioase) sau în perioada de convalescență (în dizenteria bacilară, salmoneloze). În afecțiunile cronice, pacientul rămâne contagios în caz de recrudescențe, recăderi sau recidive, pe o perioadă variabilă, uneori chiar pe toată perioada vieții (în hepatitele virale B, C, malarie, etc.). Purtătorii de germeni sunt surse cu semnificație epidemiologică deosebită datorită dificultății de identificare și sterilizare, fapt pentru care rămân mulți nedepistați, cu menținerea riscului de transmitere în colectivitate;

- *Animalele/păsările* reprezintă sursă de infecție în caz de antropozoonoze (infecții transmise atât de la animale, cât și de la oameni – gripa) sau în caz de zoonoze (boli transmise accidental la om - antrax, bruceloză, tetanos). Transmiterea se poate realiza direct prin atingere, zgâriere, mușcătură (rabie), sau indirect prin consumul/ manipularea/utilizarea produselor de origine animală (antrax, salmoneloze, bruceloză). Sunt implicate animale/păsări domestice, sălbatice, șobolani, șoareci (implicați în leptospiroze, pestă) sau pești/viețuitoare acvatice;
- *Medii* cum sunt apa sau solul. Apa se contaminează prin spălarea solului, topirea zăpezilor, cadavre și dejecte animaliere, deversarea apelor reziduale, a celor provenite din sectorul zootehnic, iar solul, deși nu este un mediu bun de multiplicare a germenilor, este implicat în transmiterea fungilor patogeni, a sporilor bacterieni (*Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*), dar și a paraziților.

b. *Calea de transmitere* - reprezintă drumul parcurs de germen de la sursa de infecție la persoana receptivă, precum și modul cum e parcurs acest drum, influențat de factorii de mediu extern. Transmiterea poate fi:

- *Directă* - între sursa de infecție și organismul receptiv nu se interpune niciun element din mediul extern. Se poate realiza prin contact cutanat (scabie, Mpox), prin mușcătură (rabie), prin sărut (mononucleoză infecțioasă), prin contact sexual (sifilis, gonoree, infecție HIV), transplacentar (rubeola congenitală), neonatal (infecția herpetică a nou-născutului), prin alăptare, prin transfuzii (hepatite virale cu transmitere parenterală) sau prin proiectarea picăturilor Flügge la distanță mică, sub 1 m, direct pe mucoasa nazală, conjunctivală a persoanei susceptibile (gripă, rujeolă, varicelă);
- *Indirectă* - cu interpunerea unuia sau a mai multe elemente de mediu fizic extern (aer, apă, sol, alimente, obiecte, vectori).
 - *Aerul* nu este un mediu bun de multiplicare, dar este un agent de răspândire a germenilor, în special în spații închise. Este implicat în infecții cu poartă de intrare respiratorie - gripă, COVID-19, boli eruptive ale miciei copilăriei, tuse convulsivă, meningită meningococică, infecții stafilococice/streptococice, infecții asociate asistenței medicale (IAAM). Rolul principal îl au picăturile Flügge, picături de salivă și mucus eliminate prin vorbit, tuse, strănut, cântat, atunci când sunt proiectate la peste 1 m de sursă. Majoritatea au diametru mare și se sedimentează repede pe suprafețele din jur. Cele mici se deshidratează și persistă în aer sub formă de nucleosoli, ce pot fi vehiculați prin intermediul curenților de aer, la distanțe mari. Când se usucă, se depun sub formă de pulbere microbiană ce poate fi resuspendată, cu îmbogățirea aeromicroflorei;

- *Apa* poate transmite germeni prin consum direct, consum în gospodărie, udarea plantelor, legumelor, spălarea fructelor, utilizarea gheții în alimentație, prin îmbăiere, inclusiv în scop recreațional (în piscine, ape naturale). Se pot transmite virusurile hepatitice A, E, virusurile polio, vibriionul holeric, *Pseudomonas aeruginosa* și alți germeni ce se dezvoltă în medii apoase;
- *Alimentele contaminate* cu germeni sau toxinele lor sunt implicate în infecții cu importanță majoră pentru sănătatea populației. Contaminarea alimentelor de proveniență animală se poate realiza în organismul animalului (când e bolnav sau purtător de germeni) sau în exterior, prin contactul cu dejectele animalelor sau cu celelalte elemente ale căii indirecte complexe – apă, sol, obiecte, insecte, rozătoare, mână contaminată, inclusiv omul bolnav/purtător. Contaminarea alimentelor vegetale se poate realiza prin irigarea câmpurilor de legume cu ape reziduale, folosirea dejectelor animale/umane ca îngrășămint, prin urina și dejectele rozătoarelor (în silozuri, hambare) sau de la purtătorii de germeni ce manipulează alimentele. Cu cât alimentul se consumă mai crud, mai insuficient prelucrat termic, cu atât crește riscul de infecție. Această modalitate de transmitere este implicată în trichineloză, botulism, salmoneloze, dizenterie bacteriană, bruceloză, infecții stafilococice, etc.;
- *Obiectele* – au rol important în transmiterea germenilor în familie, colectivitate sau mediul nosocomial. Se contaminatează prin contactul cu secrețiile bolnavilor/ purtătorilor de germeni sau prin intervenția altor factori (aer, apă, sol, mâini). Orice obiect poate fi contaminat. Se pot transmite *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, bacterii anaerobe sporulate, adeno-, enterovirusuri, etc.;
- *Mâna contaminată* - este implicată în transmiterea indirectă simplă dar mai ales în cea complexă (în ștafetă), cu importanță epidemiologică în familie, colectivități, unități sanitare. Mâinile se pot auto-contamina cu germenii propriului organism sau se contaminatează de la altă sursă de germeni sau de la alte elemente din mediu extern (apă, alimente, sol, obiecte). Se pot transmite: infecții stafilococice/streptococice, hepatita virală A, multiple microorganisme în unitățile sanitare, colectivități școlare;
- *Vectori* – insectele pot fi vectori pasivi (mecanici), ce transportă germenul pe suprafața sau în interiorul corpului, fără a-l multiplica (*Musca domestica* sau gândacii de bucătărie) sau activi, ce permit maturarea, multiplicarea și diseminarea agentului patogen (țânțari, căpușe, păduchi, pureci). Prin vectori se pot transmite boli diareice acute, dizenterie bacteriană, holeră, enterobacterii, enterovirusuri, infecții stafilococice dar și malarie, encefalită de căpușă, tifos exantematic, pestă.

c. *Populația receptivă* - al treilea factor determinant, reprezintă masa de persoane care sunt receptive la agentul patogen, adică permit germenului să supraviețuiască și să se multiplice în indivizi. În majoritatea patologiilor transmisibile, există persoane susceptibile și persoane rezistente, imune, care nu vor dezvolta infecția în urma unui contact infectant cu un agent patogen sau toxinele lui.

Imunitatea colectivă, de grup reprezintă imunitatea colectivității care permite limitarea sau imposibilitatea transmiterii unui germen în acel grup de persoane. Protejează inclusiv indivizii susceptibili din comunitate, atunci când acoperirea vaccinală și seroprevalența sunt suficient de mari. În unele boli, imunitatea colectivă este determinată de factorii specifici (trecerea naturală prin boală sau vaccinare - rujeolă), în altele este determinată de factorii nespecifici (dizenteria bacteriană, în lipsa unui vaccin eficient) iar în altele, se combină cele 2 categorii de factori (holeră).

Imunitatea poate fi de specie (înnăscută), dobândită activ (spontan prin infecție naturală sau artificial prin vaccinare) sau dobândită pasiv (transplacentar de la mamă sau artificial prin administrarea de anticorpi preformați sub formă de seruri, imunoglobuline umane sau anticorpi monoclonali).

11.5.2. *Factori favorizanți*

Au un rol secundar, intervenind în potențarea procesului epidemiologic. Se clasifică în:

a. *Factori naturali* - se includ anumite caracteristici ale mediului - cosmice (activitatea solară, radiațiile U.V.), geografice (latitudinea, altitudinea, relieful), geologice (cutremurele, erupțiile vulcanice), climatice (anotimpurile ce determină oscilații sezoniere ale morbidității bolilor infecțioase, frigul, căldura) și hidrologice (inundații, secetă) ce influențează dezvoltarea agenților patogeni, numărul surselor, transmiterea sau receptivitatea populației la infecție.

b. *Factori economico-sociali* pot fi:

- *Factori ocupaționali* - profesia, locul de muncă;
- *Starea economică și nivelul cultural/educațional* al populației, cu impact asupra condițiilor de viață – locuință insalubră, alimentație deficitară cantitativ și calitativ, aprovizionare cu apă, cu alimente; gradul de salubritate; de igienă personală și colectivă; nivelul/accesibilitatea asistenței medicale;
- Aglomerația;
- *Crizele economico-sociale* - conflictele sociale, migrația populației consecutiv războaielor, calamităților naturale, dificultăților economice.

c. *Factori biologici* - prezența unor animale/păsări, sau invaziile diferiților vectori (muște, țânțari, soareci, șobolani), cu rol în transmiterea agentului patogen.

11.5.3. **Manifestarea procesului epidemiologic**

Procesul epidemiologic în bolile transmisibile se poate exprima sub 4 forme:

- *Sporadic* – există un număr mic de cazuri, înregistrate la intervale mari de timp, fără legătură între ele, diseminate pe o arie geografică mare (Ex: tetanos). Apare în cazul unei populații nereceptive la agentul patogen prin dobândirea imunității postinfecțioase și/sau postvaccinale. Poate apărea și într-o populație receptivă dacă contactul infectant este sporadic, vectorul transmitător lipsește sau se iau măsuri corecte de profilaxie și combatere;
- *Endemic* - morbiditate relativ scăzută dar constantă. Atunci când numărul de infectări în populație este important, termenul utilizat este de hiperendemie;
- *Epidemic* – apare un număr mare de îmbolnăviri într-un timp scurt și într-o zonă geografică limitată (rujeolă, gripă sezonieră, tuse convulsivă). Epidemia este caracteristică bolilor cu contagiozitate mare, sau când receptivitatea populației este mare, când există multe surse de infecție, mai multe căi de transmitere, când intervin factori favorizanți;
- *Pandemic* – când focarele epidemice se extind succesiv și permanent, acoperind o suprafață geografică mare, cu includerea mai multor continente (gripă cu tulpini de tip A, HIV/SIDA, COVID-19, hepatite virale cu transmitere parenterală).

Aceste forme de manifestare sunt apreciate în funcție de:

- *Morbiditate* – reprezintă numărul de îmbolnăviri de boală X, apărute într-o populație dintr-un anumit teritoriu, într-o anumită perioadă de timp; Această morbiditate se poate exprima prin:
 - *Incidență* – cuantifică numărul de cazuri noi dintr-o anumită boală, apărute într-un anumit teritoriu și interval de timp. Se utilizează uzual pentru bolile acute;
 - *Prevalență* - reprezintă numărul total de cazuri (noi și vechi) existente într-un anumit teritoriu, la un moment dat (prevalență de moment) sau într-o anumită perioadă de timp (prevalență de perioadă). Este utilizată pentru patologia cronică;
- *Mortalitate* – înregistrează numărul de decese dintr-o populație ce ocupă un anumit teritoriu, într-o anumită perioadă de timp.;
- *Fatalitate* – reprezintă numărul de cazuri decedate printr-o anumită patologie, într-un interval de timp, raportat la numărul total de pacienți cu aceeași patologie, din perioada respectivă;
- *Letalitate* – este un raport între decesele grupate după un anumit criteriu (cauză de deces, vârstă, sex) și numărul total de decese, din acel teritoriu și perioadă de timp;
- *Contagiozitatea* - procentul de persoane receptive care expuși agentului patogen, dezvoltă boala manifestă tipic. Există boli cu contagiozitate mare

(rujeola) sau boli care se manifestă predominant inaparent (în poliomielită sau meningita meningococică majoritatea infecțiilor sunt asimptomatice, un număr redus sunt ușoare iar un număr și mai mic sunt tipice, caz în care procesul epidemiologic este de tip “iceberg”).

11.6. Profilaxia bolilor infecțioase

Prin profilaxia bolilor infecțioase se înțelege totalitatea acțiunilor medicale, economice, sociale/politice luate pentru anihilarea sau reducerea riscurilor de apariție și extindere a unei patologii transmisibile în populație.

În funcție de specificitate, măsurile preventive sunt:

- *Generale (nespecifice)* – ce trebuie aplicate în cazul majorității bolilor infecțioase: izolarea bolnavului/sursei de infecție, carantinarea contactilor pe perioada de incubație maximală în patologiiile cu impact mare pentru Sănătatea publică, supravegherea patologiei infecțioase, respectarea igienei personale și colective, educație sanitară, măsuri de dezinsecție/dezinsecție/deratizare, etc.;
- *Speciale* – ce vizează prevenția mai multor posibile infecții (chimioprofilaxia perioperatorie, administrare de preparate antivirale);
- *Specifice* – caracteristice pentru o anumită patologie transmisibilă, ce includ imunizare specifică activă (vaccinare) și/sau pasivă (imunoglobuline specifice).

11.7. Infecția asociată asistenței medicale (IAAM)

Este o infecție dobândită în unități medico-sanitare, contractată în timpul spitalizării/actului medical, ce afectează fie pacienții, fie personalul medical și este legată prin incubație de perioada asistenței medicale, indiferent dacă simptomatologia apare pe perioada spitalizării sau ulterior, la domiciliu. În majoritatea cazurilor, infecția debutează în ziua 3 de internare sau mai târziu, cu excepția situațiilor când în ziua 1 sau 2, s-au realizat intervenții chirurgicale/introducerea unor dispozitive invazive, și apare simptomatologie locală înainte de ziua 3.

Anterior, termenii utilizați au fost de infecție nosocomială sau intraspitalicească, dar cum infecțiile pot fi consecința și a unor tratamente în ambulator sau în centre de recuperare/de îngrijire a pacienților cronici, s-a adoptat un termen mai cuprinzător.

Etiologia IAAM s-a modificat semnificativ în ultimele decenii. Locul bacteriilor sensibile (cu fenotip sălbatic) a fost luat de bacterii MDR, XDR, cu numeroase mecanisme de rezistență asociate, de tipul: MRSA, VRE, bacterii Gram negative carbapenem-rezistente (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, etc.). Acestea fac parte în general din categoria germenilor

oportuniști, care în mediul spitalicesc devin multirezistente la antibiotice și își cresc virulența. Pot produce infecții ale tractului respirator inferior, sangvine, ale plăgilor postoperatorii, urinare, de țesuturi moi, și alte categorii, fiecare definite clar, unitar în sistemul internațional de supraveghere.

Opțiunile terapeutice pentru IAAM produse de asemenea bacterii sunt limitate, reducându-se la utilizarea antibioticelor de rezervă mai vechi (colistin) sau mai noi (aztreonam/avibactam, imipenem/relebactam, cefiderocol, etc.), în monoterapie sau terapie combinată. De asemenea, terapia cu bacteriofagi reprezintă o alternativă promițătoare, dar care în prezent este încă în stadiu experimental sau accesibilă doar în cazuri compasionale.

Trebuie menționați și bacilii anaerobi, printre care *Clostridioides difficile*, agentul colitei pseudomembranoase postantibiotice, care conform anchetei europene de prevalență punctiformă din 2022-2023, are procentajul cel mai ridicat în România (26,0%).

Deși etiologia patologiei asociate asistenței medicale este predominant bacteriană, sunt implicate și virusuri, în special cele transmise parenteral (virusurile hepatitice B,C,D,G, virusul HIV), aerian (virusurile gripale, paragripale, adenovirusurile, virusul rujeolic, varicelozosterian, SARS-COV-2) și uneori pe cale digestivă (rotavirusul, enterovirusuri). La persoanele imunosupresate, după antibioterapii multiple, spitalizări prelungite în ATI, intervin și fungii (*Aspergillus* spp. și *Candida* spp.- inclusiv specii emergente cum este *Candida auris*).

Sursa de germeni poate fi endogenă, din propria floră a persoanei la care apare IAAM, sau exogenă când provine de la personalul medical, alți pacienți, aparținători/vizitatori, studenți aflați în practică sau din mediul spitalicesc. Este cunoscut portajul ridicat de *S. aureus* la personalul medical din spital.

Transmiterea poate fi aeriană prin picăturile lui Flügge eliminate în timpul tusei, strănutului, vorbirii sau a procedurilor (bronhoscopii, aspirarea pacienților ventilați mecanic), prin nucleosoli (germeni cu contagiozitate mare), sistemul de ventilație. Transmiterea se poate realiza și prin obiecte recent contaminate – cele frecvent atinse cu mâna, instrumentar incorect dezinfectat/sterilizat (endoscoape, catetere, dispozitive implantate), alte suprafețe, deșeuri, soluții medicamentoase (perfuzii contaminate, colire contaminate cu *Pseudomonas aeruginosa*), sânge și produse din sânge, alimente/lichide sau veselă contaminate, prin vectori sau mediul apos.

Orice persoană – pacient, personal medical/auxiliar, chiar aparținători/vizitatori pot fi afectați de IAAM dar riscul este mai mare în cazul celor cu factori intrinseci (vârstă mică/înaintată, comorbiditate, plăgi preexistente, factori nutriționali, comportamentali, de igienă personală, colonizări preexistente) sau factori extrinseci (manevre invazive diagnostice sau terapeutice, cateterizări, antibioterapie, corticoterapie, chimioterapie). De aceea, incidența lor este mai mare în secțiile de ATI, mari arși, chirurgicale, neonatologie, oncologie, hemodializă, etc.

Într-o unitate medicală, manifestarea IAAM poate fi sporadică sau endemică, chiar epidemică, în funcție de specificul activității, eficiența programului de

supraveghere și aplicarea măsurilor de prevenție/control. O incidență sporadică poate însemna o cultură organizațională care prioritizează prevenția patologiei nosocomiale dar, în unele cazuri, poate fi dată de o supraveghere deficitară și/sau subraportare.

Tulpinile microbiene izolate în spitale sunt un indicator important al eficienței măsurilor de control aplicate, iar rezistența lor la antibiotice reflectă în mod direct politica utilizării chimioterapicelor antibacteriene, consumul lor pe clase și pe secțiile unității.

Conform legii, fiecare unitate medicală este obligată să implementeze un program de prevenție/ control al infecțiilor care include supravegherea patologiei asociată asistenței medicale și a multirezistenței bacteriene, politica de antibioterapie, monitorizarea mediului de spital, sterilizarea și dezinfecția adecvată a instrumentarului/ materialelor sanitare, respectiv educația pacienților și a personalului medical.

12. IMUNIZAREA ARTIFICIALĂ ACTIVĂ ȘI PASIVĂ

De-a lungul existenței sale omul s-a integrat tot mai complex în sistemul său ecologic alături de numeroase microorganisme, unele dintre acestea fiind patogene sau condiționat patogene. Vaccinurile, alături de antibiotice și antivirale, reprezintă componente esențiale în profilaxia și tratamentul unor boli infecțioase. Descoperirea și utilizarea vaccinurilor a constituit cel mai mare progres în lupta cu bolile infecțioase, prin permiterea dezvoltării unei imunități asemănătoare cu cea determinată de trecerea naturală prin boală.

12.1. Imunoprofilaxia artificială activă

Imunoprofilaxia activă reprezintă introducerea în organismul uman a unor antigene cât mai nevirulente, în vederea stimulării și inducerii unui răspuns imun asemănător celui produs pe cale naturală.

Imunizarea activă conferă în general, o imunitate pe o perioadă lungă - ani de zile (ex: după o vaccinare antitetanică, protecția persistă aproximativ 10 ani). Există însă și excepții - vaccinul gripal, cel împotriva SARS-COV₂ trebuie repetat anual datorită variabilității antigenice ale acestor virusuri. Imunitatea postvaccinală nu se instalează imediat ci doar după o perioadă de latență (în general câteva săptămâni), necesară atingerii titrului protectiv de anticorpi postvaccinali. În situații de risc imediat, postcontact, acest interval se poate acoperi prin administrarea de imunoglobuline sau seruri specifice (preparate de imunizare pasivă, cu efect imediat dar de scurtă durată).

12.1.1. *Clasificarea vaccinurilor*

În practică se folosesc multiple clasificări ale produselor vaccinale, dintre care amintim:

a. În funcție de natura antigenului:

- vaccinuri cu componentă virală – de exemplu vaccinul gripal, rujeolic, rubeolic, poliomieltic, rabic, hepatitic A sau B;
- vaccinuri cu componentă bacteriană – vaccinul BCG (antituberculoză), difteric, tetanic, pertussis, pneumococic;
- vaccinuri cu componentă fungică – mult mai rare dar posibil de fabricat;
- vaccinuri cu componentă parazitară – preparatul vaccinal antimalarie, cu eficiență încă limitată.

b. În raport cu numărul de componente antigenice:

- vaccinuri monovalente, în care antigenul provine de la o singură specie microbiană – de exemplu BCG-ul (conține doar tulpini de *Mycobacterium tuberculosis bovis*), vaccin hepatitic A, hepatitic B;
- vaccinuri complexe ce conțin mai multe tulpini - tipuri/subtipuri ale aceleiași specii, cum întâlnim în vaccinul poliomieltic (cu 2 sau 3 tipuri de virus poliomieltic); vaccinul gripal (cu 3 sau 4 tulpini de virus *Influenza*), vaccin pneumococic sau meningococic;
- vaccinuri asociate ce combină mai multe antigene provenite de la specii diferite, cu avantaje semnificative prin creșterea acceptabilității și simplificarea programelor de vaccinare:
 - preparate bivalente - diftero-tetanic de uz adult (dT), hepatitic A - hepatitic B (Hep A-Hep B);
 - trivalente – diftero-tetano-pertussis acelar (DTPa), rujeolic-rubeolic-urlian (ROR);
 - tetravalente – DTPa + poliomieltic inactivat (DTPa-VPI);
 - pentavalente - DTPa + poliomieltic inactivat + *Haemophilus influenzae* tip b (DTPa -VPI-Hib)
 - hexavalente - la cele 5 componente anterioare se adaugă și AgHBs ADN recombinat (DTPa -VPI-Hib-Hep B).

c. După modalitatea de preparare a vaccinului (strict pentru preparatele autorizate):

- *Vaccinuri corpusculare vii*, atenuate – ce conțin germeni integrali, vii, cu virulența redusă prin treceri repetate pe medii de cultură, prin pasaje la diferite gazde animale sau prin mutații genetice. Sunt preparate cu eficiență mare, la care protecția postvaccinală persistă asemănător cu cea post-trecere prin infecția naturală, dar cu riscul de recăștigare a virulenței și posibilitatea de apariție a bolii postvaccinare. De aceea, sunt contraindicate persoanelor cu imunosupresii de diferite etiologii, precum și gravidelor (Ex: BCG, vaccinul poliomieltic cu tulpini vii - VPO, rujeolic, rubeolic);
- *Vaccinuri corpusculare inactivate* - ce conțin tulpini bacteriene/virale întregi, omorâte prin căldură sau tratare cu formaldehidă. Sunt mult mai sigure, nu pot determina infecție/boală postvaccinare, dar și imunitatea indusă are o durată mai limitată comparativ cu categoria anterioară de preparate (Ex: vaccinul pertussis celular, hepatitic A sau poliomieltic inactivat);
- *Anatoxine bacteriene* – sunt preparate derivate din exotoxinele secretate de unii germeni, prin neutralizarea toxigenezei, dar cu păstrarea capacității imunogene. Anatoxina nativă inițială este optimizată prin purificare și adsorbție pe suport mineral, în vederea creșterii eficienței stimulării imunitare. (Ex: anatoxina tetanică purificată și adsorbită – ATPA, respectiv anatoxina difterică – ADPA);

- *Vaccinuri subunitare*, cu fragmente antigenice – conțin doar fracțiuni antigenice sau subunități virale capabile a declanșa producția de anticorpi. Eliminarea componentelor fără importanță majoră în inducerea imunității, determină o scădere semnificativă a reacțiilor adverse (Ex: vaccinurile gripale cu antigene de suprafață tip hemaglutinină sau cele antihepatită B cu AgHBs ADN recombinat - Engerix B-GlaxoSmithKline, Euvax B-Sanofi Pasteur sau Recombivax HB-Merck&Co);
- *Vaccinuri cu material genetic* – folosesc materialul ce codifică informația genetică necesară sintezei unei proteine din structura agentului patogen, în vederea producerii răspunsului imun. Se divid în:
 - *Vaccinuri cu ADN* – cu inserarea unei molecule de ADN ce codifică antigenul, într-un vector plasmidic. Deși avantajoase prin faptul că se evită contactul organismului uman cu o tulpină vaccinală vie, pătrunderea în nucleul celulei gazdă este dificil de realizat, în special la adulți (Ex: primul vaccin de uz uman, de tip ADN este ZyCoV-D - Cadila Healthcare, aprobat și dezvoltat în India.
 - *Vaccinuri cu ARN* – Antigenul este codat în ARN mesager (ARNm) sau ARN “autoamplificator”(ARNs). În 2020 au fost aprobate vaccinul Comirnaty - Pfizer-BioNTech, respectiv vaccinul Spikevax - Moderna pentru prevenirea COVID-19.
- *Vaccinuri cu vector viral* – sunt utilizați agenți nepatogeni pentru om sau agenți patogeni inactivați care servesc drept vector de introducere a materialului genetic în macroorganism. În prezent sunt aprobate vaccinuri cu vector viral pentru prevenirea infecției cu virus Ebola (Ervebo-Merck Sharp & Dohme sau Zabdeno/Mvabea-Janssen Biologics) dar și anti-COVID-19 (Janssen - Johnson & Johnson ce utilizează ca vector adenovirusul uman tip 26, Vaxzevria - AstraZeneca-Oxford în care se utilizează un adenovirus simian ChAdOx1 sau Sputnik V în care vectorul diferă în funcție de doză – la prima este adenovirusul uman tip 26 iar la a 2-a adenovirusul tip 5).

d. Din punct de vedere al obligativității vaccinării, există:

- *Vaccinare de rutină* – preparatele sunt administrate conform Programelor Naționale de Imunizări, actualizate periodic. Aceste programe variază de la o țară la alta, în funcție de situația epidemiologică, regiunea geografică sau resursele materiale ale sistemului de sănătate. În unele țări există legislație pentru obligativitatea vaccinării (Ex: Franța, Italia, Ungaria), în timp ce în altele, vaccinurile de rutină sunt ferm recomandate (SUA, Germania). În România, vaccinarea de rutină este recomandată, nefiind posibilă în caz de refuz al părintelui/tutorelui sau al pacientului. Programul Național de Imunizări 2025 cuprinde următoarele vaccinări de rutină, puse la dispoziția populației în mod gratuit:

- antituberculoasă – cu vaccin viu atenuat BCG;
- antirujeolică-antirubeolică-antiurliană – trivaccin cu tulpini vii atenuate ROR;
- antipoliomielitică – cu vaccin inactivat VPI;
- antidifterică-antitetanică-antipertussis – cu DTPa acelular, urmat de dTpa de la 14 ani;
- anti*Haemophilus influenzae* tip b – concomitent cu cele 2 vaccinuri anterioare, în cadrul preparatului hexavalent (DTPa-VPI-Hib-AgHBs ADN recombinat);
- antihepatită B cu AgHBs ADN recombinat (vaccin mono- sau hexavalent);
- antipneumococică conjugată și
- ultima introdusă - anti*Human papillomavirus*.

Tabelul 12.1. Calendarul Național de vaccinare – România 2025

Vârsta recomandată	Tipul de vaccinare	Observații
În primele 24 de ore	Vaccin hepatitic B (Hep B)	în maternitate
2-7 zile	Vaccin BCG	în maternitate
2 luni	Vaccin diftero-tetano - pertussis acelular - poliomieltic – <i>Haemophilus b</i> - hepatitic B* (DTPa-VPI - Hib - Hep.B) Vaccin pneumococic conjugat ¹⁾	la medicul de familie
4 luni	Vaccin diftero-tetano – pertussis acelular - poliomieltic - <i>Haemophilus b</i> - hepatitic B* (DTPa -VPI - Hib - Hep.B) Vaccin pneumococic conjugat ¹⁾	la medicul de familie
11 luni	Vaccin diftero-tetano – pertussis acelular - poliomieltic - <i>Haemophilus b</i> - hepatitic B* (DTPa -VPI - Hib - Hep.B) Vaccin pneumococic conjugat ¹⁾	la medicul de familie
12 luni	Vaccin rujeolic - rubeolic - oreion (ROR)	la medicul de familie
5 ani	Vaccin rujeolic - rubeolic - oreion (ROR)	la medicul de familie
5-6 ani	Vaccin diftero-tetano-pertussis acelular - poliomieltic (DTPa -VPI)	la medicul de familie
14 ani	Vaccin diftero-tetanic- pertussis acelular pentru adulți (dTpa)	la medicul de familie
11-26 ani (♀și ♂)	Vaccin <i>Human papillomavirus</i> (HPV) ²⁾	la medicul de familie

Notă: * preparat hexavalent;

- 1) preparate 13- sau 15-valente.
 - 2) Din 01.10.2025 conform Legii nr. 100/2025 pentru completarea Legii nr. 95/2006 privind reforma în domeniul sănătății, publicată în Monitorul Oficial, Partea I nr. 535 din 10 iunie 2025 și a Normelor de aplicare.
- *Vaccinare selectivă* – preparatele sunt recomandate unor grupe populaționale sau persoanelor cu risc crescut de îmbolnăvire, fie datorită unor riscuri exogene, fie endogene. Include:
 - Vaccinuri ce se aplică în situații cu risc epidemiologic crescut – indicate în cazul turiștilor ce călătoresc în regiuni endemice sau în caz de calamități naturale (inundații, cutremure), respectiv sociale (războaie, migrații), cu dezorganizarea masivă a vieții sociale (Ex: vaccinarea antihepatită A, antimeningococică, anti febră galbenă, etc.);
 - Vaccinuri ce se aplică persoanelor cu risc individual crescut de a contracta o boală transmisibilă sau care pot dezvolta mai frecvent forme clinice severe. Aceste persoane pot avea:
 - expunere profesională – personalul medical are indicație fermă pentru vaccinarea antihepatită B, antigripală, antiCOVID-19 iar personalul veterinar necesită vaccinare antirabică;
 - factori biologici care cresc riscul de infectare, de complicații și mortalitate postinfecțioasă – vârstnicii peste 65 de ani au indicație pentru vaccinarea antigripală și antipneumococică, femeile pentru vaccinarea antiHPV, fapt pentru care, între 26-45 ani beneficiază de compensare 50%;
 - patologie preexistentă (boli cronice, afecțiuni imunosupresive, etc.) care interferează cu imunoprofilaxia activă (Ex: bolnavii cu bronhopneumopatie obstructivă cronică au indicație fermă pentru vaccinarea antipneumococică și antigripală, iar splenectomizații trebuie vaccinați antipneumococic, antimeningococic și anti*Haemophilus influenzae* de tip b).
 - *Vaccinarea opțională* – se referă la toate preparatele ce vin în completarea vaccinărilor de rutină, fie prin indicație medicală, fie cerute expres de către pacient și suportate material de acesta (Ex. pentru România: vaccin rotaviral, varicelos, meningococic).

12.1.2. **Principii de vaccinare**

Într-o campanie de vaccinare, se prioritizează grupa de vârstă cu receptivitate maximă pentru infecția respectivă sau cu riscul cel mai mare de a dezvolta forme severe de boală. De exemplu, componenta pertussis se administrează de la 2 luni de

viață, deoarece sugarii sunt susceptibili pentru tusea convulsivă (în lipsa vaccinării gravidei între 27-36 săptămâni de sarcină) iar forma clinică la vârstă mică este mai severă, cu fatalitate mai mare comparativ cu trecerea prin boală la vârsta de preșcolar/școlar.

O campanie de vaccinare eficientă se organizează înaintea sezonului epidemic, pentru a permite dezvoltarea titlului protector de anticorpi și a reduce riscurile de infectare/boală în perioada în care incidența patologiei respective crește. Ideal, vaccinarea antigripală se desfășoară în lunile octombrie-noiembrie, pentru a reduce receptivitatea grupelor cu risc în lunile de iarnă-primăvară, când este posibilă o epidemie sezonieră de gripă.

Se va respecta vârsta minimă vaccinabilă, schema de vaccinare pentru fiecare imunizare în parte, calea de administrare, numărul și mărimea dozelor, intervalul dintre primovaccinare și rapeluri dar și dintre 2 imunizări diferite. 2 sau mai multe preparate vaccinale vii se administrează fie simultan (Ex. ROR), fie după un interval de minim 30 de zile între ele. 2 vaccinuri inactivate/subunitare sau unul inactivat și un altul cu tulpină vie pot fi administrate simultan sau la orice interval între vaccinări.

De asemenea, se respectă indicațiile și contraindicațiile definitive/temporare, precauțiile aferente fiecărui preparat vaccinal. Personalul medical trebuie să cunoască și să respecte tehnica corectă de vaccinare, posibilele reacții adverse postvaccinale, conduita terapeutică de urmat și atribuțiile avute în raportarea Reacțiilor Adverse Postvaccinale Indezirabile (RAPI). Trebuie să se asigure baza materială, instrumentarul medical necesar administrării precum și respectarea lanțului de frig în timpul transportului și stocării preparatelor vaccinale (în cabinet, majoritatea produselor trebuie menținute în frigider, la temperaturi între +2 - +8°C, cu monitorizare zilnică și înregistrare într-un grafic de temperatură).

Imunizările efectuate se vor înregistra cu rigurozitate în fișa individuală a pacientului, în carnetul de vaccinări al copiilor (până inclusiv la 14 ani) și on-line în Registrul Electronic Național de Vaccinări - RENV (<https://www.renv.ro/renv/login.php>).

12.2. Imunoprofilaxia artificială pasivă

Se realizează prin administrarea anticorpilor preformați (sub formă de seruri homologe/ heterologe, imunoglobuline umane sau anticorpi monoclonali), fără activarea sistemului imun al persoanei receptoare. Avantajul principal este instalarea rapidă a imunității dar pe o perioadă scurtă (săptămâni, maxim 3-5 luni). În prezent, utilizarea preparatelor pe bază de anticorpi se aplică în bolile infecțioase emergente (în special ca tratament), în situații de risc epidemiologic imediat – postcontact, pentru persoanele neimunizate, cu contraindicații pentru preparatele vaccinale sau pentru protecția imunosupresaților (substituție prin Ig G monomerice la cei cu agamaglobulinemie/ hipo-gamaglobulinemie congenitală, infecție HIV).

a. *Seruri* – se folosesc pentru blocarea procesului infecțios la subiecții infectați cu agentul patogen respectiv. În funcție de proveniența anticorpilor, se împart în 2 categorii:

- *Serurile homologe* - se obțin de la persoane imunizate anterior prin trecere naturală prin infecție și se numesc seruri umane de convalescent. În pandemia de gripă din 1918, au fost utilizate cu succes în vederea reducerii numărului de decese. Plasma umană de convalescent cu titru ridicat de anticorpi s-a utilizat și în tratamentul pacienților spitalizați cu COVID-19, cu forme moderate, imunodeprimați sau cu alți factori de risc de evoluție negativă (vârstă peste 65 ani, obezitate, patologie cronică cardiovasculară, pulmonară, renală, metabolică, etc.), cu administrare în primele 7 zile de la debutul simptomelor;
- *Serurile heterologe* – sunt soluții de anticorpi obținute de la animale (cal, iepure, oaie) imunizate cu antigene specifice. În prezent, utilizarea lor este redusă pentru că, deși determină protecție imediată, utilă în terapie sau în profilaxia postexpunere, neutralizează germenii sau toxinele circulante, nu și pe cele fixate în celule și pot declanșa reacții alergice severe (șoc anafilactic, boala serului), fiind aport de proteină străină organismului uman. Administrarea acestor seruri necesită testare inițială, eventual desensibilizare, fapt pentru care s-a trecut la înlocuirea lor, acolo unde este posibil, cu imunoglobuline umane specifice. După scop, se clasifică în seruri administrate profilactic (antirabic, antitetanic) și seruri administrate în scopuri terapeutice (antibotulinic, antidifteric și antitetanic). După compoziție, serurile se clasifică în:
 1. seruri antibacteriene (antistreptococic);
 2. seruri antivirale (antirabic);
 3. seruri antitoxice (antidifteric, antitetanic, antibotulinic);
 4. seruri mixte, antibacteriene și antitoxice (ser anticărbunos).

b. *Imunoglobuline umane* – sunt soluții sterile ce conțin anticorpi umani. Se pot administra:

- *Imunoglobuline totale* – includ anticorpi dezvoltați după întregul spectru de infecții și imunizări prin care au trecut persoanele donatoare. Se mai numesc și gamaglobuline umane standard pentru că conțin aproape numai IgG. Au riscuri mult mai reduse de reacții alergice (șoc anafilactic), nu determină sensibilizare, boala serului dar e posibil să nu se găsească suficienți donatori iar conținutul de anticorpi nu este omogen. Se utilizează mai rar, în profilaxia postexpunere a rujeolei (la persoanele imunosupresate, cei cu contraindicație de vaccinare, contactii din focar în primele 6 zile de la expunere) sau în profilaxia hepatiei A - preexpunere (la turiști receptivi ce preconizează deplasări de peste 2 săptămâni în zone endemice pentru VHA sau au

patologie hepatică cronică, imunosupresie) sau postexpunere (în primele 2 săptămâni după contactul infectant, la membrii de familie, persoane din focar);

- *Imunoglobuline specifice* – conțin anticorpi umani împotriva unui anumit microorganism sau a unui anumit determinant antigenic, fiind recoltați de la voluntari hiperimunizați post-infecție sau vaccinare. Aceste gamaglobuline umane hiperimune determină un titru mai mare de anticorpi, ce persistă mai mult timp în organism. Sunt utilizate uzual în profilaxia tetanosului (în caz de plagă cu potențial tetanigen la persoane nevaccinate sau cu antecedente vaccinale incerte/incomplete sau la cei corect vaccinați dar care au politraumatism sever, cu pierderi masive de sânge) sau a rabiei (în primele 24-72 h după o mușcătură de animal sălbatic, animal turbat, în partea superioară a corpului). Imunoglobulinele specifice antihepatită B se recomandă postexpunere, în primele 12-24 h de viață, nou-născuților proveniți din mame infectate cu VHB precum și persoanelor, după contact mucos/parenteral cu fluide biologice infectante (personal medical, contact sexual), în asociere cu vaccinarea antihepatită B. Imunoglobulinele antivirale varicelo-zosterice se administrează postexpunere la copiii imunodeprimați iar cele antivirale citomegalice se utilizează pentru profilaxia și tratamentul bolii citomegalice la primitorii de transplant (renal, hepatic, medular).

c. *Anticorpi monoclonali* – sunt produse de sinteză ce provin de la o singură clonă de limfocite B. Au risc redus de răspândire a germenilor cu transmitere parenterală, reacțiile adverse sunt puține, pot fi administrați intramuscular, într-un volum redus. Sunt utilizați atât în tratamentul afecțiunilor oncologice, autoimune dar și în patologia infecțioasă (Ex: profilaxia infecției cu Virus Respirator Sincizial în special la prematuri, la copii cu patologie respiratorie sau cardiacă cronică, la cei cu imunodeficiențe, la care evoluția unei eventuale bronșiolite ar fi severă). Și în pandemia de COVID-19 s-au folosit anticorpi monoclonali în monoterapie sau în combinații, la cazurile confirmate cu forme clinice ușoare/moderate dar cu factori de risc de evoluție severă, în primele 10 zile de la debutul simptomelor. Eficiența lor a fost limitată datorită variabilității antigenice a SARS-COV-2. În prezent, cercetarea s-a focusat pe terapia cu anticorpi monoclonali în unele infecții (HIV, sepsis cu germeni Gram-negativi) sau în profilaxia unor infecții severe (Ebola, antrax respirator, recurențele de enterocolită cu *Clostridioides difficile*).

Bibliografie

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System. 7th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2023. ISBN 978-0-443-10519-7.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, et al. Molecular Biology of the Cell. 7th ed. New York (NY): Garland Science; 2022.
3. Amsterdam D, editor. Antibiotics in Laboratory Medicine. 6th ed. Philadelphia (PA): Wolters Kluwer Health; 2015. xvi, 807 p. Print ISBN 978-1-4511-7675-9, e-book ISBN 978-1-4698-8365-6.
4. Australian Medical Association. Review on Antimicrobial Resistance. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations – chaired by Jim O’Neill [Internet]. London: HM Government & Wellcome Trust; 2016 [cited 2025 Jul 23]. Disponibil la: <https://apo.org.au/sites/default/files/resource-files/2016-05/apo-nid63983.pdf>.
5. Barer MR, Irving WL, Swann A, Perera N, editors. Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control. 19th ed. London: Elsevier; 2019. ~760 p. ISBN 978-0-7020-7200-0.
6. Balasoiu M, Balasoiu AT, Zlatian O. Microbiologie clinică. Craiova: Editura Medicală Universitară; 2020. 830 p. ISBN 978-973-106334-8.
7. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2019. 2 vol, 4176 p. Print ISBN 978-0-323-48255-4; e-book ISBN 978-0-323-48255-4 (VitalSource eText ISBN 978-0-323-55029-1).
8. Biswas S. Zyduş Cadila: India approves world’s first DNA Covid vaccine. BBC News. 20 august 2021. Disponibil la: <https://www.bbc.com/news/world-asia-india-57774294>.
9. Bonev BB, Brown NM, editors. Bacterial Resistance to Antibiotics: From Molecules to Man. 1st ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2019. 288 p. ISBN 978-1-119-94077-7 (pbk), 978-1-119-59352-2 (e-book).
10. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg’s Medical Microbiology. 28th ed. New York (NY): McGraw-Hill Medical; 2019. 880 p. ISBN 978-1-260-01202-6.
11. Buiuc D, Neguţ M. Tratat de Microbiologie Clinică. Ediţia a III-a. Bucureşti: Editura Medicală; 2022. 1250 p. ISBN 978-973-39-0593-6.
12. Campolo A, Pifer R, Shannon P, Crary M. Microbial adherence to contact lenses and *Pseudomonas aeruginosa* as a model organism for microbial keratitis. Pathogens. 2022 Nov 19;11(11):1383. doi:10.3390/pathogens11111383.

13. Carroll KC, Pfaller MA, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 4-Volume set. 13th ed. Washington (DC): ASM Press; 2023. ISBN-10: 1683674294, ISBN-13: 9781683674290.
14. Chen E, Kasturi S. *Deja Review: Microbiology & Immunology*. 3rd ed. New York (NY): McGraw-Hill Education; 2020. 432 p. ISBN 978-1-260-44141-3.
15. Chess B, Talaro KP. *Talaro's Foundations in Microbiology: Basic Principles*. 12th ed. New York (NY): McGraw-Hill Education; 2023. 992 p. Print ISBN 978-1-266-18361-7; loose-leaf ISBN 978-1-265-10092-6.
16. Cowan MK, Bunn J. *Microbiology Fundamentals: A Clinical Approach*. 4th ed. New York (NY): McGraw-Hill Science/Engineering/Math; 2021. 768 p. ISBN 978-1-260-70243-9.
17. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*. 13th ed. Chichester (UK): Wiley-Blackwell; 2017. 576 p. Print ISBN 978-1-118-41577-1; e-book ISBN 978-1-118-41604-4.
18. Dolgin E. Self-copying RNA vaccine wins first full approval: what's next? *Nature*. 2023 Dec;624(7991):236–237. doi:10.1038/d41586-023-03859-w.
19. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis*. 2001 Mar–Apr;7(2):277–281. doi:10.3201/eid0702.010226.
20. Engleberg NC, DiRita VJ, Imperiale MJ, editors. *Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease*. 6th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2021. 880 p. ISBN 978-1-975151-48-5.
21. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals – 2022-2023. Stockholm: ECDC; 2024. Publicat 6 mai 2024. Disponibil la: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/PPS-HAI-AMR-acute-care-europe-2022-2023>
22. Fahnert B, Lostroh P. *Strelkauskas' Microbiology: A Clinical Approach*. 3rd ed. New York (NY): Garland Science; 2023 Aug 14. 720 p. Print ISBN 978-1-0320-4347-0; e-book ISBN 978-0-1008-5541-8.
23. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 7th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2020. 4 vols (Emerging Viruses [1256 p], DNA Viruses [760 p], RNA Viruses, Fundamental Viruses). ISBN 978-1-975151-48-5 (Emerging Viruses).
24. Gladwin MT, Trattler W, Mahan CS. *Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple*. 8th ed. Harrison (OH): MedMaster Inc.; 2021. 448 p. ISBN 978-1-935660-45-3.
25. Goering R, Dockrell HM, Zuckerman M, Chiodini PL. *Mims' Medical Microbiology and Immunology*. 7th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2024. 624 p. Selected for 2025 Doody's Core Titles in Microbiology and Infectious Disease. ISBN 978-0-323-93725-2.

26. Harvey RA, Cornelissen CN. Microbiology. 4th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2018. 448 p. ISBN 978-1-496-39585-6 (print), 978-1-975-11805-1 (ebook).
27. Hawker J, Begg NT, Reintjes R, Ekdahl K, Edeghere O, van Steenberghe JE. Communicable Disease Control and Health Protection Handbook. 4th ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell; 2019. p.480. ISBN 978-1-119-32804-9. DOI:10.1002/9781119328070.
28. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, et al.; ESCMID Study Group for Biofilms. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. Clin Microbiol Infect. 2015 May;21(Suppl 1):S1-25. doi:10.1016/j.cmi.2014.10.024.
29. Institutul Național de Sănătate Publică. Calendarul Național de Vaccinare – 2024. [poster PDF]. București: INSP; 2024. Disponibil la: https://insp.gov.ro/wp-content/uploads/2025/03/Poster_Calendar_National_Vaccinare.pdf
30. Jong EC, Stevens DL. Netter's Infectious Diseases. 2nd ed. Philadelphia (PA): Elsevier Health Sciences; 2021. 640 p. ISBN 978-0-323-71159-3 (hardcover), 978-0-323-77596-0 (ebook).
31. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Debnath J, Das A, editors. Robbins, Cotran & Kumar Pathologic Basis of Disease. 11th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2025. xx, 1280 p. Print ISBN 978-0-443-26452-8, 978-0-443-28721-3; e-book ISBN 978-0-443-28353-6, 978-0-443-38692-3.
32. Levinson WE, Chin-Hong P, Joyce EA, Karandikar M, Matloubian M, Rubio LA, Schwartz BS. Levinson's Review of Medical Microbiology & Immunology: A Guide to Clinical Infectious Disease. 18th ed. New York (NY): McGraw-Hill Medical; 2024. 856 p. ISBN 978-1-265-12600-1 (print), 978-1-265-12649-0 (e-book).
33. Lin J, Nishino K, Roberts MC, Tolmasky M, Aminov RI, Zhang L; Knapp CW, editor. Mechanisms of antibiotic resistance. Front Microbiol. 2015;6:34. doi:10.3389/fmicb.2015.00034.
34. Mahmoudi M. Immunology Made Ridiculously Simple. 2nd ed. Harrison (OH): MedMaster Inc.; 2024. 88 p. Print ISBN 978-1-962445-07-8, e-book ISBN 978-1-962445-08-5.
35. Mahon CR, Lehman DC. Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Health Sciences; 2022. xxiv, 1088 p. Hardcover ISBN 978-0-323-82997-7; e-book ISBN 978-0-323-83271-7.
36. Man A, Mare A, Toma F; coord. Man A. Microbiologie medicală și alimentară: Diagnostic de laborator și îndrumare practică pentru studenți. Târgu Mureș: University Press (UMF); 2019. 136 p. ISBN 978-973-169-560-0.
37. Mannan MA-U, Kumar G, editors. Current Trends in the Identification and Development of Antimicrobial Agents. Frontiers in Antimicrobial Agents Series,

- Vol 2. Berkeley (CA): Bentham Science Publishers; 2023. x, 384 p. Print ISBN 978-981-5080-06-3; e-book ISBN 978-981-5080-05-6. DOI: 10.2174/97898150800561230201.
38. Masopust D, Schenkel JM. The integration of T cell migration, differentiation and function. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(5):309-320. doi:10.1038/nri3442
 39. Mayers DL, Sobel JD, Ouellette M, Kaye KS, Marchaim D, editors. *Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance. Volume 1.* Cham (Switzerland): Springer International Publishing; 2017. xxiv, 773 p. ISBN 978-3-319-46718-4.
 40. Mayers DL, Sobel JD, Ouellette M, Kaye KS, Marchaim D, editors. *Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects. Volume 2.* Cham (Switzerland): Springer International Publishing; 2017 [reprint softcover 2018]. xv, 855 p. ISBN 978-3-319-47266-9 (ebook), 978-3-319-47267-6 (print), ISBN 978-3-319-83695-9 (softcover reprint).
 41. Mihăescu G. *Imunologie și imunopatologie.* 2nd ed. București: Editura Medicală; 2021. 748 p. ISBN 973-3909076, 978-973-3909071.
 42. Moldovan R, Licker M, Hogeia E, Bădițoiu L. *Microbiologie generală.* Timișoara: LITO-UMFT; 2015. [PDF]
 43. Murphy KM, Weaver C. *Janeway's Immunobiology.* 9th ed. New York (NY): Garland Science/Taylor & Francis Group; 2017. xx, 904 p. ISBN 978-0-8153-4505-3.
 44. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology.* 9th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Health Sciences; 2021. 872 p. Print ISBN 978-0-323-67322-8; e-book ISBN 978-0-323-67450-8.
 45. Nicolson GL, Ferreira de Mattos G. Fifty Years of the Fluid-Mosaic Model of Biomembrane Structure and Organization and Its Importance in Biomedicine with Particular Emphasis on Membrane Lipid Replacement. *Biomedicines.* 2022; 10(7):1711. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071711>
 46. Ordeanu V. *Microbiologie farmaceutică: note de curs.* București: Editura Universității „Titu Maiorescu” & Editura Hamangiu; 2018. 249 p. ISBN 978-606-27-1130-6, 978-606-767-057-8.
 47. Parlamentul României. Legea nr. 100/2025 pentru completarea Legii nr. 95/2006 privind reforma în domeniul sănătății. *Monitorul Oficial, Partea I*, nr. 535 din 10 iunie 2025.
 48. Pițigoi D, coordonator. *Epidemiologie: curs și lucrări practice pentru studenți și medici rezidenți.* 2 volume. București: Editura Universitară „Carol Davila”; 2022 [rev.]. ISBN 978-606-011-220-4.
 49. Podolsky SH. *The Antibiotic Era: Reform, Resistance, and the Pursuit of a Rational Therapeutics.* Baltimore (MD): Johns Hopkins University Press; 2015. xii, 309 p. ISBN 978-1-4214-1593-2.

50. Popovici ED, Bădițoiu LM, Anghel M, Laitin SM-D. Epidemiologie practică pentru studenți și rezidenți. Ediția a IV-a, revizuită și adăugită. Timișoara: Editura "Victor Babeș"; 2019. p. 33-35, 52-56, 98-100, 120-122. ISBN 978-606-786-135-8. (ebook)
51. Prudêncio C, Vieira M, Ferraz R, Amador P. Resistance to Antimicrobial Agents: From Bacteria to Yeast. In: Villa TG, de Miguel Bouzas T, editors. Developmental Biology in Prokaryotes and Lower Eukaryotes. Cham (Switzerland): Springer; 2021. p. 249–287. DOI:10.1007/978-3-030-77595-7_11.
52. Shoals J, Willis J. Immunology. 1st ed. New York (NY): Smartbook Media Inc.; 2020. 48 p. ISBN 978-1-5105-5396-5.
53. Spec A, Escota G, Davies B, O'Halloran J, editors. Comprehensive Review of Infectious Diseases. 2nd ed. Philadelphia (PA): Elsevier Health Sciences; 2025. x, 858 p. ISBN 978-0-323-88185-2 (print), 978-0-323-88390-8 (e-book).
54. Székely EC, Florea D, Indreăș M, Rafila A, Cambrea SC, Popescu GA, et al., editors. Ghid pentru prevenirea și limitarea fenomenului de rezistență la antimicrobiene și a infecțiilor asociate asistenței medicale – Microbiologie [Internet]. București: Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”; 2023 [cited 2025 Jul 23]. Disponibil la: <https://srepi.ro/media/2024/01/Ghid-Microbiologie.pdf>.
55. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial susceptibility testing [Internet]. Växjö (Sweden): EUCAST; [cited 2025 Jul 23]. Disponibil la: <http://www.eucast.org/>.
56. Uniunea Europeană. DECIZIA de punere în aplicare (UE) 2018/945 a Comisiei din 22 iunie 2018 privind bolile transmisibile și problemele de sănătate speciale conexe care trebuie să facă obiectul supravegherii epidemiologice, precum și definițiile de caz relevante. Jurnalul Oficial al Uniunii Europene. L 170:1-74, 6 iulie 2018. Disponibil la: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/RO/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0945>.
57. Voinescu A, Licker M, Muntean D, et al. A Comprehensive Review of Microbial Biofilms on Contact Lenses: Challenges and Solutions. Infect Drug Resist. 2024;17:2659-2671. Published 2024 Jun 26. doi:10.2147/IDR.S463779
58. World Health Organization. Ebola disease. WHO fact sheet. Data publicării/actualizării: [neidentificată]. Disponibil la: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-disease>.