

GENUL SALMONELLA. MICROBIOLOGIA ȘI DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL SALMONELOZELOR

CLASIFICARE

Genul: Salmonella (Daniel Elmer Salmon, veterinar american, care a descoperit bacteria în 1885)

Specii: Salmonella enterica, Salmonella bongori (*Salmonella subterranea* (din 2004))

Subspecii ale speciei S. enterica: enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae, indica

Majoritatea tulpinilor izolate din patologii umane (99,5%) aparțin ss *S. enterica enterica* cu peste 2500 de serovariante: S. London, S. Enteritidis, S. Typhi, S. Paratyphi A, S. Paratyphi B, S. Choleraesuis, etc

Salmonella enterica subspecia *enterica* serovar Typhi
sau
Salmonella Typhi

CLASIFICAREA KAUFFMANN-WHITE (conform structurii antigenice)

- **Ag O** – 67 varietăți antigenice (O1, O2, O3, ... O65 etc), permite repartizarea salmonelozelor în serogrupe (A, B, C, D, E,...Z, O51,...)

Fracții antigenice majore desemnează grupa:

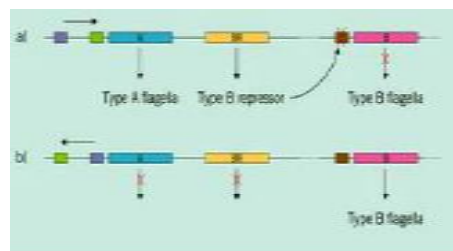
O2 – grupa **A**; **O4** – **B**, **O6** – **C**, **O9** – **D**, etc

Fracții antigenice minore – O1, O12 - sunt comune

- **Ag H** – definește serovariante în cadrul grupei. Structura flagelinei este determinată de 2 gene cromozomale diferite, care se exprimă simultan sau alternativ (variație de fază, frecvența 10⁻⁴)

Ag H faza 1 (specifică) – Ha; Hb; Hc; Hd; Hg,m...

Ag H faza 2 (nespecifică) – H1,2; H1,5; H1,7;...



Serovar monofazic: **O1,2,12:Ha** (S.Paratyphi A)

Serovar difazic: **O1,4,12:HbH1,2** (S.Paratyphi B)

- **Ag VI (K)**, poliozidic, termolabil, prezent la S.Typhi, S.Paratyphi C, S.Dublin. Este concentrat la polii bacteriei. Maschează Ag O.

S. Typhi – **O9,12:Hd:VI+** / **O9,12:Hd:VI-**

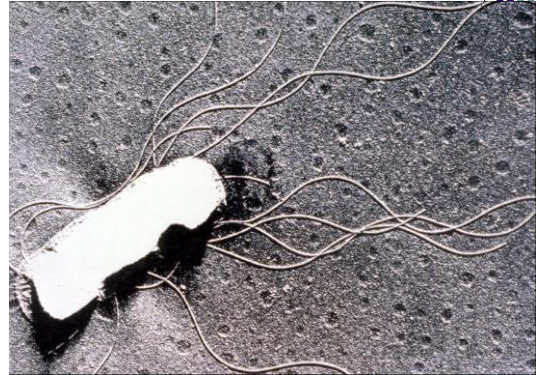
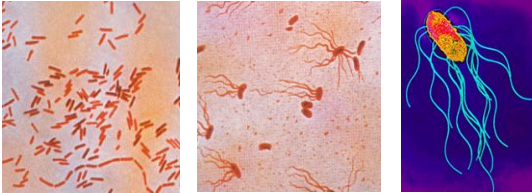
Conform patogenității pentru gazdă se disting:

- Salmonellele monopatogene (umane) (S.Typhi, S.Paratyphi A, S.Paratyphi B)
- Salmonellele bipatogene (patogene pentru om și animale, ubiquitare) - majoritatea

Grupa	Serovarul	Antigenul O	Vi	Antigene H faza 1	faza 2
A	Paratyphi A	1,2,12		a	–
B	Paratyphi B	1,4,5,12		b	1,2
	Wien	1,4,12,27		b	1,w
	Typhimurium	1,4,5,12		i	1,2
	Derby	1,4,12		f,g	–
C	Paratyphi C	6,7	+	c	1,5
	Virchow	6,7		r	1,2
	Infantis	6,7		r	1,5
	Bovismorbificans	6,8		r	1,5
	D	Typhi	9,12	+	d
E	Enteritidis	1,9,12		g,m	–
	Panama	1,9,12		l,v	1,5
	Dublin	1,9,12	+	g,p	–
	Gallinarum	1,9,12		–	–
E	London	3,10		l,v	1,6
	Anatum	3,10		e,h	1,6

Caractere morfologice

Salmonella – bacterii gram-, mobile peritriche (S.Gallinarum, – imobilă), asporogene.



• Caractere de cultură

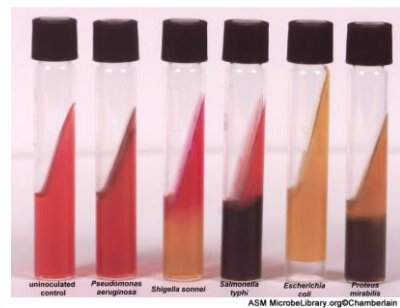
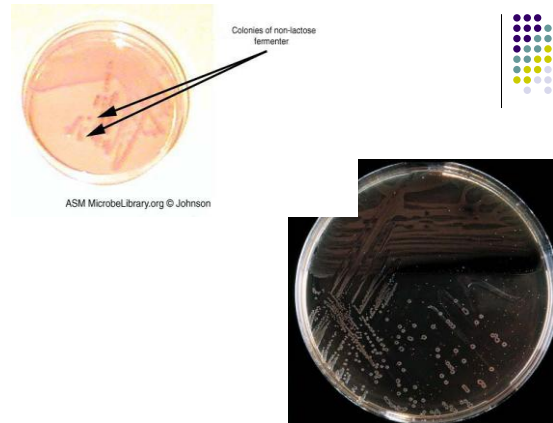
1. Medii de **îmbogățire**: Muller, Kauffmann (medii cu bilă, tetratratat), bulion cu selenit de Na
2. Medii DD de **izolare a culturii pure**: Endo, Levin, Ploskirev (colonii S, lactozo-); mediul cu sulfid de bismut Wilson-Blair (colonii negre)
3. Medii DD de **acumulare și diferențiere**: Olkenițki, Kligler (glucoza AG, lactoza-, H₂S+, ureaza-)

Teste primare: utilizează citratul de Na, produc H₂S, MR+, LDC+, mobilitate+, celelalte teste – negative.

Teste secundare: scindează glucidele AG, indol-, ornitindecarboxilaza+, etc

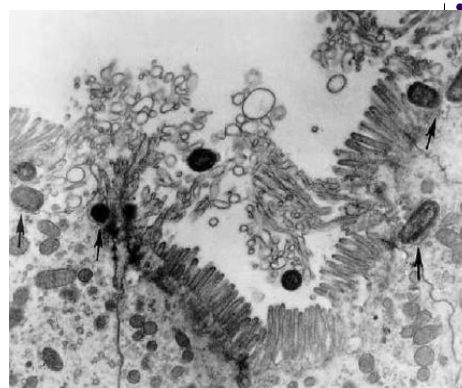
EXCEPȚIE: S.Typhi – citrat-, H₂S-, scindează glucoza până la acid;

S.Paratyphi A – H₂S+/-, LDC-



FACTORI DE PATOGENITATE

- Fimbrii (adeziune)
- Capacitatea de a penetra în celule și de multiplicare intracelulară (Macrofage, celule epitel)
- Endotoxina
- Citotoxine (SLT) – inhibă sinteza proteică (necroză)
- Enterotoxine (LT, ST) – activează adenilat/guanilatciclazele membranare (diaree)
- Siderofori (captarea Fe)
- Ag Vi (antifagocitar, inhibă activarea C, rezistență la activitatea bactericidă a serului)



- Majoritatea salmonelelor (98%) sunt sensibile la bacteriofagul O1. Există bacteriofagi cu specificitate de specie și variantă.
- **Habitat:** intestinul omului, animalelor, păsărilor, reptilelor.
- **Rezistența în mediu extern:** salmonelele rezistă la 70 C 30 min., rezistente la frig și concentrații mari de sare. Se înmulțesc în produse alimentare la temperatura camerei.

ROLUL SALMONELELOR ÎN PATOLOGIA UMANĂ

- SALMONELOZE:
 - I. **Febre tifo-paratifoidice**
 - II. **Salmoneloză digestivă (toxi-infecții alimentare, gastro-enterite)**
 - III. **Manifestări extra-digestive:**
 - bacteriemii nontifoidice
 - infecții pleuro-pulmonare
 - afecțiuni osteo-articulare (osteite, osteomielite, artrite septice, etc)
 - infecții nozocomiale
 - infecții cardio-vasculare (pericardite, arterite)
 - infecții urinare
 - infecții abdominale (colecistite, abces al ficatului, splinei)
 - infecții ale SNC (meningite, abces al creierului, abces epidural, etc)

FEBRELE TIFO-PARATIFOIDE

- **Agenții cauzali** – S.Typhi, S.Paratyphi A, B, (C)
- **Sursa de infecție** – omul bolnav, purtătorul
- **Contaminarea fecal-orală** (apă, alimente), contact direct
- **Doza infectantă** – 10⁵ bacterii

PATOGENEZA

- Traversarea epitelului intestinal intact
- Invazia și multiplicarea intracelulară la nivelul plăcilor Peyer și țesutului limfoid al tubului digestiv (**perioada de incubație**)
- Pătrunderea în ganglionii limfatici mezenterici cu multiplicarea salmonelelor (**perioada prodromală**)

I săptămână de boală (bacteriemie). Invadarea fluxului sangvin, via sistemul limfatic (diseminarea germenilor cu eliberarea endotoxinei). Endotoxina pe cale sangvină parvine la centrul neurovegetativ ai ventriculului 3, determinând febră, stare de tîfos, colaps cardio-vascular, leziuni intestinale

II săptămână de boală (difuzie parenchimatooasă)

Bacteriile sunt fixate în organele SRE și se multiplică în ficat, splină, măduvă osoasă, țesut limfoid, etc. *Din această perioadă începe eliminarea salmonelelor cu saliva, materiile fecale, urina, bila, etc.*

III-IV săptămână de boală (faza alergică). Din ficat salmonelele pătrund în căile biliare, apoi iarăși în intestin. La nivelul plăcilor Peyer se dezvoltă o reacție de hipersensibilitate tip 4 - necroză, *ulcerații*

● Manifestări clinice

- I. Perioada de **incubație** - 1-3 săptămâni
- II. Perioada **prodromală** (de invazie) – 1-3 zile
- III. Perioada de **stare**. Debut brutal, cu frison, febră 39-41 grade, cefalee, stupoare, somnolență, delir, comă. Erupții cutanate (rozeole) apar pe abdomen, torace, spate în ziua a 8-9 de boală (embolii limfatice cu bacterii). Diaree, constipație, tulburări cardiovasculare. Durata 7-10 zile.
Complicații: hemoragii intestinale, perforarea intestinului, peritonită, miocardită, meningită, psihoză etc.
- IV. Perioada de **reconvenșență** (1-3-6 luni)



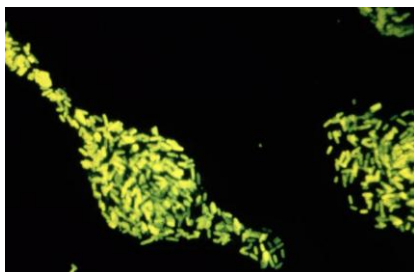
- **Imunitatea** – celulară, umorală
- 5-10% convescenți – purtători până la 3 luni (cu depistarea salmonelelor în bilă sau/și urină)
- 3-5% convescenți (cu litiază biliară) – purtători cronici – (1-10 ani – toată viața)
- **Recidive** sunt posibile (descărcări bacteriemice din focare profunde, forme L), se caracterizează prin simptome atenuate și evoluție de scurtă durată

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL FEBRELOR TIFO-PARATIFOIDE

- **PRELEVATE:** **sânge** (perioada febrilă, în special I săptămână de boală), **urină** (începând cu a II săptămână), **materii fecale** (II-III săptămână de boală), **exsudat din rozeole**, **ser sangvin** (din ziua a 7-ea), **bilă**, **mădună osoasă**

METODE DE DIAGNOSTIC

- **Examenul microscopic** – RIF, Gram



Examenul bacteriologic
Hemocultura – 10-15 ml sânge se însămânțează în 100 ml bulion biliat, mediul Rappoport, bulion glucozat 1% pentru **îmbogățirea salmonelelor**. Se incubează la 37 grade și în zilele 1, 2, 3, 5, 7 și 10 se repică pe mediile DD (Endo, Levin, Ploskirev, W-B) pentru **izolarea culturii pure**. Coloniile lactozo- se repică pe mediul Kligler (Olkenițki) pentru **acumularea culturii pure și identificarea preliminară**.

- **Identificarea finală** - în baza studiului caracterelor morfotincoriale, de cultură, biochimice, antigenice (RA pe lamă cu seruri imune polivalente ABCDE, seruri monovalente anti-O de grup (O2, O4, O6, O9, etc) , seruri monospecifice anti-H (de variantă), seruri anti-Vi, sensibilitatea la bacteriofagi).
- **Rezultatul definitiv negativ** în ziua a 11.



- **Rozeolocultura** (exsudatul din rozeole se introduce în 3-5 ml bulion biliat)
- **Mielocultura** (0,5 ml măduva osoasă din stern în 3-5 ml bulion biliat)
- **Bilicultura** (după 3-6 luni de la vindecare, 5-10 ml bilă se introduc în BP)
Se examinează ca și hemocultura
- **Coprocultura** (din săpt. 2) - 3-5 g materii fecale se însămânțează direct pe medii DD și pe medii de îmbogățire.
- **Urocultura** (10 ml urină se centrifughează, sedimentul se examinează ulterior ca și coprocultura)



- **Serodiagnostic** (din II săptămână)
- 1. **RA Widal** - la diluții ale serului bolnavului se adaugă diagnosticuri OH din S.Typhi, Paratyphi A și B. Titrul diagnostic 1/200 sau creșterea în dinamică a titrului
- 2. **RA modificarea Felix** (utilizarea separată a diagnosticurilor O și H).
Anticorpilor anti-O (Ig M) apar primii (începând cu ziua 7-8) și dispar după 2-3 luni (maximum săpt. II-III).
Anticorpilor anti-H (Ig M, apoi Ig G) apar mai târziu (10-12 zi) și persistă o durată mai lungă. În debut de reconvașcență (săptămâna a IV) titrul Ac anti-O și anti-H se egalează.
- 3. **RHAI** (cu diagnosticuri eritrocitare O)



INVESTIGAREA PURTĂTORILOR

- Coprocultiuri repetate
- Urocultura
- Bilicultura
- Serodiagnostic
- 1. Reacția de **Vi-aglutinare** (eritrocite sensibilizate cu Ag Vi). Titrul diagnostic - 1/40
- 2. Reacția de latex-aglutinare
- 3. Determinarea claselor de imunoglobuline **Ig M** sau **Ig G**



TRATAMENTUL ȘI PROFILAXIA

Tratament:

- Fluorochinolone
- Cefalosporine de generația III
- Cloramfenicol
- Ampicilină
- Cotrimoxazol

Profilaxia specifică: vaccinarea selectivă (zone endemice, militari, personal medical, etc)

- Vaccinul chimic **TABTe**
- Vaccinul atenuat **Ty2** (administrare orală, imunitate locală sig A), contraindicat gravidelor, copiilor, imunodeprimaților
- **Vaccinul subunitar din Ag Vi** (areactogen, imunitate 3-5 ani)



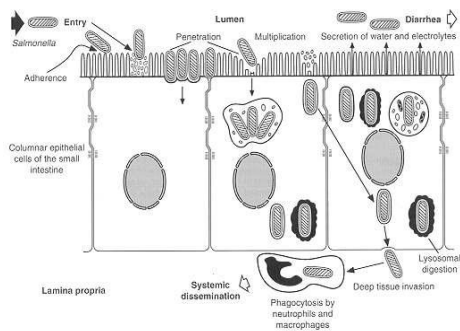
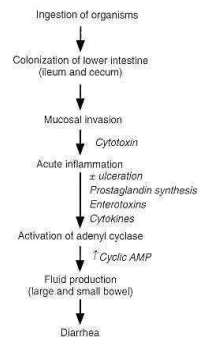
SALMONELOZE DIGESTIVE (gastro-enterite, toxl-infecții alimentare)

- Consecutive consumului de alimente contaminate cu salmonele (ouă, maioneză, patiserie cu cremă, carne, lactate, etc).
- Agenții cauzali: salmonele bipatogene
- Gr. **B** (S. Typhimurium, S. Paratyphi B, S. Heidelberg, S. Derby)
- Gr. **C** (S. Choleraesuis, S. Newport, S. Paratyphi C)
- Gr. **D** (S. Enteritidis, S. Dublin)
- Gr. **E** (S. Anatum)



PATOGENEZA GASTROENTERITELOR

- **Sursa de Infecție:** animalele domestice și păsările (bolnave sau purtători cronici)
- **Transmiterea** pe cale alimentară (alimente contaminate direct de la sursă sau pe parcursul procesului tehnologic), prin apă sau contact direct.
- **Doza infectantă** – 10^5 - 10^{10} microorganisme (în funcție de receptivitatea gazdei, vârstă, utilizarea AB, inocul, etc)
- **Salmonelele** colonizează mucoasa intestinului subțire, penetrând și multiplicându-se în enterocite, celulele M și macrofage. Urmează o reacție inflamatoare intensă (gastroenterită, gastroenterocolită acută). Enterotoxina provoacă diaree (activează adenilaticlaza sau guanilaticlaza enterocitelor), endotoxina absorbită acționează asupra SNC – semne de intoxicație.
- Gastroenteritele pot fi urmate de bacteriemii.



• Manifestări clinice:

Perioada de incubație – 8 - 48 ore

Debut brusc și evoluție acută (1-3 zile) cu diaree, vomă, febră, cefalee, stare de rău.

Evoluție severă – la sugari, bătrâni, imunodeprimați (în special bolnavi cu SIDA).



• TOXIINFECȚII ALIMENTARE

Survin ca urmare a ingestiei unui aliment în care s-au acumulat cantități mari de mi/o (10^5 – 10^7). Nimerind în intestin, bacteriile se distrug, iar endotoxina eliberată provoacă semnele clinice de intoxicație.

Alte forme de salmoneloze (septicemii, meningite, infecții urinare, infecții nosocomiale, etc) se dezvoltă la persoane cu rezistența scăzută



Diagnosticul de laborator al salmonelozelor

- **Prelevate:** mase fecale, mase vomitive, sânge, spălături gastrice, urină, puroi, resturi de alimente suspecte.
- **Metode de diagnostic:**
 1. Examenul bacteriologic – de bază (coprocultură, hemocultură, urocultură...)
 2. RIF – pentru diagnostic rapid
 3. Serodiagnostic - RHA1



- **Profilaxia** salmonelozelor – nespecifică
- **Tratamentul**– simptomatic, antibioterapie la necesitate, în forme grave de infecție

