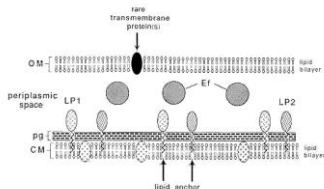
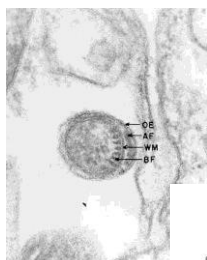


MICROBIOLOGIA ȘI DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL SPIROCHETOZELOR



T. pertenue (agentul **pianului**, maladie cutanată, neveneriană, zone tropicale și subtropicale)

- **Treponeme comensale:**
- Orale (*T.denticola*, *T. orale*, etc)
- Genitale (*T.phagedenis*, *T.refringens*, etc)

CLASIFICAREA SPIROCHETELOR

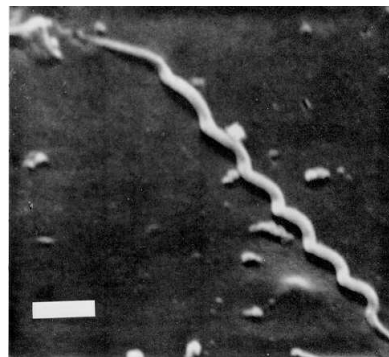
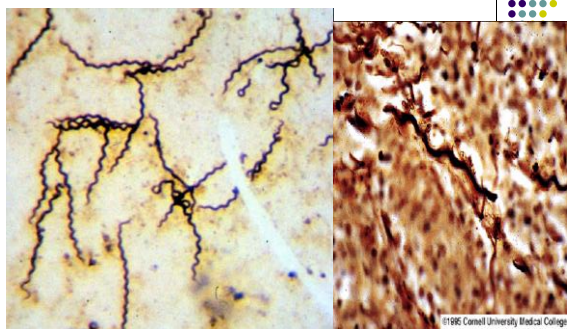
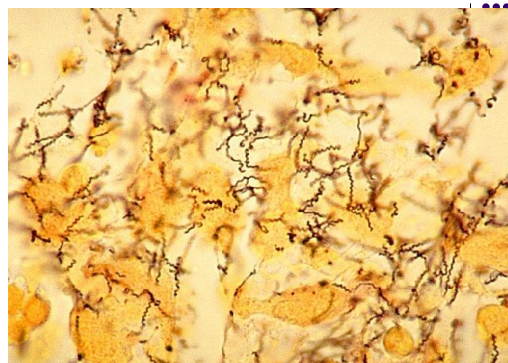
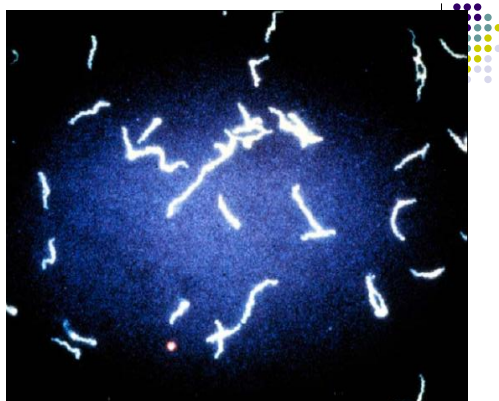
- **Spirochetele** – bacterii helicoidale, flexibile și mobile (fibrile interne), răspândite în natură, comensale ale mucoaselor umane.
- **Familii** : *Spirochaetaceae*, *Leptospiraceae*

MICROBIOLOGIA ȘI DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL SIFILISULUI

- **Familia** Spirochaetaceae
- **Genul** *Treponema*
- **Specii** : - *T.pallidum* (patogenă) subspecii (variante):
T.pallidum pallidum (agentul **sifilisului**)
T.pallidum endemicum (agentul **bejelului**, sifilis endemic nevenerian – leziuni cutanate)
T.pallidum carateum (agentul **pintei/carate**, neveneriană, America Centrală și de Sud)

CARACTERE MORFOLOGICE ȘI TINCTORIALE

- *T.pallidum* – bacterie fină, helicoidală, cu 8-14 spire regulate și capetele ascuțite, mobilă cu mișcări de flexie, înșurubare și translație. Gram -.
- **Evidențierea** :
 - preparate native (microscopul cu fond negru, contrast de fază)
 - Nu se colorează după Gram
 - Romanovsky-Giemsa – roz-pal
 - Impregnare cu săruri de argint (filamente negre-brune pe fondul galben)
 - Frotiuri Burri – necolorate pe fondul negru



CARACTERE DE CULTURĂ

- Cultivarea *T.pallidum in vitro* – imposibilă
 - Pasaje succesive în testicule de iepure (tulpina Nichols de *T.pallidum*).
- Suspensii de astfel de treponeme supraviețuiesc 72 ore în mediul Mayer-Nelson (la 25 grade în anaerobioză).

STRUCTURA ANTIGENICĂ

- **Haptene lipidice** (antigen cardiolipinic / cardiolipin, Ag nespecific) – fosfolipid prezent la treponeme patogene și țesuturi ale mamiferelor (extras din cord bovin)
- **Antigen proteic, de grup**, comun treponemelor patogene și nepatogene (obținut din tulpina Reiter a *T. phagedenis*)
- **Peptide și glicopeptide** din membrana externă, **specifice** *T.pallidum* (obținute din tulpina Nichols a *T.pallidum*)

FACTORI DE PATOGENITATE

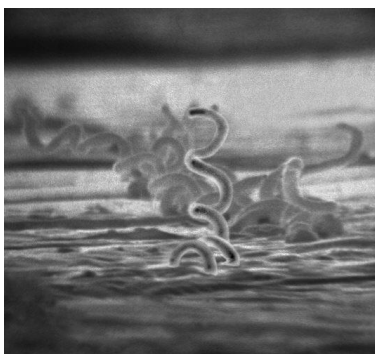
- Factori de adeziune
- Factori de invazie (hialuronidaza)
- Factori de sensibilizare
- Endotoxina
- Supresia răspunsului imun celular în stadiile inițiale ale bolii

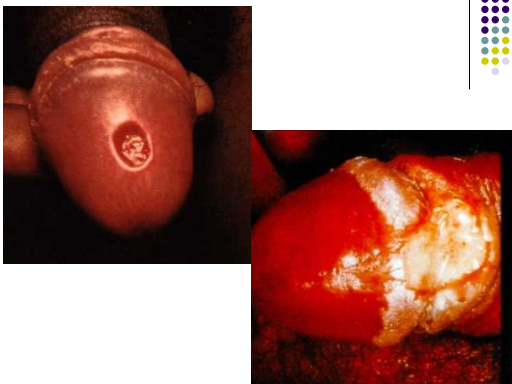
- În 11 luni ale anului 2009 au fost înregistrate 2164 cazuri de sifilis, inclusiv 87 cazuri la copii, comparativ cu 2201 cazuri, inclusiv 89 cazuri la copii în anul 2008.
- În 2 luni ale anului 2010 s-au înregistrat 394 cazuri de sifilis (2 luni 2009 – 400 cazuri) și 238 cazuri de gonoree acută și cronică (2 luni 2009 – 300 cazuri), inclusiv 11 și respectiv 10 cazuri la copii pînă la 17 ani.

PATOGENEZA SIFILISULUI

- **Sursa de infecție** – omul bolnav
- **Căile de transmitere:**
 1. Contact direct (sexual, sărut)
 2. Contact indirect (obiecte, instrumente chirurgicale recent contaminate, transfuzii de sânge, etc.)
 3. Transplacentar (vertical)

- **Poarta de intrare** – tegumentul lezat, mucoasa genitală, bucală, anală
- **Perioada de incubație** – 2-6 săptămâni (3)
- **Evoluția sifilisului**
Sifilisul primar (4-6 săptămâni)
 - la poarta de intrare apare șancrul sifilic: ulcerație cu baza indurată, nedureros, bogat în treponeme (99% localizare genitală și anală, 1% - bucală).
 - Adenopatie satelită
 - Vindecare spontană a șancrului (imunitatea locală)



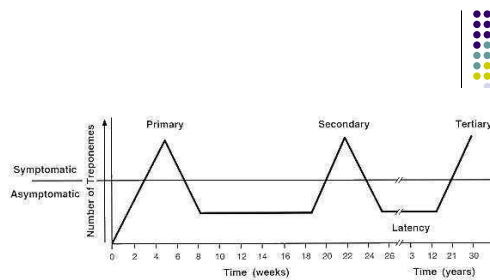
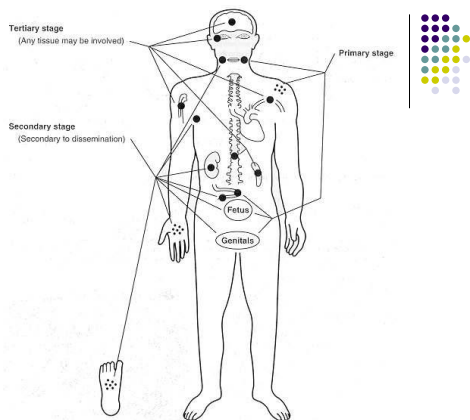


- **Sifilisul secundar** (urmare a diseminării sangvine) – după 6-8 săpt. de evoluție
 - Manifestări cutanate (rozeole, sifilide erozive, etc)
 - Manifestări mucoase (plăci mucoase)
 - Poliadenopatie
 - Leziuni ale organelor interne (hepatite, nefrite, periostite, meningite, etc)
 - Răspunsul imun poate duce la dispariția leziunilor în 1-3 luni



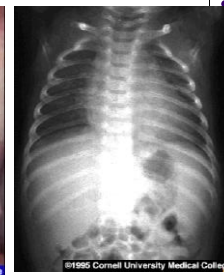
- **Sifilisul latent** (treponemele persistă în ganglioni limfatici și splină)
 - Lipsa semnelor clinice
 - Necontagios
 - Posibile recidive
- **Sifilisul terțiar** (după 4-30 ani de la contaminare)
 - Afecțiuni cardio-vasculare (aortite, anevrisme)
 - Afecțiuni neurologice (tabes, paralizie generală)
 - Afecțiuni osoase și cutanate (gome)
 - Deces posibil



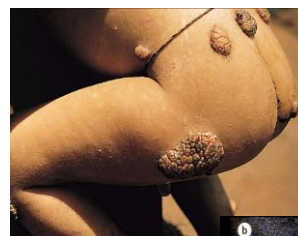
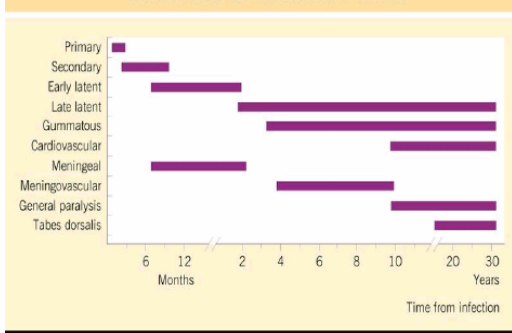


Sifilisul congenital

- În timpul gravidității - moartea fătului prin afecțiuni poliviscerale
- La finele gravidității sau la naștere - leziuni tardive (dentare, osoase, oculare)
- **Imunitatea** (nesterilă)
 - Umorală
 - Celulară (protectoare, deprimată în sifilisul primar și secundar)

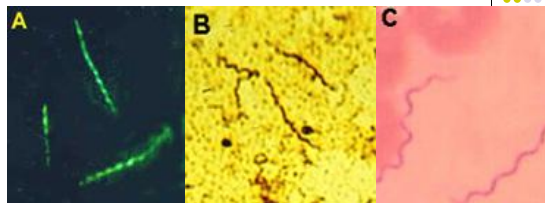


CLINICAL STAGES AND PRESENTATION OF SYPHILIS



DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

- **Prelevate:** serozitatea din leziunile primare sau secundare, puncții din ganglioni limfatici, serul sangvin, LCR
- **Metode de diagnostic**
 1. **Examenul microscopic**
 - Microscopia pe fond negru, contrast fază
 - RIF
 - Impregnare argentică, colorația Giemsa



- **Examenul serologic** (sifilis secundar, terțiar)
- **I Reacții nespecifice** (cu Ag cardiolipinice)
 - Reacția **VDRL** (*Veneral Disease Research Laboratory*) - reacție de precipitare
 - Ieftină, facilă, specificitate redusă
 - Reacții fals pozitive: viroze, colagenoze, paludism, ciroze, reumatism, graviditate, etc.
 - **RFC** (Wassermann)

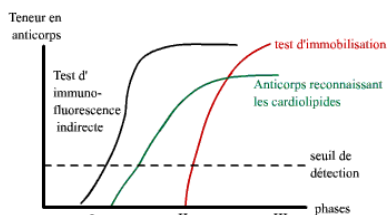
- **Reacții specifice** (cu Ag treponemice)
 - **RFC** Wassermann sau Kolmer
 - **RHAI** (Ag – lizat din tulpina Nichols fixat pe hematii)
 - **RIFI** (Ag – suspensie de *T.pallidum* fixată pe lamă)
 - **RIT** (testul Nelson) (Ag – tulpina Nichols a *T.pallidum*)
 - **RIE** (ELISA)
 - **PCR** (detectarea ADN) în LCR, lichidul amniotic, țesut

EVOLUȚIA TITRURILOR DE AC

- RIFI se pozitivează la apariția șancrului (o lună după infectare)
- VDRL – după 6 săptămâni
- RHAI
- RIT – în stadiul secundar, 2 luni după infectare

După tratamentul sifilisului:

- VDRL se negativează prima
- Alte reacții rămân pozitive



TERAPIA ȘI PROFILAXIA SIFILISULUI

- **ANTIBIOTERAPIA** – beta-lactamine, tetraciline, macrolide (rezistență la aminoside)

Reacția Herxheimer este posibilă (efectul endotoxinei)

- **PROFILAXIA** – depistarea sistematică activă și tratarea bolnavilor



TABLE 36-1 Characteristics of the Four Treponematoses

Characteristic	Syphilis (subsp pallidum)	Yaws (subsp pertuense)	Pinta (subsp carateum)	Endemic Syphilis (subsp endemicum)
Epidemiology				
Other names	Venereal syphilis	Frambesia, plan	Carate, cute	Bejel, dichuchwa
Prevalence	Worldwide areas	Hot, humid areas	Hot, humid Tropics	Hot, dry areas
Locations	Worldwide	Tropics	Central and South America	Deserts
Age group	Adults	Children, adolescents	Children	Children, adults
Spread	Venereal	Skin	Skin	Mucous membranes
Congenital infection	Yes	No	No	Rarely
Disease characteristics				
Incubation period	10-90 days	14-28 days	2-6 months	?
Invasiveness	High	Intermediate	Low	Intermediate
Perivascular cuffing (cutting)	Yes	No	Yes	Yes
Tissues	All	Skin, bones, soft tissues	Skin	Mucous membranes, skin, muscles, bones
Predominant cellular infiltrate	Lymphocytes, plasma cells	Mostly plasma cells	Mostly lymphocytes	Lymphocytes, plasma cells
Destructive lesions	Yes	Yes	No	Yes
Granulomas	Yes	Yes	No	Yes
Gummas	Yes	Yes	No	Yes
Condylomata lata	Yes	Yes	No	Yes



MICROBIOLOGIA ȘI DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL LEPTOSPIROZELOR

- **Leptospirele** sunt bacterii care pot infecta numeroase specii de animale (în special vertebrate) și accidental omul.

Clasificare

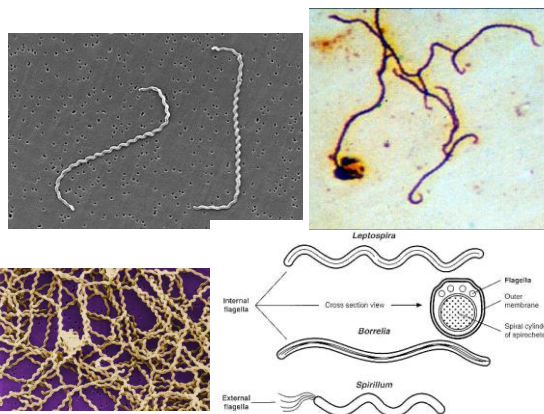
- Familia *Leptospiraceae*
- Genul *Leptospira*
- Spp. *L.interrogans* (patogenă pentru om și animale)
L.biflexa (saprofită, ape de suprafață)
L.parva (saprofită, apa de conductă)



CARACTERE MORFOBIOLOGICE

- **Caractere morfologice** – bacterii fine și spiralate, cu 10-30 spire strânse și regulate, cu capetele îndoite în cârlig (aspect de *S, C, ?*). Realizează mișcări de înșurubare, flexie și translație.

Pot fi examinate la microscopul cu fond negru sau cu contrast de fază.
Colorația Giemsa – roz-pal



CARACTERE MORFOBIOLOGICE

- **Caractere de cultură**
 - **Medii lichide cu săruri anorganice** tamponate cu fosfați și îmbogățite cu ser de iepure (mediile Korthof, Stuart), medii semisintetice
 - **Aerobioză**
 - **28-30 grade C**
- Leptospirele se multiplică în 3-10 zile (până la o lună) **fără a tulbura mediul**



CARACTERE MORFOBIOLOGICE

- **Structura antigenică a *L.interrogans***

1. Antigene cu specificitate de **gen**, LPZ
2. Antigene majore de **grup** (peste 20 serogrupuri)

Ex.: *L.icterohaemorrhagia*, *grippotyphosa*, *hebdomadis*, *canicola*, *pomona*, *autumnalis*, etc.

3. Antigene minore de **tip** (peste 200 serotipuri/varianțe) - proteice



PATOGENEZA LEPTOSPIROZELOR

- **Sursa de infecție:** rozătoarele sălbatice, accidental-rozătoarele peridomestice sau animalele domestice (porci, câini, cai, bovine) – *tubii contorți proximali renali*
- **Poarta de intrare:** tegument și mucoase
- **Căile de transmitere:**
 - Alimentar (alimente și apa contaminată)
 - Contact direct cu animalele infectate
 - Contact indirect (cu apa contaminată)

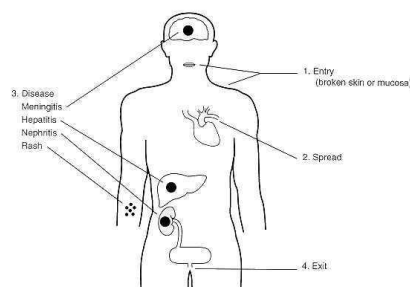


- Leptospirele sunt antrenate în circulația sanguină fără leziuni la poarta de intrare
- **Incubația** – 1-2 săptămâni (10 zile)

- **Evoluția leptospirozelor:**

1. **Faza septicemică** (generalizată) – 7 zile
 - febră, frison, sindrom meningeal
2. **Faza afebrilă** (1-3 zile)
3. **Faza organică** (febră, sindrom meningeal, sindrom hepato-renal, sindrom cardiovascular-hemoragic, icter)

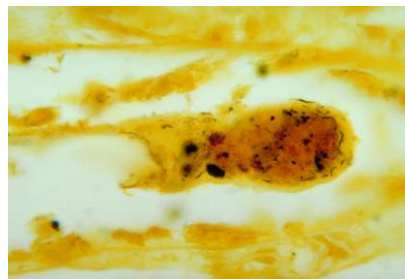
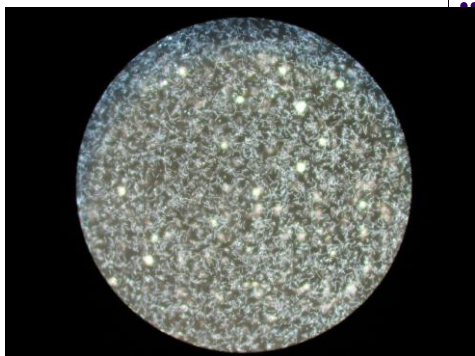
Imunitatea: umorală, specifică de tip, durabilă



DIAGNOSTICUL DE LABORATOR

- **Prelevate:** sânge, LCR (prima săptămână), urină (din săptămâna II de boală), probe necrotice (secțiuni histologice renale, hepatice)
- **Metode de diagnostic**
 - **Examenu microscopic** (fond negru, contrast de fază, colorația Giemsa sau impregnația argentică a secțiunilor histologice), RIF





- Examenul bacteriologic

Probele sunt însămânțate în câte 3-5 tuburi cu mediu de cultură, incubate în aerobioză la 28 grade până la 1-3 luni.

Identificarea în baza caracterelor:

- Microscopice
- De cultură
- De patogenitate
- Serologice (RFC, RAL)

- **Examenul biologic** (inocularea intraperitoneală la cobai). Peste 1-3 zile leptospirele pot fi depistate în exsudatul din cavitatea abdominală.

- **Tehnici PCR** (detectarea ADN)
 - **Diagnosticul serologic** (din săpt. II)
 1. Reacții cu specificitate de gen (RFC, RHAI, RIFI, ELISA)
 2. Reacții cu specificitate de tip (de referință)-RAL (Reacția de aglutinare-liză)
- Titru diagnostic - 1/400 sau creșterea în dinamică de 4 ori

TRATAMENT ȘI PROFILAXIE

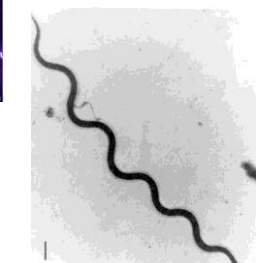
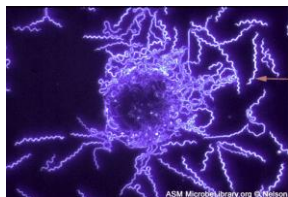
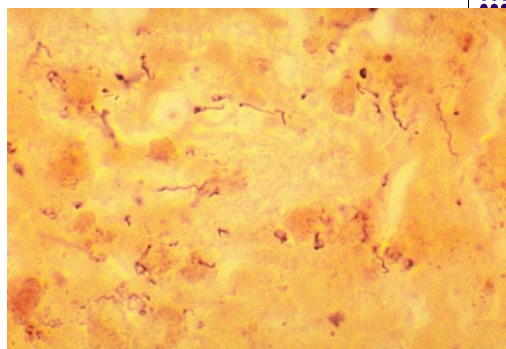
- **Tratament:** penicilină, tetraciclină, gama-globulina antileptospiroasă
- **Profilaxie:** deratizarea, igiena și protecția muncii, supravegherea bazinelor de apă, vaccinarea selectivă (vaccin inactivat, durata imunității-1 an)

MICROBIOLOGIA ȘI DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL BORRELIOZELOR

- CLASIFICARE:
- Familia *Spirochaetaceae*
- Genul *Borrelia*
- Specii:
 - *B.recurrentis* (transmisă prin păduchi)
 - *B.duttoni*, *B.hispanica*, *B.persica*, *B.burgdorferi*, etc (transmise prin căpușe)

CARACTERE MORFOBIOLOGICE

- **Morfologia:** filamente spiralate cu 5-8 spire neregulate, flexibile și mobile, cu mișcări de flexie și înșurubare. Gram-, colorate în albastru-violet după Giemsa.
- **Caractere de cultură:** bacterii anaerobe, cultivă *in vitro* pe medii complexe și *in vivo* (ou embrionat, artropode, animale de laborator)



- **Structura antigenică:** variabilitate pronunțată
- **Habitat**
 - Omul bolnav – în sânge și țesuturi infectate
 - Rozătoare
 - Vectori (păduchi, căpușe) – în lichidul celomic

FEBRA RECURENTĂ

• Febra recurentă epidemică

Agentul cauzal - *B.recurrentis*

Sursa de infecție – omul bolnav

Vector - *Pediculus humanus*

Contaminare – prin lichidul celomic eliberat la zdrobirea păduchilor

Poarta de intrare – tegumentul lezat, conjunctiva

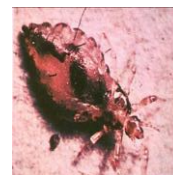
• Febra recurentă endemică

Agentii cauzali - *B.hispanica*, *B.persica*, *B.duttoni*, etc

Sursa de infecție – rozătoarele sălbatice sau peridomestice

Vectori – căpușe din genul *Ornithodoros*

Contaminare – prin înțepătură, prin intermediul lichidului coxal, prin dejecții anale

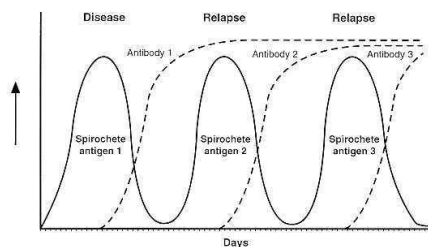


PATOGENEZA FEBREI RECURENTE

- **Perioada de incubație** – 3-14 zile (borreliile se multiplică în viscere – ficat, splină, creier, etc.)
- **Perioada febrilă** – debut brutal, cu febră 40-41 grade și frison (endotoxina eliberată în sânge la distrugerea borreliilor). Algii difuze, stare de tifos, semne meningeale, hepato-splenomegalie, icter. Criza febrilă durează 7 zile.
- Urmează o **perioadă afebrilă** de o săptămână, succedată de altă criză termică cu durată mai scurtă
- Accesele se repetă (2-4-10 recurențe)

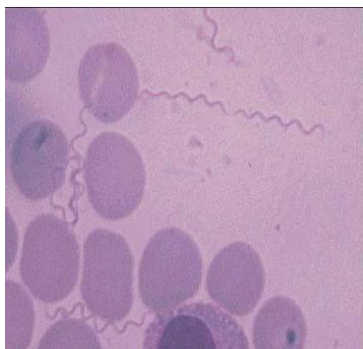


- Sub acțiunea anticorpilor bactericizi formați la sfârșitul acceselor febrile se selectează varianta antigenică responsabilă de următorul acces.
- Febra recurentă endemică are o evoluție mai benignă



DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL FEBREI RECURENTE

- **Prelevate:** sânge, LCR
- **Metode de diagnostic:**
 1. **Examenul microscopic** (în perioada febrilă):
 - preparate native (fond negru, contrast de fază)
 - Frotiuri colorate Giemsa
 - RIF
 2. **Examenul biologic** (infecțarea cobailor, șobolanilor)



TRATAMENTUL ȘI PROFILAXIA FEBREI RECURENTE

- **Tratament:** peniciline, tetraciline, cloramfenicol
- **Profilaxie:** lupta contra vectorilor și protecția individuală

BOALA LYME

- **Agentul cauzal** – *Borrelia burgdorferi* (*B.burgdorferi sensu stricto*, *B.afzelii*, *B.garinii*)
- **Caractere morfoculturale** – bacterie helicoidală, mobilă prin mișcări de flexie și rotație. Nu se colorează prin metoda Gram.
Se cultivă lent (câteva săptămâni) numai pe medii speciale

HABITAT ȘI CONTAMINARE

- **Rezervor de infecție:** rozătoare, animale domestice (câini, cai, etc), păsări.
- **Vectori:** căpușe din genurile *Ixodes* și *Amblyomma*, țânțari, tăuni
- **Contaminare:** prin înțepătura vectorului infectat

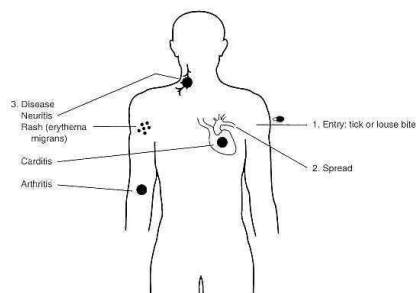


EVOLUȚIA BOLII LYME

- **Incubație** – 2-4 săptămâni
- **I Faza primară** (leziune cutanată – eritemul cronic migrator). Durata – 3-4 săptămâni



- **Faza secundară** – durata 2-6 săptămâni – manifestări neurologice, cardiace, cutanate, artralgie
- **Faza terțiară** – durează luni, ani – afecțiuni cronice cutanate (acrodermatită cronică atrofiantă), articulare (artrite cronice), neurologice (encefalomielite)



DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL BOLII LYME



- **Prelevate:** biopsii cutanate, sânge, LCR, lichid sinovial
- **Metode de diagnostic:**
 1. **Examenul microscopic** (preparate native, colorația specială a biopsiilor, impregnare argentică)
 2. **Examenul bacteriologic**
 3. **Diagnosticul serologic** (RIFI, ELISA, Western-blot)
 4. PCR

- **Tratament** – peniciline, tetracicline
- **Profilaxie** – informarea populației, extragerea căpușelor

