

MIKROBIOLOGIJA ZA STUDENTE
VETERINARSKÉ MEDICINE

Vesna Lalošević

REŠENJEM NAUČNO-NASTAVNOG VEĆA POLJOPRIVREDNOG
FAKULTETA U NOVOM SADU ODOBRENO JE ŠTAMPANJE OVOG
UDŽBENIKA
ZA PREDMET MIKROBIOLOGIJA

Autori:

Dr Vesna Lalošević, *vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad*

Dr Mirjana Jarak, *redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad*

Dr Branka Vidić, *naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad*

Dr Šemso Pašić, *vanredni profesor, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH*

Dr Mira Mihajlović Ukropina, *vanredni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad*

Dr Zora Jelesić, *vanredni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad*

Dr Marija Kulauzov, *redovni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad*

Dr Stanko Boboš, *redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad*

Urednik:

Dr Vesna Lalošević

Recenzenti:

Dr Zoran Rašić

Dr Nastasja Mrkovački

Knjiga

1

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U NOVOM SADU
Departman za veterinarsku medicinu

Dr Vesna Lalošević
urednik

Mikrobiologija

za studente
veterinarske medicine

Novi Sad, 2011.

Poglavlje

1

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Rasprostranjenost, morfologija i građa bakterija
2. Ishrana bakterija i oslobađanje energije
3. Rast i razmnožavanje bakterija
4. Genetika bakterija
5. Uticaj ekoloških faktora na rasprostranjenost bakterija
6. Dejstvo fizičkih i hemijskih agenasa na mikroorganizme
7. Antimikrobni lekovi
8. Klasifikacija, nomenklatura i taksonomija bakterija

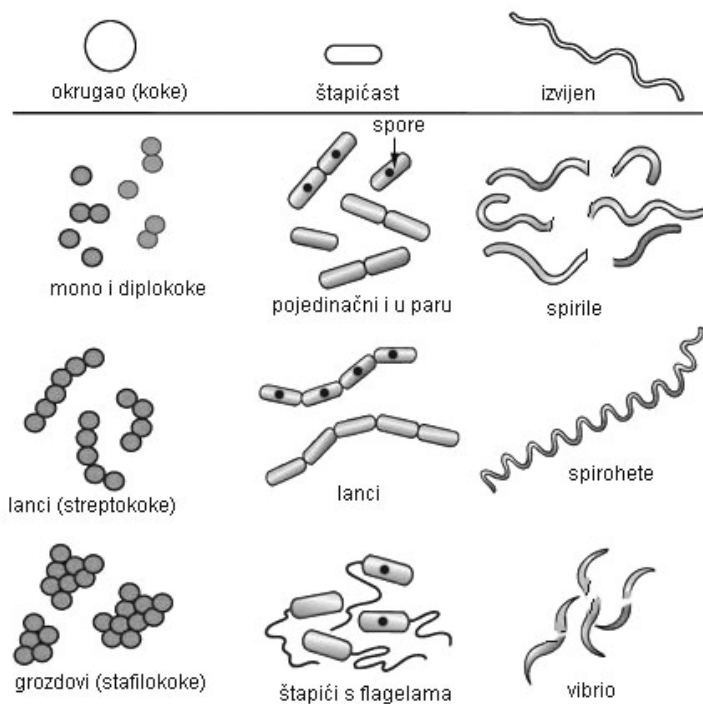
Rasprostranjenost, morfologija i građa bakterija

Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Bakterije su rasprostranjene u svim ekosistemima – u zemljištu, vodi i vazduhu. Nastanjuju unutrašnje organe životinja i čoveka, nadzemne i podzemne delove biljaka, prehrambene proizvode. Zbog njihove velike rasprostranjenosti, načina ishrane i sposobnosti prilagođavanja, bakterije imaju ključnu ulogu u kruženju materija. One zajedno s ostalim mikroorganizmima omogućuju ishranu biljaka i pomažu varenje hrane u digestivnom traktu životinja. Koriste se u industriji za preradu i dobijanje prehrambenih proizvoda, u farmaceutskoj industriji, u proizvodnji silaže i dr. Pored velike korisne uloge, neke bakterije su štetne. One uzrokuju kvarenje namirnica, oboljenja ljudi, životinja i biljaka.

Oblik bakterija

Po obliku bakterije mogu biti okrugle, štapičaste, izvijene, končaste, četvrtaste, zvezdaste i u obliku rozete (slika 1).



Slika 1. Najčešći oblici bakterija

Okrugle bakterije, koke, (*coccus*) nakon deobe mogu ostati pojedinačne, u parovima i većim grupama. Pojedinačne okrugle bakterije zovu se monokoke, okrugle bakterije u parovima zovu se diplokoke, bakterije u lancima zovu

se streptokoke, bakterije u nepravilnim skupinama, u grozdovima, zovu se stafilokoke (*staphylococcus*) i bakterije u paketićima zovu se sarcine.

Štapičaste bakterije (*bacillus*) mogu biti pojedinačne, po dve i u lancima. Neke štapičaste bakterije formiraju spore pa se takve bakterije zovu sporogene. Bakterije koje ne formiraju spore zovu se asporogene. Neke štapičaste bakterije imaju flagele kojima se kreću.

Izvijene bakterije s manjim brojem zavoja zovu se spirile, (*spirillum*) bakterije s velikom brojem zavoja zovu se spirohete, (*spirocheta*) a bakterije u obliku zareza zovu se vibrio (*vibrio*).

Veličina bakterija

Bakterije su, pored virusa i priona, najsitniji poznati organizmi. Ljudsko oko ih po pravilu ne može videti pa se za proučavanje njihovog oblika, veličine i građe koristi mikroskop. Veličina im se izražava u mikrometrima (μm). Veličina štapičastih bakterija određuje se merenjem dužine i širine, okruglih i četvrtastih merenjem prečnika, končastih merenjem prečnika filameta, dok se veličina bakterija nepravilnih oblika određuje geometrijskim proračunima.

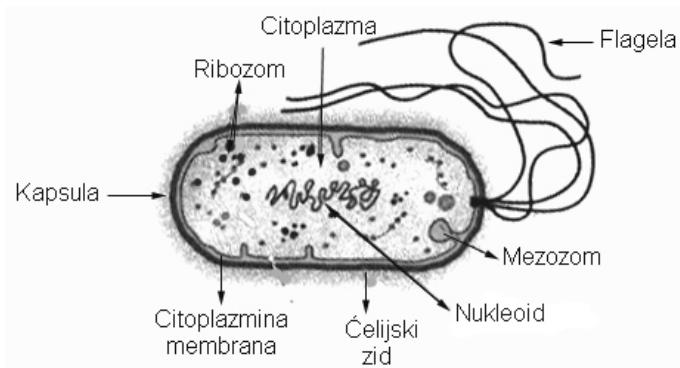
Veličina bakterija je veoma heterogena. Dužina štapičastih bakterija je 1 do 10 μm , a širina 0,5 do 1,5 μm . Dužina izvijenih bakterija je do 60 μm a širina od 0,3 do 3 μm . Prečnik okruglih bakterija je 0,5 do 10 μm . Među bakterijama mogu se naći i gigantske vrste kao što je *Beggiatoa mirabilis* (sumpor oksidujuća bakterija) koja dostiže dužinu do jednog centimetra i širinu do pedeset mikrometara, *Borellia burgdorferi* (uzročnik lajmske bolesti) čija je dužina 15 do 20 μm i izvijena bakterija *Spirillum volutans* čija je dužina je 13 – 15 μm . S druge strane ima i veoma malih bakterija kao što je *Dialister pneumosintesis* čiji je prečnik 0,15 – 0,3 μm .

U stočarskoj proizvodnji korisne su bakterije iz rodova *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, *Megasphaera*, *Selenomonas*, *Veillonella*, *Butyrivibrio*, *Lactobacillus* i *Streptococcus*. Štetne (patogene) bakterije, su iz rodova *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Rickettsia*, *Brucella*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Mycoplasma* *Mycobacterium* i dr. Pošto skoro svaki bakterijski rod ima veliki broj vrsta, često se dešava da jedan rod obuhvata i korisne i štetne vrste.

Građa bakterija

Prema građi ćelije bakterije spadaju u prokariote. Ćelija im je jednostavne građe (slika 2) i sastoji se od ćelijskog zida, citoplazmine membrane s mezozomima i citoplazme u kojoj se nalaze primitivno jedro (nukleoid), plazmidi, ribozomi i inkluzije. Pojedini bakterije mogu imati i neke od sledećih elemenata: sluzaste omotače oko ćelije (kapsula, sluzasti sloj), organele za kretanje (flagele, aksijalna nit), spore, ciste, fimbrije i pile.

Iako sluzaste omotače imaju samo neke bakterije, radi lakšeg razumevanja građe ćelije, u daljem tekstu će biti prvi opisani.



Slika 2. Građa prokariotske ćelije

Sluzasti omotači ćelije

Sluzasti omotači se naslanjaju na spoljni deo ćelijskog zida. Različite su debljine, konzistencije, građe i funkcije. Najčešće se javlja kapsula i sluzasti sloj.

Kapsula (slika 3) je guste konzistencije i ne može se lako odstraniti sa ćelije. Prema debljini, razlikuju se mikrokapsula (debljine do 0,2 μm) i makrokapsula (debljine iznad 0,2 μm). U zavisnosti od vrste bakterija, kapsula je izgrađena iz vode, homopolisaharida, heteropolisaharida i proteina. Homopolisaharidi su izgrađeni iz većeg broja molekula jednog monosaharida, a heteropolisaharidi su izgrađeni iz većeg broja molekula različitih monosaharida.



Slika 3. Kapsula (svetao sloj oko ćelije)

Homopolisaharide u kapsuli imaju: bakterija mlečne fermentacije *Leuconostoc mesenteroides* (kapsula je izgrađena iz dekstrana), bakterija sirćetne fermentacije *Acetobacter sp.* (kapsula je izgrađena iz celuloze), *Salmonella typhi* (kapsula je izgrađena je iz većeg broja molekula N-acetilgalaktozo-manuronske kiseline) i *Streptococcus sp.* (kapsula je izgrađena iz levulana). Heteropolisaharide u kapsuli imaju anaerobna azotofiksirajuća bakterija *Clostridium pasteurianum* (kapsula je

izgrađena iz hemiceluloze i skroba). Kod bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* kapsula je izgrađena iz glukoze, galaktoze i N-acetilglukozamina. Kod vrste *Pseudomonas aeruginosa* kapsula je izgrađena iz glukoze, galaktoze, manoze, ramnoze i galakturonske kiseline. Kod nekih vrsta iz roda *Bacillus* kapsula je izgrađena iz galakturonske i glutaminske kiseline.

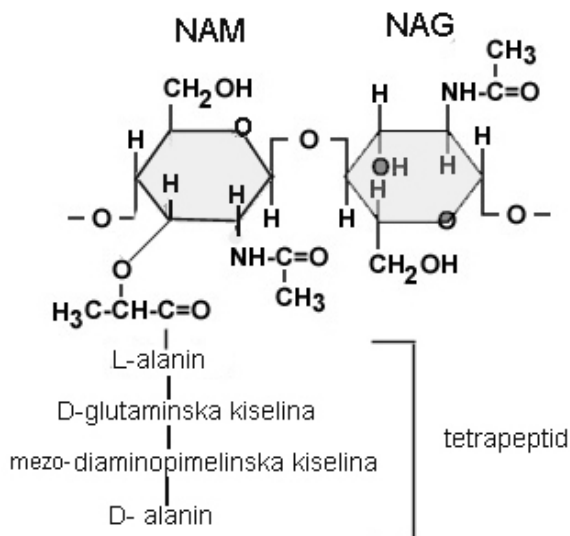
Kapsula štiti ćeliju od fagocitoze, stvara se u organizmu domaćina, ili na specijalnim veštačkim hranljivim podlogama i u prisustvu povećane tenzije CO₂. Za kapsulu su vezana antigena, serološka i virulentna svojstva bakterija.

Sluzasti sloj je difuzna materija labilne konzistencije koja se lako odstranjuje sa ćelije. Hemijski sastav sluzastog sloja sličan je sastavu kapsule. Sluzasti sloj obuhvata jednu ili veći broj ćelija i povezuje ih u grupe kod *Zooglea ramigera* i paketiće kod *Sarcina ventriculi*. Sluzasti sloj štiti ćeliju od mehaničkih povreda i nepovoljnih uslova spoljne sredine.

Ćelijski zid

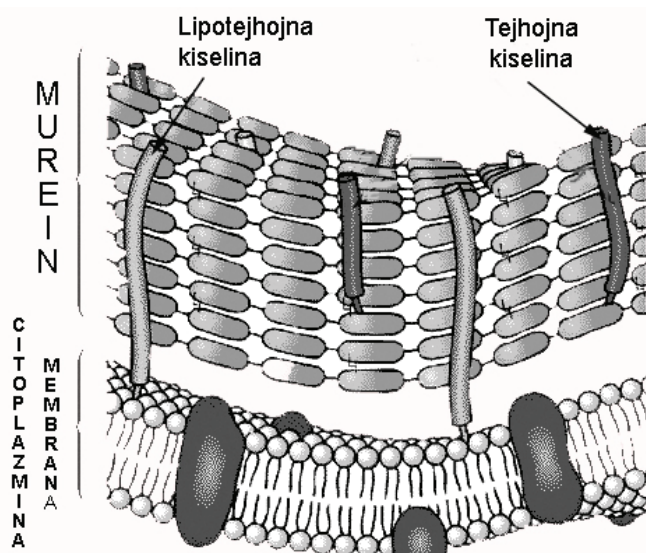
Ćelijski zid je spoljašnji omotač ćelije koji se nalazi oko citoplazmine membrane. On ćeliji daje oblik i čvrstinu, štiti je od mehaničkih i drugih nepovoljnih uticaja spoljne sredine. Kod patogenih bakterija u ćelijskom zidu su komponente odgovorne za izazivanje oboljenja kod domaćina (faktori virulencije). Kod pokretnih bakterija za ćelijski zid su pričvršćene flagele. Ćelijski zid bakterija sadrži specifični polimer koji se zove murein.

Murein se sastoji iz peptidnog i polisaharidnog dela. Peptidni deo je tetrapeptid izgrađen iz D-glutaminske kiseline, mezo-diaminopimelinske kiseline, L-alanina i D-alanina. Neke bakterije umesto mezo-diaminopimelinske kiseline sadrže lizin. Polisaharidni deo izgrađen je iz dva aminošećera: N-acetil-glukozamina (NAG) i N-acetil-muraminske kiseline (NAM) koji su međusobno povezani β-1,4 glikozidnim vezama. Peptidni i polisaharidni deo su međusobno povezani preko karboksilne grupe iz N-acetil-muraminske kiseline. Na taj način se formira mureinska mreža.



Slika 4. Fragment molekula mureina (NAG: N-acetilglukozamin; NAM: N-acetil-muraminska kiselina)

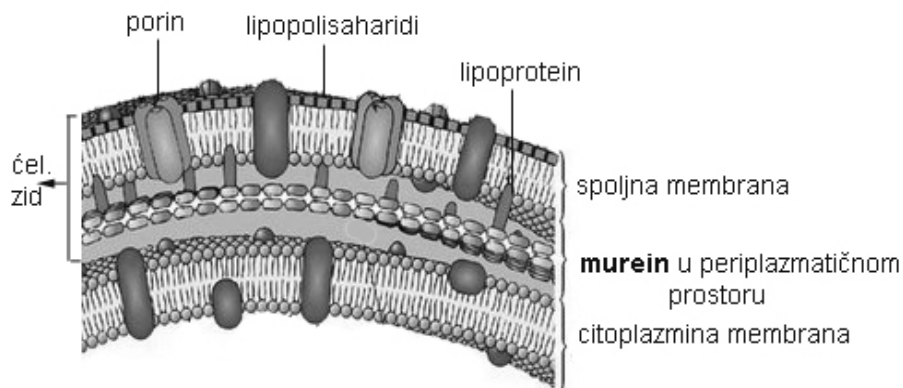
Udeo mureina u ćelijskom zidu bakterija je različit. Kod jedne grupe bakterija murein čini 50-90 % ćelijskog zida. Ove bakterije su na osnovu ljubičaste boje ćelijskog zida koja se dobije specifičnom tehnikom bojenja, nazvane Gram-pozitivne bakterije (po autoru Kristijanu Gramu) (slika 5).



Slika 5. Ćelijski zid Gram - pozitivnih bakterija

Osim mureina, u ćelijskom zidu Gram-pozitivnih bakterija nalaze se tejhodne kiseline. To su polimeri hemijski modifikovane glukoze ili glicerola povezane s fosfatima. Tejhodna kiselina je vezana za murein. Lipotejhodna kiselina je povezana za murein i masne kiseline citoplazmine membrane. Molekuli tejhodnih kiselina izlaze na površinu ćelijskog zida i daju mu negativan naboj. Zahvaljujući negativnom naboju koji potiče od fosfatne grupe (PO_4^{3-}), tejhodne kiseline omogućavaju transport pozitivnih jona u ćeliju i iz ćelije. Tejhodne kiseline imaju ulogu i u regulaciji rasta ćelije i faktor su virulencije.

Kod druge grupe bakterija ćelijski zid je složenije građe i sastoji se od spoljne membrane, periplazmatičnog prostora i mureina. Bojenjem po Gramu ćelijski zid ovih bakterija se oboji crveno i one su nazvane Gram-negativne (slika 6). U spoljnoj membrani nalaze se lipopolisaharidi, lipoproteini i porin-proteini. Uloga spoljne membrane je višestruka. Ona je barijera za hemijske agense kao što su antibiotici, deterdženti, pesticidi i teški metali. Preko nje se usvajaju hranljive materije pri čemu posebnu ulogu imaju porin-proteini i lipoproteini jer stvaraju prolaze za molekule manje molekulske mase, npr. za monosaharide. Polisaharidni deo lipopolisaharida deluje kao antigen, (somatski, O antigen) što je značajno u determinaciji bakterija, a lipidni deo deluje kao endotoksin koji ako uđe u krvotok životinja i čoveka, izaziva povišenu temperaturu, groznicu, vazodilataciju, pad krvnog pritiska, poremećaj koagulacije i šok..



Slika 6. Ćelijski zid Gram-negativnih bakterija

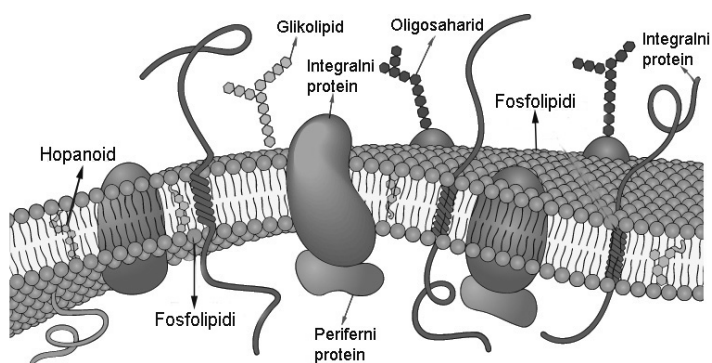
Periplazmatični prostor je popunjen periplazmom, a nalazi se između citoplazmine membrane i spoljne membrane. Periplazma sadrži enzime i proteine značajne za transport materija. Murein čini 5-10% ćelijskog zida i smešten je u periplazmatičnom prostoru. Sa spoljnom membranom povezan je lipoproteinima.

Citoplazmina membrana

Citoplazmina membrana se nalazi ispod ćelijskog zida i obavlja citoplazmu. Veoma je tanka, debljine 5-10 nm i vidi se samo pod elektronskim mikroskopom. Membrana se nastavlja u citoplazmatični membranski sistem (mezosome) koji prožima ćeliju. Polupropustljiva je i ima funkciju osmotske barijere koja reguliše razmenu materija između ćelije i spoljne sredine. U citoplazminoj membrani se vrši sinteza sastojaka ćelijskog zida i kapsule, odvija se disanje, fotosinteza i sinteza lipida. Tu su smešteni specijalni receptori za prepoznavanje hemijskih jedinjenja u okolini ćelije kao i permeaza sistem koji omogućava ulazak specifičnih, većih molekula u ćeliju.

Membrana je asimetrične građe i danas je prihvaćen tzv. fluidno-mozaični model (slika 7). Sastoji se iz proteina i lipida. Kod nekih prokariota u citoplazminoj membrani se nalaze u manjem procentu i različiti glikolipidi (molekuli lipida povezani s ugljenim hidratima).

Proteini prožimaju citoplazminu membranu i različitih su svojstava. Periferni proteini su labavo vezani za membranu i lako se odstranjuju. Rastvorljivi su u vodi i čine 20-30% ukupnih proteina membrane. Oko 70-80% proteina u membrani su integralni proteini. Nisu rastvorljivi u vodi i teško se odstranjuju. Integralni proteini su hidrofobnim krajem uronjeni u lipidni sloj, a hidrofilnim izlaze na površinu membrane. Često su za protein na površini membrane vezani ugljeni hidrati - oligosaharidi.



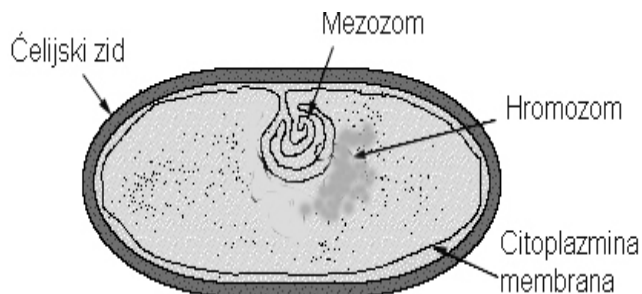
Slika 7. Građa citoplazmine membrane

Centralni deo citoplazmine membrane čine dva sloja lipida koji su najvećim delom građeni od fosfolipida. Masne kiseline od kojih su građeni lipidi prokariota su sa petnaest i sedamnaest C atoma povezani u račvasti niz. Kao i proteinski sloj, i lipidni sloj je asimetričan. Polarni hidrofilni krajevi fosfolipida okrenuti su prema površini membrane i reaguju s vodom, a nepolarni hidrofobni krajevi su okrenuti prema sredini i reaguju međusobno. Kod prokariotskih mikroorganizama, pored fosfolipida, lipidni sloj grade i pentaciklični molekuli slični sterolu – hopanoidi. Hopanoidi stabilizuju citoplazminu membranu. Kod bakterija iz familije

Enterobacteraceae najviše ima fosfatidiletanolamina. Gram-pozitivne bakterije sadrže aminoestre fosfatidilglicerina i aminokiselina. Kod nekih bakterija, npr. *Clostridium butyricum*, lipidni deo membrane građen je od plazmalogena u kome je glicerol vezan za dugački lanac masne kiseline.

Mezozomi

Mezozomi su ulegnuća citoplazmine membrane (slika 8).



Slika 8. Čelija s mezozomom

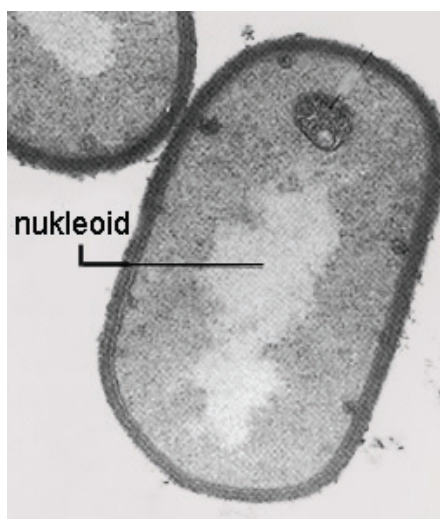
Mezozomi mogu biti u obliku vezikula (oblik mehurića), tubula (oblik cevčica) i lamela (oblik pločica). Nalaze se u ćelijama Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, ali su razvijeniji kod Gram-pozitivnih. Nalaze se uz ćelijski zid, a povezani su i s nukleoidom. Funkcija mezozoma je višestruka. Učestvuju u replikaciji hromozoma i usmeravaju ih u ćerke ćelije. U njima se sintetišu gradivni elementi ćelije, razgrađuju hranljive materije, obavlja disanje i oksidativna fosforilacija i dr.

Citoplazma

Citoplazma je gusta, mutna i elastična materija koja popunjava unutrašnjost ćelije. Obavijena je citoplazminom membranom. Sadrži oko 80% vode, proteine, enzime, ugljene hidrate, lipide, neorganske jone i dr. U citoplazmi se nalaze nukleoid i plazmidi koji su izgrađeni iz dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), ribozomi koji su izgrađeni iz ribonukleinske kiseline (RNK) i rezervne materije koje se zovu inkluzije.

Nukleoid ("bakterijsko jedro")

Nukleoid je deo citoplazme u bakterijskoj ćeliji u kome se nalazi genetski materijal. Osnovna uloga nukleoida je u prenošenju naslednih osobina. Povezan je s mezozomima i citoplazminom membranom. Za razliku od jedra, nukleoid nema opnu. U periodu mirovanja zauzima centralni položaj u ćeliji (slika 9). U fazi aktivnog rasta ćelije, nukleoid je rasut po celoj citoplazmi. U toku deobe ćelija može imati više od jednog nukleoida.



Slika 9. Nukleoid u ćeliji

Naziv nukleoid (*sličan jedru*) dobio je po tome što, kao i pravo jedro, sadrži oko 60% DNK (dezoksiribonukleinska kiselina), oko 30% RNK (ribonukleinska kiselina) i oko 10 % proteina (histoni i protamini).

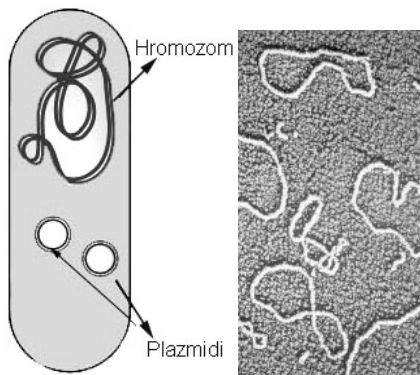
Molekul DNK nukleoida se sastoji od dva polinukleotidna lanca koji su uvijeni jedan oko drugog čineći dvojni spiralu. To su polimeri koji se sastoje iz 1500 do 5 000 000 mononukleotida. Mononukleotidi se sastoje iz: dezoksiriboze, purinskih baza (adenin i guanin), pirimidinskih baza (timin i citozin) i fosforne kiseline. Mononukleotidi su međusobno vezani preko fosforne kiseline i čine lanac. Dva polinukleotidna lanca DNK su međusobno povezana vodoničnim mostovima, i to timin jednog lanca za adenin drugog, i guanin jednog lanca za citozin drugog. Prečnik DNK je 0,2 nm, a svaki zavoj se sastoji iz deset nukleotida.

DNK zajedno s proteinima grade hromozom. Proteini su vezani na raznim mestima molekula DNK i imaju ulogu u njenoj spiralizaciji i sabijanju. Po pravilu, u bakterijskoj ćeliji postoji samo jedan hromozom. Međutim, postoje izuzeci poput vrsta *Rhodobacter sphaeroides* i *Vibrio cholerae* (s dva hromozoma) i *Halobacter* s tri hromozoma. Hromozom je kod bakterija najčešće cirkularnog oblika izuzev kod nekoliko vrsta, kao što je uzročnik lajmske bolesti - *Borrelia burgdorferi*, koja ima linearan hromozom. Hromozom kod bakterija je male veličine, ali u odnosu na veličinu bakterijske ćelije veoma je velike dužine. Tako je u ćeliji *Escherichia coli*, koja je dugačka 2-6 μm , dužina hromozoma 1400 μm .

Hromozom se sastoji iz manjih segmenata - gena kojih na jednom hromozomu može biti i nekoliko hiljada. Gen u sebi sadrži jedan ili više parova nukleotida i on je osnova nasleđivanja.

Plazmidi

Plazmidi su mali, ekstrahromosomski molekuli DNK, koji se nalaze u citoplazmi (slika 10).



Slika 10. Plazmid u ćeliji – šema (levo) i elektronski snimak (desno)

Prisutni su u mnogim bakterijama. Imaju sposobnost autonomne replikacije (udvajanja) koja je odvojena od replikacije hromozoma. Za razliku od nukleoida, nisu povezani s citoplazminom membranom i nemaju ulogu u rastu ćelije i reprodukciji. Sadrže manji broj gena nego hromozom, obično do dvadeset.

Plazmidi se mogu inkorporirati u hromozom, pa se zajedno sa njime replikuju. Iako nisu neophodni za život ćelije domaćina, u nepovoljnim uslovima, kao nosioci određenih gena, mogu obezbediti nove osobine, koje su bitne za preživljavanje u vanrednim uslovima. Bakterijska ćelija može izgubiti plazmid, i ovaj gubitak je trajan, ali može dobiti neki drugi plazmid od ćelije donora procesom konjugacije ili transdukcije.

Prema funkciji za koju su odgovorni, postoji više vrsta plazmida: konjugativni plazmidi, plazmidi koji sadrže R faktor, (R plazmidi), kol (col) plazmidi, plazmidi virulencije i metabolički plazmidi.

Konjugativni plazmidi imaju gene odgovorne za svoju sopstvenu prenosivost iz jedne u drugu bakteriju, odnosno funkcionisanje pila. Geni koji determinišu prenosivost nazivaju se tranfer geni i ima ih 15. Konjugativni plazmidi nalaze se uglavnom kod Gram-negativnih bakterija. U toku konjugacije preko pila se mogu prenositi kopije (nasledne osobine) s jedne bakterije na drugu. Ovi plazmidi sadrže faktor fertiliteta (F faktor, F plazmid), koji je odgovoran za produkciju proteina za formiranje F pila. R plazmidi su odgovorni za rezistenciju bakterija prema antibioticima. Ova rezistencija je najčešće multipla, a prenosi se konjugacijom, tako da R plazmid raspoláže genima za autonomnu replikaciju, produkciju proteina za stvaranje pila i rezistenciju. Kol (col) plazmidi sadže gene za sintezu bakteriocina - kolicina koji uništava druge bakterije. Bakterije sa ovim plazmidima mogu biti korisne jer ubijaju patogene mikroorganizme ali i štetne jer

uništavaju normalnu bakterijsku floru. Sa praktičnog aspekta značaj utvrđivanja bakteriocina ogleda se u bakteriocinskoj tipizaciji koja služi u epidemiološkim istraživanjima, za utvrđivanje izvora infekcije. Plazmidi virulencije su odgovorni za proizvodnju toksina, adhezina, hemolizina, koagulaze, površinskih antigena i drugih materija koje omogućuju infekciju i uzrokuju bolesti domaćina. Primer je *E. coli* koja proizvodi enterotoksin koji uzrokuje dijareju. Metabolički plazmidi poseduju gene za razgradnju aromatičnih komponenti, pesticida, šećera i dr. U metaboličke plazmide spadaju i plazmidi koji poseduju gene za nodulaciju (*nod geni*) i azotofiksaciju (*Fix geni*). U genetskom inženjeringu plazmidi se koriste kao izvor svojstava koja se mogu ugraditi u druge vrste mikroorganizama.

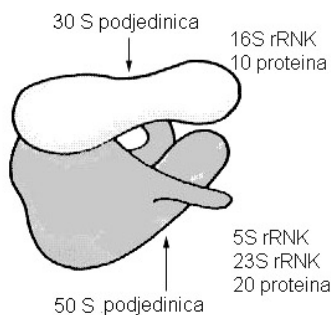
Transpozoni

Transpozoni su genetičke sekvence inkorporirane u R-plazmid, a odgovorni su za pojavu rezistencije na antimikrobne lekove. Nisu sposobni za autoreplikaciju, već se transponuju sa svojim genima rezistencije, sa jednog na drugi plazmid. Sadrže jedan ili više trijasa gena. Jedan gen u trijasu determiniše produkciju enzima koji dovode do rezistencije, drugi determiniše produkciju transposaze, peptida koji omogućava transpoziciju a treći gen je represorski. Geni rezistencije na transpozonima nađeni su na gotovo sve antibiotike i hemioterapeutike. Transpozon Tn1 i Tn3 determinišu produkciju betalaktamaza (enzima koji razgrađuju betalaktamske antibiotike) dok transpozon Tn7 determiniše rezistenciju na sulfonamide.

Međučelijski konjugalni prenos R-plazmida koji raspolažu brojnim transpozonima sa genima rezistencije na antimikrobne lekove, doveo je do pojave multiple rezistencije epidemijskih razmera.

Ribozomi

Ribozomi su mala zrnasta telašca u kojima se sintetišu proteini. U unutrašnjosti ribozoma sintetišu se proteini koji ostaju u ćeliji, a na membrani ribozoma sintetišu se proteini koji se transportuju izvan ćelije (npr. egzoenzimi). Ribozomi su izgrađeni iz proteina i ribonukleinske kiseline koja nosi prefiks "ribozomalna" (rRNK). Proteini se sastoje iz 50-150 polipeptidnih lanaca različitog aminokiselinskog sastava i čine oko 40% ukupne mase ribozoma. Ribonukleinska kiselina čini oko 60% mase ribozoma. Prečnik ribozoma je 14-20 nm. Na osnovu koeficijenta sedimentacije, ribozomi prokariota su nazvani 70 S ribozomi. Slovo S označava Svedbergove jedinice ($1S = 10^{-13}$ s) koje se odnose na vreme sedimentacije tokom njihovog odvajanja od citoplazme u ultracentrifugi. Ribozomi se sastoje se iz dve podjedinice, 30 S i 50 S (slika 11).



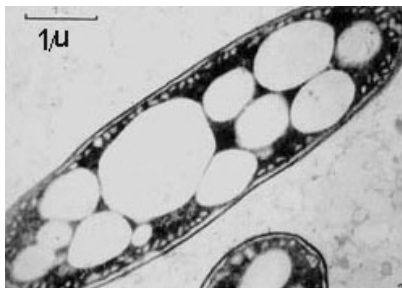
Slika 11. Građa ribozoma *E. coli*

Kod *Escherichia coli*, 50 S podjedinica se sastoji iz jednog molekula 5 S rRNK, jednog molekula 23 S rRNK i dvadeset molekula proteina. 30 S podjedinica se sastoji iz jednog molekula 16 S rRNK i deset molekula proteina.

Citoplazmatične inkluzije

Inkluzije su rezerve organskih i neorganskih materija u citoplazmi. Neke inkluzije su obavijene membranom, npr. granule poli- β -hidroksibutirata (PHB), proteinski kristali, granule glikogena i sumpora. Membrane su jednoslojne, debljine 2-4 nm. Inkluzije bez membrane su polifosfatne granule, granule cianoficina, neke granule glikogena i granule skroba. Pošto se inkluzije koriste kao rezervna materija, njihov broj varira u zavisnosti od načina ishrane i starosti ćelije.

Poli- β - hidroksibutirati (PHB) su granule koje služe kao rezerva ugljenika i energije u ćelijama bakterija *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Azotobacter* i dr. Kod većine navedenih bakterija u citoplazmi je prisutno nekoliko granula prečnika 100 do 800 nm (slika 12). Osim poli- β - hidroksibutirata ove granule sadrže oko 2% proteina i oko 0,5% lipida.



Slika 12. PHB granule u ćeliji bakterija

Proteinski kristali su inkluzije u ćelijama nekih bakterija (slika 13) , npr. *Bacillus thuringiensis*, a formiraju se za vreme sporulacije. Ovi kristali su toksični za neke insekte pa se od bakterija koje ih sadrže proizvode biološki insekticidi.



Slika 13. Proteinski kristal u bakterijskoj ćeliji

Glikogenska zrnca su rezervni ugljeni hidrati koji se nakupljaju u ćelijama *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, sporogene bakterije *Bacillus polymyxa* i dr.

Zrnca sumpora nalaze se u ćelijama bakterija koje oksidišu sumpor-vodonik ili elementarni sumpor. To su tzv. sumporne bakterije (*Beggiatoa*, *Bacillus*, *Thiothrix*) kojima je sumpor izvor energije.

Skrobna zrnca su rezervni polisaharid u ćelijama *Clostridium butyricum*, *Acetobacter sp.*, i dr.

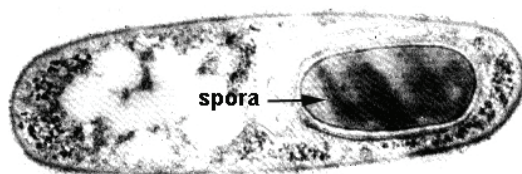
Polifosfatne granule ili volutin su rezerve neorganskih fosfata (polifosfata) koji mogu da se koriste u sintezi ATP-a. Nalaze se u ćelijama bakterija *Spirillum volutans*, *Azotobacter sp.*, *Acetomonas sp.*, *Lactobacterium sp.*, *Corynebacterium diphtheriae* i dr.

U citoplazmi bakterija nakupljaju se i enzimi, nukleinske kiseline, aminokiseline, monosaharidi, disaharidi, masne kiseline i razni alkoholi koje mikroorganizam u određenom momentu koristi.

Spore

U nepovoljnim uslovima neke bakterije u svojim ćelijama obrazuju zaštitne tvorevine (spore) koje im omogućuju preživljavanje. U ovom obliku bakterije prelaze u latentno stanje (stanje anabioze) u kome mogu ostati duži vremenski period. Kad nastupe povoljni uslovi, ćelija iz oblika za preživljavanje prelazi u vegetativni oblik i normalno nastavlja životne funkcije.

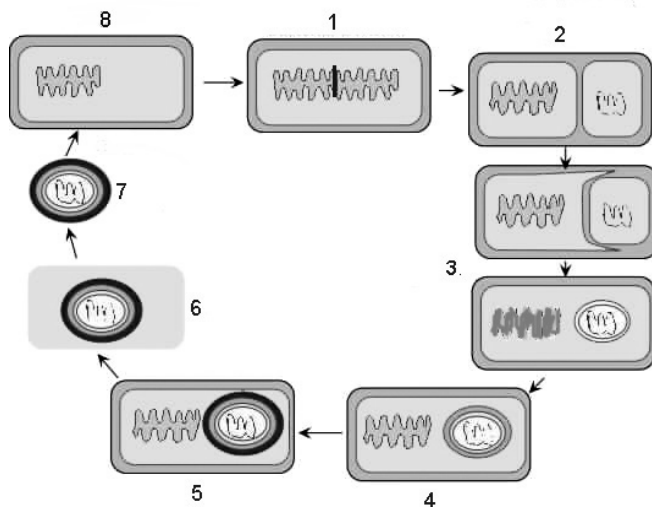
Spore su oblici za preživljavanje štapićastih bakterija iz rodova *Bacillus* i *Clostridium* i okruglih bakterija iz roda *Sporosarcina*. Obrazuju se u ćeliji pa se zovu endospore (slika 14).



Slika 14. Spora u ćeliji

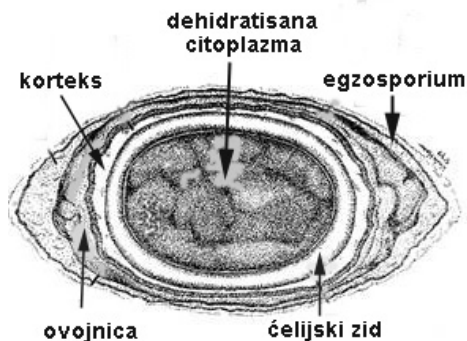
Po obliku spore mogu biti loptaste, elipsoidne i cilindrične. Zauzimaju centralni ili terminalni položaj u ćeliji pri čemu mogu i da menjaju prečnik ćelije. U jednoj ćeliji se obično obrazuje jedna spora.

Formiranje spora (sporulacija) odvija se postepeno (slika 15). Prvo dolazi do deobe DNK (1). Zatim se jedna DNK povuče na jedan kraj ćelije (2). Nakon toga se formiraju omotači (3-5). Posle formiranja omotača spora može ostati u ćeliji (6) ili se oslobodi (7). Kad dođe u povoljne uslove, spora klija (germinacija) i ponovo se formira vegetativna ćelija (8).



Slika 15. Formiranje spore u bakterijskoj ćeliji

Spora je složene građe (slika 16). Središnji deo spore je dehidratirana citoplazma u kojoj se nalaze DNK, ribozomi, enzimi i dr. Ovi sastojci omogućuju funkcionisanje ćelije kad se vrati u vegetativni stadijum.



Slika 16. Građa spore

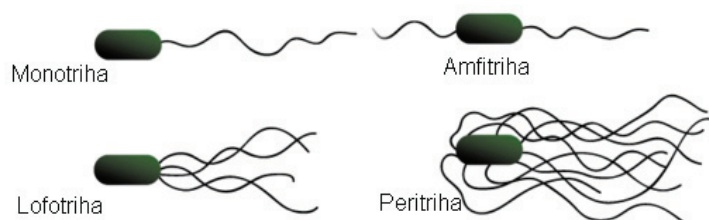
Prvi sloj do dehidratirane citoplazme je modifikovani ćelijski zid. Drugi sloj je korteks. U korteksu se nalazi dipikolinska kiselina, koja čini 5-15% suve mase spore, i s jonima kalcijuma, mangana, kalijuma i gvožđa gradi kompleksna jedinjenja koja obezbeđuju veću otpornost prema toploti. Treći sloj je ovojnica koja se sastoji iz nekoliko proteinskih slojeva koji su otporni na pesticide, antibiotike i druga hemijska sredstva. Poslednji sloj je egzosporium koji predstavlja još jedan zaštitni sloj.

Spore izdržavaju temperature i do 100° C u toku 10 minuta te se za njihovo uništavanje u vlažnoj sredini moraju koristiti temperature iznad 120° C u trajanju najmanje dvadeset minuta. U suvoj sredini spore su otpornije prema visokim temperaturama te se za njihovo uništavanje moraju koristiti temperature iznad 180 °C u trajanju najmanje dva sata. Dobro izdržavaju i niske temperature, tako da mogu da prežive i - 253° C. U zemljištu spore mogu da prežive i više stotina godina.

Velika rezistentnost spora prema nepovoljnim uslovima spoljne sredine, dezinficijensima i antisepticima može predstavljati problem u medicini i prehrambenoj industriji jer spore u povoljnim uslovima klijaju u vegetativnu ćeliju koja nastavlja normalan rast i razmnožavanje.

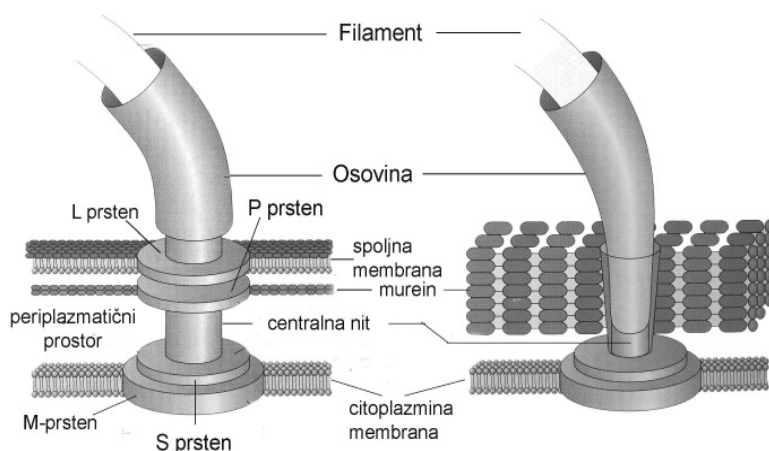
Izraštaji na bakterijskoj ćeliji

Na površini bakterijske ćelije mogu postojati flagele i fimbrije (pile). Flagele su tanke, prečnika oko 20 nm, a dužine oko 15-20 µm. Broj i raspored flagela je različit i predstavlja jednu od glavnih karakteristika za determinaciju bakterija. Bakterije koje imaju jednu flagelu zovu se monotrihe, bakterije koje imaju više flagela na jednom kraju ćelije zovu se lofotrihe, bakterije koje imaju po jednu ili više flagela na suprotnim krajevima ćelije zovu se amfitrihe, a bakterije koje imaju veliki broj flagela po celoj ćeliji zovu se peritrihe (slika 17).



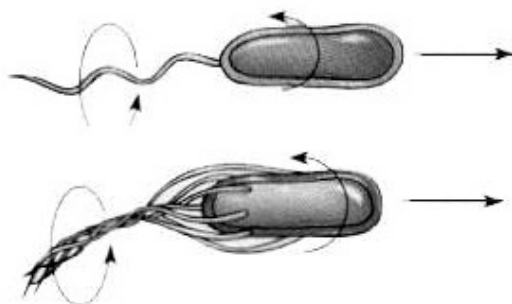
Slika 18. Raspored flagela na bakterijskoj ćeliji

Flagela bakterije se sastoji iz bazalnog telašca, osovine i filameta. Filament je cilindrična nit koja se sastoji iz tri upletene tanke niti (subfibrile). Po hemijskom sastavu filament je belančevina flagelin. Osovina povezuje filament s bazalnim telašcem i izgrađena je iz proteina koji se razlikuju od flagelina. Bazalno telašće je složene građe i razlikuje se kod Gram- negativnih i kod Gram-pozitivnih bakterija (slika 19).



Slika 19. Flagela kod Gram-negativnih (levo) i Gram-pozitivnih bakterija (desno)

Kod Gram-negativnih (G-) bakterija bazalno telašće sa sastoji iz četiri prstena (L, P, S i M prstenovi) kroz koje prolazi centralna nit. Centralna nit povezuje osovinu s prstenovima. Spoljašna dva prstena (L i P) su vezana za ćelijski zid i odvojena od unutrašnjih prstenova (M i S) periplazmatičnim prostorom. Unutrašnja dva prstena su vezana za citoplazminu membranu. Kod Gram-pozitivnih (G+) bakterija bazalno telašće ima dva prstena, i to jedan vezan za citoplazminu membranu, a drugi vezan za ćelijski zid. Osovinu i prstenove u citoplazminoj membrani povezuje centralna nit. Neke bakterije oko flagele imaju ovojnice. Npr. *Bdellovibrio* ima lipoproteinske, a *Vibrio cholerae* ima lipopolisaharidne ovojnice. Bakterije se kreću rotiranjem flagela (slika 19).



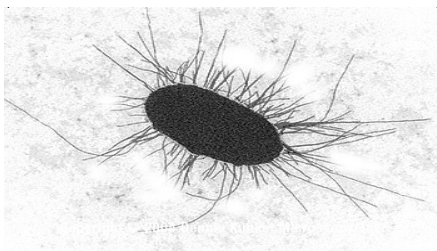
Slika 19. Rotaciono kretanje bakterijskih flagela

Rotacija se odvija tako što rotira M prsten u citoplazminoj membrani koji preko centralne niti rotaciju prenosi na osovinu i filament. Smatra se da ostali prstenovi ne rotiraju nego se ponašaju kao stator u motoru. Broj obrtaja je velik.

Npr. kod *Escherichia coli* broj obrtaja je 270 u sekundi, a kod *Vibrio alginolyticus* je 1100. Brzina kretanja bakterija je dvadeset do devedeset mikrometara u sekundi, što znači da bakterije u jednoj sekundi prelaze dve do sto dužina svoje ćelije.

Fimbrije i pile

Fimbrije i pile su brojne tanke, kratke i dugačke niti koje se nalaze na površini mnogih bakterija (slika 20).



Slika 20. Fimbrije (kratke niti) i pile (dugačke niti)

Fimbrije i pile se razlikuju po svojoj funkciji. Fimbrije omogućuju bakterijama da se vežu za supstrat (adherencija za sluznicu) i da se bakterije međusobno povezuju čineći tako navlaku na površini tečnosti. Smatra se da je njihova uloga u transportu vode i rastvorenih soli između ćelije i okolne sredine. Pile (pilusi, polne pile, kopulacione pile, "seks" pile) su duži izraštaji prečnika oko 10 nm. Njihova uloga je u procesu konjugacije bakterija pri čemu kroz pile genetski materijal (DNK) iz jedne ćelije prelazi u drugu.

Aksijalne niti se nalaze kod izvijenih bakterija iz grupe *Spirochaetes* i smeštene su između citoplazmine membrane i ćelijskog zida (slika 21).



Slika 21. Aksijalna nit

Sastoje se iz snopa vlakana, a broj aksijalnih niti kreće se od 2 do 10, što zavisi od vrste bakterije. Po hemijskom sastavu aksijalna nit je izgrađena iz proteina koji se zove flagelin. Kretanje izvijenih bakterija koje imaju aksijalnu nit odvija se savijanjem i rotacijom ćelije.

Za razliku od bakterija koje se kreću uz pomoć flagala, veliki broj se takođe kreće iako ih nemaju. Njihovo kretanje zove se klizeće a viđa se kod mikoplazmi.

Ishrana bakterija i oslobađanje energije

Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Ishrana je fiziološki proces u toku koga se vrši snabdevanje bakterija hranljivim materijama koje se koriste za rast, razvoj i razmnožavanje i kao izvor energije. Sastav hranljivih materija kao i hemijski sastav ćelija bakterija su veoma raznovrsni.

Bakterijska ćelija izgrađena je iz vode, koja čini 75 – 90 % ćelije, i suve materije, koja čini 10 – 25 % ćelije. Voda se u ćeliji nalazi uglavnom u slobodnom stanju. Voda omogućava odvijanje svih metaboličkih procesa u ćeliji, a ako dođe do izdvajanja vode iz ćelije, bakterija prelazi u stanje anabioze ili u gine. Suva materija je izgrađena iz organskih i neorganskih jedinjenja. Organska jedinjenja sačinjavaju 80–90 % suve materije. Najviše ima proteinskih materija (oko 50%), ugljenih hidrata (10 – 20%) i lipida (1- 30%).

Hemijski sastav hranljivih materija sličan je hemijskom sastavu ćelije, iako bakterije mogu da sintetišu i supstance kojih nema u hrani. Bakterije mogu, u zavisnosti od osobina i potreba, da usvajaju organske i neorganske materije. U sastav tih materija ulaze makroelementi (C, N, P, S, H, O, K, Mg, Ca i Fe) i mikroelementi (Mn, Zn, Co, Ni, Cu, Si, Al). Makroelementi se usvajaju u većim količinama i koriste se za izgradnju organskih jedinjenja u ćeliji. Mikroelementi se usvajaju u malim količinama i obično učestvuju u enzimatskim reakcijama.

Izvori hranljivih elemenata

Izvori ugljenika

Ugljenik je jedan od najvažnijih makroelemenata u ishrani bakterija. U svojoj materiji ćelije ima ga oko 50%. Bakterije u ishrani koriste neorganska i organska jedinjenja ugljenika te se na osnovu toga dele na autotrofe, heterotrofe i miksotrofe.

Autotrofne bakterije za sintezu svoje organske materije koriste neorganske izvore ugljenike. Ugljenik uglavom usvajaju iz ugljen-dioksida, a samo mali broj iz karbonata. U autotrofne bakterije spadaju, cianobakterije, zelene i purpurne sumporne bakterije, bezbojne sumporne bakterije, nitrifikatori, gvoždevite i vodonične bakterije.

Heterotrofne bakterije ugljenik usvajaju iz organskih jedinjenja, uglavnom iz ugljenih hidrata. Međusobno se razlikuju po vrstama jedinjenja koja usvajaju, što zavisi od enzimatskog sistema koga poseduju. Neke bakterije iz ove grupe mogu da usvajaju samo određene monosaharide, neke mogu da usvajaju samo celulozu, a neke samo škrob. Veoma su značajne u organima za varenje životinja jer omogućuju razlaganje polisaharida do monosaharida i monosaharida do organskih kiselina.

Heterotrofne bakterije koje ugljenik koriste iz mrtve organske materije zovu se saprofiti, a one koje ugljenik koriste iz živog organizma zovu se paraziti i u njih spadaju patogene bakterije koje uzrokuju zarazne bolesti kod ljudi i životinja.

Miksotrofne bakterije mogu da koriste i organske i neorganske izvore ugljenika. Ako se nađu u sredini s više organske materije i bez prisustva sunčeve svetlosti, prelaze na heterotrofan način ishrane. Ako se nađu u sredini s dovoljno svetlosti, prelaze na autotrofan način ishrane. U ovu grupu spadaju sumporne i gvožđevite bakterije kao i propionske bakterije.

Izvori azota

Azot je gradivni element svih živih organizama. Učestvuje u izgradnji proteina, nukleinskih kiselina, aminošćera i dr., te je neophodan u ishrani.

Bakterije azot usvajaju iz organskih i neorganskih jedinjenja.

Organska jedinjenja azota koja bakterije najčešće koriste su: aminokiseline, proteini, nukleinske kiseline i karbamid. Bakterije koje koriste organske izvore azota zovu se aminoheterotrofi. One izvan svoje ćelije razlažu složena organska jedinjenja do aminokiselina. Aminokiseline potom usvajaju u ćeliju i koriste za biosinteze sopstvenih proteina. U aminoheterotrofe spada veliki broj bakterija (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Escherichia* i dr.). Aminoheterotrofne bakterije koje azot koriste iz mrtve organske materije zovu se saprofiti, a one koje azot koriste iz živog organizma zovu se paraziti.

Neorganska jedinjenja azota koja bakterije najčešće koriste su amonijak, nitriti i nitrati, a neke koriste i elementarni azot. Bakterije koje koriste neorganske izvore azota zovu se aminoautotrofi. Tu spadaju nitrifikacione bakterije koje koriste amonijačni azot (*Nitrobacter*, *Nitrosomonas*), denitrifikacione bakterije koje koriste nitratan azot (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*) i azotofiksacione bakterije koje koriste elementarni azot (*Rhizobium*, *Azotobacter*). Svi ovi oblici azota se, nakon ulaska u ćeliju, enzimatskim procesima transformišu i ugrađuju u aminokiseline iz kojih se sintetišu proteini, konstituent je nukleinskih kiselina i koenzima.

Izvori fosfora i sumpora

Fosfor i sumpor takođe ulaze u sastav organskih jedinjenja u ćeliji. U prirodi se nalaze u organskim i neorganskim jedinjenjima, a ima ih i u elementarnom stanju.

Organska jedinjenja fosfora koja bakterije najčešće koriste su nukleoproteini i ATP (adenozin-trifosfat), a od neorganskih soli fosforne kiseline – fosfati. Bakterije koje koriste organske izvore fosfora, zovu se fosfomineralizatori. Tu spadaju *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* i *Actinomyces*. Bakterije koje fosfor usvajaju iz fosfata zovu se fosfoimobilizatori jer usvojeni fosfor ugrađuju

u svoje organske komponente i tako ga čine nedostupnim za druge organizme. Fosfor je značajan za sintezu fosfolipida, lipopolisaharida i teihojne kiseline.

Organska jedinjenja sumpora koja bakterije najčešće koriste su aminokiseline (cistin, cistein i metionin), proteini koji su izgrađeni iz ovih aminokiselina, koenzimi (biotin, tiamin, koenzim A), gvožđe-sumporni proteini, glutation, penicilin, holinsulfat i fenolsulfat. Neorganska jedinjenja koja bakterije koriste su vodonik sulfid i soli sumporne kiseline – sulfati. Sumpor iz organskih jedinjenja koriste bakterije iz rodova *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* i dr., a sumpor iz sulfata takođe koriste mnoge bakterije. Nakon što se usvoje, sulfati se u ćeliji redukuju u sulfhidrilnu grupu (SH⁻) i ugrađuju u organska jedinjenja. Vodonik-sulfid koristi mali broj bakterija (npr. *Beggiatoa*).

Izvori kiseonika i vodonika

Kiseonik je gradivni element većine organskih jedinjenja – proteina, ugljenih hidrata i masti. U elementarnom stanju ima ga u vazuhu - 21%, a u neorganskim jedinjenjima je zastupljen u vodi, solima nekih neorganskih kiselina i oksidima.

Za potrebe biosinteze gradivnih jedinica ćelije, bakterije ga koriste iz organskih i neorganskih jedinjenja. Za potrebe disanja aerobne bakterije koriste elementarni kiseonik, a neke anaerobne bakterije za potrebe disanja kiseonik koriste u obliku oksidisanih neorganskih jedinjenja.

Vodonik je gradivni element svih organskih jedinjenja. Neorganska jedinjenja koja sadrže vodonik su voda, neorganske kiseline i njihove kisele soli, vodonik-sulfid, i dr. Ima ga i u elementarnom stanju u vazduhu, ali u veoma malim količinama. U biosintezama bakterije ga koriste iz organskih i iz neorganskih jedinjenja. Neke bakterije mogu koristiti elementarni vodonik kao izvor energije (npr. *Hydrogenobacter*).

Tabela 1. Najvažniji elementi, njihov izvor i uloge u bakterijskoj ćeliji

element	% od ukupne suve težine	izvor	uloge
Ugljenik	50	organske materije ili CO ₂	Glavni konstituent ćelijskog materijala
Kiseonik	20	voda, organske materije, CO ₂ i O ₂	Konstituent ćelijskog materijala i ćelijske vode
Azot	14	NH ₃ , NO ₃ , organske materije, N ₂	konstituent aminokiselina, NK nukleotida, koenzima
Vodonik	8	H ₂ O, organske materije, H ₂	Glavni konstituent organskih materija i ćelijske vode
Fosfor	3	fosfati	fosfolipidi, LPS, teihojna kiselina

Sumpor	1	SO ₄ , H ₂ S, organske sulfurne materije	konstituent cisteina, metioniona, glutationa, nekih koenzima
Kalijum	1	Kalijumove soli	Najvažniji neorganski kation i kofaktor enzima
Magnezijum	0,5	Soli magnezijuma	neorganski ćelijski katjon, kofaktor enzimskih reakcija
Kalcijum	0,5	Soli kalcijuma	neorganski ćelijski katjon, kofaktor enzimskih reakcija, komponenta endospore
Gvožđe	0,2	Soli gvožđa	komponenta citohroma, kofaktor enzimskih reakcija

Izvori ostalih elemenata

Ostali makro i mikroelementi se uglavnom nalaze u neorganskim jedinjenjima kao soli različitih neorganskih kiselina. Iz tih jedinjenja ih usvajaju i bakterije. Ovi elementi ulaze u sastav enzima i ćelijskog zida, a stimulišu i razne procese u ćeliji. Tako gvožđe ulazi u sastav citohroma i katalizira oksido-redukcijske reakcije. Kalijum pomaže procese sporulacije i regulator je usvajanja hranljivih materija. Kalcijum vrši aktivaciju enzima i reguliše pH ćelije. Magnezijum stimuliše sintezu nukleoproteina. Molibden stimuliše procese azotofiksacije i nitrifikacije. Cink učestvuje u sintezi antibiotika i pigmentata. Bakar utiče na pigmentaciju spora i služi kao aktivator enzima.

Transport materija

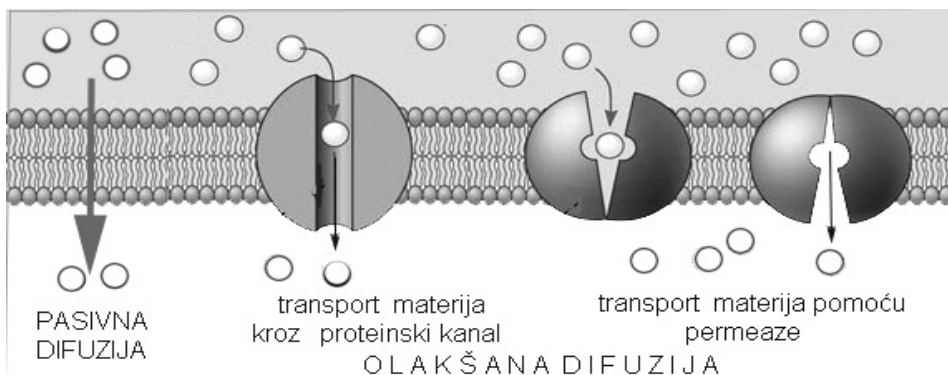
Bakterije, kao i drugi organizmi, usvajaju potrebne i izdvajaju nepotrebne materije. Transport materija se odvija kroz citoplazminu membranu.

Kroz citoplazminu membranu materije se transportuju ili bez utroška energije (pasivni transport), ili uz utrošak energije (aktivni transport).

U okviru pasivnog transporta postoji pasivna difuzija, olakšana difuzija i osmoza. Svi ovi procesi odvijaju se bez utroška energije i zasnivaju se na transportu materija iz sredine s većom koncentracijom u sredinu s manjom koncentracijom sve dok se koncentracije ne izjednače.

Pasivna difuzija omogućuje transport ugljenik-dioksida, kiseonika i vode (slika 22).

Olakšanom (potpomognutom) difuzijom se transportuju glukoza i aminokiseline, a odvija se uz učešće proteinskog prenosioca (permeaze). Transport supstanci se odvija na dva načina i to kroz proteinski kanal koji se formira u citoplazminoj membrani ili se supstanca veže za proteinski nosač (permeazu) (slika 23). Smatra se da proteinski nosači, prilikom prenosa supstanci, ostaju u citoplazminoj membrani ali da menjaju oblik.



Slika 22. Transport materija pasivnom i olakšanom difuzijom

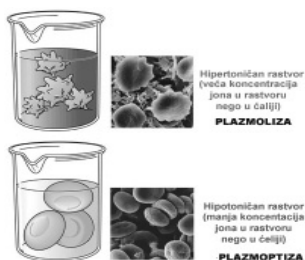
Osmoza je vrsta pasivnog transporta koji podrazumeva transport vode. U kom smeru će se transport odvijati zavisi od koncentracije vode u ćeliji i u spoljnoj sredini. Voda u ćeliju ulazi ako je koncentracija vode u ćeliji manja nego u spoljnoj sredini. Voda izlazi iz ćelije ako je koncentracija vode u ćeliji veća nego u spoljnoj sredini. Ako su uslovi za život bakterija povoljni, transport vode se odvija prema potrebama i ne dolazi do nakupljanja ili nedostatka vode u ćeliji.

Međutim, suša, prevelika vlaga i povećana koncentracija jona u sredini gde bakterije žive, dovodi do narušavanja transporta vode između ćelije i spoljne sredine. To se najbolje vidi na primeru prikazanom na slici 23.

Ako je u rastvoru veća koncentracija jona nego u ćeliji (hipertoničan rastvor), voda izlazi iz ćelije, citoplazmina membrana se odvaja od ćelijskog zida. Ćelija se isušuje, a ova pojava zove se plazmoliza.

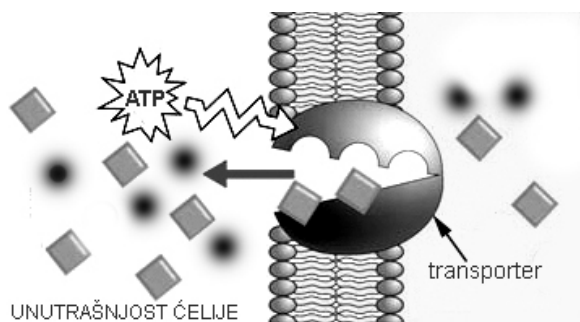
Ako je u rastvoru manja koncentracija jona nego u ćeliji (hipotoničan rastvor), voda nekontrolisano ulazi u ćeliju, ćelija bubri i može doći do pucanja ćelijskog zida. Ova pojava zove se plazmoptiza.

Povećanje koncentracije jona u sredini gde bakterije žive našlo je praktičnu primenu u čuvanju prehrambenih proizvoda od kvarenja (npr. konzervisanje voća i povrća, soljenje mesa pre sušenja).



Slika 23. Plazmoptiza i plazmoliza

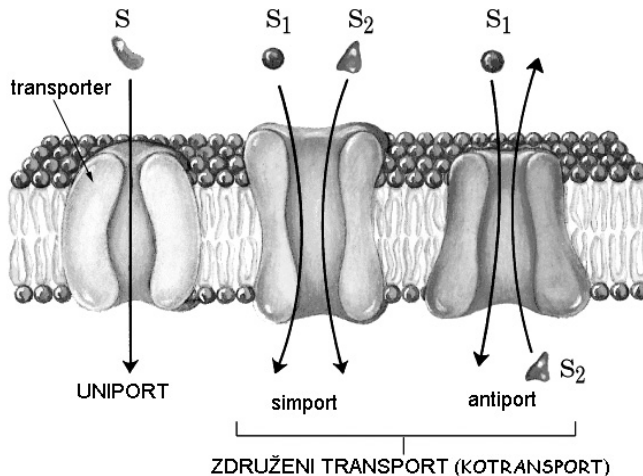
Aktivni transport materija se odvija uz utrošak energije, bez obzira na koncentraciju materije u ćeliji i spoljnoj sredini (slika 24).



Slika 24. Aktivni transport

Po pravilu, transport se odvija prema unutrašnjosti ćelije. Osim energije, transport materija omogućuju i specifični proteini-transporteri koji se nalaze u citoplazminoj membrani. Za svaku materiju ili grupu materija postoje odgovarajući transporteri. Aktivnim transportom prenose se veći molekuli i joni.

Hranljive materije mogu da se prenose pojedinačno (uniport) ili združeno (kotransport) (slika 25).



Slika 25. Uniport i združeni transport

Pojedinačno se prenose šećeri i aminokiseline. Združenim transportom obično se prenose joni, ali i šećeri zajedno s jonima. U toku združenog transporta dve ili više supstanci mogu se prenositi zajedno (simport), ili je transport jedne supstance uslovljen izlaskom druge (antiport).

Oslobađanje energije iz hranljivih materija

Usvojene materije ćelija koristi za svoje metaboličke procese. Deo usvojenih materija se koristi kao izvor energije koja se oslobađa u toku razlaganja organskih jedinjenja kao i redukovanih neorganskih jedinjenja. Energija koja se oslobodi ugrađuje se u visokomolekularna jedinjenja, najčešće u ATP (adenozin- trifosfat).

Kod bakterija, za razliku od drugih živih bića, razlaganje hranljivih materija ponekad počinje izvan ćelije. Ovo se dešava prilikom korištenja složenih organskih materija kao što su celuloza, škrob, proteini i sl. Pošto su molekuli ovih jedinjenja veliki, oni ne mogu da prođu kroz citoplazminu membranu. Bakterije zbog toga proizvode egzoćelijske enzime, koji te složene materije razlože izvan ćelije. Nastali proizvodi, npr. glukoza ili aminokiseline, se obično putem aktivnog transporta usvajaju u ćeliju i tamo se nastavlja njihovo razlaganje na jednostavnija organska jedinjenja (npr. razlaganje glukoze do pirogroždane kiseline), ili se potpuno razgrađuju (npr. razlaganje glukoze do ugljenik-dioksida i vode).

Neki proizvodi razlaganja ostaju u ćeliji i bakterija ih koristi za sintezu vlastitih gradivnih jedinica (npr. sinteza ugljenih hidrata iz pirogroždane kiseline, sinteza aminokiselina iz monokarbonskih i dikarbonskih kiselina, sinteza masnih kiselina iz acetyl-CoA).

Neki proizvodi razlaganja se izdvajaju iz ćelije (npr. voda, gasovi, organske kiseline). Te proizvode koriste drugi mikroorganizmi, životinje i biljke.

U toku razlaganja organskih jedinjenja oslobađa se hemijska energija koja se veže u jedinjenja bogata energijom, npr. adenozin-trifosfat (ATP).

Neorganske materije se usvajaju iz spoljne sredine bez prethodnih transformacija. U ćeliji se delimično transformišu i koriste za sintezu gradivnih sastojaka ćelije (npr. nitratni i amonijum joni se koriste za sintezu aminokiselina). Neke neorganske materije, npr. sumpor-vodonik, se u ćeliji oksidišu, pri čemu se takođe oslobađa hemijska energija.

Bakterije koje hemijsku energiju dobijaju iz organskih jedinjenja zovu se hemoorganotrofi, a one koje energiju dobijaju iz neorganskih jedinjenja zovu se hemolitotrofi.

Jedinjenja koja bakterije oksidišu i koriste kao izvor energije su donori elektrona i vodonika. Donori kod bakterija mogu biti različita organska i neorganska jedinjenja, dok su kod drugih živih bića donori samo organska jedinjenja.

Elektroni i vodonik se sa donora prenose na akceptore koji se pritom redukuju. Kod bakterija akceptor može biti kiseonik, organska jedinjenja i oksidisana neorganska jedinjenja, dok kod drugih živih bića akceptor je samo kiseonik. U toku oksidacije donora i redukcije akceptora oslobađa se energija.

Ako se kao akceptor elektrona i vodonika koristi kiseonik, takvi oksidoredukциони procesi zovu se aerobne respiracije. Na ovaj način energiju dobijaju aerobne bakterije. Aerobne respiracije se odvijaju na više načina. Ako se

oksidacija supstrata (glukoze) izvrši do ugljenik-dioksida i vode, takva respiracija se zove potpuna biološka oksidacija (ciklus Krebsa ili ciklus trikarbonskih kiselina). Ako se supstrat u toku oksidacije ne razgradi do kraja nego se razlaganje završi nekom organskom kiselinom, takve respiracije se zovu aerobne fermentacije.

Ako se kao akseptori koriste organska jedinjenja (aldehidi i ketoni) takvi oksidoredukциони procesi zovu se anaerobne fermentacije. Energiju na ovaj način dobijaju anaerobne bakterije. Anaerobne fermentacije odvijaju se na više načina. U zavisnosti od proizvoda koji nastaje najčešće su alkoholna, mlečna, buterna i propionska fermentacija.

Ako se kao akseptor koriste oksidisana neorganska jedinjenja azota, sumpora i dr. ($-\text{NO}_2^-$, $-\text{NO}_3^-$, $-\text{SO}_4^-$, CO_2), takvi oksidoredukциони procesi zovu se anaerobne respiracije. Na ovaj način energiju dobijaju neke anaerobne bakterije.

Hemoorganotrofne bakterije kao izvor energije najviše koriste ugljene hidrate. Osim ugljenih hidrata neke kao izvor energije koriste proteine, a neke koriste masne kiseline.

Razlaganje (oksidacija) ugljenih hidrata i oslobađanje energije u toku metabolizma bakterija odijeva se u tri faze:

- razlaganje polisaharida do monosaharida;
- razlaganje monosaharida do pirogroždane kiseline;
- transformacije pirogroždane kiseline u aerobnim i anaerobnim uslovima

U toku ovih razlaganja dobije se maksimalno 38 ATP. Razlaganjem (oksidacijom) proteina može nastati maksimalno 30 ATP, dok razlaganjem (oksidacijom) masti može nastati i do 140 ATP.

Hemolitotrofne bakterije energiju dobijaju iz neorganskih jedinjenja (amonijum jon, nitritni jon, sumporvodonič, vodonik, elementarni sumpor i dvovalentni jon gvožđa). Količina energije u ovim respiracijama je mala, nastaje svega 1-5 ATP.

Rast i razmnožavanje bakterija

Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Pod rastom ćelije podrazumeva se kvantitativno povećanje ćelijskih sastojaka pri čemu dolazi do povećanje mase i veličine ćelije. Rast pojedinačne ćelije može se pratiti sukcesivnim posmatranjem na mikroskopu.

Međutim, za dobijanje većeg broja informacija o nekom mikroorganizmu obično se prati rast populacije. Populacija nastaje kao rezultat deobe ćelije pri čemu od jedne ćelije nastaju dve, od dve četiri, od četiri osam itd. Vreme koje je potrebno da se broj ćelija udvostruči zove se generacijsko vreme, a brzina rasta se izražava brojem generacija u jedinici vremena. Bakterije se razlikuju po generacijskom vremenu (tabela 2).

Tabela 2. Generacijsko vreme nekih bakterija na temperaturi 37°C

Vrsta	Generacijsko vreme (minuti)
<i>Escherichia coli</i>	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	30
<i>Clostridium botulinum</i>	35
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	720
<i>Treponema pallidum</i>	1980

Da bi se rast i razmnožavanje bakterija mogli izučavati, potrebno ih je umnožiti na odgovarajućim hranljivim podlogama. Hranljivi sastav podloge podešava se prema zahtevima mikroorganizma. Kad se hranljivi sastojci rastvore u destilovanoj vodi dobije se tečna hranljiva podloga. Ako se tečnoj hranljivoj podlozi doda neko sredstvo za očvršćavanje (npr. agar ili želatin), dobije se čvrsta hranljiva podloga.

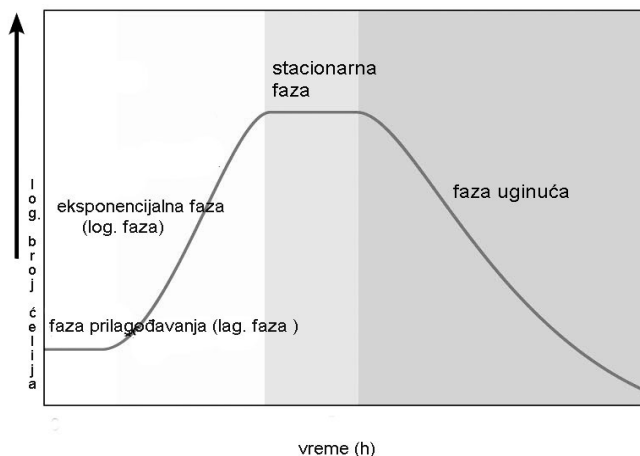
Rast bakterija u tečnim hranljivim podlogama

Zasejavanjem poznatog broja bakterija u tečnu hranljivu podlogu može se pratiti kojom se brzinom populacija uvećava, u kojem periodu je rast najintenzivniji, kad nastupa usporavanje rasta populacije i kad dolazi do uginuća najvećeg broja ćelija u populaciji. To se može izvesti tako što se u određenim vremenskim razmacima iz zasejane podloge uzimaju uzorci u kojima se određuje enzimatska aktivnost ili se spektrofotometrijski meri gustina populacije. Da bi se odredio broj bakterija uzorak se zasejava na odgovarajuću čvrstu podlogu. Nakon inkubacije broje se izrasle kolonije. Na osnovu dobijenih kvantitativnih pokazatelja, rast populacije može se prikazati grafički, odnosno krivuljom koja pokazuje kako populacija raste u određenom vremenskom periodu (slika 26).

Da bi se dobila krivulja rasta bakterija, na apscisu se nanosi vreme uzorkovanja, a na ordinatu logaritama broja ćelija. Na krivulji rasta uočava se rast populacije po fazama: faza prilagođavanja (lag faza), faza ubrzanog rasta (eksponencijalna ili log faza), faza uspornog rasta (stacionarna faza) i faza uginuća.

Početna faza (lag faza) je period rasta populacije u kojoj se bakterije adaptiraju na nove uslove života. U ovoj fazi jedan deo ćelija ugine, a one koje se prilagode datim uslovima rastu i počinju da se razmnožavaju.

U eksponencijalnoj fazi (log faza) dolazi do ubrzanog razmnožavanja bakterija po geometrijskoj progresiji pa se ova faza naziva i logaritamska faza razmnožavanja. Ćelije u ovoj fazi su mlade i biohemijski veoma aktivne. U ovoj fazi se vrše ispitivanja različitih biohemijskih i fizioloških parametara koji se koriste za detaljnije upoznavanje mikroorganizma.



Slika 26. Krivulja rasta bakterija

Stacionarna faza je period rasta populacije u kojem se ćelije i dalje dele, ali je broj novonastalih i broj izumrlih ćelija jednak. Pred kraj ove faze razmnožavanje se sve više usporava i ćelije sve više izumiru usled nepovoljnih uslova sredine. U ovoj fazi bakterije su otporne, fiziološki još uvek dosta aktivne, pa se u ovoj fazi koriste za proizvodnju antibiotika, mlečno-kiselih napitaka, i sl.

U fazi uginuća dolazi do smanjenja deobe i do povećanog uginuća ćelija jer se smanjuje količina hranjivih materija, menja se pH sredine i nagomilava se velika količina inhibitornih materija koje zaustavljaju razmnožavanje. Bez obzira na nepovoljne uslove, nikada ne uginu sve ćelije. Ponovna aktivacija mikroorganizama postiže se presejavanjem na sveže hranljive podloge.

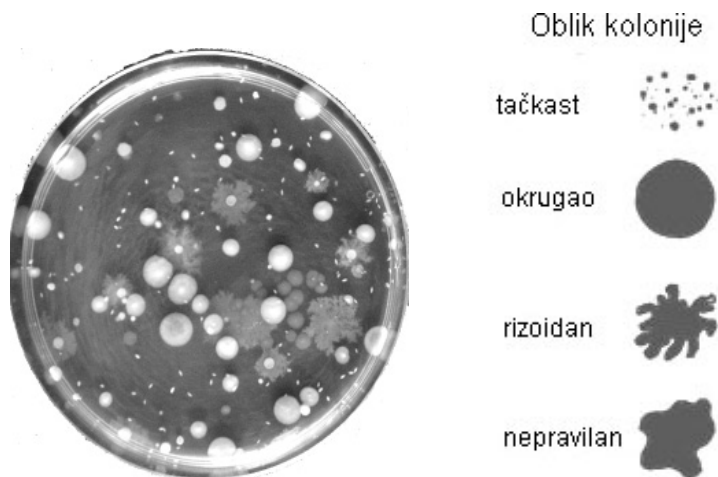
Ovakav način rasta je ograničen vremenski i ne može se koristiti za praćenje svojstava pojedinačnih ćelija pošto su u ovakvim uslovima ćelije različite starosti i aktivnosti. Za praćenje individualnih ćelija koristi se sinhroni rast. Pod ovim rastom podrazumeva se da su sve ćelije iste starosti. To se postiže uzastopnim menjanjem temperature, dodavanjem sveže hranljive podloge na početku stacionarne faze ili selekcijom ćelija koje se nalaze u istoj fazi rasta. Bakterije se u sinhronom rastu ne mogu dugo održati jer dolazi do deobe i samim tim do stvaranja ćelija različite starosti.

Održavanje rasta populacije u istoj fazi zove se kontinuelni rast. Ovakav rast se postiže stalnim dodavanjem svežih hranljivih materija uz istovremeno odvođenje produkata metabolizma, a vrši se u specijalnim aparatima koji se zovu hemostati ili fermentori. Kontinuelna kultura je stalni izvor ćelija u određenoj fazi rasta, čime je omogućena njihova primena u industriji ako su potrebne velike količine umnoženih mikroorganizama.

Rast bakterija na čvrstim hranljivim podlogama

Na čvrstim hranljivim podlogama bakterije formiraju kolonije koje predstavljaju potomstvo jedne ćelije. Kolonije se međusobno razlikuju po morfološkim osobinama: obliku, veličini, profilu, površini, ivici, strukturi, konzistenciji, boji, optičkim osobinama i položaju kolonije na hranljivoj podlozi.

Oblik kolonije može biti tačkast, okrugao, sočivast, rizoidan, nepravilan, končast i sl. (slika 27). Veličina kolonije takođe je različita, te se razlikuju sitne (1-3mm), srednje (5-7mm), krupne (do 1cm) i gigantske (preko 1 cm) kolonije.



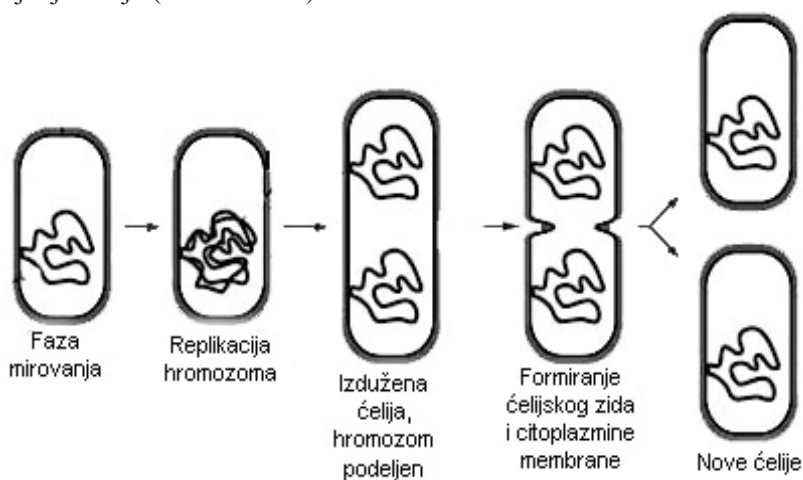
Slika 27. Razni oblici i veličine kolonija

Profil kolonije može biti ravan, udubljen, ispupčen i sl. Površina kolonije je uglavnom glatka, nabrana ili izbrazdana. Ivica (obod) kolonije može biti ravna, nazubljena, talasasta, končasta itd. Struktura kolonije može biti homogena, zrnasta i kovrdžava. Konzistencija može biti testasta, pastasta, sluzasta, kožasta i brašnasta. Kolonije mogu biti svih boja i nijansi. Položaj kolonije može biti na površini ili u dubini hranljive podloge. Određivanje morfoloških osobina kolonija predstavlja jedan od glavnih indikatora u determinaciji bakterija.

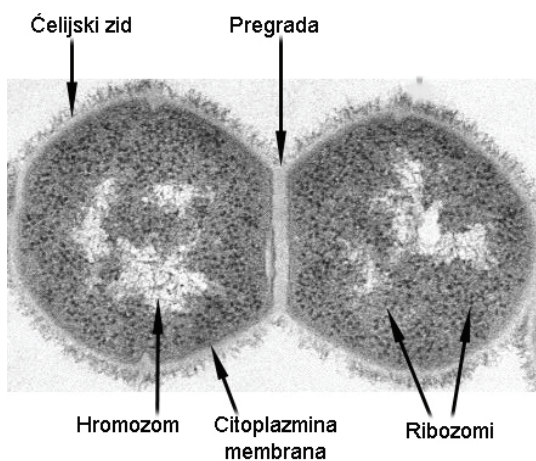
Razmnožavanje bakterija

Bakterije se razmnožavaju bespolnim putem i to uglavnom putem deobe, a samo mali broj putem pupljenja i segmentacije.

Deoba bakterija može biti poprečna i multipna. Prilikom poprečne deobe bakterijska ćelija se deli na dva jednaka dela tako da svaka ćelija pored hromozoma (DNK) dobija i druge strukturne jedinice ćelije. U procesu deobe prvo dolazi do replikacije DNK. Po jedna DNK se povuče na krajeve ćelije, ćelija se izdužuje, a potom se sa spoljne strane formiraju dve poprečne citoplazmine membrane koje ćeliju dele na dva jednaka dela. Nakon toga dolazi do obrazovanja ćelijskog zida i odvajanja ćelija (slika 28 i 29).

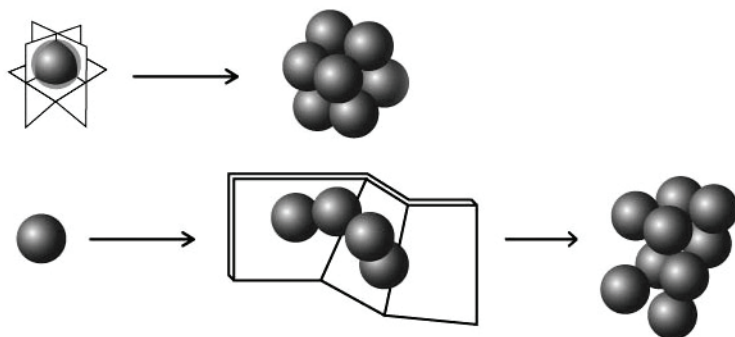


Slika 28. Šematski prikaz deobe bakterije



Slika 29. Deoba bakterije (mikroskopski preparat)

Multipnom deobom se razmnožavaju okrugle bakterije. Kod okruglih bakterija hromozom se više puta replikuje posle čega se ćelija podeli u više ravni tako da od jedne ćelije nastaju pravilne ili nepravilne skupine (slika 30). Ovaj tip deobe zastupljen je kod bakterija iz rodova *Sarcina* i *Staphylococcus*.



Slika 30. Multipna deoba okruglih bakterija

Fragmentacija je način bespolnog razmnožavanja karakterističan za aktinomicete i cianobakterije. U fragmentaciji se končaste ćelije aktinomiceta i cianobakterija izdele na veće ili manje fragmente. Svaki fragment se dalje razvija i daje nove potomke koji su istovetni kao i roditeljske ćelije.

Segmentacija je karakteristična je za aktinomicete. Prilikom segmentacije kod aktinomiceta sporonosna hifa se poprečnim pregradama raščlanjuje na okruglaste ćelije koje se potom izdvajaju i pretvaraju u zrele spore.

Genetika bakterija

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Bakterije su prokarioti (nemaju jasno izdiferencirano jedro, već je genetički materijal rasut u celoj ćeliji) i razmnožavaju se prostom deobom, tako što se ćelija prvo poveća a zatim podeli, na dve. Temelj nasleđivanja pojedinih osobina predstavlja osnovna jedinica-gen, odnosno geni, koji su smešteni na hromozomu. Bakterije poseduju jedan hromozom, (izuzetak je *Vibrio cholerae* sa dva hromozoma) a detaljno je ispitan hromozom *Escherichia coli*, koji ima molekulsku težinu od 3×10^9 i sadrži 10^6 parova baza, i prstenaste je strukture. Strukturna analiza pokazala je, da hromozom čini neprekinuta, dvolančana DNK, dužine približno 1mm. Zahvaljujući radovima *Watson*-a i *Crick*-a, koji su za svoja istraživanja dobili 1962. godine Nobelovu nagradu, poznato je da se molekula DNK sastoji iz dva komplementarna polinukleotidna lanca, zavijena jedan oko drugog u obliku spirale, u kojem su unutar spirale purinske i pirimidinske baze a van nje naizmenično postavljene skupine fosfata i dezoksiriboze. Stereohemijski odnosi su takvi da se dva lanca komplementarno povezuju vodonikovim vezama jedino između adenzina jednog lanca i timina drugog lanca, i gvanina i citozina, zbog čega su celom dužinom ovi lanci podudarni. Pre ćelijske deobe, lanci se razdvajaju i svaki služi za sintezu novog, komplementarnog lanca, čime se stvaraju identične, nove spirale. Time svaka ćelija ćerka prima jedan od molekula sa genetskom informacijom izvorne ćelije. Utvrđeno je da se DNK *E.coli* replikuje upravo na ovaj način. Bakterijski hromozom sačinjen je od oko 4000 gena, segmenata DNK, koji sadrže informaciju za specifični raspored aminokiselina pri sintezi proteina. Na taj način sled nukleotida DNK gena predstavlja šifru koja posredstvom mRNA, određuje strukturu specifičnog proteina. Informacija počinje s jednog kraja gena i predstavlja prosto očitavanje tripleta baza, što se naziva kod ili kodon, a specifičan je za jednu aminokiselinu. Pošto u DNK postoje 4 baze, postoje 64 moguća načina po kojima mogu biti uključene u triplete, čime daju više nego dovoljno kodova za određivanje specifičnosti dvadesetak aminokiselina nađenih kod većine proteina.

Veruje se da je mehanizam kojim redosled nukleotida u genu određuje sled aminokiselina u belančevini ovakav:

1. Enzim RNK polimeraza stvara pojedinačni lanac poliribonukleotida, služeći se sa DNK kao kalupom. Tako nastali lanac, naziva se mRNK (*messenger*) odnosno informaciona RNK.
2. Enzimski aktivirane aminokiseline prenose se do specifično prilagođene molekule tRNK (transportna). Svaka rRNK ima na jednom kraju triplet baza komplementaran tripletu mRNK, dok na drugom kraju nosi specifičnu aminokiselinu

3. mRNK i tRNK sastaju se na površini ribozma, kada se nađu odgovarajući komplementarni tripleti, aminokiselina koju nosi tRNK povezuje se peptidnom vezom sa aminokiselinom susedne tRNK. Ribozom se pokreće uzduž molekule mRNA, polipeptidni lanac raste, sve dok cela mRNA ne bude prevedena u odgovarajući sled aminokiselina.

Na taj način, redosled nukleotida DNK gena, predstavlja šifru koja posredstvom mRNA određuje strukturu neke belančevine. Ovi se proteini polimerizuju i stvaraju aktivne enzime i druge proteinske molekule.

U početnom periodu razvoja bakteriologije, smatralo se da bakterije imaju mogućnost neograničenih morfoloških i fizioloških promena, ali je to bila posledica rada sa tzv. "mešanim kulturama", odnosno u zavisnosti od selektivnih promena uslova za kultivaciju, predominantno se javljala jedna pa druga populacija bakterija, ili više njih. Kada je Robert Koh uveo tehniku "čistih kultura" napuštena je teorija pleomorfizma i neograničenih morfoloških varijacija, pa se otišlo u drugu krajnost, prihvaćeno je gledište o monomorfizmu, prema kome svaka bakterija ima nepromenjiv oblik i funkciju.

Međutim, danas se zna, da i kada se koristi strogo kontrolisana tehnika čistih kultura, među bakterijama postoji izvesni stepen promenljivosti. Naime, uočeno je da čestim presejavnjem patogenih bakterija može doći do promena u obliku kolonija, antigenskoj građi i virulenciji. Taj fenomen reverzibilnih varijacija smatra se adaptivnim odgovorom uslovljenim promenom faktora sredine ili one nastaju zbog naslednih promena u pojedinim ćelijama u bakterijskoj kulturi.

Generalno se promenljivost (varijabilnost) bakterija može podeliti na:

1. fenotipske varijacije ili modifikacije
2. genotipske varijacije ili mutacije

Modifikacije

Modifikacije su promene manifestnih osobina bakterija, uzrokovane aktuelnim uticajem sredine, (najčešće hemijskih faktora) a vrsta i obim tih promena ograničeni su genotipom. Fenotipske osobine jednog genotipa mogu se menjati pod uticajem pH sredine, osmotskog pritiska, kvantiteta i kvaliteta hrane, aktivnosti enzima, ali samo u granicama njihovih naslednih osobina (genotipa). Modifikacije odjednom zahvataju celokupnu populaciju i reverzibilne su, tj. promene nestaju čim nestane agens koji ih je izazvao.

Modifikacije se mogu podeliti na:

1. Morfološke varijacije, koje se mogu videti kao varijacije bakterijskih ćelija i varijacije kolonija,
2. Fiziološke varijacije, koje se mogu podeliti u biohemijske, imunološke i varijacije u virulenciji.

Morfološke varijacije

Varijacije bakterijskih ćelija

Bakterijska ćelija može promeniti veličinu, oblik, sposobnost formiranja kapsule, flagela, spora.

OH-O varijacija se viđa kod pokretnih bakterija, rodova *Proteus*, *Salmonella* i dr., koje mogu privremeno izgubiti flagele ako se kultivišu u podlogama sa subletalnim koncentracijama fenola ili hromovih soli. Kada se takve bakterije prenesu u podlogu bez ovih supstancija, ponovo stvaraju flagele. Gubitak flagela nosi sa sobom gubitak pokretljivosti a istovremeno dovodi i do promena antigenske građe, odnosno gubitka H antigena.

Sposobnost stvaranja kapsule je osobina mnogih patogenih bakterija, koja se najviše ispoljava u organizmu zaraženog domaćina ili tokom kultivacije na hranljivim podlogama koje sadrže krv ili serum. Na podlogama koje ne sadrže ove nativne belančevine, ne dolazi do produkcije kapsule. Gubitak kapsule povlači za sobom i promenu antigenske građe, odnosno gubitak K antigena i smanjenje virulencije.

Stvaranje spora je genetska osobina nekih štapićastih bakterija, koja bitno zavisi od uslova spoljašnje sredine. Sporulacija bacila antraksa znatno je usporena na 37°C, dok se na 42°C potpuno izgubi. Ako se takvi bacili ponovo kultivišu na odgovarajućoj temperaturi, ponovo će dobiti sposobnost sporulacije. Ukoliko se dugo kultivišu na 42°C mogu trajno da izgube ovu sposobnost, pa će se javiti mutacija koja će se prenositi na sledeće generacije bakterija, što je iskorišćeno u vakcinologiji za izradu atenuisanog soja ove bakterije.

Ćelijski zid poseduju sve bakterije izuzev familije *Mycoplasmatacea* i to je genetska osobina koja se može privremeno izgubiti u veštačkim uslovima, npr. ako se bakterije osetljive na penicilin uzgajaju na podlogama sa penicilinom i povećanom koncentracijom saharoze. Ove bakterije nazivaju se L-oblici, a ova se promena manifestuje time što se prvo bakterija uveća, (LB „*large bodies*”) a unutar nje se formiraju sitne, kokoidne čestice „elementarna telašca” (EB). Nakon toga zid puca, iz velikog telašca oslobađaju se elementarna telašca, i svako od njih ponovo formira LB i proces započinje ponovo. L-oblici su opisani kod *Escherichiae*, *Proteusa*, i dr.

Produkcija inducibilnih enzima kod bakterija koje ovu osobinu genetski poseduju, podrazumeva stvaranje enzima samo u prisustvu određenog supstrata. Najbolji primer je indukcija penicilinaze u prisustvu penicilina, što uslovljava rezistenciju na ovaj antibiotik.

Varijacije kolonija

Bakterijske kolonije na čvrstoj hranljivoj podlozi mogu da porastu u dve forme: u S formi („*smooth*” - gladak) okrugle, glatke, sjajne, prozirne kolonije pravilnih ivica ili u R formi („*rough*” - hrapav), hrapave, grube, mutne, nepravilnih

ivica. Kolonije u S formi, za većinu patogenih vrsta, predstavljaju uobičajenu, „normalnu” formu, dok R forma predstavlja izmenjeno stanje. Bakterije koje u S formi imaju flagele i koje su pokretne, u R formi ih izgube, bakterije koje u S formi imaju kapsulu u R formi je izgube, a istovremeno dolazi i do gubitka flagelarnih i kapsularnih antigena. Bakterije koje su virulentne u S formi, gube virulenciju u R formi. Izuzetak je *Bacillus anthracis* koji je virulentan u R formi.

S-R varijacija može biti izazvana različitim nepodesnim faktorima, kao što su dodatak fenola, antibiotika ili antiseruma u podlogu za kultivaciju.

M-N varijacija, je promena uobičajene konzistencije, pojava sluzavih, slivenih kolonija. M forma, predstavlja pojavu sluzavih, velikih kolonija što se što se viđa kod roda *Klebsiella* i pneumokoka, zbog prisustva sluzave kapsule. Ako se bakterije koje nemaju kapsulu uzgajaju u podlogama sa subletalnim dozama fenola, npr. *Salmonella*, one će rasti u M formi, dok će prenošenjem na uobičajene hranljive podloge rasti u uobičajenoj, N formi.

O-H varijacija se viđa kod pokretnih bakterija. Pokretne bakterije pokazuju „fenomen rojenja“, brzi rast u vidu koncentričnih krugova na celoj površini čvrste hranljive podloge što daje izgled tankog vela. Ovo su tzv. H-kolonije, dok u slučaju gubitka flagela rastu male, konveksne kolonije - O-kolonije. Ovaj fenomen viđa se kod *Proteusa*.

Fiziološke varijacije

U fiziološke varijacije spadaju biohemijske, metaboličke i imunološke varijacije.

Biohemijske varijacije nastaju kao posledica promena u ishrani (nutricione) ili metabolizmu bakterija. Bakterije koje nisu u stanju da sintetišu faktore rasta već se oni moraju dodavati u podlogu nazivaju se auksotrofi, a one koje su sposobne za sintezu, nazivaju se prototrofi. Ako se npr. *Salmonella typhimurium* kultiviše u podlozi bez purina, ona privremeno gubi virulenciju. Ukoliko se preseje na podlogu sa purinom opet postane virulentna.

Metaboličke varijacije ogledaju se u gubitku mogućnosti fermentacije nekog supstrata ili produkciji pigmenta.

Imunološke varijacije su promene antigenske strukture bakterija, koje mogu nastati usled morfoloških varijacija, npr. gubitka flagela ili kapsule, čime se gube flagelarni odnosno kapsularni antigeni, kao i u slučaju S-R varijacije. Takođe, kao što je i ranije rečeno, ove morfološke varijacije imaju za posledicu i gubitak ili smanjenje virulencije patogenih bakterija.

Mutacije

Bilo kakva promena u redosledu nukleotida nekog gena koja vodi promeni strukture, a time funkcije specifičnog proteina, koja je ireverzibilna i nasledna, naziva se mutacija. Ishod mutacije može biti nastanak bakterijskog soja (mutante) otpornog na hemioterapijska sredstva i bakteriofage, antigenske mutante, mutante sa povećanom ili smanjenom virulencijom, mutante sa promenjenom

biohemijskom aktivnošću, mutante koja se ispoljava morfološkim promenama kao što su gubitak flagela, kapsule ili formiranja spore.

Po svom nastanku mutacije mogu biti posledica pogrešnog vezivanja baza, insercije novog para ili delecije (gubitka) para DNK ili većeg segmenta parova baza dvolančane DNK. To dovodi do promena u redosledu aminokiselina tokom sinteze proteina, što dovodi do promene genotipa i fenotipa.

Mutacije po poreklu mogu biti spontane, kada se njihov uzrok ne zna, ili indukovane, kada je uzrok poznat, a to su najčešće fizički ili hemijski agensi koji se nazivaju mutageni. To mogu biti 5-brom-uracil, aminopurini, akridinske boje ili ultravioletno zračenje.

Podelu varijacija na modifikacije i mutacije praktično je teško razlučiti, jer npr. gubitak flagela može biti rezultat i modifikacije i mutacije. Osnovna razlika je u tome što modifikacije odjednom zahvataju sve ćelije, dok mutacije zahvataju samo poneku i što su varijacije uzrokovane modifikacijom vidljive odmah, dok je efekat mutacija vidljiv tek nakon znatnog broja generacija i dugotrajnijeg prenosa izmenjenog genetičkog materijala u novostvorene ćelije.

Prenošenje gena

Geni se mogu prenositi iz jedne u drugu bakteriju iste ili različite vrste, kao i između bakterija i bakterijskih virusa-bakteriofaga.

Ćelija koja daje gene naziva se davalac (donor) a ćelija koja prima, primalac (recipijent). Posledica prenošenja gena je rekombinacija hromozoma ćelije recipijenta. Pri prenošenju samo deo genetičkog materijala se prenosi i ugradi u ćeliju primaoca te se ne obrazuje pravi zigot već merozigot, koji je sastavljen iz dva dela: kompletnog genoma ćelije primaoca (endogenot) i dela genoma ćelije davaoca (egzogenot). Sudbina egzogenota u ćeliji primaocu može biti različita. Ako je redosled baza egzogenota homologan sa jednim segmentom DNK recipijenta, dolazi do njihovog spajanja i rekombinacije hromozoma, što se naziva integracija. Egzogenot se može razgraditi što se označava kao restrikcija. Egzogenot može raspolagati genetičkim elementima za sopstvenu replikaciju, pa će se replikovati, a merozigot će davati potomstvo delimično haploidnih ćelija. Ako egzogenot ne poseduje elemente za sopstvenu replikaciju, ostaće u ćeliji, a od takvog zigota nastajće samo jedna, parcijalno haploidna ćelija. Ovaj fenomen naziva se abortivno prenošenje.

Genetska rekombinacija nastaje na tri načina: transformacijom, konjugacijom i transdukcijom.

Transformacija

Ovaj mehanizam prenošenja genetičkog materijala opisao je *Griffith* još 1928. godine. U svom ogledu ubrizgao je jednom mišu žive ćelije *Streptococcus pneumoniae* tip 1, koje nisu posedovale kapsulu pa su zbog toga bile avirulentne i istovremeno mrtve ćelije soja sa kapsulom koje su virulentne, *Streptococcus pneumoniae* tip 2. Posle nekog vremena miš je oboleo, a iz krvi su izolovane žive, virulentne bakterije. U ogledu je došlo do prenosa virulencije sa mrtvog na

živi soj bakterija, odnosno odnosno dobijen je virulentan, živi soj sa kapsulom. Ovaj proces nazvan je transformacija, a u njemu je došlo do prenošenja malog, rastvorljivog dela DNK ćelije donora u ćeliju primaoca. Ovaj se fenomen viđa u *in vitro* uslovima kod srodnih bakterijskih vrsta, jer da bi došlo do rekombinacije, mora postojati specifičan i homologan redosled nukleotida, odnosno ćelija primalac mora biti sposobna da primi delić DNK donora. Takve ćelije nazivaju se kompetentne ćelije. U ovom procesu jedan lanac DNK donora se integriše s odgovarajućim segmentom komplementarnog lanca DNK recipijenta a drugi lanac biva razgrađen. Kada se ćelija sa rekombinovanim hromozom подели, svaka ćelija ćerka ima rekombinovani hromozom.

Konjugacija

Ovaj fenomen rekombinacije gena opisali su *Lederberg* i *Tatum*, 1946. godine. Konjugaciju determiniše jedan plazmid, F-plazmid, koji može biti inkorporiran u hromozom bakterije (ćelije koje imaju inkorporiran F plazmid unutar hromozoma nazivaju se Hfr ćelije-*high frequency of recombination*), ili je smešten ekstrahromozomski. Ćelija koja ga poseduje naziva se F⁺ ćelija a ona koja ga nema F⁻. F plazmid je građen od dvolančane DNK u vidu prstena i u njemu se nalazi oko 20 gena. Ovi geni određuju produkciju proteina koji služi za formiranje F ili seks pila (fimbrija) i mogućnost sopstvenog prenošenja u F- ćeliju. Ovi pili su malobrojni, obično jedan, najviše 5-6. Pilus je dugačka cevčica izgrađena od proteina, F pilina. On služi kao kanalić za prolaz dela genetičkog materijala nakon adherencije za F-ćeliju. Odmah po pripajanju, odvoji se jedan lanac DNK F plazmida i preko ovog kanalića dospeva u F- ćeliju. U ćeliji donoru preostali lanac, i u ćeliji recipijentu primljeni lanac, bivaju resintetizovani, odnosno nakon replikacije, bivaju povezani enzimom (ligaza) i obrazuju prstenasti oblik. Rezultat konjugacije je stvaranje dve F⁺ ćelije.

Transdukcija

Ovo je mehanizam prenošenja genetičkog materijala pomoću bakterijskih virusa-bakteriofaga. Oni prenose fragmente hromozomske DNK u ćeliju primaoca koja mora biti osetljiva na naj fag. Mehanizam prenosa opisali su *Zinder* i *Lederberg*, 1952. godine.

Bakteriofagi (fagi) su virusi koji parazitiraju u bakterijskim ćelijama, a najbolje je proučen koli-fag, koji parazitira kod *Escherichia coli*. Glava ovog virusa je heksagonalnog izgleda, izgrađena je od dugačke dvolančane DNK i obavijena proteinskim omotačem. Na nju se nastavlja jedna cevčica obavijena elastičnim kontraktilnim omotačem koja se završava bazalnom pločom na koju su pričvršćene repne fibrile. Proteini faga imaju antigenske osobine i dovode do stvaranja antitela. Kao i drugi virusi, i bakteriofagi su striktni intracelularni paraziti. Po načinu razmnožavanja dele se na virulentne fage, koji se u ćeliji razmnože a zatim je liziraju i oslobode se, i umerene fage, koji se u ćeliji razmnože, ali je ne uništavaju, već se integrišu u hromozom kao profagi. Genetički materijal bakterija može se prenositi profagima procesom transdukcije, na nekoliko načina.

Opšta (nespecifična) transdukcija naziva se tako jer postoji jednaka verovatnoća da se bilo koji gen prenese pomoću profaga u ćeliju primaoca. Kad se u inficiranoj ćeliji raspadne DNK, omotač glave faga sintetizuje se oko bilo kog dela DNK ćelije donora. Kada ovakav fag inficira drugu ćeliju, on se u njoj ne razmnožava niti je lizira, već se inkorporira u genom tako da dolazi do rekombinacije hromozoma recipijenta.

Ograničena (specifična) transdukcija nastaje kada se profag odeli od hromozoma ćelije pri čemu otkine i mali deo hromozoma donora. Kada se takav fag prenese u drugu ćeliju on se u njoj ne razmnožava, niti se iz nje može osloboditi. Rezultat će biti nova ćelija sa fagom i delićem DNK predhodne ćelije, što će recipijentu dati neke nove osobine, koje će se dalje prenositi na sledeće generacije. Ovo se viđa kod λ faga, koji se insertuje u bakterijski hromozom između gena koji određuju razgradnju galaktoze i sintezu biotina, zbog čega se ove osobine prenose na nove ćelije.

Aborivna transdukcija viđa se u slučaju da se otkinuti deo hromozomske DNK koji se unese fagom u novu ćeliju, ne integriše sa njenim hromozomom već u citoplazmi ostaje kao egzogenot. On se ne može replikovati, ali njegovi geni determinišu nove fenotipske osobine. Pri deljenju takve ćelije, egzogenot se nalazi samo u jednoj ćeliji ćerki, i samo je ta jedna ćelija parcijalno diploidna do sledećeg deljenja.

Praktična upotreba faga u medicini ogleda se najčešće u fagotipizaciji sojeva *Staphylococcus aureus*, *Shigella*, *Pseudomonas* i dr. što se radi u epidemiološkim studijama radi utvrđivanja izvora i rezervoara zaraze.

Genetički inženjering

Pod ovim se pojmom podrazumeva veštačka izolacija fragmenata DNK jedne vrste i unošenje *in vitro* u DNK neke druge vrste, pri čemu ćelija recipijent dobija nove osobine. Za tu svrhu se najčešće koriste plazmidi. Pomoću enzima endonukleaze iz plazmida se izoluju dve linearne molekule DNK i fragment DNK neke bakterije, a potom se pomoću DNK-ligaze komplementarno ovi delovi povezuju. Tako se dobije plazmid koji ima jedan lanac sopstvene DNK i jedan lanac fragmenta DNK, npr. *Shigellae* otporne na tetracikline. Taj se plazmid pomoću transformacije unosi u *Escherichia coli* osetljivu na tetracikline, tako da se tokom binarne deobe dobija klon otporan na tetracikline.

Genetski inženjering može doneti ogromne koristi čovečanstvu, u medicini, poljoprivredi, prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Bakterije se danas koriste u biotehnologiji za produkciju humanih hormona, insulina, somatotropina, interferona ili faktora nekroze tumora, koji se koriste u terapijske svrhe. Genetskom rekombinacijom dobijene su bakterije koje degradiraju naftu, pa se time značajno doprinosi očuvanju životne sredine. Transgenetskom manipulacijom mogu se dobiti biljke otporne na herbicide. Savremene vakcine se danas dobijaju upravo ugradnjom dela genoma nekog uzročnika u genom *E. coli*, koja služi za proizvodnju imunogenog dela vakcine.

Uticaj ekoloških faktora na rasprostranjenost bakterija

Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Ekologija bakterija je nauka koja izučava uticaj faktora spoljne sredine (ekoloških faktora) na rast i razviće bakterija, kao i načine njihovog prilagođavanja uticajima sredine u kojoj žive. Delovanje ekoloških faktora može biti direktno (ako direktno utiču na mikroorganizam) i indirektno (ako menjaju sredinu, koja zatim utiče na mikroorganizam). Za razliku od drugih živih organizama, bakterije su direktno podložne uticaju ekoloških faktora i male su im mogućnosti da te faktore menjaju. Takođe, za razliku od drugih živih bića, bakterije imaju veliku sposobnost prilagođavanja na uslove spoljne sredine. Ta sposobnost i mala veličina ćelije omogućavaju im veoma široku rasprostranjenost i preživljavanje u najnepovoljnijim uslovima.

Ekološki faktori se dele na abiotičke i biotičke. Abiotički faktori potiču od nežive prirode i čine ih voda, toplota, kiseonik, reakcija sredine, svetlost, osmotski pritisak, hidrostatički pritisak, hemijski agensi i dr. Biotički faktori potiču od živih organizama i podrazumevaju njihove međusobne uticaje.

Abiotički faktori

Voda

Voda je ekološki faktor koji neposredno utiče na život bakterija. Voda im omogućava kretanje, pronalaženje hranljivih materija i izbegavanje antagonista.

Bakterijska ćelija sadrži od 10 do 90% vode. Odvijanje svih biohemijskih reakcija vrši se uz prisustvo vode. Voda u ćeliji je izvor vodonikovih (H^+) i hidroksidnih (OH^-) jona, te održava osmotski pritisak kao i fizičko-hemijsko stanje citoplazme. Voda je bitna i za usvajanje hranljivih materija pošto bakterije mogu da usvajaju mineralne i organske materije samo ako su prethodno rastvorene u vodi. Proizvodi metabolizma bakterija, koje ćelija izbacuje u spoljnu sredinu, takođe se rastvaraju u vodi i na taj način se sprečava njihovo nakupljanje i eventualno toksično delovanje.

Pored vode koja se nalazi u ćeliji, za život bakterija je važna i voda u spoljnoj sredini koja može biti slobodna i vezana. Za život bakterija važna je slobodna voda jer ovu vodu ćelija može da koristi. Preživljavanje bakterija u sredinama sa smanjenim sadržajem slobodne vode zavisi od vrste i njihove sposobnosti da stvaraju oblike za konzervaciju. Sporogene bakterije bolje preživljavaju u suvoj sredini nego asporogene. Smanjenjem sadržaja slobodne vode u spoljnoj sredini usporava se rast, razmnožavanje i enzimatska aktivnost bakterija pri čemu one mogu preći u latentno stanje – stanje anabioze. Sadržaj slobodne vode u spoljnoj sredini može se smanjiti isušivanjem (kseroanabioza) ili povećanjem sadržaja soli, šećera i sl. (osmoanabioza).

U odnosu na potrebu za slobodnom vodom, bakterije su podeljene u tri grupe: hidrofilne, mezofilne i kserofilne.

Hidrofilne bakterije za svoj rast i razvoj zahtevaju veliku količinu slobodne vode. Hidrofilne bakterije žive u slatkim i slanim vodama. Smanjenje sadržaja vode u spoljnoj sredini dovodi do anabioze pa i do njihovog uginuća.

Osmofilne filne bakterije žive u zemljištu, prehrambenim proizvodima, stočnoj hrani i sl. Za svoj rast i razvoj zahtevaju da vlažnost sredine bude oko 60%.

Kserofilne bakterije su prilagođene životu u suvim supstratima i zahtevaju male količine slobodne vode. Osmofilne bakterije u ovakvim uslovima formiraju spore i druge konzervacione oblike i na taj način preživljavaju duži vremenski period.

Toplota

Bakterije direktno zavise od temperature spoljne sredine jer nemaju sposobnost toplotne regulacije svoje ćelije. Optimalne temperature na kojima se bakterije razvijaju su veoma različite i kreću se od 0 do 75°C. Međutim, ima bakterija koje mogu da se razvijaju i na -20°C i iznad 100°C.

Prema optimalnoj temperaturi bakterije su podeljene na: psihofilne, mezofilne i termofilne.

Psihofilne bakterije žive na niskim temperaturama zahvaljujući otpornosti njihovih enzima, transportnom sistemu elektrona i mehanizmu sinteze proteina. Ćelijski zid psihofilnih bakterija sadrži veću količinu nezasićenih masnih kiselina koje ostaju tečne i na niskim temperaturama što omogućava nesmetano usvajanje hranljivih materija. Pripadaju uglavnom saprofitima mada ima i patogenih vrsta koje izazivaju oboljenja kod riba i biljaka. Psihofilne bakterije su rasprostranjene u zemljištima i vodama Arktika i Antarktika. U području kontinentalne klime psihofilne bakterije se nalaze u zemljištu viših nadmorskih visina, u hladnim izvorima i na velikim dubinama mora, jezera i reka. Ove bakterije su značajne za prehrambenu industriju jer žive u hladnjacima i uzrokuju kvarenje hrane. To su bakterije iz rodova *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* i *Lactobacillus*.

Mezofilne bakterije imaju temperaturni optimum između 20 i 40°C, minimum između 10 i 20°C i maksimum između 40 i 45°C. Za većinu bakterija koje žive u zemljištu optimalna temperatura je od 25 do 30°C, a za bakterije koje žive u unutrašnjim organima ljudi i životinja optimum je oko 37°C. U mezofilne bakterije između ostalih spada i većina patogenih vrsta značajnih za humanu i veterinarsku medicinu.

Termofilne bakterije žive na višim temperaturama. Njihov optimum je od 50 do 60°C, minimum od 40 do 45°C, a maksimum od 60 do 90°C. Za razliku od mezofila, termofili imaju termostabilne enzime i sinteza proteina odvija se na

visokim temperaturama. Masne kiseline iz njihovih membrana su rastvorljivije nego kod mezofila i imaju višu tačku ključanja.

Kiseonik

Većina bakterija za obavljanje procesa metabolizma zahteva prisustvo slobodnog kiseonika mada ima i onih za koje je slobodan kiseonik štetan. Prema potrebama za kiseonikom bakterije su podeljene na aerobne, fakultativno anaerobne, aerotolerantno anaerobne, prave (obligatno) anaerobne i mikroaerofilne.

Aerobne bakterije zahtevaju prisustvo slobodnog kiseonika koji ima ulogu krajnjeg akceptora vodonika i elektrona u procesu disanja te bez kiseonika ne mogu da žive. Aerobni bakterije žive u površinskim slojevima zemljišta, na površini vode, na nadzemnim delovima biljaka, na telu čoveka i životinja, na prehrambenim proizvodima, u vazduhu i sl.

Fakultativno anaerobne bakterije ne zahtevaju kiseonik za rast ali mogu dobro rasti u njegovom prisustvu pri čemu dišu po tipovima aerobne respiracije zahvaljujući enzimima superoksid dismutazi i katalazi. U ovu grupu spadaju predstavnici rodova *Bacillus*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* i drugi. Ove bakterije su, kao i aerobi, brojne u zemljištu, na prehrambenim proizvodima, u organima za varenje i dr.

Aerotolerantne anaerobne bakterije ignorišu kiseonik bez obzira da li je on prisutan ili nije. Energiju dobijaju u procesima anaerobnih fermentacija. U ovu grupu spadaju *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum* i dr.

Prave anaerobne bakterije ne mogu da žive u prisustvu slobodnog kiseonika. Energiju dobijaju u procesima anaerobnih fermentacija, a akceptor vodonika i elektrona im je neko organsko jedinjenje tipa aldehida ili ketona. Ovi bakterije žive u dubljim slojevima zemljišta, u organima za varenje kod životinja i ljudi, mleku i mlečnim proizvodima, mesu i mesnim prerađevinama, silaži i dr. Najpoznatiji predstavnici su bakterije iz rodova *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* i *Methanococcus*.

Mikroaerofilne bakterije za rast zahtevaju niske koncentracije kiseonika (oko 20%) U ove bakterije spadaju rodovi *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Borrelia* itd.

Reakcija sredine

U ekološke faktore koji utiču na život bakterija ubraja se i kiselost i baznost sredine. Prema optimalnoj pH reakciji sredine bakterije su podeljene na acidofilne, neutrofilne i alkalofilne.

Acidofilne bakterije najbolje rastu u sredini gde je pH~5. U ovu grupu po pravilu spada mali broj bakterija. Neke bakterije iz ove grupe zahtevaju ekstermno kiselu sredinu – npr. arhebakterija *Sulfolobus acidocaldarius*, koja živi u kiselim vrućim izvorima na pH 1-3, a neke arhebakterije dobro rastu na pH 0.

Neke bakterije u toku svog metabolizma izdvajaju kiseline pa tako zakiseljavaju sredinu u kojoj žive. Ovde spadaju bakterije mlečne fermentacije koje iz šećera proizvode mlečnu kiselinu i bakterije sirćetne fermentacije koje iz šećera ili alkohola proizvode sirćetnu kiselinu i dr. Ova osobina bakterija mlečne fermentacije našla je i praktičnu primenu u proizvodnji kiselih mlečnih napitaka, proizvodnji silaže i konzerviranju povrća, jer izdvojene kiseline sprečavaju razvoj mikroorganizama koji su osetljivi na povećanje kiselosti. Sirćetna kiselina, koja nastaje fermentacijom šećera i alkohola, a proizvod je bakterija sirćetne fermentacije, koristi se u konzervisanju povrća.

Neutrofilne bakterije najbolje rastu u sredini koja ima pH između 6,5 i 7,5. Tu spada najveći broj patogenih bakterija kao što su *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, i dr.

Akalofilne bakterije zahtevaju alkalnu sredinu, pH između 8 i 10. Tu spadaju bakterije koje razlažu ureu (ureobakterije) i proteine (amonifikatori), a od patogenih vrsta *Vibrio cholerae*. Ekstremno alkalofilne bakterije žive i na pH 10 i iznad 10, a tu spadaju *Bacillus alcalophilus* i *Microcystis aeruginosa*. Neke bakterije u toku svog metabolizma razgrađuju aminokiseline pri čemu iz ćelije izdvajaju različita jedinjenja bazne prirode. Tu spadaju vrste iz rodova *Bacillus* i *Urobacillus*. Izdvojena jedinjenja alkalizuju sredinu i sprečavaju razvoj mikroorganizama osetljivih na baznu reakciju.

Svetlost

Pod terminom "svetlost,, podrazumeva se svetlost Sunca. Sunčeva svetlost sastoji se od vidljive svetlosti, infracrvenih zraka i ultravioletnih zraka.

Vidljiva svetlost sastoji se od svetlosnih zraka talasnih dužina od 400 do 750 nm, a zbog slaganja boja od kojih se sastoji, bele je boje. Ovaj deo svetlosti apsorbuje se pomoću hlorofila i drugih pigmenata (karotenoida, biliproteina i betalaina) koji su sastavni deo biljaka, algi i nekih bakterija. Vidljiva svetlost je za neke mikroorganizme neophodna, za neke predstavlja inhibitorni faktor, a na neke ne deluje. Prema tome kako svetlost utiče na bakterije, one se dele na fotofilne, fotofobne i fotoindiferentne.

Fotofilne bakterije poseduju pigmente koji apsorbuju svetlost različitih talasnih dužina (250 - 1200 nm). U toku ovog procesa svetlosna energija se transformiše u hemijsku, uz istovremenu sintezu ugljenih hidrata iz ugljenik-dioksida i vode. U fotofilne bakterije spadaju purpurne i zelene sumporne bakterije.

Fotofobne bakterije ne poseduju pigmente. Sunčeva svetlost zaustavlja njihov rast i razviće. Zbog toga ove bakterije žive ispod površine zemljišta, na većim dubinama mora i jezera, u unutrašnjim organima životinja i u drugim sredinama gde ne dopire sunčeva svetlost.

Fotoindiferente bakterije ne zahtevaju svetlost za rast, razviće i razmnožavanje, ali im i ne smeta. One sadrže pigmente melanine koji filtriraju sunčevu svetlost te

time omogućuju ovim bakterijama da žive i na svetlosti. Melanini su crne, tamno-crvene i žute boje. Sintetišu se u ćeliji u toku oksidacije fenolnih jedinjenja. Kod nekih bakterija melanini se zadržavaju u ćelijskom zidu, a kod nekih se izdvajaju u spoljnu sredinu. U fotoindiferentne bakterije spadaju vrste iz rodova *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Azotobacter*.

Infracrveni zraci su toplotni zraci i čine oko 60% sunčane radijacije. To su zraci velikih talasnih dužina od 750 do 1500 nm i nemaju uticaj na bakterije.

Ultravioletni (UV) zraci su kratkih talasnih dužina, do 400 nm. UV zraci talasnih dužina oko 260 nm su letalni za bakterije jer sprečavaju deobu ćelije, menjaju propustljivost citoplazmine membrane, izazivaju promene na hromozomima i dovode do mutacije. Spore bakterija su otpornije na UV svetlost od vegetativnih ćelija.

Osmotski pritisak

Osmotski pritisak je pritisak koji čestice rastvorene materije vrše na polupropustljivu membranu i on zavisi od koncentracije rastvorene materije. Osmoza je prolazak vode kroz polupropustljivu membranu koja razdvaja dva rastvora različitih koncentracija. Da bi ćelija usvajala vodu putem osmoze, koncentracija rastvora u ćeliji treba da je veća od koncentracije rastvora u okolini. Koncentracija rastvora u okolini ćelije u odnosu na koncentraciju rastvora u ćeliji može biti veća (hipertoničan rastvor), jednaka (izotoničan rastvor) i manja (hipotoničan rastvor).

Ako se bakterije unesu u hipertonični rastvor, tada će voda iz ćelije izlaziti u spoljnu sredinu. To dovodi do dehidracije ćelije, odvajanja citoplazmine membrane od ćelijskog zida i skupljanja protoplazme na sredinu ćelije. Ova pojava se naziva plazmoptiza. Zbog izlaženja vode iz ćelije onemogućena je ishrana bakterija.

Ako se bakterije nađu u hipotoničnom rastvoru, tada će voda iz okoline putem osmoze ulaziti u ćeliju. Ćelija bakterije postaje sve veća dok na kraju ćelijski zid i citoplazmina membrana ne puknu i protoplazma se izlije u okolinu. Ova pojava se naziva plazmoliza. Plazmoliza i u početnim fazama deluje nepovoljno na bakteriju jer se zbog ulaska vode u ćeliju smanjuje osmotski pritisak u ćeliji i time sprečava izbacivanje štetnih produkata metabolizma iz ćelije. Ovo ukazuje na to da je za bakterije najbolje kad su koncentracije rastvora u ćeliji i van ćelije jednake ili približno jednake (izotonični rastvori).

Bakterije koje mogu da žive u rastvorima s velikim osmotskim pritiskom zovu se osmofilne. Bakterije koje podnose velike koncentracije NaCl zovu se halotolerantne. One u svojoj ćeliji povećavaju koncentraciju rastvorenih supstanci i tako sprečavaju izlazak vode iz ćelije. Halofilne bakterije su adaptirane na život

u hipertoničnim rastvorima soli u kojima većina mikroorganizama ne može da živi. Za svoj rast zahtevaju visoke koncentracije NaCl (oko 2,8 M), a ekstremno halofilne bakterije zahtevaju oko 6,2 M NaCl. Patogena vrsta koja može da raste u prisustvu povišenih koncentracija NaCl je *Staphylococcus aureus*, za čiju se izolaciju i identifikaciju koriste selektivne podloge sa 15% NaCl (Berd Parkerova, Čapmanova podloga). Osobina većine bakterija da ne podnose velike koncentracije soli i šećera iskorištena je za konzerviranje mesa, ribe, voća i povrća. Međutim, u ovakvim sredinama preživljavaju halofili i oni mogu da izazovu kvarenje proizvoda koji se konzervišu samo soljenjem.

Hidrostatski pritisak

Hidrostatski pritisak je pritisak koji vrši tečnost na određenu površinu. Bakterije koje žive u velikim morskim dubinama gde je hidrostatski pritisak i do hiljadu atmosfera zovu se barofilne. One imaju značajnu ulogu u kruženju materija u morskim dubinama. Poznato je nekoliko barofilnih bakterijskih rodova npr. *Photobacterium*, *Pyrococcus* i *Methanococcus*.

Hemijski agensi

Hemijski agensi mogu uticati na bakterije mikrobicidno (letalno) i mikrobistatično (zaustavljaju rast i razvoj). Efekat delovanja hemijskog agensa zavisi od njegovog hemijskog sastava i količine kao i od vrste i starosti bakterija.

Da bi primenjeno sredstvo bilo efikasno, treba da je rastvorljivo u vodi i lipidima, treba da u malim koncentracijama uništava bakterije za koje je namenjeno, ne sme biti toksično za ljude, ne sme biti korozivno, i treba da je duže vreme stabilno.

Mikrobicidno dejstvo hemijskih agenasa zasniva se na njihovoj sposobnosti da kod mikroorganizama izazivaju promene na ćelijskom zidu, citoplazminoj membrani ili citoplazmi.

Hemijski agensi koji izazivaju promene na ćelijskom zidu bakterija su aldehidi, deterdženti, fenoli, hlorna jedinjenja i antibiotici. Dejstvo hemijskih agenasa na ćelijski zid bakterija zasniva se na narušavanju integriteta mureina i drugih sastojaka ćelijskog zida. Gram-pozitivne bakterije su osetljivije na hemijske agense od Gram-negativnih. Gram-pozitivne bakterije na spoljnoj strani ćelijskog zida imaju samo proteine koji se koagulišu s hemijskim agensima, nakon čega dolazi do narušavanja strukture mureina. Za razliku od njih, kod Gram-negativnih bakterija, spoljna strana ćelijskog zida je izgrađena iz lipopolisaharida, lipoproteina i proteina. Tek nakon dezintegracije ovih komponenti, hemijski agens dospeva do mureina i uzrokuje njegovo razaranje. Promenom strukture, ćelijski zid postaje neselektivno propustljiv, prestaje njegova sinteza kod mladih

ćelija i dolazi do promene oblika ćelije. Kod primene manjih doza hemijskih agenasa može doći do rezistencije na te agense. U poslednje vreme pojavljuje se rezistencija mikroorganizama na antibiotike.

Hemijski agensi koji narušavaju citoplazminu membranu su alkoholi, kiseline, etilen-oksidi, fenoli, deterdženti, teški metali te jedinjenja hlora i joda. Ova sredstva denaturišu ili proteine ili lipide, usled čega na citoplazminoj membrani nastaju pukotine.

Hemijski agensi koji narušavaju citoplazmu su hlorna jedinjenja, fenoli, aldehidi, antibiotici i kvarterna amonijumova jedinjenja. Mikrobicidno dejstvo se bazira na denaturaciji proteina, enzima, DNK i RNK.

Biotički faktori

Pod biotičkim faktorima podrazumevaju se međusobni uticaji živih organizama. Za život bakterija bitni su međusobni odnosi između mikroorganizama, odnosi između bakterija i biljaka kao i odnosi između bakterija i životinja.

Odnosi između bakterija, te između bakterija i drugih mikroorganizama su grupisani u dve grupe: simbiozu i antibiozu.

Simbioza je način života u kome dve ili više vrsta mikroorganizama žive zajedno u manje ili više korisnim zajednicama. Prema stepenu korisnosti i prilagođenosti, odnosi u simbiozi su različiti: mutualizam, komensalizam i metabioza.

- **Mutualizam** je idealni tip simbioze koji se uspostavlja između dve ili više vrsta mikroorganizama i u kojem svi učesnici simbioze imaju podjednake koristi. Često se dešava da mikroorganizmi koji žive u simbiotskim zajednicama ne mogu živeti odvojeno. Jedan od simbiotskih odnosa predstavlja zajednica mlečnih bakterija i kvasaca u kefirnom zrnju.
- **Komensalizam** je zajednica između mikroorganizama u kojoj jedni članovi imaju koristi, a drugi nemaju ni koristi ni štete. Primer ovakve zajednice je odnos između aerobnih i anaerobnih mikroorganizama koji žive zajedno. Aerobni mikroorganizmi u toku disanja potroše kiseonik i tako omogućuju život anaerobima. U ovakvoj zajednici korist imaju samo anaerobi.
- **Metabioza** je vid simbioze u kome produkte metabolizma jednih mikroorganizama koriste drugi mikroorganizmi. Članovi ove zajednice ne moraju živeti zajedno već jedni stvaraju uslove za život drugih. Ovakvi odnosi između mikroorganizama su česti u organima za varenje i zemljištu. Npr. celulolitički mikroorganizmi u organima za varenje razlažu celulozu do glukoze koju potom koriste drugi mikroorganizmi i fermentišu je do organskih kiselina. Kruženje ugljenika, azota, fosfora, sumpora i drugih elemenata u zemljištu takođe je zasnovano na metabiotičkim odnosima.

- **Antibioza (antagonizam)** je takav odnos u kojem jedan mikroorganizam sprečava razvoj ili direktno uništava drugog. Postoji nekoliko tipova antagonizma: kompeticija, amensalizam, parazitizam i predatorstvo.
- Kompeticija je antagonistički odnos u kojem se mikroorganizmi bore za supstrat. Borba za hranljive materije je česta pojava između mikroorganizama, a dešava se u nepovoljnim uslovima i sredinama s nedovoljno hranljivih materija, npr. i *Salmonella* i *Escherichia* razgrađuju glukozu ali *Escherichia* mnogo intenzivnije. U ovakvim slučajevima preživljavaju mikroorganizmi koji imaju aktivniji enzimatski sistem koji im omogućava transformaciju i usvajanje inače teško razgradivih supstanci.
- **Amensalizam** je antagonistički odnos između mikroorganizama u kome jedan inhibira rast drugog preko proizvoda metabolizma - antibiotika, kiselina, baza i dr. Na primer, neke vrste gljive *Penicillium* kao i neke vrste zrakastih bakterija (aktinomiceta) proizvode antibiotike i sprečavaju rast drugih bakterija ili gljiva.
- **Parazitizam** je primer negativne interakcije u kojoj jedna vrsta mikroorganizma živi na račun druge. Endoparaziti žive unutar ćelije domaćina. Najpoznatiji endoparaziti su virusi koji žive u bakterijama (bakteriofagi). Neki paraziti samo deo životnog ciklusa provedu parazitirajući domaćina, a neki parazitiraju stalno. Fakultativni paraziti parazitiraju samo kad je to neophodno, a drugi deo životnog ciklusa žive slobodno. Bez obzira o kom tipu parazitizma se radi, mikroorganizam - parazit koristi domaćina za svoje potrebe i dovodi do njegovog postepenog uginuća. Egzoparaziti žive na površini i razlažu spoljni deo ćelije domaćina. Poznat je parazitizam bakterije *Vampirococcus* koja naseljava površinu mikroorganizma, proizvodi litičke enzime i razara ćelijski zid kako bi iskoristila unutrašnji sadržaj. Slična pojava je uočena između vampiroidnih protozoa i gljiva. Ove protozoe naseljavaju hife gljiva, pomoću enzima razaraju njihov ćelijski zid i prave otvore kroz koje izvlače ćelijski sadržaj kojim se hrane.
- **Predatorstvo** je pojava kad se jedni mikroorganizmi hrane drugim.

Primer za ovakav odnos je ishrana protozoa kvascima, bakterijama i algama. Protozoa uvuče mikroorganizam u svoju ćeliju i oko njega formira digestivnu vakuolu. U vakuoli se izdvajaju digestivni enzimi i počinje varenje. Predator (protozoa) usvoji potrebna hraniva, a nesvareni ostatak se putem kontraktilne vakuole izbacuje iz ćelije. Varenje se odvija dosta brzo i traje oko deset minuta.

Normalna flora

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Mikrofloru pojedinih delova životinjskog organizma, sačinjavaju razne bakterije prilagođene životu u pojedinim delovima životinjskog organizma. Zbog toga su koža, sluznica digestivnog, respiratornog i urogenitalnog trakta i konjuktiva stalno naseljeni mikroorganizmima, koji se nazivaju stalna ili normalna flora.

Mikroflora kože je vrlo obilna i na njoj se mogu naći brojne vrste streptokoka, stafilokoka, difteroidi i dr. Međutim, kroz nepovređenu kožu ne mogu da prodru u organizam domaćina a zbog lučenja znojnih i lojnih žlezda kao i lizozima, stvaraju se nepovoljni uslovi za njihovo razmnožavanje. Samo u slučaju proboja ovog nespecifičnog imuniteta, doći će do pojave lokalnih infekcija kože.

Stalnu mikrofloru usta sačinjavaju streptokoki, spirohete, difteroidi i dr. Iako sluzokoža usne duplje pruža povoljne uslove za razvoj bakterija, naročito u prostoru između zuba, zbog stalnog ispiranja pljuvačkom i dejstva lizozima, ne dolazi do patogenog dejstva ovih bakterija.

Želudac zbog kiselosti ne predstavlja povoljnu sredinu za opstanak bakterija. Međutim, stepen kiselosti nije stalan, niti je isti kod svih vrsta životinja, tako da se u želucu mogu naći mlečno-kiselinske bakterije, a kod herbivora bakterije koje razlažu celulozu.

Burag preživara predstavlja jedinstven ekosistem i primer je simbioze između mikroorganizama i domaćina. Među vrstama koje razlažu celulozu nalaze se brojni anaerobi iz rodova *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminicoccus* i dr., kao i vrste *Methanococcus* koje stvaraju metan.

U tankom crevu se može naći *Enterococcus*.

U debelom crevu nalazi se mnogobrojna mikroflora. Digestivni trakt novorođenih životinja po rođenju je sterilan, a prvih dana naseljava ga mikroflora spoljašnje sredine i mleka. Preovladavaju mlečno-kiselinske bakterije (*Lactobacillus*, *Streptococcus*), a ubrzo i *Escherichia coli*, klostridije, enterokoki, koliformne bakterije, *Proteus* itd. Ova crevna flora ima veliki značaj za organizam domaćina. Koliformne bakterije sintetišu vitamine B₁, B₂, B₁₂ i K, laktobacili antagonističkim delovanjem sprečavaju aktivnost patogenih vrsta, a u slučaju narušavanja normalne flore, dolazi do razvoja kolibaciloze ili enterotoksemija.

Respiratorni trakt naseljavaju bakterije unete vazduhom. Nazofarings sadrži streptokoke, stafilokoke, difterioide i koliformne bakterije. Većina bakterija zadržava se u nosnoj sluzokoži, a cilijarni epitel bronha sprečava ulazak u pluća, tako da su završni delovi bronhija i alveole sterilni.

Urogenitalni trakt takođe ima normalnu floru, tako da se u prednjim delovima mokraćnog kanala mogu sresti stafilokoke, koliformne bakterije i difteroidi, a u spoljašnjim delovima *Proteus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium smegmatis*.

Na konjuktivama se mogu naći stafilokoke, mikrokoke i difteroidi. Lizozim i ispiranje suzama štite od oštećenja sluznicu konjuktiva.

Normalna flora organizma nije stalna već zavisi od starosti, načina ishrane i opštih uslova u kojima se životinja uzgaja. Poremećaj normalne flore organizma, slabi imunitet životinje i ona postaje podložnija uticaju patogenih mikroorganizama i razvoju različitih bolesti.

Bakterije značajne za varenje hrane

Mirjana Jarak, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Bakterije u organima za varenje obezbeđuju životinju domaćina izvorima energije, hranljivim materijama i stimulatorima rasta. Razlaganjem složenih ugljenih hidrata i fermentacijama monosaharida stvaraju organske kiseline (propionsku, fumarnu, sirćetnu, ćilibarnu, buternu) koje životinja koristi kao izvor energije i kao supstrat za biosinteze. Npr. bakterije mlečne fermentacije u toku svog metabolizma proizvode vitamine koji se iz digestivnog trakta usvajaju u životinjske ćelije. Uginućem bakterija ostaje velika količina mikrobnog proteina koji životinja svojim enzimima razloži i tako se obezbedi potrebnim aminokiselinama. Neki mikroorganizmi kao izvor energije koriste toksične komponente iz biljaka (alkaloide, diterpene), pri čemu se sprečava toksični efekat ovih supstanci za životinju.

U organima za varenje žive brojne i raznovrsne bakterije. U mililitru tečnosti ima ih od 10^{10} do 10^{11} . Kao i drugi mikroorganizmi i bakterije se nalaze na česticama hrane, na epitelu organa za varenje i u tečnostima.

Prema izvorima ugljenika dele se na heterotrofne i autotrofne, a prema izvorima azota na aminoheterotrofne i aminoautotrofne. Sve koriste hemijsku energiju. Ponekad može doći do prelaska iz jedne grupe u drugu jer se bakterije lako adaptiraju i prelaze s jednog na drugi način ishrane. U odnosu na potrebe za kiseonikom sve su anaerobne. Njihova najvažnija uloga je što omogućuju i pomažu varenje hrane.

Heterotrofne bakterije u organima za varenje

Heterotrofne bakterije koriste organske izvore ugljenika, najčešće monosaharide. Pojedine vrste koriste organske kiseline kao što su ćilibarna, mravlja i mlečna, koje su produkti metabolizma drugih mikroorganizama. Energiju (vezanu u ATP) dobijaju u procesu fosforilacije supstrata.

U organima za varenje prisutno je oko 200 vrsta bakterija. Za varenje hrane najvažnije su *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavifaciens*, *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lactobacillus ruminis* i *Streptococcus bovis*.

Fibrobacter succinogenes je Gram-negativna štapičasta bakterija. To je najdominantnija celulolitička bakterija u organima za varenje. Razlaže celulozu do glukoze. Glukozu koristi kao supstrat za dobijanje energije u supstratnoj fosforilaciji. U toku ovoga procesa oslobađa se sirćetna, fumarna i ćilibarna kiselina. Sirćetnu kiselinu i njene soli, acetate, životinja koristi kao supstrat za oksidaciju i dobijanje energije. Fumarnu i ćilibarnu kiselinu i njihove soli životinja koristi kao supstrate rasta. Ćilibarnu kiselinu i njene soli koriste i neke bakterije koje se nalaze u organima za varenje. Na primer, *Selenomonas* i *Veillonella* iz ćilibarne stvaraju propionsku kiselinu.

Ruminococcus flavifaciens je Gram-pozitivna okrugla, asporogena celulolitička bakterija. Vrlo je aktivna u digestiji ćelijskog zida biljaka zahvaljujući jakoj celulolitičkoj i hemicelulolitičkoj aktivnosti. Iz celuloze, glukoze i ksiloze proizvodi vodonik, sirćetnu i ćilibarnu kiselinu. Životinja koristi sirćetnu kiselinu i njene soli kao supstrat za oksidaciju, a ćilibarnu kiselinu i njene soli kao supstance rasta. Vodonik koriste metanogene i homoacetogene bakterije kao redukciono sredstvo.

Megasphaera elsdenii je Gram-negativna okrugla bakterija. To je dominirajuća bakterijska vrsta u rumenu mladih životinja. Značajna je jer fermentiše glukozu do propionske kiseline. Propionsku kiselinu životinja koristi za sintezu glukoze.

Rod *Selenomonas* je Gram-negativna spiralna bakterija. Vrsta *Selenomonas ruminantium* je naročito brojna u gastrointestinalnom traktu preživara. Brojnija je ako se životinje hrane zrnastom hranom - kukuruzom i žitaricama. Fermentiše glukozu do propionske kiseline koju životinja koristi za biosinteze.

Veillonella parvula je Gram-negativna bakterija koja koristi mlečnu kiselinu i njene soli kao hranljivi supstrat iz koga proizvodi sirćetnu i propionsku kiselinu. Propionska kiselina i njene soli, propionati, su supstrat za sintezu glukoze kod životinja, a sirćetna kiselina je supstrat za oksidaciju.

Butyrivibrio fibrisolvens je Gram-negativna spiralna bakterija. Razlaže celulozu do heksoza i pentoza koje dalje fermentiše do sirćetne kiseline, buterne kiseline i vodonika. Buterna kiselina i njene soli, butirati, se usvajaju iz tečnosti rumena u epitelne ćelije creva i konvertuju u acetoacetat i β -hidroksibutirat pri čemu nastaju ketoni. Deo butirata se transformiše preko acetil CoA i Krebsovog ciklusa i uključuje se u sintezu lipida. Butirat takođe stimuliše aktivnost enzima piruvat karboksilaze koji je neophodan za glukonogenezu.

Lactobacillus ruminis je Gram-pozitivna štapićasta bakterija. Brojna je u buragu mladih životinja. Fermentiše glukozu do mlečne, buterne i sirćetne kiseline preko pentoza fosfatnog puta. Nastale kiseline i njihove soli: laktate, butirate i acetat, koristi životinja kao energetske izvore ili supstrate rasta.

Streptococcus bovis je Gram-pozitivna okrugla bakterija koja formira lance. Fermentiše glukozu do mlečne kiseline koja daje soli, laktate. Laktate koriste životinje i bakterija *Veillonella parvula* kao hranljivi supstrat za glukonogenezu. Ova bakterija takođe razlaže proteine.

Lactobacillus ruminis i *Streptococcus bovis* mogu uzrokovati povećanje kiselosti buraga ako se životinja hrani samo hranom koja sadrži lako razgradive ugljene hidrate (npr. kukuruznim zrnom). Povećana kiselost može dovesti do oboljenja životinje.

Autotrofne bakterije u organima za varenje

Autotrofne bakterije koriste ugljenik-dioksid kao izvor ugljenika. Dele se u dve grupe: metanogene bakterije (*Methanobacterium ruminantium* i *Methanosarcina barkeri*) i acetogene bakterije (*Acetomaculum ruminis* i *Ruminococcus schinkii*).

Metanogene bakterije koriste ugljenik-dioksid kao izvor ugljenika, i sirćetnu kiselinu kao izvor energije i vodonika. Vodonik, koji se u toku oksidacije oslobodi iz sirćetne kiseline, veže se za ugljenik-dioksid i nastaje metan. Metan se iz ćelije

mikroorganizma izbacuje u spoljnu sredinu, tj. u organe za varenje. Metanogene bakterije su s ekološkog aspekta štetne jer životinja podrigivanjem izbacuje metan u atmosferu. Istraživanja su pokazala da preživari učestvuju u ukupnoj produkciji metana koji odlazi u atmosferu sa 18 do 20%. Govedo izbacilo oko 50 kg metana godišnje, ovca 5-8 kg, koza oko 5 kg, dok čovek izbacilo oko 0,05 kg metana godišnje.

S aspekta konverzije hrane, metanogene bakterije su štetne jer se deo hranljivih materija transformiše u gasovite produkte.

S aspekta količine mikrobne biomase u buragu, metanogene bakterije su korisne. Naime, vodonik koji se oslobađa u fermentacionim procesima nakuplja se u buragu i crevima životinja i usporava razvoj heterotrofnih mikroorganizama. Njegovim uklanjanjem pomoću metanogenih bakterija, ovaj negativni efekat vodonika se eliminiše. Tako nastaje nova količina mikrobne biomase koja predstavlja izvor pristupačnih mikrobni proteina za životinju.

Acetogene bakterije, *Acetomaculum ruminis* i *Ruminococcus schinkii* su slične metanogenima jer koriste ugljenik-dioksid kao izvor ugljenika i vodonik za redukciju ugljenik-dioksida. Za razliku od metanogenih, acetogene bakterije redukuju ugljenik-dioksid do sirćetne kiseline.

Takođe, za razliku od metanogenih, ove bakterije su vrlo adaptabilne. Mogu rasti i kao heterotrofi, pri čemu fermentišu glukozu, a energiju dobijaju u supstratnoj fosforilaciji. U ovom procesu osim sirćetne kiseline, nastaje ugljen-dioksid, protoni vodonika (H^+) i elektroni (e^-). Ugljenik dioksid se zatim redukuje s H^+ i e^- i nastaje još jedan molekul sirćetne kiseline. Sirćetna kiselina i njene soli su važan supstrat za metabolizam preživara.

Aminoheterotrofne bakterije u organima za varenje

Aminoheterotrofne bakterije su najzastupljenije u organima za varenje karnivora (mesojeda) ali ih ima i u organima za varenje herbivora i omnivora. Kao izvor azota koriste proteine i aminokiseline, a kao izvor energije monosaharide. Da bi azot iz proteina mogle usvojiti, bakterije izdvajaju proteolitičke enzime slične tripsinu – cistein proteinazu i serin proteinazu, pomoću kojih protein razlažu na aminokiseline. Aminokiseline zatim usvajaju i koriste ih kao izvor azota. Njihovim uginućem organi za varenje se obogaćuju proteinima koje životinja koristi za svoje potrebe. Najzastupljenije aminoheterotrofne bakterije u organima za varenje su razlagači skroba (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides ruminicola*, *Selenomonas ruminantium*, *Streptococcus bovis* i *Ruminobacter (Bacteroides) amylophilus*).

Aminoautotrofne bakterije u organima za varenje

Aminoautotrofne bakterije kao izvor azota koriste neorganska jedinjenja azota, najčešće amonijak, nitrata i ureu. U organima za varenje neorganski izvor azota je uglavnom amonijak, a koriste ga celulolitičke bakterije *Fibrobacter succinogenes* (*Bacteroides succinogenes*), *Ruminococcus albus* i *Ruminococcus flavefaciens*.

Dejstvo fizičkih i hemijskih agenasa na mikroorganizme

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Za uništavanje i uklanjanje bakterija iz neke sredine koriste se postupci dezinfekcije i sterilizacije. Sterilizacija je uništavanje ili uklanjanje svih mikroorganizama, pri čemu se odstranjuju i vegetativni oblici i spore, dok se dezinfekcijom uklanjaju patogeni i uslovno patogeni mikroorganizmi. Termin bakteriostatski označava inhibiciju razmnožavanja mikroorganizama, dok termin baktericidni podrazumeva ubijanje bakterija. Uobičajeno je da se za sterilizaciju koriste fizička sredstva dok se za dezinfekciju koriste hemijska sredstva.

U mikrobiologiji, sterilizacija se odnosi na kompletnu destrukciju i eliminaciju svih mikroorganizama u ili na onome što se sterilise, pa ne postoji stepen sterilizacije, odnosno, nešto može biti, ili ne biti, sterilno. Proces sterilizacije i dezinfekcije, ne nastaje odjednom već je to postepena operacija pri kojoj je broj uništenih mikroorganizama u jedinici vremena na početku veći, a smanjuje se kako se vreme produžava.

U fizička sredstva ubrajaju se: temperatura (toplota), ultravioletno zračenje, jonizujuće zračenje i filtracija a u hemijska sredstva: kiseline, alkalije, alkoholi, deterdženti, fenoli, halogeni elementi, soli teških metala, aldehidi i gasoviti dezinficijensi.

Fizička sredstva

U odnosu na optimalnu temperaturu rasta bakterije se mogu podeliti na psihrofilne, mezofilne i termofilne, a većina patogenih mikroorganizama pripada mezofilnim bakterijama, odnosno optimalna temperatura rasta je između 18-45°C, zbog čega se najčešće kultivišu na 37°C. Stepem letalnog (smrtnog) dejstva toplote definisan je kao ona temperatura na kojoj bakterija uginu za 10 minuta. Na stepen letalnog dejstva toplote utiču sadržaj vode u mikroorganizmu (veća količina vode, lakša sterilizacija), starost ćelija (starije ćelije otpornije), prisustvo spora. Temperatura od 60-70°C, obično uništava asporogene bakterije i vegetativne oblike sporogenih bakterija. Termorezistencija spora jako se razlikuje kod različitih bakterija, ali i sojeva iste vrste. Novostvorene spore *Clostridium botulinum* najrezistentnije su, čemu doprinosi nedostatak vlage. Obično vlažna toplota od 115°C u toku 30 minuta ubija sve spore, dok je u slučaju suve toplote potrebno 160-180°C u toku jednog časa. Organske materije povećavaju termorezistenciju spora.

Suva toplota

Spaljivanje je metoda sterilizacije kojom se uništavaju npr. leševi životinja ili prostirka kod tzv. karantinskih bolesti (antraks, kuga). Žarenje je sterilizacija na plameniku kojom se sagoreva eza ili metalni instrumenti, igle, pincete. Opaljivanje je metoda sterilizacije na plameniku kojom se sterilisu rubovi staklenih epruveta, pipete ili štapići, čime se ubijaju vegetativni oblici bakterija, ne i spore. Opaljivanje se može izvesti i ako se staklarija prelije alkoholom i zapali. Toplim vazduhom sterilisu se laboratorijsko posuđe i instrumenti, staklo, metal, porculan. U tu svrhu koristi se aparat-suvi sterilizator, metalni orman sa temperaturom od 120-170°C, a dužina sterilizacije iznosi od 1-6 časova.

Vlažna toplota

Vlažna toplota ispod 100°C, služi za ubijanje vegetativnih oblika i spora aerobnih sporogenih bakterija. Pasterizacija je metod upotrebe temperature od 62°C tokom 30 minuta. Koristi se u prehrambenoj industriji, a ovim postupkom se ne uništavaju spore bakterija. Tindalizacija se koristi za dezinfekciju krvi, seruma ili drugih supstancija koje sadrže proteine, koji ne smeju koagulisati. Ovaj se postupak sprovodi tako što se supstancija stavlja prvo u vodeno kupatilo na 56°C 30 minuta a zatim u termostat na 37°C, do idućeg dana. Nakon toga postupak se još jednom ponovi. Na ovaj način uništavaju se vegetativni oblici i spore aerobnih bakterija, a ne mogu se uništiti spore anaerobnih bakterija, jer neće proklijati u aerobnim uslovima u termostatu.

Vlažna toplota iznad 100°C može se koristiti kao voda ili para. Kuvanje je metoda sterilizacije instrumenata, posuđa, rublja, u vodi koja ključa, na oko 100°C, najmanje pola sata. Na ovaj način se uništavaju vegetativni oblici svih bakterija, spore antraksa nakon 10-20 minuta, a klostridijuma posle nekoliko časova. Dodatkom alkalija ubrzava se proces sterilizacije. Kohov lonac je cilindrična metalna posuda s poklopcem, u kojoj ključa voda, a iznad vode, stavlja se rešetka i ono što treba sterilisati, najčešće laboratorijsko posuđe i instrumenti. Para koja prolazi kroz rešetku, treba da deluje najmanje 30 minuta do 1 čas, a radi uništavanja spora, sterilizacija se može ponavljati, u toku tri uzastopna dana. Autoklav je aparat u kojem se sterilise uz pomoć zasićene vodene pare, pri temperaturi od 112°C i pritisku od 1,5 at. Na ovoj temperaturi, za 90 minuta uništavaju se sve bakterije u vegetativnom obliku i spore. Na 120°C, ubija ih sve za 30 minuta, a na 134°C za 10 minuta.

Sterilizacija ultravioletnim zracima

Baktericidno dejstvo ultravioletnih zraka ogleda se u inhibiciji sinteze DNK, zbog pogrešnog vezivanja parova baza, odnosno stvaranja timinskih dimera. Ultravioletni zraci ne prodiru kroz staklo, krv, hartiju i gnoj pa se koriste za dezinfekciju prostorija, najviše operacionih sala.

Jonizujuće zračenje

X, gama i katodni zraci denaturišu bakterijsku DNK a koriste se za sterilizaciju medicinskih artikala od plastike, kao i u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji.

Filtracija

Filtarcijom se ne ubijaju mikroorganizmi, nego se oni uklanjaju iz tečnosti, koje postaju sterilne kad se propuste kroz filter odgovarajućih pora. Potiskivanje tečnosti kroz filter može se vršiti pomoću povećanog pritiska ili vakuuma (sniženog pritiska). Najpoznatiji filteri su: *Chamberlandov* (od porculana), *Barkefeldov* (od dijatomejske zemlje i azbesta), *Seitzov* (od azbesta), membranski (od celuloze). Filtracija se koristi za sterilizaciju seruma, toksina, hranljivih podloga i dr.).

Hemijska sredstva

Hemijska sredstva se najčešće nazivaju dezinfekciona sredstva, a koriste se za ubijanje mikroorganizama na predmetima, na površini kože ili sluznica. Idealan dezinficijens treba da deluje baktericidno, da nije otrovan, da ne oštećuje ono što

dezinfikuje, da je lako rastvorljiv u vodi, homogen, postojan prema temperaturi, svetlosti, vlazi, da ne boji, da nema neugodan miris, da je rukovanje lako i da je pristupačne cene.

Kiseline denaturišu belančevine, a za dezinfekciju se koriste: borna kiselina, kao 1-2% rastvor za dezinfekciju oka, sirćetna i salicilna kiselina za konzerviranje namirnica, persirćetna kiselina za dezinfekciju predmeta od gume, plastike, staklenog i porculanskog posuđa, metalnih instrumenata a uništava i spore, gljivice i viruse.

Alkalije deluju baktericidno svojim OH jonima. U praksi se za dezinfekciju prostorija, posuđa i rublja koristi 2% kaustična soda. Živi, negašeni kreč, kao krečno mleko, koristi se za dezinfekciju štala.

Alkoholi se koriste razblaženi, a antimikrobno dejstvo ima 70% etil-alkohol.

Detergenti su grupa jedinjenja koja deluje oduzimanjem jona od mikrobne ćelije, pri čemu ona istovremeno prima jon od detergenta. To dovodi do poremećaja u ćelijskoj membrani, izgubi se polupropustljivost, što omogućava ulazak dezinficijensa u ćeliju. Najbolji dezinficijensi iz ove grupe su tzv. katjonske, kvaternerne amonijumske baze. To su: bezalkonijum-hlorid, koji se kao 1% rastvor koristi za dezinfekciju ruku, kože operativnog polja, kao 0,2-10% za dezinfekciju posuđa, stolova, podova, rublja, i cetrimonijumov bromid koji se kao 1% rastvor koristi za dezinfekciju ruku, instrumenata, posuđa.

Fenoli oštećuju ćelijske ovojnice bakterija, ali su toksični i imaju jak miris, te se sve manje koriste. Karbolna kiselina kao 1% rastvor je vrlo jako dezinfekciono sredstvo. U praksi se retko koristi za dezinfekciju izmeta, gnoja. Lizol se koristio kao 5% rastvor za dezinfekciju kontaminiranih predmeta jer ubija i bacil tuberkuloze.

Halogeni elementi hlor, fluor, brom i jod imaju snažno antimikrobno dejstvo ali su većinom toksični. Hlor se u gasovitom stanju koristi za dezinfekciju pijaće vode u vodovodima. Hlorni kreč (kalcijum hipohlorit) koristi se za dezinfekciju štala i đubrišta. Jod se koristi kao jodna tinktura, odnosno alkoholni rastvor, za dezinfekciju rana i kože operativnog polja. Lugolov rastvor (mešavina 5% joda i 10% kalijum jodida) ima fungistatičko dejstvo. Jod-polivinilpirolidin je snažan nejonski detergent, koji se koristi za hirurško pranje ruku, dezinfekciju operativnog polja, rana. Vodonik peroksid se kao 3% rastvor koristi za dezinfekciju rana. Kalijum permanganat se koristi za dezinfekciju mokraćnih puteva, usne duplje, rana.

Soli teških metala, žive, srebra, bakra, danas se izuzetno retko koriste zbog svoje toksičnosti. Živa se još uvek dodaje kao konzervans u vakcine i serume, dok se soli bakra i srebro nitrat izuzetno retko koriste.

Aldehidi, najvažniji je formaldehid, čiji se 37% vodeni rastvor pod nazivom formalin nalazi u prometu. 1-2% rastvor formalina služi za dezinfekciju prostorija, a glutaraldehid, kao 2% rastvor, koristi se za dezinfekciju katetera, instrumenata, staklenog posuđa.

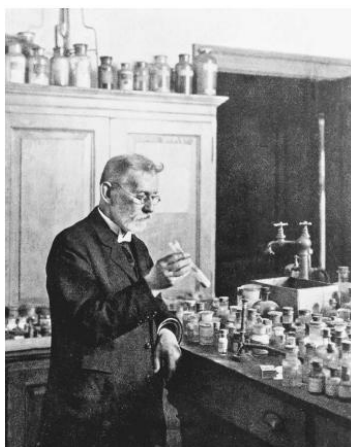
Gasoviti dezinficijensi koji se koriste u vidu pare koja deluje mikrobicidno su etilen-oksidi, koji se koriste za tzv. hladnu sterilizaciju jaja u ljusci, životnih namirnica u ambalaži, prostorija, brašna i beta-propiolakton, koji se napušta zbog svoje kancerogenosti.

Antimikrobni lekovi

*Dr Marija Kulauzov, redovni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad,
Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad*

Istorijski podaci nam svedoče o neprekidnoj borbi čoveka sa bolestima i pokušajima da ih savlada. Daleko pre otkrića mikroskopa i spoznaje sveta mikroorganizama, čovek je naslutio lekovita svojstva raznih trava, usirenog sojinog mleka, plesni (zelena plesan u Davidovim psalmima). Zapisi na egipatskim papirusima dokazuju da se mirta koristila i za lečenje rana, a ne samo u religioznim obredima. Otac medicine, Hipokrat, je 400 godina p.n.e. koristio mirtu, a staroslovenski narodi su na rane stavljali plesniv hleb. Vračevi u Peruu koristili su koru kininovog drveta za lečenje malarije; španski misionari su preneli kinin u Evropu i od XVII veka se široko koristio za suzbijanje ove bolesti. Jedinjenja žive su se u XVI v. upotrebljavala za lečenje luesa (sifilisa), ali su štetni efekti ovog lečenja bili vrlo veliki.

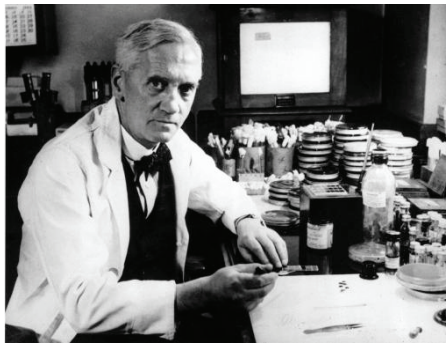
To je podstaklo nemačkog lekara *Paula Ehrlicha* da traga za "čarobnim zrnom", lekom koji će ubiti samo agens, a neće škoditi domaćinu. On uvodi princip "selektivne toksičnosti" i započinje 1910. godine eru hemioterapije na naučnoj osnovi. Za otkriće salvarzana 606, a potom i neosalvarzana i efikasnu terapiju luesa, trebalo mu je sedam godina i 50.000 eksperimenata da bi omiljeni otrov ubica arsen, tako modifikovao da pogađa samo uzročnika luesa.



Slika 31. dr Paul Erlich u svojoj laboratoriji

Ser *Aleksander Fleming* 21. septembra 1928. godine otkriva dejstvo plesni *Penicillium notatum* na kulturi stafilokoka, ekstrahuje aktivnu supstancu, naziva je *penicillin* i 13. februara 1929. godine izlaže javnosti svoje otkriće. Međutim, proći će čitavih 12 godina do prve primene ovog antibakterijskog leka u terapiji oboljenja čoveka, zahvaljujući naporima biohemičara *Chain-a*, *Florey-a* i

saradnika da iz gljivice ekstrahuju benzilpenicilin. Tako započinje "zlatno doba" antimikrobne terapije. Sledi čitav niz otkrića: *Domagk* otkriva prontosil 1935, a *S. Waksman* 1943. godine streptomycin – prvi lek za terapiju tuberkuloze i uvodi termin antibiotik za sve lekove sa antimikrobnim dejstvom. Prema literaturnim podacima od vremena otkrića *Penicillin-a G* do sada, otkriveno je skoro 4000 prirodnih i oko 30.000 polusintetskih i sintetskih antibiotika. Samo oko 100 ih je isprobano u kliničkoj praksi, a danas je na raspolaganju oko 60 različitih antimikrobnih lekova čija farmakodinamska svojstva dopuštaju da budu korišćeni u terapiji oboljenja ljudi i životinja.



Slika 32. Ser Aleksandar Fleming

Supstance koje ubijaju mikroorganizme ili sprečavaju njihovo razmnožavanje u živom organizmu nazivaju se antibiotici i hemioterapeutici ili zajedničkim imenom antimikrobni lekovi (ili hemioterapijska sredstva). Ako deluju na ćelije bakterija (baktericidno ili bakteriostatski) nazivaju se antibakterijski lekovi, i mogu se koristiti za lečenje ili prevenciju bakterijskih oboljenja ljudi i životinja.

Antibiotici su prirodni, biološki produkti različitih gljivica, dok su hemioterapeutici produkti hemijske sinteze.

Najvažnije osobine antibiotika su sledeće:

- da poseduje selektivnu toksičnost – da deluje efikasno na uzročnika infekcije, a da nema toksični efekat na ćelije domaćina. Znači, mora biti dovoljno veliki raspon u koncentraciji leka koji deluje na mikroorganizme od onih koncentracija koje su štetne za makroorganizam;
- potrebne koncentracije leka za antibakterijski efekat na mestu delovanja treba da budu postignute brzo, kao i da lek ostane dovoljno dugo u aktivnom obliku;
- spektar leka dovoljno širok da obuhvati veći broj mikroorganizama zbog mogućih mešanih infekcija;
- kompleksna struktura leka treba da bude takva da oteža bakteriji mogućnost da brzo razvije svoje mehanizme rezistencije na taj lek.

Pošto bakterijska ćelija raste i deli se, potrebni su joj brojni biomolekuli. Antibakterijski agensi se upliću u specifične procese esencijalne za rast i razmnožavanje bakterijske ćelije. Oni mogu delovati baktericidno – ubijajući ciljnu bakteriju ili inhibirati njen dalji rast i razmnožavanje i tako delovati bakteriostatski. Baktericidni antibiotici su efikasniji, što je posebno važno u terapiji infekcija koje ugrožavaju život kod slabo otpornih domaćina.

Mehanizmi delovanja antimikrobnih lekova

Antibiotici, hemioterapeutici i antiseptici se bitno razlikuju po mehanizmu delovanja. Dok antiseptici deluju fizičko-hemijski, nespecifično i agresivno na različite strukture bakterijske ćelije, antibiotici deluju na tačno određenim ciljnim mestima, delovanjem na pojedine strukture ćelije ili delovanjem na enzimske aktivnosti mikroorganizama, najčešće kao ihibitori različitih reakcija sinteze.

Antimikrobni lekovi podeljeni su na 5 osnovnih grupa na osnovu mehanizama dejstva

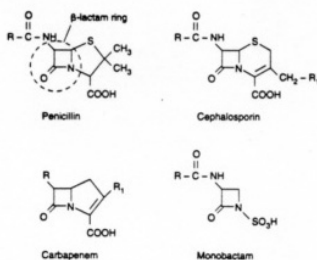
- A. Inhibicija sinteze ćelijskog zida bakterija
- B. Inhibicija funkcije citoplazmatske membrane;
- C. Inhibicija sinteze proteina;
- D. Inhibicija sinteze nukleinskih kiselina (DNK i RNK);
- E. Inhibicija metabolizma folata

Lekovi koji inhibišu sintezu ćelijskog zida bakterija

Kako se sinteza peptidoglikana ćelijskog zida bakterija odvija u tri etape, to su i lekovi koji deluju na njegovu sintezu podeljeni u sledeće grupe: beta-laktami, glikopeptidi, fosfomicin i cikloserin.

Beta laktami

U ovoj najznačajnijoj grupi antibiotika, esencijalni antibiotski efekat ima beta-laktamski prsten. Ovaj osnovni molekul beta-laktama moguće je modifikovati izmenom i supstitucijom različitim radikalima, čime se smanjuju loše osobine kao što je osetljivost na hidrolitičke enzime – beta-laktamaze, i povećava otpornost na kiselu reakciju i omogućava peroralna primena ovih lekova.



Slika 33. Šematski prikaz strukture beta laktamskih antibiotika

Mehanizam delovanja beta-laktama je inhibicija sinteze peptidoglikana u trećoj etapi – transpeptidaciji, gde beta laktami koče aktivnost enzima-transpeptidaze i ostalih ostalih aktivnih enzima koji se zovu penicilin vezujući proteini (PBPs) i sprečavanje stvaranja mrežaste strukture mureinskog sakulusa. Postoji strukturna sličnost beta-laktamskog prstena i prekursora ćelijskog zida, *D-alanil-D-alanina*, te se enzimi transpeptidaze vezuju za lek i transpeptidacija je blokirana. Većina transpeptidaza su PVP (penicilin vezujući proteini), tj. receptori za penicilin. Vezivanjem PVP prestaje inhibicija bakterijskih autolizna (čiji su PVP fiziološki inhibitori), te nastupa liza bakterija i smrt bakterijske ćelije (baktericidan efekat).

Efekat beta-laktama na bakterijsku ćeliju zavisi od otpornosti na hidrolitičko dejstvo enzima, beta-laktamaza, penetracije kroz kanaliće u ćelijskom zidu (porine) i afiniteta prema penicilin vezujućim proteinima (PVP).

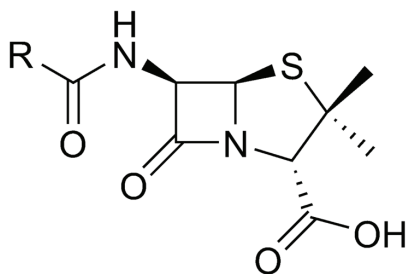
Beta-laktami imaju baktericidni efekat na bakterije u fazi razmnožavanja. Ako je efekat bakteriostatski stvaraju se različiti degenerativni oblici: L-oblici, sferoplasti i protoplasti.

U beta-laktame spadaju penicilini i cefalosporini koji se koriste u humanoj i veterinarskoj medicini, dok ostali beta-laktami – monobaktami i karbapenemi, imaju vrlo ograničenu upotrebu u veterinarskoj medicini.

Penicilini

Aktivna hemijska struktura pencilina je 6-amino penicilanska kiselina sastavljena od tiazolidinskog i beta-laktamskog prstena, koji nosi sekundarnu amino grupu i temelj je antibakterijske aktivnosti. Izdvajanjem ove aktivne grupe, omogućeno je stvaranje i proizvodnja polusintetskih penicilina, koji su prevazišli nedostatke penicilina G (relativnu nestabilnost u želucu pod dejstvom kiseline, inaktivaciju beta-laktamazom (penicilinazom), relativnu neaktivnost prema Gram negativnim bakterijama).

Kombinacija penicilina sa aminoglikozidima ima sinergistički efekat.



Slika 34. Struktura penicilina

Prirodni penicilini

Osnovni penicilin je penicilin G (benzyl penicillin) ekstrahovan iz gljive *Penicillium chrisogenum*, koji se primenjuje parenteralno i penicilin V (phenoxymethyl penicillin) koji se primenjuje oralno. Antibakterijski spektar delovanja je ograničen na Gram-pozitivne i Gram-negativne koke i Gram-pozitivne bacile.

Penicilin G je aktivan pretežno protiv Gram-pozitivnih bakterija i široko se primenjuje u veterinarskoj medicini, naročito kod krupne stoke. Kod preživara se koristi za lečenje klostridijalnih infekcija, oboljenja izazvanih korinebakterijama, kod pneumonije uzrokovane pasterelama i listerijama (može se primeniti i intramamarno i intrauterino). Lek je izbora kod erizipela svinja i *Streptococcus suis* infekcije.

Infekcija konja sa beta hemolitičnim streptokokama i *Clostridium tetani* efikasno se leče penicilinom kao i nekrotični enteritis i erizipel. Dobro deluje kod nekrotičnog enteritisa živine.

Prirodni penicilini su bez efekta na *Staphylococcus aureus* (zbog osetljivosti na litičko dejstvo penicilinaza) i na Gram-negativne bacile.

Polusintetski penicilini

Dobijaju se iz prirodnih penicilina, modifikacijom 6-amino-penicilanske kiseline, tretiranjem kiselinama ili enzimima, u cilju povećanja otpornosti na penicilinaze i proširenja spektra delovanja, a mogu se primeniti peroralno. Osim na Gram-pozitivne bakterije, deluju i na Gram negativne, npr. *Haemophilus*, *E. coli*, *Salmonella*.

Ovde spadaju tzv. penicilinaza rezistentni ili antistafilokokni penicilini, meticilin (methycillin) i kloksacilin (cloxacillin).

Meticilin i kloksacilin

Ovi su penicilini dizajnirani za penicilinaza produkujući *Staphylococcus aureus* i koriste se u lečenju mastitisa krava. Danas su dosta česti meticilin rezistentni stafilokoki (MRSA), što predstavlja značajan terapijski problem, i u humanoj i veterinarskoj medicini.

Penicilini širokog spektra

Aminobenzilpenicilini

U ovu grupu penicilina spadaju ampicilin i amoksicilin čiji je spektar dejstva proširen na Gram-negativne bacile (*E. coli*, *Proteus*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Shigella*) ali su osetljivi na hidrolitičko dejstvo beta-laktamaza.

Primenjuju se kod goveda, konja, svinja, ovaca, pasa, mačaka i živine, za infekcije digestivnog, respiratornog, urogenitalnog trakta, infekcije kože i septikemije.

Daju se u obliku praška, tablete, masti, intramuskularno, intramamarno. Prisustvo hrane smanjuje resorpciju ampicilina, dok se amoksicilin bolje resorbuje i prisustvo hrane ne umanjuje resorpciju.

Amoksicilin, u kombinaciji sa klavulanskom kiselinom, (inhibitorom beta-laktamaza) daje se u terapiji infekcija stafilokokama, *E. coli* i *H. influenzae*. Neželjeni efekti su pojava alergije, a kod malih herbivora (zamorac, kunić, hrčak) mogu dovesti do teškog enterokolitisa.

Karboksipenicilini

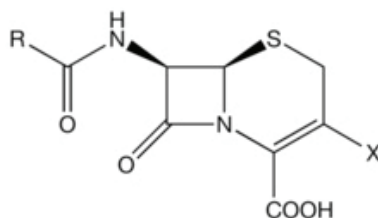
Ova grupa penicilina (karbenicilin, temocilin, tikarcilin) namenjeni su za lečenje infekcija izazvanih sa *Pseudomonas*-om.

Acilureido penicilini

Najvažniji predstavnik je piperacilin (piperacillin) koji je specijalno dizajniran za *Pseudomonas*, ali deluje i na druge Gram-negativne mikroorganizme.

Cefalosporini

Cefalosporini su beta-laktamski antibiotici vrlo slični delovanju penicilina. Prvi je dobijen ekstrakcijom iz gljivice *Cephalosporium acremonium* iz otpadnih voda na Sardiniji. Grupa polusintetskih cefalosporina izvedena je iz cefalosporina C, čiju osnovnu strukturu čini 7-aminocefalosporanska kiselina (beta-laktamski+dihidrotiazinski prsten).



Slika 35. Bazična struktura cefalosporina

Struktura cefalosporina pogodna je za različite modifikacije, te su spravljene 4 generacije ovih lekova. Imaju baktericidno dejstvo, nisku toksičnost i širi spektar dejstva od penicilina. Enterokoki su urođeno rezistentni na sve cefalosporine.

Prva generacija

Cefadroksil se koristi peroralno, u terapiji infekcija mekih tkiva i piodermija izazvanih stafilokokima (rezistentnim na penicilin) kao i za respiratorne i urinarne infekcije izazvane Gram-negativnim bacilima. Ne deluje na *Pseudomonas aeruginosa*. Za parenteralnu upotrebu koristi se cefalotin, koji dobro deluje na Gram-pozitivne bakterije, umerno na Gram-negativne koje stvaraju beta-laktamazu i ne deluje na *Pseudomonas aeruginosa*.

Druga generacija

U drugoj generaciji cefalosporina nalaze se antibiotici za parenteralnu upotrebu, (cefotaksim, ceftiofur, cefuroksim, ceftriakson) koji su jako aktivni protiv enterobakterija. Cefahlor ima dodatnu aktivnost protiv Gram-negativnih bakterija iz roda *Haemophilus* kao i cefamicini, npr. cefoksitin i cefotetan, koji su efikasani za infekcije izazvane anaerobnim bakterijama.

Treća generacija

Treća generacija cefalosporina ima širok spektar aktivnosti i odlično dejstvo na razne patogene mikroorganizme, pa se daje za teške infekcije kože, kostiju i mekih tkiva, urinarne i respiratorne infekcije. Dobro prolaze hematoencefalnu barijeru i postižu visoke koncentracije u likvoru (bakterijski meningitis) a ne daju se za anaerobne infekcije.

Ceftiofur služi samo za upotrebu u veterinarskoj medicini. Primenjuje se kod respiratornih bolesti goveda, izazvanih sa *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* i *Histophilus somni*. Indikovani su kod respiratornih bolesti svinja izazvanih sa *Acetobacillus pleuropneumoniae*, kao i infekcije sa *Salmonella Choleraesuis* i *S. Suis*.

Kod konja se koristi za respiratorne infekcije izazvane sa *Streptococcus equi ssp. zooepidemicus*, kao i za urinarne infekcije pasa.

Kod goveda se daje intramamarno za mastitis.

Ceftiofur se može davati i za kontrolu enteritisa živine.

Četvrta generacija

Četvrta generacija cefalosporina se primarno koristi u humanoj medicini iako se cefkvinom odnedavno uvodi u veterinarsku praksu.

Glikopeptidi

Vankomicin je glikopeptidni antibiotik izolovan iz aktinomicete *Actinomyces orientalis*. Glikopeptidi deluju u toku sinteze peptidoglikanskog polimera inhibicijom dva procesa: transglikolizacije i transpeptidacije. Oni se ne vezuju za transpeptidaze kao beta-laktami, već za karboksilne delove d-alanil-d-alanina i ometaju unakrsno vezivanje i stvaranje mreže peptidoglikana. Ima baktericidan efekat u fazi deobe bakterija. Ne deluje na Gram-negativne bakterije.

U kliničkoj praksi indikovani su za infekcije izazvane sa MRSA. Takođe, daje se oralno kod pseudomembranoznog kolitisa udruženog sa *Clostridium difficile* (sojevi koji luče toksine A i B).

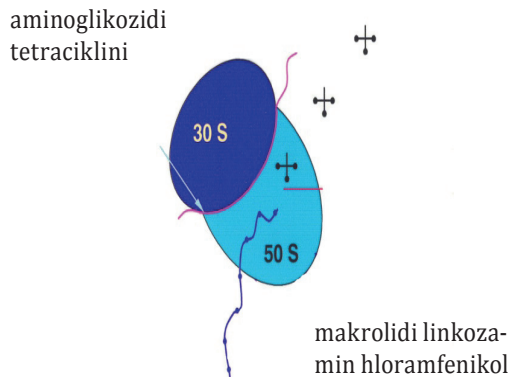
Bacitracin je polipeptidni antibiotik, izolovan iz *Bacillus subtilis*-a, 1943. godine. Baktericidni efekat ima na Gram-pozitivne bakterije. Sprečava rast ćelijskog zida inhibišući otpuštanje muropeptidnih podjedinica peptidoglikana iz molekula masti koje iznose podjedinice na spoljašnju stranu ćelijske membrane.

Takođe, inhibiše i sintezu teihoične kiseline koja zahteva iste nosače. Pogodan je samo za lokalnu primenu u vidu kapi ili masti, jer je izrazito nefrotoksičan. Dodaje se kao aditiv u hranu za svinje i živinu.

Lekovi koji inhibišu sintezu proteina

Delovanje ove grupe antimikrobnih lekova ograničeno je na ribosome, i to na 30S i 50S podjedinice, čime se sprečava sinteza proteina bakterijske ćelije. Vezivanjem za ribosome inhibišu translaciju genetskih informacija i sintezu proteina.

U grupu inhibitora ribozomskih podjedinica 30S spadaju aminoglikozidi, dok u drugu grupu, inhibitora ribozomskih podjedinica 50S, spadaju: makrolidi, linkozamini i hloramfenikol.



Slika 36. Delovanje antimikrobnih lekova na sintezu proteina

Aminoglikozidi

Aminoglikozidi inhibišu sintezu proteina neophodnih za život, rast i deobu bakterija. Unose se aktivnim transportom, zavisnim od kiseonika u bakterijsku ćeliju i ireverzibilno vezuju za receptore na 30S podjedinici ribozoma. Dolazi do prekida translacije informacija sa mRNK na ribozomalnu RNK, što dovodi do pogrešnog čitanja gena i sinteze defektnih proteina. Pogrešno sintetisani, tj. nefunkcionalni proteini ulaze u sastav citoplazmatske membrane povećavajući njenu permeabilnost. Efekat je baktericidan. Aminoglikozidi, uključujući streptomycin, gentamicin, amikacin, kanamicin, neomicin, tobramicin i apramicin su derivati dobijeni iz gljivica *Streptomyces* i *Micromonospora sp.* Aminoglikozidi ne deluju na anaerobne bakterije. Kombinacija aminoglikozida i beta-laktama ima sinergistički efekat.

Streptomycin, je prvi lek iz ove grupe, a izolovao ga je biohemičar i mikrobiolog, *Selman Abraham Waksman*, 1944. godine iz gljivice *Streptomyces griseus*, a koji je i danas antituberkulotik I reda iako je ototoksičan i nefrotoksičan. Deluje na većinu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija i mikoplazme. Teško se resorbije iz digestivnog trakta. Za upotrebu u veterini koristi se kao bakteriostatik, dok u većim dozama ima baktericidni efekat.

Gentamicin deluje na većinu Gram-negativnih bakterija, daje se parenteralno ili lokalno u vidu masti.

Spektinomycin je antibiotik dobijen ekstrakcijom iz gljivice *Streptomyces spectabilis* i jedini je aminociklitolni antibiotik koji se koristi u veterinarskoj medicini. Vezuje se za 30S podjedinice ribozoma, ali ne dovodi do pogrešnog čitanja mRNK. U većim dozama deluje baktericidno na brojne patogene bakterije, pa se koristi za lečenje respiratornih bolesti goveda, neonatalne kolibaciloze svinja, ptičije salmoneloze i mikoplazmoze, kao i kokošije kolere. U odnosu na aminoglikozide koji su potencijalno nefrotoksični i ototoksični, spektinomycin je relativno netoksičan. Spektinomycin se koristi kao stimulans rasta, a dodaje se u hranu za životinje.



Slika 37. Selman Abraham Waksman

Tetraciklini

Tetraciklini (hlortetraciklin, oksitetraciklin, tetraciklin, doksiciklin, minociklin) su bakteriostatski antibiotici koji se nakon ulaska u bakterijsku ćeliju ireverzibilno vezuju za receptore na 30S podjedinici ribozoma i blokiraju pristup transportne RNK kompleksu ribozom-ribozomalna RNK. Time je sprečeno dodavanje amino-kiselina u rastući peptidni lanac i sinteza proteina.

Najvažniji predstavnici su oksitetraciklin i doksiciklin čiji je spektar delovanja vrlo širok. Deluju na aerobne i anaerobne Gram-pozitivne i Gram-negativne

bakterije, mikoplazme, hlamidije i rikecije. Koriste se za infekcije koje prenose krpelji i bordetelozu. Široko se koriste u lečenju kod malih životinja, a često se nalaze kao dodaci hrani za životinje.

Tetraciklini se daju *per os*, parenteralno, intramamarno i intrauterino. U kombinaciji sa beta-laktamima imaju antagonistički efekat.

Primena kod preživala može dovesti do dijareje, a kod konja mogu izazvati težak enteritis. Tetraciklini se vezuju za kalcijum u kostima i zubima dovodeći do prebojavanja zuba (žuto-mrko), te su kontraindikovani u graviditetu, posebno pasa i mačaka.

Hloramfenikol je bakteriostatik originalno izolovan 1947. godine iz *Streptomyces venezuelae*, a danas se dobija sintetski iz dihlorsirćetne kiseline. Hloramfenkol inhibiše sintezu proteina (polipeptida) tako što sprečava vezivanje peptidiltransferaze za 50S podjedinicu ribozoma. Deluje bakteriostatski i ima širok spektar na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, hlamidije, rikecije i mikoplazme. Odlično prodire u sva tkiva, kroz hematoencefalnu i placentarnu barijeru. Zbog neželjenih efekata (aplastična anemija) zabranjen je za upotrebu u SAD. Najteža moguća posledica primene leka je fatalna aplazija kosne srži sa agranulocitozom. Zabranjena je primena kod životinja koje se koriste u ishrani ljudi, zbog potencijalnog toksičnog efekta i rezidua u mleku i mesu životinja. U veterinarskoj medicini koristi se samo u terapiji oboljenja pasa, mačaka i ždrebadi.

Florfenikol je sintetski tiamfenikol sa širokim spektrom dejstva i koristi se isključivo u veterinarskoj medicini. Ima dokazano dobar terapijski efekat kod infekcije goveda sa *M. haemolytica*, *P. multocida*, *Histophilus somni*. Kod svinja sa primenjuje za terapiju oboljenja koje izazivaju *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* tip 2, *Salmonella Choleraesuis*.

Makrolidi

Makrolidi se vezuju za receptore na 50S podjedinicama ribozoma, inhibirajući aminoaciltranslokaciju (tRNK) i sintezu peptidnih lanaca. Eritromicin, spiramicin, oleandomicin, tilosin i tilmikosin su najvažniji makrolidni antibiotici, derivati *Streptomyces spp.* Spektar je relativno širok, deluju na Gram-pozitivne koke, neke spirohete, hlamidije, a posebno na mikoplazme.

Eritromicin je zamena za penicilin kod alergičnih životinja. Lek je izbora za terapiju dijareje izazvane sa *Campylobacter jejuni*. Daje se u terapiji pneumonije ždrebadi izazvane sa *Rhodococcus equi*, a kod živine se koristi za prevenciju i terapiju infekcija koje izazivaju *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus paragallinarum*, *Clostridium spp* ili mikoplazme.

Spiramicin i oleandomicin se zbog selektivnog nagomilavanja u plućima primenjuju u terapiji pneumonije goveda, svinja i ovaca, izazvanih Gram-pozitivnim bakterijama i mikoplazmama.

Tylosin i tilmicosin se koriste samo u veterinarskoj medicini. Tilozin se primenjuje za kontrolu i terapiju infekcija spirohetama i mikoplazmama kod živine. Tilmikozin je polusintetski makrolid, efikasan kod respiratornih oboljenja svinja uzrokovanih sa *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* i za respiratorne infekcije sa *M. haemolytica* kod goveda. Ukoliko se ovaj lek da intramuskularno kod konja i svinja, može dovesti do letalnog ishoda.

Azitromicin i klaritromicin su makrolidima slični lekovi, uspešno primenjivani u humanoj medicini. Azitromicin se može koristiti u terapiji infekcije konja izazvane sa *Rhodococcus equi*.

Linkozamini

Klindamicin, linkomicin i pirlimicin su bakteriostatski antibiotici koji se vezuju za 50S podjedinicu ribozoma, blokirajući aktivnost peptidiltransferaze i time sintezu proteina. Ubrajaju se u antibiotike uskog spektra delovanja, jer deluju na Gram-pozitivne bakterije i mikoplazme a na Gram-negativne, vrlo slabo.

Linkomicin se koristi u terapiji dizenterije, erizipela i mikoplazmoze kod svinja. U kombinaciji sa spektinomycinom koristi se u lečenju respiratornih infekcija goveda izazvanih mikoplazmama i aktinomicetama. Lek se dobro distribuira u telesne tečnosti i sva tkiva (i koštano) bez elektivnog nagomilavanja u bilo kom organu.

Pirlimicin je specifičan za upotrebu u veterinarskoj medicini i to za stafilokokne i streptokokne infekcije. Koristi se u intramamarnim infuzijama za lečenje mastitisa krava, izazvanih sa *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Str. dysgalactiae* i *Str. uberis*.

Klindamicin je polusintetski derivat linkomicina, koji se koristi kod malih životinja za anaerobne i stafilkne infekcije mekih tkiva.

Linkozamini su toksični za ovce, konje, zečeve i laboratorijske glodare. Kod ljudi, konja i malih herbivora mogu dovesti do teškog pseudomembranoznog, enterokolitisa koji izaziva *Clostridium difficile* jer je ova bakterija rezistentna na linkozamine (u ovim slučajevima daje se metronidazol ili vankomicin).

Polusintetski pleuromutilin derivati dobijaju se iz bazidomiceta, *Clitopilus scyphoides*. Polusintetski derivati, tiamulin i valnemulin se ne koriste u humanoj medicini. U SAD, tiamulin se daje u terapiji infekcija svinja izazvanih sa *A. pleuropneumoniae* i *Brachyspira hyodysenteriae*, kao i za mikoplazmatsku pneumoniju prasadi. U Evropi se valnemulin koristi za terapiju različitih oboljenja svinja, naročito dizenteriju.

Lekovi koji inhibišu sintezu nukleinskih kiselina

Inhibicija sinteze nukleinskih kiselina, može se odvijati na dva načina: inhibicijom sinteze i replikacije DNK ili RNK. Inhibitori sinteze DNK su lekovi iz grupe hinolona, dok su inhibitori sinteze RNA, rifamicini.

Hinoloni

Ovi se antimikrobni lekovi vezuju se za A podjedinicu DNK giraze blokirajući dejstvo ovog enzima esencijalnog za replikaciju DNK. Efekat je baktericidan. Dele se na osnovu hemijske strukture i spektra dejstva na dve generacije. Prva generacija, čiji su predstavnici sintetski derivati 4-aminohinolona, nalidiksinska kiselina i oksolinska kiselina, imaju vrlo uzan spektar dejstva, koriste se za urinarne infekcije izazvane sa *E. coli* kod teladi, jagnjadi, prasadi i živine. Flumekvin se daje za kolibacilozu i salmonelozu, kao i furunkulozu kod prasadi.

Dodatkom atoma fluora, sintetisani su fluorohinoloni, koji imaju znatno pojačan učinak na DNK girazu, te mnogo širi spektar dejstva.

Fluorohinoloni

Fluorohinoloni su velika grupa sintetskih antimikrobnih lekova, nastali su 1988. godine dodavanjem fluora na poziciju 6. Imaju širok antibakterijski spektar, deluju na enterobakterije (*E. coli*, salmonela, šigela) *Pseudomonas*, na Gram-pozitivne aerobe, (MRSA), mikoplazme, hlamidije, rikecije. Ne deluju na anaerobne bakterije, na enterokoke i različite streptokoke. Zbog toksičnog dejstva na hrskavicu, ne primenjuju se kod životinja u rastu. Kod pasa uzrasta do 6 meseci mogu izazvati artropatije i hromost.

Fluorohinoloni se mogu dati peroralno (u hrani ili vodi za piće) ili parenteralno, postiže se visoka koncentracija u tkivima (plućima, jetri, srcu, urinarnom i digestivnom traktu).

Danofloksacin se daje kod za respiratornu bolesti goveda izazvane sa *M. haemolytica* i *P. multocida*.

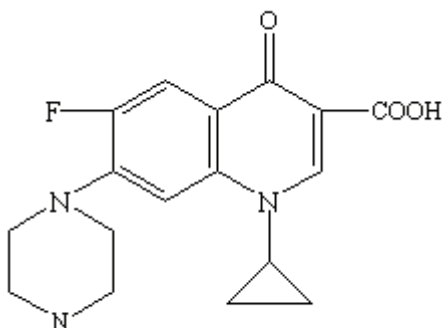
Difloksacin se koristi za urinarne, respiratorne i kožne infekcije pasa. Posebno je značajan za lečenje otitisa kod pasa izazvanog sa *Staphylococcus aureus* i *S. intermedius* ili nekom enterobakterijom.

Enrofloksacin je prvi specijalno sintetisani fluorohinoloni za primenu u veterinarskoj medicini. Ima dokazano dobar efekat u infekcijama mekih tkiva, gastrointestinalnog i respiratornog trakta, uključujući i respiratornu bolest goveda, izazvanu sa *M. haemolytica*, *P. multocida* i *H. somni*. Značajan je u terapiji infekcija sa *E. coli* kod živine i ćuraka.

Marbofloksacin je specijalno dizajniran za upotrebu u veterinarskoj medicini za lečenje urinarnih i infekcija mekih tkiva kod pasa i mačaka.

Orbifloksacin se koristi u terapiji infekcija kože, mekih tkiva i urinarnog trakta kod pasa.

Ciprofloksacin se koristi u humanoj i veterinarskoj medicini i ima isti antibakterijski spektar.



Slika 38. Struktura ciprofloksacina

Norfloksacin se koristi za meningoencefalitis, osteomijelitis, endometritis i artritis, kod goveda, svinja, ovaca, koza i živine.

Inhibitori sinteze rnk

Inhibitori sinteze RNK se vezuju se za DNK zavisnu RNK polimerazu i inhibiraju sintezu RNK. Rifampicin deluje na *Mycobacterium tuberculosis*. Efikasan je za pneumonije konja izazvane sa *Rhodococcus equi*. Tokom terapije ovim lekom suze, znoj, sputum, saliva, urin i feces se oboje narandžasto. Na rifampicin bakterije veoma brzo razvijaju rezistenciju.

Lekovi koji inhibišu metabolizam tj. sintezu folata

Ova grupa hemioterapeutika naziva se i antifolni agensi (antifolati) ili metabolički antagonisti. Najvažnija grupa koja se primenjuje u veterinarskoj medicini su sulfonamidi.

Sulfonamidi deluju kao metabolički antagonisti inhibišući metabolizam folata i sintezu folne kiseline mehanizmom kompetitivne inhibicije. Pošto postoji strukturna sličnost između jezgra sulfonamida (benzolov prsten) i PABA (para amino benzojeva kiselina) koja je osnovni metabolit mnogih bakterija, enzim dihidropteroat sintetaza se pogrešno vezuje za lek umesto za PABA i prestaje sinteza folne kiseline neophodne za rast i razmnožavanje bakterijske ćelije. Efekat je bakteriostatski.

Sulfonamidi – npr. sulfametoksazol, sulfadiazin i dr. imaju uzak spektar delovanja zbog razvoja rezistencije i koriste se u terapiji urinarnih infekcija, otitisa i enteritisa kod malih životinja i nokardioze.

Trimetoprim i ormetoprim kompetitivno inhibiraju dihidrofolat-reduktazu i stvaranje tetrahidrofolata (koji su glavni prekurzori purina).

Kombinacijom sulfametoksazola + trimetoprima postiže se sinergistički efekat i baktericidno delovanje na mnoge bakterije.

U veterinarskoj medicini se koriste kombinacije ormetoprim-sulfadimethoxin i trimethoprim-sufametoxazol, a efikasne su za terapiju genitourinarnih infekcija, *otitis externa* i enteritisa kod malih životinja. Primenuju se u terapijske, ali i profilaktičke svrhe kod živine za infekcije izazvane sa *E. coli*, *P. multocida*, *H. paragallinarum*. Široko se koriste za terapiju respiratornih, genito-urinarnih i kožnih oboljenja konja, kao i za lečenje pneumonija i enteritisa goveda i svinja.

Lekovi koji inhibišu funkciju citoplazmatske membrane

u ovu grupu spadaju polipeptidni antibiotici dobijeni iz *Bacillus polymixa*, koji dovode do snažne interakcije leka sa fosfolipidima i oštećenja funkcije i propustljivosti citoplazmatske membrane bakterija. To su polymyxin B i polymyxin E (kolistin) koji imaju baktericidno dejstvo.

Polimiksin B je efikasan protiv Gram-negativnih bakterija, *Salmonella*, *Bordetella*, *Pasteurella*, *E. coli* i *Pseudomonas sp.* rezistentnan na druge antibiotike.

Polimiksin E (kolistin) ima isti spekar dejstva ali je još efikasniji, pa se daje kod vrlo teške kliničke slike. Ovi antibiotici su nefrotoksični, dovode do oslobađanja histamina i alergijskih reakcija.

Rezistencija bakterija na antimikrobne lekove

Otkriće antibiotika i hemioterapeutika donelo je preokret u borbi čoveka sa mikroorganizmima i dovelo do široke i uspešne primene ovih lekova u terapiji zaraznih oboljenja ljudi i životinja. Međutim, kako su bakterije sposobne da se brzo razmnožavaju i prilagode novim uslovima, vrlo brzo razvijaju različite mehanizme koji ih čine otpornim, tj. rezistentnim na brojne antibiotike.

Ako su bakterije rezistentne na tri ili više grupa antibiotika radi se o multiploj rezistenciji; kada se ova prenosi sa otpornih na osetljive bakterije, govori se o infektivnoj, prenosnoj rezistenciji.

Mehanizmi rezistencije

Otpornost bakterija na antimikrobne lekove uslovljena je različitim, kompleksnim mehanizmima.

Enzimska destrukcija ili inaktivacija leka

Ovaj mehanizam uslovljen je produkcijom hidrolitičkih enzima, beta-laktamaza (penicilinaza i cefalosporinaza) od strane rezistentnih sojeva bakterija. Efekat ovih enzima je razaranje amino-veze beta-laktamskog prstena i pretvaranje leka u neaktivnu supstancu. Prema antigenkim i biohemijskim osobinama i spektru delovanja, dokazano je preko 100 različitih beta-laktamaza. Takođe je

utvrđeno da više od 100 različitih vrsta bakterija produkuje ove enzime. Beta-laktamaze mogu biti inducibilne i bakterije ih luče samo u prisustvu specifičnog induktora – leka iz grupe beta-laktama. Ređe su one konstitutivne i produkuju se bez obzira da li je lek prisutan (npr. anaerobne bakterije).

Beta-laktamaze mogu biti ekstracelularne (egzoenzimi) kad se luče izvan bakterijske ćelije u okolinu, tako da štite i druge bakterije koje nisu producenti ovog enzima. *Moraxella catharralis* produkcijom ovog enzima u okolinu može zaštititi patogene bakterije koje su osetljive na dejstvo leka (u gornjim respiratornim putevima). Primeri za lučenje ekstracelularnih beta-laktamaza su brojne Gram-pozitivne bakterije, naročito stafiloške.

Gram-negativne bakterije obično izluče beta-laktamaze u periplazmatski prostor, te su intracelularne i zato koncentrovane. Primeri su *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*

Kao posledica mutacije klasičnih beta-laktamaza (TEM-1, TEM-2) nastale su beta-laktamaze proširenog spektra delovanja (BLPs) ili *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs). Ovi mutirani enzimi hidrolizuju cefalsporine III generacije (ceftazidim, cefotaksim, ceftriakson) i monobaktame.

Primeri bakterija koje ih produkuju su brojni: *Klebsiella sp.*, *E. coli* i druge entrobakterije, *Pseudomonas* i dr. Produkcija beta-laktamaza determinisana je genima hromozoma ili češće plazmida i traspozona.

Postoje snažni inhibitori beta-laktamaza koji se koriste za različite kombinovane lekove (klavulanska kiselina i sulbaktam, npr).

Mehanizam inhibicije dejstva leka usled enzimske destrukcije značajan je i kod rezistencije na aminoglikozide. Otkriveno je više od 20 enzima, adenilaza, acetilaza, hidrolaza, acetil-transferaza itd.

Izmena ciljnog enzima ili izmena ciljnog mesta delovanja

PVP – penilin-vezujući proteini su bakterijski proteini smešteni na spoljašnjoj strani citoplazmatske membrane koji imaju ulogu primarnih receptora za koje se vezuju penicilini nakon ulaska u bakterijsku ćeliju. Kod rezistentnih sojeva bakterija stvaraju se izmenjeni PVP sa niskim afinitetom za lek ili se smanjuje produkcija ovih proteina. Najbolji primer – rezistencija *Staphylococcus aureus* na meticilin (MRSA).

Izmena strukture ribozoma ili promena na mestu vezivanja antibiotika za ribozome

Ova pojava može biti posledica delovanja različitih enzima na ribozomalnu RNK bakterijske ćelije ili dolazi do alteracije receptora za koje se lek normalno vezuje tako da je onemogućeno delovanje antibiotika. Primer su lekovi koji deluju na 30S i 50S podjedinice ribozoma: tetraciklin, aminoglikozidi, makrolidi itd.

Izmena propustljivosti ćelijskih ovojnica, smanjena permeabilnost spoljašnje i unutrašnje membrane bakterija

Pasaža hidrosolubilnih molekula antibiotika može se odvijati preko porina u unutrašnjost bakterijske ćelije. Mutacije u genima koji determinišu stvaranje porina imaju za posledicu smanjenu propustljivost ovih kanalića za lek i nemogućnost dopiranja antibiotika do ciljnog mesta delovanja. Primer – rezistencija na tetracikline.

Promena DNK giraze

DNK giraza je enzim neophodan za replikaciju DNK bakterijske ćelije. Sastavljen je od podjedinica A i B koje su kodirane genima na hromozomu. Akumulacijom multiplih mutacija na ovim genima dolazi do alteracije enzima giraze i nemogućnosti delovanja antibiotika. Primer – rezistencija na fluorohinolone.

Izmena metaboličkog puta ili "zaobilaženje" inhibicije antibiotikom

Rezistencija na sulfonamide nastaje zbog sinteze enzima dihidropteroat sintetaze bez afiniteta za lek, a koja je kodirana sul I i sul II genima plazmida ili hromozoma. Kod rezistencije na trimetoprim, bakterija stvara dihidrofolat reduktazu bez afiniteta za lek. Primer – rezistencija na sulfonamide i trimetopim kod različitih bakterija (npr. *Haemophilus influenzae*).

Aktivni efluks ili pojačana eliminacija leka iz bakterijske ćelije

Ova rezistencija je vezana za prisustvo belančevine koja služi kao nosač ili efluks pumpa za eliminaciju leka iz bakterije, iako je ovaj antibiotik već dospao u unutrašnjost ćelije. Kako ovaj proces zavisi od energije, metabolizam bakterije mora biti očuvan. Primer – rezistencija bakterija na aminoglikozide i tetracikline.

Izmena "prethodnika" mesta vezivanja u ćelijskom zidu i alternativni putevi sinteze peptidoglikana

Umesto d-alanina, u rezistentnih bakterija stvara se alternativni prekursor d-alanil-d-laktat. Pošto se lek ne vezuje za njega, sinteza ćelijskog zida bakterija nastavlja se alternativnim putem. Primer – rezistencija enterokoka na vankomicin.

Rezistencija na antimikrobne lekove može biti urođena ili stečena.

Urođena rezistencija je najčešće posledica nedostatka ciljne strukture za lek. Mikoplazme nemaju ćelijski zid i otporne su na inhibitore sinteze peptidoglikana (npr. beta-laktami). Urođeno otporne na streptomycin su bakterije koje stvaraju

enzim acetil-transferazu. Urođena rezistencija je očekivana, npr. rezistencija Gram-negativnih bakterija na vankomicin.

Stečena rezistencija može biti negenetičkog i genetičkog porekla.

Negenetička rezistencija: a) perzistencija uzročnika tuberkuloze kada se ove bakterije nalaze u "uspavanoj fazi"; b) L-oblici koji su izgubili peptidoglikan postaju otporni na lekove koji inhibišu njegovu sintezu.

Genetička rezistencija ima mnogo veći značaj. Ona je posledica promene na genima, mutacije i selekcije gena rezistencije (vertikalna evolucija) ili sticanje gena prenosom od drugih bakterija (horizontalna evolucija) ili je kombinacija. Razmena gena rezistencije se najčešće odvija mehanizmom konjugacije, mada i ostale genske rekombinacije – transdukcija i transformacija imaju sve veći značaj.

Hromozomska rezistencija je rezultat spontanih mutacija u lokusu hromozoma (npr. rezistencija na fluorohinolone).

Ekstrahromozomske genske strukture, plazmidi i transpozoni imaju veću ulogu i značaj u razvoju i širenju rezistencije na antibiotike u različitim vrsta bakterija. Prenos gena plazmida i transpozona mehanizmima konjugacije i transdukcije dovodi do pojave mikroorganizama rezistentnih na gotovo sve raspoložive antibiotike (bolnički sojevi stafilokoka i enterokoka ili enterobakterija, acinetobaktera, pseudomonasa itd.).

Ispitivanje osetljivosti bakterija na antimikrobne lekove (antibiogram)

Pre primene nekog antimikrobnog leka u terapiji infektivnih oboljenja, potrebno je ispitati ponašanje izolovanih mikroorganizama *in vitro* na određene antibiotike, tj. uraditi antibiogram. Postoje dva načina izvođenja, difuziona i diluciona metoda.

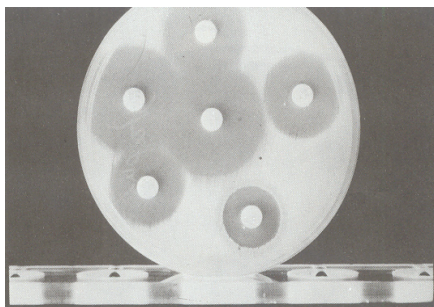
Difuziona metoda

Princip ove metode sastoji se u tome da antibakterijski lek difunduje u hranljivu podlogu i deluje inhibitorno, u većoj ili manjoj meri, na razmnožavanje bakterija prethodno zasejanih na tu podlogu.

Disk metoda metoda ili metoda tablete

Kod ove, najčešće korišćene difuzione metode, upotrebljavaju se diskovi filter hartije ili tablete, impregnirani tačno određenom koncentracijom antibakterijskog leka, koja je odgovarajuća onoj koja se postiže u organizmu primenom terapijskih doza tog leka. Hranljiva podloga se prethodno zaseje suspenzijom određene gustine čiste kulture ispitivanog soja (inokulum), a potom se stave diskovi ili tablete iz kojih lek difunduje u podlogu. Posle inkubacije od 18 do 24 sata na 37°C, očitava se prečnik zone inhibicije rasta bakterija.

Ako su svi uslovi standardizovani (veličina inokuluma, sastav i debljina podloge, pH podloge, vreme inkubacije), prečnik zone inhibicije proporcionalan je koncentraciji datog antibakterijskog sredstva. Bakterija osetljiva na delovanje leka neće porasti u zoni njegove aktivnosti. Širina te zone inhibicije predstavlja stepen osetljivosti bakterije, označava se slovom S (senzitiv – osetljiv soj) i I (intermedijeran – srednje osetljiv soj). Ako je bakterija otporna na dejstvo leka, zona inhibicije je uska ili uopšte ne postoji, R (rezistentan – otporan soj). Očitavanje se vrši merenjem prečnika zone inhibicije milimetarskom hartijom i



Slika 39. Difuziona metoda ispitivanja osetljivosti bakterije na antimikrobni lek

Diluciona metoda

Pomoću dilucione metode određuje se osetljivost izolovanih bakterijskih sojeva prema antimikrobnim lekovima kao i aktivnost tih lekova u telesnim tečnostima u toku terapije.

Diluciona metoda u epruvetama

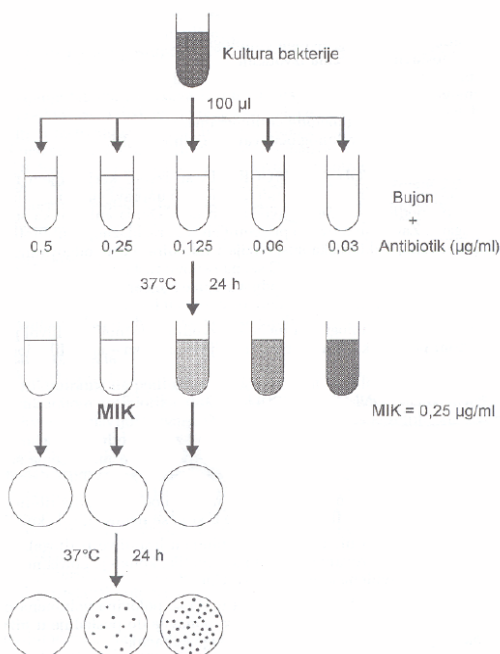
Metoda se zasniva na diluciji (razređenju) ispitivanog antibakterijskog leka tako da se sve manje koncentracije leka dodaju u epruvete sa odgovarajućom tečnom podlogom (dvostruka razblaženja antibiotika u nizu epruveta). U svaku epruvetu se dodaje jednaka količina tečne kulture ispitivanog bakterijskog soja (isti broj bakterija). U testiranje se obavezno uključuje i kontrolna epruveta – tečna podloga bez antibakterijskog sredstva zasejana istim bakterijskim inokulumom. Nakon inkubacije od 18 do 24 sata na 37°C, rezultat se očitava na sledeći način: ukoliko je bakterijski soj preživeo koncentraciju antibakterijskog leka u podlozi registruje se zamućenje podloge, kao i u kontrolnoj epruveti, dok podloge u kojima je došlo do inhibicije razmnožavanja ili smrti ispitivane bakterije ostaju bistre.

Epruveta sa najmanjom količinom antibiotika u kojoj nema zamućenja (porasta bakterija) najmanja je koncentracija antibakterijskog sredstva prema kome je ispitivana bakterija osetljiva. Ta koncentracija se označava kao minimalna

inhibitorna koncentracija (MIK) – sprečava razmnožavanje ispitivane bakterije, tj. deluje bakteriostatski.

Da bi se odredila minimalna baktericidna koncentracija (MBK), tj. najmanja koncentracija antibakterijskog sredstva koji ubija testirani mikroorganizam (baktericidni efekat), sadržaj iz epruveta u kojima nema zamućenja presejava se na čvrste podloge u Petrijevoj šolji. Posle inkubacije od 18 do 24 sata na 37°C, očitava se rezultat baktericidnog efekta.

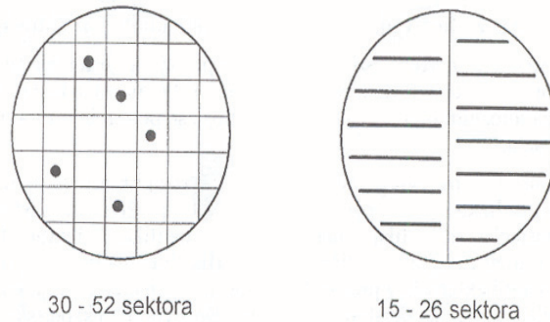
Ukoliko na podlozi nema porasta bakterijskih kolonija, koncentracija antibiotika u epruveti iz koje je izvršeno presejavanje najmanja je koncentracija koja je delovala baktericidno i predstavlja MBK.



Slika 40. Diluciona metoda u epruvetama

Agar difuziona metoda

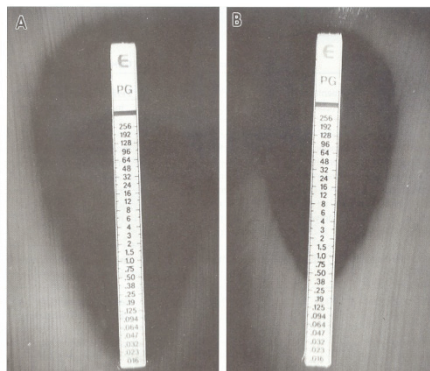
Princip ove metode sastoji se u tome da se određene količine antibakterijskog leka inkorporiraju u čvrstu podlogu i zasejavanju inokuluma određene gustine ispitivanih bakterija. Na ovaj način na istoj podlozi testira se čak 10-16 različitih bakterijskih sojeva, a rezultat očitava na osnovu porasta kolonija zasejanih bakterija. Naime, samo one bakterijske ćelije koje su rezistentne na koncentraciju leka koja je inkorporirana u agaru daće vidljiv porast.



Slika 41. Agar difuzionna metoda

Kombinacija difuzionog i dilucionog metoda (E-test, Epsilonmetar test)

E-test predstavlja određivanje MIK difuzionom metodom, pri čemu se koriste plastične trake impregnirane antibiotikom sa opadajućim gradijentom koncentracije. Nakon inkubacije formira se zona inhibicije oko plastične trake koja je šira u delu gde je koncentracija leka veća, a potom sve uža. Mesto presecanja granične linije zone inhibicije rasta ispitivane bakterije i trake označava MIK (vrednost na skali trake).



Slika 42. E-test

Rezultat ispitivanja osetljivosti izolovanih bakterija na antibakterijske lekove *in vitro*, difuzionim i dilucionim metodama naziva se *antibiogram*. Difuzione metode su jednostavnije za izvođenje, brže i jeftinije, i zato podesnije za rutinski rad, ali su dilucione metode preciznije.

Klasifikacija, nomenklatura i taksonomija bakterija

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Bakterije spadaju u carstvo *Procariota* koje sadrži milione genetski različitih jednoćelijskih organizama. Razvrstavanje bakterija, u cilju postavljanja etiološke dijagnoze zarazne bolesti, zasniva se na njihovoj morfologiji, tintorijelnim osobinama, fiziološko-biohemijskim osobinama i dr. Klasifikacija koja se koristi u najvećem delu sveta i koja je opšteprihvaćena, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, koje izdaje Američko udruženje mikrobiologa objavljena je u više izdanja (poslednje je iz 1994. godine).

Prema ovoj klasifikaciji postoje 4 grupe bakterija: bakterije sa tankim ćelijskim zidom tipa Gram-negativnih, sa zidom tipa Gram-pozitivnih bakterija, bakterije bez ćelijskog zida i *archaeobacteria*. U prve tri grupe spadaju patogene bakterije. Grupe se dalje dele na klase, redove, familije, rodove i vrste.

U tabeli je dat izvod najvažnijih rodova bakterija značajnih za veterinarsku medicinu, prema *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Tabela 3. Kratak izvod iz *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2004.

grupa	Naziv	Najvažniji rodovi
1.	Spirohetae	<i>Borrelia</i> <i>Brachyspira</i> <i>Leptospira</i>
2.	Aerobne/mikroaerofilne, pokretne, helikalne, vibrioidne, Gram negativne bakterije	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>
4.	Gram negativni/mikroaerofilni štapići i koke	<i>Francisella</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Moraxella</i>
5.	Fakultativno anaerobni Gram negativni štapići	<i>F. Enterobacteriaceae</i> <i>Pasteurella</i> <i>Aeromonas</i>
6.	Anaerobni, Gram negativni pravi, savijeni ili helikalni štapići	<i>Bacteroides</i>
9.	Rikecije i hlamidije	<i>Rickettsia</i> <i>Chlamydia</i>
17.	Gram pozitivne koke	<i>Streptococcus</i> <i>Staphylococcus</i>
18.	Sporogeni, nesporogeni Gram pozitivni štapići	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>
19.	Pravilni, nesporogeni Gram pozitivni štapići	<i>Listeria</i> <i>Erysipelotrix</i>
20.	Neppravilni, nesporogeni Gram pozitivni štapići	<i>Corynebacterium</i>
21.	Mikobakterije	<i>Mycobacterium</i>
23-29.	Aktinomicete	<i>Actinomyces</i>
30.	Mikoplazme	<i>Mycoplasma</i>

Poglavlje
2

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus *Staphylococcus*
2. Genus *Streptococcus*

Genus *Staphylococcus*

Mira Mihajlović Ukropina, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad,

Stanko Boboš, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Stafilokoke su Gram-pozitivne loptaste bakterije, prečnika oko 1 μ m, raspoređene pojedinačno, u parovima, a najčešće u nepravilnim grozdastim nakupinama po čemu su i dobile ime (*staphylos* – grozd na grčkom). To su fakultativno anaerobne, katalaza pozitivne, oksidaza negativne, nepokretne, asporogene bakterije. Na osnovu produkcije enzima koagulaze stafilokoke se dele na koagulaza-pozitivne i koagulaza- negativne. Produkcija ovog enzima je najčešće u korelaciji sa patogenošću vrste.

U rodu se nalazi preko 30 vrsta od kojih su mnoge deo normalne flore kože i sluznica respiratornog, urogenitalnog i digestivnog trakta ljudi i životinja. Najznačajniji uzročnici oboljenja životinja su koagulaza pozitivne vrste *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus intermedius* i koagulaza varijabilan *Staphylococcus hyicus*. I mnoge koagulaza-negativne vrste mogu izazvati oportunističke infekcije ljudi i, ređe, životinja.

FAKTORI VIRULENCIJE

Virulencija stafilokoka je multifaktorijalna. Rezultat je posedovanja kako strukturnih elemenata tako i delovanja brojnih egzoprodukata - enzima i toksina.

Površinski proteini omogućavaju adherenciju vezivanjem za proteine ćelija domaćina kao što su fibronektin, fibrinogen, elastin, kolagen.

Clumping faktor ili vezana koagulaza, vezujući se za fibrinogen, dovodi do slepljivanja ćelija stafilokoka i stvaranja agregata bakterija koje nisu dostupne mehanizmima odbrane domaćina.

Protein A vezuje se za Fc fragment IgG čime sprečava opsonizaciju i fagocitozu.

Polisaharidna kapsula (do sada dokazano 12 serotipova), koja štiti bakteriju od fagocitoze, dokazana je kod izolata ljudi i goveda. Takođe, ezivanjem za epitelne, endotelne ćelije i mastocite, dovodi do indukcije lučenja citokina.

Peptidoglikan dovodi do aktivacije komplementa i privlačenja polimorfonukleara.

Lipoteihoinjska kiselina, vezujući se za fibronektin, omogućava adherenciju za epitelne ćelije domaćina.

Koagulaza je egzoenzim koji se vezuje za protrombin domaćina, pri čemu nastaje kompleks - stafilotrombin. Aktivnost ove proteaze dovodi do konverzije fibrinogena u fibrin. Smatra se da time bakterija štiti sebe od fagocitoze i imunog odgovora.

Hijaluronidaza omogućava širenje infekcije u oštećenom tkivu, razarajući hijaluronsku kiselinu vezivnog tkiva.

Lipaze omogućavaju razgradnju zaštitnog masnog sloja na površini ćelije i olakšavaju razvoj infekcija kože.

Fibrinolizin razgrađuje fibrin i zajedno sa hijaluronidazom i lipazom olakšava prodor bakterija kroz tkiva domaćina.

Serinproteaza (V8 proteaza) degradira fibronektin vezujuće proteine i time omogućava širenje infekcije nakon adherencije.

Stafilokoke imaju sposobnost sinteze brojnih egzotoksina, kao što su enterotoksini, toksični šok sindrom toksin - 1 (TSST – 1), ekfolijatin i citotoksini.

Enterotoksini (serotipovi A – E ili F), prisutni kod nekih sojeva *S. aureus* i *S. intermedius*, su proteini otporni na želudačni sok i zagrevanje na 100°C. Izazivaju stafilokokno trovanje hranom, oboljenje koje nastaje kao posledica unošenja hrane u kojoj se nalaze izlučeni enterotoksini, a manifestuje se mukom, povraćanjem i dijarejom.

TSST -1, kao i neki serotipovi enterotoksina, se ponaša kao „superantigen“, dovodeći do nespecifične stimulacije T limfocita i oslobađanja citokina koji su odgovorni za pojavu šoka i oštećenja brojnih organa karakterističnih za stafilokokni toksični šok sindrom.

Citotoksini – alfa, beta (sfingomijelaza C), delta, gama i leukocidin deluju toksično na eritrocite, leukocite, trombocite, makrofage i fibroblaste.

Epidermolitički toksin ili ekfolijatin (tip A i B) razgrađuje međućelijske veze u epidermu. Sojevi *Staphylococcus aureus*, koji luče ovaj toksin, izazivaju sindrom oparene kože kod male dece, a toksigeni sojevi *Staphylococcus hyicus* su odgovorni za eksudativni dermatitis svinja.

OBOLJENJA KOJA IZAZIVAJU STAFILOKOKE

Staphylococcus aureus je striktni patogen ljudi koji izaziva supurativna oboljenja (infekcije kože i potkožnih tkiva - folikulitis, furunkul, karbunkul i flegmonu, apscese i infekcije dubokih tkiva i organa, septikemija) i toksemična stanja (stafilokokno trovanje hranom, sindrom oparene kože, toksični šok sindrom). Uzročnik je lokalizovanih i sistemskih supurativnih infekcija kod mnogih životinjskih vrsta. Izaziva mastitis kod goveda, ovaca, koza, svinja i konja

koji, zavisno od virulencije i infektivne doze uzročnika kao i otpornosti domaćina, može da se javlja kao akutna, subakutna, perakutna, gangrenozna ili hronična forma. Infekcije nogu, zglobova, osteomijelitis i septikemija opisani su kod živine. Kod zečeva izaziva eksudativni dermatitis, subkutane apscese, konjunktivitis i druga supurativna stanja. Nakon ujeda krpelja može dovesti do infekcije kože ili septikemije sa smrtnim ishodom kod jaganjaca. Kod svinja izazva nekrotizirajući endometritis i impetigo vimena kroz sitne abrazije nastale u toku dojenja prasadi. *Staphylococcus aureus* je uzročnik i botriomikoze, hroničnog oboljenja vimena svinja, kobilica i krava kao i *funiculusa spermaticusa* konja nakon kastracije, koje se karakteriše pojavom granulomatoznih masa prožetih gnojem.

Staphylococcus intermedius uzrokuje kožne infekcije kod pasa i mačaka (pioderma, pustulozni dermatitis), infekcije spoljašnjeg ušnog kanala, infekcije respiratornog trakta, zglobova i rana.

Staphylococcus hyicus izaziva «greasy pig disease», eksudativni epidermitis kod mladih svinja, praćen prekomernim lučenjem lojnih žlezda, ljuštenjem i eksudacijom na površini kože kao i upalom zglobova. Javlja se i kao sekundarna bakterijska infekcija tokom šuge kod goveda, konja i živine.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U cilju postavljanja bakteriološke dijagnoze uzima se uzorak koji, u zavisnosti od kliničke manifestacije i lokalizacije patološkog procesa, može biti mleko ili sekret iz obolelog vimena, brisevi kože, sluznica i rana, krv, urin, aspirati i punktati dubokih tkiva i organa. Direktno mikroskopsko ispitivanje ima značaja ukoliko se radi o uzorcima koji potiču sa primarno sterilnih područja. U mikroskopskom preparatu obojenom po Gramu, pored ćelijskih elemenata koji potiču iz obolelih tkiva domaćina, mogu se videti Gram-pozitivne koke karakterističnog rasporeda u vidu grozdova.

Većina stafilokoka dobro raste na uobičajenim hranljivim podlogama, ali se uzorci najčešće zasejavaju na krvni agar sa ovčijom ili goveđom krvi. Za izolaciju stafilokoka, uglavnom iz namirnica, koriste se selektivne podloge kao što su manitol slani agar i *Baird-Parkerova* podloga, na kojima stafilokoke stvaraju karakteristične kolonije. Nakon inkubacije od 24h na 37°C na krvnom agaru porastu okrugle, glatke, sjajne i neprozračne kolonije. *Staphylococcus aureus* formira karakteristične beličaste ili zlatno žuto prebojene kolonije (usled produkcije pigmenta – lipohroma). *Staphylococcus intermedius* i *Staphylococcus hyicus* ne proizvode pigment. Kolonije *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus intermedius* obično su okružene dvostrukom hemolizom (uska zona jasne hemolize neposredno oko kolonija i šira zona nekompletne lize eritrocita na periferiji), dok je *Staphylococcus hyicus* nehemolitičan.

Za dalju identifikaciju koristi se fiziološko-biohemijski testovi dati u tabeli 4.

Tabela 4. Najvažniji testovi za diferencijaciju vrsta u rodu *Staphylococcus*

	Koagulaza test	Dokazivanje DNAze *	Fermentacija manitol	Produkcija pigmenta	Hemoliza
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+
<i>S. intermedius</i>	+	+	d	-	+
<i>S. hyicus</i>	d	+	-	-	-

*DNAaza – termostabilna dezoksiribonukleaza

+ =90% i više sojeva pozitivno; - = 90% ili više sojeva negativno; d = 11-89% pozitivno

EPIDEMIOLOGIJA

Široka rasprostranjenost stafilokoka i njihovo prisustvo kao normalne flore kože i sluznica domaćih životinja su bitni faktori u nastanku stafilokoknih infekcija. Uslovi za nastanak mastitisa stvaraju se upotrebom aparata za mužu, mada se i kod krava na ručnoj muži kao i onih koje ne daju mleko, može javiti infekcija. Kod pasa se javljaju infekcije ako već postoje alergijske i kožne bolesti kao i imunodeficijencija. Eksudativni epidermitis svinja je u vezi sa kolonizacijom vaginalne sluznice krmača stafilokokama. Predisponirajući faktori za obolevanje živine su virusne infekcije i druga stanja koja smanjuju otpornost organizma.

KONTROLA I PREVENCIJA

Za razliku od streptokoka koje su postojano osetljive na penicilin, većina sojeva stafilokoka je rezistentna na ovaj antibiotik zahvaljujući produkciji enzima penicilinaze. U lečenju stafilokoknih infekcija obično su efikasni penicilinaza-stabilni penicilini, fluorohinoloni, eritromicin i cefalosporini. Veliki problem predstavljaju meticilin rezistentni sojevi koji su rezistentni na sve beta laktamske, a vrlo često i na druge grupe antibiotika. Lek izbora u terapiji stafilokoknih infekcija izazvanih multirezistentnim sojevima je vankomicin, mada se poslednjih godina u svetu beleže i vankomicin rezistentni izolati, što je povećalo interes za spravljanje vakcine.

Kontrola stafilokoknog mastitisa bazira se na prevenciji, što uključuje sanitarno-higijenske mere tokom muže, hitnu primenu antibiotika kod obolelih i uklanjanje hronično inficiranih životinja.

Genus Streptococcus

Mira Mihajlović Ukropina, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Stanko Boboš, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Rod *Streptococcus* čine Gram-pozitivne, sferične ili ovoidne koke, prečnika 0,5-2,0 μ m, grupisane u parove, kraće ili duže lance, što je posledica deobe u jednoj ravni. Većina vrsta produkuje kapsulu, asporogene su i nepokretne. Uglavnom su fakultativni anaerobi, neke vrste zahtevaju povišenu tenziju CO₂. Katalaza su negativne, ugljene hidrate fermentuju po tipu mlečne kiseline, bez stvaranja gasa. Imaju kompleksne zahteve u ishrani, te se za njihovu kultivaciju koriste obogaćene hranljive podloge.

Streptokoke čine složen i heterogen bakterijski rod u kome se nalaze brojne vrste sa različitim biološkim karakteristikama. Klasifikacija velikog broja vrsta ovog roda u grupe sa sličnim osobinama je vršena na osnovu različitih kriterijuma, tako da postoji više podela, od kojih neke i danas imaju praktičnu primenu, ali nijedna nije sveobuhvatna i ne zadovoljava u potpunosti.

Prva podela na α i β (hemolitičke) i γ (nehemolitičke) streptokoke izvršena je na osnovu tipa hemolize na krvnom agaru.

Biohemijско-fiziološke osobine i tolerancija prema različitim hemijskim i fizičkim agensima su bili osnova za sledeću klasifikaciju (mlečni, piogeni, viridans, enterokoke).

Rebeca Lancefield je, na osnovu antigenskih karakteristika C-polisaharida ćelijskog zida koga poseduje većina grupa i teihoinke kiseline (grupe D i N), izvršila podelu streptokoka na grupe označene slovima abecede od A do H i od K do V. Vrste koje izazivaju oboljenja životinja pripadaju grupama A, B, C, D, E, G, L i V. Ova podela ne obuhvata sve streptokoke jer pojedine vrste (*S. uberis*, *S. parauberis*, *S. pneumoniae*) nemaju grupno specifični antigen, pa se ne mogu na ovaj način klasifikovati.

Streptokoke čine deo fiziološke mikroflore mukoznih membrana gornjih delova respiratornog trakta, genitalnog i intestinalnog trakta ljudi i životinja.

Mnogi pripadnici ovog roda izazivaju brojna oboljenja ljudi i životinja, od lakih do veoma teških formi koje ugrožavaju život. Ogroman patogeni potencijal kojim streptokoke raspolažu je posledica brojnih faktora virulencije koje čine kako pojedine strukture na površini bakterijske ćelije, štiteći je od fagocitoze, aktivnosti komplementa i antitela, tako i ekstraćelijski produkti - toksini i enzimi koji omogućavaju invaziju bakterija i oštećenje dubljih struktura domaćina.

NAJVAŽNIJI FAKTORI VIRULENCIJE

Većina streptokoka produkuje kapsulu sastavljenu od hijaluronske kiseline ili polisaharida koja štiti bakteriju od fagocitoze.

Površinu bakterijske ćelije prekrivaju fimbrije, sastavljene od M proteina i lipoteihoinke kiseline, koje omogućuju adherenciju streptokoka za specifične receptore ćelija domaćina.

M protein je važan antifagocitni faktor, zahvaljujući sposobnosti da vezuje fibrinogen, koji maskira receptorna mesta za C₃b na površini ćelije. Takođe, inhibiše aktivaciju komplementa alternativnim putem i na taj način sprečava deponovanje C₃b komponente i sledstvenu opsonizaciju.

Fc reagujući protein, se vezuje za nespecifični Fc fragment IgG antitela, i inhibiše specifičnu opsonizaciju.

F protein učestvuje u adherenciji streptokoka za fibronektin epitelnih ćelija domaćina.

Streptokokni pirogeni egzotoksin (SPE) deluje kao superantigen, nespecifično stimuliše T limfocite što kao posledicu ima oslobađanje citokina, pre svega IL1 (interleukin 1) i TNF (faktor nekroze tumora), koji su odgovorni za nastanak šoka i oštećenje tkiva.

Streptolizin O se ugrađuje u citoplazmatsku membranu različitih eukariotskih ćelija i formira transmembranske pore, što dovodi do lize i smrti ćelije.

Najvažniji enzimi streptokoka koji doprinose patogenezi oboljenja su:

- hijaluronidaza koja razgrađuje hijaluronsku kiselinu vezivnog tkiva i omogućava širenje streptokoka kroz tkiva domaćina;
- streptokinaza koja dovodi do razgradnje fibrina i doprinosi prodiranju bakterija kroz inficirana tkiva;
- dezoksiribonukleaza koja vrši depolimerizaciju slobodne DNK, smanjuje viskoznost gnoja olakšavajući bakterijama da prodiru kroz tkiva domaćina;
- C₅_a peptidaza (anafilotoksin) razgrađuje C₅_a komponentu komplementa, što inhibira hemotaksiju polimorfonukleara na mesto infekcije.

NAJVAŽNIJE VRSTE STREPTOKOKA I OBOLJENJA KOJA IZAZIVAJU

Streptococcus pyogenes (grupa A) je tipičan predstavnik roda, značajan pre svega, kao uzročnik oboljenja ljudi, koja se, prema mehanizmu oštećenja tkiva, dele na:

- oboljenja invazivnog karaktera - faringitis, piodermija, erizipel, celulitis, nekrotizirajući fascitis, miozitis;
- oboljenja toksemičnog karaktera - šarlah i streptokokni toksični šok sindrom (STSS) koja nastaju kao rezultat udruženog invazivnog i toksičnog delovanja sojeva sposobnih da produkuju SPE;
- poststreptokokne sekvele – akutna reumatska groznica i akutni glomerulonefritis, imunopatološka stanja koja se, kod malog broja predisponiranih osoba, javljaju kao posledica prethodne dve grupe streptokoknih oboljenja.

U patologiji životinja ima značaja kao uzročnik mastitisa kod krava, a veoma retko, limfadenitisa kod ždrebadi.

Streptococcus agalactiae (grupa B) je vodeći uzročnik hroničnog mastitisa krava i gotovo se isključivo lokalizuje u mlečnim žlezdama, što olakšava eradikaciju bakterija u zahvaćenim stadima. Infekcija nastaje kroz kanale mlečne žlezde. Proliferacija bakterija u mlečnim kanalima i alveolama dovodi do akutnog zapaljenja koje prati fibroza. Imunski odgovor domaćina obično nije dovoljan

da savlada infekciju i bez sprovedene terapije, oboljenje dobija hroničan tok. Ponovljene aktivacije zapaljenskog procesa dovode do zamene žlezdanog tkiva fibroznim vezivnim tkivom usled čega može doći do gubitka čitave žlezde. Za vreme aktivne faze hronične infekcije lučenje mleka je smanjeno i ono može biti promenjenog sastava sa pojavom firbinskih čepova.

S. agalactiae izaziva mastitis i kod ovaca, koza i kamila, zatim folikulitis kod slonova, neonatalnu sepsu, endokarditis, infekcije genitalnog trakta i kože pasa kao i infekcije uterusa i bubrega mačaka. Retko izaziva infekcije kod konja i majmuna.

S. agalactiae je sastavni deo normalne flore urogenitalnog i respiratornog trakta ljudi. Jedan je od najznačajnijih uzročnika meningitisa i sepse novorođenčadi koji su posledica infekcije ploda pri prolazu kroz porođajni kanal kolonizovane majke.

Streptococcus canis (grupa G) kolonizuje mukožu usne šupljine i genitalnog trakta pasa i mačaka, ali glavni izvor infekcije, naročito kod pasa, je sluznica analnog predela. Uzročnik je supurativnih infekcija genitalnog trakta, kože i rana, toksičnog šok sindroma i nekrotizirajućeg fasciitisa pasa, septikemije kod mačića, limfadenitisa kod mačaka i zamoraca. Streptokokni toksični šok sindrom, sa ili bez nekrotizirajućeg fasciitisa, se najčešće javlja kao posledica akutne ili perakutne bronhopumonije. Septikemija i toksični šok sindrom imaju fatalan ishod, dok nekrotizirajući fasciitis, uz primenu radikalne terapije, ima znatno bolju prognozu. Infekcija novorođenih mačića nastaje preko umbilikusa bakterijama sa kolonizovane vaginalne i sluznice usne šupljine ženke. Hematogena diseminacija streptokoka dovodi do stvaranja mikroapscesa i smrti u prvoj nedelji života. Mlade mačke takođe mogu oboleti u periodu od 2 do 4. meseca života, kada titar majčinih antitela padne ispod zaštitnog nivoa. Gnojni limfadenitis, koji zahvata mandibularne limfne žlezde nastaje kao posledica prodora bakterija iz usne šupljine.

Streptococcus dysgalactiae podeljen je u dve podvrste - *dysgalactiae* i *equisimilis* (prethodno nazvan *Streptococcus equisimilis*).

S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae izaziva akutne infekcije mlečnih žlezda krava bakterijama poreklom iz usta, vagine i inficiranih kožnih lezija vimena obično udruženim sa *Arcanobacterium pyogenes*-om. Ove bakterije su i uzročnici artritisa, septikemije i meningitisa koza i jaganjaca. Sojevi *S. agalactiae subsp. dysgalactiae* izazivaju abortus, dermatitis i septikemiju kod krava i pasa kao i abortuse i oboljanje slično ždrebećaku kod konja. Krmače mogu biti nosioci streptokoka koji inficiraju prasad preko rana i umbilikusa i izazivaju supurativni artritis.

S. dysgalactiae subsp. dysgalactiae nije izolovan kod ljudi mada poseduje mnoge faktore virulencije slične onim kod *S. pyogenes*.

S. dysgalactiae subsp. equisimilis izaziva apscese, endometritis i mastitis kod konja kao i supurativne infekcije kod svinja, krava, pasa i ptica.

Streptococcus equi subsp. equi izaziva ždrebećak, mastitis, infekcije genitalnog trakta, hemoragičnu purpuru i supurativne infekcija konja, kao i omfaloflebitis ždrebadi.

Ždrebećak je veoma kontagiozno oboljenje respiratornog trakta i regionalnih limfnih žlezda. Asimptomatsko prisustvo kod konja je veoma retko. Najvažniji izvor infekcije su nosni srkret i sadržaj dreniranih apscesa obolelih konja. Nakon inkubacije od 3 do 6 dana (ili do 2 nedelje) javljaju se povišena temperatura, malaksalost, purulentni sekret u nosu i očima praćeni uvećanim i bolnim limfnim čvorovima glave i vrata. Karakteristično je uvećanje i stvaranje apscesa u submandibularnim limfnim žlezdama koje vrše pritisak na respiratorne puteve i dovode do ugušenja. Hematogeno i limfogeno širenje uzročnika može dovesti do stvaranja apscesa u plućima, abdomenu ili centralnom nervnom sistemu kao i do pojave miokarditisa i hemoragične purpure.

Streptococcus equi subsp. zooepidemicus je komenzal mukoznih membrana, pre svega konja, ali i drugih životinjskih vrsta. Prilično je čest uzročnik infekcija rana, zglobova, apscesa limfnih žlezda konja i pneumonija ždrebad. Najčešći je patogen reproduktivnog sistema kobila. Izaziva i mastitis goveda i koza, infekcije rana, pneumoniju i septikemiju jaganjaca i štenadi, kao i septikemiju pilića. Za razliku od podvrste *equi*, nađen je i kao uzročnik oboljenja ljudi, od kojih je većina posledica konzumiranja kontaminiranih mlečnih proizvoda.

Streptococcus pneumoniae je najčešći uzročnik vanbolničkih pneumonija i čest uzročnik meningitisa i septikemije ljudi. Može uzrokovati iste vrste oboljenja i kod teladi, pneumonije pacova i zamoraca, infekcije gornjih delova respiratornog trakta konja i retko mastitis krava.

Streptococcus porcinus (grupe E,P,U i V) je izolovan iz urogenitalnog trakta žena. Zbog toga što aglutinira u serumu specifičnom za grupu B, može pogrešno biti identifikovan kao *S. agalactiae*. Izaziva apscese i infekcije limfnih čvorova kod mladih svinja, kao i oportunističke infekcije konja i mačaka.

Streptokoke grupa D,R,S i T su jedinstven genetski tip i pridodati su vrsti *Streptococcus suis*. Najčešće se navode kao uzročnici encefalitisa, meningitisa, artritisa, septikemije i abortusa svinja. Tonzilarno kliconoštvo može biti vrlo visoko (i do 100%). Većina nosilaca nema znake oboljenja, ali mogu biti izvor infekcije za osetljive životinje. Retko se izoluju kod ptica, konja i preživara.

Streptococcus uberis i *Streptococcus parauberis* su fenotipski slični, ali se genotipski razlikuju. Komenzali su mukoza i epitela krava kod kojih, u lošim higijenskim uslovima, izazivaju mastitis.

Streptococcus equinus (grupa D, član *S. bovis* grupe) izaziva bovini mastitis, kao i septikemiju i artritis golubova.

Streptococcus phocae je sličan grupi C, a uzročnik je septikemija kod foka.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza streptokoknih infekcija podrazumeva izolaciju i identifikaciju uzročnika iz ispitivanog uzorka. U zavisnosti od kliničke manifestacije i lokalizacije patološkog procesa uzorak može biti mleko ili sekret iz obolelog vimena, brisevi kože, sluznica i rana, krv, urin, aspirati i punktati dubokih tkiva i organa. Poželjno je da se uzorci obrade neposredno nakon uzorkovanja ili

da se šalju u transportnoj podlozi, jer su neke vrste streptokoka veoma osetljive na uslove u spoljašnjoj sredini.

Direktno mikroskopsko ispitivanje ima značaja ukoliko se radi o uzorcima koji potiču sa primarno sterilnih područja. U mikroskopskom preparatu obojenom po Gramu, pored ćelijskih elemenata koji potiču iz obolelih tkiva domaćina, mogu se videti Gram-pozitivne koke u paru, kraćim ili dužim lancima. *S. pneumoniae* ima karakterističan olbik u vidu plamena sveće ili vrha koplja. Može se naći pojedinačno ili u kraćim lancima, ali najčešće u parovima (diplokoke) okrenuti širom stranom jedan prema drugom i obavijeni kapsulom.

Za izolaciju streptokoka koristi se krvni agar sa ovčijom ili goveđom krvi. Kultivacija se obavlja na 37°C, uz prisustvo 5-10%CO₂ u toku 24-48h. Većina streptokoka raste u vidu sitnih, prozračnih kolonije, prečnika oko 1mm. Neke vrste mogu stvarati i mukoidne kolonije (*S. equi subsp. equi*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*). Tip hemolize je važna karakteristika streptokoka koja ima praktičnu primenu u diferencijaciji i identifikaciji vrsta. *S.pyogenes* stvara jasnu i izrazitu zonu β-hemolize. *S.agalactiae* se odlikuje β- ili α prim hemolizom, dok *S. pneumoniae* stvara usku zonu α-hemolize.

Za dalju identifikaciju koriste se fiziološko-biohemijski testovi. U tabeli 5. dat je pregled najvažnijih testova za identifikaciju vrsta roda *Streptococcus*.

Bacitracinski test - određivanje osetljivosti na antibiotik bacitracin. Koristi se za identifikaciju *S. pyogenes*, odnosno za diferenciranje hemolitičkih streptokoka grupe A od β hemolitičkih streptokoka drugih grupa.

Pozitivnu reakciju predstavlja pojava zone inhibicije rasta oko diska bacitracina.

CAMP test – dokazivanje CAMP faktora, termostabilnog proteina, koji zajedno sa hemolizinom *S. aureusa* (sfingomijelaza C) izaziva pojačanu hemolizu na krvnom agaru u vidu vrha koplja. Koristi se za identifikaciju *S. agalactiae*. Pozitivnu reakciju predstavlja pojava pojačane hemolize u obliku vrha koplja ili plamena sveće u zoni interponiranja dejstva hemolizina stafilokoka i CAMP faktora *S. agalactiae*.

Tabela 5. Pregled najvažnijih testova za identifikaciju vrsta roda *Streptococcus*

	Bacitra- cinski test	CAMP	Hidroliza Na hipurata	Opto- hinski test	Rastvor- ljivost u žuči	Hidroliza eskulina
<i>S.pyogenes</i>	+	-	-	-	-	-
<i>S.agalactiae</i>	-	+	+	-	-	-
<i>S.pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	v
<i>S. dysgalactiae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. uberis</i>	-	-	+	-	-	+

+ = većina sojeva pozitivna; - = većina sojeva negativna; v =promenljiva osobina

Hidroliza Na hipurata - dokazivanje sposobnosti hidrolize natrijum-hipurata. Koristi se za identifikaciju *S. agalactiae*.

Optohinski test - dokazivanje osetljivosti na optohin (etil hidrokuprein hidrohlorid). Koristi se za diferencijaciju *S. pneumoniae* od ostalih α hemolitičkih streptokoka. Pozitivnu reakciju predstavlja pojava zone inhibicije rasta odedenog prečnika oko diska optohina.

Rastvorljivost u žuč - dokazivanje pojave lize bakterija u prisustvu žuči i njenih soli. Koristi se za diferencijaciju *S. pneumoniae* od ostalih α hemolitičkih streptokoka. Pozitivnu reakciju predstavlja iščezavanje kolonija u prisustvu žučnih soli.

Hidroliza eskulina - dokazivanje sposobnosti hidrolize eskulina na glukozu i eskuletin, koji reaguje sa gvoždem, a nastalo jedinjenje daje crnu obojenost podloge. Koristi se za diferencijaciju enterokoka i nekih vrsta streptokoka od ostalih pripadnika ovog roda. Pozitivnu reakciju predstavlja crna obojenost tečne, odnosno čvrste podloge oko poraslih kolonija.

Serološka identifikacija vrši se u cilju dokazivanja pripadnosti nekoj od 21 grupe streptokoka. Primenom monospecifičnih seruma reakcijama precipitacije ili lateks aglutinacije, dokazuje se grupno specifični C-polisaharidni antigen ćelijskog zida.

Serološka dijagnoza, odnosno dokazivanje specifičnih antitela u serumu, primenjuje se u dijagnozi poststreptokoknih sekvela kod ljudi izazvanih pojedinim tipovima *S. pyogenes*. Najčešće se određuje titar antitela na streptolizin O primenom ASO (antistreptolizin O) testa.

KONTROLA I PREVENCIJA

U terapiji sistemskih infekcija koristi se penicilin G i ampicilin. Cefalosporini, eritromicin, hloramfenikol i trimetoprim+sulfa preparati mogu biti efikasni u terapiji infekcija izazvanih većinom beta hemolitičkih vrsta. Kod mastitisa izazvanog *S. agalactiae* i drugim vrstama streptokoka može se primeniti penicilin direktno intramamarno. U kontroli i prevenciji mastitisa je od velike važnosti održavanje higijene vimena i čitavog stada. Kod pojave ždrebećaka najbolji rezultati se postižu ako se terapija penicilinom primeni pre pojave apscesa i nastavi nakon pada temperature. Neophodna je izolacija obolelih konja kao i onih za koje postoji sumnja da će oboleti. U nekim zemljama postoji inaktivisana vakcina koja se primenjuje kod životinja pod rizikom, ali njena efikasnost nije pouzdano dokazana. Prevencija cervikalnog limfadenitisa kod svinja sastoji se u dodavanju tetraciklina hrani.

Poglavlje
3

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus Bacillus
2. Genus Actinomyces
3. Genus Arcanobacterium
4. Genus Corynebacterium
5. Genus Nocardia
6. Genus Dermatophylus
7. Genus Listeria
8. Genus Erisipelotrix
9. Genus Mycobacterium
10. Genus Rhodococcus

Genus Bacillus

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U ovom se rodu nalaze Gram-pozitivni ili Gram-varijabilni sporogeni štapići, katalaza pozitivni, aerobni ili fakultativno anaerobni, pokretni svi izuzev *B. anthracis*.

Većina vrsta su saprofiti koji se mogu naći u zemljištu, vazduhu i vodi.

Genus *Bacillus* spada u Sekciju 13 po *Bergey-u*, (2004.), u familiju *Bacillaceae*, u kojoj su opisane 22 vrste, a za veterinarsku i humanu medicinu, značajne su tri patogene vrste:

- *Bacillus anthracis*-uzročnik antraksa
- *Bacillus cereus* – uzročnik gangrenoznog mastitisa krava, retko abortusa krava, ovaca i kobilica i trovanja hranom kod ljudi
- *Bacillus licheniformis* - retko uzrokuje abortus kod krava.

Antraks se viđa kod sisara, a ptice su rezistentne na infekciju. Glavni put prenosa infekcije je ingestija spora iz zemljišta tokom paše, unos kontaminirane hrane ili kontaminacija rana. Inhalacija spora se izuzetno retko viđa kod životinja.

Prvu kultivaciju, iz krvi obolele životinje, uradio je *Robert Koch*, 1877. godine. Upoznao je razvoj spore i nastanak vegetativnog oblika. *Louis Pasteur* je 1881. godine napravio prvu vakcinu protiv antraksa, kultivacijom bacila na temperaturi od 42°C, pri čemu je bakterija izgubila virulenciju a sačuvala imunogenost.

Bacillus anthracis

MORFOLOGIJA

Ovo je Gram pozitivni, sporogeni, aerobni štapić, nepokretan, dužine 4-10 μm, širine do 2 μm, na oba kraja zadebljan. U mikroskopskom preparatu bakterije se vide pojedinačno, ili u vidu kraćih i dužih lanaca. Posедуje kapsulu, koja se razvija u živom organizmu, kultivacijom na podlogama sa defibrinisanom konjskom ili ovčijom krvi ili u prisustvu povećane tenzije (20%) CO₂. Virulentni, inkapsulisani bacil nalazi se u tkivima, krvi i drugim telesnim tečnostima uginulih životinja. Vizuelizacija kapsule moguća je uz pomoć bojenja polihromnim metilensko plavim (*MacFadyean's reaction*), pri čemu se kapsula oboji u ružičasto, a sam bacil u plavo. U spoljašnjoj sredini bacil stvara sporu koja je položena centralno, a u preparatu obojenom po Gramu vidi se kao neobojeno telašće. Genom bacila antraksa, sastavljen je od hromozoma i dva plazmida, pX01 i pX02. Glavni strukturni gen za toksine lociran je na pX01, dok je sinteza kapsule vezana za pX02.

KULTURELNE OSOBINE

Bacillus anthracis dobro raste na uobičajenim hranljivim podlogama, ali je najbolje kultivisati ga na krvnom agaru uz dodatak 5% konjske ili ovčije krvi. Na krvnom agaru, posle prekonoćne inkubacije na 37°C, porastu sivkasto-bele kolonije prečnika 0,3-0,5 mm, hrapave, nepravilnih ivica, uzdignute, često končaste, čupave, koje se nazivaju „*caput medusae*“. Ovo su kolonije virulentnih sojeva, u R formi, za razliku od S forme, glatkih, sjajnih kolonija, sa pravilnim ivicama, koje se viđaju kod avirulentnih ili vakcinalnih sojeva.

U razmazu pripremljenom iz kulture, bojenom po Gramu, vide se dugi karakteristični lanci, koji imaju izgled bambusove trske.

FIZIOLOŠKE I BIOHEMIJSKE OSOBINE

Bacillus anthracis je aerobna i fakultativno anaerobna bakterija, koja ne raste na podlozi sa penicilinom. Ne muti bujon, sporo otapa želatin, u kojem raste u vidu obrnute jelke. Fermentuje glukozu, saharozu, dekstrozu, trehalozu i maltozu do kiseline bez stvaranja gasa.

PATOGENOST, EPIDEMIOLOGIJA I PATOGENEZA BOLESTI

Bacillus anthracis je uzročnik antraksa ili crnog prišta (*pustula maligna*). Najčešće oboljevaju herbivori, pre svega goveda i ovce, ređe konji, svinje i koze. Kod domaćih i divljih preživara viđa se najčešće kao septikemija, sa inkubacijom od 3-7 dana, a ukoliko je perakutnog toka može se nastati nakon 1-2 časa, razviti se cerebralna asfiksija, konvulzije i edem pluća zbog čega dolazi do naglog uginuća.

Kod pasa, mačaka i svinja retko se viđa septikemija, češći je faringitis, koji nastaje ingestijom kontaminiranog mesa. Bolest je subakutnog ili hroničnog toka.

Kod konja se viđa septikemija i enteritis, a bolest može biti preneti insektima, sa kožnih rana kod ljudi.

Kod ljudi, u zavisnosti od načina ekspozicije viđa se kožni, plućni i crevni antraks.

Spore bacila mogu ostati decenijama infektivne u zemljištu i predstavljaju stalni izvor infekcije za preživare. Kutani antraks kod ljudi najčešće je posledica kontakta sa kontaminiranim zemljištem. Crevni je posledica konzumacije kontaminiranog mesa. Plućni antraks nastaje nakon inhalacije spora. Infektivna doza varira od 8.000-50.000 spora. Inkubacija može biti vrlo kratka (1-2 dana). Spore germiniraju u makrofagima i raznose se do medijastinalnih limfnih čvorova, nastaje septikemija, a često i meningitis. Humani antraks prisutan je širom sveta, naročito u poljoprivrednim regionima sa neadekvatnim programom kontrole kod stoke. Najčešća forma kod ljudi je kutani antraks, koji se viđa u 95% slučajeva.

Zbog stvaranja vrlo otpornih spora, mogućnosti aerogenog prenosa i visokog mortaliteta, bacil antraksa je vrlo moćno biološko oružje.

FAKTORI VIRULENCIJE

Dva su ključna faktora virulencije bacila antraksa: kapsula koja uzrokuje invazivnu fazu infekcije i produkcija multikomponentnog toksina, koji uzrokuje toksične efekte.

Kapsula je proteinske prirode, sačinjena je od poli D-glutamata. Poseduju je virulentni sojevi, koji na čvrstim podlogama za izolaciju daju razlivene, sluzave kolonije. Produkciju kapsule determiniše plazmid veličine oko 60 megadaltona, pX02. On se prenosi na neinkapsulisane sojeve, transdukcijom. Uloga kapsule je da zaštiti bakteriju od fagocitoze, komplementa i baktericidnih komponenti u serumu. Kapsula se formira *in vivo* ili na specijalnim podlogama u prisustvu povećane tenzije CO₂.

Antraksni toksin otkriven je 1954. godine, dovodi do povećane propustljivosti krvnih sudova, slabljenja pluća i srca, termolabilan je. Produkcija toksina posredovana je plazmidom pX01, veličine 110 megadaltona. Toksin je sačinjen iz tri različite antigenske komponente, proteinske prirode, veličine oko 80 megadaltona:

- edema faktor (EF), to je adenilat ciklaza, toksičan za makrofage, dovodi do povećane propustljivosti krvnih sudova
- letalni faktor, (LF) je proteaza koja indukuje produkciju citokina, suprimira funkciju neutrofila.
- protektivni Ag (PA), nazvan ovako zato što dovodi do stvaranja zaštitnih antitela kod zamorca, smatra se nosačem antraksnog toksina koji ima dve aktivne komponente: EF i LF (edema i letalni faktor).

U zavisnosti od puta unošenja, spore antraksa ulaze i germiniraju u makrofagima, što rezultira razmnožavanjem vegetativnih bacila u citoplazmi, što može da traje od 1- 60 dana. Oslobođanjem multikomponentnog toksina dolazi do hemoragične nekroze limfnih čvorova, hematogenog širenja i septikemije, septičnog šoka i smrti.

Goveda, ovce i koze su najosetljiviji na infekciju, konji i ljudi nešto manje, dok su svinje i karnivori osetljivi samo u slučaju jako velike infektivne doze.

Antaraks se se kod goveda i ovaca viđa u perakutnoj formi, dovodi do septikemije i iznenadne smrti. Kod konja u kliničkoj slici se viđaju kolike a kod pasa gastroenteritis.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnostika antraksa može se raditi samo u specijalizovanim laboratorijama sa najvišim stepenom biosigurnosti.

Izbor kliničkog uzorka zavisi od kliničke manifestacije i lokalizacije infekcije. To mogu biti brisevi kožnih promena, krv ili druge telesne tečnosti. Pošto se kod domaćih i divljih preživara viđa najčešće septikemija uzorak može biti krv uginule

životinje, ili ušna školjka sa okolnom miškulaturom i brisevi organa. Preporuka je ne raditi otvaranje telesne duplje životinja uginulih pod sumnjom na antraks zbog kontakta spora sa vazduhom. Posle prekonocne inkubacije u aerobnim uslovima na 37°C, na krvnom agaru, razviće se tipične kolonije, u R formi „*caput medusae*“, nehemolitične. Za diferencijaciju od ostalih patogenih ali i nepatogenih vrsta, neophodno je dokazati prisustvo kapsule, kultivacijom na defibrinisanoj konjskoj krvi, 0,7% bikarbonatnoj podlozi. Na ovim podlogama razviće se mukoidne kolonije u slučaju inkapsulisanih, virulentnih sojeva. Takođe, može se uraditi biološki ogled na miševima, kojima se kultura injicira intraperitonealno, a miš treba da ugine nakon 24 sata. Potvrda virulencije radi se PCR tehnikom koja se bazira na amplifikaciji fragmenata kapsule ili toksigenih gena, odnosno pX01 i pX02 plazmida.

SEROLOŠKA DIJAGNOZA

Serološku dijagnostiku uveo je *Ascoli*, 1911. godine, a služi za dokazivanje termostabilnog antigena bacila antraksa uz pomoć dijagnostičkog antiseruma. Ovo je metoda precipitacije u tečnom medijumu, kod koje na mestu spajanja antigena i antitela dolazi do stvaranja nerastvorljivog prstena („Interfacijalni test prstena“).

Tabela 6: Diferencijalne karakteristike važnijih vrsta iz *G. Bacillus*

vrsta	hemoliza	pokretljivost	penicilin	7% NaCl
<i>B. anthracis</i>	negativan	negativan	osetljiv	pozitivan
<i>B. cereus</i>	pozitivan	pozitivan	rezistentan	negativan
<i>B. licheniformis</i>	varijabilno	varijabilno	rezistentan	varijabilno

PREVENCIJA I KONTROLA

Pre više od sto godina, 1881. godine *Louis Pasteur* napravio je inaktivisanu vakcinu protiv antraksa, dobijenu kultivacijom na 42°C. *Sterne* (1939. godine) je izolovao neinkapsulisani, avirulentni soj bacila koji je posedovao samo pX01, ne i pX02, koji se i danas koristi kao vakcinalni soj, *Sternov soj*.

Redukcija incidence i prevalence antraksa kod životinja je ključna za kontrolu antraksa kod ljudi. Preventivna vakcinacija rizičnih grupa ljudi (profesionalna izloženost veterinaru, radnika na farmama) može se vršiti adsorbovanom adjuvantnom vakcinom.

Penicilin i doksiciklin su lekovi izbora u terapiji antraksa kod ljudi, dok se ciprofloksacin daje u slučaju plućnih infekcija.

Genus Actinomyces

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U rodu *Actinomyces* nalaze se Gram-pozitivni, asporogeni, nepokretni, fakultativno anaerobni i aerotolerantni štapići, svrstani u klasu *Actinobacteria*, familiju *Actinomycetaceae*.

Većina vrsta na hranljivim podlogama stvara pravi, razgranati micelijum, mrežu hifa, poput gljivica, ali se za razliku od njih, ne može kultivisati na *Sabouraud's (Saburo)* dekstroznom agaru i na sobnoj temperaturi.

Aktinomicete se mogu primarno naći na oralnoj sluznici i zubima, a sekundarno, u gastrointestinalnom traktu. Infekcije koje izazivaju uglavnom nastaju endogeno.

Nastanak piogranulomatoznih promena još uvek je nerazjašnjen. U tkivima domaćina nastaje eksudat sačinjen od mikrokolonija, zvanih „sulfurne granule“ u kojima se nalaze aktinomicete. Kolonije su okružene čvorićima sačinjenim od minerala i inflamatornog detritusa i kompleksa antigena i antitela. Granule se mogu oprati i razoriti i nativno mikroskopirati. U ovakvim preparatima vidi se masa Gram-pozitivnih i bazofilnih filamenata okruženih acidofinom kapsulom.

Vrste koje su najčešće udružene sa pojavom bolesti kod životinja su *Actinomyces bovis*, *A. viscosus* i *A. suis*, dok je *A. israeli* važan patogen ljudi, koji se viđa i kod goveda i svinja.

Actinomyces bovis

Ova aktinomiceta predstavlja deo normalne flore orofaringsa i digestivnog trakta goveda. Ova bakterija izaziva kod goveda aktinomikozu, („lumpy jaw“) koja zahvata kosti, najčešće donju vilicu. Mikroorganizam se širi u dublja tkiva preko dentalnih alveola ili sluznice oštećene grubom hranom ili stranim telom. Razvija se hronična granulomatozna upala donje vilice, gnojna nekroza, a u gnoju se vide mikrokolonije prečnika oko 5mm, koje se nazivaju sulfurne granule.

Pulmonalne infekcije viđaju se kod goveda, drugih preživara i svinja. Kod pasa se razvija spondilitis, kao posledica širenja infekcije iz gornjeg respiratornog trakta, mada se u poslednje vreme registruje i nova vrsta, *A. hordeovulneris*.

MORFOLOGIJA

Actinomyces bovis je Gram pozitivni, pleomorfni, kokoidni, razgranati, filamentozni ili difteroidni štapić, koji ponekad može biti i spiralnog oblika.

KULTURELNE OSOBINE

Actinomyces bovis je fakultativno anaerobna bakterija, a najbolje se kultiviše u atmosferi 10-15% CO₂ na 37°C. Sve aktinomicete za rast zahtevaju obogaćene hranljive podloge, sa dodatkom seruma ili krvi. Evidentan porast se vidi nakon 48-72 sata inkubacije, a maksimalnu veličinu kolonije dostižu za 5-6 dana. Ne daju hemolizu na krvnom agaru. Nakon 24h mikroskopski se vide mrežaste kolonije od filamenata („*spider colonies*“). Tipične makrokolonije detektuju se posle 48h, one su grube i neravne, imaju izgled „molarnog zuba“ a u zavisnosti od vrste, razlikuje se boja i veličina.

A. viscosus se takođe nalazi u usnoj duplji a kod pasa dovodi do kutanog nodulo-ulcerativnog limfangitisa, ili se može razviti torakalna i abdominalna infekcija ili osteomijelitis.

A. suis deo je normalne flore orofaringsa svinja a kod krmača dovodi do stvaranja intramamarnih granuloma, koji verovatno nastaju nakon površinskih povreda tokom sisanja prasadi.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za postavljanje bakteriološke dijagnoze uzima se aspirat iz lezije, koji sadrži sulfurne granule, žućkaste boje, dijametra nekoliko milimetara. Granule se operu u fiziološkom rastvoru i mikroskopiraju u nativnom preparatu. Razorene granule, eksudat ili otisak tkiva, se mogu obojiti po Gramu ili *Kinyion*-u (modifikacija acido-alkohol rezistentnog bojenja po *Ziehl-Neelsen*-u). U preparatu se vide razgranati štapići, Gram-pozitivni, odnosno, u drugom slučaju, plavi štapići (za razliku od mikobakterija, jer nisu acido-alkohol rezistentni, pa se odboje alkoholom).

Uzorak se zasejava na krvni agar, a evidentan porast se vidi nakon 48-72 sata inkubacije. Sumnjive kolonije zahtevaju biohemijsko ispitivanje, radi postavljanja konačne dijagnoze. Morfologija kolonija i biohemijske osobine, najvažnijih vrsta aktinomiceta, date su u tabelama.

Tabela 7. Morfologija kolonija najvažnijih vrsta aktinomiceta

<i>Actinomyces bovis</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>A. suis</i>
Bele kolonije, sa tamnijim centrom, prečnika 0,5-1mm, glatke ili filamentozne sa nepravilnim ivicama	Bele do sive boje, hrapave, suve, ili meke i mukoidne, prečnika 0,5-5mm	Sitne, glatke, sjajne-crvenkaste ili braon boje na krvnom agaru, radikalno filamentozne

KONTROLA I PREVENCIJA

Actinomyces bovis osetljiv je na penicilin, streptomycin, tetracikline, cefalosporine, linkomicin i sulfonamide. Lokalne lezije najčešće se tretiraju Lugolovim rastvorom. I ostale vrste aktinomiceta osetljive su na penicilin.

Tabela 8. Diferencijalne karakteristike najvažnijih vrsta aktinomiceta

karakteristika	<i>Actinomyces bovis</i>	<i>A. viscosus</i>	<i>A. suis</i>
katalaza	negativan	pozitivan	negativan
redukcija nitrata	negativan	pozitivan	pozitivan
ureaza	negativan	pozitivan	pozitivan
hidroliza eskulina	negativan	pozitivan	pozitivan
fermentacija rafinoze	negativan	pozitivan	pozitivan
fermentacija ksiloze	negativan	negativan	negativan

Genus Arcanobacterium

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Arcanobacterium pyogenes

Najvažnija vrsta, predominantno patogena za životinje, je *Arcanobacterium pyogenes*, kokoidni, Gram-pozitivni, nepokretni štapić, koji se može naći u sluznici gornjeg respiratornog, gastrointestinalnog i genitalnog trakta domaćih životinja.

Arcanobacterium pyogenes je oportunistički patogen, a kod goveda izaziva apsces jetre, mastitis, endometritis, pobačaj i endokarditis.

Kod koza se viđa mastitis a kod ovaca pneumonija, pobačaj, endokarditis.

Kod svinja izaziva pneumoniju, septični artritis, endokarditis a kod živine osteomijelitis i nefritis.

Najveći broj infekcija je endogenog porekla, a posledica su povrede ili stresa.

Poseban klinički entitet je „letnji mastitis” („*summer mastitis*“) koji se širi muvama sa jednog na drugo govedo.

MORFOLOGIJA

A. pyogenes je mali, Gram-pozitivni štapić, dimenzija 0,5x2µm, stvara kapsulu i poseduje metahromatske granule. Čelijski zid je sličan korinebakterijama, ali sadrži i lizin, ramnozu i glukozu.

FAKTORI VIRULENCIJE

Najvažniji faktor virulencije *A. pyogenes* je piolizin, (PLO), toksin koji je dermonekrotičan i letalan za miševе i zečeve, a koji stvara pore na ćelijama domaćina. Vrlo je sličan egzotoksinu *Clostridium*-a i *Listeria*. Zatim, kolagen vezujući protein, koji omogućava adheziju na tkiva bogata kolagenom i enzimi: DNA-za, koja degradira nukleinske kiseline, neuraminidaza koja redukuje viskoznost sluzi, proteaza koja može da degradira IgA, čime se suprimira imuni odgovor na sluznicama.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Uzorak se zasejava na krvni agar sa 5% ovčije krvi i inkubira 48h na 37°C. Kolonije su male, prečnika oko 0,5mm, okrugle, konveksne, opalescentne, β-hemolitične. Za razliku od *Corynebacterium spp.* ne kultiviše se na podlogama sa teluritom. Dalja identifikacija radi se pomoću rutinskih biohemijskih testova, uključujući katalazu, oksidazu, redukciju nitrata, eskulin, hidrolizu želatina, fermentaciju maltoze, manitola, saharoze, ksiloze, ureaza test.

PREVENCIJA I KONTROLA

Arcanobacterium pyogenes se može prevenirati tilozinom. Vakcinacija filtratom kulture pokazala se neuspješnom. Subjedinična vakcina koja sadrži piolizin (PLO) produkuje visok nivo antitela u eksperimentalnim radovima na miševima, ali još uvek nije u komercijalnoj upotrebi.

Genus *Corynebacterium*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Bakterije iz ovog roda su Gram-pozitivni, aerobni ili fakultativno anaerobni, nepokretni, pleomorfni, asporogeni štapići, koji spadaju u red aktinomiceta. U ćelijskom zidu sadrže diaminopimelinsku kiselinu, arabinogalaktan i mikoličnu kiselinu, te su genetski srodni sa rodovima *Mycobacterium*, *Nocardia* i *Rhodococcus*. Veliki broj vrsta predstavlja deo normalne flore kože čoveka, a mogu se naći i u zemljištu i na biljkama.

Neki, kao što su *Corynebacterium diphtheriae* i *C. ulcerans*, su važni patogeni ljudi. Najvažniji patogen kod životinja je *C. pseudotuberculosis*, uzročnik limfadenitisa i limfangitisa kod malih preživara i konja. Drugi, nepatogeni mikroorganizmi iz ovog roda nazivaju se difteroidi. Difteroidi su oportunistički patogeni. U njih spadaju *C. renale*, uzročnik urinarnih infekcija kod goveda, *C. bovis*, redak uzročnik mastitisa kod krava, i *C. mastitidis*, uzročnik supkliničkog mastitisa ovaca.

MORFOLOGIJA

U rodu *Corynebacterium* su, Gram-pozitivni štapići, obično zaobljenih krajeva, veličine 1-8 μm i širine 0,3-0,8 μm , u mikroskopskom preparatu raspoređeni pojedinačno ili u parovima, u palisadama ili u nakupinama koja liče na kineska slova. Na polovima sadrže metahromatska (*Babes-Ernst*-ova) zrnca, citoplazmatske inkluzije koje sadrže polifosfate, smatra se da su to energetske rezerve bakterija. Ne stvaraju sporu, nepokretni su, ne pokazuju acido-alkoholnu rezistenciju kao mikobakterije.

KULTURELNE OSOBINE

Korinebakterije su fakultativni anaerobi koji se kultiviraju na krvnom agaru ili selektivnim podlogama sa teluritom (*Cystine-Tellurite blood agar* ili *Tinsdale medium*), na 37°C, u prisustvu CO₂. Inkubacija traje 18-24 sata, a u zavisnosti od vrste, porastu kolonije različitog izgleda, što služi u njihovom diferenciranju.

U tabeli 9. su prikazane morfološke osobine kolonija važnijih vrsta korinebakterija.

Tabela 9. Morfološke karakteristike kolonija *Corynebacterium* spp. (nakon 48h inkubacije na krvnom agaru)

<i>Corynebacterium species</i>	Morfoloģija kolonija
<i>C. pseudotuberculosis</i>	β -hemolitične, bele do sivkaste, voštane, pucketaju na plameniku
<i>C. renale</i>	male, žučkaste, okrugle, mutne
<i>C. bovis</i>	veliĉine 1-2 mm, bele do krem boje, okrugle, granulirane
<i>C. ulcerans</i>	sitne, sa uzanom zonom hemolize
<i>C. diphtheriae</i>	razliĉite veliĉine, najĉešće 1-3 mm u preĉniku, sive, konveksne, moguća zona uzane hemolize

FAKTORI VIRULENCIJE

Toksigene vrste korinebakterija su nosioci *tox* gena, i mogu izazvati difteriju ili sliĉno oboljenje kod ljudi, a tu spadaju varijeteti *C. diphtheriae*: *var. belfanti*, *mitis*, *intermedius* i *gravis* koje mogu retko izazvati mastitis i dermatitis kod goveda, a izoluju se i iz rana kod konja. Ostale toksigene vrste koje se vidaju kod životinja i retko kod ljudi, su *C. ulcerans* i *C. pseudotuberculosis*.

C. ulcerans izaziva mastitis kod krava, a retko apscese i gangrenozni dermatitis kod glodara.

Dva faktora doprinose produkciji difteriĉnog egzotoksina: niska koncentracija gvoždja ekstracelularno i prisustvo lizogeniĉnog profaga u hromozomu bakterije, koji je nosilac gena toksiĉnosti.

Kod životinja su patogene vrste (netoksigene) tzv. „*Corynebacterium renale grupa*“ gde spadaju *C. renale*, *C. cystitidis* i *C. pilosum*, koji dovode do pijelonefritisa i cistitisa kod goveda, ovaca i konja. NajvaŹniji faktor virulencije kod ovih vrsta su adhezivni pili kojima bakterije kolonizuju sluznicu mokraćne beŹike a infekcija se najĉešće javlja u graviditetu, postpartalno ili zbog fiziĉkih oštećenja ili obstrukcije urinarnog trakta. Kolonizacija ureaza pozitivnih bakterija dovodi do povećane produkcije amonijaka koji uzrokuje inflamaciju.

Corynebacterium pseudotuberculosis

Corynebacterium pseudotuberculosis je kokoidni ili filamentozni štapić, duŹine oko 3 μ m. Ova patogena vrsta je fakultativni intracelularni parazit koji uzrokuje kazeozni limfadenitis kod ovaca i koza, ulcerativni limfangitis i apscese kod konja, apscese i mastitis kod goveda, a opisani su i malobrojni humani sluĉajevi, sa aksilarnim limfadenitisom kod veterinarara i radnika na farmama ovaca.

MoŹe se naći u gastrointestinalnom traktu ovaca i zemljištu. Ovce se zaraze najĉešće kontaminacijom rana, kontaktom, dok se kod koza infekcija moŹe preneti i ingestijom ili artropodama (larvama Źtalskih muva).

FAKTORI VIRULENCIJE

Sposobnost intrafagocitnog preživljavanja je najverovatnije omoćućena zahvaljujući lipidima u ćelijskom zidu. Egzotoksin koji proizvodi, dovodi do lize ovčijih i govedih eritrocita i endotelijalnih ćelija, inhibira β toksin *Staphylococcus aureus*-a, izaziva dermalnu nekrozu kod zečeva, letalan je za različite ekperimentalne životinje.

Drugi faktor virulencije je fosfolipaza D (PLD) koja ima ulogu u širenju infekcije, jer uzrokuje inhibiciju hemotaksije, sprečava opsonizaciju, inaktivira komplement i povećava propustljivost krvnih sudova.

KULTURELNE OSOBINE

Ova bakterija najbolje raste na podlozi koja sadrži krv ili serum. Nakon 48h, na krvnom agaru porastu bele do sivkaste kolonije, prečnika oko 1mm, β -hemolitične.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza zasniva se na kultivaciji uzročnika, biohemijskim i fiziološkim testovima. U direktnom mikroskopskom preparatu iz lezija, mogu se intra i ekstracelularno naći difteroidni štapići i postaviti predhodna dijagnoza, u slučaju da je materijal uzet iz primarno sterilnih područja.

Sadržaj apscesa se zasejava na krvni agar i inkubira 24-48h. Kolonije su sitne, beličaste, kod nekih vrsta, β -hemolitične. Biohemijska identifikacija služi za diferenciranje vrsta a podrazumeva ispitivanje razgradnje glukoze, maltoze, saharoze i ksiloze, ureaza test, hidrolizu eskulina i redukciju nitrata.

Tabela 10. Identifikacija korinebakterija od veterinarskog značaja

<i>C. species</i>	β -hemo- liza	eskulin	redukcija nitrata	urea- za	gluko- za	mal- toza	saharo- za	ksiloza
<i>C. pseudotbc*</i>	poz	neg	var	neg**	poz	poz	neg	neg
<i>C. diptheriae</i>	var	neg	neg	neg	poz	poz	neg	neg
<i>C. renale</i>	neg	neg	neg	poz	poz	neg	neg	neg
<i>C. bovis</i>	neg	neg	neg	neg	poz	neg	neg	neg
<i>C. ulcerans</i>	poz	neg	poz	poz	neg	poz	neg	neg

*razlikovanje od drugih β hemolitičnih korinebakterija uz pomoć reverznog CAMP testa

**sojevi kod konja i goveda pozitivni, kod ovaca i koza negativni

Konačna dijagnoza se postavlja uz pomoć testa inhibicije stafilokoknog β -toksina („reverzni CAMP test“) i sinergističke hemolize sa *Rhodococcus equi*.

Mogu se koristiti i serološki testovi: aglutinacija, RVK, indirektna hemaglutinacija, inhibicija hemolize, difuzija u gelu i neutralizacija toksina.

KONTROLA I PREVENCIJA

Životinje sa kazeoznim limfadenitisom moraju biti izolovane, radi sprečavanja kontaminacije i širenja infekcije preko kontaminiranog okruženja. Postoje dve komercijalne vakcine, čija je efikasnost veća od 90%. Vakcinacija najčešće ne eliminiše infekciju iz stada, ali smanjuje incidencu i prevalencu. Korinebakterije su uglavnom rezistentne na tetracikline, a osetljive na penicilin, streptomycin, kanamicin, eritromicin i polimixin B. U prevenciji pijelonefritisa koriste se penicilin i trimetoprim-sulfametoksazol

Genus Nocardia

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U ovaj rod spadaju aerobne, saprofitne aktinomicete prisutne u zemljištu, vodi, na vegetaciji, u životinjskom fecesu. Iako su ljudi i sve životinje osetljivi na infekciju, (mačke, konji, koze, ovce, svinje, preživari, divlji karnivori, zečevi, ribe, ptice) najčešće oboljevaju psi. Izazivaju lokalizovane ili diseminovane supurativne i piogranulomatozne infekcije.

Rod obuhvata više vrsta a patogeni značaj imaju *N. asteroides*, koja uzrokuje najveći broj slučajeva, *N. brasiliensis* koja dovodi do pneumonije i pleuritisa kod konja i *N. otitidiscaviarum* s. *caviae* koja se viđa kod bovinog mastitisa, ali i pneumonije i diseminovanih infekcija kod drugih životinja.

N. asteroides se sreće u umereno-klimatskim područjima, dok se *N. brasiliensis* sreće u tropskim i subtropskim regionima.

Infekcija se prenosi na tri načina: inhalacijom, ingestijom ili traumom. Mastitis kod krava uglavnom se širi od osoblja ili opreme na farmama.

Patogene nokardije preživljavaju fagocitozu, a širenje infekcije dovodi do supurativnog procesa sa stvaranjem granuloma. Kod pasa se najčešće viđa empijem u toraksu sa granulomatoznim serozitisom. Eksudat je sangvinopurulentan, a ponekad sadrži, male granule, (prečnika manjeg od 1mm) koje sadrže bakterije i neutrofile, koje liče na sulfurne granule *Actinomyces*-a ("sulfur granule like").

MORFOLOGIJA

Nokardije su Gram-pozitivne, acido-alkohol rezistentne, razgranate, filamentozne bakterije, sa arhitekturom ćelijskog zida tipičnom za aktinomicete. Osim mikolične kiseline, sadrže "nocardia" lipide koji su faktor virulencije, jer sprečavaju fagocitozu. Poseduju tipski specifičan solubilni antigen, ne produkuju egzotoksine.

KULTURELNE I BIOHEMIJSKE OSOBINE

Iako su vrlo slične ostalim aktinomicetama, za razliku od njih, mogu se kultivisati na *Saburaud*-ovom agaru, koji je namenjen za izolaciju gljivica, u temperaturnom opsegu od 10-50°C. Kultivacija uspeva na najjednostavnijim bakteriološkim i mikološkim podlogama. Sve su obligatni aerobi. Kolonije koje se vide nakon nekoliko dana, mogu biti različito pigmentisane. Površina kolonija je baršunasta, a dijametar može biti i nekoliko centimetara.

Biohemijska aktivnost uključuje produkciju katalaze, razgradnju različitih šećera i hidrolizu uree.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza se bazira na izolaciji uzročnika na krvnom ili čokoladnom agaru i *Sabour*-ovom agaru. Inkubacija se vrši na 25°C i 37°C, 4-5 dana. Na krvnom i čokoladnom agaru nakon 48h porastu sitne kolonije („mikrokolonije”). Na agaru sa ovčijom krvi može se javiti hemoliza, iako je većina sojeva *N. asteroides* nehemolitična. Kolonije *N. asteroides* su crvenkaste ili narandžaste, sa belim do ružičastim vazдушnim micelijumom. One su naborane, slične površini mozga. Kultivacijom na kukuruznom agaru bez dekstroze, na 25°C, 3 nedelje, na površini kolonija javlja se „vazdušni micelijum“ u kojem su filamentozne hife pod pravim uglom, što ovaj rod diferencira od brzorastućih mikobakterija. Kolonije *N. asteroides* su crvenkaste ili narandžaste, sa belim do ružičastim vazдушnim micelijumom. *N. brasiliensis* stvara nefragmentirani vazdušni micelijum i tamno je pigmentisana. *N. otitidiscaviarum* je bleđa, blago krem boje, kao breskva.

Dalje identifikacija radi se pomoću biohemijskih testova, a ispituje se razgradnja kazeina, ksantina i tirozina.

Serološka dijagnoza, može se raditi uz pomoć imunofluorescentnog ili ELISA testa i Western blot-a.

PREVENCIJA I KONTROLA

Nokardija je neosetljiva na penicilin i ne postoji efikasna terapija za mastitis. U drugim slučajevima može se koristiti trimetoprim-sulfametoksazol, novobiocin, ampicilin ili tetraciklini.

Genus Dermatophilus

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U ovom se rodu nalaze aerobni Gram pozitivni, razgranati, filamentozni bacili koji produkuju pokretnu zoosporu, a vazdušni micelijum uglavnom nedostaje. Micelijum sadrži duge filamente razgranate pod pravim uglom, a horizontalni i vertikalni preseći daju izgled „raskrsnice” sačinjene od kokoidnih bacila. Bakterije iz ovog roda nisu acido-alkohol rezistentne i katalaza su pozitivne.

Dermatophilus congolensis je obligatni parazit životinja koji uzrokuje eksudativni dermatitis kod stoke. Bolest se viđa kod goveda u tropskim i subtropskim krajevima (Zapadna i Centralna Afrika, Karibi) i kod ovaca u Australiji.

Infekcija se širi kontaktom ili ubodom krpelja (*Amblyomma variegatum*). *Dermatophilus congolensis* produkuje fosfolipazu i proteolitičke enzime, koji igraju ulogu u probijanju epitelijalne barijere i širenju mikroorganizma. Kokoidni bacili produkuju hife koje se šire kroz epidermis i stvaraju mrežu filamenata sastavljenih od bakterija. Pokretne zoospore razvijaju se od kokobacila i oslobađaju iz vlažnih krusta na koži, prelaze na novo mesto ili na drugu životinju.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dijagnoza se bazira na nalazu morfološki odgovarajućeg mikroorganizma u razmazu iz kliničkog uzorka. U preparatu se vide Gram-pozitivne, razgranate hife. Posle inkubacije od 24h na krvnom agaru porastu sitne sivkasto-bele kolonije, koje za 2-5 dana postaju narandžaste i β -hemolitične. Bojenjem preparata iz kulture, pod mikroskopom se vide filamenti i kokoidne bakterije ružičaste boje u paketima. Septiranje hifa dovodi do stvaranja zoospora koje su pokretne, imaju polarnu flagelu. Dalja identifikacija radi se pomoću testova fermentacije glukoze, redukcije nitrata, kultivacije na 25°C.

PREVENCIJA I KONTROLA

Ne postoji efikasna vakcina a u terapiji dermatofiloze penicilin i streptomycin dati zajedno su efikasni kao i tetraciklini i hloramfenikol.

Genus *Listeria*

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Listeria monocytogenes je uzročnik listerioze, zarazne bolesti brojnih vrsta životinja, ptica i ljudi koja se pojavljuje širom sveta. Od domaćih životinja najčešće oboljevaju preživari. Pojavljuje se sporadično, ređe enzootski u obliku septikemije, meningoencefalitisa, pobačaja, ređe mastitisa. Od 1981. godine *Listeria monocytogenes* se identifikuje kao agens „food borne disease” (bolesti uzrokovane hranom).

Listerije su ubikvitarni mikroorganizmi, široko rasprostranjeni u prirodi i mogu se izolovati iz zemljišta, biljaka, tekućih i otpadnih voda i kod više od 50 vrsta životinja, uključujući i ptice.

Rod *Listeria* obuhvata 7 različitih vrsta (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. weshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi subsp. grayi* i *L. grayi subsp. murrayi*) a postoje različite podele na patogene i nepatogene, kao i one koje stvaraju hemolizu i bez hemolize.

Listeria monocytogenes je patogena za ljude i životinje a *Listeria ivanovii* samo za životinje.

MORFOLOGIJA

Listerije su mali, Gram-pozitivni, pokretni kokoidni štapići sa zaobljenim krajevima, bez spore i kapsule. Pokazuju tendenciju obrazovanja kraćih lanaca, a ponekad su raspoređene u vidu slova V i Y. U starijim kulturama mogu se naći u vidu dugih i tankih štapića i kao niti. Pokretne su na temperaturi od 22-25°C, zahvaljujući peritrihijalnim flagelama, kojih obično ima od 2-5.

KULTURELNE OSOBINE

Listerije se dobro razmnožavaju na uobičajenim hranljivim podlogama u aerobnim uslovima. Za izolaciju listerija se može koristiti običan ili selektivni krvni agar uz dodatak kolistina, akriflavina, nalidiksične kiseline, cikloheksamida ili kalijum telurita. Navedene inhibitorne supstance imaju za cilj da poboljšaju selektivnost podloga tako što sistiraju rast prateće flore. Kao fakultativni anaerob dobro raste u atmosferi uz dodatak 10% CO₂. Može da raste na temperaturi od 3-45°C, optimalno na 30-37°C, i u pH sredini između 5,6 do 9,6.

Različite sojevi listerija stvaraju nekoliko formi kolonija. Kod svežih izolata najčešća je „S” forma, sa uzdignutim ivicama i ulegnutim centrom, koja pasažiranjem prelazi u „R” oblik, sa neravnim ivicama i hrapavom površinom.

Listeria monocytogenes na krvnom agaru sa ovčijom krvi posle inkubacije od 24-48 sati stvara usku zonu β-hemolize, a kolonije su okrugle, sitne, plavo-bele

i prozirne. U polutečnom agaru za ispitivanje pokretljivosti, zasejanom ubodom, na temperaturi od 25°C raste tipično u obliku kišobrana.

FIZIOLOŠKO - BIOHEMIJSKE OSOBINE

Biohemijska aktivnost *L. monocytogenes* nije velika i razlikuje se kod pojedinih sojeva. Listerije su katalaza pozitivne, oksidaza negativne i vrše hidrolizu eskulina. Fermentuju glukozu, maltozu, levulozu i trehalozu bez stvaranja gasa. Reakcije sa metil-crvenim i Voges-Proskauer su pozitivne. *L. monocytogenes* daje pozitivan CAMP test sa *Staphylococcus aureus*, ali ne i sa *Rhodococcus equi*.

ANTIGENSKA GRAĐA

Antigenaska građa je bila predmet intenzivnog proučavanja. Serološka tipizacija *Listeria* vrsta se izvodi na osnovu identifikacije somatskog O i flagelarnog H antigena primenom specifičnih hiperimunih seruma. Do sada je identifikovano 13 različitih serovarijeteta, kod kojih određeni antigeni nisu specifični, već je prisutna unakrsna srodnost sa drugim vrstama listerija kao i nekim drugim bakterijama.

Iz patološkog materijala obolelih domaćih životinja najčešće se izoluju sledeći serotipovi *L. monocytogenes*: 4b, 1/2a, 1/2b i 3.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Različiti serotipovi *L. monocytogenes* različitih su mogućnosti za izazivanje bolesti. Većina prisustnih listerija u našem okruženju ima različitu virulentnost i samo nekoliko serotipova je odgovorno za pojavu ozbiljne bolesti. Osim toga i mnogi faktori sredine mogu da utiču na pojačavanje ili slabljenje virulentnosti serotipova *L. monocytogenes*. Do sada je utvrđeno više faktora i supstanci koji doprinose patogenim svojstvima listerija.

L. monocytogenes ulazi u ćelije domaćina procesom fagocitoze pomoću internalina A, površinskog proteina listerija. Slično dejstvo ima i internalin B, površinski protein p104 koji je smešten na površini bakterijske ćelije i ima ulogu u adheziji za intestinalne ćelije. Listeriolizin O je toksin veoma bitan u patogenezi listerioze, koji obezbeđuje prisustvo listerija u citoplazmi ćelija, čime su zaštićene od dejstva antitela. Za patogeno delovanje *L. monocytogenes* značajni su i ActA protein, fosfolipaza A i B, metaproteaza, Clp proteaza i protein p60. Na ekspresiju nekih virulentnih faktora *L. monocytogenes* mogu da utiču i drugi faktori, kao što su temperatura, pH sredine i gvožđe.

U patogenezi listerioze ima još uvek nerazjašnjenih činjenica. Nakon peroralnog ulaska u organizam, uzročnik penetrira sluzokožu creva, zatim sledi ili inaparentna infekcija ili bakterijemija sa lokalizacijom u različitim organima. Alternativni put je preko oštećene sluzokože usta, nosa, oka i preko perifernih nerava i n. trigeminusa do centralnog nervnog sistema. Septikemijski oblik se

najčešće javlja kod jaganjaca, sa ili bez meningoencefalitisa, a kod gravidnih životinja listerije prolaze placentu dolaze do fetusa i izazivaju bakterijemiju. Pobačaj nastaje zbog edema i nekroze placente, a kada je infekcija nastala pred kraj graviditeta registruju se mrtvorodenost ili slabovitalan podmladak.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Kontaminirano zemljište i hranjenje životinja kontaminiranom hranom je osnovni put zaražavanja listerijama. Za pojavu bolesti bitni su i faktori spoljašnje sredine, uslovi ishrane i držanja. Ishrana silažom je dobro poznat faktor koji doprinosi nastanku oboljenja. Otporna je prema uslovima u spoljašnjoj sredini. Veoma je otporna prema niskoj temperaturi (4°C). Neki sojevi preživljavaju temperaturu pasterizacije. Otporna je prema alkalnoj i kiseloj sredini. Osetljiva je na veći broj najčešće korišćenih dezinfekcionih sredstava.

U prirodnim uslovima od listerioze najčešće oboljevaju ovce i goveda. Oboljenje može da protekne u više formi (nervna, abortivna, visceralna), a infekciju prati meningoencefalitis, sepsa, pobačaj, mastitis. Septikemijsku formu prati povišena temperatura, pospanost, inapetencija a smrt nastaje zbog prestanka disanja. Kod nervne forme uočava se nekordinisano kretanje, anoreksija, hodanje u krug, paraliza facijalnog nerva. Kod goveda se pobačaji javljaju sporadično nakon 7-og meseca graviditeta, a kod ovaca posle 12-te nedelje. *L. monocytogenes* kod goveda može izazvati i mastitis.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Laboratorijska dijagnoza može se postaviti direktnim (dokazivanje uzročnika) i indirektnim metodama (serološkim reakcijama).

Za etiološku dijagnozu najvažnija je izolacija uzročnika. Uzorci koji se šalju na ispitivanje mogu da budu veoma različiti, a zavise od vrste životinje i kliničke forme bolesti. Kod septikemijske forme uzročnik se dokazuje u krvi i parenhimatoznim organima, kod pobačaja u fetusu i posteljici, a kod nervne forme u mozgu. Za mikrobiološki pregled mogu se koristiti i uzorci hrane za životinje, posebno silaža, kao i uzorci prostirke i otpadnih voda.

Listerije se mogu utvrditi primenom konvencionalnih i brzih metoda za dokazivanje i identifikaciju *L. monocytogenes* iz patološkog materijala, uzoraka hrane i sredine. Kultivacija *L. monocytogenes* se smatra „zlatnim standardom” kada je reč o dokazivanju listerioze.

Za izolaciju listerija mogu da se primene obični i selektivni krvni agar sa dodatkom kolistina i nalidiksične kiseline, odnosno kalijum telurita. U primeni su brojne komercijalne selektivne podloge: *Aloa agar*, *Palcam agar*, *LPM agar*, *Half Fraser* bujon, *Oxford agar*. Nakon zasejavanja, podloge se inkubiraju 24-48 sati na 37°C u aerobnim uslovima. Identifikacija se vrši ispitivanjem biohemijskih

osobina. Danas je u primeni API Listeria standardizovani sistem za identifikaciju listerija.

Brzi metodi dokazivanja *L. monocytogenes* zasnivaju se na analizi nukleinske kiseline, a to su PCR (klasična PCR, BAX-PCR, kompetitivna PCR, FRET-PCR, RT-PCR), NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*), RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*randomly amplified polymorphic DNA*), FISH (*fluorescence in situ hybridization*).

Serotipizacija se vrši primenom antiseruma O i H *L. monocytogenes* i primenom bakteriofaga.

Za identifikaciju i utvrđivanje virulencije kod izolovanih sojeva listerija koristi se biološki ogled (Antonov ogled), kada se 24 časa stara bujonska kultura ukapa u medijalni očni ugao kunića ili zamorca i prati pojava gnojnog keratokonjuktivitisa.

Za serološka ispitivanja koriste se uzorci krvnog seruma.

Za dokazivanje specifičnih antitela u krvnom serumu inficiranih jedinki u primeni je metod mikroaglutinacije, RVK i ELISA. Serološki testovi koji se koriste nisu našli punu i adekvatnu primenu, jer nisu dovoljno osetljivi i specifični. Eksperimentalno se vrše istraživanja u pravcu primene indirektnog ELISA testa i *Western blot* testa za detekciju antitela za listeriolizin O u serumima inficiranih ovaca.

PREVENCIJA I KONTROLA

L. monocytogenes je osetljiva *in vitro* na penicilin, ampicilin, eritromicin i tetracikline. Hlortetraciklin i penicilin se najčešće koriste za lečenje životinja. Zbog ubikvitarne prirode *L. monocytogenes* i nedovoljno poznatih faktora koji dovode do infekcije ne postoje specifične mere profilakse. Mere kontrole uključuju adekvatnu ishranu, kontrolisanu upotrebu silaže, izbegavanje stresa, poboljšanje uslova uzgoja i primenu biosigurnosnih mera. Obolele životinje treba izolovati a infektivni materijal, mleko, postpartalne produkte, fetus, placentu, potrebno je neškodljivo ukloniti. Primena vakcinacije kod ovaca dala je oprečne rezultate.

Genus *Erysipelotrix*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Erysipelotrix rhusiopathiae je bakterija koja se može naći u digestivnom traktu i tonzilama zdravih životinja. Izaziva erizipel, infekciju koja se najčešće viđa kod svinja, a retko kod ovaca i ćuraka. Klinički se viđa septikemija, generalizovana kožna forma, artritis i vegetativni endokarditis. Kod ljudi se viđa lokalna kožna infekcija, najčešće na rukama, koja se naziva erizipeloid.

Infekcija se najčešće širi ingestijom kontaminirane hrane ili vode ili, ređe, ubodom artropoda.

Erysipelotrix tonsillarum može se naći u kliničkim uzorcima, ali nije patogen za svinje.

MORFOLOGIJA

Erysipelotrix je Gram-pozitivni, nepokretni, asporogeni bacil, dimenzija 0,8-2,5x0,2-0,4 μ m. U preparatu iz kulture nakon dužeg stajanja, daje filamentozne forme dužine do 60 μ m. Posедуje kapsulu koja je faktor virulencije.

KULTURELNE OSOBINE

Erysipelotrix je fakultativni anaerob, bolje raste u prisustvu 5-10% CO₂. Najbolje raste na podlogama sa glukozom. Optimalna temperatura raste je od 30-37°C, iako raste u opsegu od 5-42°C.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija uzročnika u slučaju septikemije radi se iz krvi obolele životinje. Od uginule životinje uzimaju se uzorci parenhimatoznih organa. Uzorak se zasejava na krvni agar i inkubira na 37°C, u prisustvu 10% CO₂. Nakon 48h porastu male, blago konveksne kolonije, okrugle, prozračne, sa α -hemolizom. Konačna identifikacija radi se pomoću biohemijskih testova. *Erysipelotrix* ne vrši hidrolizu eskulina i uree, redukuje nitrate, fermentuje glukozu, laktozu, levulozu i dekstrin.

U identifikaciji se mogu koristiti i selektivne podloge koje sadrže aminoglikozide i vankomicin, kristal violet ili natrijum-azid, koji sprečavaju razvoj drugih bakterija u kontaminiranom tkivu.

KONTROLA I PREVENCIJA

Za lečenje erizipela koristi se penicilin. Bakterija je osetljiva i na cefalosporine, klindamicin i fluorohinolone. Mogu se alternativno koristiti tetraciklini ili tilozin, a rezistencija se viđa na neke makrolide (eritromicin, oleandomicin) i oksitetraciklin.

Genus Mycobacterium

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Stanko Boboš, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Taksonomski položaj genusa *Mycobacterium* određen je na osnovu odnosa G+C, tako da spada u *Phylum Actinobacteria*, red *Actinomycetales*, u familiju *Mycobacteriaceae*, Sekciju 16 po *Bergey*-u, gde se nalazi preko 30 vrsta, koje mogu biti saprofiti, oportunisti ili patogeni mikroorganizmi. Na osnovu fenotipskih karakteristika tu spadaju i rodovi: *Nocardia*, *Rhodococcus* i *Corynebacterium*.

Mikobakterije su striktno aerobni, acido-alkohol rezistentni, Gram-pozitivni, asporogeni, katalaza pozitivni nepokretni vitki ili nešto savijeni štapići, dugački 1-10mm i široki 0,2-0,6mm. Mogu da se granaju, da budu filamentozni, pojedinačni štapići, ili kokobacili. Nemaju flagelu i kapsulu, a pošto su acido-alkohol rezistentni, boje se po *Ziehl-Neelsen*-u u crveno. Rezistencija na uobičajeno mikrobiološko bojenje uzrokovana je građom ćelijskog zida, jer se preparat mora zagrevati nad plamenikom da bi se štapići odbojili kiselim alkoholom i obojili u crveno, karbol fuksinom. Naime, u zidu bakterijske ćelije nalazi se velika količina lipida, koji se nazivaju mikozidi. Površinski mikozidi, uglavnom glikolipidi i peptidoglikolipidi, određuju karakteristike kolonija, serološku specifičnost i osetljivost na bakteriofage. Ispod njih se nalaze razgranati dugački lanci mikolične kiseline i njenih estara, koji se vezuju za peptidoglikane pomoću arabinogalaktana, s kojim zajedno čine formaciju koja se naziva liparabinomanan. Ona je najznačajniji faktor virulencije jer sprečava fagocitozu i lizu, odnosno sprečava formiranje fagolizozoma i omogućava preživljavanje i razmnožavanje bacila u makrofagima. Ovakva kompozicija ćelijskog zida štiti bakteriju od isušivanja i ekstremnih vrednosti pH i drugih nepovoljnih faktora spoljašnje sredine.

Neke vrste rastu na jednostavnim sintetičkim podlogama, dok druge zahtevaju albumine ili kokošije jaje, krvni serum ili ekstrakte tkiva životinja.

Po brzini rasta se jako razlikuju, tako da su neke vidljive golim okom u toku 7 dana, (brzorastuće) a neke posle nekoliko nedelja do čak 5 meseci (spororastuće). Vreme generacije zya *M. tuberculosis* iznosi 300 minuta, dok za npr. *Escherichia coli* ono iznosi svega 20 minuta. Optimalna temperatura rasta je između 25-45°C, a temperatura kultivacije služi za diferenciranje vrsta.

Mnoge vrste produkuju pigmente, karotinoide, što se koristi u identifikaciji i diferencijaciji. Kolonije nekih vrsta su slabo pigmentisane, obično krem boje, druge su žute, narandžaste ili crvene. Skotohromogene vrste produkuju pigment u odsustvu ili prisustvu svetlosti, (npr. *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*) dok fotohromogene vrste zatevaju svetlost za produkciju pigmenta (npr. *M. kansasii*,

M. simiae). Neke vrste su nepigmentisane, i u njih spadaju *M. tuberculosis*, *M. avium-intracellulare*, *M. bovis*, *M. ulcerans*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*.

Danas se koristi podela na sledeće grupe, preporučena od strane Međunarodnog udruženja za tuberkulozu:

- mikobakterije koje izazivaju tuberkulozu, *Mycobacterium tuberculosis kompleks*
- atipične mikobakterije
- mikobakterijum lepre i
- nepatogene mikobakterije

Mycobacterium tuberculosis kompleks

U ovu grupu mikobakterija spadaju one vrste koje izazivaju tuberkulozu, i to:

M. tuberculosis – izaziva tuberkulozu kod ljudi i primata,

M. africanum – izaziva tuberkulozu kod primata, pasa, svinja

M. bovis – izaziva tuberkulozu goveda i drugih preživara, ljudi, pasa, mačaka, svinja, zečeva.

Mycobacterium tuberculosis

Mycobacterium tuberculosis izaziva hronično granulomatozno oboljenje-tuberkulozu. Ova infekcija je pre svega problem humane medicine, iako su na infekciju osetljivi psi, svinje, neke ptice. Kutana tuberkuloza kod mačaka koja se klinički ispoljava kao multiple eksudativne ulceracije i apscesi, tj. piogranulomatozni dermatitis sa kazeoznom nekrozom, može biti uzrokovana sa *M. tuberculosis* ili *M. bovis*. Ova bakterija mora biti uključena u diferencijalnu dijagnostiku granulomskih bolesti toplokrvnih životinja.

MORFOLOGIJA I GRAĐA

Mycobacterium tuberculosis je 1882.godine otkrio Robert Koch ("Kohov bacil"). To su pravi ili lagano savijeni štapići, vitki, dugački. Raspoređeni su pojedinačno ili u grupama u vidu slova V, M, X, ponekad lancima. Virulentni sojevi pokazuju u mikroskopskom preparatu, oblike u vidu užadi ili združenih vlakana ("cord"). Nema flagele, ne stvara sporu.

FAKTORI VIRULENCIJE

Osim citoplazmatske membrane i ćelijskog zida *M. tuberculosis* sadrži spoljašnji amorfnu sloj. Zbog hemijskog sastava (lipidi) teško se boji anilinskim bojama. Lipidi čine 40% suve supstance ove bakterije. Daju acidoalkoholnu rezistenciju, uslovljavaju karakteristike rasta i razmnožavanja i obezbeđuju patogenost. Najvažniji su mikozi, a jedan od njih je mikolična kiselina.

To je β -hidroksibuterna kiselina koja može biti slobodna ili vezana ugljenim hidratima (glikolipid). Lipoarabinomanan, glikolipid iz ćelijskog zida suprimira T limfocitnu proliferaciju i indukciju interferona γ . Bakterije koje fagocituju alveolarni makrofagi, preživljavaju i razmnožavaju se unutar njih, što je ključni faktor u razvoju bolesti. Mikobakterije su rezistentne na bakteriocidne mehanizme profesionalnih makrofaga. U najvećem broju slučajeva, infekcija se ne razvija jer je zaustavlja imunski odgovor. Ukoliko je on neadekvatan, razvija se specifična infekcija, granulomatozna upala, sa stvaranjem granuloma-tuberkula, u kojima se nalaze slojevi T limfocita, makrofaga, neutrofila, višesedarne džinovske ćelije i tanak sloj fibrina. »Cord faktor« (trehaloza-dimikolat) inhibira mitohondrije makrofaga i hemotaksiju, a mehanizam destrukcije plućnog tkiva verovatno je posledica aktivacije TNF α (faktor nekroze tumora α).

Fosfolipidi, najvažniji fosfatidil-inosit-dimanozid, daju antigenska svojstva bacila.

Voskovi, kojih ima 4 vrste, A,B,C i D a razlikuju se po topivosti u organskim rastvaračima, takođe su faktor virulencije. Ne zna se mnogo vosku A i B i njihovom značaju ali za vosak B je poznato da je kompleksna smeša raznih voskova i glicerida sa nešto mikoličnih kiselina. Vosak C, sadrži fitocerol-dimikocerostat, gliceride i »cord faktor«. Vosak D, sadrži 15-25 molekula mikolične kiseline, esterifikovane u polisaharidne komplekse i vezane za peptidoglikan. Ukoliko se emulguje s vodom, deluje kao adjuvans, pojačava stvaranje antitela, (*Freund-ov adjuvans*).

Proteini čine 50% suve materije ove bakterije, postoje tri frakcije, A,B i C, mogu izazvati tuberkulinsku reakciju, a najaktivniji u kožnim reakcijama pripada frakciji A.

Tuberkulin je ekstrakt *Mycobacterium*-a, koji sadrži specifični protein. Još je Robert Koh ustanovio da filtrat tečne kulture *M. tuberculosis*, ubrizgan životinji predhodno zaraženoj tuberkulozom, dovodi do pojave karakteristične alergijske reakcije kasnog tipa, koja se naziva tuberkulinska reakcija. Koh je napravio tzv. »alt tuberkulin«, koji predstavlja tečnost tamno-mrke boje, sačinjenu od autolizovanih, toplotom ubijenih bacila iz tečne kulture. Izdvajanjem čistih proteina, Sajbertova je dobila PPD, prečišćeni proteinski derivat, alergen koji se i danas koristi za otkrivanje osoba s tuberkulozom. Izvođenje ove kožne reakcije najčešće se radi *Mantoux*-ovom probom (intradermalno ubrizgavanje alergena).

Bacil je otporan u spoljašnjoj sredini, osetljiv na sunčevo svetlo, na direktnom svetlu ugine za 5 minuta, a na 60°C ugine za 20 minuta. Ne luči egzotoksin a enzime produkuje tek po raspadanju u organizmu, čime dovodi do razaranja tkiva.

KULTURELNE, FIZIOLOŠKE I BIOHEMIJSKE OSOBINE

U pogledu nutritivnih potreba, vrlo izbirljiva bakterija, ne razmnožava se na običnim već specijalnim hranljivim podlogama, u aerobnim uslovima na temperaturi od 37°C i pH 6,7-6,9. Za kultivaciju se koristi specijalna, *Lowenstein*

Jensen-ova podloga. Ova podloga sadrži sveža kokošija jaja i glicerol a za pun porast zahteva 6-8 nedelja inkubacije. Kolonije su grube, debele, naborane površine, nejednake veličine, pigmetisane od bele do mrko žute boje, teško se emulguju. *M. tuberculosis* redukuje nitrata, produkuje ureazu, nijacin test je pozitivan, ne fermentuje UH, ne produkuje katalazu.

Mycobacterium bovis

Mycobacterium bovis izaziva u prvom redu tuberkulozu goveda i drugih preživara, zatim mačaka i drugih mesojeda, svinja i ljudi. Na osnovu molekularnih ispitivanja, od ove vrste izdvojena je nova vrsta, *Mycobacterium caprae*, koja se u nekim zemljama sreće kao primarni patogen koza a u Centralnoj Evropi viđa se često i kod goveda, i *M. pinnipedii*, kod foka i morskih lavova. I ove dve nove vrste takođe su zoonotskog značaja. Ova infektivna bolest manifestuje se granulomskim lezijama u vidu tuberkula, najčešće u limfnim čvorovima glave i toraksa, u plućima, crevima, jetri, slezini, pleuri i peritoneumu. Infekcija se kod stoke prenosi najčešće aerosolom, a ređe ingestijom kontaminirane hrane ili vode. Plućna tuberkuloza značajna je kod radnika na farmama i klanicama, dok je transmisija preko mleka i proizvoda od mleka eliminisana zahvaljujući pasterizaciji.

Morfološki su vrlo slični sa *M. tuberculosis*. Ovi štapići su nešto kraći i zdepastiji, obično su nejednakih oblika i veličine. U pogledu kulturelnih osobina, razlikuje se po brzini rasta, kultiviše se duplo duže od *M. tuberculosis*, kolonije su sitne i gotovo glatke, a posle tri nedelje postaju granulirane. Rast im je oskudan (disgoničan). Antigenski sastav je takođe sličan. Biohemijske osobine služe u diferencijalnoj dijagnostici od *M. tuberculosis* i *M. africanum*.

U tabeli 11. su prikazane neke razlike između *Mycobacterium bovis* i *M. tuberculosis*.

Tabela 11. Razlike između *Mycobacterium bovis* i *M. tuberculosis*

osobina	<i>Mycobacterium bovis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Mikroskopski izgled	Debeli, zdepasti, nejednaki štapići	Tanki, savijeni, podjednaki štapići
Brzina rasta	2 puta sporije od <i>M. tuberculosis</i> vidljiv rast za 21-28 dana	Relativno brz, vidljiv rast za 14-21 dan
Dejstvo glicerola	Disgoničan rast	Eugoničan rast
Izgled kolonija	Sitne, glatke, sjajne, vlažne, prozračne, bezbojne	Suve, granulirane, mat, sivo-bele do žućkaste boje
Patogenost za zamorca	Patogen, sa mnogo uzročnika u patološkom materijalu	Veoma patogen, s malim brojem uzročnika u patološkom materijalu
Patogenost za kunića	Veoma patogen	Slabo patogen

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA MIKOBAKTERIJA

Prisustvo *Mycobacterium bovis* i drugih mikobakterija u kliničkim ili postmortalnim uzorcima može se utvrditi ispitivanjem obojenih mikroskopskih preparata, (razmaza ili histološkog reza) a potvrđuje se kultivacijom i izolacijom uzročnika.

Za laboratorijsko ispitivanje se kod goveda uzima deo organa sa nekoliko tuberkula (ako se vide) ili limfni čvorovi glave, pluća, mezenterijalni i hepatični limfni čvorovi. Kod sumnje na tuberkulozu vimena uzima se 10ml mleka iz svake četvrti (zažvotno) ili, postmortalno, komadić vimena s limfnim čvorovima.

Kod pasa se uzima punktati grudne ili trbušne duplje, kod svinja limfni čvorovi glave, vrata, pluća, creva. Materijal se dostavlja u laboratoriju u plastičnim kontejnerima za jednokratnu upotrebu.

MIKROSKOPSKO ISPITIVANJE

Direktni razmaz kliničkog uzorka boji se po *Ziehl Neelsen*-u, i u njemu se vide crveno obojeni štapići koji se ne mogu sa sigurnošću determinisati pa se postavlja predhodna dijagnoza, a konačna dijagnoza tuberkuloze odnosno mikobakterioze, može se postaviti tek nakon izolacije uzročnika iz patološkog materijala.

KULTIVACIJA MIKOBAKTERIJA KOJE IZAZIVAJU TUBERKULOZU

Uzorak se pre kultivacije homogenizuje i dekontaminira, npr. natrijum-hidroksidom, oksalnom kiselinom ili nekim deterdžentom i zasejava na *Lowenstein-Jensen*-ovu podlogu. Kultiviše se najmanje 8, najbolje 10-12 nedelja, na 37°C, sa ili bez CO₂. Porast se vidi za 2-6 nedelja. Iz kulture se pravi razmaz i boji po *Ziehl Neelsen*-u.

Dalja identifikacija radi se na osnovu brzine porasta, morfologije i boje kolonija, rasta u odnosu na temperaturu kultivacije, biohemijskih osobina (redukcija nitrata, ureaza, katalaza, nijacin test).

Za postavljanje dijagnoze *Mycobacterium bovis* može da posluži osetljivost na paraaminosalicilnu kiselinu i streptomycin.

Tabela 12. Temperatura kultivacije i biohemijski testovi u diferencijaciji nekih mikobakterija

Vrsta mikobakterija	22°C	37°C	45°C	Redukcija nitrata	Nijacin test	Katalaza	Ureaza
<i>Mycobacterium bovis</i>	-	+	-	-	-	-	+
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	+	-	+	+	-	+
<i>Mycobacterium avium</i>	+	+	+	-	-	+	-

Brza identifikacija *Mycobacterium bovis* i drugih mikobakterija, može se raditi i molekularnim genetičkim metodama, DNA probama i PCR tehnikom. Najbolje je koristiti istovremeno klasičnu kultivaciju i direktnu PCR tehniku.

TUBERKULINSKA REAKCIJA
(ZAŽIVOTNA DIJAGNOSTIKA TUBERKULOZE)

Standardni metod za dijagnostiku tuberkuloze kod goveda je tuberkulinski test koji se izvodi intradermalnim ubrizgavanjem goveđeg PPD i detekcijom hipersenzitivne reakcije nakon 3 dana, pojavom otoka na mestu inokulacije prečnika preko 4mm.

Atipične mikobakterije

Ova grupa mikobakterija, razlikuje se od *Mycobacterium tuberculosis complex-a*, najviše po brzini rasta, odnosno dužini kultivacije i produkciji pigmenta. Atipične mikobakterije je Runyon (1959) podelio na četiri grupe: fotohromogene (u mraku rastu nepigmentisane, na svetlu dobiju žutu boju, a pri dužem izlaganju svetlu pojavljuju se crveni kristali), skotohromogene, (pigmentisane, žute ili narandžaste boje, pri dužem izlaganju svetlosti pigment potamni), nepigmentisana grupa (*Mycobacterium avium complex*) i brzorastuća grupa (porast se može videti u roku od 2-4 dana). Smatraju se oportunističkim patogenima ljudi a kod životinja izazivaju granulomatozne upale.

Najvažnije vrste (izuzev *Mycobacterium avium complex-a*), njihov patogeni značaj i kulturelne osobine, prikazane su u tabeli 13.

Mikrobiološka dijagnoza mikobakterioza postavlja se izolacijom uzročnika na *Lowenstein-Jensen*-ovoj podlozi a za identifikaciju služe fenotipske osobine i biohemijsko i fiziološko ispitivanje.

Mycobacterium avium complex

M. avium je grupa nepigmentisanih, atipčnih mikobakterija, a podeljena je na 3 subspecijesa: *M. avium ssp. avium*, *M. avium ssp. paratuberculosis* i *M. avium ssp. silvaticum*. *M. avium ssp. paratuberculosis* razlikuje se genetski po prisustvu brojnih kopija insercijske sekvence IS 900.

M. intracellulare, najčešće se se grupiše sa *M. avium*, u *M. avium – intracellulare kompleks*, (MAC) iako je to genetski potpuno različita bakterija. Ovi se mikroorganizmi mogu naći u zemljištu i vodi i ne mogu se jasno razlikovati na osnovu fenotipskih karakteristika. *M. avium* izolati sreću se većinom kod infekcija svinja i goveda i pacijenata sa AIDS-om. MAC izolati se dele na 28 serovara, od kojih 1-6, 8, 11 i 21 predstavljaju *M. avium* a 7,12-20 i 21, *M. intracellulare*. Serovar 1-3 se vide kod tipične ptičije tuberkuloze, dok 4-21 izazivaju minimalne lezije čak i u slučajevima eksperimentalne infekcije.

Tabela 13. Atipične mikobakterije značajne u veterinarskoj medicini

vrsta	bolest	Kulturelne osobine
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	limfadenitis svinja	Okrugle, narandžaste kolonije, pri dužem izlaganju svetlosti, kolonije potamne, (skotohromogene) u vidu zrna pirinča. Inkubira se na 37°C, vidljiv rast nakon 7 dana
<i>Mycobacterium kansasii</i>	limfadenitis kod svinja, goveda i ljudi, izaziva i plućnu bolest	Posle 7 dana inkubacije u mraku, rastu nepigmentisane kolonije, izložene svetlu postaju žute, a na jakom svetlu pojavljuju se crveni kristali (fotohromogene) Mogu biti glatke ili grube površine, talasastih rubova
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	granulomatozni mastitis goveda, granulomatozna bolest golubova, ulcerativna, piogranulomatozna kožna bolest mačaka, granulomatozna plućna bolest pasa i svinja	Male, hrapave, prljavo-bele kolonije, voštane, konveksne, pravilnih ivica, neobničnog mirisa, brzorastuće, porast za 2-4 dana
<i>Mycobacterium chelonae</i>	Kutane i plućne lezije kod kornjača, hronične plućne infekcije ljudi, diseminovani apscesi kože	Male, hrapave prljavo-bele kolonije, voštane, konveksne, pravilnih ivica, neobničnog mirisa, brzorastuće, porast za 2-4 dana, raste na 30°C, jako rezistentan na antimikrobne lekove, prisutan u vodi, zemljištu
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Ulcerativne i nodularne lezije kože kod mačaka i ljudi	Glatke kolonije, uglavnom fotohromogene, optimalna temperatura rasta 30-33°C, vidljiv rast nakon mesec dana

Mycobacterium avium sub. avium

Ptičija tuberkuloza je vrlo značajna bolest živine, divljih i egzotičnih ptica. Posledica je infekcije sa *M. avium*, serotipovi 1, 2 i 3 i *M. genavense*, koji se mogu razlikovati samo molekularnim metodama baziranim na determinaciji 16S rRNA gena.

U većine inficiranih ptica, bolest je asimptomatska, a klasičnu kliničku sliku karakterišu hronična progresivna slabost i gubitak težine, dijareja, kod nekih se javljaju i respiratorni znaci a ponekad granulomatozne okularne lezije. Oboljevaju domaće i divlje ptice, a od živine, najčešće kokoši do 1 godine, manje su osetljive čurke a najmanje patke i guske. Infekcija se prenosi ingestijom kontaminirane hrane i vode ili *ab ovo*. Granulomi sa centralnom kazeoznom nekrozom se nalaze u jetri i slezini.

M. avium i *M. intracellulare* mogu izazvati infekciju kod svinja, goveda, jelena, ovaca, koza, konja, mačaka i pasa i kod imunokompromitovanih ljudi.

Primarni kauzalni agens mikobakterioze kod svinja ranije je bio *M. bovis* (tamo gde je postojao blizak kontakt svinja i goveda), ali je već dugi niz godina to *M. avium sub. avium*. Svinje se zaraze ingestijom, a uzročnik se transportuje u cervikalne i mezenterične limfne čvorove gde se razvijaju granulomatozne promene u vidu tuberkula. Mogući rezervoar je zaražena živina ili svinje koje kontaminiraju tlo, te se širenje infekcije prevenira odvajanjem svinjarske i živinarske proizvodnje.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U direktnom mikroskopskom preparatu razmaza ili histoloških rezova zahvaćenih organa, bojenih po *Ziehl-Neelsen*-u, vide se acido-alkoholrezistentni, crveno obojeni štapići. Za kultivaciju se uzimaju jetra i slezina ili kosna srž uginule životinje i nakon dekontaminacije i homogenizacije zasejavaju na *Lowenstein-Jensen*-ovu podlogu u koju se dodaje 1% piruvat koji pospešuje rast. Inkubira se najmanje 8 nedelja. Tipične kolonije su glatke, nepigmentisane, stajanjem mogu postati žućkaste, vide se za 2-4 nedelje, a mogu se videti i hrapave kolonije ali se mora uraditi provera kultivacije na 42°C, da bi se isključio *Mycobacterium tuberculosis* koji ne raste na ovoj temperaturi dok *M. avium* raste.

DNA metode smatraju se »zlatnim standardom« za detekciju MAC izolata. Insercijske sekvence služe u diferencijalnoj dijagnostici različitih serovara. IS900 nalazi se kod *M. avium subsp. paratuberculosis*, IS902 kod *M. avium subsp. silvaticum*, , IS901, IS1110, IS1245 i IS1311 kod *M. avium* a IS1141 kod *M. intracellulare*.

TUBERKULINSKI TEST

Ovo je vrlo raširen dijagnostički test za tuberkulozu živine i mikobakteriozu svinja, a radi se standardizovanim avijarnim prečišćenim proteinskim derivatom (PPD). Tuberkulin se ubrizgava u krestu kod živine ili dorzalnu stranu uha kod svinja. a test se očitava nakon 48 sati. U slučaju pozitivnog nalaza javlja se otok prečnika većeg od 5mm.

Mycobacterium avium sub. paratuberculosis

Mycobacterium avium sub. paratuberculosis je uzročnik paratuberkuloze, Džonove bolesti, (*Johne's disease*) koja je opisana još 1910. godine, kao težak hronični enteritis kod domaćih i divljih preživara, a opisana je i kod svinja, konja, lisica i zečeva. Rizična grupa su mlade životinje, a izvor infekcije je kontaminirano mleko, druga hrana ili okolina, a može se prenositi i transplacentalno. U Pajerovim pločama, u ileumu i kolonu, dovodi do oštećenja, sa stvaranjem granulomatozne upale u kojoj su epiteloidne i džinovske ćelije.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za postavljanje dijagnoze paratuberkuloze, može se uraditi mikroskopski pregled fekalnog razmaza, kultivacija fecesa ili izmenjenih tkiva, DNA probe i histološka pretraga. Predhodna dijagnoza paratuberkuloze može se postaviti ako se u direktnom mikroskopskom preparatu fecesa obojenom po *Ziehl-Neelsen-u*, nađe više od 3 mala (0,5-1,5 µm) acido-alkoholrezistentna štapića u gomilici. Oni se na osnovu morfologije ne mogu diferencirati od ostalih mikobakterija.

Kultivacija se radi na *Lowenstein-Jensen*-ovoj podlozi na koju se zasejava dekontaminirani (sa NaOH) feces, limfni čvorovi ili drugi organi. Inkubira se u aerobnim uslovima, na 37°C, 6 meseci, a prvi porast vida se nakon 5 nedelja.

PCR tehnike bazirane na identifikaciji 16SrRNA gena ili IS900 su u upotrebi, ali je PCR manje osetljiva metoda od kultivacije, u slučaju malog broja bakterija u uzorku fecesa.

Mycobacterium leprae

Ova mikobakterija je uzročnik lepre (gube) kod ljudi. U ovom momentu, u svetu ima oko 11 miliona obolelih. Za veterinarsku medicinu nema značaja a infekcija je opisana jedino kod armandila. U laboratorijskim uslovima infekcija se može preneti na miša, ali ne izaziva ozbiljnu bolest, već samo infekciju šape.

KONTROLA I PREVENCIJA

Najvažnije mere u kontroli i prevenciji tuberkuloze (mikobakterioze) podrazumevaju primenu tuberkulocidnih deterdženata u sanitaciji objekata i opreme na farmama, sa periodičnom rotacijom dezinficijensa radi sprečavanja pojave rezistencije na antituberkulotike. Mere kontrole podrazumevaju primenu tuberkulinskog testa radi pronalaženja pozitivnih reaktora, a u slučaju pozitivnog nalaza i identifikacije uzročnika, životinje se eutanaziraju i neškodljivo uklanjaju.

U praksi se, sa različitim uspehom, primenjuje BCG (*Bacillus Calmette – Guerin*) vakcina od živog, atenuisanog soja *M. bovis*. U zemljama gde postoji tuberkuloza kod goveda, gde se slabo sprovode mere testiranja i uklanjanja zaražene stoke, ova vakcina može smanjiti širenje infekcije među govedima, ali nema jasnih podataka o zaštiti okoline ili humane populacije.

Genus Rhodococcus

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Genus *Rhodococcus* pripada redu aktinomiceta koji uključuje i rodove *Corynebacterium*, *Nocardia* i *Mycobacterium*. Taksonomsko grupisanje ovih bakterija zasniva se na prisustvu lipidne čelijske ovojnice koja sadrži mikoličnu kiselinu, koja omogućava preživljavanje unutar makrofaga i formiranje granuloma.

Rhodococcus equi je fakultativno anaerobni, nepokretni, asporogeni, Gram-pozitivni kokobacil koji se ranije nalazio u genusu *Corynebacterium*, a sada je reklasifikovan i svrstan u poseban rod u redu aerobnih aktinomiceta.

Prva izolacija urađena je iz ždrebeta 1923. godine, pod nazivom *Corynebacterium equi*.

MORFOLOGIJA

Rhodococcus equi je pleomorfna bakterija, koja u preparatima iz kulture sa čvrste podloge daje kokoidne forme, dok iz tečne kulture daje bacilarne forme, ponekad u lancima. Obično poseduje polisaharidnu kapsulu.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Jedina patogena vrsta u rodu je *Rhodococcus equi*, koja izaziva granulomatoznu pneumoniju kod ždrebadi i imunokompromitovanih ljudi. Gutanjem sputuma, infekcija se širi na digestivni trakt i razvija se mezenterični limfadenitis i ulcerativni kolitis sa dijarejom. Kod svinja može izazvati cervikalni limfadenitis, sličan mikobakteriozi. Kod kobila se može razviti mastitis ili infekcije rana, kod goveda ulcerativni limfangitis, kod mačaka limfadenitis, kod koza i ovaca pneumonija, a kod pasa hepatitis i osteomijelitis. Infekcija se prenosi inhalacijom kontaminiranog aerosola, koji dovodi do piogranulomatozne bronhopneumonije kod ždrebadi sa stvaranjem kranioventralnih apscesa. Oboljevaju najčešće ždrebac starosti oko 6 nedelja.

FAKTORI VIRULENCIJE

Virulencija različitih izolata kod obolele ždrebadi plazmidski je uslovljena postojanjem površnog proteina - VapA. Faktor virulencije je i mikolična kiselina koja *Rhodococcus equi* čini otpornim na enzime fagocita i omogućava intracelularno preživljavanje unutar makrofaga.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Uzorak može biti transalveolarni aspirat i bronhoalveolarni lavat, koji se zasejavaju na uobičajene podloge a pravi se i direktni mikroskopski preparat. Na

krvnom agaru, posle 48 h inkubacije, daje bele, mukoidne kolonije, prečnika 2-4 mm, okrugle ili nepravilne, koje nakon 4-7 dana postaju ružičaste do crvene boje. Izaziva pojačanu hemolizu sa β toksinom *Staphylococcus aureus* i fosfolipazom D *Corynebacterium pseudotuberculosis* (CAMP test pozitivan).

Rhodococcus equi je katalaza pozitivan, ureaza pozitivan redukuje nitrate, lipaza pozitivan, citohrom-c oksidaza negativan, ne fermentuje ugljene hidrate, indol negativan, eskulin negativan.

Za izolaciju se koristi i selektivna podloga u koju se dodaje naldiksična kiselina, novobiocin, cikloheksamid i kalijum telurit, (NANAT medijum), na kojoj daje crne kolonije.

KONTROLA I PREVENCIJA

Na farmama na kojima se infekcija javlja sporadično, bolesne životinje moraju biti izolovane i lečene. Pasivna imunoprofilaksa može se raditi davanjem 1000 ml hiperimune plazme, u uzrastu 2-3 nedelje, kod ždrebadi na farmama gde se infekcija javlja enzootski. *Rhodococcus equi* osetljiv je na eritromicin i rifampicin. Imunizacija daje oprečne rezultate i nema širu primenu.

Poglavlje

4

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Familia Enterobacteriaceae
2. Genus Salmonella
3. Genus Shigella
4. Genus Escherichia
5. Genus Klebsiella
6. Genus Enterobacter
7. Genus Edwardsiella
8. Genus Serattia
9. Genus Proteus
10. Genus Morganella
11. Genus Yersinia

Familia Enterobacteriaceae

Zora Jelesić, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U ovoj velikoj porodici nalaze se Gram-negativni, fakultativno anaerobni štapići, dužine 1.0 do 6.0 μm , nekarakterističnog rasporeda. Ne stvaraju spore, mnogi poseduju fimbrije, neke vrste imaju kapsulu. Mogu biti pokretni, kada poseduju peritrihijalne flagele, neki su nepokretni.

Dobro se razmnožavaju na običnim hranljivim podlogama, ali se za izolaciju iz kliničkog materijala, naročito patogenih vrsta, koriste diferencijalne (Endo agar, MacConkey agar, agar sa brilijant zelenim) i selektivne podloge (SS agar). Diferencijalne podloge sadrže laktozu i određeni indikator. Na osnovu fermentacije laktoze enterobakterije se dele u dve grupe: laktoza pozitivne (npr. *Escherichia coli*, *Klebsiella*) i laktoza negativne (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*).

Svi članovi porodice *Enterobacteriaceae* su biohemijski aktivni: razgrađuju veliki broj ugljenih hidrata i alkohola uz produkciju kiseline i najčešće i gasa, redukuju nitrate u nitrite, oksidaza su negativni.

Za ispitivanje biohemijskih osobina enterobakterija često se koristi dvostruki agar sa gvožđem, Kligler agar. To je složena podloga koja sadrži laktozu i dekstrozu u odnosu 10:1, soli gvožđa, natrijum tiosulfat i indikator fenol crveno, koji je crven u alkalnoj, a žut u kiseloj sredini. Kako svi predstavnici ove porodice fermentuju dekstrozu i pri tom stvaraju kiselinu, u početku reakcije požuteće i kosi i duboki deo Kligler agara. Ako bakterija razgrađuje i laktozu; koje ima deset puta više nego dekstroze, stvoriće se dovoljna količina kiseline da ceo Kligler zadrži kiselu reakciju (žutu boju). Bakterije koje ne fermentuju laktozu, nakon razgradnje dekstroze počinju da koriste peptone iz podloge. Razgradnja peptona dešava se uglavnom u prisustvu kiseonika, tj. na kosom delu podloge, a metaboliti koji pri tome nastaju su alkalni i dovode do realkalizacije kosine (crven kosi deo Kliglera i žuto dno).

Antigenska građa je složena i na osnovu svojih somatskih (O), flagelarnih (H) i ovojnih (K, Vi) antigena, dele se u serogrupe i serotipove.

Najčešći faktori virulencije enterobakterija su: endotoksin, egzotoksini (enterotoksini i citotoksini), fimbrije, kapsula, prisustvo siderofora, otpornost na antibakterijsko dejstvo seruma i dr. Endotoksin (lipopolisaharid u spoljašnjoj membrani ćelijskog zida, čiji je glavni toksični princip lipid A) poseduju sve Gram- negativne bakterije uključujući i enterobakterije. Efekti endotoksina uključuju povišenu temperaturu, groznicu, leukopeniju praćenu leukocitozom i hipoglikemijom sa povećanjem propustljivosti krvnih sudova, padom krvnog pritiska i šokom.

U ovoj porodici nalazi se 30 rodova i preko 120 vrsta i podvrsta. Klasifikovane su na osnovu biohemijsko-fizioloških osobina, antigenske građe, hibridizacije nukleinskih kiselina i određivanja sekvenci nukleinskih kiselina.

Pripadnici ove porodice široko su rasprostranjeni u prirodi. Nalaze se u zemljištu, vodi, na voću i povrću, čine značajan deo normalne mikroflore crevnog trakta ljudi i životinja. Pripadnici rodova *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* i *Serratia* često se neformalno nazivaju zajedničkim imenom “koliformni bacili” i kao deo normalne crevne flore ljudi i životinja mogu da se izoluju iz različitih izvora iz spoljne sredine i imaju ulogu u sanitarnoj bakteriologiji kao indikatori fekalne kontaminacije vode za piće i namirnica.

Na osnovu patogenosti za životinje i ljude, enterobakterije su podeljene u tri grupe:

- bakterije čija patogenost nije dokazana, ali se ponekad nalaze u kliničkom materijalu (*Budvicia*, *Cedecea*, *Kluyvera*, *Pantoea*, *Tatumella*, *Xenorhabdus*, i dr.)
- patogene bakterije u koje se ubrajaju *Salmonella*, *Yersinia* i *Escherichia coli*
- oportunističke bakterije, koje u određenim uslovima izazivaju bolesti životinja i ljudi (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Proteus*, *Morganella*)

Shigella je humani patogen, ponekad izaziva obojenje kod ostalih primata.

Tabela 14. Prirodno boravište i bolesti koje izazivaju oportunističke bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae*

Patogen	Boravište	Bolest(i)
<i>Citrobacter diversus</i>	feces ljudi i životinja	mastitis kod krava, meningitis kod novorođenčadi
<i>Edwardsiella tarda</i>	voda, blato, creva	apscesi kod riba i morskih sisara, blaga dijareja kod reptila, svinja, teladi i pasa
<i>Enterobacter spp.</i>	voda, zemljište, feces	mastitisi kod krava, uterine infekcije kobilica, urinarne infekcije pasa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	intestinalni trakt ljudi i životinja, zemljište	mastitisi kod krava, uterine infekcije kobilica, urinarne infekcije pasa
<i>Morganella morganii</i>	feces životinja	otitis i urinarne infekcije pasa i mačaka
<i>Proteus spp.</i>	feces sisara i spoljna sredina	urinarne infekcije pasa i konja, otitis pasa i mačaka, blaga dijareja kod mladih životinja
<i>Serratia marcescens</i>	spoljna sredina	mastitis kod goveda, septikemija kod pilića

Genus Salmonella

OPŠTE OSOBINE

Članovi ovog roda kolonizuju crevni trakt kičmenjaka izazivajući infekcije koje variraju od subkliničkih do teških sistemskih infekcija sa visokom smrtnošću. Infekcije životinja imaju značajne ekonomske posledice, ali je još značajnije asimptomatsko kliconoštvo, koje vodi do direktne ili indirektno transmisije na ljude.

Genus *Salmonella* sastoji se iz preko 2500 serotipova. Molekularnim ispitivanjima i analizom DNK utvrđeno je da se ovaj rod može podeliti u dve vrste: *Salmonella enterica* (oko 2500 serotipova) i *Salmonella bongori* (20 serotipova). U okviru vrste *Salmonella enterica*, na osnovu fenotipskih i genotipskih osobina razlikuje se 6 podvrsta (subspecies): subspecies 1 - *enterica*, subspecies 2 - *salamae*, subspecies 3a - *arizonae*, subspecies 3b - *diarizonae*, subspecies 4 - *houtenae* i subspecies 5 - *indica*.

Većina značajnih serotipova nalazi se u podvrsti *enterica*, svi oni imaju posebna imena, dok serotipovi koji pripadaju drugim podvrstama nemaju imena, nego se obeležavaju antigenskom formulom. Imena serotipova obeležavaju velikim slovom (izuzetak u binominalnoj nomenklaturi). Prvi izolovani serotipovi dobili su imena prema bolesti koju izazivaju (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*) ili prema životinji iz koje su izolovani (*S. Typhimurium*, *S. Choleraesuis*, *S. Bovismorbificans*). Danas se novootkrivenim serotipovima daju imena gradova ili država u kojima su otkriveni (*S. London*, *S. Wien*, *S. Panama*).

Većina serotipova izaziva gastroenteritis, ali njih nekoliko izazivaju sistemske infekcije (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*), a neki češće izazivaju bakterijemiju, a rede dijareju (*S. Choleraesuis*, *S. Dublin*).

Na osnovu adaptiranosti na vrstu domaćina salmonele se mogu podeliti na one kojima su ljudi specifični domaćini (*S. Typhi*, *S. Paratyphi A, B, C*), serotipove kojima su određene vrste životinja specifični domaćini (*S. Gallinarum/Pullorum*-živina, *S. Dublin*- goveda, *S. Choleraesuis* i *S. Typhisuis*- svinje, *S. Abortusovis*-ovce, *S. Abortusequi*- konji). Neadaptirani serotipovi mogu da izazovu infekcije i ljudi i životinja (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*).

MORFOLOGIJA

Salmonele su Gram-negativni bacili koji nemaju karakterističan raspored. Obično su pokretne, sa peritrihijalnim flagelama, ali mogu da se jave i nepokretni mutanti, a serotip *S. Gallinarum/Pullorum* je uvek nepokretan. Ne poseduju kapsulu, ne stvaraju sporu.

KULTURELNE OSOBINE

Pripadnici ovog roda su fakultativni anaerobi koji se dobro razmnožavaju na običnim hranljivim podlogama, ali se za njihovu izolaciju iz kliničkog materijala upotrebljavaju selektivne i diferencijalne podloge za kultivisanje enterobakterija. Od čvrstih podloga najčešće se koristi SS agar (Salmonella-Shigella agar), MacConkey agar, XLD agar (ksiloza, lizin, deoksiholat), HE agar (Hektoen enteric), agar sa brilijant zelenim, Wilson- Blair agar. Nakon inkubacije od 18-24h na 37°C porastu kolonije koje su laktoza negativne, prozirne, ponekad sa pravilnim crnim centrom u sredini zbog stvaranja H₂S. Na XLD agaru kolonije su ružičaste sa crnim centrom. Na Wilson- Blair agaru kolonije su smeđe ili crne sa metalnim sjajem.

Pored čvrstih, upotrebljavaju se i tečne podloge za obogaćenje - selenit F bujon, Rappaport-Vassiliadis bujon, tetrationski bujon. Ove podloge inhibiraju rast normalne crevne flore, a pospešuju rast salmonela.

FIZIOLOŠKO - BIOHEMIJSKE OSOBINE

Salmonele su uglavnom laktoza negativne, izuzev *S. enterica ssp. arizonae* i *S. enterica ssp. diarizonae*. Fermantuju dekstrozu do kiseline i gasa, izuzev *S. Typhi* koja je anaerogena. Produkuju H₂S, koriste citrat kao jedini izvor ugljenika, izuzev *S. Typhi*, koja je citrat-negativna. Ne produkuju indol ni ureazu. Testovi metil-crvenog, lizin i ornitin dekarboksilacije su pozitivni. Salmonele ne rastu u bujonu sa KCN. Na dvostrukom šećeru sa gvožđem (Kligler agar) pokazuju karakterističan izgled: crvena kosina, žut duboki deo, prisustvo gasa i crnog prstena na granici između ova dva dela zbog prisustva H₂S koji sa jedinjenjima gvožđa daje crno jedinjenje.

ANTIGENSKA GRAĐA

Poznavanje antigenske građe salmonela važno je zbog postavljanja konačne dijagnoze koja se zasniva na serološkoj identifikaciji (utvrđivanju antigenske građe serotipa aglutinacijom na pločici).

Salmonellae imaju tri glavna antigena: somatski ili O antigen, flagelarni ili H antigen i Vi ili ovojni antigen.

O antigen je lipopolisaharid ćelijskog zida, koji je ujedno i endotoksin, značajan u patogenezi oboljenja izazvanih salmonelama. To je kompleksan antigen sastavljen iz više antigena obeleženih arapskim brojevima. Lizogenizacija nekim fagima može da dovede do promena u O antigenskoj formuli salmonela.

H antigen je proteinske prirode. Javlja se u dva oblika koji se nazivaju faza 1 i faza 2. Većina serotipova ima H antigene obe faze, koji mogu da budu prisutni u različitim količinama. Neki serotipovi su monofazni, poseduju samo antigene faze 1.

Vi antigen je površni antigen koji pokriva O antigen. Nalazi se samo kod *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* i *S. Dublin*. Soj bogat Vi antigenom je O inaglutinabilan, što se obično sreće kod sveže izolovanih bakterija.

Analiza antigenske građe salmonela omogućila je stvaranje Kauffmann-White-ove šeme koja je značajno pomoćno sredstvo u serološkoj identifikaciji. Ova šema se zasniva na podeli salmonela u grupe obeležene velikim slovima abecede na osnovu somatskih O antigena. U okviru grupa dalja podela na serotipove vrši se na osnovu flagelarnih antigena faze 1, obeleženih malim slovima abecede, i antigena faze 2, koji su obeleženi uglavnom brojevima. Najznačajniji serotipovi nalaze se u prvih 5 grupa.

Tabela 15. Kratak izvod iz Kauffmann-White-ove šeme

Grupa Salmonella	Naziv serotipa	O antigeni	H faza 1	H faza 2
A	<i>S. Paratyphi A</i>	1,2,12	a	-
B	<i>S. Typhimurium</i>	1,4,5,12	i	1,2
B	<i>S. Abortusovis</i>	4,12	c	1,6
C1	<i>S. Choleraesuis</i>	6,7	c	1,5
C2	<i>S. Bovismorbificans</i>	6,8	r	1,5
D	<i>S. Typhi</i>	9,12[Vi]	d	-
D	<i>S. Enteritidis</i>	1,9,12	g,m	-
D	<i>S. Dublin</i>	1,9,12[Vi]	g,p	-
E	<i>S. Anatum</i>	3,10	e,h	1,6

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Da bi ispoljile svoju patogenost salmonela moraju da poseduju sledeće tri osobine:

- sposobnost da kolonizuju i invadiraju enterocite i da se u njima razmnožavaju
- kompletan lipopolisaharidni omotač
- sposobnost produkcije toksina.

Geni invazivnosti nalaze se na hromozomskim regionima koji se zovu SPI (*Salmonella pathogenicity islands*). SPI-1 geni invazivnosti olakšavaju unos salmonela od strane enterocita. SPI-2 doprinose preživljavanju salmonela u makrofagima. SPI-3 su potrebni za rast u uslovima sa ograničenom količinom Mg i za preživljavanje u makrofagima. SPI-4 igra ulogu u invaziji, a SPI-5 je značajan za crevnu salmonelozu.

Salmonela najčešće ulaze u domaćina ingestijom i one koje prežive dejstvo želudačne kiseline dospevaju u tanko crevo.

Normalna crevna flora štiti od kolonizacije patogenim bakterijama, zato davanje oralnih antibiotika olakšava infekciju. Mehanizam kojim salmonela invadiraju epitel uključuje početno vezivanje za specifične receptore, uglavnom uz pomoć fimbrija, i prodor u ćelije endocitozom. Pri tom dolazi do morfoloških promena na mikrovilima enterocita i do rearanžiranja aktinskog citoskeleta. Invazija je praćena inflamacijom, povećanom produkcijom citokina i sekretornom dijarejom. Sve salmonele poseduju endotoksin, a samo pojedini sojevi mogu produkovati i enterotoksin. Oštećenje i smrt ćelija omogućava prodor salmonela u submukozu. Invazivni sojevi imaju sposobnost da izbegnu odbranu domaćina i da se razmnožavaju u makrofagima, u jetri, slezini i intravaskularno. Destrukciju u krvotoku sprečavaju ponavljajući O segmenti lipopolisaharidnog omotača. Razmnožavanje mikroorganizama dovodi do endotoksemije (povišena temperatura, groznica, šok). Neki serotipovi su češće invazivni od drugih (*S. Typhi*, *S. Dublin*, *S. Typhimurium*).

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Oboljenje se javlja kao perakutna septikemija i kao akutni, subakutni i hronični enteritis. Akutna bolest izazvana nekim serotipovima, napr. *S. Typhimurium*, karakteriše se visokim morbiditetom i niskim mortalitetom, a manifestuje se kao groznica i dijareja. Dehidracija i poremećaj ravnoteže elektrolita mogu biti teški, naročito kad postoji i septikemija (neki serotipovi izazivaju češće smrtni ishod - *S. Dublin* kod teladi, *S. Choleraesuis* kod prasića). Faktori rizika za teže oblike bolesti su: mladost životinja, transport, neke druge infekcije, imunosupresija i primena oralnih antibiotika.

Serotipovi koji najčešće napadaju svinje su: *Typhimurium*, *Derby*, *Newport*, *Agona* i *Choleraesuis*.

Telad najčešće razvijaju crevno oboljenje kada su inficirana *S. Typhimurium* i septikemiju izazvanu *S. Dublin*. Salmoneloza retko ugrožava život odraslih goveda, ali nakon bolesti ostaje kliconoštvo koje može da dovede do širenja infekcije na celo stado ili da utiče na kontaminaciju mleka.

S. Gallinarum/Pullorum izaziva septikemiju kod ćuraka i pilića, ali živina može biti zaražena i nizom drugih serotipova, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Anatum* i dr. Vertikalna transmisija ovih salmonela čini jaja čestim izvorom zaraze za ljude.

Salmoneloza kod konja nije česta, ali predstavlja problem zbog nozokomijalnih infekcija u veterinarskim bolnicama izazvanih multirezistentnim sojevima *S. Typhimurium*.

Salmoneloza kod pasa javlja se nakon upotrebe kontaminirane hrane a češće se viđa kod pasa iz kontaminirane okoline, onih pasa koji žive sa stokom.

Kod nekih životinja javljaju se abortusi kao manifestacija salmoneloze (*S. Abortusovis*, *S. Abortusequi*).

Rezervoar salmonela je intestinalni trakt ljudi, toplokrvnih i hladnokrvnih životinja. Većina ljudi i divljih i domaćih životinja nakon oboljenja ostaju asimptomne kliconoše. Salmonela mogu da prežive više meseci u vlažnom zemljištu, vodi, fecesu, namirnicama. Infekcije kod ljudi najčešće nastaju kada pojedju kontaminiranu hranu, pre svega nedovoljno termički obrađeno živinsko meso i jaja, ali i putem drugih namirnica, kontaminirane vode, kontaminiranog pribora i opreme.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izbor kliničkog uzorka zavisi od kliničke manifestacije i lokalizacije infekcije. To mogu biti krv, stolica, mokraća, žuč, gnoj. U slučajevima kad je u pitanju infekcija u digestivnom sistemu na bakteriološki pregled se šalje stolica, ređe rektalni i kloakalni brisevi. Kod sistemskih infekcija radi se hemokultura. U slučaju uginuća životinja, na pregled se šalju delovi slezine, jetre, kosna srž, mogu se pregledati i pobačeni plodovi ili njihovi delovi. U svrhu epidemioloških ispitivanja mogu se pregledati i brisevi podova, zidova, pojilica, hranilica, jaja, voda, i dr.

Bakteriološka dijagnoza se smatra značajnijom od serološke.

Bakteriološka dijagnoza podrazumeva kultivaciju na diferencijalnim i selektivnim podlogama kojom se dobija čista kultura salmonela za dalje ispitivanje. Posmatraju se kulturelne osobine bakterija i ako kolonije izolovane bakterije imaju karakterističan izgled (okrugle, pravilne, prozirne, laktoza negativne sa ili bez crnog centra) identifikacija se vrši na osnovu fiziološko-biohemijskih osobina. Konačna dijagnoza postavlja se serotipizacijom, aglutinacijom na pločici, polivalentnim i monovalentnim dijagnostičkim antiserumima. U prvoj fazi serološkog ispitivanja ispituje se O somatski antigen i utvrđuje serološka grupa. Zatim se ispituju H, flagelarni antigeni faze 1 i 2 i određuje se serotip.

U okviru jednog serotipa moguće je u svrhu dalje tipizacije, najčešće u epidemiološkim ispitivanjima, odrediti fagotip ili primeniti metode tipizacije koje se zasnivaju na PCR tehnici, ribotipizaciji ili elektroforezi u pulsirajućem polju.

Serološka dijagnoza salmonelozu, tj. dokazivanje antitela na salmonela u serumu podrazumeva testove aglutinacije i ELISA testove. Za goveda, serološki testovi su korisniji za ispitivanja na nivou stada, a manje za individualno testiranje. Ispituju se parni serumi da bi se utvrdio porast ili pad titra antitela. Razvijen je i ELISA test za dokazivanje antitela *S. Enteritidis* kod pilića koji je specifičan i senzitivan.

KONTROLA I PREVENCIJA

Sve do 1960. godine skoro svi izolovani sojevi salmonela bili su osetljivi na sve antimikrobne lekove. Od tada počinju da se pojavljuju izolati sa pojedinim markerima rezistencije (na ampicilin, tetracikline, streptomycin, sulfonamide).

Rezistentni sojevi se javljaju prvo kod životinja, kojima su antibiotici davani u hrani kao faktori rasta, a tek kasnije kod ljudi. Danas u mnogim zemljama 90% sojeva *S. Typhimurium* izolovanih od životinja pokazuje multiplu rezistenciju. Kod humanih izolata ovog serotipa multipla rezistencija je ređa (26-50%), ali značajno je što opada procenat osetljivih salmonela na ceftriakson i ciprofloksacin, lekove koji se kod ljudi koriste u terapiji.

Za specifičnu profilaksu postoje žive i mrtve vakcine. Na primer, telad može biti zaštićena primenom žive, atenuisane vakcine, kod ljudi vakcine se vakcine od mutanata *S. Gallinarum* u R formi, kod ljudi vakcine za profilaksu trbušnog tifusa i paratifusa daju se prema epidemiološkim indikacijama.

U suzbijanju salmoneloza najvažnija je primena opštih higijenskih mera, kontrola proizvodnje i prometa životnih namirnica i praćenje kliconoštva.

Genus Shigella

OPŠTE OSOBINE

U ovom rodu se nalaze fakultativno anaerobni Gram-negativni štapići. Nepokretni su, ne stvaraju sporu, nemaju kapsulu, većina sojeva poseduje fimbrije, za čoveka su striktno patogeni.

Četiri vrste iz ovog roda, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* i *Shigella sonnei* izazivaju bacilarnu dizenteriju kod ljudi i retko kod nekih drugih vrsta primata. Patogenetski mehanizam kojim izazivaju oboljenje je invazija sluznice debelog creva, a *Shigella dysenteriae* izaziva najtežu kliničku sliku jer produkuje snažan egzotoksin (Shiga toksin - entero- i citotoksin).

Jedini rezervoar šigele je čovek, oboleo ili kliconoša. Bolest se prenosi fekalno-oralnim putem i lako se širi, jer je infektivna doza vrlo mala. Opisani su i retki slučajevi prenosa infekcije sa vlasnika na pse, koji onda izlučuju ove bakterije kratko vreme, obično bez kliničkih znakova bolesti.

Genus Escherichia

OPŠTE OSOBINE

Rod *Escherichia* dobio je ime u čast nemačkog pedijatra Teodora Ešerih, koji je prvi izolovao ovu bakteriju. Najznačajnija vrsta je *Escherichia coli*. Ešerihije se nalaze kao značajni predstavnici normalne flore digestivnog trakta svih sisara, uglavnom u donjem delu tankog creva i u debelom crevu, prisutne u većem broju kod mesojeda i svaštojeda, manje kod biljojeda. *E. coli* se izlučuje putem fecesa i može nedeljama i mesecima da preživi u kontaminiranoj vodi ili prašini. Predstavlja indikator fekalne kontaminacije ako se nađe u vodi za piće ili namirnicama. U određenim uslovima ešerihije izazivaju različita oboljenja i svrstavaju se u oportuniste.

MORFOLOGIJA

Ešerihije su Gram-negativni bacili, raspoređeni pojedinačno, u parovima ili nepravilnim nakupinama. Dužina im je 1 do 3 μ m, a širina oko 0,5 μ m. Uglavnom su pokretne zahvaljujući peritrihijalnim flagelama. Ne stvaraju sporu ni kapsulu, mada se kod nekih sojeva elektronskim mikroskopom uočava mikrokapsula. Poseduju fimbrije kao faktore adhezije.

KULTURELNE OSOBINE

To su fakultativno anaerobne bakterije koje dobro rastu na svim bakteriološkim podlogama. Na krvnom agaru, nakon aerobne inkubacije od 18 do 24 sata na 37°C, porastu najčešće glatke kolonije prečnika 2 do 3 mm, ispupčene, sive, sjajne, ponekad sa zonom β - hemolize. Na Endo agaru kolonije su laktoza pozitivne, ljubičaste, sa karakterističnim zelenim, metalnim sjajem. Na *MacConkey* agaru kolonije su laktoza pozitivne, crvene, obično okružene zonom precipitacije žućnih soli (intenzivnija boja podloge oko kolonije).

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Ešerihije fermentuju veliki broj ugljenih hidrata i alkohola do kiseline i gasa. Fermentuju laktozu i dekstrozu, proizvode indol, metil crvena reakcija je pozitivna, a *Voges-Proskauer*-ova reakcija negativna, citrat ne koriste (IMViC formula je ++--). Oksidaza test je negativan.

ANTIGENSKA GRAĐA

E. coli poseduje veliki broj različitih antigena. Somatski O antigen je glicido-lipido-polipeptidski kompleks, sastavni deo ćelijskog zida, termostabilan je. Poznato je 170 različitih O antigena na osnovu kojih se *E. coli* dele u serološke grupe. Flagelarni H antigeni su proteinske prirode, termolabilni, a na osnovu njih izvršena je podela ešerihija na serotipove. Ovojni K antigeni su takođe kompleksne građe. Sojevi sa K1 antigenom imaju veći patogeni potencijal i izazivaju sepsu i meningitis kod novorođenčadi. Na fimbrijama se nalaze specifični fimbrijalni antigeni.

FAKTORI VIRULENCIJE

Pojedini sojevi *E. coli* poseduju različite strukture i produkte koji im omogućuju da izazovu bolest. Kapsula štiti od fagocitoze sojeve koji je poseduju. Endotoksin je značajan u nastanku septikemije i toksemije kod koliformnog mastitisa. Fimbrije predstavljaju faktore kolonizacije kojima se *E. coli* vezuje za glikoproteine na površini epitelnih ćelija jejunuma i ileuma, koje su osetljive na delovanje enterotoksina, ne dozvoljavajući peristaltičkim pokretima creva da odnesu ešerihije u debelo crevo na čije ćelije ovi toksini ne deluju. Produkcija K88 (F4), K99 (F5), 987P (F6), F41 i F165 usko je povezana sa sposobnošću *E.*

coli da produkuje enterotoksin. Najčešći tip adhezina kod svinja je K88, kod teladi K99 i F41, a kod jagnjadi K99.

Pojedini sojevi produkuju α i β hemolizine.

Siderofore su naročito značajne kod invazivnih sojeva *E. coli*, jer im oslobađaju gvožđe iz vezanog oblika.

Neki sojevi produkuju egzotoksine: enterotoksine ili citotoksine. Enterotoksini mogu biti termolabilni (LT) i termostabilni (ST), njihova produkcija je plazmidski determinisana. Termolabilni enterotoksin stimuliše adenil ciklazu na povećano stvaranje cikličnog adenzin monofosfata, što dovodi do povećanog izlučivanja vode i elektrolita u lumen creva. Termostabilni enterotoksin aktivira gvanilat ciklazu, dovodi do povećanog stvaranja cikličnog gvanozin monofosfata i omogućava akumulaciju tečnosti u crevima.

Citotoksini koje produkuju neki sojevi *E. coli* slični su toksinu *Shigella*, pa se nazivaju *Shiga-like* toksini (SLT-1 i SLT-2). Oni inhibišu sintezu proteina delujući na 60S podjedinicu ribozoma i dovode do oštećenja i smrti ćelija, deluju citotoksično na kulturu Vero ćelija, pa se nazivaju i verotoksini. SLT-2 izaziva hemoragični kolitis kod ljudi, a jedna varijanta SLT-2 izaziva edemsku bolest svinja.

PATOGENEZA

E. coli je oportunistička bakterija, može da izazove bolest zavisno od uzrasta i fiziološkog stanja jedinke, kao i od faktora virulencije koje poseduje. Infekcije mogu biti endogene ili egzogene. Ekstraintestinalna oboljenja uglavnom izazivaju bakterije normalne životinjske flore, a sojevi koji izazivaju gastroenteritis uglavnom su egzogene prirode. Infekcija je češća kod novorođenih životinja koje ne dobijaju dovoljno antitela od majke, kod kojih normalna flora još nije formirana, naročito ako žive u lošim higijenskim uslovima. Nastanku infekcije pogoduje i promena ishrane, stres, ali i prisustvo receptora za adhezine *E. coli* u prvoj nedelji života kod teladi i u prvih šest nedelja kod prasadi.

Ešerihije mogu izazvati piogena oboljenja kod životinja i ljudi. To su mastitis kod preživara, piometra i cistitis kod pasa i omfalitis kod pilića. Invazivni sojevi izazivaju koliseptikemiju kod živine, svinja, preživara, pasa i konja. Oni napadaju enterocite i prodiru i u dublja tkiva. Pri tome ih štiti mikrokapsula, a u nastanku bolesti značajni su i adhezini, siderofore, hemolizini i endotoksin.

Sistemske manifestacije endotoksemije su oslobađanje citokina, povišena temperatura, aktivacija komplementa, povećana propustljivost krvnih sudova, pad krvnog pritiska, trombocitopenija, diseminovana intravaskularna koagulacija, šok i smrt zbog cirkulatornog kolapsa.

Kod ljudi, *E. coli* je najčešći uzročnik urinarnih infekcija. Ovi mikroorganizmi nose mobilne genske elemente, plazmide i umerene bakteriofage, na kojima se nalaze geni koji kodiraju virulenciju i rezistenciju na antibiotike.

Enterovirulentne *E. coli*, koje izazivaju bolesti gastrointestinalnog trakta, mogu se podeliti na osnovu faktora virulencije na sledeće grupe:

- Enterotoksigene (ETEC)
- Enteropatogene (EPEC)
- Enterohemoragične (EHEC)
- Nekrotoksigene (NTEC)
- Enteroinvazivne (EIEC)
- Enteroagregativne (EA_gEC)

Poslednje dve grupe nisu nađene kod domaćih životinja. EIEC izazivaju kod ljudi oboljenje slično šigelozu, a EA_gEC izazivaju humanu perzistentnu dijareju.

ETEC sojevi, nakon ingestije, kolonizuju epitel tankog creva uz pomoć fimbrija. Produkuju enterotoksine izazivajući sekreciju tečnosti u lumen creva. Termolabilni enterotoksin aktivira adenil ciklazu enterocita i povećava produkciju cAMP, što dovodi do povećanog izlučivanja hlora i vode i manifestuje se kao dijareja. Termostabilni enterotoksin javlja se u obliku dva tipa: STa i STb. STa dovodi do povećanja nivoa cGMP u enterocitima, stimulišući sekreciju hlora i inhibišući apsorpciju natrijuma i hlorida dovodi do sekretorne dijareje. STb direktno oštećuje crevni epitel, dovodi do atrofije crevnih resica i gubitka epitelnih ćelija, a stimuliše i sekreciju bikarbonata iz enterocita.

EPEC sojevi oštećuju mikrovile enterocita i adheriraju za epitelne ćelije uz pomoć proteina spoljašnje membrane koji se zove intimin. Komunikacija između bakterija i ćelija domaćina dovodi do akumulacije komponenata citoskeleta (aktin, miozin i dr.) i do lokalizovanog nakupljanja bakterija i formiranja mikrokolonija. Ove promene inhibiraju apsorpciju natrijuma i hlora, a stimulišu sekreciju od strane enterocita.

EHEC sojevi takođe adheriraju uz pomoć intimina, ali produkuju egzotoksine koji imaju citotoksični efekat na Vero ćelije - verotoksini, a zbog sličnosti sa *Shiga* toksinom *Shigellae dysenteriae* zovu se i *Shiga-like* toksini 1 i 2. Jedna varijanta SLT-2 izaziva edemsku bolest svinja, jer se nakon adherencije uz pomoć fimbrija K88 ili K18, stvoreni toksin oslobađa u krvotok, vezuje za eritrocite i širi po celom organizmu izazivajući oštećenje endotela krvnih sudova, dovodeći do stvaranja edema. Kao posledica delovanja ovog toksina na mozak javljaju se neurološki poremećaji i iznenadna smrt.

NTEC sojevi produkuju dermonekrotizirajuće toksine koji izazivaju promene na Vero i HeLa ćelijama, nekrozu kože kunića i imaju letalno dejstvo na miševе.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Klinička slika oboljenja koja izaziva *E. coli* varira u zavisnosti od vrste inficiranih životinja i od faktora virulencije soja.

Kolibaciloza ili koliseptikemija je česta sistemska bolest živine sa značajnim ekonomskim posledicama. Bakterijemija nastaje nakon intestinalne infekcije ili

respiratorne izloženosti velikom broju bakterija iz okoline, a pogoduju joj loši uslovi gajenja ili neke druge tekuće infekcije. Znaci bolesti su nespecifični, akutnom uginuću može prethoditi anoreksija i letargija, a postmortalno se nalaze lezije jetre i slezine i nakupljanje tečnosti u grudnoj i trbušnoj duplji.

Neonatalna kolibaciloza i koliseptikemija javlja se i kod prasića, teladi, jagnjadi, pasa, mačaka i drugih vrsta novorođenih životinja.

Perakutni mastitis kod krava počinje naglo bolnim otokom mlečnih žlezda, produkcijom mleka izmenjene konzistencije (liči na serum), letargijom, anoreksijom i znacima endotoksemije. Najčešće se javlja u uslovima lošeg smeštaja goveda (u tesnom prostoru sa velikim fekalnim zagađenjem).

E. coli je organizam koji se najčešće izoluje iz inficiranog uterusa pasa i mačaka. Piometra se manifestuje vaginalnim iscetkom, anoreksijom, letargijom, poliurijom, polidipsijom i povraćanjem, a može doći i do septikemije i endotoksemije ukoliko se ne leči.

Ešerihija je čest uzročnik cistitisa pasa. Kao i kod piometre, obolele životinje nose isti soj u intestinalnom traktu, vagini i prepucijumu a infekcija je uglavnom endogena, ascendirajuća. Bolest često protiče asimptomatski, ali mogu se javiti i dizurija, poliurija i hematurija, a nelečena infekcija može da progredira u pijelonefritis.

EPEC sojevi kod novorođenih sisara izazivaju vodenastu dijareju, koja može biti praćena terminalnom bakterijemijom i predstavlja važan uzrok ekonomskih gubitaka odgajivača goveda i svinja. Kod ljudi najčešće izazivaju dijareju putnika i odojčadi i male dece u zemljama u razvoju.

EPEC sojevi izoluju se od ljudi, životinja na farmama, pasa, mačaka i kunića. Dijareja koju izazivaju često je mukoidna i hronična, za razliku od vodenaste dijareje koju izazivaju ETEC.

EHEC su značajni uzročnici mukoidne i krvave dijareje kod teladi mlađe od 8 nedelja. Edemska bolest svinja je prenosiva enterotoksemija koja se često završava smrću. Izaziva je *EHEC-like* bakterija koja je primila gene za produkciju jedne varijante *Shiga-like* toksina, SLT-2. Klinički znaci uključuju ataksiju, konfuzno stanje, otok kapaka i iznenadnu smrt. Postmortalno se nalaze edemi creva, žučne kese i drugih organa, kao i moždano krvarenje.

Escherichia coli O157: H7 je EHEC serotip koji se najčešće vezuje sa slučajevima humanog hemoragičnog kolitisa. Komplikacija ove infekcije može biti HUS (hemolitično-uremični sindrom) sa akutnom bubrežnom insuficijencijom, trombocitopenijom i hemolitičnom anemijom. Infekcija serotipom *O157:H7* je zoonotična, skoro trećina domaćih preživara su asimptomatski nosioci ovog soja i oni su rezervoari za humanu infekciju. Nosioci mogu biti i svinje, konji i jeleni. Čovek se najčešće inficira konzumacijom nedovoljno termički obrađenog goveđeg mesa i nepasterizovanih mlečnih proizvoda, ali i fekalno kontaminiranog povrća ili vode.

NTEC sojevi produkuju nekrotišući faktor 1 i 2. NTEC 1 sojevi izolovani su kod ljudi, goveda, prasadi, pasa, mačaka i konja sa dijarejom, infekcijama urinarnog trakta i septikemijom. NTEC 2 sojevi su nađeni kod goveda i ovaca sa dijarejom i septikemijom.

Virulentni sojevi *E. coli* šire se na farmama preko fecesa, hrane, aerosola, predmeta i životinja kliconoša. Predisponirajući faktori su intenzivni način držanja životinja, mlade životinje, loši zoohigijenski uslovi, stres zbog promene ishrane, odbijanja od sise, hladnoće i dr.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

S obzirom na različite bolesti koje izaziva *E. coli*, materijali koji se šalju na mikrobiološki pregled mogu biti različiti. Od živih životinja mogu se slati različiti brisevi, feces, urin, krv, mleko, cerebrospinalna tečnost i drugi. Od uginulih životinja pregledaju se promenjeni parenhimatozni organi, ali se materijal mora uzeti što pre, jer ešerihije iz creva invadiraju tkiva već nekoliko sati posle uginuća.

Bakteriološka dijagnoza ekstraintestinalnih infekcija zasniva se na izolaciji i identifikaciji.

Mikroskopsko ispitivanje ima značaja ako se radi o materijalu iz primarno sterilnih područja.

Uzorak se zasejava na krvni agar i Endo ili *MacConkey*-agar, a kolonije koje porastu nakon inkubacije od 18-24 sata na 37°C, identifikuju se na osnovu biohemijsko- fizioloških osobina.

Serološka identifikacija - serotipizacija vrši se pomoću dijagnostičkih antiseruma.

Vrlo je važno razlikovanje virulentnih izolata *E. coli* od onih koji to nisu. Za dokazivanje fimbrijalnih antigena K88, K99, F41 i 987P postoje komercijalni testovi lateks aglutinacije, ELISA, specifični antiserumi. Razvijeni su i različiti testovi za *in vivo* i *in vitro* dokazivanje adherencije i produkcije toksina. Danas se sve češće koristi molekularna detekcija gena virulencije DNK probama i PCR tehnikama.

KONTROLA I PREVENCIJA

Antimikrobnu terapiju je potrebno sprovesti prema antibiogramu zbog česte pojave multirezistentnih sojeva usled prenosa plazmida rezistencije konjugacijom. Sve češće se javlja i rezistencija na fluorohinolone. Preporučuje se eliminacija predisponirajućih faktora.

Postoje komercijalne vakcine za svinje i goveda koje sadrže K88, K99, 987P i F41 pile. Soj J5 *E. coli* koristi se u komercijalnoj vakcini protiv koliformnog mastitisa krava. Za edemsku bolest svinja koriste se eksperimentalne vakcine napravljene od toksoida ili genetički modifikovanog mutanta *Shiga* toksina. U skorije vreme selekcionišu se svinje koje su genetski rezistentne na edemsku bolest.

Genus Klebsiella

OPŠTE OSOBINE

Genus *Klebsiella* čine nepokreni, inkapsuirani Gram-negativni bacili, fakultativno anaerobni. Spadaju u koliformne bakterije, široko su rasprostranjeni u prirodi, u zemljištu, vodi i intestinalnom traktu sisara.

U ovom rodu nalaze se 4 vrste: *Klebsiella pneumoniae*, sa podvrstama *pneumoniae*, *ozenae* i *rhinoscleromatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella terrigena* i *Klebsiella planticola*.

Za životinje su patogene *Klebsiella pneumoniae subspecies pneumoniae* i *Klebsiella oxytoca*.

MORFOLOGIJA

Pripadnici ovog roda su kratki Gram-negativni bacili, raspoređeni često u paru, kao diplokokobacili ili pojedinačno. Poseduju dobro razvijenu polisaharidnu kapsulu, nepokretni su. Većina sojeva poseduje fimbrije.

KULTURELNE OSOBINE

Dobro se razmnožavaju na običnim hranljivim podlogama, na kojima posle inkubacije od 24 h na 37°C daju velike, konveksne, sjajne, mukozne (zbog prisustva kapsule), sivobeličaste, viskozne kolonije, koje se često međusobno slivaju. Na krvnom agaru kolonije su nehemolitične, a na diferencijalnim podlogama su laktoza pozitivne.

Fiziološko-biohemijske osobine

Pripadnici ovog roda su biohemijski vrlo aktivni, oksidaza su negativni. Fermentuju veliki broj ugljenih hidrata i alkohola uz produkciju kiseline i gasa. Daju negativnu metil-crveno reakciju, a pozitivnu Voges-Proskauer reakciju. Hidrolizuju ureu i koriste citrate kao jedini izvor ugljenika. IMViC formula za *Klebsiella pneumoniae* je --++, a za *Klebsiella oxytoca* +-++.

ANTIGENSKA GRAĐA

Klebsijeje poseduju somatske O i kapsularne K antigene. Na osnovu razlike u kapsularnim antigenima mogu se podeliti u 80 serotipova. Tipovi K1, K5 i K7 su dominantni izolati kod metritisa kobila.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Najznačajniji faktor virulencije je kapsula, koja štiti bakteriju od fagocitoze i pomaže adherenciju za ćelije urinarnog i respiratornog trakta. Opisano je nekoliko tipova adhezina i pila. Endotoksin je odgovoran za povišenu temperaturu,

groznicu, neutropeniju, vaskularni kolaps i šok. Sposobnost stvaranja aerobaktina omogućuje snabdevanje bakterije gvoždem. Neki sojevi produkuju enterotoksin, sličan termostabilnom toksinu *E. coli*, koji stimulira hipersekreciju tečnosti delujući na gvanilat ciklazu u ćeliji domaćina. Produkcija ureaze utiče na razvoj infekcija urinarnog trakta, jer razgradnjom ureje dovodi do stvaranja amonijaka koji alkalizuje urin i dovodi do oštećenje epitela mokraćnih puteva.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Klebsijele su komenzali intestinalnog trakta mnogih sisara ali mogu biti i uzročnici brojnih oportunističkih infekcija uključujući bovini mastitis, metritis kobilica, neonatalnu septikemiju ždrebadi, teladi i jagnjadi, razne infekcije pasa, živine i dr.

Kod ljudi *Klebsiella pneumoniae* najčešće izaziva infekcije pluća, urinarnog trakta i rana, uglavnom kod hospitalizovanih bolesnika sa oslabljenim imunitetom.

Bovini mastitis izazvan *K. pneumoniae* može biti značajan ekonomski problem, jer se javlja kao perakutna bolest sa smrtnošću do 80% u pojedinačnim slučajevima ali i u epidemijskoj formi. Predisponirajući faktori su loši zoohigijenski uslovi gajenja goveda, vlažna sredina koja pogoduje razmnožavanju mikroorganizama i trauma prilikom muže.

Klebsiella pneumoniae i *Klebsiella oxytoca* su oportunistički patogeni reproduktivnog trakta konja. Pastuvi se inficiraju tokom koitusa i prenose infekciju na druge kobile, kod kojih može da se javi vaginitis, neplodnost, metritis i pobačaji.

Akutna neonatalna infekcija javlja se obično kao rezultat nedovoljnog unosa kolostruma i manifestuje se kao septikemija, često sa fokalnim gnojnim lezijama umbilikusa, zglobova, pluća ili bubrega.

Kod pasa *K. pneumoniae* izaziva piometru, cistitis, prostatitis, pneumoniju, upalu spoljašnjeg uha, meningoencefalitis, enteritis, mastitis i septikemiju.

Sposobnost klebsijela da se šire u bolničkoj sredini i da produkuju β-laktamaze proširenog spektra, čini ih značajnim uzročnicima nozokomijalnih infekcija životinja i ljudi.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza se postavlja izolacijom i identifikacijom uzročnika. Kao uzorak se koriste urin, sputum, krv, brisevi rana i uha, likvor, feces, i dr. Za kultivaciju se koriste krvni agar i diferencijalne podloge za enterobakterije na kojima porastu karakteristične kolonije. Identifikacija se vrši ispitivanjem biohemijskih osobina. U epidemiološkim ispitivanjima može se koristiti serotipizacija.

KONTROLA I PREVENCIJA

Rezistencija *Klebsiella* na antimikrobne lekove je u stalnom porastu, veliki broj sojeva nosi plazmide i transpozone sa genima rezistencije. Svi izolati su rezistentni na ampicilin i tikarcilin, mnogi produkuju β -laktamaze proširenog spektra, osetljivost na aminoglikozide, tetracikline i fluorohinolone varira, u novije vreme pojavljuju se čak i sojevi rezistentni na karbapeneme, zbog toga je neophodno ispitivanje osetljivosti pre primene terapije.

Zbog široke rasprostranjenosti klebsijela u prirodi i nepostojanja specifične profilakse, potrebno je sprečiti njihovo prenošenje i širenje primenom zoohigijenskih mera, efikasnom sterilizacijom i dezinfekcijom, posebno u bolničkim uslovima, gde je širenje multiplorezistentnih sojeva naročito izraženo.

Genus Enterobacter

Pripadnici ovog roda široko su rasprostranjeni u prirodi, zemljištu, vodi i u intestinalnom traktu ljudi i životinja. To su pokretni Gram negativni štapići, uglavnom Voges-Proskauer pozitivni i metil-crveno negativni. Koriste citrate kao jedini izvor ugljenika, ne produkuju vodonik sulfid.

Za životinje su oportunistički patogene vrste *Enterobacter aerogenes* i *Enterobacter cloacae*.

Enterobacter spp. se izoluje u slučajevima mastitisa kod goveda, neonatalne septikemije, uterinih infekcija kod konja, urinarnih infekcija pasa i infekcija rana kod mnogih vrsta životinja.

Kod ljudi *Enterobacter spp.* često izaziva bolničke infekcije urinarnog i respiratornog trakta, rana i opekotina, a *Enterobacter sakazaki* može izazvati neonatalnu sepsu i meningitis sa visokim mortalitetom.

Bolest se najčešće javlja kod imunokompromitovanih domaćina. Patogeneza nije sasvim razjašnjena, osim poznate uloge endotoksina.

Dijagnoza se zasniva na izolaciji i biohemijskoj identifikaciji uzročnika.

Ovi mikroorganizmi su rezistentni na veliki broj antimikrobnih lekova i dezinfekcionih sredstava. *Enterobacter aerogenes* i *Enterobacter cloacae* rezistentni su na ampicilin, cefalotin i tetracikline. Lekovi izbora su fluorohinoloni i karbapenemi.

Genus Citrobacter

Predstavnici ovog roda široko su rasprostranjeni u prirodi, nalaze se u zemljištu, vodi, otpadnim vodama, namirnicama i kao deo normalne flore creva ljudi i životinja. To su pokretni Gram-negativni štapići, koriste citrate, metil-crveno reakcija je pozitivna, a Voges-Proskauer, negativna. Mnogi sojevi produkuju vodonik sulfid.

Citrobacter spp. izaziva ekstraintestinalne oportunističke infekcije kod raznih vrsta životinja, uključujući mastitis kod goveda, infekcije rana, septikemiju, pneumoniju i dr. Najznačajniju bolest, infektivnu hiperplaziju sluznice kolona, izaziva *Citrobacter rodentium* kod laboratorijskih miševa i zamoraca.

Laboratorijska dijagnoza se postavlja izolacijom uzročnika od obolelih životinja. Bakterija se lako kultiviše i identifikuje na osnovu biohemijskih osobina.

Oralni preparati neomicina, tetraciklina i sulfonamida uspešno se koriste u terapiji.

Genus *Edwardsiella*

U ovom rodu nalaze se tri vrste: *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella ictaluri* i *Edwardsiella hoshinae*, od kojih prve dve izazivaju infekcije kod životinja, a treća se može naći kod reptila i ptica, ali nije dokazano da uzrokuje infekcije.

Edwardsiella spp. nalazi se u spoljnoj sredini u vodama, kao i u intestinalnom traktu hladnokrvnih životinja.

E. tarda se najčešće izoluje iz toplovodnih riba sa kožnim lezijama ili septikemijom, a može se naći i kod ptica koje se hrane ovim ribama, morskih sisara, retko kod goveda, svinja i pasa.

E. ictaluri izaziva septikemiju, koja je najznačajnija bakterijska bolest sa visokim mortalitetom kod riba u ribnjacima.

Za čoveka je najznačajnija *E. tarda*, koja može da izazove gastroenteritis, infekcije rana, osteomijelitis, sepsu i meningitis.

Faktori virulencije uključuju invazine, siderofore i hemolizine. Bakterija invadira epitelne ćelije, siderofore i hemolizini joj obezbeđuju gvožđe, a hemolizini dodatno oštećuju mikrovile crevnog epitela dovodeći do dijareje.

Edwardsiella spp. se razlikuju od većine enterobakterija po svojoj probirljivosti (zahtevaju vitamine i aminokiseline za svoj rast). Dobro rastu na moždano-srčanom bujonu i krvnom agaru, a postoje i diferencijalne podloge za ove bakterije, koje se koriste u dijagnostici infekcija kod riba.

Kulture i biohemijski testovi inkubiraju se 48 sati na 25°C. Pošto su kolonije *E. tarda* laktoza negativne i H₂S pozitivne, na podlogama za enterobakterije mogu ličiti na salmonele.

Mrtve ribe su izvor velikog broja ovih bakterija, pa njihovo uklanjanje iz ribnjaka značajno redukuje transmisiju. Epidemije ove bolesti mogu se kontrolisati dodavanjem oksitetraciklina i trimetoprim- sulfametoksazola u hranu.

Genus *Serratia*

Pripadnici ovog roda su rasprostranjeni u vodi, zemljištu, intestinalnom traktu ljudi i životinja. Najznačajnija vrsta je *Serratia marcescens*, koja kod ljudi izaziva oportunističke infekcije uglavnom u bolničkim uslovima, a kod životinja mastitis kod goveda, septikemiju kod pilića i imunosuprimiranih sisara, infekcije guštera i kornjača.

Serratia marcescens produkuje crveni pigment prodigiozin koji prebojava kolonije, po čemu se razlikuje od ostalih enterobakterija. Izolati ove bakterije su najčešće multirezistentni, otporni na mnoge antibiotike i antiseptike.

Genus *Proteus*

Ovaj rod je nazvan po Proteusu, liku iz grčke mitologije, koji je imao sposobnost da menja oblike. Pripadnici ovog roda su bacili sa izraženim pleomorfizmom, od kokobacila do filamentoznih oblika. Zahvaljujući vrlo razvijenim peritrihijalnim flagelama izrazito su pokretni i ispoljavaju fenomen rojenja na površini agara (poput vela prekrivaju podlogu, rastući u vidu koncentričnih krugova oko mesta inokulacije). Rojenje proteusa otežava izolaciju drugih bakterija iz kliničkog uzorka, zbog čega se koriste podloge koje ometaju rojenje i dovode do stvaranja pojedinačnih kolonija.

Najznačajnije vrste su *Proteus mirabilis* i *Proteus vulgaris*. Oni su ubikvitarni mikroorganizmi, nalaze se u zemlji, vodi, otpadnim vodama, učestvuju u procesima truljenja i gnjilenja organskih materija u prirodi, deo su normalne crevne flore ptica, hladnokrvnih životinja, sisara i čoveka.

Proteus mirabilis i *Proteus vulgaris* najčešće se izoluju kao uzročnici cistitisa, pijelonefritisa, infekcija rana i spoljnog uha od pasa. Nalaze se i kod urinarnih infekcija konja i neonatalnih dijareja preživara. Kod čoveka najčešće izazivaju urinarne infekcije, ali i infekcije rana, uha i bolničke infekcije. Indikatori su fekalne kontaminacije u sanitarnoj bakteriologiji.

Sposobnost izazivanja infekcija vezana je za nekoliko faktora: produkcija enzima ureaze, IgA proteaze, endotoksina, izrazita pokretljivost, fimbrije, hemolizini i siderofore. Hidroliza uree na ugljen-dioksid i amonijak alkalizuje urin olakšavajući kristalizaciju soli i stvaranje kalkulusa, a amonijak izaziva i toksična oštećenja uroepitela. Urolitijaza pogoduje daljem razvoju infekcije, jer sprečava odbranu domaćina i delovanje antibiotika na proteus, koji se dalje razmnožava unutar kalkulusa.

Proteus mirabilis razvija istovremeno različite tipove fimbrija uz čiju pomoć kolonizuje mokraćnu bešiku i bubrege. Hemolizin proteusa stvara pore na eukariotskim ćelijama i izaziva efluks jona natrijuma, pomažući diseminaciju i prodiranje bakterije iz bešike u bubrege. Proteus luči i metaloproteazu koja razgrađuje IgA smanjujući efikasnost odbrane domaćina.

Proteus spp. ulazi u uretru periuretralnom fekalnom kontaminacijom. Flagele su značajne jer omogućuju da bakterije ascendiraju u mokraćnu bešiku. Adherencija za epitelne ćelije putem fimbrija i adhezina praćena je oštećenjem tkiva pod dejstvom ureaze i hemolizina te nastaje cistitis. Ako kamenje blokira drenažu urina putem uretera, amonijak izaziva dalja oštećenja tkiva. Iz mokraćne bešike proteus ascendira i kolonizuje bubrege, izazivajući pijelonefritis. Ponekad može doći i do hematogene diseminacije.

Dijagnoza se postavlja izolacijom i identifikacijom uzročnika. *Proteus* dobro raste na običnim podlogama. *Proteus mirabilis* i *Proteus vulgaris* na krvnom agaru pokazuju fenomen rojenja, imaju jak neprijatan miris, na *MacConkey* agaru kolonije su laktoza negativne, pojedinačne, a na SS agaru mogu ličiti na salmonele zbog produkcije H₂S.

Za konačnu identifikaciju koriste se biohemijski testovi (ne fermentuje laktozu, hidrolizuje ureu, produkuje vodonik sulfid, dezaminuje fenilalanin).

Proteus mirabilis je obično osetljiv *in vitro* na ampicilin i cefalosporine, hloramfenikol i fluorohinolone, dok je *Proteus vulgaris* rezistentan na ampicilin i cefalosporine. Mogu proizvoditi i β-laktamaze, a obe vrste imaju plazmidski kodiranu rezistenciju na tetracikline.

Genus *Morganella*

U ovom rodu nalazi se samo jedna vrsta, *Morganella morganii*. *Morganella* je pokretna, ali ne pokazuje fenomen rojenja, produkuje ureazu i indol, vrši dezaminaciju fenilalanina. Nalazi se kao normalni stanovnik gastrointestinalnog trakta čoveka, sisara i reptila, kao i u spoljašnjoj sredini.

Retko se javlja kao uzročnik infekcija kod životinja, zabeleženi su slučajevi cistitisa i otitis externa kod pasa i mačaka. Kod ljudi uglavnom izaziva oboljenja kod imunokompromitovanih pacijenata u bolničkoj sredini.

Genus *Yersinia*

U ovom rodu nalazi se 11 vrsta primarno patogenih za životinje od kojih su za ljude i toplokrvne životinje najznačajnije tri: *Yersinia pestis* uzročnik kuge, *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis* koje izazivaju enterokolitise sa stvaranjem lokalnih apscesa, a za ribe je patogena *Yersinia ruckeri*, dok ostale vrste retko izazivaju oportunističke infekcije.

Yersinia pestis

Yersinia pestis je uzročnik kuge kod čoveka. To je zoonoza koja se na čoveka prenosi ujednom buve sa asimptomatski inficiranih životinja, najčešće glodara. Od domaćih životinja mačke su jedine prijemčive za *Y. pestis*, a infekcije u endemskim krajevima se često završavaju fatalno.

Kuga je poznata od davnina, pominje se još u Starom zavetu. Prva dokumentovana epidemija kuge desila se u u Atini 430. godine pre nove ere. U toku druge pandemije, bolest se proširila iz Centralne Azije, zahvatila Evropu i izazvala smrt 28 miliona ljudi (40% celokupnog stanovništva), tada je i dobila ime «crna smrt». U toku treće pandemije, krajem 19. veka, *Yersin* i *Kitasato* su nezavisno jedan od drugog otkrili uzročnika kuge i nazvali ga *Pasteurella pestis* u čast Pasteru.

MORFOLOGIJA

To su sitni Gram-negativni kokobacili. U direktnim preparatima iz kliničkog materijala bojenjem po *Weyson*-u, boje se bipolarno, tj. intenzivnije primaju boju na krajevima bakterijske ćelije. Nepokretni su, asporogeni, najčešće poseduju kapsulu.

KULTURELNE OSOBINE

Dobro se razmnožavaju na običnim hranljivim podlogama, bolje na 25-30°C nego na 37°C. Raste sporo, nakon 48 sati na krvnom agaru daje sitne, sive kolonije, 1 do 2 mm u prečniku, a na Endo agaru kolonije su laktoza-negativne.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Yersinia pestis razlaže brojne ugljene hidrate do kiseline, bez produkcije gasa. Hidrolizuje želatin. Na osnovu ovih osobina razlikuju se vrste u okviru roda *Yersinia*, a u okviru vrste, biotipovi.

FAKTORI VIRULENCIJE, PATOGENEZA I KLINIČKA SLIKA

Protein kapsule ima antifagocitno dejstvo, povećava otpornost bakterije u serumu i deluje fibrinolitički omogućujući brzo širenje bakterija. Svi sojevi poseduju endotoksin, somatski O antigen čije komponente imaju ulogu u virulenciji. Poseduju i termolabilni toksin proteinske prirode koji se oslobađa raspadanjem ćelija i pokazuje aktivnost prema miševima i pacovima.

Uzročnik ulazi u organizam čoveka ujedom inficirane pacovske buve. Buve unose *Y. pestis* sišući krv septikemičnih životinja. Buve ne blokira povišena temperatura, samo je dogma da se epidemija bubonske kuge završava pojavom slučajeva sa visokom febrilnošću. Kod čoveka nakon inkubacije od nekoliko dana, javlja se visoka temperatura i bolni, uvećani, hemoragični limfni čvorovi-*bubonic* (bubonski oblik kuge). Generalizacijom, sekundarno, može nastati plućni oblik, ali on može biti i rezultat inhalacije uzročnika, ako se on prenosi kapljičnim putem sa čoveka na čoveka u toku pneumonije. Generalizacijom prethodna dva oblika nastaje septikemija, hemoragična ospa, intravaskularna koagulacija sa smrnošću do 100%.

Patološke promene kod mačke slične su onima kod ljudi. Nakon unošenja *Y. pestis* ujedom buve, uzročnik se razmnožava lokalno i prenosi se do regionalnih limfnih čvorova u kojima izaziva upalu, hemoragije, nekrozu. Dolazi do diseminacije putem krvi do jetre, slezine, pluća i drugih organa. Lezije u plućima mačaka su u obliku difuzne intersticijalne pneumonije. Bolest brzo progredira, javlja se febrilno stanje, anoreksija, letargija i znaci sepse u vidu povraćanja, dijareje, oslabljenog pulsa, tahikardije i diseminovane intravaskularne koagulopatije.

Psi, goveda, ovce i svinje nisu podložne infekciji i ne pokazuju kliničke manifestacije kuge. Međutim, kamile i koze su osetljive, pa su zabeleženi slučajevi kuge kod ljudi na Srednjem Istoku, povezani sa konzumacijom mesa kamila inficiranih *Y. pestis*.

Zbog osobina *Y. pestis* i težine kliničke slike, ona može biti zloupotrebljena u svrhu bioterorizma.

EPIDEMIOLOGIJA

Kuga je karantinsko oboljenje, antropozoonoza, koja se u prirodi održava kao silvatična kuga u žarištima, u kojima su rezervoari divlji glodari među kojima se širi insektima (glavni vektor je pacovska buva *Xenopsylla cheopis*). Čovek se inficira kada dođe u prirodno žarište (lovci, pastiri, šumski radnici). Sa divljih glodara uzročnik može da se prenese na glodare iz čovekove okoline i neke domaće životinje (urbana kuga), a sa njih pacovskom ili rede čovečjom buvom (*Pulex irritans*) prenosi se na ljude, često na veterinare. Kada nastanu prvi plućni oblici bolesti se širi i aerosolom. Danas je kuga u povlačenju, ali se svake godine registruju pojedinačni slučajevi u Aziji, Africi i SAD.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija i identifikacija uzročnika mora da se uradi što je moguće pre. Klinički uzorak, zavisno od oblika, može da bude punktati limfne žlezde, sputum, krv ili leševi glodara. U ovom materijalu mikroskopskim pregledom nalaze se kokobacili karakterističnih osobina, a primenom direktne tehnike fluorescentnih antitela moguća je njihova brza identifikacija. Materijal se zasejava na krvni, Endo agar ili podloge za enterobakterije i inkubira na 30°C i 37°C.

Laktoza negativne kolonije se dalje identifikuju biohemijskim i serološkim metodama. Klinički materijal može i da se direktno inokuliše zamorcu, kod koga se posle 48 sati stvara bubon, a zatim razvija septikemija koja ga ubija za 4 do 5 dana. Iz organa i krvi obolele životinje lako se izoluje uzročnik.

KONTROLA I PREVENCIJA

Y. pestis je osetljiva na fluorohinolone, streptomycin, hloramfenikol i tetracikline. Retko se sreću rezistentni izolati. U prevenciji je najznačajnije suzbijanje glodara i njihovih buva. Za individualnu zaštitu ljudi koji idu u endemska područja primenjuje se vakcina i profilaktička primena antimikrobnih lekova.

Yersinia enterocolitica

Ova bakterija je sve do sedamdesetih godina dvadesetog veka smatrana za nevažnog oportunistu digestivnog trakta. Danas se zna da ona kod ljudi izaziva dijarealni sindrom i mezenterijalni limfadenitis koji može da imitira upalu slepog creva, ali i čitav niz sekundarnih autoimunih komplikacija na koži, zglobovima i nervnom sistemu. Široko je rasprostranjena kod velikog broja vrsta životinja, koje su, uglavnom latentno inficirane. U sporadičnim slučajevima kod životinja može izazvati enteritis i generalizovane infekcije.

MOFOLOGIJA

To su Gram-negativni bacili, bez spora i kapsule, pokretni ako se kultivišu na 22-25°C, ali nepokretni na 37°C. Nemaju karakterističan raspored i ne boje se bipolarno.

KULTURELNE OSOBINE

Optimalna temperatura za razmnožavanje je 25-29°C, mada mogu da rastu u opsegu od 4°do 41°C. Dobro rastu na svim podlogama za enterobakterije, na kojima za 48h daju sitne, pravilne, laktoza negativne kolonije. Za izolaciju iz kliničkih uzoraka najčešće se koristi selektivna podloga CIN agar (sa cefsulodinom, irgasanom i novobiocinom). Za izolaciju iz kontaminiranog materijala može da se koristi "metod hladnog obogaćenja" tj. kultivisanje do tri nedelje na 4°C u fiziološkom rastvoru, uz presejavanje na selektivne podloge svakih sedam dana.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Fermentuje ugljene hidrate do kiseline bez stvaranja gasa, hidrolizuje ureu. Na osnovu biohemijskih osobina razlikuje se u okviru vrste, pet biotipova.

ANTIGENSKA GRAĐA

Y. enterocolitica poseduje O i H antigene. Na osnovu O antigena podeljena je na 60 serogrupa. Za oboljenja čoveka značajne su serogrupe O3 i O9 u Evropi, Japanu i Kanadi, i O8 u SAD.

FAKTORI VIRULENCIJE, PATOGENEZA I KLINIČKA SLIKA

Virulentni sojevi proizvode invazin, protein koji igra ulogu u adherenciji i ulasku bakterija u ćelije domaćina. Enterotoksin koji stvaraju sličan je termostabilnom enterotoksinu *E. coli*. Na temperaturi od 37°C ove bakterije proizvode proteine spoljašnje membrane, koji imaju antifagocitno i toksično dejstvo. *Y. enterocolitica* ulazi u organizam oralnim putem, adherira i penetrira ileum, izazivajući terminalni ileitis, limfadenitis i akutni enterokolitis (ileocekalni bol koji može da imitira upalu slepog creva i dijareja). Može doći i do sekundarnih autoimunih manifestacija, upale zglobova, ređe septikemije.

Kod životinja izaziva ileitis, gastroenteritis i mezenterijalni adenitis, a izoluje se kod zečeva, pasa, svinja, konja, raznih krznašica, ptica i domaćih preživara.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Metoda izbora je izolacija i identifikacija uzročnika iz raznih materijala: feces, punktati limfnih čvorova, krvi, životne namirnice i voda. Izolacija se vrši na diferencijalnim i selektivnim podlogama, a za kontaminirane materijale koristi se

“hladno obogaćenje”. Porasle kolonije identifikuju se na osnovu biohemijskih i fizioloških osobina. Konačna dijagnoza postavlja se serotipizacijom.

EPIDEMIOLOGIJA

Jersinioza je antropozoonoza za koju su rezervoar najčešće svinje, ali i živina, goveda i druge životinje, kao i oboleo čovek i kliconoša. Prenosi se najčešće kontaminiranom termički neobrađenom hranom ili vodom. Svinje su češće oralni nego intestinalni nosioci ovih bakterija. *Y. enterocolitica* dugo preživljava i u spoljnoj sredini, a u namirnicama se razmnožava i kad se čuvaju u frižideru na 4° C.

PREVENCIJA I KONTROLA

Jersinije su osetljive su na tetracikline, kotrimoksazol, hloramfenikol, fluorohinolone, ali bolest često prolazi i bez antibiotske terapije. Specifična profilaksa ne postoji, već treba rigorozno kontrolisati higijenske uslove u proizvodnji i prometu životnih namirnica.

Yersinia pseudotuberculosis

Ova vrsta je po svojim morfološkim, kulturelnim i biohemijskim osobinama slična sa *Y. enterocolitica*. U prirodnim uslovima izaziva pseudotuberkulozu glodara, sa dijarejom i smrću usled septikemije. Infekcije mogu da se jave i kod ovaca (orhitis i epididimitis), svinja, goveda i kod ljudi (mezenterijalni limfadenitis koji liči na tuberkulozu, akutni ileitis, retko septikemija).

Yersinia ruckeri

Ova bakterija je etiološki agens oboljenja riba. Izaziva bolest „crvenih usta“ kod lososa i smrtonosnu septikemiju kod riba. Nakon epidemije može u vodi da preživi mesecima.

Poglavlje
5

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus Bordetella
2. Genus Psudomonas
3. Genus Burkholderia
4. Genus Aeromonas
5. Genus Plesiomonas
6. Genus Vibrio
7. Genus Moraxella
8. Genus Neisseria
9. Genus Actinobacillus
10. Genus Brucella
11. Genus Francisella
12. Genus Bartonella

Genus Bordetella

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Pripadnici ovog roda su sitne, štapičaste, Gram-negativne bakrije. U rodu *Bordetella* nalaze se četiri vrste: *Bordetella pertusis* i *Bordetella parapertusis*, patogeni ljudi i *Bordetella bronchiseptica* i *B. avium*, patogeni životinja. Navedene bakterije imaju izražen tropizam prema cilijarnom epitelu respiratornog trakta gde i izazivaju patološke procese. *Bordetella pertusis* je uzročnik velikog kašlja kod ljudi, a *Bordetella parapertusis* kod ljudi izaziva oboljenje slično pertusisu, sa blažom kliničkom slikom.

Bordetella bronchiseptica

Bordetella bronchiseptica je bakterija koja se po morfološkim osobinama razlikuje od ostalih *Bordetella* po tome što je pokretna. Smatra se jednim od primarnih uzročnika atrofičnog rinitisa u svinja. Može biti patogena i za ljude. Ovaj mikroorganizam izolovan je iz različitih životinjskih vrsta, domaćih, divljih i laboratorijskih životinja, pre svega iz respiratornog trakta, a uzročnik je akutnih i hroničnih oboljenja.

MORFOLOGIJA

Bordetella bronchiseptica je Gram-negativna kokobacilarna bakterija, koja se u mikroskopskom preparatu vidi kao diplobacil ili u kraćim lancima. Ova bakterija ne stvara spore i kreće se pomoću peritrihijalnih flagela. Kada su bakterije u S formi poseduju kapsulu i aglutiniraju eritrocite.

KULTURELNE OSOBINE

Dobro se razmnožava na podlogama sa dodatkom krvi (krvni agar, *Bordet-Gengou* agar) na kojima se posle inkubacije od 48 sati na 37°C uočavaju okrugle, glatke, sjajne, konveksne i prozračne kolonije, sivo-bele boje, promera 2-3mm. Na podlogama sa krvi stvara β -hemolizu. Na *MacConkey* agaru kolonije su sjajne, okrugle i konveksne, sa nešto tamnijim vrhom i ispupčenjem na vrhu kolonije. Izolacija je uspešnija na selektivnim podlogama, koje sadrže penicilin i nitrofurantoin. Višekratnim pasażiranjem, bakterije gube kapsulu i prelaze u R formu, kada su kolonije veće, nepravilnog oblika, spljoštene, ne stvaraju hemolizu i nemaju svojstvo hemaglutinacije. S forma uzročnika pokazuje fazne varijacije, faza I i faza III. Takve fazne varijacije ustanovljene su na osnovu morfoloških karakteristika kolonija, hemolitičnih svojstava i prisustva ili odsustva kapsule.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Bordetella bronchiseptica stvara hemolizu, produkuje katalazu, ureazu i oksidazu, redukuje nitrata, koristi citrat, ne fermentuje šećere i pokretna je.

ANTIGENSKA GRAĐA

Bordetella bronchiseptica poseduje somatske O i kapsularne K antigene. Oni su odgovorni za aglutinacijske reakcije. Sveže izolovani sojevi, koji se nalaze u fazi I, sadrže aglutinogene i antigene pila (fimbrija). Sojevi *Bordetella bronchiseptica* su antigenski kompleksni, a pasažiranjem na podlogama dolazi do antigenske varijacije i gubitka aglutinogena.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Virulencija bordetela je različita u odnosu na životinjsku vrstu iz koje je izolovana, a i izolati iz jedne životinjske vrste pokazuju razlike. Primenom imunofluorescentne tehnike ustanovljeno je da u toku infekcije *B. bronchiseptica* ostaje u mukozni, subepitelijalno tkivo ostaje intaktno, a promene u koštanom tkivu konha uzrokuje jedan termolabilni dermonekrotični egzotoksin koji difunduje u tkivo. Stvaranje egzotoksina vezano je za faznu varijaciju bakterija, a tu sposobnost imaju sojevi faze I. Bitno svojstvo za virulenciju *Bordetella bronchiseptica* je sposobnost hemaglutinacije, odnosno postojanje hemaglutinina koji su vezani za kapsulu. Visoko virulentni sojevi poseduju pile (fimbrije) koje su odgovorne za vezivanje bakterija za cilijarni epitel sluzokože nosa, odnosno adherenciju bakterija.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Bordetella bronchiseptica je široko rasprostranjena u zapatima svinja. Rezervoar infekcije su latentno inficirane životinje. Uzročnik se prenosi pomoću infektivnog aerosola direktnim kontaktom, a širi se najintenzivnije među najmlađim kategorijama svinja.

Atrofični rinitis je bolest gornjih respiratornih puteva svinja. To je hronično progresivno oboljenje, koje se karakteriše kataralno-gnojnim zapaljenjem sluzokože nosa, atrofijom nosnih konhi, što dovodi do deformacije rila. Prisustvo *B. bronchiseptica* u zapatima svinja često nije u skladu sa kliničkom slikom bolesti, što se može pripisati različitoj virulenciji uzročnika, uslovima držanja, ishrani i dr.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Laboratorijska dijagnoza se postavlja izolacijom uzročnika i dokazivanjem specifičnih antitela u krvnom serumu.

Bakteriološka dijagnoza se postavlja izolacijom i identifikacijom uzročnika. Kao uzorak se koristi bris nosa, delovi promenjenih pluća, bronhoalveolarni aspirat. Za kultivisanje se koristi krvni agar, *MacConkey* agar, *Bordet-Gengou* agar sa dodatkom antibiotika i antimikotika, zbor sistiranja rasta prateće bakterijske flore. Identifikacija kolonija koje morfološki odgovaraju za *B. bronchiseptica* vrši se ispitivanjem biohemijskih osobina i primenom homolognih antiseruma.

Za dokazivanje specifičnih antitela za *B. bronchiseptica* u krvnom serumu inficiranih svinja koristi se metod aglutinacije, heminhibicije, RVK i ELISA.

KONTROLA I PREVENCIJA

Medikamentozna terapija se sprovodi nakon ispitivanja osetljivosti izolata *B. bronchiseptica*, a najčešće se koristi sulfadimidin i oksitetraciklin. Aktivna imunizacija svinja, koja se postiže brojnim i po sadržaju različitim vakcinama, predstavlja izuzetno važnu preventivnu meru. Međutim, tek u sadejstvu sa nizom drugih faktora može se očekivati adekvatan efekat vakcinacije.

Atrofični rinitis je oboljenje na čiji nastanak, intenzitet, tok i terapijski efekat utiču brojni faktori, kao što su faktori sredine, sprovođenje biosigurnosnih mera, uslovi držanja i ishrane.

Bordetella avium

Bordetella avium je uzročnik rinotraheitisa kod ćuraka. To je pleomorfan, Gram-negativan kokobacil, koji poseduje peritrihijalne flagele. Raste u aerobnim uslovima, na uobičajenim hranljivim podlogama, uključujući i *MacConkey* agar. *Bordetella avium* produkuje histamin-senzitivni faktor, citotoksin i dermonekrotoksin. Na osnovu prisustva aglutinogena na površini bakterije identifikovana su tri serotipa *Bordetella avium*.

Bordetella avium naseljava respiratorni trakt ćuraka i uzrokuje oboljenje pre svega kod mladih jedinki u vidu rinitisa, konjuktivitisa, traheitisa sa otežanim disanjem. Morbiditet je vrlo visok, ali je smrtnost niska, ako tok bolesti ne prati sekundarna infekcija.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Kao uzorak za ispitivanje koristi se nosni bris ili delovi tkiva gornjih respiratornih puteva ćuraka. Za izolaciju uzročnika koristi se krvni ili *MacConkey* agar. Nakon 48 sati uočavaju se sitne, okrugle i sjajne kolonije. Izolati se identifikuju na osnovu biohemijskih svojstava. Za dokazivanje specifičnih antitela može se koristiti mikroaglutinacija i ELISA test.

KONTROLA I PREVENCIJA

Bordetella avium je osetljiva na tetracikline i eritromicin, a rezistentna na penicilin, streptomycin i sulfonamide. Za specifičnu profilaksu se primenjuju atenuirane vakcine i bakterini. Primena antibiotika i vakcinacije može sprečiti izbijanje oboljenja. Zbog velike kontagioznosti *B. avium* slobodna jata treba držati izolovano od mogućih izvora infekcije. U objektima gde je infekcija prisutna potrebno je primeniti biosigurnosne mere.

Genera Pseudomonas i Burkholderia

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Rod *Pseudomonas* opisan je pre više od jednog veka, ali je odnedavno revidirana njegova klasifikacija a zbog taksonomske heterogenosti vrsta rearanžiranjem nomenklature ustanovljen je novi rod, rod *Burkholderia*.

Ovaj novi rod spada u klasu β proteobakterija, red *Burkholderiales*, familiju *Burkholderiaceae*, a rod *Pseudomonas*, klasifikovan je u klasu γ proteobakterija, red *Pseudomonadales*, familiju *Pseudomonadaceae*.

Oba roda su aerobni, nesporogeni, oksidaza pozitivni, nefermentujući, Gram-negativni štapići, koji rastu na *MacConkey* agaru. U tabeli 16. su prikazane najvažnije patogene vrste.

Genus Pseudomonas

Ovo su ubikvaterne bakterije, koje se mogu naći u zemljištu, vodi, organskim materijama, vegetaciji, ali su oportunistički patogeni životinja, biljkaka i ljudie. Jedna vrsta, *P. aeruginosa*, može se naći i kod ljudi i životinja, dok *P. fluorescens* ima značaja samo u veterinarskoj medicini. *P. aeruginosa* može biti deo normalne mikroflore kože, mukoznih membrana ili gastrointestinalnog trakta zdravih životinja.

Pseudomonas aeruginosa, kao oportunistička bakterija, javlja se kod oslabljenog imunskog sistema, nakon povreda ili uništenja normalne crevne mikroflore zbog dugotrajne upotrebe antibiotika. Bakterija poseduje veliki broj faktora virulencije, uključujući pile koje omogućavaju *adherenciju na epitel*, kapsulu, koja štiti od fagocitoze i imunskih ćelija, endotoksin, enzime, hemolizine, toksine koji dovode do diseminacije u tkivima, pojave nekroze i krvarenja, piocijanin, koji interferira sa mukocilijarnim epitelom i dovodi do oslobađanja toksičnih kiseoničkih radikala a izražena je i antimikrobna rezistencija, što je ozbiljan terapijski problem.

Tabela 16. Bolesti i primarni domaćini rodova
Pseudomonas i *Burkholderia*

mikroorganizam	domaćin	oboljenje
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	govedo	mastitis, abortus, botriomikoza
	pas	otitis externa
	konj	kornealne ulceracije, metritis
	živina	uginuće ploda
	ovca	„truljenje nogu“
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	govedo	mastitis
	živina	uginuće ploda
<i>Burkholderia mallei</i>	mula, magarac	akutni limfadenitis („glanders“)
	konj	hronični limfadenitis („glanders“)
	mačka, pas	akutni limfadenitis („glanders“)
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	mačka, govedo, pas, konj, svinja	melioidoza, češća je hronična, nodularna forma, od akutne-septikemije

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dijagnoza se bazira na izolaciji *P. aeruginosa* i *P. fluorescens* iz kliničkog uzorka. Obe vrste dobro rastu na standardnim hranljivim podlogama, kao što je triptikaza soja agar sa ili bez dodatka 5% krvi i *MacConkey* agaru, a inkubacija se radi aerobno, na 37°C. Za diferenciranje *P. aeruginosa* od *P. fluorescens*, služi kultivacija na 42°C. Nakon primoizolacije, mikrobiološka dijagnoza *P. aeruginosa* postavlja se na osnovu morfologije kolonija, produkcije pigmenta i tipičnog mirisa. Iz kliničkih uzoraka javljaju se dve forme kolonija: jedne su nalik na pečeno jaje, sjajne, ravnih ivica i uzdignutog centra. Druga forma kolonija, koja se viđa kod izolata iz urina ili respiratornog trakta, je mukoidna i luči velike količine pigmenta. Piocijanin je plavozelenkaste boje, viđa se kod izolata iz gnoja. Pioverdin je žute boje i u kombinaciji sa piocijaninom daje fluorescenciju. Piorubrin je crvene boje, piomelanin smeđe do crne boje, i oni se ređe proizvode i to nakon nekoliko nedelja kultivacije. Miris *P. aeruginosa*, tipičan je miris lipe. *P. fluorescens* nema tipičnu morfologiju kolonija niti miris, a proizvode pioverdin. Osnovne diferencijalno-dijagnostičke razlike između *P. aeruginosa* i *P. fluorescens* prikazane su u tabeli 17.

Tabela 17. Diferencijacija *P. aeruginosa* i *P. fluorescens*

test	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>
miris	lipe	nema miris
Rast na 42°C	raste	ne raste
Piocijanin	produkuje	ne produkuje
Osetljivost na kanamicin	rezistentan	osetljiv

Genus *Burkholderia*

Burkholderia je rod iz familije *Burkholderiaceae*, koji obuhvata preko 30 vrsta Gram- negativnih, obligatno aerobnih štapića. Samo su dve vrste patogene za životinje: *Burkholderia mallei*, koja uzrokuje akutnu ili hroničnu, sistemsku, piogranulomatoznu infekciju kod ekvida, a manifestuje se čvoričima i ulceracijama u gornjem respiratornom traktu i plućima a viđa se i kožna forma.

Direktnim kontaktom ili ingestijom zaraženog mesa može se infekcija preneti na ljude i karnivore. Direktnim kontaktom sa obolelih konja se može preneti na male preživare a goveda i svinje nisu osetljivi na infekciju.

Burkholderia pseudomallei kazuativni je agens melioidoze, koja se manifestuje apscesima ili većim slivenim granulomima u plućima, zglobovima i uterusu kod goveda. Kod ovaca se javlja artritis i limfadenitis, a kod koza poremećaji CNS, artritis i mastitis. Kod svinja se može videti dijareja i pobačaj a kod pasa febrilna bolest sa lokalizovanim gnojnim fokusima.

Jedna vrsta, *Burkholderia cepacia*, patogena je za ljude, a uzročnik je pulmonalne infekcije kod ljudi sa cističnom fibrozom.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Mikrobiološka dijagnoza postavlja se izolacijom i identifikacijom uzročnika iz krvi ili tkiva.

Burkholderia mallei je nepokretan kokobacil, dužine 2–5µm i širine 0,5µm. Dobro, ali sporo raste na agaru s 5% ovčije krvi ili uz dodatak 1-4% glicerola, MacConkey i čokoladnom agaru. Za vidljiv rast mora da prođe najmanje 72 sata. Kolonije su slivene, svetlo krem boje, sjajne, glatke, viskozne. Daljim stajanjem dobijaju smeđu boju. Biohemijski je inertna. Fermentuje samo glukozu, ne produkuje indol, ne luči pigment.

Burkholderia pseudomallei je aerobni, Gram negativni, bipolarni, pokretan štapić, dužine 2–5µm i širine 0,4–0,8µm, sa polarnom flagelom. Dobro i brzo

raste na hranljivim podlogama u koje je dodat arginin. Za izolaciju se obično koriste krvni agar i *MacConkey* agar. Vidljiv rast *B. pseudomallei* nastaje u toku 24-48 sati. Kolonije su hrapave, imaju metalni sjaj, miris zemlje. Rezistentna je na većinu antibiotika, uključujući gentamicin što je diferencira od *B. mallei*. Optimalna temperatura rasta je oko 40°C, fermentuje šećere do kiseline bez stvaranja gasa. Produkuje i endo i egzotoksin.

Za izolaciju se mogu koristiti selektivne podloge i to za izolaciju *B. mallei* podloga koja sadrži *polimiksin B*, *bacitracin* i *aktidion*, a za *Burkholderia pseudomallei* koristi se selektivna podloga s gentamicinom i kristal-violetom (*Ashdown's* medijum).

U tabeli 18. su prikazane diferencijalne karakteristike vrsta *B. mallei* i *B. pseudomallei*.

Dijagnoza se može postaviti serološki, reakcijom vezivanja komplementa ili ELISA tehnikom. Za dijagnostiku *B. mallei* koristi se i „*Malein test*“. Malein PPD je komercijalni, vodeni rastvor proteinske frakcije toplotom tretirane bakterije *B. mallei*. Intradermalna inokulacija u obrvu, za 24-48 sati dovede u slučaju inficirane životinje do pojave edema, svraba i purulentnog sekreta na konjuktivi.

Tabela 18. Diferencijalne karakteristike vrsta *B. mallei* i *B. pseudomallei*

test	<i>B. mallei</i>	<i>B. pseudomallei</i>
oksidaza	pozitivan	pozitivan
miris	nema	zemlje
Rast na 42°C	negativan	pozitivan
maltoza	negativan	pozitivan
manitol	negativan	pozitivan

Za diferenciranje *B. pseudomallei* od *Pseudomonas aeruginosa* služi ispitivanje osetljivosti na antimikrobne lekove. Naime, *B. pseudomallei* rezistentan je na sve aminoglikozide a osetljiv na *coamoxiclav* dok se ova rezistencija ne viđa kod *P. aeruginosa*.

Genera *Aeromonas*, *Plesiomonas* i *Vibrio*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Rodovi *Aeromonas*, *Plesiomonas* i *Vibrio* su Gram-negativni, fakultativno anaerobni štapići koji su svrstani u klasu γ -*Proteobacteria*. Fermentuju glukozu i većinom su oksidaza pozitivni. Svi se mogu naći u vodi, patogeni su za žabe, ribe, reptile i ljude, a retko se sreću kao uzročnici dijareje kod mačaka, živine i drugih ptica.

Genus *Aeromonas*

U genusu *Aeromonas* nalazi se 15 vrsta štapića koji su katalaza pozitivni, redukuju nitrate u nitrite, većina vrsta je pokretna. Mogu dobro da rastu na temperaturi od 10-42°C. Većina vrsta je psihrofilna, sa optimalnom temperaturom rasta u opsegu od 22-25°C. Dužine su 1,0 -3,5 μ m i 0,3-1,0 μ m širine, zaobljenih krajeva, kokoidni.

Ove bakterije su patogene za žabe, ribe, reptile i ljude, kod kojih dovode do tzv. „dijareje putnika“ koja se javlja epidemijski, a nastaje nakon konzumacije termički neobrađene kontaminirane hrane ili vode. Kod ljudi se sporadično može javiti i septikemija, peritonitis, urinarne infekcije i hemolitično-uremični sindrom. Najvažnija vrsta je *Aeromonas hydrophila*.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za izolaciju *Aeromonas spp.* koristi se krvni agar ili *MacConkey* agar. Na krvnom agaru kolonije su krem boje, okrugle, sjajne, β -hemolitične, prečnika 2-3mm, razvijaju se nakon 48h, na temperaturi 25°C. Na *MacConkey* agaru kolonije su laktoza negativne.

Dalja identifikacija vrši se biohemijskim ispitivanjem. Za diferenciranje od ostalih katalaza pozitivnih, glukoza fermentujućih, Gram-negativnih štapića (*Plesiomonas*, *Vibrio*) služi i ispitivanje osetljivosti na vibriostatički agens O129, na koji nije osetljiv za razliku od druga dva roda..

Genus *Plesiomonas*

Plesiomonas shigelloides je jedina vrsta u ovom rodu, a viđa se kao uzročnik dijareje kod mačaka i septikemije kod riba. Lako se izoluje na krvnom agaru, gde produkuje kolonije prečnika 2-3mm. Na *MacConkey* agar je laktoza negativan. Rezistentan je na β -laktame, tetracikline i sulfonamide. Osetljiv je na hloramfenikol i hinolone. Za razliku od *Aeromonas spp.* osetljiv je na O129.

Genus *Vibrio*

Ovo su mali, zakrivljeni, pokretni bacili koji fermentuju glukozu. Većinom su oksidaza pozitivni. Opisano je preko 30 vrsta, 13 se viđa kod riba, a jedna (*Vibrio metschnikovii*) kod živine.

Veterinarski značaj imaju: *V. ordalli*, koji uzrokuje hemoragičnu septikemiju riba, *V. salmonicida*, uzročnik „vibrioze hladnih voda” kod riba i *Vibrio metschnikovii*, uzročnik enteritisa kod živine.

Od 12 vrsta koje su patogene za ljude, najvažniji su *V. cholerae* (uzročnik kolere), *V. parahaemolyticus* i *V. vulnificus*, uzročnici trovanja hranom (morskim plodovima).

Za razliku od predhodna dva roda, *Vibrio* se može kultivisati na podlogama sa povišenom koncentracijom kuhinjske soli.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza vibrioze postavlja se inokulacijom kliničkog materijala na krvni agar ili podloge sa povišenom koncentracijom (1-4%) natrijum hlorida.

Vibrio metschnikovii daje na krvnom agaru male, nehemolitične kolonije, prečnika 2-4mm, nakon 48 sati inkubacije na 37°C.

V. ordalli daje okrugle, krem kolonije, prečnika 1-2mm, nakon 7 dana inkubacije na 15-25°C.

V. salmonicida optimalno raste na 15-17°C, a kolonije prečnika 1-2mm daje nakon 72 sata.

Biohemijska identifikacija služi za utvrđivanje pojedinih vrsta.

PREVENCIJA I KONTROLA

Za prevenciju vibrioze kod riba postoji komercijalna vakcina.

Genera *Moraxella* i *Neisseria*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Predstavnici ova dva roda mogu se naći na koži i sluznici usne duplje, gornjeg respiratornog trakta i konjuktivi sisara. Većinom su komenzali, a neke vrste mogu biti patogene za životinje i ljude. Pripadaju klasi *Proteobacteriae*.

Genus *Moraxella*

Ovo su nepokretni, aerobni mikroorganizmi sa probirljivim zahtevima u ishrani, čija je optimalna temperatura rasta između 33-35°C. Većinom su kratki, zdepasti, Gram-negativni kokobacili, sa tendencijom pleomorfizma, neke su vrste više kokoidne a druge više bacilarne forme. Patogene vrste su: *Moraxella bovis* a retko *M. ovis*.

Moraxella bovis je primarni etiološki agens keratokonjuktivitisa kod goveda. Infekcija se prenosi direktnim kontaktom a moguć je i prenos vektorima, muvama (*Musca domestica*). Najvažniji faktor virulencije su dva tipa pila. Q pili su odgovorni za adheziju na kornealni epitel dok I pili omogućavaju lokalnu perzistenciju i pojavu infekcije. Ova bakterija produkuje i citotoksin koji dovodi do pojave kornealnih ulceracija.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija uzročnika iz brisa konjunktive radi se na krvnom agaru, a zbog velike osetljivosti zasejavanje mora da se uradi najviše za dva sata od uzimanja uzorka. U direktnom mikroskopskom preparatu obojenom po Gramu, vide se Gram-negativni bacili u parovima. Izolacija se radi na agaru sa goveđom krvi. Kolonije na krvnom agaru mogu biti pljosnate ili konveksne, sivkasto-bele, okružene širokom zonom β -hemolize.

Dalja identifikacija radi se pomoću biohemijskih i fizioloških testova. *Moraxella* je oksidaza i katalaza pozitivna, razgrađuje želatin, ne redukuje nitrate, asaharolitična je. Na „litmus milk“ podlozi nakon 7 dana pokazuje tri različito obojena nivoa: tamno-plavi gornji sloj, svetlije plav srednji sloj i belo dno.

Moraxella ovis može izazvati keratokonjuktivitis kod ovaca, koza i goveda. Metode izolacije, identifikacije je isti kao kod predhodne vrste. Donekle se razlikuje u morfologiji, jer je u kokoidnoj formi, i u biohemijskoj aktivnosti, jer redukuje nitrate i ne razgrađuje želatin.

KONTROLA I PREVENCIJA

Jedini efikasan antibiotik u terapiji infekcija sa *Moraxella spp.* je oksitetraciklin. Postoji više različitih komercijalnih vakcina koje imaju različit zaštitni efekat u prevenciji.

Genus Neisseria

Ovo su kokoidne bakterije, koje su u mikroskopskom preparatu najčešće raspoređene u parovima ili kratkim lancima. To su aerobni, nepokretni mikroorganizmi, čija je optimalna temperatura rasta 35-37°C. U veštačkim uslovima bolje raste u prisustvu povećane vlažnosti i CO₂.

Neisseria spp. su saharolitičke bakterije, i razgrađuju šećere do kiseline. Najvažniji humani patogeni su *Neisseria meningitidis*, uzročnik meningitisa i *N. gonorrhoeae*, uzročnik gonoreje kod ljudi a veterinarski patogeni su *N. canis* i *N. weaveri* koje se mogu naći u usnoj duplji pasa i mačaka, a mogu dovesti do infekcija ujednih rana.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija najserija radi se na krvnom agaru ili češće na čokoladnom, a za identifikaciju se koriste mikroskopski izgled, biohemijska aktivnost, kao što je fermentacija ugljenih hidrata, test oksidaze i dr.

Genus *Actinobacillus*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Rod *Actinobacillus* spada u F. *Pasteurelaceae*, a u njega spadaju nepokretni, Gram-negativni štapići, ili ponekad kokoidne forme koje podsećaju na Morzeovu azbuku. To su fakultativno anaerobne bakterije koje zahtevaju za rast prisustvo CO₂. Šećere fermentuju do kiseline bez stvaranja gasa, većinom rastu na *MacConkey* agaru, u vidu sitnih, laktoza pozitivnih kolonija. Na krvnom agaru mogu dati hemolizu, uglavnom su oksidaza pozitivni, redukuju nitrate.

Usna duplja i gornji respiratorni trakt su prirodno stanište ovih bakterija. Neke vrste su komenzali, dok su druge vrste patogene za životinje. Infekcija izuzev kod novorođenih životinja najčešće je endogena. U tabeli 18. je dat pregled nekih patogenih vrsta i domaćini kod kojih se bolest javlja.

Tabela 18. Patogene vrste iz roda Actinobacillus i domaćini kod kojih se bolest javlja

vrsta	klinička slika	domaćin
<i>A. arthritidis</i>	artritis, septikemija	konj
<i>A. equuli</i>	artritis, septikemija, metritis, abortus, septikemija	konj svinja
<i>A. lignieresii</i>	piogranulomatozne lezije („ <i>wooden tonque</i> “)	preživari
<i>A. pleuropneumoniae</i>	fibrinozna pleuropneumonija	svinja
<i>A. rossii</i>	abortus, metritis	svinja
<i>A. suis</i>	septikemija	svinja
<i>A. ureae</i>	respiratorna bolest	čovjek

A. pleuropneumoniae izaziva pleuropneumoniju kod svinja a kolonizira tonzile i gornji respiratorni trakt zdravih svinja. Bolest se prenosi direktnim kontaktom ili aerosolom sa bolesne na zdravu životinju. Opisano je 15 serotipova koji se razlikuju po virulenciji. Hronično inficirane svinje su stalni rezervoar infekcije.

A. suis je oportunistički patogen svinja koji može dati 3 klinička sindroma: kod prasadi do 30 dana izaziva septikemiju, starija prasada razvijaju pleuropneumoniju a odrasle svinje meningitis, abortus, metritis i crvene romboidne lezije kože koje liče na erizipel.

MORFOLOGIJA

Actinobacillus je Gram-negativni kokobacil, širine oko 0,5µm, različite dužine. Svi sem *A. pleuropneumoniae* poseduju kapsulu.

KULTURELNE I BIOHEMIJSKE OSOBINE

Ove bakterije dobro rastu na krvnom agaru, na temperaturi od 20-42°C. Na krvnom agaru porastu kolonije prečnika 1-2 mm, nehemolitične (izuzetak *A. suis*). Fermentuju veliki broj šećera do kiseline bez stvaranja gasa. Redukuju nitrate, urea je pozitivna.

FAKTORI VIRULENCIJE

Aktinobacili poseduju polisaharidnu kapsulu, lipopolisaharid i egzotoksin (RTX) koji uzrokuje stvaranje pora na ćelijama, dovodi do produkcije proinflamatornih citokina i nekroze tkiva.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U direktnom mikroskopskom preparatu razmaza gnoja sa tonzila obojenom po Gramu, vide se Gram-negativni, zdepasti štapići. Zbog velikog broja saprofitnih vrsta neophodna je izolacija i precizna identifikacija vrste. Uzorak se zasejava na krvni i *MacConkey* agar i rade se biohemijska i fiziološka ispitivanja. Diferencijacija najznačajnijih vrsta roda *Actinobacillus* data je u tabeli 19.

Tabela 19. Diferencijacija najznačajnijih vrsta roda *Actinobacillus*

vrsta	katalaza	ureaza	eskulin	<i>MacConkey</i>	hemoliza	arabinoza	inozitol	manitol
<i>A. arthritis</i>	+	+	-	-	-	+/-	-	+
<i>A. equuli</i>	+	+	-	+/-	slabo+	+/-	-	+
<i>A. lignieresii</i>	+	+	-	+/-	-	-	-	+
<i>A. pleuropneumoniae</i>	+/-	+	+/-	+	+	+	-	+
<i>A. rossii</i>	+	+	-	+	+/-	+	+	+
<i>A. suis</i>	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>A. ureae</i>	+	+	-	+/-	-	+/-	-	+

Najvažniji test za identifikaciju je CAMP test, koji je kod *A. pleuropneumoniae*, pozitivan a kod svih drugih vrsta negativan. Serološka dijagnoza je moguća ali ELISA test i test inhibicije hemolize ne mogu identifikovati različite serotipove.

KONTROLA I PREVENCIJA

Aktinobacili su osetljivi na mnoge antimikrobne lekove, uključujući peniciline, makrolide, oksitetraciklin, tiamulin i ceftiofur.

Genus Pasteurella

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Familija *Pasteurellaceae* obuhvata pet rodova Gram-negativnih, nepokretnih bakterija kokobacilarnog oblika: *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Mannheimia* i *Lonepinella*. *Pasteurella multocida* je poslužila Luju Pasteru za izradu prve bakterijska vakcine, uspešno primenjene 1881. godine.

U rodu *Pasteurella* nalazi se veći broj vrsta a njihov pregled, domaćini i klinički značaj dati su u tabeli 20.

Klinička forma pastereloze, infekcije izazvane bakterijama iz ovog roda, zavisi od virulencije soja, vrste i starosti životinja, uslova držanja i faktora sredine. Infekcija može da protекne kao septikemija, pneumonija, promene na krvnim sudovima sa krvarenjem, fokalnim lezijama na unutrašnjim organima ili ulceracijama sluznica..

MORFOLOGIJA

Bakterije iz familija *Pastereurallaceae* su sitni Gram-negativni bacilli ili kokobacili 0,2-0,4x0,6-2,5 μm , sa zaobljenim krajevima, mogu biti pojedinačni ili u paru. Kod pastereloze živine, u preparatima direktno pripremljenim iz srca bojenjem po Gimzi uočavaju se sitne bipolarno obojene bakterije. Pasterele imaju kapsulu kada se preparat priprema direktno iz patološkog materijala.

KULTURELNE OSOBINE

Pasterele mogu da rastu na običnim podlogama, ali se bolji rast postiže dodatkom krvi ili krvnog seruma. Radi sistiranja prateće bakterijske flore, da bi se postigla selektivnost, podlogama se dodaje antibiotik klindamicin. Nakon 24 do 48 časova formiraju se kolonije srednje veličine, okrugle sivo-bele boje. Tip A *P. multocida* stvara relativno velike i sluzave kolonije. Kolonije *P. multocida* na podlozi karakteriše sladunjav miris, bez hemolize.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Pasteurella vrste su nepokretne, bez spora, fakultativno anaerobne bakterije, oksidaza i katalaza pozitivne. U identifikaciji vrste, podvrste i biotipa *Pasteurella* primenjuje se veći broj biohemijskih reakcija: stvaranje indola, hidroliza ureje, razlaganje ornitina i sposobnost ferementacije ugljenih hidrata.

ANTIGENSKA GRAĐA

P. multocida poseduje O i K antigen. Na osnovu kapsularnih antigena utvrđeno je 5 seroloških grupa (A,B,C,D,E i F) i a na osnovu somatskog O antigena 11 serotipova, što uslovljava postojanje 20 različitih kombinacija.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Prednji disajni putevi su ulazna vrata za pasterelozu, ređe se infekcija prenosi preko oštećene sluzokože digestivnog trakta. Pasterele se razmnožavaju na mestu ulaska, prodiru u krvotok gde se razmnožavaju i nastaje septikemija ili dolaze do unutrašnjih organa gde izazivaju nekrotične promene na organima. Sojevi *P. multocida* tip D proizvode termolabilni nekrotični toksin koji ima značajnu ulogu kod progresivnog atrofičnog rinitisa svinja, zajedno ili bez prisustva *B. bronchiseptica*.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Pasterele su veoma neotporne bakterije. Glavni izvor *P. multocida* su inficirane životinje, a uzročnik se može naći na služokoži i nazofarinksu mnogih životinjskih vrsta. Pojedini tipovi *P. multocida* su primarno patogeni (hemoragijska septikemija goveda i kolera živine) a neki tipovi uzrokuju sekundarne infekcije, (kod virusnih infekcija, infekcija mikoplazmama, aktinobacilusom i dr.). Pasterele se uglavnom prenose aerogeno a *P. multocida* se širi u jatru živine primarno iscetkom iz nosa i usta, koji kontaminira hranu i vodu.

Najvažnije patogene vrste iz roda *Pasteurella* koje izazivaju oboljenje kod domaćih životinja su: *Pasteurella multocida*, koja u zavisnosti od serološke grupe izaziva različite kliničke manifestacije. Serogrupa A kod goveda je jedan od uzročnika transportne groznice, enzootske pneumonije, ređe mastitisa. Kod ovaca izaziva pleuropneumoniju i mastitis, a kod živine koleru. Serogrupa B kod goveda i drugih preživara je uzročnik enzootske hemoragične septikemije. Serogrupa D kod svinja izaziva progresivni atrofični rinitis sa ili bez *Bordetella bronchiseptica*. Serogrupa E kod goveda izaziva hemoragičnu septikemiju. *Pasteurella multocida* je patogena i za čoveka.

Na osnovu sposobnosti razlaganja određenih ugljenih hidrata *Pasteurella multocida* podeljena je i na supspecijese ili suptipove.

Pasteurella trehalosis (ranije *Pasteurella haemolytica* biotip T), koja kod ovaca izaziva septikemiju. je bakterija iz roda *Pasteurella* kojoj se u poslednje vreme pridaje značaj u patologiji domaćih životinja. To je Gram-negativna, nepokretna bakterija, kokobacilarnog oblika.

Pasteurella trehalosis raste na običnim podlogama, ali se bolji rast postiže dodatkom krvi ili krvnog seruma. Nakon 24 do 48 časova formiraju se kolonije srednje veličine, okrugle sivo-bele boje.

Ova pasterela je nepokretna, oksidaza i katalaza pozitivna, ne stvara indol i ne hidrolizuje ureu. U identifikaciji se primenjuje veći broj biohemijskih reakcija. Fermentuje glukozu, laktozu i trehalozu, a serotipizacija se vrši metodom indirektno hemaglutinacije primenom hiperimunih seruma.

Pasteurella trehalosis izaziva septikemiju kod preživara. Kod ovaca i tovnih jaganjaca pored septikemije izaziva i artritis, a kod krava i koza izolovana je iz genitalnog trakta.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Materijal koji se šalje na bakteriološki pregled zavisi od vrste životinje i kliničke forme bolesti. Kod živih životinja na pregled se šalju brisevi nosa, eksudat, bronhoalveolarni ispirak i mleko. Kod pneumonije, uzorci su promijenjeni delovi pluća, a kod septikemije delovi unutrašnjih organa. Direktno dokazivanje uzročnika u preparatima vrši se bojenjem po Gimzi, kada se pasterela boje bipolarno i imaju kapsulu. Za kultivaciju pasterela koristi se krvni ili serum agar sa klindamicinom. U identifikaciji vrste, podvrste i biotipa pasterela primenjuje se veći broj biohemijskih reakcija.

Tabela 20. Najvažnije patogene vrste *G. Pasturella* i bolesti koje izazivaju

Vrsta	domaćin	Bolesti i komenzalni status
Tip A <i>P. multocida</i>	goveda	deo kompleksa transportne groznice, deo kompleksa enzootske pneumonije kod teladi, retko se vidi težak mastitis
	ovce	pleuropneumonija, mastitis
	svinje	pneumonija (često sekundarno)
	zečevi	pleuropneumonija, apscesi, otitis media, konjunktivitis i infekcije genitalija
	živina	kolera živine (primarna infekcija)
	mnoge domaće i divlje životinje	pneumonija i druge infekcije kod životinje nakon stresa, komensal u respiratornom i digestivnom traktu
Tip B	goveda, vodeni bufalo, bizon i drugi preživari	epizootska hemoragična septikemija (primarna infekcija), nazofarinks životinje nosioca
Tip C	svinje	atrofični rinitis (sa ili bez <i>Bordetella bronchiseptica</i>)
Tip D	svinje, ređe druge domaće životinje i živina	pneumonija (obično sekundarno)
Tip E	goveda i vodeni bufalo, jedino u Africi	epizootska hemoragična septikemija (primarna infekcija)
Tip F	uglavnom ćurke	nije jasna uloga u bolesti
<i>P. pneumotropica</i>	glodari	pneumonija (sekundarna) i apscesi (moguće od ujeda) komenzal u nazofarinksu
<i>P. canis</i>	psi (čovek)	dokazana u usnoj duplji i u slučajevima kad pas ujede čoveka
<i>P. dagmatis</i>	psi, mačke (čovek)	prisutna u usnoj duplji i intestinalnom traktu pasa i mačaka i dokazana kod ljudi nakon ujeda psa i mačke
<i>P. stomatis</i>	psi, mačke	izolovana iz respiratornog trakta, ali nije uobičajen patogen
<i>P. caballi</i>	konji	respiratorna infekcija koja uključuje pneumoniju

<i>P. aerogenes</i>	svinje (čovek)	komenzal u crevima svinja, retko patogen
<i>P. anatis</i>	patke	izolovana iz creva, patogenost nije dokazana
<i>P. anatis</i>	patke	izolovana iz creva, patogenost nije dokazana
<i>P. gallinarum</i>	živina	komenzal u respiratornoj mukozi, povremeno umerena infekcija
<i>P. avium</i> <i>P. langaa</i> <i>P. volantium</i>	pilići	izolovana iz respiratornog trakta zdravih ptica, patogenost nije dokazana za bilo koju od ove tri vrste
<i>P. granulomatis</i>	goveda (Brazil)	Fibrogranulomatozna bolest

Za izolovanje *Pasteurella spp.* koristi se i biološki ogled na miševima. Miševima se intraperitonealno inokuliše ispitujući materijal ili kultura izolovanog soja za utvrđivanje virulencije.

KONTROLA I PREVENCIJA

U perakutnim slučajevima nema lečenja. U akutnom toku primena antibiotika i hemoterapeutika je efiksna ukoliko se primeni blagovremeno. Kod svinja i živine primenjuju se sulfonamidi i tetraciklini. Penicilin se primenjuje u terapijske i profilaktičke svrhe. Kao mera specifične profilakse već duži niz godina primenjuje se vakcinacija.

Kod pastereloze živine vakcinacija se sprovodi primenom bakterina ili atenuisanih vakcina. Vakcinacija se sprovodi i kod hemoragične septikemije goveda i u kontroli progresivnog atrofočnog rinitisa svinja. Mere opšte profilakse su veoma značajne: pravilna ishrana, higijena držanja i adekvatan smeštaj, svođenje stresa na minimum, adekvatan transport, uklanjanje krzljavaca i kliconoša. U profilaksi je važno i uklanjanje predisponirajućih faktora.

Mannheimia haemolytica

Mannheimia haemolytica (ranije *Pasteurella haemolytica* biotip A) jedan od uzročnika transportne groznice i pneumonije kod goveda, a kod ovaca izaziva enzootsku pneumoniju, septikemiju jagnjadi i gangrenozni mastitis.

Kolonije *Mannheimia haemolytica* na krvnom agaru su okružene zonom potpune beta hemolize. Većina sojeva *Mannheimia haemolytica*, za razliku od *P. multocida*, toleriše prisustvo žučnih soli i raste na *MacConkey* agaru.

Mannheimia haemolytica diferencirana je u dva biotipa, A i T, na osnovu patogenosti, osetljivosti prema antibioticima, kulturnim i serološkim svojstvima i vrsti životinje kod koje izaziva infekciju.

Biotip A *Mannheimia haemolytica* na osnovu kapsularnih antigena ima 12 serotipova, a biotip T ima 4 serotipa. *Mannheimia haemolytica* poseduje četiri faktora virulencije, a to su: fimbrije, polisaharidna kapsula, endotoksin (lipopolisaharid) i leukotoksin. Kapsula i leukotoksin sprečavaju fagocitozu.

Genus Haemophilus

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Haemophilus spp. je klasifikovan u familiju *Pasteurellaceae* i najčešće se može naći kao komenzal na mukoznim membranama, najčešće gornjeg respiratornog i genitalnog trakta, životinja i ljudi. Zbog slabe otpornosti na isušivanje ne može dugo da preživi u spoljašnjoj sredini. Najveći broj vrsta su oportunistički patogeni kod imunokompromitovanih domaćina, a samo neke vrste su striktno patogene i dovode do teških infekcija.

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

Sve vrste u okviru roda *Haemophilus* su mali, pleomorfni, fakultativno anaerobni, nepokretni, Gram-negativni kokobacili, dužine 1-3 μm. Diferencijacija vrsta bazira se na osnovu potreba za faktorima rasta u toku kultivacije. Vrste označene prefiksom „para“ zahtevaju samo faktor V (hemin) dok ostale vrste zahtevaju i faktor X (NAD) za kultivaciju na veštačkim hranljivim podlogama. Za optimalni rast ove bakterije potrebno je i prisustvo 5-10% CO₂. Optimalna temperatura kultivacije je 37°C. Najšešće korišćena podloga za izolaciju *Haemophilus spp.* je čokoladni agar koji sadrži oba faktora rasta. Na krvnom agaru *Haemophilus* pokazuje „fenomen satelitizma“ koji se ogleda u rastu kolonija *Haemophilus*-a oko kolonija *Staphylococcus aureus*. Najvažnije vrste iz roda *Haemophilus*, domaćini i klinički značaj, date su u tabeli 21.

Tabela 21. *Haemophilus spp.* od značaja za veterinarsku medicinu

vrsta	domaćin	klinički značaj
<i>H. paragallinarum</i>	pilići	„korica“
<i>H. parasuis</i>	svinja	<i>Glasser</i> -ova bolest, meningitis, miozitis, pneumonija, septikemija
<i>H. felis</i>	mačka	rinitis, konjuktivitis
<i>H. haemoglobinophilus</i>	pas	deo normalne prepucijalne flore, retko uzrokuje vaginitis, cistitis, balanopostitis
<i>H. influenzaemurium</i>	glodari	respiratorne i očne infekcije

Haemophilus paragallinarum

Ova bakterija je uzročnik „zarazne korice“ (*infectious coryza*) akutne infekcije gornjeg respiratornog trakta kod kokošaka, najčešće pilića u rastu. Kod obolelih ptica javlja se periorbitalni otok, okulonazalna sekrecija, otok rese, dijareja a često se vidaju i artritis i septikemija, što rezultira slabim napredovanjem i uginućem. Infekcija se prenosi respiratornim putem (aerosolom) ili kontaktom sa kontaminiranom vodom.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Adherencija i kolonizacija nazalne mukoze su prvi korak u patogenezi infekcije. Faktori virulencije su polisaharidna kapsula, koja omogućava adherenciju, dok značaj hijaluronske kiseline i lipopolisaharida iz ćelijskog zida, nije upotpunosti rasvetljen, a smatra se da mogu dovesti do oslobađanja proinflamatornih citokina, IL-1 i TNF iz makrofaga. Najvažnije lezije su serofibrinozna i fibropurulentna upala na sluzokoži gornjeg respiratornog trakta, najizraženija u nazalnoj šupljini i paranazalnim sinusima. Nakupljanje mastocita u *lamina propria mucosae* dovodi do oslobađanja inflamatornih medijatora i pojave simptoma kod obolele živine.

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

Haemophilus paragallinarum je Gram-negativni, pleomorfni, nepokretni, mikroaerofilni kokobacil, ponekad u formi filamenata, koji za svoj rast zahteva u veštačkoj hranljivoj podlozi prisustvo V faktora. Dokazana su tri serovarijeteta *H. paragallinarum* (A, B i C) koji ne daju unakrsni imunitet. Hronično inficirane ptice ili zdravi nosioci, su rezervoar infekcije.

Katalaza test je negativan i obavezujući, jer diferencira patogeni *H. paragallinarum* od drugih, nepatogenih vrlo sličnih vrsta iz roda *Pasteurella* (*P. avium*, *P. volantium*), koji se mogu naći u mukozi gornjeg respiratornog trakta ptica, a koje su katalaza pozitivne.

Serološka dijagnostika radi se uz pomoć testa inhibicije hemaglutinacije, a mogu se detektovati vakcinalna antitela i ona nastala nakon prirodne infekcije. Reakcija lančane polimeraze (PCR) je brza dijagnostička metoda ali se ne radi u rutinskim laboratorijama.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija *H. paragallinarum* se radi kultivacijom na čokoladnom agaru sadržaja paranazalnih sinusa. Iako se smatra da je za rast neophodan V faktor, nedavno se registruju sojevi nezavisni od V faktora, koji su pronađeni kod obolelih pilića u Južnoj Africi. Diferenciranje *H. paragallinarum* radi se uz pomoć biohemijskih testova, koji uključuju katalaza test, β -galaktozidazu, indol test, fermentaciju arabinoze, galaktoze, maltoze i manitola.

KONTROLA I PREVENCIJA

Inaktivisana vakcina koja sadrži serovarijetete A i C primenjuje se dugi niz godina u prevenciji infekcije kod živine. Komercijalna trovalentna vakcine razvijena je poslednjih godina, ali su uprkos vakcinaciji registrovane epidemije, što sugeriše pojavu novog serovarijeteta. Makrolidi, sulfonamidi i tetraciklini primenjuju se kao dodatak u hrani i vodi u slučaju epidemija, kao kontrolni metod. Često je neophodna mera depopulacije jata radi eliminacije infekcije. Preventivna medikacija treba da se kombinuje sa vakcinacijom.

Haemophilus parasuis

H. parasuis uzrokuje kod svinja *Glasser*-ovu (*Glasser's disease*) bolest, opisanu još 1910. godine, koja se manifestuje trijasom: poliserozitis, polisinovitis i meningitis. Ova se bakterija može normalno naći nazalnoj šupljini, tonzilama i traheji zdravih svinja. Infekcija se prenosi sa krmača na prasad staru manje od 10 dana.

Opisano je više od 15 serotipova *H. parasuis*, na bazi termolabilnog antigena ekstrahovanog iz bakterijske kulture koji se detektuje u testovima agar-gel precipitacije i ELISA testom. Najveću virulenciju imaju serotipovi 1,5, 12-14, i predstavljaju oko 75% svih izolata kod obolelih životinja. Bolest se karakteriše otokom zglobova, povišenom temperaturom, simptomima od strane respiratornog i CNS-a. Na autopsiji se mogu videti fibrinski eksudat u pleuri, perikardu, sinovijama, meningama, mozgu. Akutna pneumonija bez poliserozitisa, septikemija i artritis viđaju se kod odrasle populacije, naročito kod krmača. Patogeneza infekcije još uvek je nedovoljno razjašnjena. Bakterija kolonizuje nazalnu mukožu, probija mukoznu barijeru, ulazi u krvotok i replikuje se na serozama uzrokujući sistemsko, fibropurulentno zapaljenje. Endotoksin indukuje diseminovanu intravaskularnu koagulaciju, što rezultira stvaranjem mikrotrombova u jetri, plućima i bubrezima.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dijagnoza infekcije sa *H. parasuis* postavlja se izolacijom bakterije iz oštećenih tkiva, serološkim testovima, imunohistohemijskim metodama i PCR tehnikom.

Optimalni uzorak za kultivaciju je aseptično uzeta tečnost seroznih membrana, (pleure, perikarda, peritoneuma) zglobova ili meningi. Izolacija ovog uzročnika iz gornjeg respiratornog trakta, nema značaja u dijagnostici sistemske infekcije. Zbog neotpornosti, *H. parasuis* vrlo brzo posle uginuća životinje nestaje, pa se radi uspešne izolacije preporučuje eutanazija i uzimanje odgovarajućih uzoraka. Za izolaciju se koristi krvni agar sa 5% ovčije krvi i dodatkom faktora V koji se obezbeđuje zasejavanjem standardnog soja *Staphylococcus aureus*, a nakon 24 sata, oko kolonija stafilokoka porašće sitne, prozračne kolonije *H. parasuis* (fenomen satelitizma). Nakon izolacije neophodna je diferencijalna dijagnostika u odnosu na vrlo slične bakterije iz roda *Actinobacillus* (*A. pleuropneumoniae*, *A. porcinus*, *A. indolicus*). U tabeli 22. su date najvažnije razlike između *H. parasuis* i *Actinobacillus spp.*

Tabela 22. Najvažnije razlike između *H. parasuis* i *Actinobacillus*

	<i>H. parasuis</i>	<i>A. pleuropneumoniae</i>	<i>A. porcinus</i>	<i>A. indolicus</i>	<i>A. minor</i>
faktor V	+	-	+	+	+
ureaza test	-	+	-	-	+
indol	-	-	-	+	-
CAMP	-	+	-	-	-
β-hemoliza	-	+	-	-	-
katalaza	+	-	-	+	-

PREVENCIJA I KONTROLA

Komercijalna vakcina koja se koristi u prevenciji *Glasser*-ove bolesti, daje delimični unakrsni imunitet protiv različitih serovarijeteta. Tradicionalna upotreba antibiotika za prevenciju infekcije podrazumeva upotrebu penicilina (jedna od retkih Gram-negativnih bakterija koja je osetljiva na betalaktame) i tetraciklina, iako se vidi rezistencija na ove antimikrobne lekove. Veću efikasnost imaju ceftiofur, pleuromutilin i makrolidni antibiotici. Redukcija mortaliteta može se postići i kontrolisanom ekspozicijom prasadi starih 3-5 dana, koja se kolonizuju malim dozama predominantnog virulentnog tipa *H. parasius* na nekoj farmi. Ekspozirana prasada ne razvijaju infekciju postekspoziciono, zbog prisustva maternalnih antitela.

Genus *Histophilus*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Ovaj Gram-negativni, nepokretni, pleomorfni štapić, katalaza negativan i oksidaza najčešće pozitivan, opisan je još 1956. godine kao uzročnik tromboembolijskog meningoencefalitisa kod junadi. Ime *Haemophilus somnus* je dobio 1969. godine, iako za rast na veštačkim hranljivim podlogama ne zahteva faktore V i X. Filogenetskom analizom 16S rDNA urađena je reklasifikacija, pa je formiran novi genus u okviru familije *Pasteurellaceae*, pod nazivom *Histophilus*, sa vrstom *H. somni* (raniji naziv *Haemophilus somnus*).

H. somni se može naći kao komensal u gornjem respiratornom traktu, prepucijumu i vagini zdravih goveda a opisan je osim kao uzročnik meningoencefalitisa i kod respiratornih bolesti, abortusa, artritisa, septikemije, laminitisa, mastitisa, i miokarditisa kod goveda. Takođe, poslednjih godina, ovaj se mikroorganizam izoluje i kod ovaca, kod kojih uzrokuje mastitis, epididimitis-orhitis, metritis, septikemiju, meningoencefalitis.

H. somni se širi direktnim kontaktom. Faktori virulencije su kapsula, produkcija egzotoksina fimbrije. Infekcija najčešće rezultira septikemijom, a lezije se karakterišu multifokalnim vaskulitisom, trombozom, infarktima, uz neutrofilnu infiltraciju. U eksperimentima *in vitro*, bakterija uzrokuje citotoksični efekat (apoptozu) na endotelijalnim ćelijama, čime se objašnjava vaskulitis *in vivo*. Intracelularno preživljavanje i umnožavanje ove bakterije može biti najvažniji faktor virulencije u toku diseminacije infekcije.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Histophilus somni se može kultivisati na krvnom agaru uz dodatak tiamin-monofosfata, u atmosferi 5-10% CO₂. Posle 24 sata porastu tačkaste, žućkaste kolonije, koje stajanjem, nakon 48 sati, imaju dijametar 1-1,5mm. Većina izolata je α-hemolitična. Bris ili uzorak tkiva može se inokulisati na Kolumbija krvni agar, sa dodatkom 5% ovčije ili goveđe krvi, ili na selektivni Kolumbija agar

sa dodatkom antibiotika, koji se koristi za izolaciju ostalih rodova iz familije *Pasteurellaceae*. *Histophilus somni* je okidaza pozitivan, katalaza negativan i ne raste na *MacConkey* agaru. Na osnovu fenotipskih karakteristika i biohemisjke aktivnosti *Histophilus somni* radi se diferenciranje od ostalih rodova familije *Pasteurellaceae*.

U tabeli 22. je dat pregled najčešćih diferencijalno dijagnostičkih testova za identifikaciju *Histophilus somni*.

Tabela 22. Diferencijalno dijagnostički testovi za identifikaciju *Histophilus somni*

test	<i>Histophilus</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Actinobacillus</i>	<i>Pasteurella</i>	<i>Mannheimia</i>
β-hemoliza	negativan	negativan	varijabilan	varijabilan	varijabilan
žuti pigment	pozitivan	negativan	negativan	negativan	negativan
X i V faktor	negativan	pozitivan	varijabilan	negativan	negativan
katalaza	negativan	negativan	varijabilan	pozitivan	pozitivan
indol	pozitivan	varijabilan	varijabilan	varijabilan	negativan
ureaza	negativan	varijabilan	pozitivan	varijabilan	negativan
maltoza	negativan	negativan	pozitivan	pozitivan	pozitivan
saharoza	negativan	negativan	pozitivan	pozitivan	pozitivan

Laboratorijska dijagnoza bazira se prvenstveno na kultivaciji i izolaciji uzročnika. Međutim, izolacija iz genitalnog trakta nema značaja pošto se *Histophilus somni* može tamo naći i kao deo normalne flore.

Imunohistohemijska bojenja, *in situ* hibridizacija i PCR mogu da pomognu u identifikaciji. Serološke metode, kao što su mikroaglutinacija, reakcija vezivanja komplementa i ELISA, koriste se za postmortalnu dijagnostiku.

PREVENCIJA I KONTROLA

Prevenција i kontrola sprovode se inaktivisanom vakcinom, koja ne štiti dovoljno od sistemskih infekcija. Kontrolna mera je utvrđivanje zdravih kliconoša. Metafilaksa je jedan od načina prevencije koji se dosta koristi, a najčešće se koriste oksitetraciklin, ceftiofur, spektinomycin, enrofloxacin ili florfenikol.

Genus Taylorella

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Taylorella equigenitalis je uzročnik kontagioznog metritisa kobilu, koji je prvi put opisan u Velikoj Britaniji, 1977. godine, pod imenom *Haemophilus equigenitalis* zbog sličnih zahteva u ishrani tokom kultivacije. Tokom naredne dve godine infekcija se proširila na Irsku, Francusku, Australiju, Belgiju, Nemačku i SAD. Molekularnim metodama, sekvencioniranjem DNA, filogenetski je pozicionirana u β -proteobakterije, Familiju *Alcaligenaceae* i premeštena u novi genus, genus *Taylorella*. Nedavno je opisana i druga vrsta, *Taylorella asinigenitalis*, koja se viđa u uretralnoj fosi kod magaraca, a odlikuje se mnogim sporijim rastom.

Klinički manifestna infekcija sa *Taylorella equigenitalis* viđa se kod kobilu a karakteriše je mukopurulentni vaginalni sekret koji je posledica inflamacije endometrijuma i cerviksa, što rezultira privremenim infertilitetom. Kod pastuva i kod ždrebadi inficiranih kobilu, infekcija je asimptomatska, oni su dugotrajni rezervoar infekcije koja se prenosi seksualnim kontaktom.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Identifikacija uzročnika radi se na osnovu morfoloških, tintorijelnih, kulturelnih i fizioloških ispitivanja. *Taylorella equigenitalis* je Gram-negativni, nepokretni štapić ili kokobacil, veličine 0,8x5-6 μ m, može pokazivati fenomen bipolarnog bojenja. Fakultativni je anaerob, najbolje raste u prisustvu 5-10% CO₂. Bris vaginalnog sekreta ili prepucijuma i uretre, šalje se u laboratoriju u transportnom medijumu ("Ami'es charcoal medium") koji inhibira metaboličke produkte, uz poštovanje "hladnog lanca" a zasejavanje na hranljivu podlogu se vrši za najviše 24-48 sati od uzimanja uzorka. Životinja ne sme dobijati antibiotike najmanje 7 dana od momenta uzimanja uzorka. Uzorak se zasejava na 5% čokoladni agar, iako za rast ne zahteva faktore V i X, ali bolje raste u prisustvu hemina. Primoizolacija se radi na čokoladnom agaru sa ili bez dodatka streptomicina ili na selektivnoj podlozi (CEM *Timoney*) u koju se dodaje konjski serum, trimetoprim, klindamicin i amfotericin B. Petri šolje se inkubiraju na 35-37°C u atmosferi 5-10%CO₂ najmanje 7 dana, pre nego što se izda negativan nalaz, uz svakodnevnu kontrolu porasta. Nakon 72 sata na površini agara porastu kolonije dijametra 2-3mm, glatke, udubljenog centra, staklaste, žučkasto sive boje. U bojenom preparatu vide se Gram-negativni kokobacili. Katalaza, fosfataza i oksidaza je pozitivna. Inertna je u odnosu na druge biohemijske testove, ne redukuje nitrate, ne produkuje indol, ne hidrolizuje ureu i eskulin, ne fermentuje ugljene hidrate. Konačna identifikacija radi se uz pomoć lateks aglutinacije.

Serološka dijagnoza pomoću ELISA tehnike i RVK koristi se samo kod kobilu, koje nasuprot pastuvima, stvaraju antitela tokom rane faze infekcije.

PREVENCIJA I KONTROLA

Zbog visoke kontagioznosti, neophodne su preventivne mere, a u eradikaciji infekcije kobilu koristi se uterina infuzija penicilina, na koju je ova bakterija osetljiva.

Genus Brucella

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Bakterije iz roda *Brucella* su uzročnici bruceloze, zaraznog oboljenja domaćih životinja i ljudi. Bruceloza se najčešće javlja kod ovaca, koza, goveda, svinja i pasa. U odnosu na značaj koji imaju u veterinarskoj medicini, kao i za zaštitu zdravlja ljudi, najznačajnije su vrste *B. abortus* i *B. melitensis*. Uzročnik je primarno lokalizovan u genitalnom traktu i izaziva pobačaje kod životinja ženskog pola i orhitise i epididimitise kod mužjaka. Infekcija kod životinja najčešće ima hronični tok. Bruceloza je zoonoza i ljudi su prijemčivi za većinu vrsta izuzev *B. neotomae* i *B. ovis*. Bolest je hroničnog toka i prati je opšta slabost organizma.

Rod *Brucella* obuhvata 6 vrsta: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* i *B. canis*. Prve 4 vrste se uobičajeno javljaju u "glatkoj", S formi, a *B. ovis* i *B. canis* u "hrapavoj" ili R formi. Premenom metoda DNA-DNK hibridizacije utvrđene su i vrste *B. ceti*, *B. inopinata*, *B. microti* i *B. pinnipedialis*. Novija taksonomija primenom tehnika molekularne biologije, ukazuju da postoji samo jedna vrsta *Brucella*.

MORFOLOGIJA

Brucele se Gram-negativni, sitni kokobacili, uglavnom pojedinačni, ali mogu formirati i parove ili manje grupe. Dužina varira od 0,5- 1,5 μ m, a širina od 0,5-0,7 μ m. Brucele ne formiraju spore, nemaju kapsulu (osim kada su bakterije u S formi, a može se uočiti primenom elektronske mikroskopije) i nisu pokretne. Brucele se boje crveno modifikovanom metodom po Ziehl-Neelsen-u.

KULTURELNE OSOBINE

Brucele rastu u aerobnim i mikroaerofilnim uslovima i većina sojeva zahteva atmosferu sa dodatkom CO₂. Smatraju se spororastućim bakterijama i izbirljivim za kultivisanje u poređenju sa ostalim aerobnim bakterijama. Kod primoizolacije je ponekad potrebno i do 14 dana da se uoči rast kolonija. Optimalna temperatura za rast je 37°C i pH sredine od 6,8 do 7,2. Za rast zahtevaju obogaćene hranljive podloge, kojima je dodat serum ili krv, osim sojeva bakterija koji su adaptirane na laboratorijske uslove. Određene vrste brucela za rast zahtevaju tiamin, nikotinamid i biotin, ali ne i X i V faktore rasta. Rast bakterija može se poboljšati dodavanjem u podlogu 5-10% seruma. Na krvnom agaru oko izraslih kolonija *Brucella* nema hemolize, zato što ne poseduju hemolizin.

Kolonije brucela na čvrstim podlogama uočavaju se nakon 3-5 dana kao sitne, okrugle, konveksne, glatke i sjajne, boje meda. Kada se gledaju od gore, kolonije su biserno bele kao kapi rose. Sojevi *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* i *B. neotomae* u primarnoj izolaciji obrazuju glatku formu kolonija (S). Pasažiranjem preko podloga izgled kolonija se menja i postaju grube, hrapave, neprozirne, žućkaste boje, što je odlika R forme kolonija. Kolonije sojeva *B. ovis* i *B. canis* imaju izgled R forme.

U tečnim podlogama rast brucela je uglavnom oskudan i posle sedmodnevnog inkubiranja stvara se zamućenje sa laganim naslagama.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Brucele imaju pre oksidativni nego fermentativni metabolizam. Razgrađuju različite ugljene hidrate do kiseline, ne razlažu želatin, ne koriste citrat i ne stvaraju indol. Nitrata redukuju u nitrite, vrše hidrolizu ureje, ne rastu na *MacConkey* agaru, i sve osim *B. neotomae* i *B. ovis* su katalaza i oksidaza pozitivne. Za većinu biotipova *B. abortus* i *B. ovis* kod primarne izolacije neophodno je prisustvo ugljendioksida. Vodoni sulfid proizvode sve brucele, ali ne u jednakim količinama. *Voges-Proskauer* i metil-crveno test su negativni.

Identifikacija vrste i biotipa roda *Brucella* vrši se na osnovu dve osnovne grupe svojstava: liziranja pomoću faga i oksidativno metaboličkog profila sa određenim supstratima, a to su amino kiseline i šećeri. Prema poslednjoj taksonomskoj klasifikaciji poznato je 8 biotipova, *B. abortus*, 3 biotipa *B. melitensis* i 5 biotipova *B. suis*.

ANTIGENSKA GRAĐA

Brucele poseduju površinske antigene (A i M), ali ne u jednakim količinama. To je lipopolisaharid (LPS) koji učestvuje u reakciji aglutinacije. Proteinski antigeni ćelijskog zida brucela, podeljeni su na osnovu molekulske mase u tri kategorije. Ovi antigeni, pre svega porini, uključeni su u stimulaciju ćelijskog imunog odgovora. Unakrsna srodnost postoji između antigena *Brucella* i drugih Gram-negativnih bakterija, pre svega *Yersinia enterocolitica*, serotip 09, *Salmonella*, *Francisella*, *Campylobacter*, *Pasteurella*, *Proteus* OX19 i drugih.

Tabela 23 . Diferencijalne karakteristike vrsta roda *Brucella*

Vrsta	Forma kolonija	Zah-teva serum	Liza fagima			oksi-daza	ure-aza	Primarni domaćin
			Tb		R/C			
			RTD	10 ⁴ x RTD	RTD			
<i>B. melitensis</i>	glatke	-	-	-	-	+	+ ^a	ovce, koze
<i>B. abortus</i>	glatke	- ^b	+	+	-	+ ^c	+ ^d	goveda
<i>B. suis</i>	glatke	-	-	+	-	+	+ ^a	Biotip 1: svinje Biotip 2: zečevi, svinje Biotip 3: svinje Biotip 4: irvasi Biotip 5: divlji glodari
<i>B. neotoma</i>	glatke	-	- ^f	+	-	-	+ ^a	pustinjski pacov
<i>B. ovis</i>	hrapave	+	-	-	+	-	-	ovnovi
<i>B. canis</i>	hrapave	-	-	-	+	+	+ ^a	psi

- ^a Umerenom brzinom, neki sojevi brzo
- ^b Osim *B. abortus* biotip 2, koji zahteva serum za rast u primarnoj izolaciji
- ^c Osim *B. abortus* biotip 3,
- ^d Umerenom brzinom, osim referentnog soja 544 i nekih izolata koji su negativni
- ^e Velikom brzinom
- ^f Trenutne plake

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Brucele imaju sposobnost da rastu intracelularno u inficiranom organizmu i ispoljavaju otpornost prema destruktivnom dejstvu fagocita. Brucele ovo postižu na dva načina: zahvaljujući sposobnosti da spreče formiranje fagolizozom kompleksa i njihovoj otpornosti prema enzimskoj aktivnosti normalnog sadržaja lizozoma u makrofagima. Glavi faktor virulencije je lipid A koji ima patogena svojstva endotoksina. Nalazi se samo u sojevima brucele koje daju S formu kolonija. Lipid A omogućuje preživljavanje i razmnožavanje brucele u leukocitima i makrofagima. Brucele ne sintetišu egzotoksin.

Nakon prodora u organizam bakterije podležu fagocitozi od strane makrofaga, manji deo biva uništen, a ostale uspevaju da se odupru destruktivnom delovanju makrofaga, u kojima preživljavaju i nastavljaju da se razmnožavaju. Sa ulaznih vrata brucele se prvo lokalizuju u regionalne limfne čvorove, a zatim odlaze u cirkulaciju. Nakon početne bakterijemije uzročnik se naseljava u limfne čvorove, jetru, slezinu, bubrege, vime i uterus.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Brucele su obligatni intracelularni paraziti, mada mogu u vodi i zemljištu preživeti više od četiri meseca. Rezervoari infekcije su inficirane životinje koje kontaminiraju okolinu sekretima, ekskretima, plodovom vodom i tkivom placente. Većina inficiranih životinja su kliconoše. S obzirom da su brucele relativno otporne u spoljašnjoj sredini, značajni su i sekundarni izvori zaraze, pašnjaci, seno i pojila. Prirodni put inficiranja je preko kože, konjuktiva i gastrointestinalnog trakta. Prenošenje infekcije može biti i aerogeno, koitusom, intramamarno i kongenitalno.

Inkubacioni period zavisi od uzrasta životinje, pola i faze graviditeta. Infekciji su podložne polno zrele jedinke, dok kod mladih životinja infekcija protiče inaparentno.

B. abortus izaziva infekciju kod goveda, a povremeno se javlja i kod ovaca i koza. Takođe, postoje podaci o infekcijama kod divljih papkara. Ne retko se javljaju i teške infekcije kod ljudi. Kod krava pobačaj nastaje od 6-8-og meseca steonosti. Za vreme steonosti ne zapažaju se znaci infekcije, pa je pobačaj iznenađan i neočekivan. Upala uterusa i zadržavanje posteljice su često prisutni.

Kao posledica infekcije mogu nastati upale zglobova i tetiva, retko klinički mastitis, a kod bikova orhitis i epididimitis.

B. melitensis izaziva visoko kontagiozno oboljenje ovaca i koza. Kod ovaca izaziva pobačaje, a kod ovnova orhitise a često izaziva oboljenje i kod ljudi.

B. suis ima 5 biotipova, od kojih su biotip 1 i 3 uzročnici infekcije kod svinja i visoko patogeni za ljude. Biotip 2 izaziva infekciju zečeva što predstavlja potencijalnu opasnost za domaće svinje. Bruceloza se kod svinja prenosi polnim putem tako da inficirani nerastovi predstavljaju rizik za zapat.

B. ovis se prenosi polnim putem i epididimitis kod ovnova je klinička forma bruceloze ovnova, veoma retko se vide pobačaji kod ovaca. Nije patogena za ljude.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Na osnovu stepena rizika za osoblje u laboratorijama gde se vrši izolacija ovih bakterija, bruceloza je svrstana u III grupu rizika. Sigurna dijagnoza se postavlja dokazivanjem uzročnika i primenom seroloških metoda. Prvi korak kada je reč o pobačajima je pravljenje mikroskopskih razmaza iz tkiva kotiledona, vaginalnog iscetka, pluća pobačenog fetusa i abomazusa. Razmazi se boje specijalnim bojenjem po *Stamp*-u i *Macchiavello*-u. Od inficiranih životinja na laboratorijski pregled šalju se uzorci mlečne žlezde, uterusa, limfni čvorovi, testisi, akcesorne polne žlezde i ingvinalni limfni čvorovi. Brucele se kultivšu na podlogama sa većom koncentracijom nativnih proteina, sa 5 do 10% defibrinisane krvi, serum agaru, *Brucella* agaru i *Skirow* agaru. Radi poboljšanja selektivnosti podlogama se dodaju antibiotici vankomicin, trimetoprim i polimiksin B. Podloge se kultivšu u sredini sa 10%CO₂ na 37°C. Suspektne kolonije na brucele zatim se presejavaju i vrši se identifikacija.

Nasuprot klasičnim metodama kultivacije metode molekularne biologije zasnivaju se na dokazivanju nukleinskih kiselina brucela u ispitujućim uzorcima primenom različitih tehnika. Prednost ovih metoda je u njihovoj većoj osetljivosti, specifičnosti, brzini dobijanja rezultata. Lančana reakcija polimeraze (PCR) se koristi za dokazivanje i tipizaciju izolovanih sojeva brucele.

Bakteriološka ispitivanja nije uvek moguće sprovesti, pa se koriste serološke metode. Specifična antitela mogu se dokazati u krvnom serumu, mleku, vaginalnoj sluzi i spermiji. Ni jedna serološka metoda nije univerzalno primenjiva u svakoj epizootičkoj situaciji za utvrđivanje serokonverzije, pa je neophodan oprez kod procene nalaza. Veliki broj testova se koristi za otkrivanje antitela: reakcija aglutinacije na pločici, (Rose-Bengal test i BAB-brza aglutinacija brucela), klasična aglutinacija u epruveti, Coombsov test, reakcija vezivanja komplementa (više modifikacija), ELISA metod (veći broj komercijalnih testova) i mlečno-prstenasta proba. Za potrebe terenske dijagnostike koriste se brzi testovi kao „screening“ (BAB i indirektna ELISA), a kao potvrdna metoda kompetitivna ELISA.

S obzirom da se radi o infekciji koja izaziva preosetljivost, moguće je primeniti i alergijski kožni test. U tom cilju koristi se alergen brucelin, koji se aplikuje intradermalno. Test ima nisku osetljivost, ali visoku specifičnost. Više se koristio u dijagnostikovanju bruceloze kod ljudi. Vršena su i ispitivanja primene gama interferon testa kod ovaca i svinja. U nekim zemljama koristi se tehnika fluorescentne polarizacije u otkrivanju specifičnih antitela za brucele.

Tabela 24. Serološke metode za dijagnostiku bruceloze

Serološki metodi na nivou zapata	Klase imunoglobulina koje se dokazuju	Napomena
Mlečno prstenasta proba	IgM, IgG1, IgA	Ispituju se zbirni uzorci mleka, a ako su pozitivni, ispituju se pojedinačni uzorci seruma sa više metoda
Pojedinačni test		
Aglutinacija na pločici: <i>Rose-Bengal test</i> i <i>card test</i>	IgM, IgG1	Skrining testovi
(SAT) aglutinacija u epruveti	IgM, IgG2, (IgG1)	Najčešće korišćeni testovi, IgG1 antitela se ne registruju (često daje lažno negativan rezultat)
Reakcija vezivanja komplemента (RVK)	IgM, IgG1	Jedan od najspeficičnijih seroloških testova
Imunoenzimski test ELISA	Detektuje sve imunoglobuline	Potvrđni test, pouzdan, automatizovan
Dodatni testovi		
<i>Coombs-ov</i> antiglobulinski test	IgM, IgG1, IgG2	Vrlo osjetljiv test
Inaktivacija toplotom	IgG	Dopunski metodi za diferenciranje nespecificnih reakcija, uništavaju se IgM antitela
Rivanol precipitacija	IgG	
Tretman 2-merkaptetanolom	IgG	

KONTROLA I PREVENCIJA

Mere kontrole i profilakse usmerene su prema osnovnom cilju, a to je eredikacija, odnosno formiranje zapata životinja slobodnih od bruceloze. U regionima u kojima se oboljenje ne javlja vrši se kontrola prometa životinja, sprovode se periodično dijagnostičko ispitivanja i onemogućava ulazak kliconoša (karantin). U nekim zemljama gde je prevalencija bruceloze visoka sprovodi se vakcinacija i goveda i ovaca. Kod ljudi se u lečenju, koristi doksicilin, rifampcin i oksitetraciklin

Bruceloza se kod životinja u našoj zemlji otkriva i suzbija u skladu sa Zakonom. Terapija se ne primenjuje.

Genus Francisella

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

Francisella tularensis

OPŠTE OSOBINE

Francisella tularensis (familija *Francisellaceae*, rod *Francisella*, vrsta *Francisella tularensis*) je patogena Gram-negativna bakterija, uzročnik tularemije.

Tularemija je zarazno oboljenje iz grupe zooantroponoza. Prevažodno je bolest poljskih glodara, ali se javlja i u drugih divljih i domaćih životinja. Zaražavanje ljudi najčešće nastaje kao posledica profesionalne ekspaniranosti u prirodnim žarištima koja se stvaraju kruženjem ovog mikroorganizma među brojnim domaćinima, preko ektoparazita, kanibalizma i kontaminirane sredine. *F. tularensis* ima veliki broj domaćina u preko 250 vrsta divljih i domaćih životinja, uključujući i ptice, ribe, amfibije, artropode i insekte. Tularemija je rasprostranjena u mnogim zemljama Evrope, Azije, Afrike i Severne Amerike. Posедуje visoku virulenciju i svrstana je u A grupu uzročnika u klasifikaciji bioloških agenasa. Utvrđene su 4 podvrste (biovarijeteta) *F. tularensis*. Biovarijetet *F. tularensis biovar tularensis* je dokazan u Severnoj Americi i veoma je virulentan, dok u Evropi dominira podvrsta *F. tularensis biovar palearctica*, manje virulentan. Ostale dve podvrste *novicida* i *mediasiatico* su manje virulentne ili avirulentne.

MORFOLOGIJA

Francisella tularensis je pleomorfan, nepokretan, sitni kokoidni štapić. Ne stvara spore, a po Gramu se boji negativno, ponekad bipolarno. Sveže izolovani sojevi poseduju kapsulu. Raste u aerobnim uslovima na obogaćenime podlogama. Optimalna temperatura za rasta je 37°C u sredini sa pH 6,8 do 7,3. To je fakultativno intracelularna bakterija.

KULTURELNE OSOBINE

Raste na podlogama koje su obogaćene animalnim proteinima i cistinom. Za izolaciju se koriste krvni agar sa i bez cistina ili *Francisova* podloga. *F. tularensis* raste sporo i za primoizolaciju potrebno je najmanje 2-4 dana, kada se uočavaju prozračne, sivo bele kolonije veličine 1-4mm. Daljim inkubiranjem kolonije imaju tendenciju konfluiranja i uočava se zelenkasto prebojavanje oko kolonija. Za dobijanje supkultura koristi se agar sa dekstrozom, cistinom i serumom kunića,, kada se nakon 1-2 dana uočavaju veće, mlečno bele kolonije.

FIZIOLOŠKO- BIOHEMIJSKE OSOBINE

Francisella tularensis je oksidaza negativna i katalaza pozitivna, razlaže ugljene hidrate do kiseline bez stvaranja gasa. Razlaže dekstrozu, eskulin, manitol, levulozu i glicerol. Proizvodi H₂S, a ne stvara indol.

ANTIGENSKA GRAĐA

Dokazana je antigenska srodnost sa uzročnicima bruceloze i maleusa.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Specifični faktori virulencije *F.tularensis* nisu dovoljno poznati. Patogeni sojevi poseduju antifagocitnu kapsulu. Gubitak kapsule je povezan sa smanjenjem virulencije. Slično drugim Gram-negativnim mikroorganizmima, *F. tularensis* poseduje endotoksin. Kao i druge intracelularne bakterije, sojevi *F.tularensis* proizvode različite hemolitičke agense koji utiču na degradaciju fagozoma.

Ulazno mesto su sluzokoža oka, disajnih puteva i crevnog trakta, defetit u epidermu, ali i neoštećena koža. Na ulaznom mestu se obično razvija kompleks zapaljenskih reakcija. Ukoliko infekcija nastane neposrednim kontaktom, stvaraju se lokalne inflamatorne lezije. Uzročnik se prenosi limfnim putem do regionalnih limfnih čvorova prouzrokujući adenitis i periadenitis. Kada probije limfnu barijeru nastaje bakterijemija sa diseminacijom uzročnika i stvaranjem specifičnih granuloma u unutrašnjim organima. U većini slučajeva primarni oblik se generalizuje i dovodi do promena na slezini, limfnim čvorovima, plućima i jetri. Smrt najčešće nastaje kao posledica septikemije.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Francisella tularensis je osetljiva na povišene temperature, dok niske temperature dobro podnosi. U organima uginulih životinja i zagađenoj vodi preživi do 3 meseca. Za infekciju je potrebna mala infektivna doza. Oboleli divlji glodari predstavljaju glavni izvor zaraze za ljude i životinje.

Kod domaćih životinja infekcija je utvrđena kod ovaca, konja, svinja, pasa i mačaka. Oboleli divlji glodari i krpelji predstavljaju najčešći izvor infekcije za životinje. Inficirani divlji glodari sekretima i ekskretima kontaminiraju hranu i vodu, a insekti mogu ubodom preneti infekciju. Od domaćih životinja, naročito su ovce osetljive na infekciju. Klinički simptomi kod ovaca nisu karakteristični. Životinje su apatične, nekoordinisano se kreću, šepaju i mršave. U početnom stadijumu bolesti temperatura je povišena, javlja se proliv i anemija vidljivih sluzokoža, a na mestu uboda krpelja uočavaju se nekrotične promene. Sa napredovanjem bolesti simptomi su izraženiji, uočava se razdražljivost, uznemirenost i životinja uginu u toku nekoliko sati. U akutnom toku bolesti kod ovaca se zapaža hiperplazija

limfnih čvorova i slezine. Slezina je povećana, tamno-crvene boje, sa nekrotičnim žarištima.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Laboratorijska dijagnoza tularemije u ljudi i životinja se bazira na primeni bakterioloških, bioloških, seroloških ispitivanja kao i alergoloških testova.

Bakteriološka dijagnoza se postavlja izolacijom i identifikacijom uzročnika i to je moguće izvršiti samo u laboratorijama trećeg nivoa biosigurnosti. Dokazivanje *F. tularensis* direktno iz eksudata vrši se nakon polihromnog bojenja i primenom indirektnog imunofluorescentnog testa. Izolacija uzročnika iz biološkog materijala na hranljivim podlogama obično nije uspešna. Biološki metod je mnogo uspešniji. Materijal (krv, punktati, uzorak nekrotičnih delova kože i potkožnog tkiva, slezina ili ceo leš zeca ili lisice) se uzima i inokuliše subdermalno, epikutano, intraperitonealno ili *per os* belim miševima ili zamoracu. Životinje se drže pod specijalnim uslovima i posmatraju, a zatim žrtvuju i vrši se autopsija. Tularemija se prepoznaje po patoanatomskim promenama, a izolacija uzročnika se vrši na hranljivim podlogama obogaćenim animalnim belančevinama i cistinom, koje se inkubiraju na 35°C.

U serološkoj dijagnostici kod ljudi najčešće se koristi metod mikroaglutinacije. Pozitivnim rezultatom smatra se nalaz aglutinina u razblaženju seruma 1:100 i višem. Potvrdu akutne infekcije predstavlja signifikantan porast titra antitela. Osetljiviji metod serološke dijagnostike je indirektna hemaglutinacija. Danas su razvijene nove dijagnostičke metode za dokazivanje specifičnih antitela i antigena, ELISA i PCR. Krvni serumi domaćih životinja ispituju se takođe i primenom metoda mikroaglutinacije, 2-ME mikroaglutinacije, pasivne hemaglutinacije i ELISA testom (IgG, IgA i IgM). Alergijski kožni test je zbog jednostavnosti izvođenja podesan za masovna epidemiološka ispitivanja.

KONTROLA I PREVENCIJA

Francisella tularensis je osetljiva na antibiotike širokog spektra i streptomycin. Streptomycin je lek izbora za tularemiju u ljudi. Oksitetraciklini su se pokazali efikasnim u veterinarskoj medicini, ali se lečenje domaćih životinja retko sprovodi.

Prirodnožarištni karakter bolesti ograničava efikasnost opštih preventivnih mera. U endemskim područjima preporučuje se izbegavanje kontakta sa obolelim ili uginulim životinjama, upotreba insekticida i repelenata, korišćenje higijenski ispravne vode i hrane. U lovištu gde se posumnja na tularemiju preporučuje se odstrel zečeva i lisica, a leševe uginulih i odstreljenih životinja treba ukloniti. Od specifičnih mera zaštite ljudi na raspolaganju je atenuisana vakcina. Preporučuje se za zaštitu osoba koje dolaze u kontakt sa zaraženim životinjama i za laboratorijske radnike. Imunoprofilaksa se ne primenjuje kod životinja.

Genus Bartonella

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Bartonele su fakultativno intracelularne bakterije, spororastući, Gram-negativni, aerobni, lako zakrivljeni bacili, koji spadaju u α -Proteobacteria. Bolesti koje izazivaju prenose se artropodama (krpelji, buve, mušice). Mačke mogu godinama biti nosioci asimptomatske bakterijemije.

Bartonella henselae je etiološki agens bolesti mačjeg ogreba („cat-scratch fever“), koju može preneti mačja buva. Infekcija se viđa kod ljudi i pasa. Manifestacije bolesti kod pasa su poliartritis, krvarenje iz nosa i endokarditis.

B. clarridgeiae takođe uzrokuje endokarditis kod pasa, kao i *B. vinsonii* ssp. *berkhoffii*, koja može uzrokovati granulomatozni limfadenitis, rinitis i peliozu jetre.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dijagnoza bartoneloze može biti vrlo teška, jer ne postoje tipični klinički znaci. Etiološka dijagnoza najčešće se postavlja serološkim testovima (imunofluorescentni test koji može dati unakrsnu reakciju sa *Coxiella burnetti* i hlamidijama) i detekcijom uzročnika PCR metodom. Bartonela se može dokazati i u histološkim preparatima obojenim *Warthin-Starry* metodom (impregnacija srebrom) ili imunohistohemijskim metodama. Kao uzorak se uzima biotat ili aspirat limfnog čvora i jetre ili krv.

Izolacija *Bartonella* spp. može se raditi na krvnom i čokoladnom agaru, ali je bolje da krvni agar sadrži 3-10% zečije ili konjske krvi, od ovčije. Kultivacija se radi na 37°C, uz prisustvo 5-7% CO₂, a rast se vidi nakon 10 dana. Kolonije bartonele imaju dve morfološke forme: mogu biti suve i hrapave, ličiti na karfiol ili su vlažne, okrugle, sjajne. Inkubacija treba da traje najmanje 6 nedelja, pre nego što se izda negativan nalaz. U mikroskopskom preparatu iz kulture obojenom po Gramu, vide se mali Gram-negativni, pleomorfn štapići.

Dalja identifikacija se radi uz pomoć biohemijskih testova. Bartonele ne fermentuju šećere, većinom su oksidaza pozitivne, a katalaza, ureaza i nitrat-reduktaza negativne.

Potpuna identifikacija vrsta radi se molekularnim metodama.

KONTROLA I PREVENCIJA

Bartonele su *in vitro* osetljive na makrolide, aminoglikozide i tetracikline, ali manje na penicilin i druge beta laktame. Prevencija se zasniva na primeni insekticida i akaricida radi uništavanja vektora bartoneloze.

Poglavlje
6

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus *Campylobacter*
2. Genus *Helicobacter*
3. Genus *Arcobacter*
4. Genus *Brachyspira*
5. Genus *Lawsonia*
6. Genus *Leptospira*
7. Genus *Borrelia*

Genus *Campylobacter*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Članovi roda *Campylobacter* su Gram-negativni, vitki, savijeni ili spiralni pokretni bacili. Za razmnožavanje *Campylobacter*-a neophodni su mikroaerofilni uslovi, od 3-5% CO₂ i 3-15% O₂. Svi su oksidaza pozitivni, neki produkuju katalazu, većinom redukuju nitrate. Ureaza su negativni što ih diferencira u odnosu na vrlo sličan rod, *Helicobacter*.

Bakterije iz roda *Campylobacter* žive kao komensali u digestivnom traktu sisara i ptica. U tabeli 25. su date najvažnije vrste, od značaja za veterinarsku medicinu.

Tabela 25. Najvažnije vrste roda *Campylobacter* od značaja za veterinarsku medicinu

vrsta	značaj
<i>C. coli</i>	normalna intestinalna flora živine i svinja, ima zoonotski potencijal
<i>C. jejuni</i> <i>ssp. jejuni</i>	normalna intestinalna flora većine ptica, preživara, pasa, mačaka, zečeva, primata dijareja kod pasa, mačaka, svinja, teladi, jagnjadi, pobačaji kod preživara, hepatitis kod pilića, zoonotski potencijal
<i>C. fetus</i> <i>ssp. fetus</i>	deo normalne intestinalne flore preživara, pobačaji kod ovaca i krava, zoonotski potencijal
<i>C. fetus</i> <i>ssp. veneralis</i>	seksualno prenosiva infekcija uzročnik abortusa i infertiliteta kod krava
<i>C. sputorum</i> <i>ssp. bubulus</i>	normalna genitalna flora kod goveda i ovaca oba pola
<i>C. upsaliensis</i>	u fecesu zdravih i dijaroičnih pasa i zdravih mačaka, zoonotski potencijal

MORFOLOGIJA

Ovo su Gram-negativni, tanki, savijeni štapići, dimenzija 0,1-0,5x0,5-5µm. Kada se nađu u paru imaju oblik slova S ili „galebovih krila“. Imaju tipičan ćelijski zid Gram-negativnih bakterija, kapsulu i flagelu.

KULTURELNE OSOBINE

Kao mikroaerofilna bakterija *Campylobacter* za rast zahteva povećane koncentracije ugljen-dioksida (3-5%) i 3-15% kiseonika. Neke vrste (*C. jejuni*) dobro rastu na 42°C, što se koristi za selektivnu izolaciju iz digestivnog trakta.

PATOGENOST

Campylobacter fetus ssp. fetus, izaziva pobačaje kod ovaca i krava, a infekcija se prenosi kontaminiranom hranom i vodom, razvija se bakterijemija sa nakupljanjem u placenti, što dovodi do inflamacije i pobačaja, najčešće u trećem trimestru graviditeta.

Campylobacter fetus ssp. veneralis izaziva veneralnu kampilobakteriozu goveda, a prenosi se sa bikova na krave tokom koitusa. Abortus se javlja kod manje od 10% inficiranih životinja.

Campylobacter jejuni i *C. coli*, komensali su u digestivnom traktu domaćih životinja. Infekcija se javlja kod ljudi a prenosi se najčešće kontaminiranim živinskim mesom, koje je nedovoljno termički obrađeno. Mikroorganizam invadira crevnu sluznicu i ulazi u enterocite. Virulencija se zasniva na dejstvu fibronektin vezujućeg proteina koji omogućava adheziju, lipoproteina i lipopolisaharida iz ćelijskog zida i flagelina.

Životinje i animalni proizvodi su izvor infekcije za ljude. Oko 50% pilića sadrži u cekumu *Campylobacter jejuni*. Od 2-100% zdravih krava su nosioci ove bakterije, čime se objašnjavaju brojne epidemije kampilobakterioze kod ljudi, nastale nakon konzumacije nepasterizovanog mleka.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U slučaju dijareje uzima se feces, a u slučaju veneralne kampilobakterioze uzimaju se brisevi prepucijuma odnosno vagine. U slučaju pobačaja uzimaju se placenta, jetra i sirište pobačenog fetusa.

Direktni mikroskopski preparat se boji karbol fuksinom a vide se vitki, savijeni štapići. Materijal se zasejava na selektivne podloge koje sadrže antibiotike (cefoperazon, vankomicin i amfotericin B), npr. *Columbia* agar, krvni agar sa antibioticima. Inkubacija se radi na 37°C i na 42°C, u atmosferi 5%CO₂ i 5%O₂. Inkubacija se radi najmanje 5 dana, pre nego što se izda negativan nalaz. Morfologija kolonija različitih vrsta *Campylobacter* –a prikazana je u tabeli.

Tabela 26. Morfologija kolonija različitih vrsta *Campylobacter* –a

vrsta	izgled kolonija
<i>C. coli</i>	okrugle, sjajne, konveksne, glatke, bele, nehemolitične
<i>C. jejuni ssp. jejuni</i>	pljosnate, sivkaste, sitno granulirane, 1-2 mm
<i>C. fetus ssp. fetus</i>	glatke, bezbojne do krem, manje od 1mm
<i>C. fetus ssp. veneralis</i>	hrapave, 1-2 mm, okrugle, granulirane, bele ili sive, nepravilnih ivica
<i>C. sputorum ssp. bubulus</i>	okrugle, sjajne, prljavo-bele, 1,5 mm
<i>C. upsaliensis</i>	tačkaste nakon 48h

Konačna bakteriološka identifikacija radi se na osnovu fenotipskih i biohemijskih karakteristika. Najčešće korišćeni testovi za identifikaciju prikazani su u tabeli 27.

Tabela 27. Diferencijalna dijagnostika različitih vrsta *Campylobacter* –a

vrsta	oksidaza/ katalaza	ure- aza	rast na 25°C	rast na 42°C	osetljivost na nalidiksičnu kiselinu	osetlji- vost na cefalotin	hidroliza hipurat
<i>C. coli</i>	+/+	-	-	+	S	R	-
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	+/+	-	-	+	S	R	+
<i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	+/+	-	+	-	R	S	-
<i>C. fetus</i> ssp. <i>veneralis</i>	+/+	-	+	-	R	S	-
<i>C. sputorum</i> ssp. <i>bubulus</i>	+/-	-	+/-	-	+/-	S	-
<i>C. upsaliensis</i>	+/+	-	-	+	S	S	+

Imunodijagnostika se ne koristi za dijagnostiku dijareje, već samo u epidemiološkim istraživanjima. Molekularna dijagnostika radi se PCR metodom, amplifikacijom uzročnika iz fecesa.

Vaginalna kampilobakterioza može se utvrditi dokazivanjem antigena u cerviko-vaginalnoj sluzi. Antitela na *Campylobacter fetus* mogu se dokazati ELISA tehnikom.

KONTROLA I PREVENCIJA

Enteritis uglavnom spontano prolazi, a makrolidni antibiotici su lekovi izbora iako se pojavljuju rezistentni sojevi. Većina kampilobaktera osetljiva je na fluorohinolone. Tetraciklini se mogu koristiti u prevenciji abortusa kod ovaca.

Genus *Helicobacter*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

Bakterije iz ovog roda su Gram-negativni, vitki, savijeni ili spiralni, pokretni bacili za čije su razmnožavanje neophodni mikroaerofilni uslovi. Ne fermentuju ugljene hidrate. Vodonik je neophodan za rast nekih vrsta, dok druge stimuliše. Ureaza su pozitivni, što ih diferencira u odnosu na rod *Campylobacter*.

Bakterije iz roda *Helicobacter* poznate su više od jednog veka kod sisara i ptica. U tabeli 28. su date najvažnije vrste, od značaja za veterinarsku medicinu.

Tabela 28. Najvažnije vrste roda *Helicobacter*-a od značaja za veterinarsku medicinu

vrsta	značaj
<i>H. bizzozeronii</i>	domaćin je pas, kolonizuje želudac, ne izaziva oboljenje
<i>H. canis</i>	domaćin je pas, kolonizuje crevo, izaziva gastroenteritis
<i>H. felis</i>	domaćini su mačka i pas, kolonizuje želudac, može izazvati gastritis
<i>H. heilmanni</i>	domaćin je čovek, drugi sisari, kolonizuje želudac,
<i>H. pylori</i>	domaćini su mačka, čovek, primati, kolonizuje želudac, hronična inflamacija koja vodi u atrofični gastritis, intestinalnu metaplaziju, karcinom
<i>H. rappini</i>	domaćini su glodari, kolonizuje tanko crevo, dovodi do abortusa kod ovaca

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Mikrobiološka dijagnoza postavlja se izolacijom i identifikacijom uzročnika iz obolelog tkiva. Gastrična i intestinalna mukozna ili jetra se homogenizuju i zasejavaju na *Columbia* agar, *Brucella* agar sa 10% konjske krvi uz dodatak antibiotika (trimetoprim, vankomicin, polimiksin B) ili podlogu po *Skirow*-u. Uzorak može biti i feces.

Inkubacija traje 7 dana, na 37°C. Mikroaerofilni uslovi podrazumevaju prisustvo mešavine 5%CO₂, 90%N₂, 5%H₂). Kolonije su prečnika 1-2mm, sive ili sivkasto-bele, nehemolitične.

Za diferenciranje pojedinih vrsta koriste se biohemijski i drugi testovi, a najvažniji su ureaza test, osetljivost na naldiksičnu kiselinu i cefalotin, redukcija nitrata, rast na 42°C.

Genus *Arcobacter*

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

U rodu *Arcobacter* su bakterije vrlo slične morfologije sa predhodnom vrstom, ali za razliku od njih, rastu na 30°C i aerotolerantne su. To su mali, spiralni ili savijeni štapići, čiji se patogeni značaj još istražuje.

Arcobacter cryaerophilus povezuje se sa pobačajima kod svinja, krava, kobilica, ovaca i kuja. Takođe, može se izolovati iz mleka krava i ovaca s mastitisom.

Arcobacter butzlei uzrokuje dijareju kod ljudi i primata, a može se naći u dijaroičnom fecesu konja, goveda i svinja. Obe vrste imaju zoonotski značaj.

Arcobacter skirrowii izolovan je iz dijaroičnog fecesa ljudi, jagnjadi, teladi i pobačenih fetusa svinja.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Sadržaj želuca ili vaginalni ispirak, kao i supernatant tečnog maceriranog tkiva u slučaju pobačaja, inokuliše se u polučvrste podloge za leptospire i inkubira na 25°C. Porast se prati od 48h do 5 nedelja.

Porast se proverava pomoću mikroskopije u tamnom polju ili fazno-kontrastnog mikroskopa, traže se pokretni mikroorganizmi koji imaju morfologiju nalik *Campylobacter*-u („*Campylobacter like morphology*“).

Kada se pojavi rast u vidu zamućenja podloge, radi se presejavanje na *Columbia* krvni agar i inkubira mikroaerofilno, iako ovi mikroorganizmi mogu rasti u prisustvu kiseonika. Mogu da produkuju bele, sive, žute ili bezbojne kolonije.

Biohemijsko ispitivanje je komplikovano, tako da većina veterinarskih laboratorija izdaje pozitivan nalaz na *Arcobacter spp.* u slučaju:

- » primoizolacije na polučvrstoj podlozi za leptospire,
- » karakteristične morfologije u preparatu obojenom po Gramu,
- » karakteristične pokretljivosti u vidu bacakanja,
- » rasta na sobnoj temperaturi na vazduhu,
- » slabog rasta na 42°C i
- » vidljivog rasta na selektivnim podlogama za *Yersinia spp.*

Genus Brachyspira

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Genus *Brachyspira* (donedavni naziv *Spirulina*) spada u familiju *Spirochetaceae* zajedno sa rodovima *Borrelia* i *Treponema*.

Značaj u veterinarskoj medicini imaju: *B. hyodysenteriae*, koja izaziva dizenteriju kod svinja, *B. pilosicoli*, *B. aalborgi*, *B. alvinipulli*, *B. intermedia*, koje uzrokuju spirohetoze živine, svinja i ljudi. *B. innocens* i *B. murdochii*, koje su nepatogene vrste, kolonizuju digestivni trakt svinja, pasa i živine, zbog čega predstavljaju diferencijalno-dijagnostički problem u identifikaciji patogenih vrsta.

Brachyspira hyodysenteriae uzrokuje mukohemoragičnu dijareju, najčešće kod novorođene prasadi. Do sada je na osnovu lipopolisaharidnog antigena, identifikovano devet serotipova.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Kao uzorak za postavljanje etiološke dijagnoze, može da posluži feces, rektalni bris i mukoza debelog creva. Nativni preparat mikroskopira se u tamnom polju ili uz pomoć fazno-kontrastnog mikroskopa. Bojenjem po Gramu, ove se bakterije boje teško, pa se mogu kristiti specijalna bojenja, npr. impregnacija srebrom. Nalaz 3-5 živih spiroheta u vidnom polju, na velikom uvećanju mikroskopa, je signifikantan.

Kultivacija se radi na selektivnim podlogama, krvnom agaru sa dodatkom antibiotika (kolistin, vankomicin i spektinomycin) na temperaturi od 42°C, u anaerobnim uslovima, uz dodatak vodonika i CO₂. Podloge se kontrolišu na 48h, tokom 10 dana.

Ključni parametri za identifikaciju *B. hyodysenteriae* su: morfologija kolonija, izraženost β-hemolize, produkcija indola i hidroliza hipurata. Kolonije *B. hyodysenteriae* su male, prozračne, sa jasnom β-hemolizom nakon 48h.

Ova spiroheta je osetljiva na linkomicin, tilozin, eritromicin i spiramicin.

Genus Lawsonia

Lawsonia intracellularis je etiološki agens intestinalne hiperplazije koja se javlja kod svinja a naziva se jednim imenom, *proliferativna enteropatija*. Bolest se manifestuje u akutnoj formi kao hemoragična enteropatija i hroničnoj kad se naziva intestinalna adenomatoza. Odnedavno je infekcija registrovana i kod ždrebad starosti do 6 meseci, kod kojih daje tešku kliničku sliku proliferativne enteropatije. Kod odraslih konja se ne viđa.

Lawsonia intracellularis spada u familiju *Desulfovibrionaceae* iako nema osobinu redukovanja sulfata kao ostali pripadnici. Zbog genetske sličnosti sa rodnom *Desulfovibrio*, kojem je ranije pripadala ovakva taksonomska klasifikacija prihvaćena je 1995. godine.

Lawsonia intracellularis je Gram-negativni zakrivljeni štapić, dimenzija 1,25-1,75x0,5-1,5µm. Pokazuje fenomen acido-alkoholne rezistencije kada se boji po *Ziehl-Neelsen*-u. Kultivacijom u ćelijskoj kulturi, ako se nađe ekstracelularno, može imati polarnu flagelu kojom se brzo kreće. *Lawsonia* je intracelularna bakterija koja se ne može kultivisati na veštačkim hranljivim podlogama. Kultivacija *in vitro* moguća je u ćelijskoj kulturi intestinalnog epitela i kontinuiranoj ćelijskoj liniji *McCoy*, na kojoj ne daje citopatogeni efekat..

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Klasična kultivacija *L. intracellularis* nije moguća, a kultivacija u ćelijskoj kulturi ne radi se u rutinskoj dijagnostici proliferativne enteropatije, već se sa uspehom koristi PCR tehnika, odnosno ekstrakcija DNA iz fecesa, bioptata crevne mukoze ili brisa. Takođe, sa uspehom se koriste *Southern blot*, ELISA i ELOSA (*enzyme-linked oligosorbent assay*).

PREVENCIJA I KONTROLA

U prevenciji širenja infekcije na farmama svinja sa uspehom se može koristiti spektinomycin i tilozin. Komercijalna vakcina, napravljena od živog atenuisanog soja *L. intracellularis* je efikasna.

Genus *Leptospira*

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U rodu *Leptospira* su spirohete koje izazivaju zarazno oboljenje životinja i ljudi poznato kao leptosproza. Leptospire pripadaju porodici *Leptospiraceae*, rodu *Leptospira*, i na osnovu analize DNK utvrđeno je da postoji 20 različitih vrsta.

U grupi patogenih vrsta nalazi se 9 vrsta *Leptospira*: *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. alexanderi*, *L. weilii*, *L. alstonii* (genomospecies 1), *L. borgpetersenii*, *L. santarosai* i *L. kmetyi*.

U grupu intermedijarnih, ili oportunističkih spadaju: *L. inadai*, *L. fainei*, *L. broomi*, *L. licerasiae* i *L. wolffii*.

Saprofitne vrste uključuju: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. genomospecies* 3, *L. genomospecies* 4 i *L. genomospecies* 5.

Pojedini serotipovi leptospira su veoma rasprostranjeni u svetu kao što su serotipovi *L. icterohaemorrhagiae* i *L. canicola*, dok pojedini serotipovi izazivaju oboljenja životinja i ljudi samo u određenim regionima. Leptospiroze se javljaju u tropskim područjima sa obilnim kišama i u regionima sa neutralnim ili alkalnim zemljištem. Vrlo su osetljive prema sušenju, zamrzavanju i kiseloj sredini i prema većini dezinfekcionih sredstava.

Leptospira interrogans

Patogene leptospire su morfološki i fiziološki veoma slične, ali serološki i epidemiološki različite. Na osnovu antigene građe podeljene su u 23 serološke grupe sa više od 220 serotipova (serovarijeteta). Najvažniji serovarijeteti patogenih leptospira su prikazani u tabeli 29.

Tabela 29. Najvažniji serovarijeteti patogenih leptospira i njihovi domaćini

serovarijetet	domaćini
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	psi, konji, goveda i svinje
<i>L. canicola</i>	psi, svinje, goveda
<i>L. pomona</i>	svinje, goveda, konji i ovce
<i>L. grippityphosa</i>	goveda, svinje i psi
<i>L. hardjo</i>	goveda i ovce
<i>L. bratislava</i>	svinje i konji

Leptospiroza se kod domaćih životinja ispoljava različitim kliničkim simptomima. Kod goveda izaziva pobačaje, sterilitet, mastitis, destruktiju jetre i slezine kod mlađih kategorija životinja. Kod svinja, ovaca i konja leptospirozu prate abortusi, ređe se vida u akutnoj, hemoragičnoj formi. Leptospiroza kod pasa protiče u formi akutnog hemoragičnog oboljenja sa znacima žutice. Hronične

infekcije bez kliničkih simptoma kod životinja su česte i imaju za posledicu doživotno prisustvo leptospira u bubrezima zbog čega su ove životinje kliconoše i predstavljaju trajni izvor infekcije.

MORFOLOGIJA

Leptospire su spiralne pokretne bakterije helikoidnog oblika, dijametra 0,1 μm i dužine 6-12 μm. Helikoidna struktura daje im izgled kalema namotanog u pravcu kazaljke na satu, sa amplitudom namotaja od 0,10-0,15 μm i talasima od približno 0,5 μm. Jedan od krajeva ima završetak u vidu kukice. Dve periplazmatske flagele (endo flagele ili aksijalne fibrile), protežu se kroz centralni deo ćelije. Ne stvaraju sporu ni kapsulu. Leptospire su Gram-negativne, boje se produženim bojenjem po Gimzi i impregnacijom srebrom. Mikroskopski se mogu videti u tuš preparatima, a neobojene leptospire vidljive su samo mikroskopijom u tamnom polju i faznokontrastnom mikroskopijom.

KULTURELNE OSOBINE

Leptospire su obligatni aerobi sa optimalnim rastom na temperaturi od 28-30°C. Rastu u medijumu obogaćenom vitaminima B1 i B12, dugolančanim masnim kiselinama i amonijumovim solima. Leptospire se izoluju na podlogama koje sadrže serum ili albumin kao što su *Fletcher*, *Karthof*, *Noguchi* i *Stuart* medijum. Danas se najviše koristi podloga po *Johnson*-u i *EMJH* medijum, koji sadrže oleinsku kiselinu, govedu serum albumin, Tween-80 i druge komponente. Rast kontaminenata iz kliničkih uzoraka može se sprečiti dodavanjem 5-fluoruracila, gentamicina, nalidiksične kiseline ili rifampicina. Rast leptospira je često spor u primarnoj izolaciji, potrebno je zasejane podloge posmatrati do 13 nedelja. Kulture leptospira se održavaju ponavljanjem supkulture ili čuvanjem na polučvrstom agaru koji sadrži hemoglobin.

FIZIOLOŠKO-BIOHEMIJSKE OSOBINE

Leptospire su oksidaza i katalaza pozitivne. Identifikacija se zasniva na serološkim ispitivanjima sa standardnim imunim serumima. Primenom DNA metoda (REA, analiza restrikcione endonukleaze) može se izvršiti identifikacija različitih sojeva istog serovarijetea.

ANTIGENSKA GRAĐA

Lipopolisaharid (LPS) leptospira odgovoran je za patogenost leptospira i predstavlja glavni antigen leptospira. Antigenski sastav se koristi za taksonomsku determinaciju i klasifikaciju leptospira. Patogene leptospire su dobri antigeni i u inficiranom organizmu stimulišu produkciju aglutinina, anti-LPS antitela. Ova antitela dostižu vrlo visoke vrednosti u serumu i zadržavaju se duže vreme.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Leptospira ulazi u organizam kroz male posekotine ili abrazije na koži, preko sluzokoža (konjunktiva) direktnim i indirektnim kontaktom. Leptospire prodiru krvotokom, nastaje bakterijemija koja traje do 7-og dana, a zatim naseljavaju parenhimatozne organe: jetru, bubrege i slezinu gde izazivaju degenerativne promene. Leptospire kolonizuju epitelijalne ćelije proksimalnih tubula bubrege. Primarne lezije su oštećenja endotela malih krvnih sudova, što dovodi do ishemije u tkivima i organima, a posledica je nekroza bubrežnih tubula, hepatocelularna i pulmonalna oštećenja, meningitis, miozitis i placentitis. Kliničke i patološke manifestacije ukazuju na postojanje toksičnog delovanja.

Mehanizam kojim leptospira izaziva oštećenja u tkivu domaćina nije još uvek objašnjen. Postoje izveštaji o patogenim mehanizmima, ali gotovo u svim slučajevima specifične komponente odgovorne za patološko delovanje nisu dokazane. Virulentne leptospire prijanjaju na kulturu epitelijalnih ćelija bubrežnih tubula, ali adhesin nije identifikovan.

Ne postoje dokazi za klasično lučenje toksina, ali je dokazano stvaranje citotoksičnog proteina kod nekih virulentnih sojeva. Lipopolisaharid ćelijskog zida (LPS) je hemijski i imunološki sličan onom kod Gram-negativnih bakterija, međutim manje je aktivan. Kod nekih serovarijeteta kao što su *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* i *L. grippityphosa* dokazano je stvaranje hemolizina koji je odgovoran za nastajanje hemoglobinurije. Prvi genetski definisani faktor virulencije patogenih leptospira je *OmpA-like* protein, površinski lipoprotein Loa22, za koji se smatra da dovodi do nefropatije direktnom citotoksičnošću i pojačavanjem imflamatornog odgovora. Set od šest površinskih proteina, nazvanih LenABCDEF i površinski protein LipL32 su dokazani kod patogenih sojeva, ali njihov značaj i uloga u patogenezi i dalje nije definisana.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Infekcija životinja ili ljudi nastaje nakon direktnog kontakta sa urinom ili indirektno preko kontaminirane vode. Leptospire se iz bubrege izlučuje urinom i kontaminiraju zemljište i površinske vode. Rezervoari i kliconoše leptospira mogu biti divlje ili domaće životinje, posebno glodari. Leptospire ne preživljavaju u kiselom urinu, ali ostaju sposobne za život u alkalnom urinu (biljojedi). Ljudi gotovo nikada ne postanu hronični nosioci leptospira. Postojanje renalnih nosilaca je osnovna komponenta koja je značajna za prezistenciju i epidemiologiju leptospiroze. Svaki serotip ima afinitet za određenu vrstu životinja ili veći broj životinja domaćina.

Kliničke manifestacije bolesti su veoma različite, a ispoljavaju se u perakutnom, akutnom i hroničnom toku. Leptospiroza često protiče bez kliničkih simptoma, a klinička slika se javlja kod pasa, krava i svinja, rede konja, koza i ovaca. Oboljenje najčešće ima septikemičan karakter, praćeno je febrilnim sindromom, izraženom žuticom, hemoragijama po koži i sluzokožama, kao i zapaljenjem bubrege sa hemoglobinurijom. Leptospiroza može biti razlog za nastanak pobačaja, mastitisa i agalaksije kod domaćih životinja, što može imati za posledicu nastanak još većih i značajnijih ekonomskih gubitaka.

Kod goveda se najčešće javljaju serotipovi: *L. pomona*, *L. hardjo* i *L. grippotyphosa*, a prisutno je febrilno stanje, hematurija, ikterus, anemija. *L. hardjo* kod goveda izaziva mastitis ili abortus.

Svinje su veoma važni domaćini *L. pomona*, kod kojih se javlja obilna i produžena leptospirurija. Infekcija veoma često protiče sa karakterističnom kliničkom slikom (abortus i rađanje avitalne prasadi, kržljav rast prasadi, žutica, hemoglobinurija, konvulzije i gastrointestinalne smetnje) ili protiče asimptomatski.

Kod pasa najzastupljeniji serotip je *L. icterohaemorrhagiae* i *L. canicola*. Oboljevaju mlađi psi u akutnoj formi sa znacima žutice i hemoragijskim sindromom.

Ljudi se osetljivi na većinu serotipova leptospira. Posebno je prognostički loša infekcija sa *L. icterohaemorrhagiae*, kao posledica hepatorenalnog sindroma, sa smrtnim ishodom.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Laboratorijska dijagnoza se postavlja primenom direktnih i indirektnih metoda, odnosno dokazivanjem uzročnika i nalazom specifičnih antitela na leptospire. Kao uzorak se koristi krv, urin, cerebrospinalna tečnost, placenta aod pobačenih fetusa bubreg, jetra, slezina i pluća.

Dokazivanje leptospira direktno iz materijala, najčešće urina i krvi, vrši se mikroskopijom u tamnom polju. Imunofluorescentno bojenje tkivnih tečnosti, isečaka tkiva i homogenizata (bubrega, tkiva fetusa) može se primeniti za dokazivanje leptospira. U novije vreme koriste se metodi molekularne detekcije (PCR), odnosno dokazivanje genoma leptospira u ispitujućim uzorcima. Prednost direktnog posmatranja je brzina, što dovodi do relativno rane dijagnoze.

Bakteriološka dijagnoza se postavlja izolacijom leptospira. Izolaciju otežava njihov usporen rast i prisustvo prateće bakterijske flore. Za uspešnu izolaciju potrebni su sveži adekvatni uzorci tkiva, krv ili uzorci urina. Takođe, uzorke je potrebno uzeti pre nego što se otpočne lečenje antibioticima. Pripremaju se desetorostruka razblaženja ispitujućih uzoraka i zasejavaju na podloge koje sadrže serum (*Johnson, Korthof, Stuart, Fletcher*) ili *EMJH (tween-albumin)* medijum. U zavisnosti od nivoa kontaminacije, dodaju se podlogama antibiotici i 5-fluoruracil za sistiranje rasta prateće mikroflore. Zasejane podloge se inkubiraju na 28°C, do 13-te nedelje, sa nedeljnim ispitivanjem u tamnom polju. Zbog komplikovanog i dugotrajnog postupka, izolacija leptospira se ne smatra korisnom u rutinskom radu za dokazivanje infekcije, nego se koristi u epidemiološke svrhe.

Od 1990-tih razvijeno je nekoliko PCR protokola za otkrivanje leptospiralne DNA u kliničkom materijalu, koji su dobro ocenjeni zbog brzine dobijanja rezultata i visoke osetljivosti.

Lančana reakcija polimeraze (PCR) je brz i jednostavan metod koji omogućava kopiranje i umnožavanje specifične DNA sekvence, što pruža osnov za dijagnostiku i tipizaciju leptospira. PCR metodom je moguće dijagnostikovati

prisustvo leptospira u krvi i urinu inficiranih životinja i ljudi u ranijim fazama oboljenja kada se leptospire izlučuju u vrlo malom broju. Lančana reakcija polimeraze (PCR) je brza i osetljiva metoda koja je u mogućnosti da detektuje leptospire. Metod pripreme je omogućio da se PCR metodom reprodukuje 5 od 10 leptospira u 1 ml urina bez dodatne upotrebe *Dot-blot* hibridizacije.

Prednost ovog metoda je u tome što omogućava ispitivanje kliničkih uzoraka bez prethodne izolacije i kultivacije. Opisano je nekoliko parova prajmera za PCR detekciju leptospira, koji su locirani specifičnim genima, 16S ili 23S. U primeni je i *real-time PCR test* upotrebom 423 bp, na *lip32* genu, koji je prisutan kod mnogih patogenih leptospira.

SEROLOŠKE METODE

Zbog velike raznolikosti kliničkih simptoma i poteškoća oko izolacije, primena seroloških testova je našla puno opravdanja. Za dokazivanje specifičnih antigena koristi aglutinacija na mikroskopskoj pločici (mikroskopski aglutinacioni test, MAT) indirektni test hemaglutinacije (IHA) i imuno-enzimski test (ELISA).

Mnogo ređe, koriste se brza aglutinacija na pločici, latex-aglutinacija i reakcija vezivanja komplementa (RVK). Krv za serološka ispitivanja uzima se što pre, čim se uoče znaci bolesti. Drugi, parni uzorak, uzima se nakon 14 dana i ponavlja se u sličnim intervalima ako je potrebno. MAT se najviše koristi kao dijagnostički test i predstavlja referentni metod za serološku dijagnozu leptospiroze. U reakciji se koristi živa kultura različitih serovarijeteta leptospira i ispitujući serum u odgovarajućim razblaženjima. Usled prisustva specifičnih antitela u serumu formira se aglutinat koji se očitava pomoću mikroskopa u tamnom polju.

Njegova prednost je što je specifičan za serovarijete, ali ne može da razlikuje antitela koja su posledica infekcije od vakcinalnih. Osetljivost i specifičnost MAT je veoma visoka.

ELISA dijagnostikumi sadrže različite antigene leptospira (LipL32, LigA, OmpL1). Osetljivost i specifičnost testa ne poklapa se sa MAT. ELISA testom se ranije dobije pozitivan rezultat u odnosu na MAT ali ELISA testom nije moguće odrediti tačan serotip leptospira kada se koriste poli-reaktivni antigeni.

KONTROLA I PREVENCIJA

Leptospire su osetljive na penicilin, tetracikline, streptomycin i eritromicin. Tretman je uspešniji ako se primenjuje na početku infekcije, a može se primeniti i u profilaktičke svrhe. Streptomycin vrlo uspešno eliminiše leptospire i sprečava kliconoštvo kod pasa i goveda. Vakcinacija prevenira nastajanje teže forme kliničke slike, ali ne sprečava nastajanje infekcije ili kliconoštvo. Vakcina kod ljudi i životinja se koristi već duže vreme i takve vakcine sadrže dva ili više lokalno prisutnih serovarijeteta leptospira. Komercijalne vakcine su dostupne za goveda, svinje i pse, ali se vakcinacija pokazala samo delimično efikasna.

Genus Borrelia

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Borelije su pokretne, mikroaerofilne bakterije spiralnog oblika, koje se održavaju i primarno prenose preko krpelja. Rod *Borrelia* spada u red *Spirochaetales*, familiju *Spirochaetaceae*. Do danas je poznato 36 vrsta *Borrelia*, od kojih 12 vrsta izaziva lajmsku bolest ili Lyme boreliozu, a najčešće su to *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* i *Borrelia valaisiana*. Za domaće životinje značajne su *B. anserina*, uzročnik spirohetoze ptica (borelioze živine), *B. theileri* koja izaziva anemiju kod konja i ovaca. Lajmsku bolest kod pasa, konja, goveda, ovaca i ljudi izaziva grupa *Borrelia* vrste koje se nazivaju *B. burgdorferi sensu lato*.

Borrelia anserina

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

B. anserina je pokretna spiroheta prečnika 0,2-0,3 μ m i 8-20 μ m dužine koja ima 15-22 flagele. Najbolje se vidi bojenjem po Giemzi, i u natrivnom preparatu u tamnom polju. Umnožava se u embrionisanim jajima pataka, ćuraka i kokošaka. Izolovani sojevi *B. anserina* razlikuju se serološki i prema stepenu virulencije.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Nakon ulaska u organizam živine spirohete se razmnožavaju u jetri, slezini i koštanoj srži, a nakon toga dospevaju u krvotok gde se dalje razmnožavaju. Prisutna je splenomegalija i nektorične promene na jetri kao posledica toksičnog delovanja spiroheta.

KLINIČKA SLIKA I EPIZOOTIOLOGIJA

Klinička slika kod živine je različita i zavisi od virulencije uzročnika i starosti inficiranih jedinki. Kod obolele živine vidi se povišena temperatura, malaksalost, bleđa kresta, dijareja, anemija i paraliza nogu i krila. Infekcija je prenosi na više načina, ali je najznačajniji put preko krpelja iz roda *Argas* (*Argas persicus*), koji su i rezervoari infekcije.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Etiološka dijagnoza se postavlja dokazivanjem uzročnika ili delova genoma spiroheta. U toku infekcije spirohete se mogu naći u obojenim razmazima krvi ili različitih organa ili primenom imunofluorescencije. Uzrok krvi ili razmaz tkiva se mogu posmatrati i direktno na mikroskopu sa travnim poljem. Ispitujući materijal može se inokulisati u žumančanu kesu kokošijih embriona starih 5-6 dana, a zatim

mikroskopski pregledati nakon 2-3 dana. Specifična antitela u krvnom serumu mogu se dokazati metodom aglutinacije, agar-gel imunodifuzionim testom i indirektnom imunofluorescencijom.

KONTROLA I PREVENCIJA

B. anserina je osetljiva na brojne antibiotike (penicilin, tetracikline, streptomycin, tilosin). Za imunoprofilaksu se koriste bakterini sa dobrim uspehom. Kontrola ektoparazita je ključna u profilaksi spirohetoze živine.

Borrelia burgdorferi

Borrelia burgdorferi je uzročnik Lajmske bolesti kod pasa, konja, goveda, ovaca i ljudi. Oboljenje se javlja najčešće kod pasa, a za prenošenje bolesti neophodno je prisustvo krpelja.

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

Borrelia burgdorferi je pokretna spiroheta prečnika 0,2-0,5 μ m i 30 μ m dužine i ima 7-11 flagela. Boji se vrlo slabo po Gram-u, najbolje po Giemzi. Dobro se vidi i u natrivnom preparatu u tamnom polju ili pomoću fazno-kontrastnog mikroskopa. Izrazito je pokretna, zbog prisustava periplazmatskih flagela koje se nalaze na svakom kraju ćelijskog cilindra. *Borrelia burgdorferi* je karakteristična po tome što ima visoku raznovrsnost i varijabilnost antigena.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Kada se inficirani krpelj pričvrsti na novog domaćina, borelije se nalaze u srednjem crevu krpelja. Krvni obrok stimuliše kretanje spiroheta i one migriraju ka pljuvačnim žlezdama krpelja, i preko pljuvačke bivaju ubrizgane u kožu domaćina. Na mestu gde je krpelj bio zakačen kroz kožu se ubacuju borelije koje se tu umnožavaju, a zatim migriraju limfotokom i krvotokom do predilekcionih mesta (zglobovi). Kontakt borelija sa ćelijama domaćina dovodi do oslobađanja proinflammatoryh citokina. Uočava se povećanje interleukina IL-8 i IL-10, što rezultira inflamacijom.

KLINIČKA SLIKA I EPIZOOTIOLOGIJA

Lajm boreliozu nema specifične kliničke simptome kod domaćih životinja. Kod pasa, konja i goveda klinički simptom koji prati Lajm boreliozu najčešće je artritis. Kod pasa može da se javi povišena telesna temperatura, pospanost, limfadenopatija, otok zglobova i limfnih čvorova. Oboleli psi imaju karakterističan hod, hramaju povremeno i ovo nije vezano za jedan ekstremitet. Kod gravidnih krava može nastati pobačaj, a kod konja nervne smetnje i rađanje avitalne ždrebadi.

Ya prirodne rezervoare Lajmske bolesti se smatraju mali glodari, a krpelji prenose bolest na ljude i životinje. Ove spirohete porenose različite vrste krpelja,

a kod nas je dominantna vrsta *Ixodes ricinus*, koja pokazuje dve sezonske faze aktivnosti, prolećnu i jesenju. Krpelj već u larvenom stadijumu inficira hraneći se na glodarima, a zatim se hrani na ljudima i životinjama kada kroz kožu dospeju u krvotok. Infekcija se se kod krpelja održava transovarijalnim i transtadijalnim prenosom.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Laboratorijska dijagnoza postavlja se dokazivanjem uzročnika u tkivima ili telesnim tečnostima, ili indirektno, dokazivanjem specifičnih antitela u krvnim serumima obolelih jedinki. Izolacija uzročnika je složena i zahtevna, često i neizvesna. Izolacija uzročnika se može vršiti iz zglobova, periartikularnog tkiva, cerebrospinalne tečnosti, limfnih čvorova, kože, srca ili bubrega. Za izolaciju borelije koriste se podloge kao što su *Barbour-Stoenner-Kelly* (BSK) podloga ili nekoliko njenih modifikacija u zavisnosti od dodatih komponenti koje utiču na selektivnost podloge (BSK II i BSK H).

Borrelia burgdorferi se može utvrditi i upotrebom PCR tehnike. Za detekciju antitela protiv *Borrelia burgdorferi* od seroloških testova mogu se koristiti: RVK, ELISA (IgG i IgM), IFA, Western blott. Serološki testovi mogu biti vrlo korisni u dijagnostici, s obzirom na poteškoće kod izolacije uzročnika, ali je potreban oprez kod procene rezultata, s obzirom na postojanje asimptomatskih infekcija kao i unakrsnih reakcija sa drugim spirohetama.

KONTROLA I PREVENCIJA

U terapijske svrhe mogu se koristiti tetraciklini i penicilin. Kod Lajmske bolesti preventiva podrazumeva primenu vakcinacije i kontrolu krpelja. Kod pasa je u primeni adsorbentna vakcina, ali potpuna zaštita nije obezbeđena, zbog mutiranja sojeva borelija.

Poglavlje

7

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus Clostridium
2. Genus Bacteroides
3. Genus Dichelobacter
4. Genus Fusobacterium
5. Genus Prevotella
6. Genus Porphyromonas

Genus Clostridium

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Klostridije su krupni, sporogeni, striktno anaerobni ili aerotoleranti, najčešće pokretni, Gram-pozitivni štapići. Jedini izuzetak je *Clostridium piliforme* koji je Gram negativan. Sve patogene vrste su pravi štapići, izuzev *C. spiroforme*, koji je savijen ili spiralan. Svi sem *C. perfringens* su pokretni, imaju peritrihijalne flagele. Dužina se kreće do 4-20 μ m a širina od 0,2-0,4 μ m. Spore su ovalne, subterminalne ili centralne, veće od prečnika bacila, pa ga deformišu i daju mu vretenast oblik. *C. tetani* ima terminalnu okruglu sporu, zbog čega u mikroskopskom preparatu ima izgled reketa ili čiode. Kapsulu poseduje samo *C. perfringens* koju stvara u tkivima domaćina.

Većina klostridija zahteva za kultivaciju kompleksne hranljive podloge koje sadrže aminokiseline, ugljene hidrate, vitamine, krv ili serum. Optimalna temperatura rasta je 37°C. Izuzeci su *C. perfringens* i *C. novyi* čija je optimalna temperatura rasta 45°C. Vidljiv rast nastaje za 1-2 dana. Većina klostridija na krvnom agaru daje β -hemolizu. Klostridije imaju fermentativni metabolizam. Većina razlaže ugljene hidrate, proteine, lipide i aminokiseline. Produkuju buternu i sirćetnu kiselinu, butanol i aceton i veliku količinu gasa, CO₂ i H₂. Biohemijske reakcije služe za identifikaciju pojedinih vrsta.

Klostridije se mogu naći u zemljištu, vodi, raspadnim produktima životinjskog i biljnog porekla i u digestivnom traktu životinja i ljudi. Izvor klostridija može biti egzogeni, najčešće kontaminirano zemljište, ili endogeni, digestivni trakt životinja ili ljudi. Većina vrsta je saprofitna. Klostridije imaju značajnu ulogu u biodegradaciji organskih materija a svega nekoliko je patogenih vrsta. Patogene vrste produkuju egzotoksine koji su faktor virulencije i dovode do pojave različitih oboljenja.

Patogene klostridije mogu se generalno podeliti na tri grupe u zavisnosti od toga kakva oštećenja daju u organizmu:

1. Histotoksične – tzv. «gas-gangrena grupa», kod kojih mionekroza nastupa zbog direktnog dejstva bakterija, njihovog razmnožavanja u tkivima u kojima produkuju toksine. Tu spadaju: *Cl.septicum*, *Cl.novyi*, *Cl.shouvoei*, *Cl.sordelli* i *Cl.perfringens*
2. Enterotoksemične – ove klostridije karakteriše enterotoksemija, a posledica su dejstva toksina oslobođenog u GIT. Ovoj grupi pripadaju *Cl.perfringens*, *Cl.difficile*, *Cl.spiroforme*, *Cl.piloforme* i *Cl.collinum*.
3. Neurotoksične – u organizam domaćina unose se spore. Nakon germinacije i razmnožavanja, bakterije produkuju egzotoksin, oštećuju tkiva i nastaje toksemija, (*Cl.tetani*, tetanus). Toksin se može osloboditi van organizma, npr. u namirnicama te nastaje intoksikacija (*Cl.botulinum*, botulizam).

Za postavljanje etiološke dijagnoze infekcije klostridijama rade se izolacija na hranljivim podlogama, biohemisjko-fiziološka i imunološko-toksikološka ispitivanja.

Biohemijske reakcije koje imaju značaja za identifikaciju klostridija su:

- *Lecitinaza test (Naeglerova reakcija)*, koji se izvodi na agaru sa žumancetom. Pozitivna reakcija daje opalescenciju oko kolonija klostridija, zbog enzimske aktivnosti na lecitin koji se nalazi u podlozi.

- Test digestije kazeina koji se izvodi na „*litmus milk*” podlozi, u kojoj će doći do koagulacije kazeina mleka u slučaju pozitivnog nalaza. Fermentacija laktoze u podlozi dovodi do stvaranja kiseline pri čemu dolazi do promene boje podloge iz plave u ružičasto (pH indikator je litmus).

Inokulacija u laboratorijske životinje, najčešće zamorce i miševе, radi se kod prisustva malog broja uzročnika i radi dokazivanja egzotoksina. Radi se neutralizacioni test uz pomoć dijagnostičkih antiseruma i to kod tetanusa, botulizma i enterotoksemije uzrokovane sa *Cl. perfringens*.

HISTOTOKSIČNE KLOSTRIDIJE

Histotoksične klostridije su patogene za ljude i životinje. Kada uđu u organizam, proizvode toksin, koji deluje lokalno ali i sistemski, što oštećuje tkiva i vrlo brzo vodi u smrt domaćina.

U histotoksične klostridije spadaju: *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. novyi*, *C. histolyticum*, *C. chauvoei* i *C. perfringens*, koji osim traumatske gasne gangrene, može izazvati i enterotoksemije.

Clostridium septicum

Ova se bakterija može naći u zemljištu, fecesu domaćih životinja i ljudi a može se izolovati i iz puževa koji su značajni u ciklusu razvoja jetrenih metilja. *Cl. septicum* se najčešće posmortalno širi iz GIT u druga tkiva, naročito kod preživara. Uzrokuje maligni edem kod ljudi i životinja, koji se razvija najčešće postraumatski direktnom kontaminacijom rane. Faktori virulencije su toksični produkti: a-toksin (oksigen stabilni hemolizin), b-toksin (DNAaza, leukocidin), g-toksin (hijaluronidaza), d-toksin (oksigen-labilni hemolizin), neuraminidaza, hitinaza i sialidaza. Vodeću ulogu u patogenezi malignog edema ima a-toksin. Svi ovi faktori virulencije u kombinaciji dovode do povećane propustljivosti krvnih sudova, mionekroze i sistemskog toksičnog efekta.

Clostridium septicum može uzrokovati i crevnu infekciju koja se karakteriše nekrotičnom i hemoragičnom upalom sirišta i smrtonosnom bakterijemijom. Takođe, može uzrokovati gangrenozni dermatitis kod pilića.

Clostridium novyi

Tipovi *Clostridium novyi* A i B i (tip D se naziva i *Cl. haemolyticum*) izazivaju bolesti kod ljudi i životinja a tip C je netoksigen pa time i avirulentan. Tip A uzrokuje gasnu gangrenu kod ljudi i infekcije rana kod životinja. U kliničkoj slici dominira „*bighead*“, rapidno širenje edema glave, vrata i toraksa koji je posledica invazije iz oštećenog subkutanog tkiva.

Infektivni nekrotični hepatitis „*black disease*“ uzrokuje tip B, a viđa se kod ovaca i goveda sa metiljima u jetri. Uspavane spore germiniraju u jetri prilikom razvoja metilja, a kao posledica produkcija a-toksina, dolazi do fokalne nekroze jetre. Naziv bolesti potiče od karakteristične tamne boje kože koja je posledica venske kongestije. Tip B može uzrokovati i iznenadnu smrt kod krmača za vreme porođaja.

Tip D (sin. *Cl. haemolyticum*) dovodi do bacilarne hemoglobinurije kod životinja starosti preko jedne godine. Prilikom migracije metilja kroz jetru dolazi do germinacije spora u Kupferovim ćelijama. Luči se b-toksin, koji dovodi do nekroze jetre, intravaskularne hemolize i hemoragije. Hemoglobinurija je tipičan klinički znak.

Clostridium chauvoei

Ova klostridija izaziva nekrotični miozitis kod goveda preko tri godine starosti. Lezije se najčešće vide na muskulaturi gornje usne, ali se mogu videti i na jeziku, dijafragmi i miokardu. Lezije imaju miris užeglog putera. Kod ovaca se može videti klinička slika gasne gangrene ili malignog edema. Ingestija spora je najčešći put ekspozicije goveda.

Clostridium sordellii

Clostridium sordellii prisutan je u zemljištu i digestivnom traktu životinja, a uzrokuje miozitis, nekrozu jetre i iznenadnu smrt kod goveda, ovaca i konja („*sudden death syndrome*“). U kliničkoj slici dominira subkutani edem tkiva, subendokardijalno krvarenje i septikemija. Ova klostridija luči dva toksina vrlo slična A i B toksinu *Cl. difficile*.

Clostridium perfringens

Ova je klostridija za razliku od ostalih vrsta relativno aerotolerantna, nepokretna i stvara polisaharidnu kapsulu u tkivima. Izaziva dva klinička entiteta: traumatsku gasnu gangranu i enterotoksemije kod životinja.

Clostridium perfringens je stalno prisutan u vodi, zemljištu, intestinalnom traktu ljudi, domaćih i divljih životinja. To su kratki, debeli bacili, dimenzije 1x4-8 mm, obavijeni kapsulom, spore su ovalne, subterminalne. Stvara toksine, kojih ima pet, te se deli na 5 tipova koji su obeleženi slovima od A-E. Svaki tip proizvodi različitu kombinaciju toksina a geni koji kodiraju produkciju toksina

nalaze se na plazmidima. Tip A prisutan je u crevima ljudi i životinja i zemljištu, dok se ostali tipovi nalaze uglavnom u crevima životinja. Infekcija se najčešće prenosi peroralno ili kontaminacijom rana.

Clostridium perfringens tip A izaziva anaerobni celulitis i gasnu gangrenu kod ljudi, a kod životinja se retko sreće, uglavnom kod konja. Luči a toksin (multifunkcionalna fosfolipaza C) koji direktno oštećuje ćelijsku membranu mišićnih ćelija i dovodi do destrukcije tkiva. Ima hemolitičko, dermonekrotično i letalno dejstvo. Razvija se nekrotični celulitis i mionekroza sa edemom, hemoragijom, emfizemom i često smrtonosnom toksemijom.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA HISTOTOKSIČNIH KLOSTRIDIJA

Uzorak treba da bude uzet vrlo brzo posle uginuća životinje, zbog toga što se klostridije postmortalno brzo šire iz gastrointestinalnog trakta. Za izolaciju se uzimaju blok oštećenog tkiva (4cm), telesne tečnosti ili brisevi rana. Za briseve se može koristiti transportna *Cary Blair* podloga. Zbog labilnosti toksina neophodno je uzorke hitno dostaviti na laboratorijsku pretragu.

Direktni mikroskopski preparat boji se po Gramu, a u tkivu se mogu naći Gram-pozitivni štapići karakteristične morfologije. Tehnika fluorescentnih antitela koristi se rutinski za dijagnostiku histotoksičnih klostridija a uzorak je traka kosne srži dužine 14cm.

Kultivacija klostridija radi se na sveže pripremljenom krvnom agaru ili na tioglikolatskoj podlozi, u striktno anaerobnim uslovima, a može se dodati 2-10%CO₂, koji pojačava rast. Inokulisane Petrijeve šolje inkubiraju se na 37°C, tokom 2-4 dana. Morfologija i kulturelne osobine pojedinih klostridija date su u tabeli 31.

U prevenciji infekcija histotoksičnim klostridijama koriste se vakcine koje kod junadi smanjuju smrtnost za 50%.

ENTEROTOKSEMIČNE KLOSTRIDIJE

Enterotoksične vrste *Clostridium perfringens* vidaju se kod pasa, mačaka, konja, goveda, živine i ovaca. Opisano je preko 15 egzotoksina, koje luče ove klostridije, ali je uloga u patogenezi infekcije, razjašnjena samo kod nekih. Bolest nastaje pod dejstvom tzv. *major* egzotoksina (a, b, e, i) koje luče tipovi B, C i D a ređe A i E.

U tabeli je dat prikaz pet tipova *Clostridium perfringens* i klinički entiteti enterotoksemije koji se vide kod životinja.

Tabela 30. *Clostridium perfringens* i klinički entiteti koji se vide kod životinja

tip	klinički entitet	toksin, dejstvo
A	nekrotični enteritis živine; hemoragični enteritis kod goveda i ovaca; nekrotični enteritis kod svinja; dijareja kod pasa i mačaka; enterotoksemija jagnjadi, (perakutan tok)	Toksin α , mukozna nekroza
B	Neonatalna dijareja kod jagnjadi; hemoragična toksemija kod ovaca; hemoragični enteritis kod konja i goveda; (perakutan tok)	Toksin α , Toksin β , Toksin ϵ , izaziva hemoragične ulceracije osjetljiv na tripsin, smrtnost 100%
C	Neonatalna hemoragična ili nekrotična enterotoksemija kod ovaca, svinja, goveda, koza, konja, može biti smrtonosan i za starije ovce	Toksin α , Toksin β , izaziva hemoragične ulceracije
D	Enterotoksemija kod ovaca; (perakutna forma), enterokolitis kod koza i teladi; (subakutna i hronična forma)	Toksin α , Toksin ϵ , mukozna nekroza
E	Hemoragični enteritis, iznenadna smrt kod teladi	Toksin α , Toksin τ ,

MORFOLOGIJA, KULTURELNE I BIHEMIJSKE OSOBINE

Clostridium perfringens je relativno aerotolerantan, nepokretan, u tkivima stvara polisaharidnu kapsulu. Ovo je krupan, Gram-pozitivni štapić (0,6-0,8x2-4 μ m). Stvara ovalne, subterminalne spore. Na krvnom agaru daje zonu dvostruke hemolize a „litmus milk”test i lecitinaza test (*Neagler*) su pozitivni.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Clostridium perfringens proizvodi osim *major* egzotoksina i *minor* toksine (q, l, m, k, n) kao i druge faktore virulencije: hemolizin, kolagenazu, hijaluronidazu, DNazu.

Alfa toksin, (fosfolipaza, lecitinaza) oštećuje ćelijsku membranu i dovodi do njene destrukcije. Proizvodi ga svi tipovi *Cl.perfringens* a daje zonu parcijalne hemolize na krvnom agaru. *Neglerova* reakcija bazira se na neutralizaciji aktivnosti lecitinaze na agaru sa žumancetom.

Beta toksin, je letalan i nekrotični toksin. Njegova osjetljivost na tripsin objašnjava predilekciju tipova B i C kod neonatalnih životinja, pošto kolostrum ima antitripsinsku aktivnost. Najvažniji je u patogenezi infekcija tipom B *Cl.perfringens*.

Epsilon toksin luči se kao protoksin i aktivira u crevu pod dejstvom tripsina. Kolostrum koji sadrži antitripsin faktor, prevenira stvaranje epsilon toksina. Može se smatrati enterotoksinom i neurotoksinom. Oštećuje vaskularni endotel, uključujući i krvne sudove mozga, što dovodi do edema.

Jota toksin, takođe se produkuje kao protoksin, a produkuju ga i *Cl. difficile* i *Cl. spiroforme*, ali aktivnost mu nije upotpunosti rasvetljena.

Enterotoksemije se češće javljaju kod ishrane visokoproteinskom hranom koja dovodi do usporavanja peristaltike i retencije bakterija. Klostridije iz debelog odlaze u tanko crevo, gde se razmnožavaju i oslobađaju velike količine toksina.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za izolaciju *Cl. perfringens* se mogu koristiti specijalne podloge za anaerobne bakterije, tioglikolatske podloge, Tarozzi-jeva podloga ili *Columbia* agar sa neomicinom. Na podlogama se javljaju lentikularne kolonije i obilni gas.

Fiziološko ispitivanje služi za dokazivanje saharolitičkih, proteolitičkih i lipolitičkih aktivnosti. Toksikološko-imunološka ispitivanja, rade se radi dokazivanja toksina na zamorcu. Upotrebljava se filtrat tečne kulture koji se ubrizgava intraperitonealno. Konačna dijagnoza enterotoksemije postavlja se dokazivanjem toksina u neutralizacionom testu na zamorcima i belim miševima. Za dokazivanje se uzima sadržaj ileuma a koriste se komercijalni antitoksini A-E.

Direktni mikroskopski preparat nema dijagnostički značaj.

Clostridium difficile je bakterija koja dovodi do pseudomembranoznog kolitisa kod ljudi, koji nastaje nakon dugotrajne upotrebe antibiotika. Bolest se javlja i kod konja i svinja. Ovaj se mikroorganizam može naći u fecesu zdravih ljudi, pasa, mačaka, teladi, živine i u zemljištu.

Kod konja dovodi do smrtonosnog nekrotičnog enterokolitisa. Faktori virulencije su kapsula, pili, enzimi i dva toksina: toksin A-enterotoksin koji uzrokuje nakupljanje tečnosti u crevima i B toksin, citotoksin. Rezultat dejstva ova dva toksina je krvav, vodenast izmet. Infekcija je najčešće smrtonosna.

Clostridium difficile je krupan Gram-pozitivni štapić, koji je na krvnom agaru nehemolitičan. Za izolaciju zahteva specijalnu podlogu, krvni agar sa dodatkom ekstrakta kvasca, hemina, vitamina K, cisteina i antibiotika. Definitivna dijagnoza postavlja se dokazivanjem prisustva toksina A i B u fecesu uz pomoć imunoenzimskog testa.

Clostridium spiroforme uzrokuje enterotoksemiju kod zečeva i laboratorijskih glodara.

Clostridium colinum izaziva ulcerativni enteritis kod pilića i druge domaće živine a simptomatske grlice su rezervoar infekcije. Kod pilića dovodi do dudenalnog hemoragičnog enteritisa, cecalne nekroze i ulceracija.

Clostridium piliforme je etiološki agens Tyzzer-ove bolesti, koju karakteriše teška dijareja i visoka smrtnost. Viđa se kod mnogih sisara, najviše kod zečeva, pasa, ždrebadi, teladi i laboratorijskih životinja.

KONTROLA I PREVENCIJA

Prevenција enterotoksemija naročito je važna kod novorođenih životinja. Vakcinacija se radi toksoidima, tipovima C i D *Cl. perfringens*. U cilju pasivne imunizacije može se dati i konjski hiperimuni serum nevakcinisanim životinjama.

U prevenciji i kontroli je neophodno pravilno koristiti koncentrat u hrani a kod ovaca i goveda treba sprečiti infekcije metiljima. Antibiotška terapija se retko koristi.

U prevenciji infekcije uzrokovanih *Cl. difficile* kod novorođene prasadi koristi se tilozin. *Cl. perfringens* prevenira se bacitracinom. U terapiji infekcije izazvane *Clostridium colinum* kod živine, koriste se tetraciklini, hloramfenikol, klindamicin, eritromicin, penicilin G i bacitracin.

NEUROTOKSIČNE KLOSTRIDIJE

Clostridium tetani je tanki Gram-pozitivni bacil, dimenzija 0,4-0,6x2-5mm, koji stvara karakterističnu terminalnu, okruglu endsporu, koja bacilu daje izgled čiode ili reketa. Spore su ekstremno otporne u spoljašnjoj sredini. Autoklaviranje na 121°C, u toku 15 minuta ima sporocidno dejstvo. Postoji 10 seroloških tipova, a podela se zasniva na flagelarnim antigenima, dok je toksin antigenski uniforman.

Ove klostridije mogu se naći u animalnom fecesu i zemljištu kontaminiranom animalnim fecesom.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Od tetanusa oboljevaju najčešće konji, preživari i ljudi. *Clostridium tetani* produkuje egzotoksin, tetanolizin (hemolizin), za koji nije utvrđen patogeni značaj i tetanospazmin (neurotoksin) koji je plazmidski kodiran i odgovoran za kliničke znake tetanusa. Endospore dospevaju u traumatizovano tkivo ili hirurške rane, naročito nakon kastracije ili kupiranja repa, preko umbilikusa ili uterusu kod goveda i ovaca. Prisustvo fakultativnih anaeroba i nekrotičnog tkiva obezbeđuje anaerobnu sredinu za germinaciju spora klostridija. Vegetativne ćelije se razmnožavaju u tkivu i oslobađaju tetanospazmin. Preko perifernih nerava ili krvnih sudova, toksin putuje i vezuje se za gangliozidske receptore motoneurona i ćelije prednjih rogova kičmene moždine. Toksin dovodi do jako izražene presinaptičke aktivnosti motoneurona, odnosno do spastičnih paraliza skeletne muskulature, koje završavaju opistotonusom celog tela.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U direktnom mikroskopskom preparatu, mogu se videti tipični Gram-pozitivni štapići, sa terminalnom sporom koja ih deformiše i daje izgled čiode, čime se postavlja predhodna dijagnoza.

Izolacija se radi na tioglikolatskoj podlozi ili krvnom agaru, tokom 2-3 dana u anaerobnim uslovima uz dodatak CO₂. Na krvnom agaru kolonije su hemolitične, imaju tendenciju slivanja. Biohemijska aktivnost *Cl. tetani* nije izražena, fermentacija velikog broja šećera je negativna (glukoza, saharoza, maltoza, laktoza), lecitinaza i lipaza je negativna, „litmus milk” takođe, jedino dovodi do likvefakcije želatina.

Najvažnije je uraditi identifikaciju toksina, a to se izvodi na laboratorijskim miševima uz pomoć neutralizacionog testa.

Clostridium botulinum je štapić dimenzija 0,9-1,2x4-6mm, koji stvara ovalnu, subterminalnu sporu. Spore su vrlo otporne, uništava ih temperatura od 121°C tokom 15 minuta, dok egzotoksin uništava temperatura od 100°C tokom 20 minuta.

Spore ovih klostridija se mogu naći u zemljištu, vodi, crevima čoveka i životinja. Germinacija i produkcija egzotoksina odvija se u namirnicama, povrću, voću, mesu, ribama, prerađevinama od mesa.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Opisano je 7 različitih egzotoksina koje izlučuju ove klostridije a obeležavaju se slovima od A-G, najčešće se javljaju tipovi C i D, koji su kodirani bakteriofagima. Toksini se razlikuju u potenciji, antigenosti i geografskoj distribuciji.

Botulizam je intoksikacija koja nastaje unosom toksina oslobođenih u namirnicama. Toksin se apsorbuje u digestivnom traktu i preko krvnih sudova transportuje do perifernih nerava, gde se vezuje za acetilholinske receptore, što rezultira flakcidnim paralizama glatke muskulature, a smrt nastupa zbog paralize disanja. Egzotoksin je izrazito potentan, 1mg neurotoksina sadrži 120 miliona MLD (*mouse lethal dose*).

Od botulizma oboljevaju najčešće vodene ptice, preživari, konji i živina. Karnivori su relativno otporni na infekciju, dok su svinje osetljive samo na toksin A.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za dijagnostiku neurointoksikacija najvažnije je dokazivanje toksina u hrani, sadržaju cekuma, ekstraktu organa, što se radi inokulacijom uzoraka belim miševima intraperitonealno i intravenozno. Smrt nastupa za nekoliko sati do 5 dana. Identifikacija različitih toksina radi se uz pomoć neutralizacionih testova sa polivalentnim i monovalentnim antitoksinima.

KONTROLA I PREVENCIJA

Vakcinacija životinja protiv tetanusa radi se isključivo u populaciji visokog rizika. Pasivni imunitet koji imaju novorođene životinje traje oko 3 meseca, nakon čega treba da se vakcinišu toksoidom (inaktivisani egzotoksin *Cl. tetani*), i revakcinišu u intervalima 1-5 godina. U slučaju tetanusne rane, hirurško

zbrinjavanje i upotreba penicilina može biti dovoljna u terapiji, odnosno sprečava značajniju produkciju toksina.

Tabela 31. Morfologija i kulturelne osobine najvažnijih patogenih klostridija

<i>Clostridium</i>	Morfologija	Spora	Kulturelne osobine	Kolonije/hemoliza
<i>perfringens</i>	1-1,5x4-8µm, pojedinačni, u paru, inkapsulisani, debeli	Ovalna subterminalna	Aerotolerantan	Okrugle do nepravilne, sjajne, sive, hemolitične
<i>novyi</i>	0,5-1,5x3-10µm, pokretni, pojedinačni, zaobljenih krajeva	Ovalna, subterminalna	Striktan anaerob, sporo raste	sivo-bele, hemolitične
<i>septicum</i>	0,6-1,0x3-8 µm, pokretni, dugi, filamentozni (10-30µm), zakrivljeni	Ovalna, subterminalna	Striktan anaerob, brzo raste	Izgled pamuka, hemolitične
<i>sordelli</i>	0,5-1,5x1,5-10µm, pokretni, pojedinačni ili u paru	Ovalna, centralna ili subterminalna	Striktan anaerob	Okrugle do nepravilne, sivkaste
<i>chauvoei</i>	0,6-1,5x0,3-8 µm, pleomorfn, pokretni, pojedinačni ili u kratkim lancima, zaobljenih krajeva	Ovalna, subterminalna	Striktan anaerob, sporo raste, zahteva krv i cistein	Kompaktne, sferične, sjajne, sivkaste, slabo hemolitične
<i>haemoliticum</i>	0,5-1,5x3-6µm, pokretni, pojedinačni, zaobljenih krajeva	Ovalna, subterminalna	Striktan anaerob, sporo raste	Lentikularne, vunaste, hemolitične
<i>difficile</i>	0,5-2,0x3,0-17µm, pokretni, pojedinačni ili u kratkim lancima	Ovalna, subterminalna	Zahteva specijalni krvni agar	Pljosnate do lako konveksne, sivkasto-bele
<i>botulinum</i>	0,5-1,5x3,0-20µm, pokretni, pojedinačni ili u paru, pravi ili lako savijeni	Ovalna, subterminalna	Striktan anaerob, vidljiv rast nakon 5 dana	Okrugle do nepravilne, pljosnate, sive, hemolitične
<i>tetani</i>	0,5-1,2x0-18µm, pokretni, pojedinačni, ravnih ivica, zaobljenih krajeva	Ovalna, terminalna	Striktan anaerob, sporo raste	Okrugle, pljosnate, sive, hemolitične

Anaerobni Gram-negativni štapići

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Anaerobni, Gram-negativni, asporogeni bacili, značajni za veterinarsku medicinu pripadaju rodovima: *Bacteroides*, *Dichelobacter*, *Fusobacterium*, *Prevotella* i *Porphyromonas*. Uglavnom su zajedno prisutni u digestivnom traktu ljudi i životinja a mogu se naći sa drugim bakterijama u mešanim infekcijama.

Bakteriološka dijagnoza zasniva se na izolaciji uzročnika iz kliničkog uzorka, a zbog prirodnog habitata mnogih oportunističkih vrsta, u podloge se moraju dodati antibiotici, najčešće kanamicin, vankomicin ili drugi inhibitori rasta.

Radi uspješnije izolacije, klinički uzorci treba da se dostave u laboratoriju u odgovarajućem transportnom medijumu, npr. *Cary-Blair* podlozi (transportna, polučvrsta podloga koja sadrži Na-tioglikolat, rezazurin i L-cistein).

Genus Bacteroides

Bakterije iz roda *Bacteroides* predstavljaju 50% svih izolata anaerobnih bakterija u veterinarskim klinikama. Većinom izazivaju infekcije mekih tkiva, apscese jetre i pluća, celulitis, peritonitis, piometritis, postoperativne infekcije rana i mastitis. Mogu se naći u digestivnom traktu životinja ljudi.

Najvažnije vrste i klinički značaj date su u tabeli 32.

Tabela 32. Najvažnije vrste *Bacteroides*-a i njihov klinički značaj

vrsta	klinički značaj
<i>B. fragilis</i>	neonatalna dijareja kod ždrebadi, teladi, prasadi, jagnjadi, jaradi; mastitis i abortus kod krava; apscesi kod pasa i mačaka
<i>B. asaccharolyticus</i>	osteomijelitis kod pasa, mačaka, konja, goveda
<i>B. levii</i>	mastitis kod krava

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Kao uzorak za postavljanje etiološke dijagnoze uzima se aspirat apscesa, peritonealna tečnost ili druge telesne tečnosti, bris rane, biopat organa, što zavisi od kliničke manifestacije oboljenja.

U direktnom mikroskopskom preparatu obojenom po Gramu, *Bacteroides spp.* je Gram-negativni, asporogeni bacil. Dužina se kreće od 2-5 μ m.

Kultivacija se može raditi na krvnom agaru u anaerobni uslovima. Diferencijacija izolata radi se na osnovu izgleda i pigmentacije kolonija i biohemijskih testova. Nakon inkubacije od 24h, u slučaju *B. fragilis* porastu prozračne, sive kolonije, glatkih ivica, prečnika 1-3mm. Retko se vidi β -hemoliza.

Kolonije *B. asaccharolyticus* su prečnika 0,5-1mm, svetlo sive, stajanjem postaju crne dok kod *B. levii*, kolonije su svetlo smeđe boje, stajanjem postaju tamno smeđe.

Najvažniji testovi za identifikaciju vrsta u okviru roda *Bacteroides* su produkcija indola, lipaze, ureaze, redukcija nitrata i fermentacija ugljenih hidrata.

Tabela33. Biohemijska identifikacija najvažnijih vrsta iz roda *Bacteroides*

supstrat	glukoza	manitol	laktoza	želatin	indol	20% žuč	pigment	eskulin
<i>B. fragilis</i>	+	-	+	-	-	-	-	+
<i>B. asaccharolyticus</i>	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>B. levii</i>	+		+	+	+	-	+	-

PREVENCIJA I KONTROLA

Većina vrsta *Bacteroides*-a je osetljiva na klindamicin i metronidazol, a moguća je rezistencija na tetracikline.

Genus *Dichelobacter*

Dichelobacter nodosus je jedini, za veterinarsku medicinu važan patogen u ovom rodu. Uzrokuje „truljenje nogu“ (interdigitalni dermatitis) kod ovaca a odgovoran je za interdigitalne infekcije kod goveda, svinja i koza. Virulentni sojevi proizvode dve ekstracelularne proteaze, iako njihova uloga još nije razjašnjena u patogenezi infekcije.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dichelobacter nodosus je veliki, pleomorfni, zakrivljeni, Gram-negativni štapić, u direktnom preparatu raspoređen pojedinačno ili u parovima.

Bakteriološka dijagnoza postavlja se kultivacijom na agaru sa 5% konjske krvi, uz dodatak 1µg tetraciklina ili eritromicina, u atmosferi 10%H₂, 10%CO₂ i 80%N₂. Kolonije su sivkasto-bele, dijametra 0,5-3mm. Mogu da imaju hrapavu, bradavičastu površinu (kod jako virulentnih izolata od ovaca) ili su mukoidne (kod manje virulentnih sojeva) ili su glatke (kod ponavljano presejavanja u laboratoriji).

Bakterija je biohemijski inertna, ne hidrolizuje eskulin, ne proizvode indol i ne razgrađuje ugljene hidrate, što je diferencira od roda *Bacteroides*.

PREVENCIJA I KONTROLA

Kombinacija penicilina i streptomocina je terapijski efikasna. Vakcinacija daje zaštitu kod 60-80% životinja.

Genus *Fusobacterium*

Bakterije iz roda *Fusobacterium* su deo normalne flore usne duplje i digestivnog trakta životinja i ljudi, a infekcije koje mogu izazvati su uvek endogene.

F. necroforum je vretenasta bakterija, koja dovodi do nekrotičnog stomatitisa, metritisa i mastitisa kod goveda. Tzv. „difterija goveda“ je infekcija usta, laringsa i traheje. Kod svinja se može javiti crevna infekcija, najčešće udružena sa *Brachyspira hyodysenteriae*. Takođe, *F. necroforum* može izazvati interdigitalni dermatitis kod ovaca i goveda, nekrobacilozu kod zečeva, i „difteriju“ kod ptica. *F. necroforum* je oportunistička bakterija, koja se razmnožava u predhodno oštećenim tkivima, pa se najčešće izoluje u mešanim infekcijama.

Druga značajna vrsta je *F. equorum*, koja se viđa kod infekcija donjeg respiratornog trakta u konja, uključujući nekrotičnu pneumoniju.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

U direktnim mikroskopskim preparatima vide se Gram-negativni, dugački, vretenasti štapići. Izolacija se radi na standardnim podlogama za anaerobe (krvni agar sa dodatkom antibiotika), u anaerobnim uslovima. Kolonije su sitne, žućkaste, mogu dati α i β -hemolizu.

Za brzu identifikaciju i diferencijaciju roda *Fusobacterium* od ostalih anaerobnih bakterija, služi ispitivanje osetljivosti na antimikrobne lekove. *Fusobacterium* je rezistentan na vankomicin a osetljiv na kolistin i kanamicin. Pod ultravioletnim svetlom daje karakterističnu fluorescenciju, ne produkuje katalazu i ne redukuje nitrate. Diferencijacija vrsta unutar roda, radi se na osnovu produkcije lipaze i rasta na podlogama sa 20% žuči.

KONTROLA I PREVENCIJA

Fusobacterium spp. je osetljiv na eritromicin, tetracikline, peniciline i sulfonamide. Postoji vakcina, bakterijski toksoid, koji se koristi za prevenciju interdigitalnog dermatitisa.

Genus *Prevotella* i Genus *Porphyromonas*

U genusu *Prevotella* su anaerobne, nepokretne, asporogene, asaharolitične bakterije, koje mogu biti pigmentisane ili nepigmentisane. Njihov rast inhibira 20%-tna žuč, ne redukuju nitrate i uglavnom su indol negativne. Više od 20 vrsta može se naći u usnoj duplji i gastrointestinalnom traktu ljudi i životinja. Jedna je od najvažnijih vrsta u digestivnom traktu preživala, gde igra važnu ulogu u iskorišćavanju polisaharida iz biljne hrane i metabolizmu proteina i peptida.

Prevotella melaninogenica se može izolovati iz supurativnih lezija najčešće udružena sa *Fusobacterium necroforum* i *Arcanobacterium pyogenes* u slučaju interdigitalnog dermatitisa kod goveda.

U genusu *Porphyromonas* takođe su anaerobne bakterije koje mogu biti pigmentisane i nepigmentisane, asaharolitične ili slabo saharolitične. Produkuju indol a ne redukuju nitrate. Opisano je 13 vrsta, a primarno se mogu naći u usnoj duplji i gastrointestinalnom traktu ljudi i životinja.

Porphyromonas levii je uzročnik „letnjeg mastitisa“ kod krava, kojeg najčešće uzrokuju *F. necroforum* i *Peptostreptococcus indolicus*.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Bakteriološka dijagnoza infekcija uzrokovanih ovim mikroorganizmima bazira se na anaerobnoj kultivaciji i identifikaciji. Oba roda zahtevaju za rast u hranljivoj podlozi hemin i K vitamin, a optimalna temperatura rasta je 37°C. Za izolaciju mogu da se koriste krvni agar sa antibiotcima (kanamicin, vankomicin), *Brucella* agar sa dodatkom hemina i K vitamina ili agar sa eskulinom i žuči.

Kolonije *Prevotella spp.* su okrugle, konveksne, sjajne, glatke, sive, svetlo smeđe ili crne boje. Mogu dati hemolizu. *P. melaninogenica*, daje kolonije prečnika 0,5-2mm, okrugle, sa tamnim centrom a prema ivicama su svetlo smeđe ili sive, stajanjem potamne.

Porphyromonas spp. na krvnom agaru daje konveksne, okrugle, sjajne kolonije, prečnika 1-3mm, uglavnom pigmentisane. Crni pigment se može pojaviti nakon 7-10 dana od započete inkubacije.

Brza dalja diferencijacija ova dva roda, može se dobiti ispitivanjem osetljivosti na antimikrobne lekove. Vrste iz roda *Prevotella* su rezistentne na vankomicin, kanamicin i varijabilne osetljivosti u odnosu na kolistin, dok je *Porphyromonas spp.* osetljiv na vankomicin, a rezistentan na druga dva leka.

PREVENCIJA I KONTROLA

Prevotella je osetljiva na klindamicin, ceftriakson i penicilin a *Porphyromonas spp.* osetljiv je na linkomicin, hloramfenikol cefaloridin. Ne postoji efikasna vakcina za prevenciju ovih infekcija.

Poglavlje
8

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus Mycoplasma
2. Genus Ureaplasma

Genus *Mycoplasma*

Šemso Pašić, vanredni profesor, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH

Mikoplazme su, do sada, najmanji poznati prokariotski mikroorganizmi koji su sposobni da se razmnožavaju samostalno (van žive ćelije). U prirodi se javljaju kao paraziti ljudi, životinja i biljaka. U većini slučajeva su ekstracelularni paraziti, najčešće mukoznih membrana. S obzirom na specifične karakteristike koje ih čine drugačijim od ostalih „klasičnih“ bakterija svrstane su u posebnu klasu *Mollicutes*. Zbog činjenice da većina vrsta roda *Mycoplasma* ima uravnotežen odnos sa domaćinom smatraju ih modelom „idealnih parazita“.

KLASIFIKACIJA

Termin mikoplazma označava predstavnike roda *Mycoplasma*, međutim često se koristi kao uobičajeni naziv za sve pripadnike klase *Mollicutes*. Pripadnost određenoj klasi i klasifikacija unutar nje temelji se na istim principima koji se primenjuju u sistematizaciji ostalih prokariota. Jedinствене karakteristike mikoplazmi bitne za njihovu klasifikaciju su totalno odsustvo ćelijskog zida i njihov odnos prema sterolima. Mikro- (ćelije) i makromorfologija (kolonije), nutritivne, biohemijske i serološke osobine, karakteristike ćelijskih proteina i nukleinskih kiselina te patogenost i vrsno specifična adaptacija na domaćina takođe spadaju u kriterijume za klasifikaciju mikoplazmi. Filogenetski, mikoplazme su, uz manje izuzetke dosta homogena grupa. U odnosu na ostale prokariote najrodnije su gram-pozitivnim bakterijama sa malim sadržajem guanina i citozina (tabela 32)

Tabela 33. Taksonomska pozicija i karakteristike predstavnika klase *Mollicutes*

Red i familija	Rod	potreba za sterolima	Karakteristike	Domaćin
Red <i>Mycoplasmatales</i> Familija <i>Mycoplasmataceae</i>	<i>G. Mycoplasma</i> <i>G. Ureaplasma</i>	+ +	Makromorfologija „jaje na oko“ Hidrolizuju ureu	životinje i ljudi
Red <i>Entomoplasmatales</i> Familija <i>Entomoplasmataceae</i> Familija <i>Spiroplasmataceae</i>	<i>G. Entomoplasma</i> <i>G. Mesoplasma</i> <i>G. Spiroplasma</i>	+ - +	Spiralni filamenti	insekti i biljke
Red <i>Acholeplasmatales</i> Familija <i>Acholeplasmataceae</i>	<i>G. Acholeplasma</i>	-	Makromorfologija: „uglavnom“ jaje na oko“	životinje, neke biljke i insekti
Red <i>Anaeroplasmatales</i> Familija <i>Anaeroplasmataceae</i>	<i>G. Anaeroplasma</i> <i>G. Asteroplasma</i>	+ -	Striktно anaerobni mikroorganizmi	burag ovaca i goveda

MORFOLOGIJA

Za mikoplazme je tipična morfološka karakteristika totalno odsustvo ćelijskog zida, zbog čega je klasa i dobila naziv *Mollicutes* (lat. *mollis*-mekan, *cutis*-koža). Zbog nedostatka ćelijskog zida proistekle su neke morfološke i fiziološke osobine tipične za ovu vrstu mikroorganizama. To su tipičan izgled kolonija („jaje na oko“), mada postoje i mikoplazme (*M.hypopneumoniae*, *M.flocculare*, *M.dispar*, *M.ovipneumoniae*) sa atipičnim izgledom kolonija, bez centralnog tamnijeg dela. Zbog nedostatka ćelijskog zida mikoplazme su rezistentne na antibiotike koji inhibiraju sintezu ćelijskog zida, prolaze kroz standardne bakteriološke filtre (filtrabilne) i stvaraju brojne morfološke forme ćelija (pleomorfizam). Od klasičnih bakterija su zbog toga osetljivije na fizikalno-hemijske uticaje.

Veličina ćelija mikoplazmi varira zavisno od vrste i oblika i u proseku se kreće od 0,3-0,8 μ m. Filamentozne forme mogu biti dužine 5-150 μ m, koje se nakon određenog vremena fragmentiraju u kokoidne oblike. Nedostatak ćelijskog zida uslovljava pleomorfizam, zbog čega ćelije mikoplazmi mogu imati čitav spektar morfoloških formi u različitim fazama rasta, čak i u čistoj kulturi (prstenaste, zvonaste, bipolarne, oblika utega, oglice, kokoidne itd.). Kratki filamentozni „mostići“ povezuju ćelije mikoplazmi što podseća na gljivice, pa naziv mikoplazma kovanica je od reči *Mykes*-gljivica, *plasma*-forma.

FIZIOLOŠKE KARAKTERISTIKE

Razmnožavanje mikoplazmi, u suštini, se ne razlikuje od ostalih prokariota. Najčešći oblik razmnožavanja je binarnom fisijom. Ukoliko deoba ćelija nije sinhronizirana sa replikacijom genoma, formiraju se filamenti ili velika loptasta tela koja se kasnije fragmentiraju u pojedinačne ćelije. Mikoplazme su uglavom nepokretne mada neke vrste ispoljavaju klizajuće ili rotirajuće kretanje čiji mehanizmi, još uvek, nisu poznati.

Genom mikoplazmi je višestruko manji od genoma klasičnih bakterija i kreće se u rasponu 600-2200bp. Tipičan za mikoplazme je i niži sadržaj guanina i citozina i u proseku se kreće od 24-33 mol%. Mala veličina genoma ima za posledicu umanjenu mogućnost biosinteze, zbog čega mikoplazme spadaju u mikroorganizme koje je vrlo teško izolovati iz kliničkog materijala. Veruje se da je zbog toga izoliran mali broj od vrsta koje se nalaze u prirodi. Za rast i razmnožavanje mikoplazmi neophodne su obogaćene i selektivne podloge koje uz odgovarajuće antibiotike (supresore kompetitivnih mikroorganizama) moraju sadržavati aminokiseline, nekleotide, masne kiseline i sterole, te brojne druge faktore rasta koje zahtevaju pojedine vrste, naročito patogenih mikoplazmi. I pored svega toga, izolacija mikoplazmi nije sigurna. Izolacija mikoplazmi iz kliničkog materijala rezultat je dobro izbalansiranih nutritivnih potreba, ambijentalnih uslova i iskustva. Potrebe za sterolima (faktor rasta) izražene su u većine vrsta mikoplazmi i nisu poznate kod bilo koje druge vrste mikroorganizama. Zbog

neefikasnog sistema deponovanja energije u obliku ATP-a mikoplazme zahtevaju veće količine izvora energije. To su najčešće ugljeni hidrati, naročito glukoza. Na osnovu sposobnosti fermentacije šećera sve vrste mikoplazmi se dele na fermentativne (glukoza-fermentirajuće) i nefermentativne vrste koje kao izvor energije koriste arginin (arginin-hidrolizirajuće).

Mada su prvenstveno fakultativno anaerobne, većina vrsta bolje raste u anaerobnoj sredini ili atmosferi obogaćenoj sa CO₂, naročito prilikom primarne izolacije iz kliničkog materijala. Makromorfološka karakteristika mikoplazmi je formiranje kolonija koje se sastoje od centralnog, tamnijeg dela koji urasta u podlogu i perifernog, svetlijeg dela koji se razvija na površini podloge. Zbog toga kada se ploče sa kolonijama mikroskopiraju u invertnom položaju kolonije izgledaju kao „jaje na oko“ (*fried egg*). Veličina kolonija može varirati u prečniku, ali su prosečno do 1mm. Optimalna temperatura rasta za vrste roda *Mycoplasma* je 37°C.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENOST

Zbog smanjenene mogućnosti biosinteze i osetljivosti na različite fizičko-hemijske agense, mikoplazme se u prirodi nalaze, isključivo, kao paraziti sisara, ptica, reptila, riba, artropoda i biljaka. Mikoplazme životinja su, pretežno, ekstracelularni paraziti, sa izraženim afinitetom za mukozne membrane. Patogene mikoplazme imaju izražen tropizam prema određenim tkivima ili organima, prvenstveno respiratornog i urogenitalnog sistema, mlečne žlezde, očima i zglobovima. Pored toga mikoplazme su strogo adaptirane na domaćina (domaćin specifične), pa se retko događa da ista vrsta mikoplazme izazove obolenja različitih životinja. Patogene vrste ne spadaju u kategoriju veoma virulentnih mikroorganizama zbog čega, najčešće, izazivaju hronična obolenja, od kojih su neka, ekonomski, izuzetno značajna. Za nastanak infekcije mikoplazmama bitni su predisponirajući faktori domaćina (disfunkcionalan imuni sistem) i sredine. Da je stanje imunog sistema domaćina jedan od ključnih faktora, dokaz su i neuspešne, eksperimentalne infekcije čak i sa sojevima mikoplazmi čija je patogenost (i virulencija) nesporna.

Pretpostavlja se da su faktori patogenosti mikoplazmi njihovi metabolički produkti, prvenstveno vodonik peroksid i superoksid radikali, koji su toksični za ćelije domaćina. Osnovni preduslov za kolonizuju i patogeno delovanje mikoplazmi je adhezija. Adheziju mikoplazmi za ćeliju omogućavaju organele kompleksne proteinske strukture poznate kao adhezini. Adhezini su veoma slični strukturnim proteinima ćelija sisara, što mikoplazmama omogućava antigenu (molekularnu) mimikriju, odnosno izbegavanje odbrambenih mehanizama imunog sistema organizma domaćina. Molekularna (antigena) mimikrija može dovesti do pojave autoimunih oboljenja koja prate mikoplazmoze, što je uočeno u ljudi sa primarnim respiratornim oboljenjem uzorkovanim sa *Mycoplasma pneumoniae*. Pored toga, patogeno delovanje mikoplazmi se odvija i preko njihovih enzima,

koji remete normalno funkcionisanje ćelija domaćina (nutritivna kompeticija) ili dovode do njihovog uništavanja. Mikoplazmoze životinja se karakterišu, uglavnom, hroničnim tokom bolesti, visokim morbiditetom i relativno niskim mortalitetom. Od do sada poznatih, mali broj vrsta mikoplazmi se smatra striktno patogenim. Većina vrsta predstavljaju komensale, koji pod određenim uslovima mogu delovati patogeno, kao primarni ili sekundarni uzročnici. Hroničan, subklinički ili klinički neuočljiv tok mikoplazmoza treba posmatrati i u kontekstu mikoplazmi kao „idealnih“ parazita. Naime, mikoplazme retko kada ubijaju svog domaćina. Žive sa njim u određenom stepenu ravnoteže. Međutim, u praksi često mogu da „pripreme teren“ bez kliničkih manifestacija za delovanje drugih vrsta patogenih mikroorganizama (bakterija i virusa). Zbog toga se često puta sekundarne infekcije, koje su obično klinički manifestne, proglašavaju primarnim.

Tabela. 34. Značajnije mikoplazme goveda

vrsta	oboljenja	distribucija
<i>M. bovis</i>	Pneumonija, mastitis, artritis, otitis, meningitis, abortus	U celom svetu
<i>M.mm</i> SC*	kontagiozna pleuroipneumonija	Afrika
<i>M. dispar</i>	Pneumonija	Evropa, Severna Amerika
<i>M. californicum</i>	Mastitis, pneumonija	Evropa, USA
<i>M. bovis genitalium</i>	Endometritis, neplodnost, poremećaji u spermiogenezi	Evropa, Severna Afrika, USA
<i>M. canadense</i>	Mastitis	Evropa, Severna Amerika
<i>M. bovirhinis</i>	Verovatno apatogena, može pogoršati pneumonije uzrokovane drugim mikoplazmama	U celom svetu
<i>M. bovoculi</i>	Infektivni keratokonjuktivitis	Evropa, Severna Amerika
<i>M. bovine</i> group 7	Mastitis, artritis	Australija, Švajcarska

**M.mm* SC: *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotip SC (Small Colony)

Tabela 35. Značajnije mikoplazme ovaca i koza

Vrsta	Patogeni efekat
<i>M. agalactiae</i>	MAKePS*, kontagiozna agalaksija
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	MAKePS, kontagiozna agalaksija
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>	kontagiozna pleuropneumonija
<i>M. conjunctivae</i>	konjuktivitis
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	MAKePS
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	MAKePS, kontagiozna agalaksija
<i>M. ovipneumoniae</i>	Pneumonija
<i>M. putrefaciens</i>	MAKePS, kontagiozna agalaksija

*MAKePS: mastitis, artritis, keratitis, pleuropneumonija, septikemija

Tabela 36. Značajnije mikoplazme ptica i živine

Vrsta	Patogeni efekat
<i>M. columbinasale</i>	Nedovoljno poznat
<i>M. columbinum</i>	Nedovoljno poznat
<i>M. columborale</i>	Nedovoljno poznat
<i>M. gallinarum</i>	Nedovoljno poznat
<i>M. gallisepticum</i>	Traheitis, sakulitis
<i>M. gallopavonis</i>	Lezije zračnih kesa
<i>M. meleagridis</i>	Sakulitis, sinovitis, artritis, peroza
<i>M. pullorum</i>	Nedovoljno poznat
<i>M. synoviae</i>	Infektivni sinovitis, artritis, respiratorne infekcije

Tabela 37. Značajnije mikoplazme svinja

Vrsta	Patogeni efekat
<i>M. hyopneumoniae</i>	Enzootska pneumonija
<i>M. flocculare</i>	Pneumonija (sporadično-blagog toka)
<i>M. hyorhinis</i>	Pneumonija (?), čest je kontaminant kultura tkiva
<i>M. hyosynoviae</i>	Negojni artritis

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Izolacija mikoplazme iz kliničkih uzoraka ne potvrđuje njen etiološki status, jer se ove bakterije mogu naći kod velikog broja zdravih životinja. Za potvrdu etiološke dijagnoze bolesti, uzorak mora biti uzet na samom početku infekcije a procesuiran za najviše 48 sati. Podloge za izolaciju mikoplazmi su kompleksne, treba da sadrže sterole, vitamine, aminokiseline i izvore DNA ili adenin dinukleotide. Penicilin ili ampicilin i talijum acetat, dodaju se za inhibiciju rasta kontaminenata u kliničkim uzorcima. Podloga mora biti puferisana na pH 7,3-7,8. Ne postoji idealna formulacija podloge za izolaciju mikoplazmi, zbog čega se paralelno zasejavaju čvrste i tečne podloge. Mikoplazme se najčešće kultiviraju na *Hayflick* podlozi. Ovo je obogaćena podloga koju čini PPLO agar (sadrži infuzum goveđeg srca, pepton, NaCl i agar). U ovu osnovnu podlogu dodaje se konjski serum, ekstrakt kvasca, penicilin i talijum acetat. Tečna podloga za izolaciju sadrži iste ingredijente, samo joj je ne dodaje agar (PPLO bujon). Inkubacija se radi na 37°C, a sićušne kolonije, prečnika 0,1-1,0mm, mogu se videti nakon 4-5 dana na malom uveličanju svetlosnog mikroskopa, uz prtvorenu blendu ili uz pomoć lupe. Imaju izled „jajeta na oko“, centar je uzdignut.

Za diferenciranje mikoplazmi od L-oblika bakterija (bakterije koje su privremeno izgubile ćelijski zid, najčešće zbog dugotrajne upotrebe antimikrobnih lekova) koristi se *Diene's* bojenje (metilensko plavo i azur II). Ovim bojenjem

dokazuju se steroli u ćelijskoj membrani mikoplazmi, kojeg nema kod L-oblika drugih bakterija. Kolonije mikoplazme ostaju plavo obojene zbog prisustva sterola, dok se u slučaju L-oblika, boja izgubi nakon 15 minuta.

Digitonin test služi za diferenciranje roda *Mycoplasma* od roda *Acholeplasma*, koji takođe sadrži sterole, ali je neosetljiv na digitonin. Ispitivanje se vrši uz pomoć diska natopljenog digitoninom, oko kojeg u slučaju mikoplazmi dolazi do inhibicije rasta bakterija.

Identifikacija vrsta može se raditi imunološkim metodama, upotrebom specifičnih hiperimunih seruma. Postoje komercijalni imunofluorescentni test (dokazivanje *M. hyopneumoniae* u plućima svinja pomoću monoklonskih antitela), imunodifuzioni test i imunoperoksidaza test. Imunohistohemijske metode se koriste za dokazivanje antigena u tkivima.

Serološke metode koriste se za monitoring kod živine i svinja. Za detekciju infekcija uzrokovanim *M. gallisepticum* i *M. synoviae* razvijeni su testovi aglutinacije, inhibicije hemaglutinacije i ELISA testovi, kao i komercijalni PCR testovi.

Hemotropne mikoplazme

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Eperythrozoon i *Haemobartonella* su bakterije bez ćelijskog zida, koje su zbog tintorijelnih osobina, obligatnog intracelularnog parazitizma, osjetljivosti na tetracikline i transmisije artropodama, ranije bile svrstane u red rikecija, familiju *Anaplasmataceae*. Novijim filogenetskim istraživanjima, analizom 16S rRNA genske sekvence i elektronskom mikroskopijom, utvrđeno je da su ovi hemotropni mikroorganizmi mnogo srodniji sa mikoplazmama nego sa rikecijama, pa je urađena reklasifikacija. Premeštene su u *Genus Mycoplasma*. Vrste *Eperythrozoon ovis*, *Eperythrozoon suis* i *Eperythrozoon wenyonii* su preimenovani u *Mycoplasma ovis*, *M. suis* i *M. wenyonii*. Ranije vrste *Haemobartonella spp.* takođe su reklasifikovane, pa su to sada *Mycoplasma haemofelis*, *M. haemocanis* i *M. haemomuris*.

Hemotropne mikoplazme su paraziti eritrocita. Elektronskim mikroskopom utvrđen je nedostatak ćelijskog zida, kokoidni oblik i veličina manja od 0,9µm. Razmnožavaju se binarnom deobom, rezistentne su na penicilin i ne mogu se kultivisati na veštačkim hranljivim podlogama.

U patogenezi infekcije najvažniju ulogu imaju bakterijski adhezini, koji dovode do oštećenja površine eritrocita i hemolizne anemije. U razvoju anemije učestvuju i autoimuni mehanizmi, jer se kod obolelih životinja mogu dokazati IgM antitela na sopstvene eritrocite ili na komplekse parazita i površinskih receptora na eritrocitima domaćina.

Mikroskopskim ispitivanjem krvnih razmaza obojenih Gimza metodom, mogu se videti mali, plavi ili ružičasti kokoidni štapići ili prstenaste strukture, dijametra 0,3-0,7µm, raspoređeni pojedinačno ili u lancima, na površini eritrocita.

Mikroskopsko ispitivanje ima ograničenu vrednost jer je parazitacija prolazna. Fluorescentno bojenje uz pomoć *akridine orange* ima veću osetljivost od Gimza bojenja.

Infekcije ovim parazitima su najčešće klinički inaparentne i perzistiraju godinama kod latentno inficiranih životinja. Uprkos terapiji, inficirane životinje su hronične kliconoše. Transmisija uzročnika može se odvijati preko artropodnih vektora kao što su buve, krpelji, komarci, vaši i muve.

Hemotropne mikoplazme inficiraju veliki broj životinja, uključujući i primat, a infekcija je opisana i kod ljudi.

Tabela 38. Hemotropne mikoplazme, obolenja koja izazivaju, klinički znaci i vektori

vrsta	oboljenje	klinički znaci	vektor
<i>M. ovis</i>	<i>eperytrozoonosis ovis</i> (kod ovaca i koza)	temperatura, anemija, kranijalni edem	komarci, mušice, <i>Melophagus ovinus</i>
<i>M. suis</i>	<i>eperytrozoonosis suis</i> , <i>icteroanemia</i>	akutna hemolitična ane- mija, kod prasadi iznenad- na smrt	komarci (<i>Aedes aegyptii</i>) muve (<i>Stomoxys cal- citrans</i>)
<i>M. wenyonii</i>	<i>eperytrozoonosis bovis</i>	većinom subklinički, blaga anemija, groznica, miozitis, edem skrotuma, gubice	krpelj, <i>Dermacentor spp.</i>
<i>M. haemocanis</i>	<i>haemobartonelosis</i> (infektivna anemija <i>pasa</i>)	uglavnom inaparentna, (la- tentne infekcije) retko ra- pidno progresivna anemija	krpelj, <i>Rhipicephalus sa- nquineus</i>
<i>M. haemofelis</i>	<i>haemobartonelosis</i> (infektivna anemija <i>mačaka</i>)	teška anemija, slabost	nepoznat, infekcija se prenosi oralno, ujednim ranama, ver- tikalna transmisija

LABORATORIJSKA DIJAGNOZA

Laboratorijaska dijagnostika infekcija hemotrofnim mikoplazmama zasniva se na mikroskopskom ispitivanju krvnih razmaza obojenih po Gimzi, u kojima se vide sitni, plavičasti ili ružičasti kokoidni štapići pojedinačni ili u lancima, ili prstenaste forme, dijametra 0,3-0,7 μ m, na površini eritrocita. Mikroskopski pregled je slabe osetljivosti jer je parazitacija prolazna. Osetljivija je tehnika imunofluorescentnog bojenja razmaza akridin orandžom.

Razvijeni su i serološki testovi indirektno hemaglutinacije i ELISA, ali još uvek nisu u komercijalnoj upotrebi.

Molekularna dijagnostika bazira se na rekombinantnim DNK probama i PCR testovima.

Genus *Ureaplasma*

Šemso Pašić, vanredni profesor, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH

OPŠTE OSOBINE

Bakterije iz ovog roda najčešće se nalaze na sluznicama respiratornog i urogenitalnog trakta ljudi i različitih vrsta životinja (goveda, ovce, koze, svinje, perad, psi, mačke, primati i većina divljih životinja). Tipičan predstavnik roda je *Ureaplasma urealyticum*, koja je uzročnik genito-urinarnih infekcija. Ureaplazme su opisane 50-tih godina prošlog veka kao „mikoplazme sa tankim zidom”. Osnovna razlika koja ih diferencira od roda *Mycoplasma* je hidroliza uree.

MORFOLOGIJA

Ćelijske forme u kulturama starim od 18-24 sata su okrugle ili kokobacilarne, oko 330 nm u prečniku. Međutim, različite (pleomorfne) forme mogu se uočiti u zavisnosti od soja, starosti kulture i metoda kultivacije. Nepokretne su, mikroaerofilne i Gram-negativne.

KULTURELNE I BIOHEMIJSKE OSOBINE

Podloge na kojima se radi kultivacija, moraju da sadrže ureu (faktor rasta), a zbog metaboličke aktivnosti ovih bakterija (hidrolize uree) dolazi do alkalizacije, te podloga za izolaciju pa mora biti dobro puferisana.

Kolonije su generalno male, promera 15-60 μ m. Imaju tipičan izgled „jajeta na oko“, mada u nekim slučajevima može da nedostaje svetliji periferni deo. Inkubacija traje 24-72 sata. Optimalna temperatura rasta je 37°C a pH vrednost podloge 6,0. Ukoliko se u podlogu doda mangan sulfat, ureaplazme proizvode smeđe kolonije.

Svi sojevi daju hidrolizu uree uz produkciju velike količine amonijaka (tipična karakteristika roda). Arginin i uobičajene ugljene hidrate ne metabolizuju.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Infekcije ureaplazmama dovode do signifikantnog pada produkcije prostaglandina (E_2 i F_{2a}) u ćelijama endometrijuma. Prostaglandini su neophodni za implantaciju oplodene jajne ćelije i održavanje gravidnosti. Ureaplazme su sposobne poremetiti stvaranje prostaglandina, verovatno, jakom aktivnošću enzima A_2 fosfolipaze. Fosfolipaza ureaplazmi otpušta velike količine arahidonske kiseline koja inhibira sintezu prostaglandina. Ovim mehanizmima objašnjava se uloga ureaplazmi u patologiji gravidnosti i steriliteta.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Serotipizacija izolovanih bakterija radi se pomoću imunofluorescentne i PCR tehnike.

Poglavlje
9

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Genus Rickettsia
2. Genus Coxiella
3. Genus Anaplasma
4. Genus Neorickettsia
5. Genus Ehrlichia
6. Genus Aegyptianella
7. Genus Chlamydia
8. Genus Chlamydophila

Ordo rickettsiales

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

U redu *Rickettsiales* nalaze se veoma sitne fakultativno intracelularne Gram-negativne bakterije. Rikecije poseduju RNK i DNK, raspolazu sopstvenim enzimskim sistemom i dele se prostom binarnom deobom. Čelijski zid im je sličan onom kod Gram-negativnih bakterija, ali pošto teško primaju anilinske boje, boje se po Romanovskom ili po Gimzi. U prirodnim uslovima nalaze se u artropodama u čijim intestinalnim ćelijama se i umnožavaju, a kod nekih vrsta prenose se transstadijalno i transovarijalno. Vrlo su osetljive na uticaj spoljašnje sredine, izuzev *Coxiella burnetii* koja je otporna jer stvara endospore. Prenose se preko artropoda, izuzev *Coxiella burnetii* koja se prenosi aerogeno. Većina rikecija osetljiva je na tetracikline.

Rikecije izazivaju oboljenja kod ljudi i nekih domaćih životinja.

MORFOLOGIJA I KULTURELNE OSOBINE

Rikecije su kokobacilarnog oblika veličine od 0,3-1,0 μ m, nisu pokretne i ne poseduju kapsulu. Rastu u aerobnoj sredini, a optimalna temperatura za razmnožavanje rikecija je 32-35°C i pH vrednost sredine 6,4-8,0. Većina rikecija za kultivaciju zahteva prisustvo živih ćelija i rastu i replikuju se u citoplazmi ćelija eukariota. *In vitro* se mogu da razmnožavaju u kulturi ćelija pilećeg embriona i na ćelijskim kulturama. Samo kod retkih izuzetaka mogu se kultivisati na uobičajenim hranljivim podlogama. Rikecije kao intacelularni paraziti pokazuju umerenu biohemijsku aktivnost.

ANTIGENSKA STRUKTURA

Sve rikecije sadrže grupno i tipski specifične antigene koji stimulišu stvaranje specifičnih antitela. Ovi antigeni se koriste i za identifikaciju rikecija u reakciji vezivanja komplementa.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Rikecije pokazuju snažan toksični efekat. Toksin je specifičan za vrstu rikecija i ima antigenska svojstva. *In vitro* pokazuje hemolitičku aktivnost prema eritrocitima kunića, ovna i kokoši. Rikecije ulaze u ćelije endotela putem aktivne endocitoze koja je posledica metaboličkih procesa rikecija. Rikecije izlaze iz fagolizozoma i umnožavaju se u citoplazmi ili u jedru. Replikacija bakterija ima za rezultat nekrozu endotelijajnih ćelija i zapaljenje krvnih sudova. Javljaju se hemoragije, edemi, tromboza i nekroza. *C. burnetii* se umnožava u fagolizozomu, zahvaljujući enzimskom sistemu adaptiranom na nisku pH, koja je u fagolizozomu manja od 5,0.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Najznačajnije vrste rikecija koje mogu izazvati infekciju kod domaćih životinja su *Rickettsia rickettsii* i *Coxiella burnetii*. Ostale vrste, interesantne za veterinarsku medicinu, prikazane su u tabeli 38.

Rickettsia rickettsii je uzročnik pegavog tifusa Stenovitih planina (*Rocky Mountain Spotted Fever*). To je teško infektivno oboljenje ljudi, a infekcija kod pasa registrovana je samo u endemskim područjima. Infekciju prenose krpelji iz roda *Ixodes*. Na početku bolesti izražena je visoka temperatura, anoreksija, povraćanje i proliv. Uočava se otok limfnih čvorova, a ukoliko su zahvaćeni srce i bubrezi završava se smrtnim ishodom. Bolest se javlja Americi.

Coxiella burnetii je uzročnik Q-groznice i nasuprot ostalim rikecijama nalazi se slobodno u prirodi, nije joj neophodan rezervoar i prenosi se aerogeno preko kontaminiranog aerosola.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Za dokazivanje uzročnika koristi se direktno dokazivanje u mikroskopskim preparatima iz materijala i nekoagulirane krvi. Ovi razmazi mogu se bojiti po Romanovskom i Gimzi. Za dijagnostiku se koristi i direktna i indirektna imunofluorescencija. Za kultivaciju se koriste žive ćelije, najčešće se primenjuju sedmodnevni kokošiji embrioni, kultura tkiva ili laboratorijske životinje (miš, zamorac). Sadržaj žumunčane kese, kultura tkiva ili uzorci uzeti od eksperimentalnih laboratorijskih životinja ispituju se direktnom imunofluorescencijom.

Specifična antitela u krvnom serumu inficiranih životinja dokazuju se 2-3 nedelje od infekcije, primenom reakcije mikroaglutinacije i reakcije vezivanja komplementa, a ispituju se parni uzorci seruma u razmaku od 14 dana radi procene stadijuma infekcije.

KONTROLA I PREVENCIJA

Rickettsia rickettsii je osetljiva na hloramfenikol i tetracikline. Kao obavezna mera radi se kontrola krpelja. Kod Q-groznice se primenjuje vakcinacija krava radi redukcije izlučivanja rikecija.

Tabela 38. Značajne vrste rikecija u veterinarskoj medicini

uzročnik	Glavni domaćin i raširenost	Prenošenje (vektori)	Bolesti i ćelije u kojima se nalaze rikecije
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Ljudi, psi. Zapadna hemisfera, posebno SAD	Endemski kod krpelja	pegavi tifus Stenovitih palanina kod čoveka. Krpeljska groznica kod pasa. Endotel krvnih sudova
<i>Coxiella burnetii</i>	Ljudi, goveda i mali preživari. Druge životinje mogu biti rezervoar. Rasprostranjena širom sveta	Agens u mleku, plodovim vodama preživara i prašini. Perzistira u krpelju	Q groznica kod čoveka: Povremeno abortusi, slabo potomstvo ili neplodnost kod papkara; rezervoari krpelji. Ćelije RES-a
<i>Ehrlichia canis</i>	Psi. Sev. i Juž. Amerika, Azija, Afrika, Karibi i Mediteran	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Erlihioza pasa. Uzročnik u limfocitima, monocitima, retko u neutrofilima
<i>Ehrlichia equi</i>	Konji. Samo SAD	Vektor nepoznat, krpelj	Erlihoza konja. Leukociti i endotelijalne ćelije
<i>Ehrlichia ondiri</i>	Goveda. Istočna Afrika	<i>Amblyomma</i> krpelj	goveda petehijalna groznica.
<i>Ehrlichia phagocytophila</i>	Goveda, ovce i divlji preživari, Engleska, Irska i Skandinavija	<i>Ixodes ricinus</i>	Krpeljska groznica. Mogući pobačaji. Uzročnik u granulocitima i monocitima
<i>Ehrlichia platys</i>	Psi. Sev. i Juž. Amerika, Azija, Afrika, Karibi i Mediteran	Vektor nije poznat	Pseća infektivna trombocitopenija. Obično subklinički. U trombocitima
<i>Ehrlichia risticii</i>	Konji. SAD i Evropa	Vektor nepoznat, sezonski, kasno proleće do rana jesen	Erlihioza konja (equine monocytic ehrlichiosis). Prisutna u monocitima.
<i>Cowdria ruminantium</i>	Domaći i divlji preživari. Afrika, Karibi	<i>Amblyomma spp</i> krpelj	Hidrops srca. Retikularne ćelije, neutrofilni i endotelijalne ćelije krvnih sudova
<i>Neorickettsia helminthoeca</i>	Psi, kojoti, lisice, medvedi i lasice. Obala Pacifika u SAD	losos	Trovanje lososom. Agens prisutan u lososu u metacerkarijama metilja. Retikuloendotelijalne ćelije, uključujući makrofage
<i>Agens Elkomin fluke groznice</i>	Psi, kojoti, lisice, medvedi i lasice. Obala Pacifika u SAD	losos	Groznica lososa (blaži oblik). Retikuloendotelijalne ćelije limfoidnog sistema
<i>Anaplasma marginale</i>	Goveda i drugi preživari. Tropski i subtropski krajevi	Krpelji, veterinarski instrumenti	Anaplazmoza (anaplazmoza goveda). Unutar eritrocita
<i>Anaplasma centrale</i>	Goveda i drugi preživari. Tropski i subtropski krajevi	Krpelji, veterinarski instrumenti	Blaga ili supklinična bolest. U eritrocitima
<i>Anaplasma ovis</i>	Ovce, koze ili jelen	Krpelj i drugi artropodi i veterinarski instrumenti	Retka i blaga bolest. Pretežno u eritrocitima
<i>Aegyptianella pullorum</i>	Živina. Južna Afrika Jugoslovena Azija i Mediteran	Krpelj kao što je <i>Argas persicus</i>	Aegyptianellosis. Agens u eritrocitima, leukocitima i mononuklearnim ćelijama.

Genus Coxiella***Coxiella burnetii***

Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Coxiella burnetii je rikecija koja spada u familiju *Coxiellaceae*, rod *Coxiella*, uzročnik je Q-groznice, zaraznog oboljenja životinja i ljudi. Rod *Coxiella* je morfološki sličan sa rodom *Rickettsia*, ali su prisustne genetske i fiziološke razlike. Za razliku od drugih rikecija može da preživi slobodno u prirodi, nije potreban prenosilac. Infekcija nastaje aerogeno, kontaminiranim aerosolom. Uzročnik je izolovan kod više od 125 vrsta sisara, ptica i artropoda. Q-groznicu je otkrivena do danas u više od 60 zemalja. Kod domaćih životinja protiče asimptomatski, a ako su prisutni klinički simptomi javljaju se u vidu pobačaja, reproduktivnih smetnji i bronhopneumonija.

MORFOLOGIJA

Coxiella burnetii je pleomorfni Gram-negativni mikroorganizam, javlja se najčešće u vidu bacila, 0,3-0,5 μ m dužine i 0,1-0,2 μ m širine, eliptičan ili pravilan, ponekad u obliku koka, ali sitniji od ostalih rikecija. Ne poseduje kapsulu ni flagele.

KULTURELNE OSOBINE

Coxiella burnetii je obavezni intracelularni mikroorganizam. Razmnožava transferzalnom deobom u vakuolama citoplazme. Dobro se razmnožava u kokošijim embrionima i različitim vrstama kultura ćelija. Pokazuje izraženu biohemijsku aktivnost, pri čemu je piruvat primarni izvor energije. Pokazuje visoku otpornost prema fizičkim i hemijskim agensima, za razliku od drugih rikecija i većine nesporulirajućih mikroorganizama. U osušenom materijalu može preživeti i do godinu dana.

ANTIGENSKA GRAĐA

Coxiella burnetii ima dve serološke faze, faza I i faza II, koje se i morfološki razlikuju. U prirodi se nalazi u fazi I kod inficiranih životinja i virulentna je, dok u laboratorijskim uslovima posle većeg broja pasaža na kokošijim embrionima prelazi u fazu II. Ove fazne varijacije imaju za posledicu promene antigenih svojstava, stepena patogenosti, imunogenosti, rezistencije na fagocitozu i nekih drugih svojstava. Moguć je prelazak iz faze II u fazu I, pasažom preko prijemčivih laboratorijskih životinja. *Coxiella burnetii* poseduje jedan termostabilni lipopolisaharidni antigen. Nakon infekcije sa *Coxiella burnetii* ostaje višegodišnji i humoralni i ćelijski imunitet.

FAKTORI VIRULENCIJE I PATOGENEZA

Coxiella burnetii ispoljava poseban tropizam za ćelije retikoloendotelnog sistema. Iz primarnog žarišta, što su najčešće pluća, dolazi u krv (rikecijemija), a zatim naseljava različite organe. U ovom stadijumu infekcije životinje mogu ispoljavati kliničke simptome (povišena temperatura, inapetencija), dok se u daljem toku infekcije oboljenje uglavnom klinički ne manifestuje.

C. burnetii je svrstana među najinfektivnije poznate mikroorganizme kad su u pitanju infekcije kod ljudi, jer je za nastajanje infekcije potrebna mala infektivna doza.

C. burnetii ulazi u ćelije endotela putem aktivne endocitoze koja je posledica metaboličkih procesa rikecija. Umnožava se u fagolizozomu, zahvaljujući njenom enzimskom sistemu adaptiranom na nizak pH, koja je u fagolizozomu manja od 5,0. Replikacija koksijela ima za rezultat nekrozu endotelijalnih ćelija i uzrokuje zapaljenje krvnih sudova, pa se javljaju hemoragije, edemi, tromboza i nekroza.

KLINIČKA SLIKA I EPIZOOTIOLOGIJA

Q-groznica je veoma rasprostranjena zoonoza, a rezervoari su divlje i domaće životinje i krpelji. Infekcija nastaje aerogeno preko infektivnog aerosola. Jedna od osnovnih osobina *C. burnetii* je njena visoka rezistencija. U životinjskim sekretima i ekskretima može ostati infektivno sposobna nedeljama, mesecima pa i preko godinu dana. Ekstremna otpornost ovog mikroorganizma na faktore spoljašnje sredine i mala infektivna doza omogućuju da su između rezervoara i osetljive populacije poznati brojni putevi transmisije. Javlja se kod goveda, ovaca i konja, ređe kod drugih vrsta životinja. To je asimptomatska infekcija ili je hroničnog toka. Nakon partusa oslobađa se velika količina uzročnika, i to predstavlja rizik za druge životinje i ljude koji su profesionalno izloženi infekciji. *Coxiella burnetii* se izlučuje i preko mleka. Posmatrano sa kliničkog i ekonomskog aspekta koksijeloza nije zanemarljiv problem u veterinarskoj medicini. Registrovani su pobačaji u ovaca, goveda i koza, a prisutne su i druge reproduktivne smetnje, mastitis i slabo vitalan podmladak.

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOZA

Dijagnoza se može postaviti direktnim dokazivanjem koksijela u ispitujućim uzorcima metodom imunofluorescencije. Za dokazivanje *C. burnetii* u mleku krava primenjuje se kapilarni aglutinacioni test (CAT), koji je ocenjen kao pouzdan i siguran metod. Za dokazivanje *C. burnetii* u mleku, delovima posteljice (kotiledoni) i tkivima pobačenih fetusa koriste se laboratorijske životinje, najčešće zamorac i miš. *C. burnetii* se može izolovati iz suspektnog materijala preko kokošijih embriona i kulture tkiva. Danas se primenjuje *capture-ELISA* (enzimski imunofluorescentni metod) za dokazivanje *C. burnetii* u mleku krava.

Od seroloških metoda koristi se metod mikroaglutinacije, reakcija vezivanja komplementa, ELISA-metod, za fazu I i fazu II *C. burnetii*.

KONTROLA I PREVENCIJA

U suzbijanju i sprečavanju Q-groznice opštim preventivnim merama teško je postići zadovoljavajuće rezultate, a specifična prevencija nije adekvatno rešena u čitavom svetu. Velika otpornost koksijela u spoljašnjoj sredini i različita epidemiologija imaju za posledicu da je saniranje endemskog žarišta gotovo nemoguće. U programu mera protiv Q-groznice kod goveda i ovaca predlažu se serološka ispitivanja i vakcinacija životinja. Vakcinisane životinje se smatraju nezaraženim, bez obzira na visinu titra specifičnih antitela.

Sistematska kontrola mleka primenom CAT-testa predlaže se kao adekvatna mera u borbi protiv Q-groznice. Pozitivni reaktori se odstranjuju iz zapata, a kod preostalih grla u zapatu potrebno je vršiti stalnu kontrolu. Mleko krava koje su serološki pozitivne treba obavezno pasterizovati.

Kod ljudi se u terapiji koristi tetraciklin ili doksiciklin, koji ublažavaju simptome bolesti i smanjuju rizik za nastajanje hronične infekcije. Kombinacija eritromicina i rifampicina je vrlo efikasna u lečenju i prevenciji bolesti kod ljudi, a u nekim državama i regionima primenjuje se i vakcinacija ljudi profesionalno izloženih riziku.

Familija Anaplasmataceae

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

OPŠTE OSOBINE

Ovo je familija je nedavno genetskim metodama reklasifikovana na bazi 16S rRNA genske sekvence, tako da danas spada u α -*Proteobacteria* sa četiri roda: *Anaplasma*, *Neorickettsia*, *Ehrlichia* koji se viđaju kod sisara i *Wolbachia* koji parazitira kod artropoda.

Kao obligatni intracelularni paraziti, anaplazme se razmnožavaju unutar citoplazmatske vakuole u ćelijama domaćina, kao što su eritrociti, retikuloendotelijalne ćelije, kosna srž. Većina vrsta ima i prelazne domaćine, najčešće krpelje.

Genus Anaplasma

MORFOLOGIJA

Anaplasma spp. su aerobne, katalaza pozitivne, Gram-negativne, male kokoidne ili elipsoidne bakterije, koje žive unutar citoplazmatske vakuole mijeloidnih ćelija, neutrofila i eritrocita periferne krvi ili u tkivima sa mononuklearnim fagocitima. Mikroorganizam se viđa pojedinačno ili u vidu kolonije, u formi „*morule*“ i boji se ružičasto po *Giemsa* metodi. Biološki vektori su najčešće krpelji.

KLINIČKA SLIKA I EPIDEMIOLOGIJA

Anaplasma marginale je primarni uzročnik anaplazmoze kod goveda. Infekciju prenose hematofagni krpelji iz rodova *Boophilus*, *Dermacentor*, *Ixodes* i *Rhipicephalus*, tokom hranjenja na osetljivom domaćinu. Inficirani preživari su stalni rezervoar infekcije. U kliničkoj slici dominiraju anemija, icterus i hepatosplenomegalija. Bolest se viđa kod goveda starosti preko jedne godine.

LABORATORIJSKA DIJAGNOZA

Anaplasma marginale vidi se u krvnim razmazima obojenim *Giemsa* metodom. Infekcija se ne može dokazati u prvih nekoliko nedelja infekcije, pa se za ranu dijagnostiku, koriste molekularne, PCR metode. Serološke metode uključuju reakciju vezivanje komplementa i ELISA tehniku.

Anaplasma ovis uzrokuje anemiju kod ovaca i koza, a nije infektivna za goveda. Od predhodne vrste razlikuje se genetski, dok su joj fenotipske osobine iste.

KONTROLA I PREVENCIJA

Kontrolne i preventivne mere uključuju uklanjanje pozitivnih životinja sa farme, primenu tetraciklina, vakcinacije, kontrolu vektora i dobru higijenu.

Genus *Neorickettsia*

Neorickettsia helminthoeca uzrokuje „salmon poisoning disease“, trovanje hranom kod kanida, najčešće pasa, koje je posledica konzumacije lososa inficiranog trematomom *Nanophyetus salmonicola*. Losos je drugi prelazni domaćin ove nematode, a u njegovoj muskulaturi, bubrezima i oku, nalaze se infektivni oblici metilja-metacerkarije. Bakterija je stalno prisutna u metiljima i zajedno se prenose u ciklusu razvoja trematode. Ovo je jedini primer bakterije koja se prenosi helmintima, a infekcija se održava u lancu ishrane mesojeda. Infekcija metacerkarijama kod pasa dovodi do razvoja adulta u crevima nakon 6 dana. Psi izbacuju jaja, iz njih se oslobađa miracidijum, koji ulazi u stopalo puža, prvog prelaznog domaćina, u kojem se razvijaju larve-cerkarije. Cerkarije se oslobode i kroz kožu penetriraju u muskulaturu ribe i u njoj se razvijaju u metacerkarije.

Precizan mehanizam infekcije neoricketcijom još nije upotpunosti rasvetljen, ali vrlo brzo nakon konzumacije inficiranog lososa nastupa hemoragični enteritis kod psa. Bakterija se širi limfogeno u jetru, slezinu, pluća, mozak i timus. Smrtnost je do 90%.

Neorickettsia helminthoeca razmnožava se u citoplazmi makrofaga, formirajući morule. Pojedinačne bakterije mogu se naći u citoplazmi, imaju izgled kokobacila, manjih od 0,5µm, a mogu se videti u mikroskopskom preparatu obojenom *Giemsa* metodom.

LABORATORIJSKA DIJAGNOZA

Dijagnoza neorikecioze kod pasa može se postaviti nalazom jaja trematode u fecesu ili neorikecija u aspiratu limfnog čvora. Za izolaciju, radi genetičkih i antigenskih analiza, se mogu koristiti kontinuirane ćelijske linije, monociti i leukociti pasa, mišji limfoblasti i makrofagi.

KONTROLA I PREVENCIJA

Ova bakterija je osetljiva na penicilin, tetracikline, hloramfenikol i sulfonamide. Najbolja prevencija je termička obrada ribljeg mesa.

Genus Ehrlichia

OPŠTE OSOBINE

Erlihije su pleomorfne, kokoidne intracelularne bakterije, koje parazitiraju u mononuklearnim i polimorfonuklearnim leukocitima i endotelijalnim ćelijama. Unutar ćelija formiraju kolonije „morule“, manje od 4µm u prečniku, koje su satavljene od „elementarnih telašaca“, prečnika oko 1µm, a koji se mogu videti u razmazima obojenim *Giemsa* metodom.

Infekcija se prenosi krpeljima. Definitivna dijagnoza teško se postavlja jer hematološke abnormalnosti nisu specifične. Razvijeni su različiti serološki testovi, najviše se koristi imunofluorescencija, a najpouzdaniji su PCR i sekvencioniranje genoma, koje se odnedavno koristi.

U rodu se nalaze 4 vrste značajne za veterinarsku medicinu.

E. canis, čiji je tipski domaćin pas, a prenosi je krpelj *Rhipicephalus sanguineus*.

E. chaffeensis uzrokuje humanu monocitnu erlihiozu, a viđa se kod pasa i koza. Primarni artropodni vektori su krpelji *Amblyomma americanum* i *Dermacentor variabilis*.

E. ewingii, je uzročnik granulocitne erlihioze kod pasa, a morule se nalaze u neutrofilima.

E. (Cowardia) ruminatum, izaziva „heartwater disease“ kod preživara, koja se manifestuje perikardijalnom efuzijom, krvarenjima, hepatosplenomegalijom. Ova se erlihija može naći kao mali, pleomorfni, kokoidni ili elipsoidni mikroorganizam u citoplazmi endotelijalnih ćelija. U razmazima obojenim po *Giemsa*-i vide se brojni (više od 50) tamno-plavi mikroorganizmi, dimenzija 0,2-0,5µm. Primarni vektor je krpelj *Amblyomma spp.*

LABORATORIJSKA DIJAGNOZA

Dijagnoza erlihioze se postavlja mikroskopskim pregledom razmaza krvi ili drugih tkiva (limfni čvor, mozak) koji se boje po *Giemsa*-i, ili serološkim metodama, najčešće imunofluorescentnim testom.

Genus *Aegyptianella*

Aegyptianella pullorum je intraeritrocitarna bakterija koja dovodi do anemije i dijareje kod živine. Vektori su krpelji iz roda *Argas*. Dijagnoza se postavlja pregledom krvnog razmaza obojenog po *Giems*a-i. Unutar eritrocita, vide se ružičasti do crvenkasti, sferični ili prstenasti oblici, intracitoplazmatske inkluzije, veličine oko 4 μ m. U svakoj se nalazi više od 25 telašaca, koja se razmnožavaju binarnom deobom.

Genara *Chlamydia* i *Chlamydophila*

Šemso Pašić, vanredni profesor, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH

Hlamidije su obligatni intracelularni paraziti koji pripadaju bakterijskom redu *Chlamydiales*. Ovaj red se prema aktuelnoj klasifikaciji sastoji od četiri porodice, od kojih je najvažnija familija *Chlamydiaceae*, sa dva roda: (tabela 39).

Tabela 39. Klasifikacija reda *Chlamydiales*

Red: <i>Chlamydiales</i> Porodica: <i>Chlamydiaceae</i>	
Rod: <i>Chlamydia</i>	Rod: <i>Chlamydophila</i>
Vrste: <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Chlamydia muridarum</i> <i>Chlamydia suis</i>	Vrste: <i>Chlamydophila* pecorum</i> <i>Chlamydophila* pneumoniae</i> (ima tri biovarietea patogena za ljude, konje i koale) <i>Chlamydophila psittaci</i> <i>Chlamydophila abortus</i> (poznata kao <i>Chlamydia psittaci</i>) <i>Chlamydophila caviae</i> <i>Chlamydophila felis</i>

* (pre se koristio naziv *Chlamydia*)

MORFOLOGIJA

To su kokoidni mikroorganizmi sa obligatnim, intracelularnim načinom razmnožavanja unutar citoplazmatskih vakuola. Karakteriše ih transformacija od malih infektivnih formi sa rigidnim ćelijskim zidom (elementarna tela) u velike neinfektivne oblike sa fleksibilnim omotačem-zidom (retikularna tela). Retikularna tela se dele fisijom do malih infektivnih formi. Elementarna tela preživljavaju ekstracelularno i infektivna su za nove ćelije domaćina. Metabolički, prvenstveno energetski, su u odnosu na klasične bakterije, limitirane zbog čega im je za razmnožavanje neophodna živa ćelija. Elementarna tela su 0,2-0,4 μ m u prečniku, okružena čvrstim troslojnim ćelijskim zidom. Retikularna, velika tela su dimenzija 0,6-1,5 μ m. Gram-negativne su. Ćelijski zid im je u strukturi i

hemijskom sastavu sličan Gram-negativnim bakterijama, uz izuzetak muramične kiseline koje nema, ili je prisutna u tragovima.

Uzrokuju različita obolenja ljudi, ostalih sisara i ptica. Mogu se razmnožavati u laboratorijskim životinjama, žumančanoj kesi kokošjih embriona ili u ćelijskim kulturama,

Patogeni značaj u odnosu na vrstu domaćina dat je u tabelama 40 i 41.

Tabela 40. Patogenost *Chlamydia* spp.

Vrsta	Domaćin	Kliničke manifestacije
<i>Chlamydia trachomatis</i> : -izolovana samo iz ljudi -sadrži dva biovarijeteta: biovarijetet trachoma (sadrži 14 serovarijeta) biovarijetet limfogranuloma venereum (4 serovarijeta)	Čovek	Očne smetnje: trahom i inkluzioni konjuktivitis novorođenčadi Genitalni sistem: negonokokni uretritis, salpingitis, cervicitis, epididimitis Respiratorne bolesti dece Proktitis Lymphogranuloma venereum arthritis
<i>Chlamydia suis</i> (ranije <i>C. trachomatis</i>)	Svinja	Konjuktivitis Enteritis Pneumonija Asimptomatske infekcije (najčešće)
<i>Chlamydia muridarum</i> (ranije <i>C. trachomatis</i>)	Miš, hrčak	Asimptomatske infekcije, sporadično pneumonije u miša

Tabela 41. Patogenost *Chlamydophila psittaci*

Domaćin	Kliničke manifestacije
Čovek (zoonoza)	psitakoza (ornitoza), pobačaj, konjuktivitis
Sisari	Crevne infekcije i proliv Gastritis Pneumonija Enzootski pobačaj ovaca, pobačaj goveda Infekcije genitalnog sistema Mastitis Poliartritis/poliserozitis Sporadični encefalomijelitis goveda Hepatitis Konjuktivitis Mačji pneumonitis
Ptice	Pneumonija i upala zračnih kesa, perikarditis, encefalitis, konjuktivitis, crevne infekcije i proliv, prenosi se transovarijalno (zaražena jaja)

Laboratorijska dijagnoza

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Infekcija hlamidijama može se dijagnostikovati citološki, serološki, kultivacijom i direktnim dokazivanjem antigena molekularnim metodama ili imunohistohemijskim metodama.

Giemsa, Gimenez i Macchiavello bojenje koriste se za citološko pretraživanje razmaza u kliničkom uzorku. Inkluzije hlamidija su tamno ljubičasto obojene po Gimzi, a crvene, pomoću ostale dve metode. Citološko ispitivanje nije pokazalo zadovoljavajuću osetljivost u slučajevima hronične i perzistentne infekcije.

Serološke metode, ELISA, RVK i lateks aglutinacija takođe nemaju dijagnostički značaj, jer pozitivan serološki nalaz i visok titar antitela imaju uzorci kod perzistentne infekcije.

Kod ptica, aglutinacija je najčešće korišćena metoda, jer se njome dokazuju IgM antitela što je indikativno za akutnu infekciju.

Kao obligatni intracelularni parazit, hlamidije se ne mogu kultivisati na veštačkim hranljivim podlogama. Mogu se izolovati u embrionisanim kokošijim jajima, ali se sve više kultivišu na kontinuiranim ćelijskim kulturama, HeLa 29 ili *McCoy*. Na njima hlamidije daju intracitoplazmatske inkluzije nakon 48-72 sata, koje se vide nakon bojenja po Giemsa, Gimenez i Macchiavello-u.

Za diferenciranje različitih vrsta koriste test imunofluorescencije, a koriste se grupno specifični fluorescentni konjugati.. Test direktne imunofluorescencije i ELISA testovi se najčešće koriste za dokazivanje antigena u kliničkim uzorcima.

Molekularne metode uključuju komercijalne testove, nukleinskih proba i PCR metode. Ovi su testovi manje osetljivi od izolacije na ćelijskoj kulturi, ali imaju specifičnost preko 90%.

Imunohistohemijske metode koriste se za dokazivanje hlamidija u bioptatima ili fiksiranom tkivu nakon nekropsije.

PREVENCIJA I KONTROLA

Opšte sanitarne mere važne su u prevenciji hlamidioze kod ptica. Hlamidije su osetljive na većinu dezinfekcionih sredstava. Ne postoji komercijalna vakcina za živinu koja bi dala zadovoljavajući protektivni efekat. Kontrola širenja infekcija podrazumeva izolaciju obolelih ptica i preventivnu upotrebu tetraciklina. U upotrebi je komercijalna vakcina za enzootski abortus kod ovaca, a prevencija se radi i davanjem tetraciklina gravidnim ovcama. Kod goveda se za kontrolu encefalomijelitisa može koristiti tetraciklin i tilozin.

Poglavlje
10

SADRŽAJ POGLAVLJA

1. Fungi uzročnici površinskih mikoza
2. Fungi uzročnici supkutanih mikoza
3. Fungi uzročnici sistemskih mikoza
4. Oportunistički fungi
5. Fungi producenti mikotoksina
6. Fungima slični mikroorganizmi

Fungi (Mykes)

Šemso Pašić, vanredni profesor, Veterinarski fakultet, Sarajevo, BiH

FILOGENEZA I SISTEMATIKA FUNGA

Smatra se da ima oko 1.500.000 vrsta funga. Godišnje se registruje oko 1.700 novih vrsta, što je značajno više u odnosu na broj drugih vrsta otkrivenih organizama (bakterija i virusa). Većina novootkrivenih vrsta funga izolovana je iz biljnih materijala, insekata, drugih funga i zemljišta. Među novootkrivenim, određeni procenat njih se pokaže medicinski značajnim.

Fungi su svrstani u tri carstva: *Chromista*, *Fungi* i *Protozoa*. Carstvo *Chromista* se ponekad naziva i *Heterokonta*. Uglavnom sadrži jednoćelijske, većinom fotosintetičke organizme koji, najčešće, u svom sastavu nemaju hitin i β -glukane, ali većina sadrži celulozu. Ovi fungi se često nazivaju i pseudofungi ili *Pseudomycotina*. Samo dve vrste iz ovog carstva su medicinski značajne: *Pythium insidiosum* i *Rhinosporidium seeberi*.

Carstvo *Funga* sadrži organizme koji ustvari predstavljaju prave funge. U upotrebi je i naziv *Eumycota*. To su nefotosintetički organizmi koji se, u pravilu, hrane osmotrofično. Čelijski zid sadrži hitin i β -glukane. Mogu biti jednoćelijski, ali su uglavnom filamentozni i sastoje se od višćelijskih haploidnih hifa. Mogu biti saprofiti, mutualisti i paraziti. Većina ih je u intimnoj asocijaciji sa drugim organizmima: biljkama, drugim fungima, algama, lišajevima, cijanobakterijama, insektima i kičmjenjacima, uključujući čoveka. Izrazito bogastvo vrsta je razlog njihove adaptacije na brojne domaćine i supstrate. Stepem „specijalizacije“-koevolucije prema domaćinu i supstratu izrazito varira prema vrstama. Mnoge vrste biljaka „nose“ celi spektar različitih vrsta funga. Šećerna trstika je npr. domaćin za oko 200 vrsta. Svaka biljna vrsta je domaćin za, prosečno, 6 vrsta funga. Osim toga, fungi su pratioci delatnosti kao što su građevinarstvo, tekstilna, drvna i slične industrije, prehrambena (proizvodnja piva, vina, peciva) i farmaceutska industrija. Carstvo *Protozoa* čine jednoćelijski, fagotrofični organizmi. Zbog posedovanja hloroplasta neke vrste su fotosintetičke.

Smatra se da su fungi evoluirali od protozoa. Molekularna ispitivanja su pokazala da su fungi, uz prisustvo hitina i nedostatak hloroplasta bliže životinjama (*Animalia*) nego biljkama (*Plantae*). Carstvo *Funga* čine četiri divizionu: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota* i *Zygomycota*. Klasična, morfološka osobina *Ascomycota* su askusi - vrećicama slične strukture različitog stepena kompleksnosti građe. Stoga je struktura askusa značajnija u identifikaciji redova i familija, nego što su to plodna tela. Ovo su potvrdila molekularna i mikroskopska ispitivanja. *Basidiomycota* su filogenetski bliža divizionu *Ascomycota* od ostala dva divizionu (*Chytridiomycota* i *Zygomycota*) unutar carstva *Funga*. Predstavci ovog divizionu karakterišu se, uglavnom, egzogenim stvaranjem spora na bazidiumu, nakon mejoze. Ovaj divizion čine najvećim delom pečurke (*mushroom*), kao i gareži *Uredinales* i *Ustilaginales*. Neke vrste bazidiomicetnih kvasaca značajni

su u medicinskoj mikologiji. Divizion *Chytridiomycota* je poseban po tome što ga čine jednoćelijski organizmi, zoospore sa flagelama i vrlo retko micelijske forme. Primarno su paraziti algi slatkih voda i povremeno bezkičmenjaka i hitrida. Od oko osam stotina, do sada, poznatih vrsta nijedna nije medicinski značajna. Za razliku od *Chytridiomycota*, fungi divizona *Zygomycota* su filamentozni. U odnosu na *Ascomycota* i *Basidiomycota* hife zigomicetnih funga nemaju pregrade (septa), osim u fazi reprodukcije. Ovaj divizion sačinjava oko hiljadu vrsta. Većina su saprobi u izmetu, neki žive u spoljašnjoj sredini, a neki su paraziti insekata. Samo nekoliko vrsta, raspoređenih u deset rodova medicinski su značajne.

Tabela 41. Pojednostavljena taksonomska šema većine medicinski značajnih funga.

Taksonomska pozicija	Reprezentativni rodovi	Oboljenja
Red: <i>Mucorales</i>	<i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Saksenaea</i>	Oportunističke infekcije u pacijenata sa dijabetesom, leukemijom i pothranjenošću, rinocerebralne infekcije
Red: <i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolus</i> , <i>Conidiobolus</i>	Zigomikoze, potkožne infekcije
Red: Endomycetales	<i>Saccharomyces</i> spp., <i>Pichia</i> sp., neke vrste roda <i>Candida</i>	Brojne mikoze
Red: <i>Onygenales</i>	<i>Arthroderma</i> , <i>Trichophyton</i> i <i>Microsporum</i> spp., <i>Ajellomyces</i> , <i>Histoplasma</i> i <i>Blastomyces</i> spp.	Sistemske mikoze
Red: <i>Eurotiales</i>	Neke vrste rodova <i>Aspergillus</i> i <i>Penicillium</i>	Aspergiloze, hialohifomikoze
Red: <i>Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystis</i>	Pneumonija
Podklasa: <i>Holobasidiomycetidae</i>	<i>Amanita</i> , <i>Agaricus</i>	Trovanje gljivama nakon konzumacije otrovnim vrstama, naročito <i>Amanita</i> spp.
Red: <i>Filobasidiales</i>	<i>Filobasidiella</i> , <i>Cryptococcus</i>	Kriptokokoza
Red: <i>Cryptococcales</i>	<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Malassezia</i>	Brojne mikoze
Red: <i>Moniliales</i>	<i>Epidermophyton</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Paracoccidioides</i> , <i>Sporotrix</i> , <i>Aspergillus</i>	Brojne mikoze
Familija: <i>Dematiaceae</i>	<i>Phialophora</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Alternaria</i>	Hromoblastomikoze, micetomi, feohifomikoze
Red: <i>Sphaeropsidales</i>	<i>Phoma</i>	Feohifomikoze

STRUKTURA I MORFOLOGIJA FUNGA

Fungi su nefotosintetički, eukariotski organizmi, poseduju ćelijski zid koji naleže na plazmatsku membranu. Ćelijski zid je važan za održavanje oblika ćelije, a sprečava njenu destrukciju kada se nađe u sredini sa niskim osmotskim pritiskom. Razlike u načinu sinteze ćelijskog zida imaju glavnu ulogu u određivanju oblika

kao i načina rasta i razmnožavanja. S obzirom da su eukariotski organizmi, svi fungi poseduju jedarni kompleks sa jedarnom membranom. Unutar jedra nalazi se jedarce i linearno raspoređeni hromozomi. Citoplazma sadrži citoskeleton sa mikrofilamentima koji su građeni od aktina i mikrotubula građeni od tubulina. U citoplazmi se, takođe, nalaze organele kao što su mitohondrije, Goldžijev aparat, vakuole, nekoliko tipova vezikula i 80-S ribozomi. Plazmalema sadrži veće količine sterola, najčešće ergosterola. Činjenica da je ergosterol dominantan u ćelijama funga, za razliku od ćelija sisara u kojima je dominantan holesterol, može objasniti selektivno delovanje antifungalnih preparata kao što su nistatin i amfotericin B.

RAST I RAZMNOŽAVANJE FUNGA

Fungi nemaju sposobnost fotosinteze i za rast su im potrebni izvori vezanog ugljenika. Razvili su dva glavna načina ishrane i razmnožavanja. Filamentozni fungi rastu apikalnom ekstenzijom-izduživanjem i bočnim grananjem, stvarajući hife i micelijum. U kvasaca dolazi do deljenja jedne ćelije. Apikalni rast hifa čvrstog zida omogućava njihovo produživanje - izduživanje, te grananje koje je kombinovano sa otpuštanjem litičkih enzima u okolinu koji razlažu hranljive materije i omogućavaju ovaj rast. Granajuće hife formiraju splet, stvarajući micelijum, odnosno strukture sastavljene od međusobno povezanih hifa. Za razliku od filamentoznih funga koji rastu stvarajući micelijum, u kvasaca rezultat rasta i razmnožavanja je odvajanje progene ćelije kćerke od osnovne matične ćelije-majke. Većina patogenih kvasaca stvara ćelije kćerke pupanjem. U patogene kvasce ubrajaju se: *Cryptococcus neoformans*, neke vrste roda *Candida*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* i *Sporotrix schenckii*. U pupajućem kvascu sinteza ćelijskog zida se zapaža na celoj površini pupoljka i nije dirigovana ni sa jednog pola. Posle mitoze i migracije jedra u pupoljak, formira se ćelijski zid i dolazi do odvajanja ćelije kćerke od roditeljske. Drugi način razmnožavanja kvasaca je fizijom ćelije. Ćelija roditelj se izdužuje i nakon mitoze jedno se deli pregradama i podeli izduženu ćeliju. Dve ćelije (ćerke) se odvajaju nakon cepanja pregrada. Fizija se ponekad može odgoditi i tada se stvaraju nepravilne ćelijske strukture.

SINTEZA ĆELIJSKOG ZIDA

Oblik funga determinisan je ćelijskim zidom, koji sa spoljašnje strane naleže na ćelijsku membranu. Primarno je građen od ugljenih hidrata, od kojih su neki kovalentno vezani za proteine. Ćelijski zid funga pokazuje osnovne razlike u hemijskoj građi, naročito u filogenetski udaljenih vrsta. Filogenetski bliže vrste pokazuju sličnost u morfologiji i načinu razmnožavanja. Sinteza ćelijskog zida na površini plazmaleme uključuje kristalizirane materijale kao što su glukani i hitin koji su vezani polimerima N-acetilglukozamina. Oni obezbeđuju jačinu i čvrstoću ćelijskog zida. Ostale polisaharidne komponente kao što je npr. mananprotein

daju ćelijskom zidu određen stepen fleksibilnosti. Rast u dužinu-visinu (apikalna ekstenzija) moguć je zbog znatnog plasticiteta hifa u rastu, jer je njihov ćelijski zid znatno tanji i fleksibilniji od ćelijskog zida već formiranog-zrelog dela hifa. Mlade hife, u rastu, sastoje se od materijala koji su slabije vezani nego u zrelih. Za razliku od zrelih hifa, npr. novosintetizirani hitinski lanci mladih hifa nisu potpuno kristalizirali.

APIKALNA EKSTENZIJA-IZDUŽIVANJE

Kada su u pitanju hife i direktan protok prekurzora kroz njihovu unutrašnjost, potrebno je istaći da su većina granula i vakuola nosioci različitih enzima i prekurzora neophodnih za sintezu ćelijskog zida. Neke od tih vakuola nazvane "hitozomi" nose enzim hitin-sintetazu u zimogenoj formi. Kada se aktiviraju i povežu sa UDP-N-acetilglukozaminima sintetiziraju hitinske mikrofibrile. Skupine vakuola oko rastućih hifa zvane „*spitzenkörper*“ (šiljasta telašca) predstavljaju distributivne centre hranljivih materija za hife u rastu. Kada je rast hifa završen ove se vakuole, mikroskopski, ne mogu zapaziti. Cilindrični oblik hifa tokom apikalnog izduživanja održava ćelijski pritisak unutar već formiranog dela hife koji „gura“ ćelijski-metabolički sadržaj prema mestu gde je ćelijski zid mekan i nepotpuno formiran. Izuzetak od ovog pravila su neke mutante *Aspergillus niger* koje ne sadrže hitin, ali u podlogama sa visokim osmotskim pritiskom stvaraju, relativno, normalne hife. Kako se hifa izdužuje, hranljive materije se ugrađuju u ćelijski zid nastajućeg dela-apeksa. Tako novonastali ćelijski zid nastavlja „gurati“ hranljive materije prema sledećem-formirajućem apikalnom delu rastuće hife. Drugačije rečeno, prethodno formiran ćelijski zid hifa čini temelj na koji se nadograđuju mlade forme iste strukture. U aktivno rastućih funga sadržaj hifa ima različitu metaboličku aktivnost. To znači da su rastući delovi hifa metabolički aktivniji, ali na temelju metabolički manje aktivnih, prethodno formiranih delova. Sazrevanje i starost istog stuba hifa omogućava život sledećem delu hife koji se nadograđuje na njega, čineći celinu. U rastućem-aktivnom delu hife pojačane su metaboličke aktivnosti, odnosno sekrecija enzima kao što su polisaharidaze, lipaze i proteaze. Ovi enzimi su konstitutivni jer čine sastavni deo ćelijskog zida. Po potrebi aktiviraju se i egzoenzimi, koji se otpuštaju u spoljašnju sredinu i razlažu različite hranljive materije iz okoline, a koje fungi koriste za ishranu.

STVARANJE MICELIJUMA

Kada hife odebljaju i postanu čvrste, odnosno kada sazreju, javljaju se njihove postrane modifikacije-izdanci. Na pojedinim mestima formiranih hifa dolazi do modifikacije ćelijskog zida u smislu njenog omekšanja i povećanja plasticiteta. To omogućava formiranje ogranaka, odnosno bočnih hifa, koje takođe rastu izduživanjem prema vrhu. Splet takvih hifa dovodi do interkonekcije-uplitanja i daljeg razmnožavanja. Bočne pregrade (septa) unutar izduženih hifa formiraju se u nekih vrsta funga. Pregrade su po svom sastavu različite strukture, sa različitim

efektima i funkcijama. Zajedničko za sve njih je da predstavljaju barijere koje sprečavaju kretanje hranljivih materija, vakuola, organela i jedara, čineći na taj način hife višćelijskim organizmima. Neki fungi (većina vrsta *Zygomyceta*) ne stvaraju pregrade.

DIMORFIZAM

Neki fungi, uzročnici infekcija, ne uklapaju se u dva osnovna načina razmnožavanja, tipična za ostale filamentozne vrste i kvasce. Sposobnost rasta istog organizma u dve različite forme, za sada, je ustanovljena samo u funga. Neki fungi na višim temperaturama (temperatura toplokrvnih organizama) pokazuju neuobičajenu morfologiju. Može se reći da je dimorfizam reverzibilna promena načina razmnožavanja, odnosno odgovor na izmenjene uslove okoline, a manifestuje se modifikacijama u sintezi ćelijskog zida. Signal za „prebacivanje“ iz saprofitske u parazitsku formu u većini slučajeva je porast temperature okoline uz obavezno prisustvo odgovarajućih hranljivih materija i povećane koncentracije CO₂. Brojne vrste funga, stvaranjem varijeteta adaptiraju se na postojeće uslove. *Malassezia furfur* obligatni lipofilni kvasac stvara i pupoljke i kratke hife na površini kože. Vrste roda *Candida* takođe rastu i u formi kvasaca i hifa. U samo jednoj leziji uzrokovanj ovim fungusom, histološki, mogu se ustanoviti ćelije kvasaca, hife i pseudohife. Većina sojeva *Candida albicans* ima izražen filamentozan rast (hife) u podlogama sa nižim koncentracijama glukoze i povećane koncentracije CO₂. S druge strane, rast u formi pupajućih kvasaca istih sojeva, favorizuju niske koncentracije CO₂ i povećane koncentracije glukoze.

FENOTIPSKE PROMENE U RASTU

I vrste koje nemaju izražen dimorfizam mogu ispoljiti neuobičajenu prilagodljivost. Npr. kvasac *Cryptococcus neoformans* može rasti u filamentoznoj formi kada se kultiviše u uslovima različitim od standardno glukozom bogatog *Sabouraud* agara ili podloga koje se koriste za rutinsku izolaciju i kultivaciju u kliničkim laboratorijama. Ovaj fenomen je prvi put opisan u sojeva *Candida albicans*. Različit je od dimorfizma i u njemu se promene javljaju „spontano“, obično u omeru 1:1000 ili 1:10000 progenih ćelija potomaka. Te promene rezultiraju generacijom kolonija različite morfologije. Fenotipske promene pojačavaju sposobnost *C. albicans* da se adaptira na različite uslove i promene okoline. Svojstva stečena fenotipskim promenama mogu pojačati virulenciju (patogeno delovanje).

BITNE STRUKTURE U IDENTIFIKACIJI FUNGA

Iako se molekularnim ispitivanjima funga mogu dobiti temeljni podaci o strukturi nukleinskih kiselina i antigena, ipak su mikro- i makromorfološka ispitivanja još uvek dominantna u identifikaciji filamentoznih funga, naročito u rutinskoj dijagnostici. Najvažnije taksonomske karakteristike su: morfologija

spora i struktura u/ili na kojima se te spore stvaraju, zatim hife koje rastu, tipično „aeralno“. Otpuštanje tih spora je uvek sa vegetativnih hifa. Diferencijalne razlike vezane za hife i spore omogućava razlikovanje rodova, a često i vrsta. Većina elemenata funga može da se reprodukuje aseksualnim procesom, bez fizije jedra i mejoze. Sporulirajuće kolonije koje nose konidije su poznati kao anamorfi i mogu stvarati više formi konidija. Jedna vrsta može stvarati više od jednog anomorfa. Kulture sa seksualnim sporama koje se stvaraju nakon mejoze nazivaju se teleomorfne. Izrazi anamorf (aseksualno) i teleomorf (seksualno) su takođe poznati kao nesavršeno, odnosno savršeno stanje, ili *fungi imperfecti* i *fungi perfecti*. S obzirom da se jedna vrsta fungusa može ponašati kao anamorf i teleomorf, većina funga ima više od jednog naziva. Bitno je znati, da različita imena ne opisuju različite vrste, nego način reprodukcije. Razlog da se više od jednog imena koristi za istu vrstu fungusa je iz čisto praktičnih razloga. Većina funga je heterotalična i imaju parnjački tip, što znači da stvaranje teleomorfa zahteva sparivanje različitih (roditeljskih) sojeva unutar vrste. Kako većinu kliničkih izolata čine određeni sojevi, neophodno je pokušati identifikovati svaki anamorf preko stvaranja njegovog teleomorfa. Uslovi za dokazivanje teleomorfa još uvek nisu definisani za većinu patogenih funga. Čak i kada je postojanje teleomorfa poznato, mogu proći i desetljeća da bi se otkrio njihov perfektan status. Ovakva situacija je u većine patogenih funga, koji su, primarno, nazvani prema njihovom anamorfu (*Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans* kao i većine vrsta iz rodova *Trichophyton* i *Microsporium*). To su dve velike grupe funga aseksualnog načina razmnožavanja. Te organele se stvaraju kao gole, nepokretne i obično „otpadaju“ od hifa ili ćelija kvasaca, a poznate su pod nazivom konidije. Specijalizovana hifa koja formira konidije naziva se konidiofora. Postoje dva osnovna načina formiranja konidija. Blastokonidije, posle izrastanja iz fertilne hife karakterišu se stvaranjem konidijskog ćelijskog zida. Suprotno od toga, konidije koje se razvijaju poslije konidiogeneze talusa, stvaraju se od prethodnih hifa, gde se modifikacija ćelijskog sadržaja gubi kada se razvije konidijum. Druga velika grupa (aseksualna sporulacija) uključuje stvaranje sporangiospora. Ove aseksualne spore stvaraju se jedino u funga iz divizionu *Zygomycota*. Najčešća forma sporangiospora je vezikula sa sporangiumom sa više spora, koja se zapaža kao kesica, stvorena od specijalizirane hife-sporangiofore. Unutar sporangiuma spore se formiraju posle podele jedra i citoplazme. Nakon toga se sintetizira ćelijski zid novih spora. Kada su sporangiospore sazrele, zid sporangija puca i dolazi do otpuštanja spora.

Iako je taksonomija funga znatno napredovala zahvaljujući molekularno-genetičkim istraživanjima, proučavanje teleomorfa kao i struktura koje stvaraju spore, posle mejoze, još uvek je dominantno u razjašnjavanju taksonomskih pozicija većine anamorfnih funga. Svaka vrsta formira morfološki tipične spore. Vrste iz divizionu *Ascomycota*, *Bazidiomycota* i *Zygomycota* formiraju askospore, bazidiospore, odnosno zigospore.

KONIDIJSKE STRUKTURE-KLIJANJE (GERMINACIJA)

Aseksualne strukture koje formiraju infektivni fungi, odgovorne su za većinu infekcija, naročito pluća (njihovim udisanjem). Konidije funga su takođe značajne kao alergeni, a mogu sadržavati i mikotoksine. Čelijski zid kondija pokazuje jasne morfološke razlike na površini u odnosu na vegetativne ćelije. Konidije kličaju stvaranjem germinativnih cevčica koje predstavljaju zametak hifa. Pored ostalih faktora, zavisno od tipa konidija, uglavnom je za sve njih neophodno prisustvo kiseonika i vode. U većini slučajeva egzogene hranljive materije moraju biti prisutne. Inhibitori germinacije, takođe, prisutni u konidijama, daju signal za klijanje konidija kada one dospeju u povoljne uslove. Klijanje počinje bubrenjem i povećanjem konidija, te intenziviranjem metaboličkih procesa. Mehanizam klijanja se razlikuje u različitim vrsta, a takođe i u različitim tipova konidija koje stvara jedna vrsta. Npr. artrokonidije (zglobne) fungusa *Trichophyton mentagrophytes* počinju klihati nakon aktivacije, deset minuta na 45°C, ili potapanjem u vodu tokom 24 sata. Nakon ovih predtretmana konidije kličaju bez prisustva egzogenih hranljivih materija, stvarajući germinativne cevčice u vodi na temperaturi 37°C. Nasuprot tome, mikrokonidije istog fungusa ne kličaju ukoliko u sredini u kojoj se nalaze nisu prisutne egzogene hranljive materije, naročito, aminokiseline i dipeptidi.

KERATINOFILNI FUNGI POVRŠINE KOŽE

Keratinofilni fungi rastu na tkivima bogatim keratinom (koža, dlaka, nokti, rogovi, perje), bez vidljive invazije živog tkiva i provokacije imunog sistema. Čine ih vrste rodova *Trichosporon* (uzročnici bele *pieдре*), *Piedraia* (uzročnici crne *pieдре*), te vrsta *Hortaea wernewckii* (uzročnik *tinea nigra*).

Vrste roda *Trichophyton*

T. asahii: Kolonije na SDA (*Sabouraud Dekstroza Agar*) su suve, ispupčene, ograničene fisurama-kao raspuknute. Ivice kolonija su bele, baršunasto pokrivenog centralnog dela. U mikroskopskim preparatima pupajuće ćelije i lateralne konidije nisu vidljive. Artrokonidije su pravilne, oblika sličnog kaci ili kockaste.

T. cutaneum: kolonije na SDA podlozi su vlažne, sjajne sa pukotinama na rubovima i bez baršunastog pokrova. Pupanje ćelija je izrazito u primarnoj kulturi. Nakon subkultivacije dominiraju hife. Artrokonidije su cilindričnog do elipsoidnog oblika. Prisutne su i lateralne konidije. Izolira se iz slučajeva pazušne bele *pieдре*.

T. inkin: kolonije na SDA podlozi su ograničene, izgleda moždanog tkiva (cerebriformne), bez marginalne zone, oko koje se često javlja napuknuće podloge. Pupajuće ćelije i postrane konidije nisu prisutne. Artrokonidije su duge i cilindrične. Ova vrsta je ograničena na kosu i prepone.

T. mucoides: Na SDA podlozi formira vlažne, sjajne kolonije sa radijalno raspoređenim plitkim kanalićima. U preparatima su vidljivi kratki postrani izdanci-konidije, oblika buzdovana. Čest je uzročnik bele *piegre* stanovnika Afrike i superficijalnih infekcija evropskog stanovništva.

Pored navedenih, postoji veliki broj vrsta ovog roda za koje se sumnja da mogu biti uzročnici oportunističkih mikoza. Infekcije *Trichosporon* vrstama se, verovatno, prenose preko ljudi i životinja.

Vrste roda *Piedraia*

P. hortae: Kolonije na SDA podlozi sa glicerinom rastu sporo, naborane su i baršunaste, tamno smeđe do crne boje. Askostomata na dlakama je kompaktna, izdužena do 1mm. Svaka sadrži nekoliko elipsoidnih askusa, obično sa osam askospora. Askospore su hijaline, bubrežestog oblika, sa dodacima sličnim bičevima, na oba kraja.

P. quintanilhae: Vrsta vrlo slična prethodnoj, mada spore nemaju izrasline u vidu bičeva. Javlja se u šimpanzi, a do sada nije poznata u ljudi.

Fungi koji asimiliraju komponente koje otpušta telo domaćina, ali bez invazije živog tkiva su pravi epifitski ili nekrotrofni organizmi koji razgrađuju odumiruće ili mrtve delove tkiva. Kada je ciljna komponenta integralni deo tela domaćina, npr. keratin koga asimiliraju dermatofiti, obližnje živo tkivo može biti zahvaćeno. Tada se ispoljava pravi patogenitet. Kada imaju na raspolaganju ekskretorne komponente ovi fungi se lociraju striktno površinski.

***Hortaea werneckii* (syn. *Phaeoannulomyces werneckii*)**

Na agaru sa zobenom kašom kolonije su ograničene, mutne i uljaste konzistencije, blistave, maslinasto crne boje. Nakon nekoliko subkultivacija kolonije mogu postati pamučaste, što je posledica stvaranja aeralnih hifa. Pupajuće ćelije kvasca su subhijaline. Hife su široke do 6 μ m, sa tankim ćelijskim zidom, maslinasto crnim i neprozirnim septama. Konidije se stvaraju bočno od hifa ili polova pupajućih ćelija. Konidije su u početku hijaline, ali ubrzo postaju maslinaste boje. *H.werneckii* može biti i halofilni organizam, pošto se može, povremeno, izolovati iz pijeska morskih plaža. Pretpostavlja se da potiče iz morske vode. Slučajevi obolenja ljudi primarno su locirani u priobalnim područjima subtropskih oblasti. Infekcija nastaje hidrofobnom interakcijom ćelija fungusa sa kožom. Prihvatajući se za kožu stvara ekstracelularne polisaharide. Na koži se održavaju asimilacijom lipidnih ekstrakata kože.

Bazidiomicetni kvasci površine kože

Prirodno stanište ovih funga je koža toplokrvnih životinja. Prisutni su u okviru normalnih mikrobiota kože, ali mogu uzrokovati oboljenje *pityriasis versicolor*. Većina vrsta je potpuno zavisna od lipida kao nutritivne komponente, pa se često

nazivaju „lipofilni kvasci“ Reprezentativne vrste ovog roda su: *Malassezia furfur*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis*, *M. globosa*, *M. slooffiae*, *M. obtusa* i *M. restricta*. Mada se smatraju kao mikrobioti kože ljudi, često se izoluju iz životinja i brojnih drugih domaćina. U ljudi raspored lipofilnih kvasaca je uglavnom na delovima kože bogatim lojnim žlezdama, gde su najčešće i locirane promene (lice, centralni delovi leđa i grudi). Naročito koloniziraju dlačne folikule, a mikroskopski mogu se videti razasute među korneocitima ili u grupama zajedno sa kapljicama lipida. Ušna školjka je takođe mesto gde se mogu naći u značajnom broju, zbog lojnih žlezda i cerumena koji luče. Učestalost oboljenja je veća sa starenjem-polnim sazrevanjem, jer se pojačava i aktivnost lojnih žlezda, što povećava količinu lipida. *Malassezia* lipid-zavisne i nezavisne vrste mogu se izolovati iz životinja. *M. pachydermatis* je značajna kod pasa jer uzrokuje upalu spoljašnjeg uha. *Malassezia* spp. kolonizuje kožu medveda, majmuna, svinja, slonova, nosoroga i ptica. Učestalost ovih kvasaca kod ptica objašnjava se pojačanim lučenjem lipida za impregnaciju perja.

KERATINOFILNI FUNGI KOŽE

Dermatofiti su u tesnoj vezi sa keratinofilnim fungima koji uzrokuju dermatofitoze zbog njihove izražene sposobnosti da koloniziraju kožu, njene delove i da razgrađuju keratin. Anamorfní dermatofiti pripadaju rodovima: *Epidermophyton*, *Microsporum* i *Trichophyton* (*deuteromyceta* ili *fungi imperfecti*). Dermatofiti koji se razmnožavaju seksualno (*teleomorfi-fungi perfecti*) pripadaju rodu *Arthroderma* (*filum Ascomycota*).

Tabela 42. Mikromorfologija rodova Microsporum, Trichophyton i Epidermophyton

Rod	Makrokonidije	Mikrokonidije	Klinički simptomi
<i>Microsporum</i>	Hrapavog ćelijskog zida, jajolikog oblika, fuziformne, obično prisutne u većem broju od mikrokonidija	Uglavnom su prisutne, kruškolikog ili oblika buzdovana. Na hifama se nalaze pojedinačno.	Invadira kožu, kosu, ređe nokte. Dif. dijagnostički: <i>Trichophyton persicolor</i> ne invadira kosu
<i>Trichophyton</i>	Glatkog su ćelijskog zida, oblika olovke, buzdovana, fuziformne do cilindrično-fuziformne. Često ih nema ili su prisutne u manjem broju od mikrokonidija.	Obično su brojnije od makrokonidija. Oblika su buzdovana, kruškolike ili loptaste, u manjim nakupinama ili pojedinačne.	Invadiraju kožu, kosu, nokte. <i>T. concentratum</i> ne invadira kosu.
<i>Epidermophyton</i>	Imaju gladak ćelijski zid. Oblikom podsećaju na buzdovan. Uočavaju se pojedinačno ili u bananama sličnim nakupinama.	nema	Invadiraju kožu i nokte. U većini slučajeva ne invadiraju kosu.

GEOFILNI DERMATOFITI

Smatraju se precima patogenih dermatofita. Prirodno stanište ovih vrsta je zemljište, naročito ono u kojem se odvija razgradnja keratinskog materijala (dlake, perje, rogovi, kopita, papci, nokti). Izlaganje ovakvim mestima može dovesti do infekcija ljudi i manjih životinja. Transmisija geofilnih vrsta sa manjih životinja na ljude ili sa čoveka na čoveka je ređa.

ZOOFILNI DERMATOFITI

Ove vrste su vremenom evoluirale iz zemljišnih u parazite životinja, izgubivši sposobnost preživljavanja u nesterilnoj zemlji. Ovi fungi su, primarno, paraziti životinja, a njihovi nosioci mogu biti, naizgled, zdrave divlje životinje. Infekcije ljudi javljaju se pri direktnom kontaktu sa inficiranim životinjama, ili indirektno, kontaktom sa keratinskim materijalom životinjskog porekla. Infekcija ljudi sa *Microsporum canis* obično se prenosi na ljude preko pasa i mačaka.

ANTROPOFILNI DERMATOFITI

Smatra se da su evoluirali iz zoofilnih vrsta. Ljudi su prirodni domaćini za ove vrste, a mogu se prenositi direktno-kontaktom, ili indirektno-preko predmeta. Od ljudi na životinje prenos infekcija antropofilnim vrstama je redak, ali ipak registrovan. Evolucija od saprobnih mikrobiota koji žive u zemljištu do isključive egzistencije kolonizacijom keratinskog tkiva ljudi, generalno, korespondira sa smanjenjem ili potpunim gubitkom sposobnosti stvaranja konidija, kao i nesposobnošću seksualnog razmnožavanja. Gubitak sposobnosti seksualne reprodukcije karakteristika je, gotovo, svih vrsta antropofilnih dermatofita. Opadanjem, ili gubitkom stvaranja konidija i sposobnosti seksualnog razmnožavanja antropofilni fungi, generalno, imaju tendenciju izazivanja hroničnih infekcija. Osobnosti između geofilnih i zoofilnih dermatofita nisu uvek jasno razgraničene i mogu biti kontraverzne. Tipična geofilna vrsta *Microsporum gypseum* često se izoluje iz zemljišta u kome ne samo da može preživeti, nego se može i razmnožavati, stvarajući brojne mikrokonidije. Patogena je za životinje.

Tabela 43 . Klasifikacija dermatofita na osnovu ekologije i afiniteta prema domaćinu

Geofilni	Zoofilni	Antropofilni
		<i>Epidermophyton floccosum</i>
		<i>Microsporum audouinii</i>
		<i>M. ferrugineum</i>
<i>Microsporum cookei</i>	<i>Microsporum canis</i>	<i>Trichophyton concentricum</i>
<i>M. gypseum complex</i>	<i>M. equinum</i>	<i>T. gourvilii</i>
<i>M. nanum</i>	<i>M. gallinae</i>	<i>T. megninii</i>
<i>M. persicolor</i>	<i>M. equinum</i>	<i>T. mentagrophytes var. interdigitale</i>
<i>M. praecox</i>	<i>Trichophyton equinum</i>	<i>T. rubrum</i>
<i>M. ajelloi</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. schoenleinii</i>
<i>Trichophyton simii</i>	<i>var. erinacei</i>	<i>T. soudanense</i>
	<i>T. verrucosum</i>	<i>T. tonsurans</i>
		<i>T. violaceum</i>
		<i>T. yaoudei</i>

Za neke dermatofite (*Microsporum persicolor* i *Trichophyton simii*) postoji dilema da li su geofilne ili zoofilne vrste. Obe vrste često se izoluju iz zemljišta i dlaka, klinički zdravih životinja. *M. persicolor* je često dokazan u pacova i, naročito, poljskih miševa. Može uzrokovati jake infekcije ljudi. *Trichophyton simii* izaziva „prstenaste“ lezije u pasa, majmuna, peradi i ljudi. Karakteristične makrokonidije *M. persicolor* i *T. simii* mogu se uočiti direktnim mikroskopiranjem uzoraka zemljišta.

MONOMORFNI, NESEPTIRANI, FILAMENTOZNI, SISTEMSKI PATOGENI FUNGI (*ZYGOMYCETES*)

Zigomicete su klasa relativno primitivnih, brzorastućih, široko rasprostranjenih funga, najčešće u zemljištu i biljnom materijalu koji trune. Kao kontaminanti, često uzrokuju kvarenje hrane. Neke vrste su patogene za biljke, insekte, ređe ljude. Pojedine vrste ovih funga se na dalekom Istoku koriste kao hrana. Hife ovih funga su, uglavom, bez septa što ih bitno razlikuje od ostalih vrsta filamentoznih funga. Nepostojanje septa unutar hifa omogućava brzu i nesmetanu translokaciju hranljivih materija, zajedno sa ćelijskim organelama prema mestu intenzivnog rasta-izduživanja hifa. Sve to omogućava brz rast hifa i sporulaciju. S druge strane, zbog toga, hife su sklone lomljenju i ugibanju. Radi komparacije, kada se lome hife u funga sa septiranim hifama, naročito u askomiceta i bazidiomiceta, otvori na mestu lomljenja se, zahvaljujući septama, zatvaraju i tako sprečavaju smrt celog struka hife. Zbog ovih osobina, izolacija i identifikacija zigomiceta može biti umanjena za 50%. Klasifikacija i identifikacija zigomiceta se bazira, primarno, na aseksualnom ili anamorfnom stanju koga karakteriše stvaranje sporangija i sporangiospora. Ostale aseksualne reproduktivne strukture, hlamidokonidije i kvascima slične blastokonidije, povremeno, se mogu videti u nekih vrsta. Samo dva od sedam rodova sadrži vrste od medicinskog značaja.

ETIOLOŠKI AGENSI MEDICINSKOG ZNAČAJA

Sve patogene zigomicete, osim *Mucor circinelloides*, rastu na 37°C. Većina izolata je heterotalična, nemaju zigospora zbog čega se identifikacija ovih vrsta bazira na morfologiji sporangija. Morfološki kriterijumi objedinjuju broj i raspored sporangiospora, oblik, boju, prisustvo ili odsustvo kolumele i apofize, kao i raspored sporangiofora, te odsustvo ili prisustvo rizoida. Navedena morfološka svojstva najbolje se uočavaju u mikroskopskim preparatima uzoraka kultura u kapi 95%-tnog etanola, na predmetnici sa pokrovnicom.

Rod *Absidia* (vrsta *Absidia corymbifera*)

Jedina je, za sada, poznata vrsta koja uzrokuje oboljenja, češće u životinja nego u ljudi. Raširena je po celom svetu, najčešće u zemljištu i biljnom materijalu u raspadanju.

Rod Basidiobolus

B. ranarum čest je saprofit u zemljištu, trulom voću i drugom biljnom materijalu, te u izmetu amfibija i reptila. U amfibija može izazvati kožne lezije. Može se izolovati i iz digestivnog trakta šišmiša koji se hrane insektima, kao i iz biljih vaši. Izaziva potkožne infekcije u ljudi i konja, a gastrointestinalne u ljudi i pasa. Infekcije su ograničene, uglavnom, na geografski toplija područja.

Rod Cokeromyces

C. recurvatus tipičan je predstavnik roda *Cokeromyces* i obično se nalazi u zemljištu, a može se izolovati iz fecesa glodara i guštera. U žena može kolonizirati vaginu i mokraćnu bešiku. U nekih osoba koje su primile transplantat koštane srži može uzrokovati jak proliv. Verodostojnost da je stvarno patogen je pod znakom pitanja, pošto nije dokazan nijedan slučaj infekcije tkiva. Jedan je od nekoliko zigomicetnih funga koji pokazuju temperaturni dimorfizam. Na temperaturi 37°C raste u kvascima sličnim, dugim sferičnim ćelijama na kojima se nalazi jedan, ili više pupoljaka. Na nižim temperaturama formira hife (micelijum).

Rod Conidiobolus

C. coronatus (sin. *Entomophthora coronata*) je rasprostranjen u celom svetu, ali češće u tropskim predelima. Kao saprofit čest je u vegetaciji koja trune, naročito kišnim šumama Afrike. Patogen je za insekte, a izolovan je iz i iz delfina, šimpanzi, ovaca, lama i konja. U ljudi infekcije su uglavnom ograničene na rinofacijalno područje.

C. incongruus se retko izoluje iz trulih biljaka. Izaziva i infekcije ljudi.

Rod Mortierella

Vrste ovog roda su česte u zemljištu. *M. wolfi* je uzročnik mikotičnog abortusa, pneumonije i sistemskih mikoza goveda, a *M. polycephala* plućnih infekcija.

Rod Mucor

M. amphibiorum uzrokuje zigomikoze amfibija i kljunaša. Infekcije ljudi, do sada, nisu zabeležene.

M. circinelloides se javlja u četiri varijeteta (*circinelloides*, *lusitanicus*, *griseocyanus*, *jansseni*). Izaziva kožne infekcije ljudi i mikoze goveda, svinja i ptica.

M. hiemalis iako se spominje kao uzročnik infekcija kože ljudi, zbog nemogućnosti rasta na temperaturama iznad 30°C, dovodi u pitanje njegovu mogućnost izazivanja infekcija u toplokrvnih organizama. Često se može izolovati iz uzoraka zemljišta.

M. indicus (syn. *M. rouxii*) uzrokuje zigomikozu želuca i pluća ljudi.

Rod *Rhizomucor*

R. miehei (syn. *Mucor miehei*) izaziva mastitis goveda. *R. pusillus* (syn. *Mucor pusillus*) izolovan je iz pulmonarnih, diseminiranih kožnih i infekcija endokarda, te osoba obolelih od leukemije. Češće izaziva infekcije u životinja, naročito urogenitalnog trakta (abortusi). Ubikvitaran je fungus, mada se najčešće nalazi u kompostu.

Rod *Rhizopus*

R. azygosporus uzrokuje fatalne infekcije prevremeno rođene dece. Izolovan je i iz fermentirane hrane na bazi soje (tempeh) u Indoneziji. *R. microsporus* var. *rhizopodomorfs* izolira se iz kožnih infekcija nakon upotrebe flastera. Flasteri predstavljaju izvor funga. Gastrointestinalne infekcije su, takođe, česte. Rinocerebralne forme infekcija su retke. Patogen je i za životinje. U svinja i goveda izaziva abortuse.

R. oryzae (syn. *Rhizopus arrhizus*) najčešći je uzročnik zigomikoza, naročito rinocerebralnih infekcija pacijenata sa leukemijom i u ovisnika o drogama. Javlja se, takođe, i u osoba sa AIDS-om, a u primaoca transplantata koštane srži izaziva kožne infekcije. Retko je u životinja opisan kao uzročnik infekcija. Rasprostranjen je u zemljištu, najčešće, tropskih i subtropskih regiona. Osim u zemljištu nalazi se u biljnom materijalu u fazi truljenja, namirnicama, izmetu životinja, uključujući i ptice. Često se koristi u pripremi fermentiranih namirnica i alkoholnih pića u Indoneziji, Kini i Japanu. Stvara, za ljude i životinje, toksični alkaloid - agrokavin.

MONOMORFNI, SEPTIRANI, FILAMENTOZNI,
SISTEMSKI PATOGENI FUNGI (*ASPERGILLUS* I *PENICILLIUM*)

Rod *Aspergillus* sadrži preko 185 vrsta kojima su ljudi i životinje konstantno izloženi. Samo manji broj vrsta izaziva oboljenja, od kojih preko 95% slučajeva uzrokuju tri vrste: *A. fumigatus*, *A. flavus* i *A. niger*, dok preostali postotak uzrokuju *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. oryzae*, *A. ustus* i *A. versicolor*.

A. fumigatus uzrokuje najviše slučajeva i invazivne i neinvazivne aspergiloze. Alergijske forme oboljenja su, isključivo, uzrokovane ovom vrstom aspergila. Identifikacija bilo koje vrste roda *Aspergillus* zahteva izolaciju soja u čistoj kulturi i proučavanje mikro- i makromorfoloških osobina na standardnim podlogama, poznatog sastava. Razlike u sastavu podloga dovode do markantnih promena u rastu, boji, dimenzijama i morfologiji mikroskopskih elemenata. Sve navedeno ukoliko se ne uzme u obzir, može dovesti do pogrešne dijagnoze. Mada aspergili mogu rasti na većini komercijalnih, mikoloških podloga preporučuju se određene podloge koje daju uniformne kulture, pogodne za komparativna ispitivanja (*CzapexDox* ili agar sa ekstraktom maltoze). U identifikaciji aspergila treba imati

na umu činjenicu da postoje brojne varijante unutar vrste i brojne vrste unutar roda.

Vrste roda *Penicillium* su kosmopolitske, prisutne su u zemljištu, organskom materijalu u raspadanju i, često, kao kontaminanti laboratorijskih prostora. Među brojnim vrstama jedino je *P. marneffei* poznat, za sada, kao uzročnik infekcija ljudi i životinja. Ovaj fungus je endemičan u jugoistočnoj Aziji, gde izaziva infekcije retikuloendotelijalnog sistema ljudi i nižih sisara. Osim toga ova vrsta je, za sada, jedini poznati fungus iz roda *Penicillium* sa dimorfnom formom. Opisan je 1956. godine kao uzročnik infekcije retikuloendotelijalnog sistema pacova bambusovih šuma Kine. Infekcije ljudi sa *P. marneffei* su endemične u Tajlandu, nekim regionima Kine, Hong Kongu, Vijetnamu i Indoneziji. Javlja se u odraslih osoba, rede dece. Zabeleženi su slučajevi infekcija u pacijenata obolelih od AIDS-a.

Blastomyces dermatitidis

Uzrokuje blastomikozu - akutnu ili hroničnu infekciju respiratornog sistema. Ubraja se u temperaturno uslovljene dimorfne funge. U formi kvašćevih ćelija egzistira u tkivu domaćina ili kada se inkubira *in vitro*, na 37°C. U prirodi ili kada se kultiviše na sobnoj temperaturi, izrasta u micelijskoj formi. U ljudi, blastomikoza je opisana 1894. godine kao škrofulodermna - kožna tuberkuloza. Početkom 20-tog veka plućna i kožna blastomikoza su, često pogrešno, dijagnostikovane kao tuberkulozne manifestacije. Ovaj fungus se najčešće nalazi u supstratima bogatim organskom materijom, kao što su feces životinja, delovi biljaka, insekata i sl. Izvor infekcije može biti zemljište, naročito uz rečne tokove i druge vodene površine (jezera, bare). Infekcije se javljaju, naročito, prilikom kampinga, a zabeležene su i u šumskih radnika. *B. dermatitidis* se, često, može izolovati iz uzgajališta životinja naročito kopitara, peradi, pasa i zečeva.

Coccidioides immitis

C. immitis je zemljišni fungus koji uzrokuje kokcidioidomikozu, oboljenje koje je konstantno prisutno samo u određenim regionima zapadne hemisfere zbog čega se tretira kao „endemska sistemska mikoza“. Ovo oboljenje u svojim različitim kliničkim manifestacijama naziva se i kokcidioidni granulom, *San Joaquin fever*, *waley fever* i pustinjaški reumatizam. Osim ljudi oboljevaju i brojne vrste domaćih i divljih životinja iz porodica mačaka, pasa, kopitara i papkara. Infekcija sa *C. immitis* obično usledi nakon inhalacije artrokonidija. Rede su infekcije nastale unosom uzročnika nakon fizičke povrede. U oba slučaja uključeni su i regionalni limfni čvorovi. Simptomi obolenja su, uglavnom, od strane respiratornog trakta: kašalj, groznica, malaksalost, bol u grudima, zglobovima i mišićima. Simptomi, inače, nisu tipični jer podsećaju na mnoge druge respiratorne bolesti.

Jednoćelijski askomicetni i bazidiomicetni, patogeni fungi

Candida vrste

U patogene vrste spadaju: *C. albicans*, *C. (Torulopsis) glabrata*, *C. crusei*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* i *C. viswanatii*. Prvi pisani opisi infekcija uzrokovani kandidama-pedijatrijski problemi u modernoj medicini datiraju iz 1771. godine. Prvi put je izolovana 1884. godine iz sputuma tuberkuloznog pacijenta, 1849. iz slučaja vaginalne kandidijaze, 1853. iz uzorka pacijenta sa sistemskom kandidijazom, a 1861. iz mozga. Većina vrsta kandida je široko rasprostranjena u svetu. Mogu se izolovati iz nižih životinja i okoline. Infekcije ljudi su uglavnom endogene. Kandidate se mogu izolovati iz različitih mesta, naročito gastrointestinalnog trakta, orofarinksa, vagine i kože. Patogenitet im se zasniva na sposobnosti adherencije na ćelije domaćina i stvaranju proteolitičkih enzima koji omogućavaju invaziju i penetraciju u tkiva. Različitim imunomodulacijskim mehanizmima neutrališu odbranu organizma domaćina.

Blastoshizomyces capitatus

B. capitatus je poznat kao zemljišni saprob, a izoluje se i iz okoliša, pulpe drveta i fecesa peradi. Smatra se i kao normalan mikrobiot kože. Izaziva oportunističke infekcije životinja i ljudi, naročito nakon imunosupresivnih oboljenja i terapije. Karakterističan je po stvaranju anelokonidija. Kolonije su glatke ili naborane, bele do krem boje, okružene micelijem. Hife su septirane i najčešće dezartikulirane u artrokonidije.

Cryptococcus neoformans var. *neoformans* i var. *gattii*

C. neoformans je inkapsulirani fungus, patogen za ljude. Oboljenje ljudi uzrokovano ovim fungusom javlja se u lokalizovanoj ili diseminovanoj formi, te akutnoj ili hroničnoj formi. Rod *Cryptococcus* sadrži 37, do sada, poznatih vrsta rasprostranjenih u prirodi, na svim kontinentima i u brojnim životinjama. Vrsta *C. neoformans* sadrži 4 serotipa i dva varijeteta. Na bazi kapsularne aglutinacije označavaju se kao serotipovi A, B, C i D. Serotip A i sojevi D serotipa su varijeteti unutar *neoformans* varijante. Serotipovi B i C se javljaju unutar varijeteta *gattii*. Životni ciklus *C. neoformans* odvija se u dve različite forme: aseksualnoj i seksualnoj. Aseksualna forma podrazumeva i odvija se pupanjem ćelija kvasaca. Ovi haploidni, jednoćelijski kvasci su jedine, do sada, poznate izolovane forme iz okoline i infekcija ljudi. Egzistiraju u jednoj od dvije (roditeljske) forme i kada dođe do njihovog „susreta“ (ukrštanja) na određenim agar podlogama, javlja se seksualno ili perfektno stanje. Nutritivno, podloge moraju biti oskudne, a temperatura oko 37°C. Činjenica je da su sobna temperatura i trenutne koncentracije CO₂ najbolji uslovi za ukrštanje. Ova zapažanja ukazuju da prirodni signali, svetlost, koncentracija pojedinih gasova i siromašni supstrati u kojima se nalaze, indukuju ove procese u cilju preživljavanja i opstanka vrsta. U kliničkim mikološkim laboratorijama *C. neoformans* se može, relativno lako, diferencirati od ostalih kvasaca na osnovu morfologije i biohemijskih testova. Nalaz mukoidnih kolonija je prvi znak prisutnosti kriptokoka, kao i nalaz pupajućih inkapsuliranih

ćelija u mikroskopskim preparatima „obojenim“ tušem. *C. neoformans* je prvi put identifikovan 1894. godine iz soka breskve. Međutim, voće se ne smatra glavnim izvorom ovog funga. Najčešći izvori infekcije var. *neoformans* je zemljište kontaminirano izmetom ptica. Eukaliptusove šume smatraju se jedinim relevantnim izvorom infekcije var. *gattii*.

Uzročnici hialohifomikoza

Hialohifomikoze uzrokuju fungi koji u ćelijskom zidu ne sadrže pigment melanin. Postoje brojni rodovi i vrste, a tipičan predstavnik je *Fusarium* spp. Vrlo često se nalazi u zemljištu i biljkama, biljnom materijalu i sličnim organskim otpacima. Uzrokuju znatne ekonomske štete. U imunokompromitovanih osoba izazivaju infekcije. Ovi fungi proizvode i sekundarne metabolite, poznate kao mikotoksini koji u životinja i ljudi uzrokuju oboljenja-mikotoksikoze, nakon konzumiranja hrane koja sadrži mikotoksine.

Uzročnici histoplazmoze

Uzročnik, *Histoplasma capsulatum*, taksonomski, ima tri varijeteta: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* i *H. capsulatum* var. *farciminosum*. Svaki od njih izaziva karakterističan tip histoplazmoze. Varijeteti su u svetu različito distribuirani. Var. *capsulatum* je kosmopolitski, var. *duboisii* je ograničen na centralne delove Afrike i Madagaskar, dok se var. *farciminosum* javlja u Africi, Istočnoj Evropi, Srednjem Istoku i Aziji. Sva tri varijeteta su saprofiti u prirodi ili u laboratorijskim kulturama na sobnoj temperaturi. U tkivima sisara, ili obogaćenim podlogama na 37°C, transformišu se u jednoćelijske kvaščeve forme.

H. capsulatum* var. *capsulatum

Karakterišu ga okrugle i ovalne ćelije koje se mogu videti u obojenim uzorcima plućnog, medijastinalnog i drugih tkiva. Rede se može zapaziti u obojenim preparatima sputuma, telesnih tečnosti i razmaza periferne krvi. U slučajevima diseminovane histoplazmoze, često se nađe u obojenim preparatima koštane srži. Lako se može prevideti jer može biti maskiran drugim fungima (*Candida glabrata*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium marneffei*,) te toksoplazmama i sa *Pneumocystis carinii*. Izolacija var. *capsulatum* je relativno laka iz diseminovanih ili slučajeva hroničnih plućnih histoplazmoza.

H. capsulatum* var. *duboisii

Varijetet *duboisii* može se lako dokazati u kliničkom materijalu, na različitim podlogama. Kada raste u micelijskoj formi ne može se razlikovati od varijeteta *capsulatum*. Egzaktna identifikacija var. *duboisii* moguća je njegovom konverzijom iz micelijske u formu kvasca na krvnom, ili agaru sa infuzumom govedeg mozga i srca. Iako se odavno pretpostavljalo da je varijetet *duboisii* geofilan, tek je 1994. godine to i potvrđeno njegovom izolacijom iz uzoraka zemljišta. Osim toga, izolovan je i iz crevnog sadržaja slepih miševa, crvenih, žutih te sivo-zelenih babuna.

H. capsulatum* var. *farcinosum

Uzrokuje rasprostranjeno oboljenje pod različitim nazivima (afrička sakagija, napuljska sakagija). U upotrebi je najčešći naziv - epizootijski limfangitis. Dugo vremena ovo oboljenje je zamenjivano sa vrlo kontagioznom infekcijom kopitara - *maleus* koga uzrokuje bakterija *Burkholderia (Pseudomonas) mallei*. Nakon što su u kliničkom materijalu poreklom od konja obolelih od epizootijskog limfangitisa dokazane kvascima slične forme (1873.godine), ne dugo za tim, potvrđeno je da ovo oboljenje ne uzrokuje bakterija nego dimorfni fungus. Varijetet *farcinosum* stvara brojne mikrokonidije, nešto manje makrokonidije, prilikom inkubacije u tami na 30°C u periodu 8-12 sedmica, na agaru sa ekstraktom zemljišta. Mikrokonidije su glatke do hrapave, kruškolike ili ovalne, veličine 3-5 x 2,5µm. Makrokonidije su ovalne ili loptaste, dužine 8-12µm, širine 1-1,5µm.

***Emmonsia parva* i *E. crescens* - uzročnici adiaspiromikoze**

Adiaspiromikoza je oboljenje, prvenstveno, glodara i malih sisara. Povremeno se javlja i u ljudi. Nakon inhaliranja, konidije uzročnika dospevaju u pluća gde formiraju velike, okrugle do ovalne, nereplicirajuće ćelije - adiaspore. Obe vrste dobro rastu na uobičajenim mikološkim podlogama za rutinsku izolaciju, kao što je SDA sa glukozom, ali bez dodatka cikloheksamida. Mogućnost izolacije uzročnika znatno povećavaju podloge kao što su krompirov dekstrozni agar. Kolonije obe vrste su različite u pogledu brzine rasta, morfologije i boje. Na agaru sa krompirom i dekstrozom dostižu prečnik 4,5-8 cm, nakon inkubacije od 4 sedmice na 25°C. Mogu biti glatke, sjajne, vunaste, baršunaste ili puderaste. Takođe mogu biti ravne ili uzdignute u centru, radijalno isprugane, a boja im varira od žučkasto-bele do boje bivolje kože. Uz ove kriterijume, za diferencijaciju vrsta neophodno je ustanoviti maksimalnu temperaturu rasta. U pogledu mikroskopske morfologije ne postoje signifikantne razlike između ove dve vrste (tabela 44).

Tabela 44. *Emmonsia parva* i *E. crescens*-uzročnici adiaspiromikoza

Vrsta	Ekologija i rasprostranjenost	Karakteristike micelijuma	Teleomorf	Parazitska forma <i>in vivo</i>
<i>E. parva</i>	Dvadeset i jedna vrsta domaćina iz grupe glodara i karnivora. Ređe se nalazi u zemljištu. Geografski je ograničena na delove SAD, Kenije, Evrope i Australije	Isprepletane hife stvaraju pojedinačne „sedeće“ konidije bez peteljki. Konidije su loptaste, često šire nego duže.	Nije poznat	Ovalne ili okrugle adiaspore, 10-40µm u prečniku
<i>E. crescens</i>	Većina domaćina su iz grupe karnivora, glodara i insektivora. Raširena je u celom svetu, izuzev Afrike i Australije	Isprepletane hife stvaraju pojedinačne „sedeće“ konidije bez peteljki. Konidije su loptaste, često šire nego duže.	<i>Ajellomyces crescens</i>	Okrugle ili ovalne adiaspore promera 50-500µm. Debljina ćelijskog zida je 10-70µm.

Loboa lobo

L. lobo je fungus vrlo jednostavne građe. Uzrokuje lobomikozu, oboljenje prvi put opisano u Brazilu 1931. godine. Manifestuje se u formi brojnih papularnih i tumoroznih lezija na različitim delovima tela. Oboljenje je ustanovljeno u ljudi i delfina u oblastima Floride, Meksika i Južne Amerike. Direktnim mikroskopiranjem preparata iz lezija obolelih *L. lobo* se lako uočava jer se nalazi u velikom broju. Oblik ćelija je sličan kvasčevim i u preparatima se, obično, vide u kratkim lancima (do deset ćelija). U centru ćelija nalazi se 5-8 granula različite veličine. U preparatima iz starijih lezija ćelije *L. lobo* sadrže pojedinačne, inertne granule. Brojni pokušaji kultivacije ovog fungusa na sintetskim podlogama nisu dali rezultate. Inokulacija eksperimentalnih životinja, takođe, je neizvesna. Eksperimentalna reprodukcija oboljenja povremeno je uspešna na armandilu (*Euphractus sexcintus*), ali je za razvoj simptoma bolesti potrebno nekoliko meseci.

Paracoccidioides brasiliensis

Mada je *P. brasiliensis* izolovan iz zemljišta, naročito ruralnih područja Južne Amerike, njegovo prirodno stanište i ekologija, do sada, su ostali nepoznati. Osim iz zemljišta izolovani su i iz uzoraka hrane za pse, fecesa pingvina sa Antarktika i armandila. *P. brasiliensis* se u prirodi najčešće nalazi u područjima koja su zaštićena od varijacija u temperaturi i vlazi (kišne šume Južne Amerike). To je dimorfni fungus, a njegov dimorfizam je uslovljen promenom okolne temperature. U laboratorijskim kulturama na sobnoj temperaturi (25°C) raste u micelijskoj formi. Spororastuće bele kolonije, sa kratkim aeralnim hifama, vidljive su nakon 3-4 sedmice. Starenjem postaju somotaste i glatke sa ispucalim rubovima. Ponekad, kolonije mogu biti cerebriformne, smeđe boje. U tkivu domaćina ili u laboratorijskim kulturama na 35-37°C raste u formi kvasca. Zamućene, kremaste boje, cerebriformne kolonije se javljaju nakon 5-10 dana. Pojedinačne ćelije u preparatima su okrugle ili ovalne, 3-40µm u promeru, sa tankim ćelijskim zidom. Ove ćelije stvaraju jedan ili više pupoljaka koji su sa matičnom ćelijom povezani uskim mostićima. Ponekad veće ćelije mogu biti prekrivene brojnim pupoljcima širine 1-2µm. Varijacije u veličini i broju blastokonidija kao i njihova veza sa roditeljskom ćelijom je karakteristična. Prekrivenost velikih ćelija brojnim malim pupoljcima je patognomonična.

FUNGI PRODUCENTI MIKOTOKSINA

Mikotoksini su relativno male molekule, vrlo različite hemijske strukture i biološke aktivnosti. Većinu mikotoksina proizvode fungi iz rodova *Fusarium*, *Aspergillus* i *Penicillium*. Kao sekundarni metaboliti nekih vrsta funga mogu izazvati različite patološke promene u ljudi i životinja. Mikotoksini nisu esencijalni za održavanje života ćelija funga (obezbeđenje energije, strukturnih

komponenti, enzima). To su produkti koji fungima daju kompetitivne prednosti prema ostalim fungima i bakterijama. Skoro svi mikotoksini su citotoksični jer oštećuju različite ćelijske strukture, pre svega membrane i interferiraju sa vitalnim ćelijskim procesima kao što su sinteza proteina i nukleinskih kiselina. Različiti su u specifičnosti i jačini delovanja prema ciljnim ćelijama, njihovim strukturama i procesima. Različitost u specifičnosti, načinu i jačini delovanja uslovljena je vrstom (sojem) funga-producenta mikotoksina. Toksinogeni fungi variraju u produkciji mikotoksina, naročito, u odnosu na supstrat, vlagu i temperaturu na kojoj se razmnožavaju. Prisustvo kompetitivnih mikroorganizama u supstratu je, takođe, veoma bitno (simbiotsko ili antagonističko delovanje). Neki, inače toksinogeni fungi u laboratorijskim uslovima i u čistoj kulturi gube sposobnost stvaranja mikotoksina.

*Tabela 45 . Fungi producenti većeg broja mikotoksina**

Fungi	Broj mikotoksina koje proizvode
<i>Fusarium monilliforme</i>	32
<i>Fusarium avenaceum</i>	29
<i>Fusarium nivale</i>	28
<i>Fusarium culmorum</i>	27
<i>Fusarium roseum</i>	25
<i>Fusarium equiseti</i>	22
<i>Fusarium oxysporum</i>	18
<i>Aspergillus ustus</i>	4
<i>Aspergillus flavus</i>	3
<i>Alternaria alternata</i>	3

*Ostale vrste mikotoksičnih funga proizvode po dve, odnosno jednu vrstu mikotoksina

Tabela 46. Poreklo i delovanje važnijih mikotoksina

Fungi	Biotop/Habitat	Mikotoksin (u hrani)	Efekti (obolenja)
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Kikiriki, kukuruz, mahunarke	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 (riža, ma- nioka-kazava, ulja, margarin, mleko)	Antimitotični, teratogeni, kancerogeni, hepato- i nefrotoksični, oslabljen imuni odgovor, zastoj u rastu (aflatoksikoze, X-bo- lest ćurki)
<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Pe- nicillium verrucosum</i> , <i>P. viridictum</i>	Kukuruz	Ohratoksin A, B i C, Maltorizin (kukuruzno brašno)	Hepatotoksičan, nefro- toksičan. U peradi izaziva različite simptome
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. nidu- lans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium rugulosum</i>	Žitarice	Sterigmatocistin (buđavo brašno)	Hepato- i nefrotoksičan, kancerogen, mutagen
<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Peni- cillium expansum</i> , <i>P. roquefortii</i> , <i>P. clavifor- me</i> , <i>P. griseofulvum</i> , <i>Botrys spp.</i>	Žitarice	Patulin	Kancerogen, antibiotski, antidiuretički, paraliza centra za disanje
<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. hirstum</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>Aspergillus carneus</i> , <i>A. terreus</i>	Pirinač	Citrinin	Nefrotoksičan, parasimpa- tikomimetik
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Žitarice	Notatin	Stvaranje methemoglobina
<i>Penicillium islandicum</i>	Pirinač, mahunarke	Luteosikrin	Hepatotoksičan, kance- rogen
<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. gramineum</i> , <i>F. oxys- porum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. moni- liforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. nivale</i>	Kukuruz, mahunarke	Zearalenon	Estrogeni efekti (izaziva abortuse)
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	Žitarice	Fuzaridin (brašno)	Artritis, poremećaji u rastu (<i>Kashin-Beck</i> oboljenje, alimentarna toksična ane- mija)
<i>Sporidesmium bakeri</i>	Ljuljika	Sporodesmin, Filo- eritrin	Fotosenzibilitet, citotoksi- čan, hepatotoksičan
<i>Paecilomyces variotii</i>	Voće, žitarice	Bizoklamična kise- lina (voćni sokovi, brašno)	Hemoragični sindrom peradi

Bitno je istaći da većina mikotoksina ima imunosupresivni efekat na organizam ljudi i životinja. Različiti mikotoksini imaju različite ciljne nivoe delovanja na imunološki sistem. Sve to za posledicu ima i slabljenje otpornosti organizma prema različitim infektivnim i neinfektivnim agensima. Spektru delovanja mikotoksina, pored već navedenih, treba pridodati i njihov teratogeni, mutageni i kancerogeni efekat. Osim opšteg delovanja na organizam (imunosupresija), pojedini mikotoksini su se „specijalizirali“ i za pojedine organske sisteme. Delovanje mikotoksina na vaskularni sistem manifestuje se smanjenjem elastičnosti krvnih sudova (povećana fragilnost), krvarenjima u tkiva i telesne šupljine (*aflatoksin*, *satratoksin*, *roridin mikotoksini*). Ergotizam, odnosno vazokonstrikciju krvnih sudova uzrokuje ergot alkaloid koga proizvodi fungus *Claviceps purpurea*. Kada je u pitanju digestivni sistem; prolivi, povraćanje, nekroza i fibroza jetre su najčešći simptomi, a izaziva ih aflatoksin. Različite respiratorne simptome i krvarenja iz pluća uzrokuju trihoteceni. Nervne simptome (tremor, poremećena koordinacija, depresija i glavobolja) izazivaju tremorgen i trihoteceni. Osip, upale, ljuštenje kože i fotosenzibilizaciju uzrokuju trihoteceni, a toksično delovanje na urinarni sistem ispoljavaju ohratoksin i citrinin. Pobačaji, sterilnost i poremećaji reproduktivnog ciklusa rezultat su delovanja zearalenona.

Pored navedenih, mikotoksini imaju još neka svojstva koja ih čine posebnim. Otporni su na visoke temperature (termorezistentni) tako da se termičkom obradom supstrata u kome se nalaze, eventualno može umanjiti, ali ne i neutralisati njihov toksični efekat. Na njih ne deluju antibiotici niti druga terapijska sredstva. Veće doze mikotoksina unešene u organizam u kraćem periodu izazivaju akutne mikotoksikoze, koje mogu imati fatalan ishod. Manje doze, kroz duži vremenski period, imaju kumulativni efekat koji se najčešće manifestuje teratogenim, mutagenim i kancerogenim djelovanjem. Spektar i intenzitet simptoma, osim od vrste i količine mikotoksina, zavisi i od starosti, pola i zdravstvenog statusa organizma. Izrazito mladi i stariji organizmi na unešene mikotoksine reaguju intenzivnijim simptomima trovanja, zbog nepotpuno razvijenog imunog sistema (u mladima) ili zbog njegovog slabljenja (u starijima). Žene i ženske životinje su, generalno, osetljivije na delovanje mikotoksina. Organizmi prethodno iscrpljeni infektivnim, parazitarnim i metaboličkim oboljenjima osetljiviji su na mikotoksine. Mikotoksikoze nisu zarazna obolenja. Organizam se intoksicira individualno preko hrane ili na drugi način. Nije moguć prenos između životinja i ljudi ili od životinje na životinju.

FUNGI UZROČNICI MIKOALERGOZA

Mikoalergoze su alergijske reakcije organizma ljudi i životinja uzrokovane alergenima nepatogenih i patogenih funga sa kojima dolaze u direktan kontakt, udisanjem, hranom ili na drugi način. Osetljivost organizma prema različitim fungima je razlog oboljevanja od alergijskog rinitisa i astme, pneumonitisa, alergijske bronhopulmonarne mikoze i alergijskog fungalnog sinusitisa. Više

od 80 rodova iz carstva funga smatra se uzročnicima respiratornih, odnosno alergijskih smetnji.

Tabela 47. Fungi, uzročnici alergija u otvorenim i zatvorenim prostorima

Otvoreni prostor	Zatvoreni prostor
<i>Alternaria alternata</i> *	<i>Rhodotorula rubra</i> **
<i>Stemphylium botryosum</i>	<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> **
<i>Botrys cinerea</i>	<i>Chaetomium globosum</i>
<i>Cladosporiu herbarum</i>	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> **
<i>Culvularia inaequalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Culvularia lacunata</i>	<i>Aspergillus repens</i>
<i>Culvularia spicifera</i>	<i>Aspergillus sydowii</i>
<i>Helmintosporium solani</i>	<i>Mucor mucedo</i>
<i>Epicoccum nigrum</i> *	<i>Rhizopus nigricans</i>
<i>Penicillium chrisogenum</i>	<i>Stachybotrys chartarum</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium roseum</i> **
<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Fusarium monilliforme</i>
<i>Fusarium roseum</i>	<i>Paecilomyces variolata</i>
<i>Monilia sitophyla</i> *	<i>Acremonium strictum</i>
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	<i>Gliocladium roseum</i> **
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Verticillium alboatrum</i> **

*I u zatvorenom prostoru

**I u otvorenom prostoru

Uopšteno rečeno, ne postoji zatvoreni ili otvoreni prostor koji, u manjoj ili većoj meri, ne sadrži određene vrste funga ili njihove elemente, naročito spore. Inhalacijom spora funga i verovatno njihovih metabolita može se javiti čitav spektar respiratornih, odnosno alergijskih manifestacija, koje se mogu kretati u rasponu od infektivnih do neinfektivnih.

FUNGIMA SLIČNI MIKROORGANIZMI

Rhinosporidium seeberi

Ubraja se u fungima slične, slabo patogene mikroorganizme. Do sada nije uspela njegova kultivacija *in vitro*. U saprofitskoj formi se nalazi u vodi, tlu i đubrištima. U organizmu ljudi i životinja raste u formi kvasca. Prirodno stanište

za *R. seeberi* su priobalna područja bara i jezera ili okolno zemljište, koje za ljude i životinje predstavlja izvor infekcije. Dominantno, nazalna rinosporidioza u životinja koje piju vodu na ovakvim mestima potvrđuje ovu pretpostavku. Obolenje se karakteriše hroničnim tokom i benignim bujanjem granulomatoznih polipa, pretežno, u nosnoj regiji i gornjim dišnim putevima. Rinosporidijske sporangije, kao morfološka forma, javljaju se u tkivu domaćina, a zavisno od faze obolenja prolaze kroz stadijum mladih, intermedijarnih i zrelih sporangija.

Pythium insidiosum

Vrste roda *Pythium* su zbog svojih ekoloških i fizioloških osobina jedinstvene. Nalaze se u zemljištu, đubrištima i vodenim površinama širom sveta. Ekonomski su značajne u šumarstvu i drvnoj industriji jer uzrokuju propadanje drveća i nižih biljaka. S druge strane, znatne štete čine i u ribarstvu jer uzrokuju oboljenja riba. Od, do sada, poznatih vrsta samo je *P. insidiosum* patogen za sisare u kojih uzrokuje kožne, potkožne, te lezije krvnih sudova, digestivnog trakta i ređe kostiju i pluća. Ukoliko se ne tretira, obolenje je najčešće smrtonosno.

***Prototheca* i *Chlorella* vrste**

Prototheca su alge bez hlorofila. Na osnovu molekularnih istraživanja slične su pravim algama - *Chlorella* spp. *P. wickerhamii*, *P. zopfii* i *C. protothecoides* su ubikvitarni mikroorganizmi okoline. Česte su u životinjskom izmetu, prostirci i poljoprivrednim otpacima koji zagađuju vodene sisteme, hranu i pomoću kojih dospevaju do ljudi i životinja. Organskim otpadom „obogaćena“ voda je glavni izvor infekcije. Navedeni mikroorganizmi mogu se izolovati iz svežeg mleka, sperme bikova, prostora, pribora i bližeg okruženja farmi mlečnih krava. Protektoza ljudi je sporadično obolenje. Infekcije životinja, npr. mastitisi goveda, su česti, ali se u većini slučajeva ne dijagnosticiraju.

Chlorella vrste se mogu izolovati iz slučajeva upale limfnih čvorova goveda (limphadenitis) i jetre ovaca. Identifikacija izolata je problematična.

Pneumocystis carinii

P. carinii je eukariotski mikroorganizam sličan fungima. Izaziva *Pneumocystitis carinii* pneumoniju. Mikroskopski je dokazan nalazom karakterističnih cista u preparatima pluća, filogenetski udaljenih vrsta životinja iz porodica mačaka, pasa, glodara, kopitara i primata. Pokušaji *in vitro* kultivacije, do sada, nisu uspeli. Pojavi *P. carinii* pneumonije prethode faktori rizika kao što su poremećaji ćelijskog imunog odgovora izazvani imunosupresivnim agensima (kortikosteroidi i antikancerogeni preparati), kongenitalni poremećaji imunog sistema, iscrpljenost i neuhranjenost, te vrlo često infekcija HIV virusom.

Laboratorijska dijagnostika gljivičnih oboljenja

Vesna Lalošević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Klinički uzorak za postavljanje mikološke dijagnoze zavisi od oboljenja koje fungi izazivaju. U slučaju infekcija kože ili dlaka uzima se strugotina s perifernog dela lezije uz pomoć skalpela ili hirurške kašike. Mikroskopsko ispitivnja služi za ispitivanje morfologije gljiva u kliničkom uzorku. Najčešće se pravi preparat sa 10-30% KOH ili laktofenolom. Mala količina uzorka se usitni, stavi na predmetno staklo, doda se 1-2 kapi KOH ili laktofenola i pokrije ljusticom. Preparat se inkubira na sobnoj temperaturi 30 minuta radi razgradnje ćelijskih elemenata, nakon čega se jasno vidi morfologija. Mikroskopira se na malom i srednjem uveličanju mikroskopa.

Za neke vrste (*Cryptococcus neoformans*), može se koristiti tuš preparat po *Burry*-ju.

Gljive se mogu bojiti PAS metodom (*periodic acid Schiff*) tako što se alkoholom fiksirani preparati prelivaju *Schiff*-ovim reagensom i pikrinskom kiselinom. Na ovaj način gljivični elementi se oboje ružičasto-crveno, a tkivo i leukociti bledo žuto.

Kultivacija funga radi se na specijalnim podlogama kojima se dodaju antibiotici i cikloheksamid koji sprečavaju razvoj bakterija i saprofitnih plesni. Inkubacija se radi u termostatu na 37°C i na sobnoj temperaturi (22°C). Većina patogenih gljiva zbog sporog rasta zahteva produženu inkubaciju (i do 3-4 nedelje) izuzetak su *Candida albicans* i *Cryptococcus neoformans*, koje porastu za 2-5 dana.

Najčešće korišćene podloge u mikologiji su: *Saboureaud* 2% dekstrozni agar, PDA (*potato dextrosa agar*), postoje i komercijalne specijalne podloge za dermatofite. Dijagnoza se postavlja na osnovu morfologije kolonija, dužine rasta i temperature kultivacije.

Za dijagnostiku se koriste i lateks aglutinacija i ELISA, serološke metode za detekciju antigena u kliničkim uzorcima. Molekularne metode (PCR) još uvek nisu ušle u rutinsku upotrebu.

LITERATURA

1. Ajello L., Hay J.R. 1999.: Medical Micology. Vol.4, ARNOLD, USA
2. Angen O, Ahrens P, Kuhnert P, Christensen H, Reinier M. (2003) Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov. for the three species incertae sedis 'Haemophilus somnus', 'Haemophilus agni' and 'Histophilus ovis' International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53, 1449–1456
3. Asanin R. Krnjajic D, Milic N. Prirucnik sa praktcnim vezbama iz mikrobiologije sa imunologijom. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu. Beograd, 2006
4. Ayling R., Bashiruddin S.E., Nicholas R. (2004): Mycoplasma species and related organisms isolated from ruminants in Britain between 1990 and 2000. Vet.Rec., 155, 413-416.
5. Baas E.J., Trotter S. L., Franklin R.M., Barille M.F.(1997): Epidemic Caprine Keratoconjunctivitis: Recovery of *Mycoplasma conjunctivae* and Its Possible Role in Pathogenesis. Infect. Immun., 3, 806-815.
6. Ball H.J. (1990): Use of bovine sheath washings for screening for mycoplasmas. Vet.Rec., 127, 16-17.
7. Ball H.J., Armstrong D., Kennedy S., McCaughey W.J.(1987): Experimental intrauterine inoculation of cows at oestrus with a bovine ureaplasma strain. Irish Vet., 41, 371-372.
8. Blackall P. J. (1999) Infectious Coryza: Overview of the Disease and New Diagnostic Options Clin Microbiol Rew, Vol. 12, p. 627–632
9. Bar-Moshe B., Raport E., Brenner J.(1984): Vaccination trials against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large colony type) infection in goats. Isr. J.Med.Sci., 20, 972-974.
10. Bergonier D., Bertholet X., Poumarat F.(1997): Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. Rev.sci. tech.Off. in t.Epiz., 16, 848-873.
11. Corsaro D., Valassina M., Venditti D.(2003): Increasing diversity within *Chlamydiae*. Critical Reviews in Microbiology. 29, 1, 37-78.
12. Corsaro D., Venditti D.(2004): Emerging clamydial infection. Critical Reviews in Microbiology. 30, 2, 75-106.
13. Chen X, Mifflin J. K., Zhang P. Blackall J. (1996) Development and Application of DNA Probes and PCR Tests for *Haemophilus paragallinarum* *Avian Diseases*, Vol. 40, No. 2, 398-407
14. Dixon M.D., Fromtling A.R.: Morphology, Taxonomy, and Classification of the Fungi, 579-600. In: Manual of Clinical Microbiology (Fifth edition); Hausler J.W.Jr., Herman L.K., Isenberg D.H., Shadomy J.H. (editors), American Society for Microbiology, 1991.
15. Duraković, S., Redžepović, S. (2002) Uvod u opću mikrobiologiju. Kugler, Zagreb

16. Everet K.D.E. (2000): *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. *Veterinary Microbiology*. 75, 2, 109-126.
17. Ertas Basri H, Kilic A, Ozbey G, Muz A. (2005) Isolation of Arcano-bacterium (*Actinomyces*) pyogenes from Abscessed Cattle Kidney and Identification by PCR *Turk J Vet Anim Sci*, No.29, 455-459
18. Fukushi H., Hirai K.(1992): Proposal of *Chlamydia pecorum* sp.nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants. *Internatiional Journal of Systematic Bacteriology*, 42, 306-308.
19. Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen CO. 2004. Pathogenesis of bacterial infections in animals, third edition, Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA
20. Hageman W.A., Bruner D.W. Infections diseases of domestic animal, Cornell University Pres, 7th ed. 1988, USA
21. Hirsh D, Chung ZY. (1999) *Veterinary Microbiology*, Bleckwell Science, Inc
22. Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras J.M.: *Atlas of Clinical Fungi* (second edition). Universitat Rovira i Virgili Reus, Spain, 2000.
23. Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J., Williams, S. 2000.: *Bergey' s Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Lippincott William & Wilkins, Philadelphia
24. Horn M., Wagner M.(2000): Evidence of additional genus-level diversity of *Chlamydiales* in the environment.*FEMS Microbiology Letters*, 204, 1, 71-74
25. Jarak, M., Govedarica, M. 2001.: *Mikroorganizmi u stočarskoj proizvodnji*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad
26. Kennan RM, Dhungyel OP,Whittington RJ, Egerton JR, Rood JI. (2001) The Type IV Fimbrial Subunit Gene (*fimA*) of *Dichelobacter nodosus* Is Essential for Virulence, Protease Secretion, and Natural Competence., *J Bacteriol*. 183(15): 4451–4458
27. Jemcev, V., Đukić, D. 2000.: *Mikrobiologija*. Vojnoizdavački zavod, Beograd
28. Madigan T.M., Martinko M.J., Parker J.: *Biology of Microorganisms* (ninth edition), Prentice Hall, Upper Saddle River, USA, 2000.
29. Midgley G.: The lipophilic yeasts: state of the art and prospects. *Med.Mycol.* 38 (Suppl.1), 9-16, 2000.
30. Merck Veterinary Manual, www.merckvetmanual.com
31. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of clinical Microbiology*, 8th ed. ASM Press, Washington DC, 2003.
32. Ožegović D.L., Pepeljnjak S.: *Mikotoksikoze*. Školska knjiga, Zagreb 1995.
33. Ossewaarde J.M., Meijr A. (1999): Molecular evidence for existance of additional members of the order *Chlamydiales*. *Microbiology*, 145, 2, 411-417.
34. Pecic J, Jelesic Z. Porodica Enterobacteriaceae. U: Medicinska mikrobiologija. Svabic- Vlahovic M. i saradnii. Savremena administracija, Beograd, 2008:233-265

35. Prescott, L., Harley, J., Klein, D. 2002.: Microbiology. McGraw-Hill, Boston
36. Qinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. (1994) Clinical veterinary microbiology, Mosby International
37. Qinn J.P., Carter E.M., Markey K.B., Carter R.G.. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby, Edinburgh-Toronto, 2000
38. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby, London, 1998.
39. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJC, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science, Oxford UK, 2002.
40. Razin S. (1985): Mycoplasma adherence, In: The *Mycoplasmas*, vol. IV. Mycoplasma pathogenicity., Razin S., Barile F.M (eds.), 161-202, Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
41. Razin S. (1991): The genera *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Acholeplasma*, *Anaeroplasm* and *Thermoplasm*. In: The prokaryotes, vol 2., 2nd., Balows A., Truper G.H., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.H. (eds.), 1937-1959, Springer-Verlag, New York, N.Y.
42. Razin S. (1992): Mycoplasma taxonomy and ecology. In: *Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis*. Maniloff J., McElhaney N.R., Finch R.L., Baseman B.J. (eds.), 3-22, American Society for Microbiology, Washington DC.
43. Razin S., Jacobs E. (1992): Mycoplasma adhesion. J. Gen. Microbiol., 138, 407-422
44. Songer G, Post K. (2005) Veterinary Microbiology, Bacterial and fungal agents of animal disease, Elsevier Saunders, ISBN 0-7216-8717-2
45. Summerbell C.R.: Form and the function in the evolution of dermatophytes. In: Kushawa R.K.S., Guarro J. (eds.), Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, Spain, p. 30-43, 2000
46. Shnuel R., Yogev D., Yeludit N. (1998): Molecular biology and pathogenicity of *Mycoplasmas*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62, 4, 1094-1156, American Society for Microbiology.
47. Takahashi T., Masuda M., Tsumo T., Mori J., Takashima I., Hiramune T., Kikuchi N. (1997): Phylogenetic analyses of *Chlamydia psittaci* from birds based on 16S rDNA gene sequence. Journal of Clinical Microbiology, 35, 11, 2908-2914.
48. Šeguljev Z., Vidić B., Šajgalik M.: The importance of sheep in the epidemiology of Q-fever in Vojvodina. Folia veterinaria, 41, 3-4, str. 107-111, 199
49. Šeguljev Z., Vidić B., Vuković B., Jerant-Patić V., Boboš S.: Rizik koji predstavlja infekcija izazvana sa *C. burnetii* za korisnike sirovog mleka u ishrani. Veterinarski glasnik, 48, 3-4, 299-301, 1994

-
50. Vidić B., Mihajlović B., Galić M., Pavlović R., Boboš S.: Findings of antibodies for *C.burnetti* with cows having clinical indications of Q-fever. *Acta Veterinaria*, 40 , 1, str.27-30, 1990.
 51. Vidić B., Boboš S., Grgić Ž., Orlić D., Bugarski D.: Sheddings of *coxiella burnetii* through milk and its influence on the mammary gland.Proceedings, 1.Middle-European Congress for buiatrics, Balatonfured, Hungary, 1999, 316-322.
 52. Vidić B., Boboš S., Lazić S., Bojović G.: Q-groznica u krava - imunoprofilaksa i njen uticaj na izlučivanje *C.burnetii* u mleku.Vete Vidić B., Boboš S., Lazić S., Bojović G.: Q-groznica u krava - imunoprofilaksa i njen uticaj na izlučivanje *C.burnetii* u mleku.*Veterinarski glasnik*, 44 , 1,27-32, 1990
 53. Weaver, R. 2002.: *Molecular Biology*. McGraw-Hill, Boston

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотека Матице српске, Нови Сад

579.62(075.8)

MIKROBIOLOGIJA za studente veterinarske medicine / urednik
Vesna Lalošević. - Novi Sad : Poljoprivredni fakultet, Departman za
veterinarsku medicinu, 2011 (Novi Sad : Mala knjiga). - 272 str.: ilustr.:
24 cm

Tiraz 100. - Bibliografija

ISBN 978-86-7520-214-1

1. Лалошевић, Весна

а) Микробиологија

COBISS.SR-ID 263149831

