

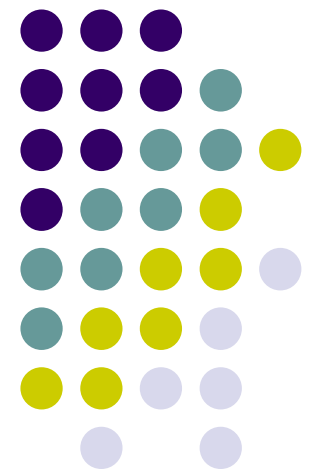
# Microbiologie, Virologie, Imunologie

[www.microbio.ucoz.com](http://www.microbio.ucoz.com)

---

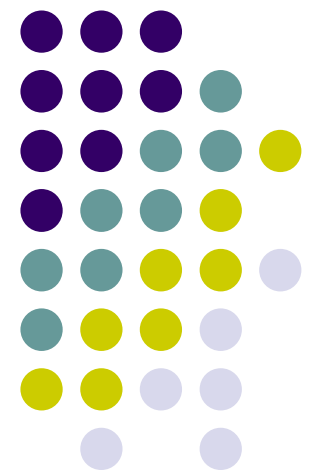
ef catedr - **Valeriu RUDIC**  
profesor, academician

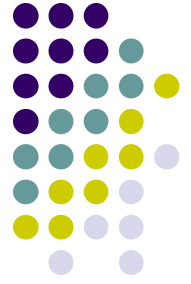
**Valentina VOROJBIT**  
d. . m., conferen iar



---

**Întroducere în microbiologie.  
Metodele microbiologice de  
diagnostic.  
Clasificarea și nomenclatura  
microorganismelor.  
Morfologia bacteriilor.**



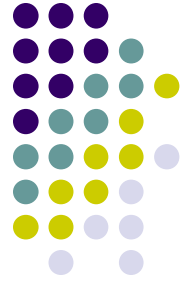


- **Microbiologie** (*mikros bios logos* – mic, viu, studiu). Microbiologia studiaz microorganismele și activitățile lor.
- **Microorganisme / microbi** – organisme microscopice, cu dimensiuni de ordinul  $\mu\text{m}$  ( $10^{-6}$  m) sau  $\text{nm}$  ( $10^{-9}$  m).
- Mi/o reunesc **bacteriile** și alte tipuri de organisme: **alge, ciuperci microscopice (fungi, micete), protozoare, virusuri și agenți subvirali, de ex. prioni.**
- Termenul “**microb**” a fost utilizat în 1878 de chirurgul francez Charles-Emmanuel Sedillot.

# LUMEA MICROBIAN



- **Vârsta** (3,5 mlrd ani!!!)
- **Abunden a i diversitatea**
  - 60% din biomas ;
  - ap , aer, sol - scoar a terestr la 15 km!, surse termale la 100 grade C;
  - 5500 specii descrise – mai pu in de 1% din apr.  $10^6$  specii necultivabile în laborator
- **Informa ia genetic**
  - genomul *Pseudomonas aeruginosa* - 5000 gene,
  - diversitate genetic superioar eucariotelor, schimb intens de material genetic
- **Sisteme eficiente de percepere a lumii, comunicare i adaptare la condi ii variate ale mediului**



- **Microbiologia** studiaz :
- forma mi/o
- structura
- nutri ia
- metabolismul
- cre terea i multiplicarea mi/o (pentru a le identifica)
- urm re te rela iile mi/o cu organismele-gazd i cu mediul ambiant

# DE CE STUDIEM MICROORGANISMELE?

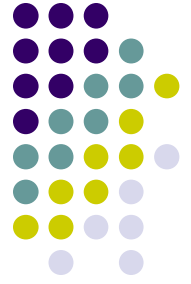


- **Studiul mi/o utile, inofensive**

- Producerea antibioticelor
- Obținerea medicamentelor (streptokinaza, insulina), vaccinurilor, etc. prin tehnologii de ADN recombinant
- Producerea alimentelor: unt, brânză, cașcaval, chefir, yaurt, oțet, alcool, cacao, cafea, etc.
- Rol de “insecticide” biologice
- Fabricarea plasticului biodegradabil
- Descompunerea deșeurilor și metanului
- Extragerea metalelor din minerale (Cu, Au, Li, etc)
- Asigurarea rolului major în ciclurile geochimice, etc

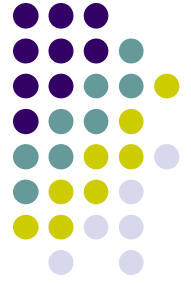
- **Studiul mi/o patogene și oportuniste**

- Prevenirea și controlul bolilor infecțioase



- **Disciplinele microbiologice** în raport cu:
  - ✓ **Particularitățile biologice ale mi/o:**  
**Algologia, Protozoologia, Micologia, Bacteriologia, Virologia**
  - ✓ **Aplicația practică :** **Microbiologia medicală (umana, veterinară), industrială, alimentară, agricolă, etc**
  - ✓ **Habitatul:** **Microbiologia solului, Microbiologia marină, Microbiologia cosmică, etc**
  - ✓ **Taxonomia microbiană**
  - ✓ **Genetica microbiană**
  - ✓ **Ecologia microbiană**

# MICROBIOLOGIA MEDICALA



## STUDIAZ :

- Rela iile dintre microorganismele și gazda lor uman
- Capacit ile patogene ale mi/o
- Capacit ile antiinfec iose ale gazdei
- Principiile și metodele diagnosticului etiologic al infec iilor
- Bazele terapiei antimicrobiene
- Bazele profilaxiei antimicrobiene



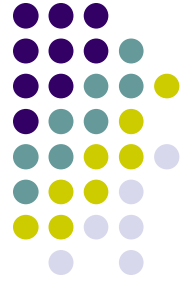
# METODELE MICROBIOLOGICE DE DIAGNOSTIC



- **DIAGNOSTICUL DIRECT**

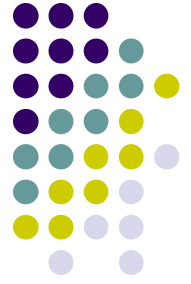
Constă în detectarea agentului patogen, a componentelor lui sau a unui produs (ex. toxina) în prelevate de la bolnav sau din mediul extern

1. **Examenul microscopic** - studierea mi/o în stare vie/nativ sau în frotiuri colorate. Este o metodă de orientare. Informează despre prezența bacteriilor, formelor, structura, numărul.
2. **Depistarea antigenelor microbiene solubile în lichide biologice** (ser sanguin, LCR, urină ...)
3. **Examenul bacteriologic** – izolarea pe medii nutritive a culturilor pure de bacterii, care vor fi identificate și testate la sensibilitate față de antibiotice



**4. Examenul biologic (metoda experimental )** – inocularea directă a produsului patologic la animale de laborator receptive. Mi/o se multiplică provocând maladia tipică . Din lichide biologice sau esuturi afectate bacteria poate fi izolată și identificată .

**5. Identificarea ADN sau ARN** microbială prin tehnici de biologie moleculară



- **DIAGNOSTICUL INDIRECT** (imunologic)
  1. **Serodiagnosticul** – depistarea și titrarea anticorpilor specifici în serul bolnavului. Ei apar peste 7-10 zile de la debutul maladiei și persist deseori după vindecare
  2. **Intradermoreacțiile (metoda alergică)** – introducerea pe cale epidermică sau intradermică a alergenului microbial și apariția, peste 2-4 zile, a unei reacții celulare locale (eritem, infiltrat). Reacția pozitivă semnifică o stare de hipersensibilitate specifică (întâlnire repetată cu acest agent)

# CLASIFICAREA ȘI NOMENCLATURA MICROORGANISMELOR



- Lumea microbiană este extrem de diversă, ceea ce determină necesitatea aranjării lor în grupe conform asemănelor lor.
- Se disting 3 noțiuni:
  1. **Taxonomie** – știința despre clasificare
  2. **Clasificare** – aranjarea organismelor în grupe sau **taxoni** în funcție de asemănări sau înrudiri
  3. **Nomenclatura** – numirea științifică a grupelor taxonomice conform unor reguli internaționale



- **Clasificarea fenotipic** (prima tentativ – Carl von Linne în sec. XVII) - reunirea mi/o în baza caracterelor fenotipice comune (caractere morfologice, de cultur , fiziologice, biochimice, antigenice, etc)
- **Clasificarea genotipic**
  - Gradul de omologie a secven elor nucleotidice ale ADN microbial. Tulpinile cu gradul de omologie de cel puțin 70 % apar în unei specii, de 30 % - acelaia i gen, etc
  - Gradul de omologie a secven elor nucleotidice ale ARN ribosomal
  - Con inutul relativ de guanin +citozin (GC%) al ADN purificat. La bacterii variaza între 25 i 75 %.
- **Clasificarea filogenetic**

Determin locul mi/o într-un arbore filogenetic i se bazeaza pe studiul fosilelor sau al HLA.



- **Principalele grupe taxonomice (taxoni)**
  - Domeniu
  - Regn
  - Tip
  - Clas
  - Ordin
  - Familie
  - Gen
  - Specie (unitate fundamental )



În cadrul speciilor pot fi delimitați **taxoni infraspecifici** (*variante / tipuri*), care prezintă diferențe minore în activitatea biochimică sau fiziologică (**biovar**), în structura antigenică (**serovar**), în gradul de patogenitate (**patovar**), în sensibilitatea la bacteriofagi (**lizovar**) sau la antibiotice (**antibiovar**).

Pot fi utilizați ca **markeri epidemiologici** pentru descifrarea unor focare epidemice (infecții nosocomiale, toxiiinfecții alimentare, etc)

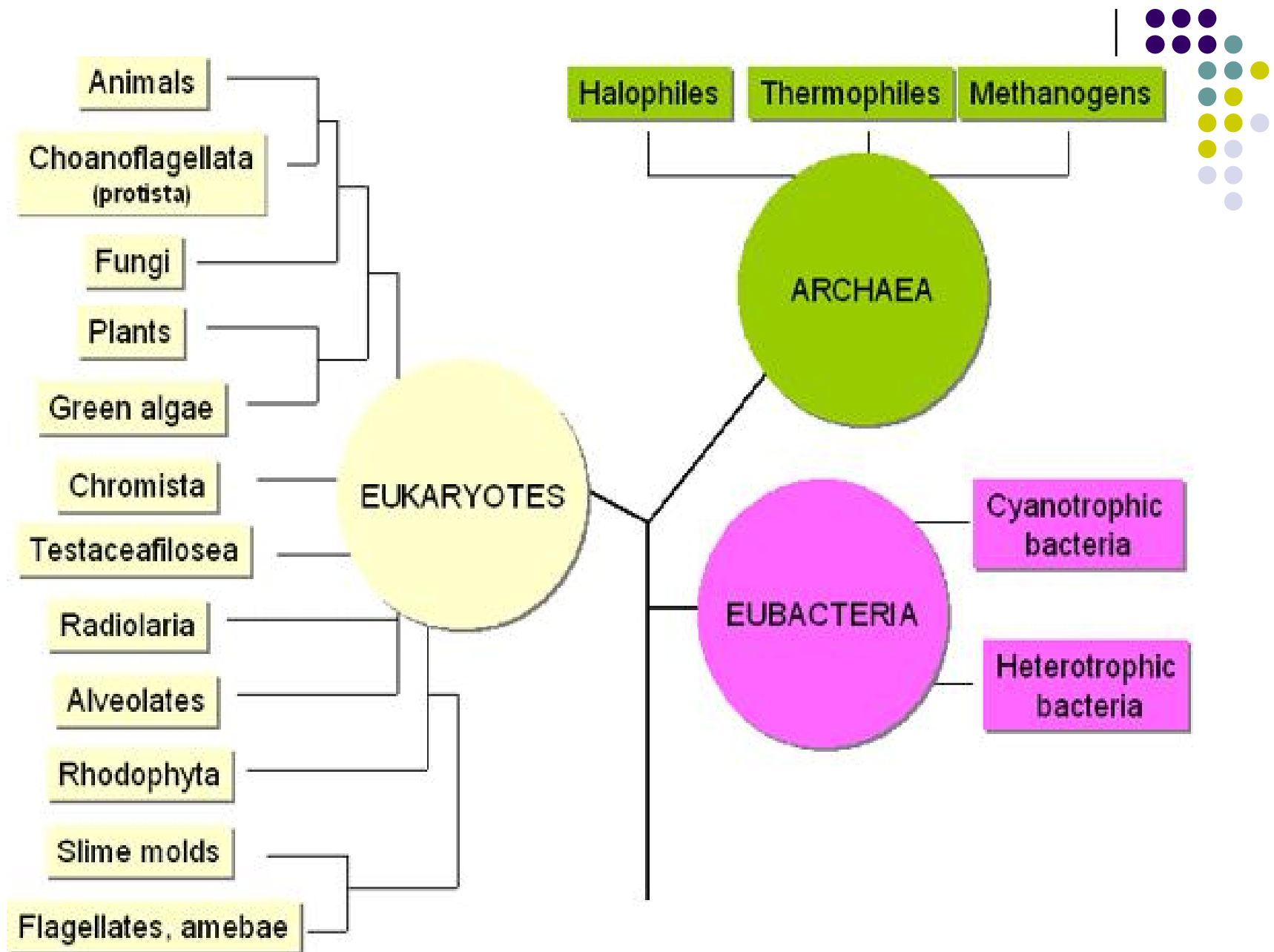
Culturile microbiene ce apar în unei specii, dar sunt izolate în laborator din diverse prelevate sau în perioade de timp diferite reprezintă **tulpini** bacteriene (subspecii). Tulpinile corespund în general caracterelor de specie, dar pot manifesta variații nesemnificative.

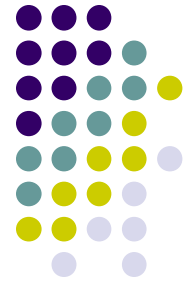


Conform ultimei clasificări internaționale ale microorganismelor (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2001*) se disting:

- I. **Forme acelulare (virusuri, viroizi, prioni)**
- II. **Forme celulare**, repartizate în 3 domenii:
  - **Bacteria** – procariote (bacterii adevărate, *eubacterii*).
    - a) Bacterii cu perete celular fin, gram-negative;
    - b) Bacterii cu perete celular gros, gram-pozitive;
    - c) Bacterii lipsite de perete celular (micoplasme)
  - **Archaea** – procariote, perete celular fără peptidoglican, cu habitat în condiții extreme
  - **Eukarya** – eucariote. Include regnurile *Fungi*, *Animalia* (subregnul *Protozoa*) și *Plantae*







## Nomenclatura mi/o

Numirea mi/o este stabilită de către *Comitetul Internațional de Bacteriologie Sistematică*.

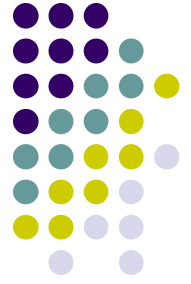
Nomenclatura taxonilor are la origine un **substantiv** grec sau latin, care definește cel mai evident caracter al mi/o studiate, la care se adaugă un anumit **sufix** latin.

**Ordinul** – Actinomycetales, Spirochaetales

**Familia** – Enterobacteriaceae, Spirochaetaceae

**Genul** – Staphylococcus, Leptospiraa, Clostridium, Pseudomonas

**Specia** – denumire binară (**G**en + **s**pecie): *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, etc.



- **EXEMPLU:**

Specia – *Escherichia coli*

Genul – **Escherichia**

Familia – **Enterobacteriaceae**

Ordinul – **Enterobacteriales**

Clasa – **Gammaproteobacteria**

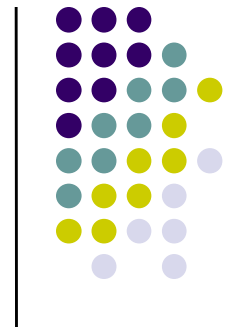
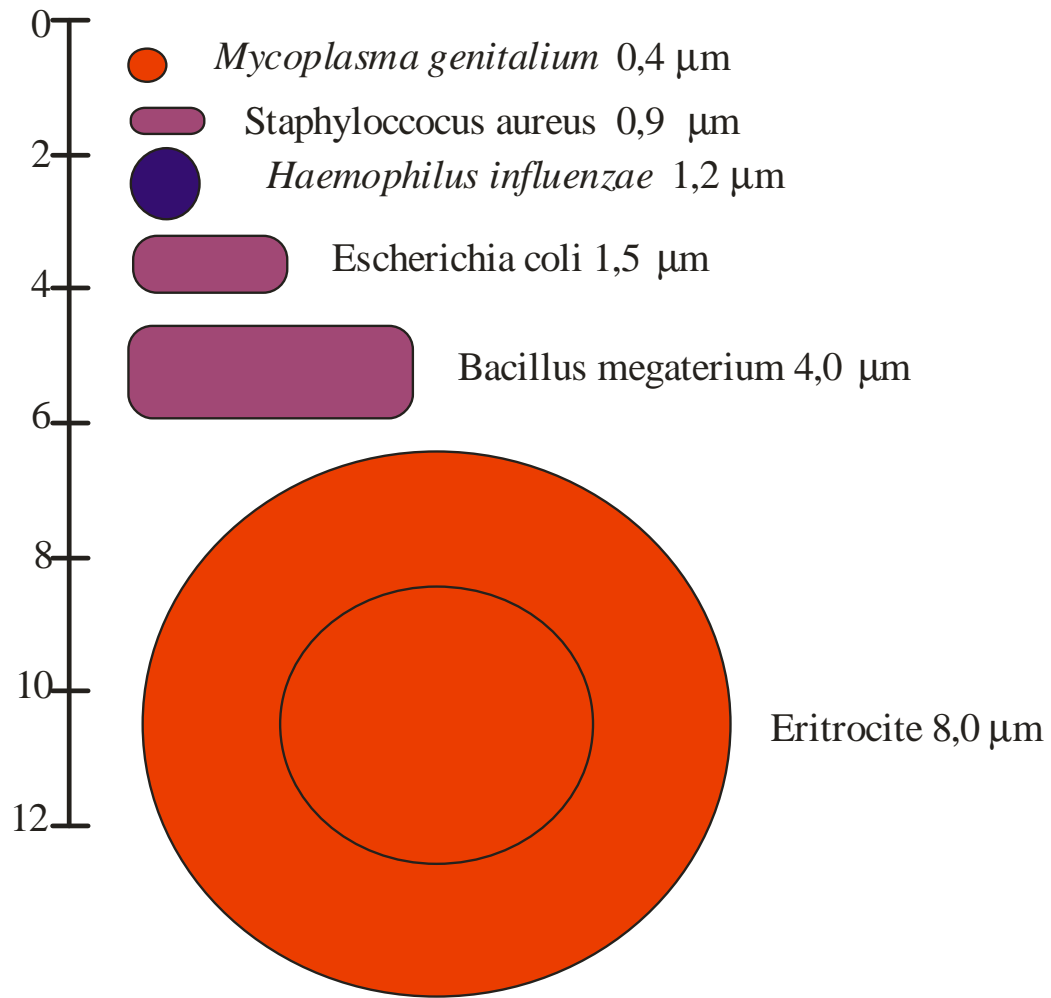
Tipul – **Proteobacteria**

Domeniul - **Bacteria**

# BACTERIOLOGIA GENERALA. CELULA BACTERIAN

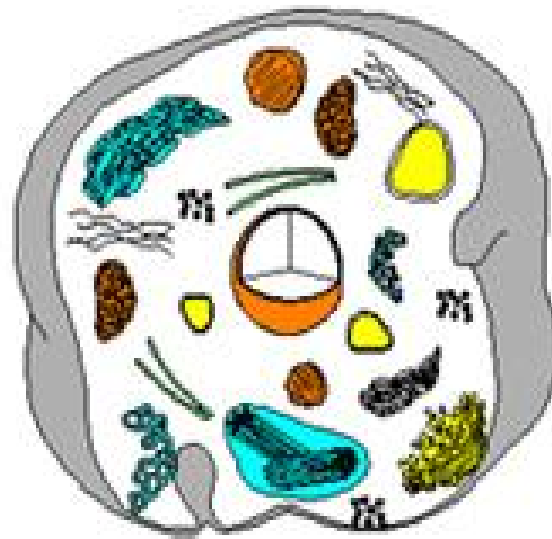


- Bacteriile sunt organisme unicelulare procariote autonome, cu dimensiuni între 0,2 și 10  $\mu\text{m}$  (Spirochaeta – 250  $\mu\text{m}$ ) și care diferă esențial de celulele eucariote animale sau vegetale.





<b>Celule eucariote</b>	<b>Celule procariote</b>
<b>Aparatul nuclear – nucleu cu nucleoli, înconjurat de membrană nucleară</b>	<b>Moleculă de ADN circular, lipsa membranei nucleare</b>
<b>Cromozomi cu structură complexă, histone asociate, set diploid</b>	<b>Structură cromozomică simplă, set haploid</b>
<b>Celula se divide prin mitoz sau meioză</b>	<b>Diviziune binară</b>
<b>Lipsa peretelui celular (în caz de prezență conține chitină sau celuloză)</b>	<b>Prezența peretelui celular conține obligatoriu peptidoglican</b>
<b>Prezența organitelor celulare</b>	<b>Absența organitelor celulare, citoplasma omogenă, ne-compartimentată</b>
<b>2 tipuri de ribosomi – în citoplasm și în mitocondrii sau cloroplaste</b>	<b>Toți ribosomii sunt identici</b>
<b>Coeficientul de sedimentare al ribosomului 80 S (citoplasma) 70 S (mitocondrii)</b>	<b>70 S (50S, 30S)</b>

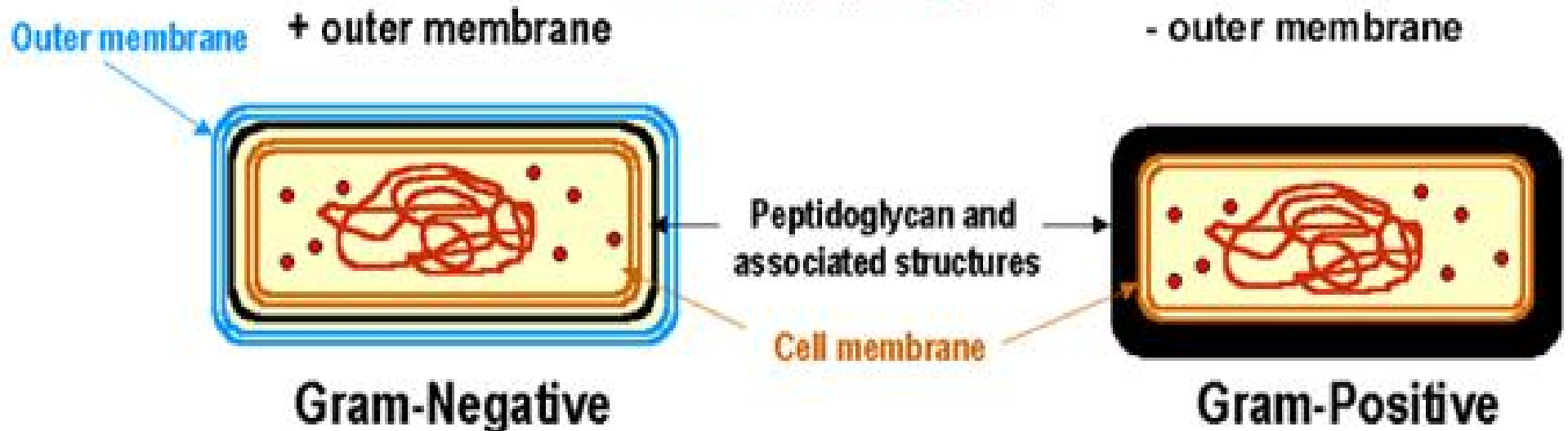


## Animal Cell

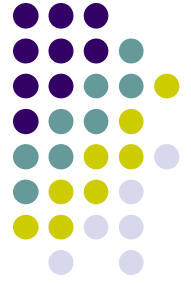
Compartmentalized interior  
No cell wall

## Bacterial Cell

Non-compartmentalized interior  
Cell wall (peptidoglycan)



# MORFOLOGIA BACTERIILOR



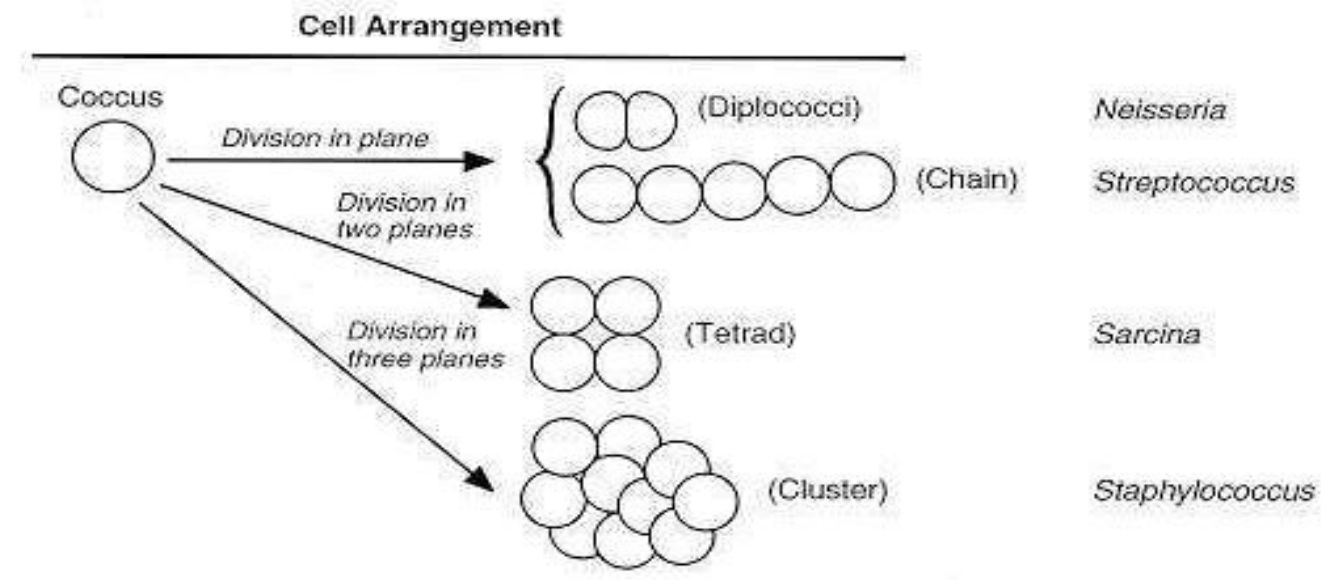
Morfologic se disting 4 grupe de bacterii:

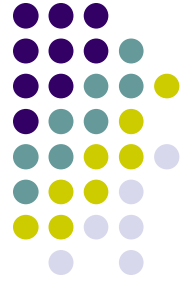
- **Forme sferice (coci)**
- **Forme alungite, cilindrice (bastona e)**
- **Forme încurbate/spiralate**
- **Bacterii polimorfe: *Actinomyces*, *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma***





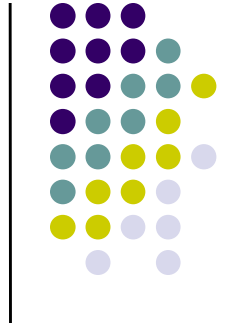
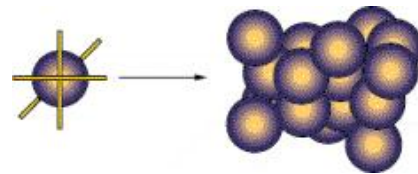
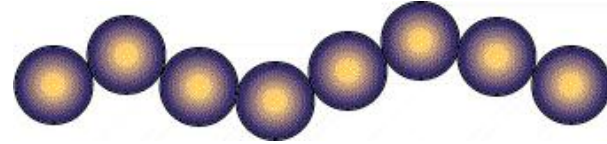
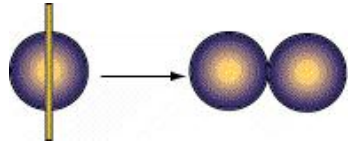
Bacterial Morphologies		Example
	Straight rod	<i>Escherichia</i>
	Club-shaped rod	<i>Corynebacterium</i>
	Branching rod	<i>Actinomyces</i>
	Comma forms	<i>Vibrio</i>
	Spore forming rod	<i>Bacillus</i>
	Spiral forms	<i>Spirochaeta</i>
	Coccus	<i>Staphylococcus</i>

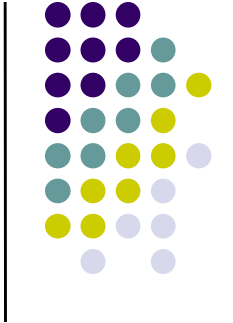
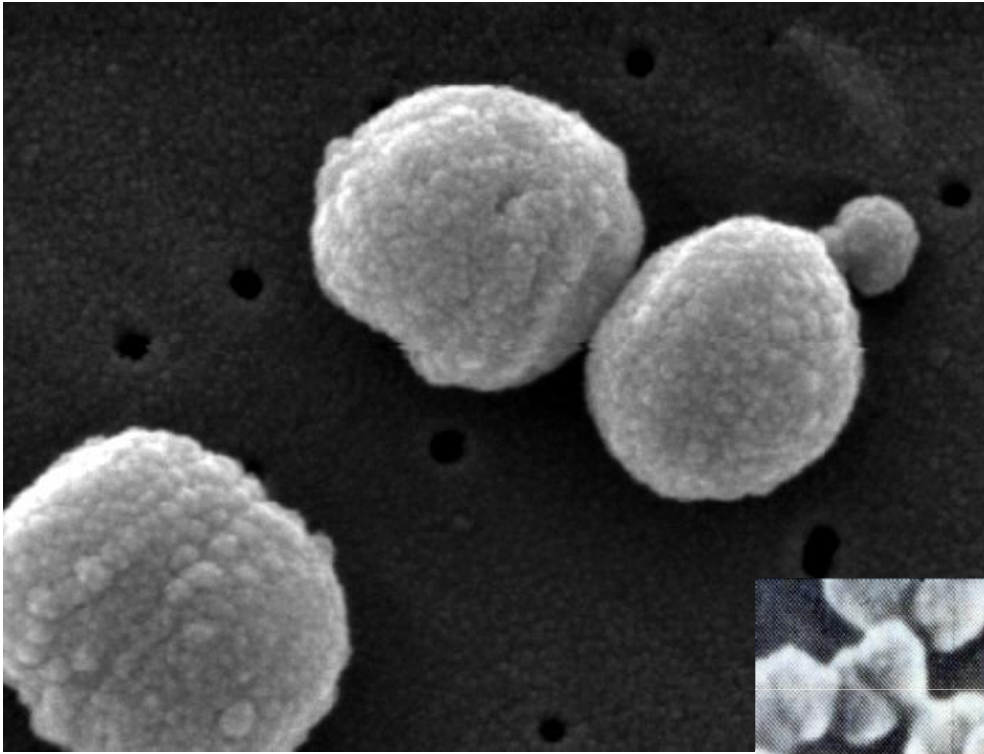


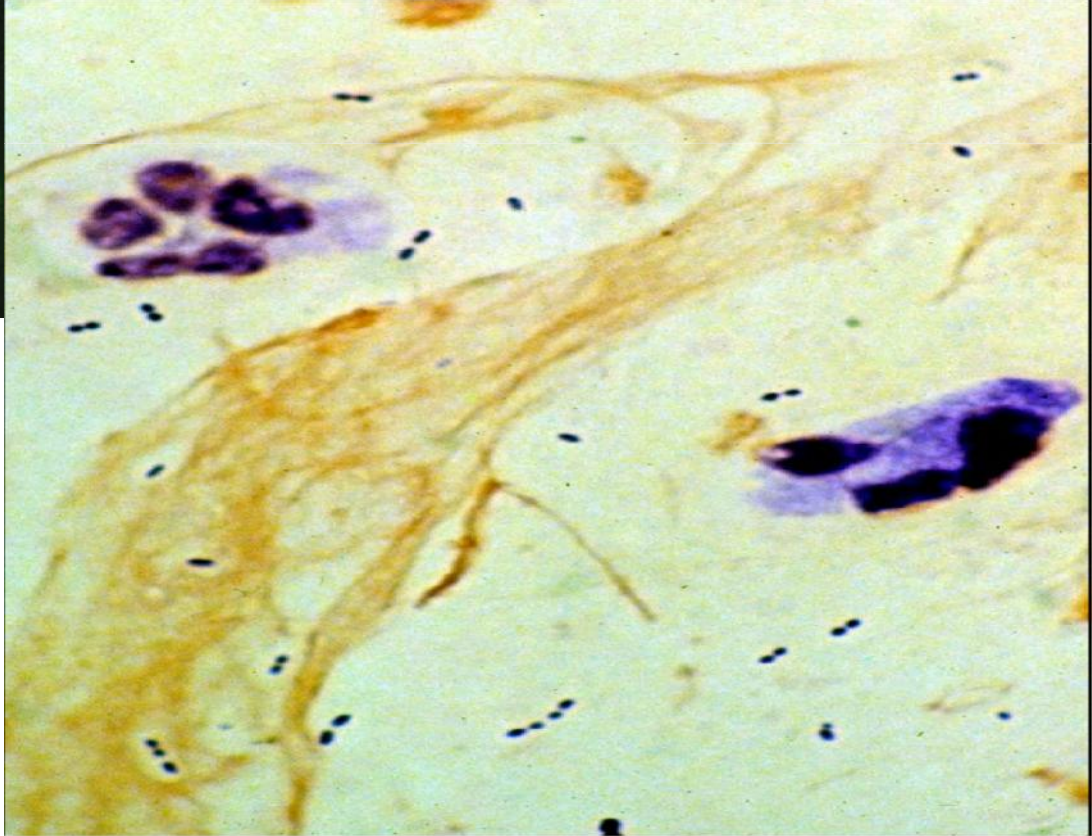
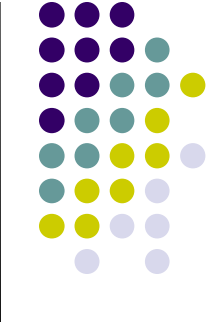
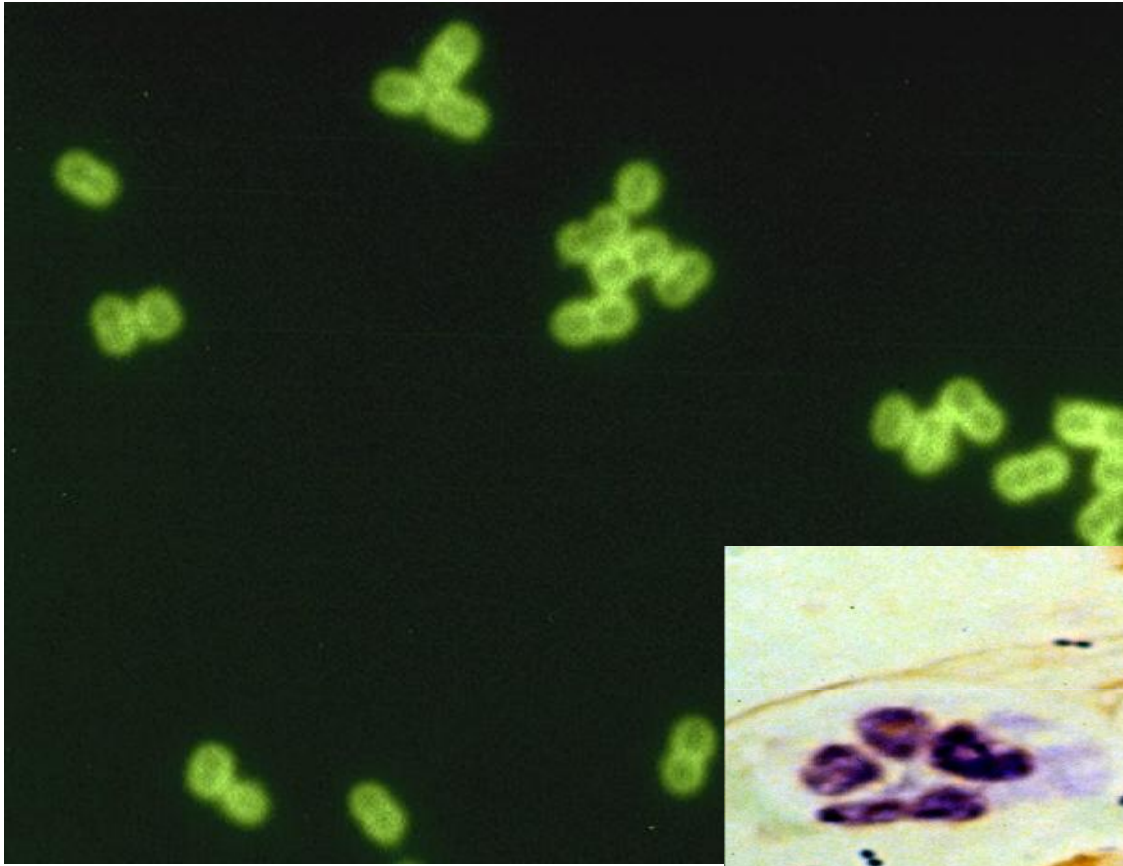


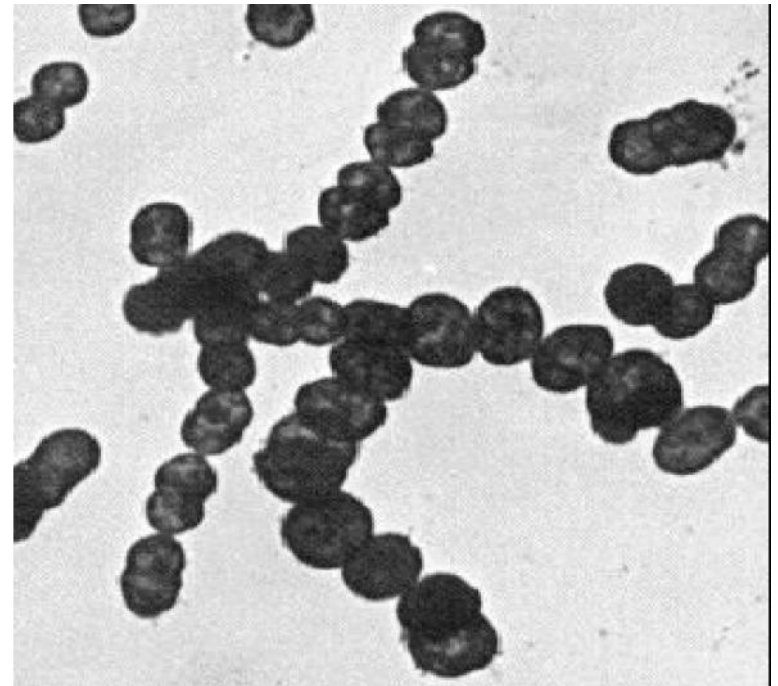
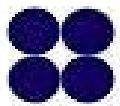
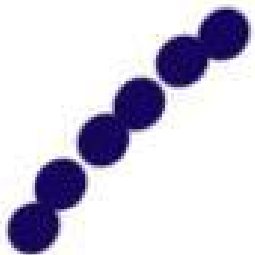
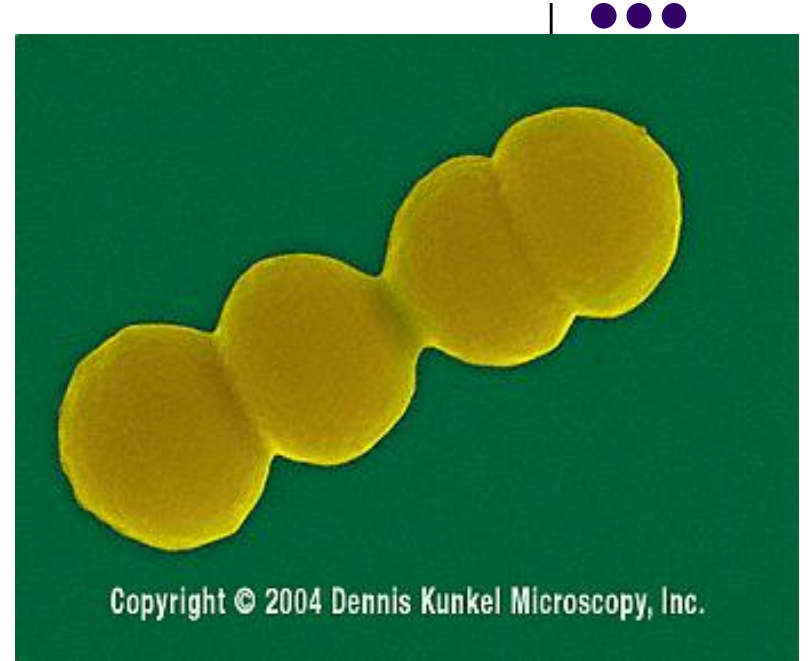
- **Formele sferice (coccus)**

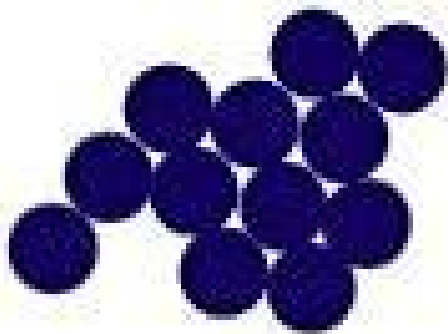
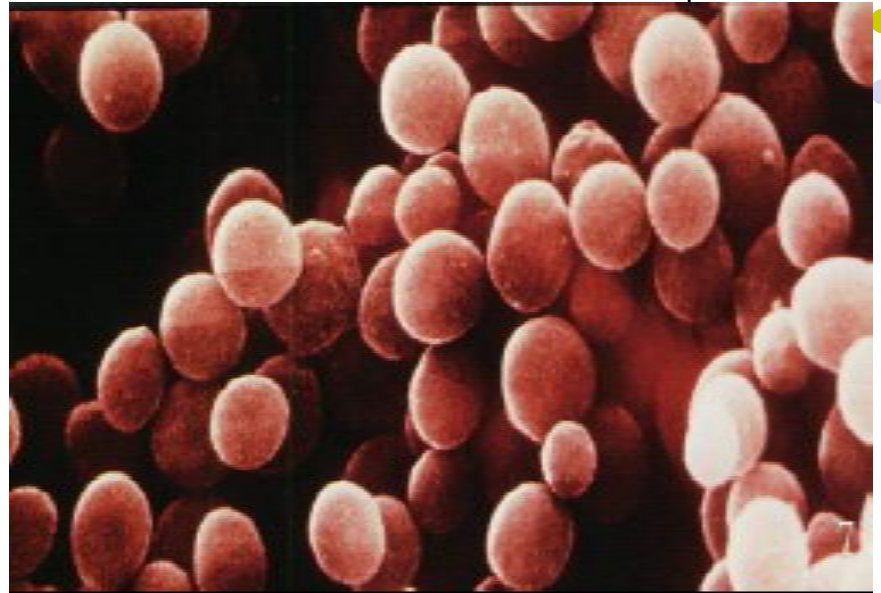
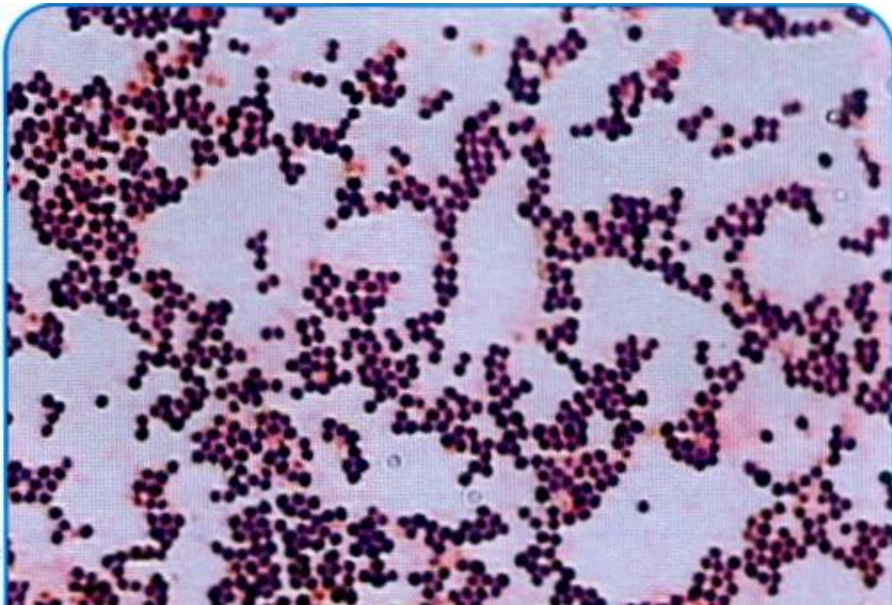
- În funcție de planurile de diviziune și poziția celulelor-fiice după diviziune, cocii prezintă următoarele moduri de grupare:
  - **Diplococi** (Diplococcus) – perechi (neisserii - bob de cafea, pneumococi - lanceolati)
  - **Streptococi** (Streptococcus) - lanțuri
  - **Tetracoci** (Micrococcus) – câte 4 celule
  - **Sarcine** – (Sarcina) – pachete din 8-16-32 cocci (*sarcio* – a lega)
  - **Stafilococi** – (Staphylococcus) – grupe neregulate de cocci (*staphyle* - ciorchine)













- **Formele alungite, cilindrice (bastona e)**

1. **Bacterium** – bastona e cu capetele rotunjite, nu formeaz spori (Mycobacterium, Corynebacterium, enterobacterii, etc)
2. **Bacillus** – bastona e mari cu capetele retezate, formeaz spori ce nu dep esc diametrul celulei (ex.: *Bacillus anthracis*). Posibil aranjarea în lan uri - streptobacili
3. **Clostridium** – bastona e cu capetele rotunjite, formeaz spori ce dep esc diametrul celulei (ex.: *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, etc)

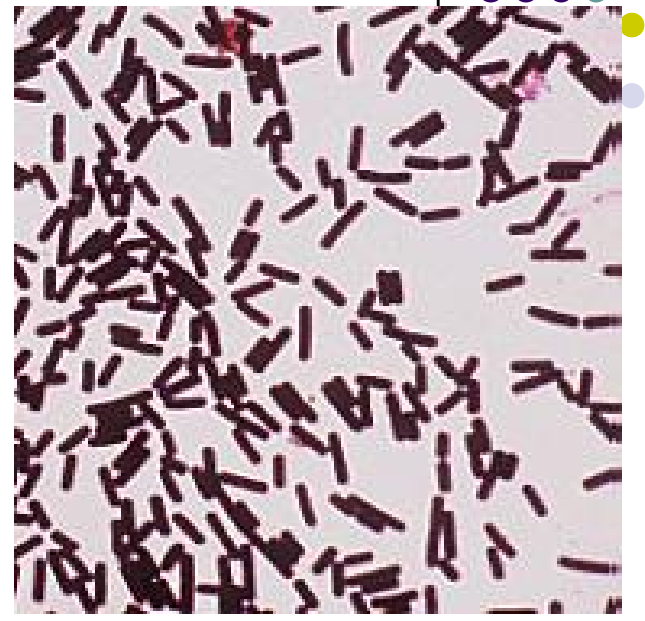
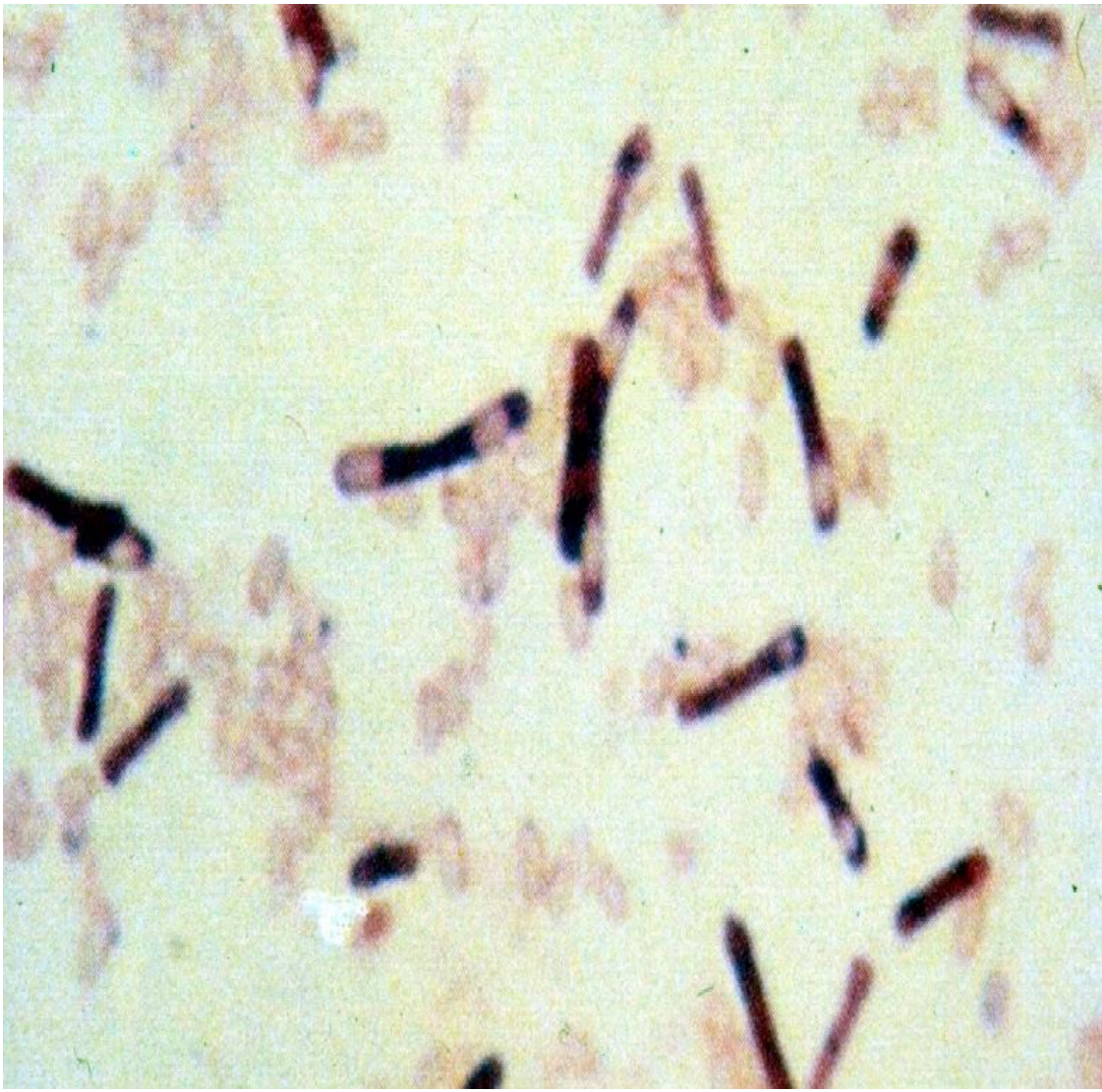




Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

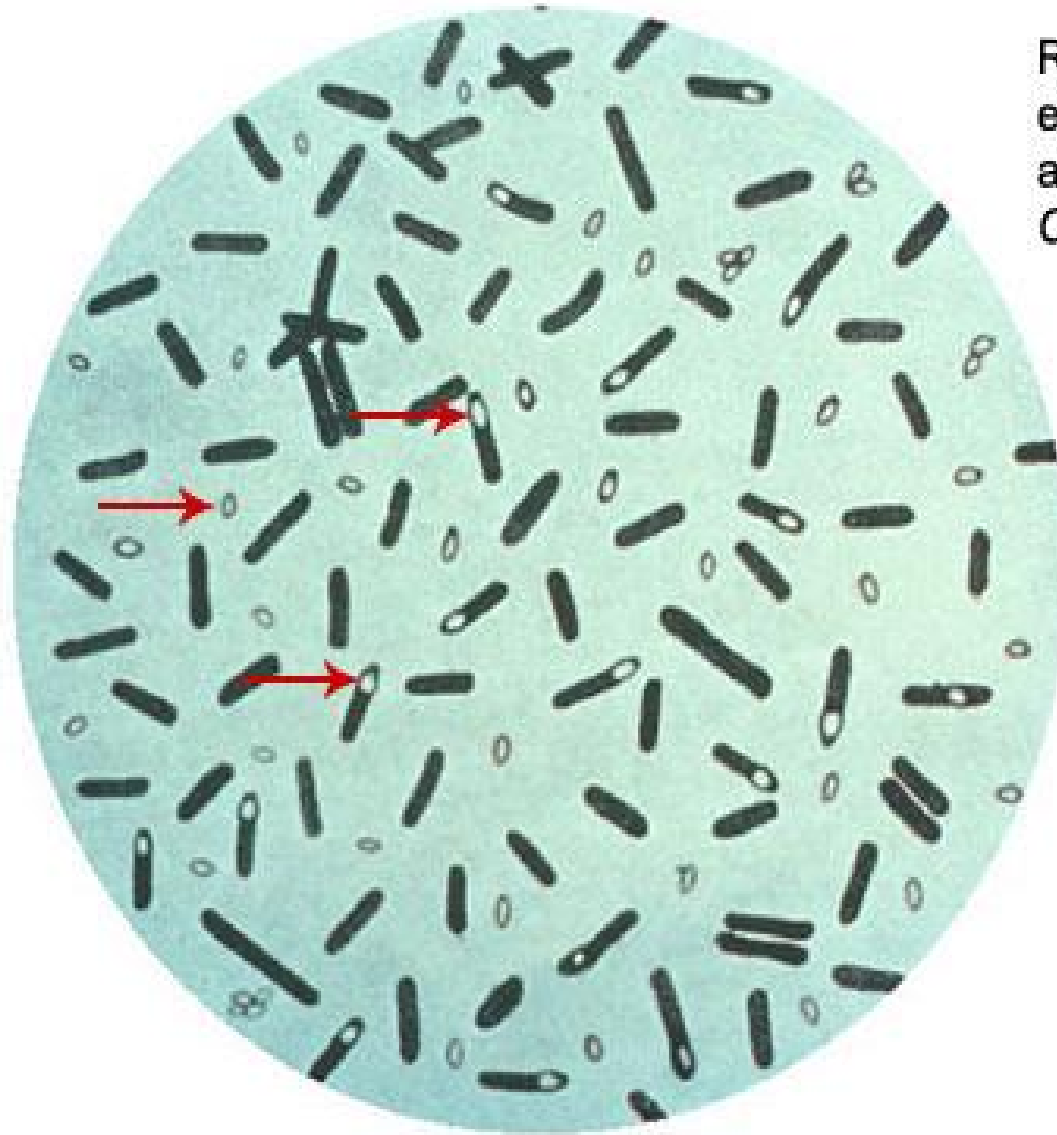


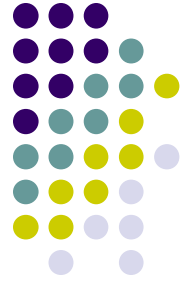




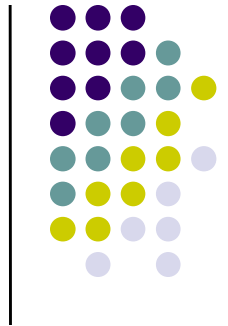
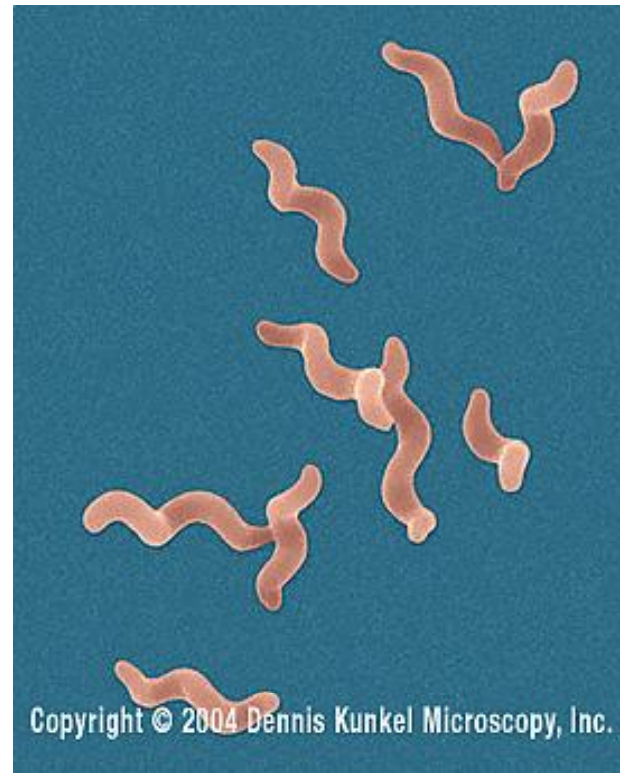


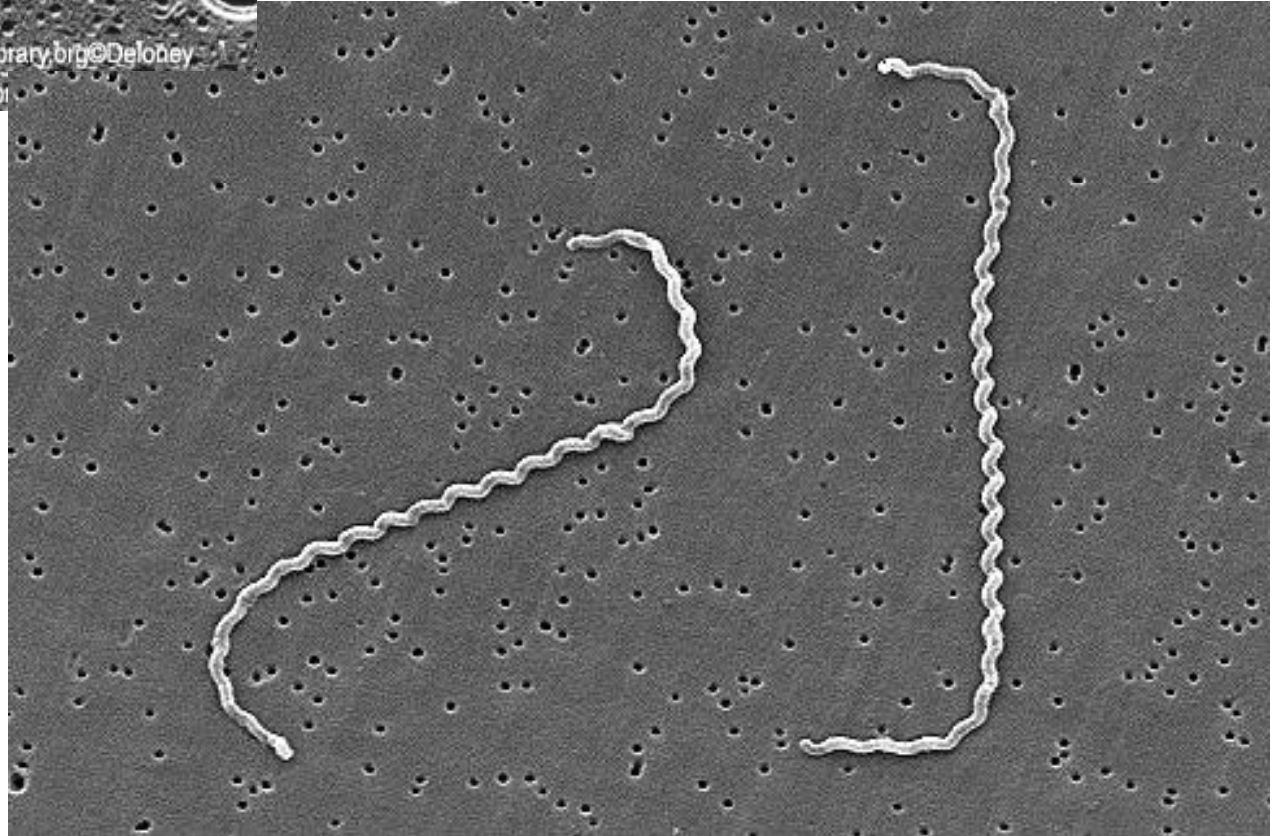
Red arrows indicate  
endospores  
and spores of  
*Clostridium botulinum*

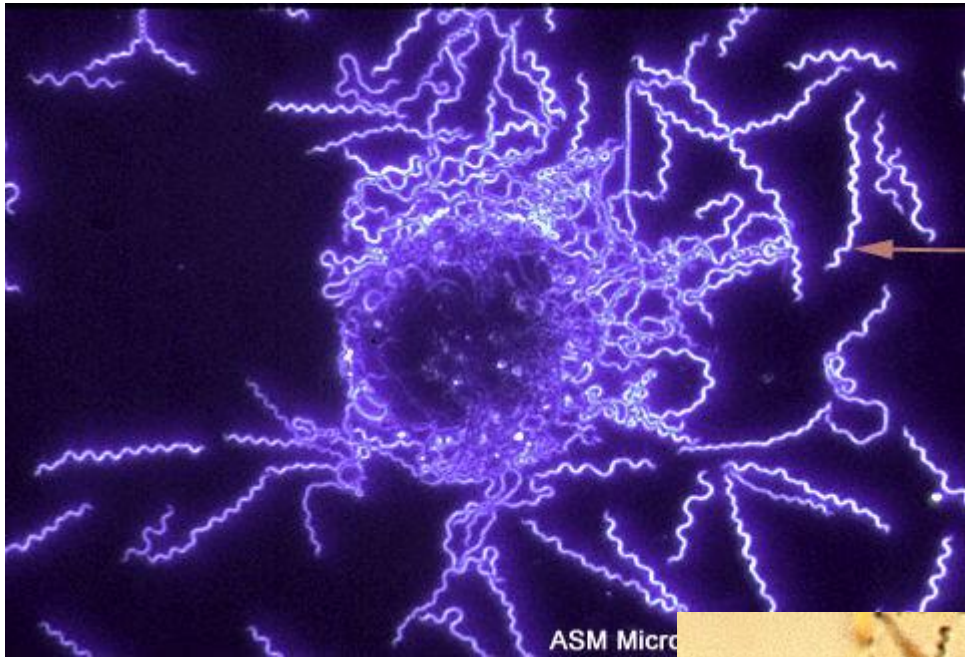




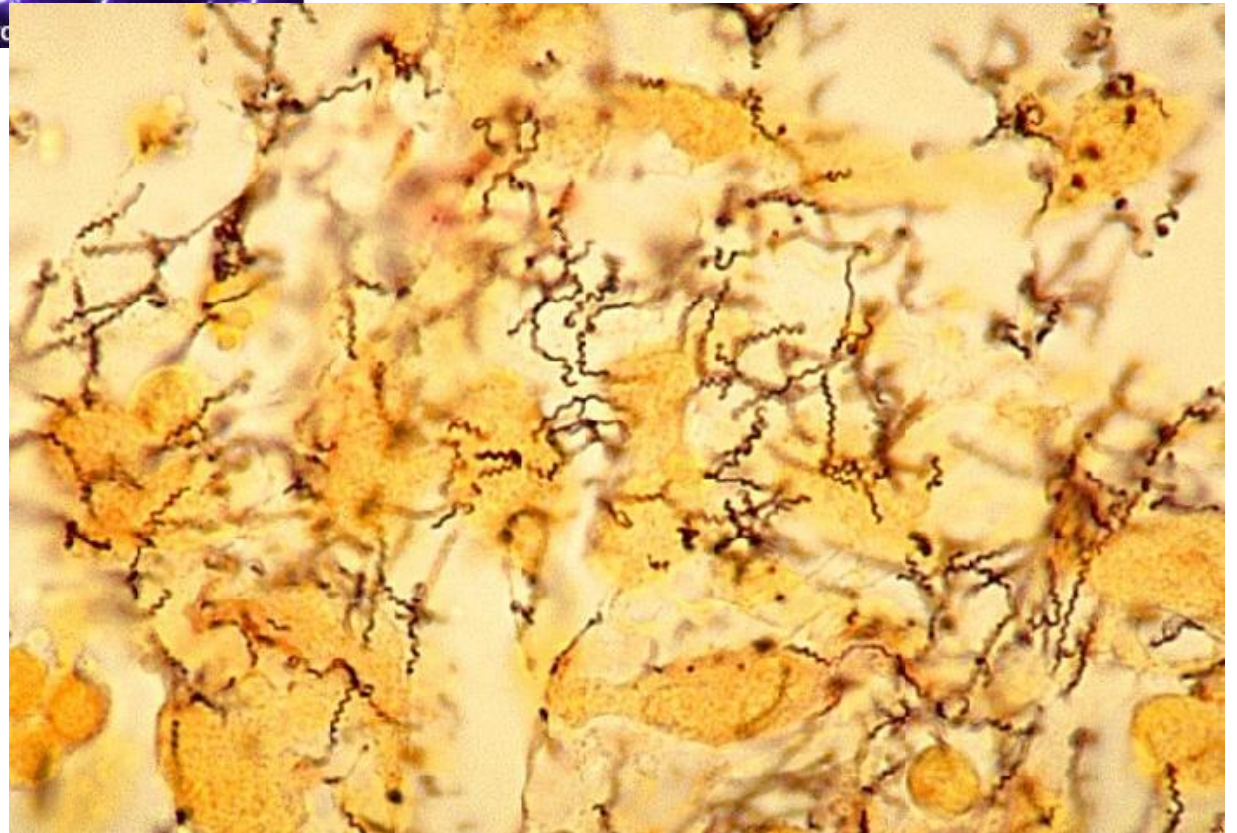
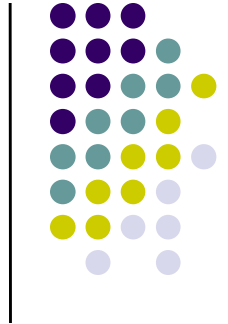
- **Formele încurbate (spiralate)**
  1. **Vibrio** (de la cuv. lat. “vibrio” - *tremur tor*) – bastona e încurbate (1/2 spir , aspect de virgul ) (ex.: *Vibrio cholerae*)
  2. **Spirillum** – celule spiralate rigide - Campylobacter, Helicobacter – 2 spire, aspect de “pas re în zbor” (ex.: *Campylobacter jejuni*)
  3. **Spirochaeta** – celule spiralate, cu 5-25 spire, flexibile (ex.: Treponema, Leptospira, Borrelia)



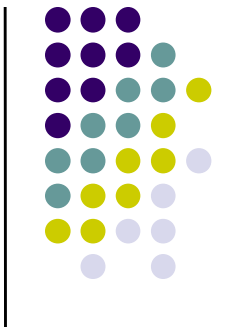
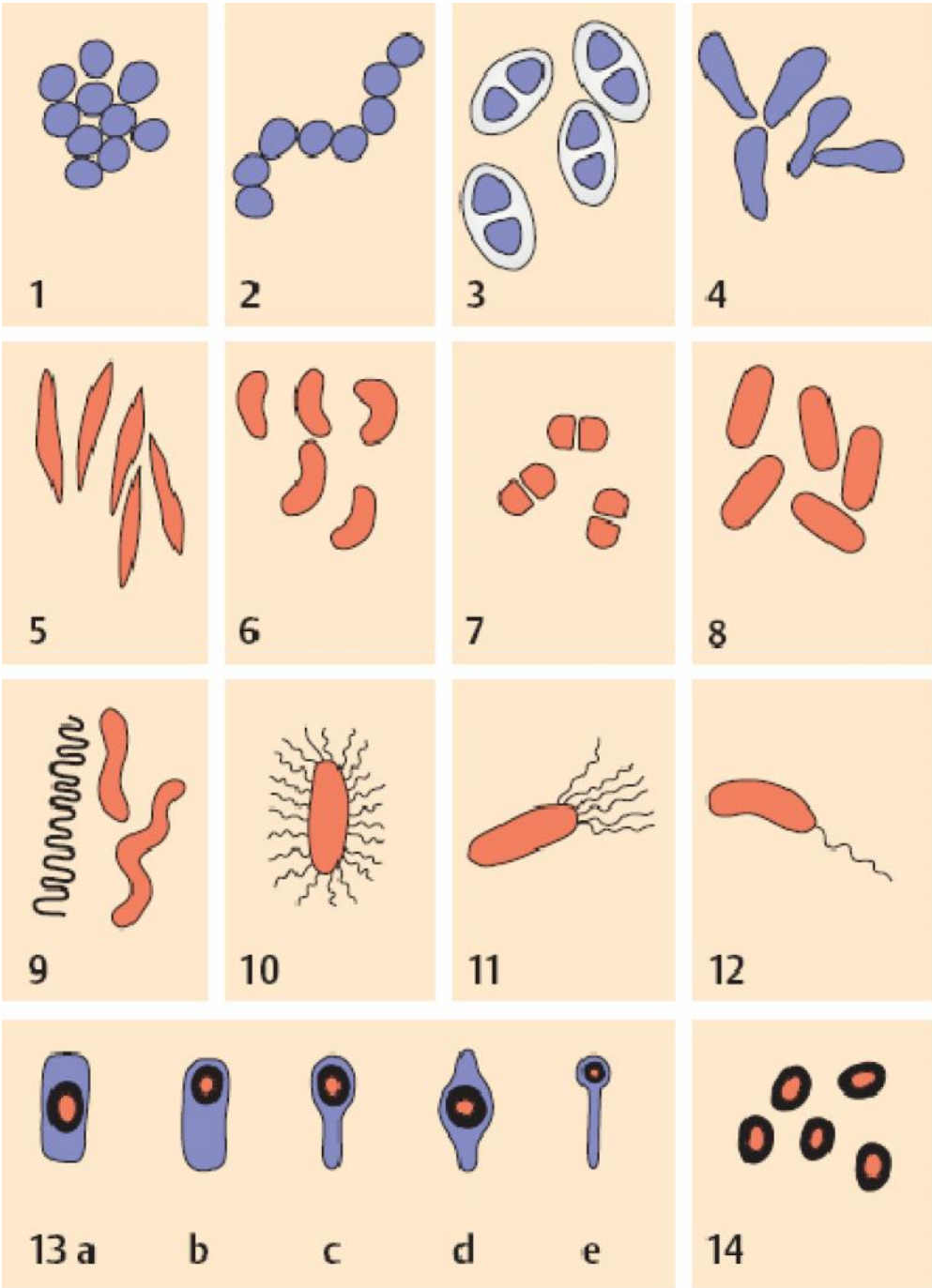




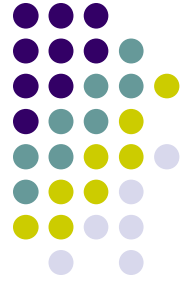
Spirochete bacteria,  
*Borrelia burgdorferi*



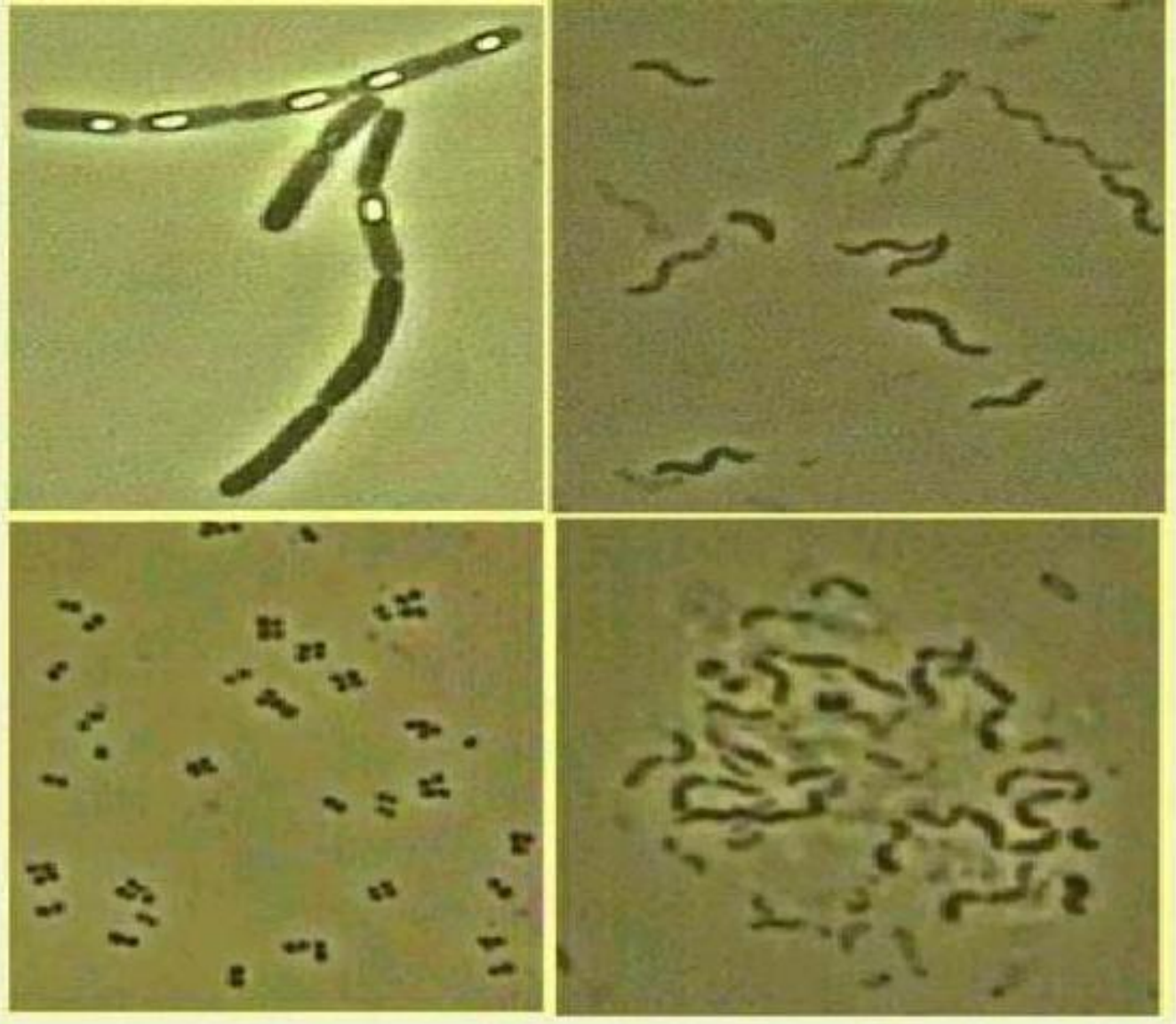




# EXAMENUL MICROSCOPIC



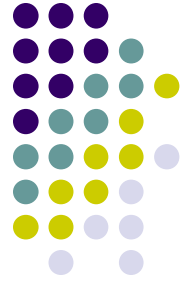
- Studiaz morfologia și structura bacteriilor, precum și caracterele lor tinctoriale.
- Examenului microscopic pot fi expuse lichide biologice sterile (sânge, LCR, lichid pleural), precum și prelevate nesterile din căile respiratorii, tubul digestiv, aparatul uro-genital, tegument, urechi, ochi, etc
- Examenul microscopic poate fi efectuat:
  1. În **stare nativ** (preparate umede, necolorate: “între lamă și lamelă”, “picătură suspendată”). Studiaz morfologia, mobilitatea bacteriilor, unele activități (ex.: sporogeneza)
  2. În **frotiuri** (preparate fixate și colorate)





## Prepararea frotiului

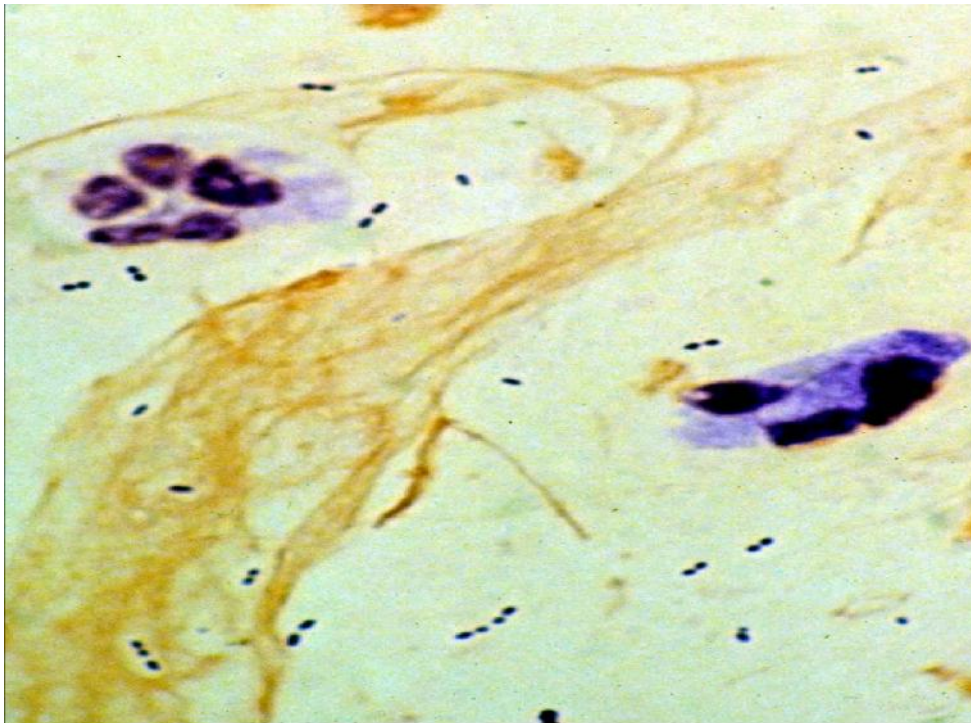
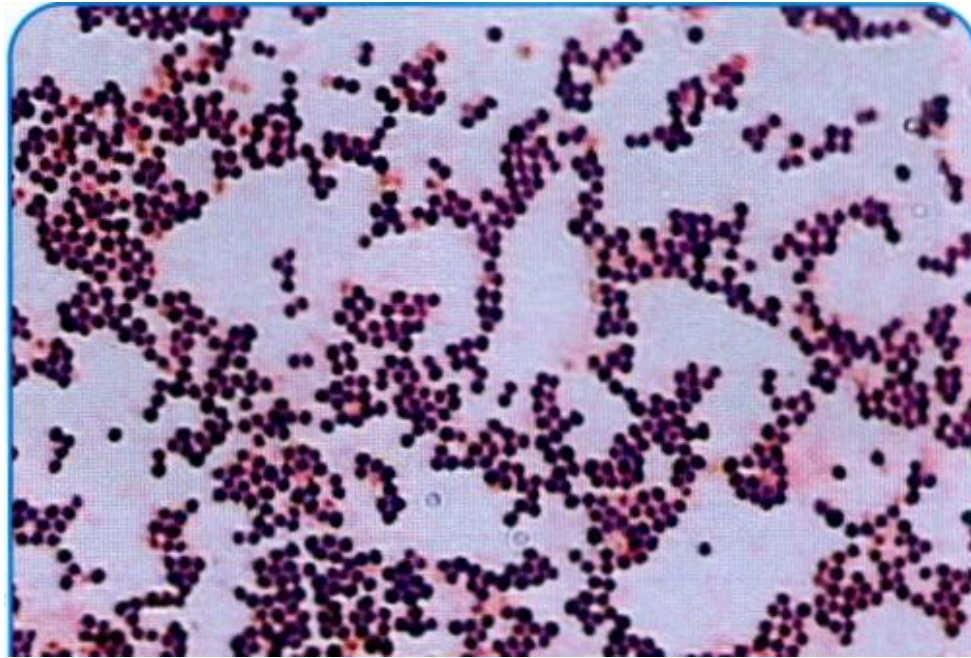
1. **Etalarea** materialului microbial (produs patologic, cultur microbial ) în strat subire pe suprafaa unei lame de sticl degresat
2. **Uscarea**
3. **Fixarea** (termic , chimic ). Omoar microbii i mare te afinitatea lor pentru coloran i
4. **Colorarea**. Asigur contrastul dintre microbi i fondul preparatului
5. **Examinarea** frotiului la microscopul optic cu imersie



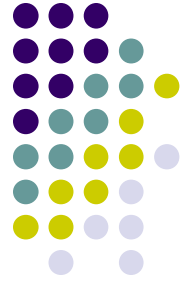
**Caracter tinctorial** – capacitatea bacteriilor de a fixa diferiți coloranți

Coloranți **bazici** (violetul de genian sau de metil, **fucsina** bazică, albastrul de metilen, **vezuvina**, **chrizoidina**, etc) au afinitate pentru structurile acide ale celulei bacteriene

**Tipuri de coloranți:** simple, complexe (diferențiale, speciale)



# ETAPELE ISTORICE DE EVOLUŢIE A MICROBIOLOGIEI



## I – EMPIRIC (până în sec. XV)

Hippocrate considera că maladiile infecţioase sunt cauzate de modificarea aerului prin miasme

Girolamo Fracastoro, de la Universitatea din Padua, a presupus existenţa unei “*seminaria contagiosus*”, mi/o infectante, capabile să se multiplice

## II – MORFOLOGIC (sec. XVI – XVIII)

Antonie van Leeuwenhoek, 1673 – prima observare şi descriere a mi/o

## III - FIZIOLOGIC (sec. XIX)

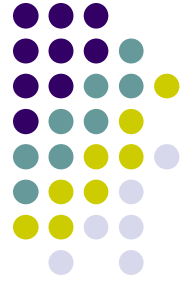
Theodor Schwann şi Frantz Schultze discreditează teoria generaţiei spontane. Louis Pasteur, Robert Koch confirmă teoria germenilor.



**Louis Pasteur** – a demonstrat specificitatea proceselor fermentative (bolile vinului), a identificat agen ii cauzali ai bolii viermilor de m tase, a preparat vaccinuri eficiente pentru prevenirea turb rii, antraxului, holerei g inilor, a sus inut necesitatea steriliz rii instrumentelor, bandajelor, etc.

**Robert Koch** – a utilizat frotiul, a întrodus mediile de cultur solide, a izolat agentul antraxului i al tuberculozei. Autor al teoriei de confirmare a rolului etiologic al unui mi/o (postulatele lui Koch)





**Iliia Mecinicov** – argumentează rolul antagonist al florei intestinale normale, a descoperit fagocitoza și rolul inflamației în apărarea antimicrobiană.

**Alexander Fleming** – descoperă penicilina

**Emil Roux** – propune mediul de cultivare a agentului difteriei, obține și utilizează serurile imune antitoxice contra difteriei, fondator al imunității umorale

**Victor Babeș** – fondator al microbiologiei în România, autor al primului manual de microbiologie. Studiază rabiția.

**Ion Cantacuzino** – a studiat patogenizarea holerei, tuberculozei, vaccinul și vaccinarea antiholerică. Fondatorul colii de microbiologie din România