**Наставна јединица 8**

**GRAM- ПОЗИТИВНЕ И GRAM- НЕГАТИВНЕ КОКЕ**

***STAPHYLOCOCCUS*: ПИОГЕНЕ ИНФЕКЦИЈЕ И БОЛЕСТИ ПОСРЕДОВАНЕ ТОКСИНИМА**

**Увод**

*Staphylococcus* *aureus* (Gram-позитивна кока) је један од најзначајнијих узрочника пиогених (гнојних) инфекција код људи. Ова бактерија колонизује слузницу носа 30-40% људи, а може да насели и остале регионе слузнице и кожу. *Staphylococcus* *aureus* изазива гнојна обољења која су резултат локалног ткивног оштећења, а то су фокални апсцеси готово на свим местима у организму, фурункул или чир (на кожи), пнеумонија, остемијелитис и ендокардитис. Поред пиогених обољења, неки сојеви продукују снажне егзотоксине којима изазивају обољења посредована токсинима:

1) **токсични шок синдром** (TSS, енгл. *Toxic Shock Syndromе*) изазван токсинима: токсични шок синдром токсин-1 (TSSТ-1, енгл. *Toxic Shock Syndromе Toxin-1*) и стафилококни ентеротоксин серотипа А;

2) **стафилококни синдром опарене коже** (SSSS, енгл. *Staphylococcal Scaled Skin Syndrome*) изазван ексфолијатином серотипа -А и -В;

3) **стафилококно тровање храном** услед уношења стафилококног ентеротоксина серотипа -А, -Е и -I.

Токсични шок синдром је тешко обољење које настаје као резултат фокалне инфекције *S.* *aureus-*ом који продукује токсин. Оваква фокална инфекција може бити локализованана било ком месту, а најчешће на слузници вагине и дисајних путева. Стафилококни синдром опарене коже је друго тешко обољење које се најчешће јавља код новорођенчета, услед фокалне инфекције, нарочито горњег респираторног система, изазване *S.* *aureus-*ом који продукује ексфолијатин.

*Staphylococcus* *aureus* поседује бројне површинске факторе вирулеције и продукује егзотоксине и ензиме. Ови секретовани и површински фактори вирулеције стафилокока делују углавном локално и чини их отпорним на фагоцитозу неутрофилима. Тако на пример, ***clumping* фактор** (познат као и коагулаза) везује фибрин и на тај начин учествује у формирању зида апсцеса којим су бактерије заштићене од фагоцита. Поред тога, неки фактори делују системски и узрокују поремећај имунског система (нпр. TSSТ-1). Због свега наведеног, стафилококе су веома адаптиране патогене бактерије чија је елиминацаја изузетно отежана па су одговорна за многа обољења људи укључујући и интрахоспиталне инфекције (Tабела 1).

**Табела 1.**

|  |
| --- |
| Обољења изазвана *Staphylococcus* *aureus*-ом |
| **Инфекције коже и меког ткива**  фурункул, карбункул  инфекције ране (трауматске и хируршке)  целулитис  импетиго (такође изазван и стрептококама)  бактеријемија (најчешће са метастатским апсцесима)  **Ендокардитис**  **Инфекције централног нервног система**  апсцес мозга  менингитис (ретко)  епидурални апсцес  **Плућне инфекције**  пнеумонија  **Инфекције мишића и костију**  остеомијелитис  артритис  **Генитоуринарне инфекције**  апсцес бубрега  инфекција доњег уринарног система  **Обољења посредована токсинима**  токсични шок синдром  некротизирајућа пнеумонија  синдром опарене коже  тровање храном (гастроентеритис) |

**Опште карактеристике стафилокока**

*Staphylococcus* *aureus* је велика (пречника 1µm) Gram-позитивна кока, лоптастог облика која расте у облику гроздова. Не ствара споре и дужи временски период може да преживи у сувој и неживој средини. Уз то, ова бактеријаје отпорна на високу темпаратуру. Све наведене особине чине *S.* *aureus* једном од најотпорнијих бактерија.

Род стафилокока обухвата неколико врста (Табела 2). Најчешће убиквитарна бактерија из рода стафилокока је *Staphylococcus epidermidis* који насељава кожу већине људи и ретко изазива обољења код здравих људи. Ова бактерија изазива бројне инфекције у болничкој средини и то код пацијената са различитим имплантатима (нпр. интравенски катетери, васкуларни калемови, вештачки зглобови). Генерално, *S.* *aureus* изазива веома тешка обољења као што су пнеумонија, обољења костију и зглобова, ендокардитис, сепсa и токсични шок синдром. *S.* *aureus* једобио назив по карактеристичном пигменту који колонијама даје златножуту боју (колоније других врста стафилокока су беле боје, али понекад, колоније *S.* *aureus-*а су такође беле). Карактеристика *Staphylococcus saprophyticus*-а је да искључиво изазива уринарне инфекције*. Staphylococcus lungdunensis* може да изазове агресивни ендокардитис.

**Табела 2.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Врсте | Коагулаза | Боја колонија | Резистенција на новобиоцин |
| *Staphylococcus* *aureus* | + | Бела и златно жута | - |
| *Staphylococcus*  *epidermidis* | - | Бела | - |
| *Staphylococcus*  *saprophyticus* | - | Бела | + |
| *Staphylococcus*  *lungdunensis* | - | Бела | - |

Идентификација стафилокока у лабораторији је релативно лака. Све стафилококе формирају колоније на вештачким хранљивим подлогама и боје се по Gram-у. Заједничко за овај род бактерија је да формирају гроздасте формације (*Staphylo-* потиче од грчке речи што означава "грозд"). Коагулаза тест се користи заразликовање *S.* *aureus*-аод осталих врста стафилокока. За разлику од другихврста стафилокока које не продукују, *S.* *aureus* ослобађа слободну коагулазу, ензим, који коагулише плазму због чега је *S.* *aureus* коагулаза- позитивна бактерија. *S.* *aureus* поседује клампинг фактор (везану коагулазу) којi у плазми индукује формирање коагулума око бактерија.

Различите врсте стафилокока се идентификују захваљујући разликама у њиховој осетљивости на панел антибиотика.

**Епидемиолошке карактеристике стафилокока**

Стафилококе преживљавају у живој, али и у неживој средини (нпр. постељина, квака и одећа). Људи су главни резервоар *S.* *aureus*-а. Ова бактерија колонизује слузницу носа код 30-40% здравих људи. Нека истраживања указују на то да у неком периоду живота, *S.* *aureus* колонизује слузницу носа код више од 90% људи. Ова бактерија транзиторно колонизује кожу, орофаринкс, вагину и фецес. Стафилококе успешно колонизују кожу јер могу да расту у условима високе концентрације соли и липида. Такође, продукују ензиме, **липазе** и **хидролазе,** којима разграђују заштитни масни слој коже. Способност *S.* *aureus*-а да колонизује кожу и слузницу је омогућена захваљујући присуству бактеријских површинских молекула (MSCRAMMs, енгл. Microbal Surface Components Recognizing Adhezive Matrix Molecules) којима се везују за различите екстраћелијске протеине матрикса домаћина. Протеини који **везују фибронектин** (енгл. *Fibronectin-binding proteins*, **FnbpA** и **FnbpB**) су идентификовани на површини *S.* *aureus*-а и представљају важне факторе вируленције који омогућавају инвазију бактерија у дубља ткива. Тако на пример, FnbpB омогућава бактерији да инвадира епителне и ендотелне ћелије и да се везује за фибронектин у ранама.

Стафилококе се преносе директним контактом или путем аеросола. *S.* *aureus* је важан узочник секундарне инфекције код пацијената који се опорављају од грипа и крупа. Новорођенче је колонизовано *S.* *aureus*-ом убрзо након рођења, а преноси се са људи из његовог непосредног окружења. Неки људи су клицоноше дужи временски период, док су други само повремено. Људи одређене професије (нпр. лекари, медицинске сестре и друго болничко особље) су склони колонизацији *S.* *aureus*-ом. Такође, код одређене групе пацијената као што су оболели од дијабетеса, пацијенти на хемодијализи, као и они којима се дужи временски период интравенски апликују лекови постоји већи ризик да буду клицоноше у односу на општу популацију.

**Улазно место стафилокока**

*S.* *aureus* и већина других бактерија обично не пенетрирају у дубља ткива ако је интегритет коже и слузница очуван. Оштећења коже могу бити узрокована опекотинама, акциденталним ранама, лацерацијама, уједом инсеката, хируршким интервенцијама или кожним обољењима. Ако су присутне у великом броју, неке бактерије укључујући и *S.* *aureus* спонтано улазе кроз кожу и слузнице и изазивају обољења. Ово се дешава у случају лоше хигијене или пролонгиране влажности коже што олакшава раст великог броја бактерија. Није познато да ли су у том случају инфекције изазване спонтаном пенетрацијом бактерија или њиховим уласком кроз инапарентне посекотине и абразије.

**Ширење и умножавање стафилокока**

Преживљавање *S.* *aureus*-а у ткивима зависи од неколико фактора: броја бактерија, места уласка, брзине развоја запаљенске реакције и имунског статуса домаћина. Ако је инокулум мали а домаћин је имунски компетентан, инфекција у овом случају је обично заустављена. Међутим, стафилококе користе сложену и ефикасну стратегију тако да *S.* *aureus* може да изазове инфекцију код здравих, имунокомпетентних особа*.* Срећом, у већини случајева, места инфламације остају локализована.

**Оштећења ткива изазвана *S. aureus*-ом**

Већина локалних стафилококних инфекција утиче на формирање гнојне колекције тј. **апсцеса**. Апсцес у кожи се назива чир или **фурункул**. Више удружених фурункула чине **карбункул**. Стафилококе могу да се шире у поткожно ткивo што за последицу има дифузну инфламацију тј. **целулитис.** У већини случајева, ове кожне инфекције су изазване *S.* *aureus-*ом.

Развој апсцеса је сложен поцес на који утичу фактори бактерија и домаћина. Најпре се развија **акутна запаљенска реакција** са брзим и екстензивним инфлуксом леукоцита (нпр. неутрофила). Хемотактички фактори, пореклом из бактерија, као и компоненте комплемента се ослобађају у великој количини. Неке стафилококе нису само способне да преживе убилачке механизме неутрофила, већ продукцијом цитолизина, могу и да убију и лизирају многе неутрофиле на месту инфекције. Из лизираних неутрофила ослобађа се велика количина ензима из лизозома што резултира оштећење околног ткива.

MSCRAMMs и интензивни имунски одговор, заједничким деловањем омогућавају да се ово место инфекције окружи дебелим зидом тј. фибринском капсулом. Центар апсцеса је обично некротичан и садржи дебрис мртвих неутрофила и епителних ћелија, мртвих и живих бактерија као и течност. Апсцес је јасно ограничен од околног ткива и садржи гној. Апсцес може да представља извор токсина као што су TSSТ-1, стафилококни ентеротоксини и молекули слични стафилококном ентеротоксину који могу да индукују токсични шок синдром.

Колики је значај неутрофила у стафилококним инфекцијама најбоље илуструје **хронична грануломатозна болест**, наследни поремећај у функцији фагоцита. Ову фаталну болест карактеришу учестале и тешке инфекције изазване *S.* *aureus-*ом. Неутрофили оболелих не могу да продукују хидроген пероксид неопходан за убијање бактерија што за последицу има учестале стафилококне инфекције.

*S.* *aureus* поседује бројне факторе вируленције којима или спречавају фагоцитозу или преживљавају унутар фагоцита. Ови фактори подразумевају солубилне ензиме, токсине и бактеријске површинске структуре. Више од 90% сојева *S.* *aureus*-а који узрокују обољења поседују **капсулу** која инхибира фагоцитозу. Стафилококе имају и слузав омотач који их штити од неутрофила. **Пептидогликан,** у саставу ћелијског зида *S.* *aureus*-а, активира алтернативни пут активације комплемента и на тај начин доприноси у запаљенској реакцији. Слично ендотоксину, липотеихоична киселина, у саставу пептидогликана, интерагује са TLR (енгл. *Toll-Like Receptors*) а нарочито са TLR-2 на површини макрофага и на тај начин стимулише ослобађање проинфламаторних цитокина из фагоцита. **Липотеихоична киселина** и теихоична киселина су полимери рибитола и глицерофосфата за које се претпоставља да су такође укључени у активацију комплемента, као и у адхезију бактерија за површину слузница.

Следећа структурна компонента ћелијског зида стафилокока је **протеин А** који се везује за Fc фрагмент IgG. Овакво везивање, онемогућава функцију антитела јер спречава везивање Fab фрагмента (који служи за везивање антигена) за површину бактерија. Резултат свега наведеног је смањена опсонизација бактерија. Бактерије које расту, у својој непосредној околини, ослобађају протеин А који служи за везивање слободних антитела и на тај начин такође избегавају опсонизацију.

Поред ових структурних компоненти, *S.* *aureus* секретује и бројне ензиме и токсине који директно ометају функцију фагоцита. **Каталазе** разграђују водоник пероксид, и на тај начин смањујући продукцију слободних кисеоничних радикала ометају убилачку способност неутрофила. **Коагулазе** разграђују фибриноген на фибрин што штити бактерије од фагоцитозе јер леукоцити отежано пенетрирају кроз угрушак фибрина.

Неколико **токсина који формирају поре** су важни фактори вируленције *S.* *aureus*-а. Ови токсини не оштећују само фагоците већ и друге ћелије (ендотел крвних судова, ендотел бубрега, неуроне и ћелије миокарда). Токсини свој ефекат остварују тако што формирају канале у ћелијској мембрани и на тај начин значајно ремете ћелијску хомеостазу. α-, γ- и δ- токсини су означени као **хемолизини (цитолизини**) јер лизирају еритроците у крвном агару.

Други протеини, које ослобађа *S.* *aureus,* повећавају вируленцију ове бактерије и то тако што индукују оштећења ткива. Многи сојеви продукују **хијалуронидазу** која хидролизује матрикс везивног ткива што олакшава ширење бактерија кроз ткиво. Већина сојева ослобађа и липазе, као и протеазе дезоксирибонуклеазе (DNA-азе).

Поред ових фактора који оштећују ткива, *S.* *aureus* продукује супстанце које су одговорне за његову резистенцију на дејство антибиотика, од којих су најважнији **β-лактамазе** и **протеин 2А који везује пеницилин (PBP2A**, енгл. *Penicillin-Binding Protein* 2A). **β-лактамазе** су снажни ензими који разграђују бета-лактаме. PBP2Aчини бактерије резистентним на све пеницилине и цефалоспорине. Бактерије које поседују PBP2A су означенекао метицилин-резистентни *S.* *aureus* (MRSA, енгл. *Meticillin-Resistant S. aureus*). У присуству PBP2A мења се везујуће место и смањује се афинитет везивања пеницилина и цефалоспорина. Данас, више од 70% сојева *S.* *aureus*-а који изазивају интрахоспиталне инфекције и 30% сојева који изазивају ванболничке инфекције су метицилин резистентни услед присуства PBP2A.

Већина локалних стафилококних инфекција су самоограничавајуће услед спонтане дренаже гноја кроз кожу. Код здравих људи, бактерије које су напустиле локални апсцес обично бивају уништене у крви и лимфи. Када стафилококе доспеју у дубља ткива, оне настављају да колонизују она ткива која су претходно оштећена услед физичке трауме, болести или хируршке интервенције. Главна места метастатских апсцеса су добро васкуларизовани органи: кости, зглобови, плућа и бубрези. Код имунодефицијентних особа постоји повећана учесталост мултиплих стафилококних метастаза што за последицу има тешка и често фатална обољења.

Када доспе у дубља ткива, *S.* *aureus* успева да преживи и да покрене запаљенску реакцију, на сличан начин као у току развоја апсцеса на кожи. Последице формирања апсцеса у дубљим ткивима зависе од његове локализације. Последице су много озбиљније ако је локализован у плућима, срцу или мозгу.

**Оштећења ткива изазвана другим сојевима стафилокока**

*S. epidermidis* нормално насељава кожу и ретко изазива обољења. Међутим, учесталост инфекција изазваних *S. epidermidis*-ом и другим коагулаза-негативним стафилококама је у порасту код пацијената са имплантатима као што су вештачки зглобови или интравенски катетери. Када су одбрамбени механизми ослабљени, *S. epidermidis* може да изазове тешке инфекције као што су септикемија и ендокардитис. Потенцијални фактор вируленције ових бактерија је пептидогликан, као и неки егзополисахариди слузавог омотача. Слузави омотач, овим бактеријама, омогућава да се вежу за глатку површину имплантата.

*S. saprophyticus* је друга коагулаза-негативна бактерија за коју се сматра је у односу на остале стафилококе високо специјализована и да изазива инфекције уринарног система, а нарочито циститис код младих жена. Разлог њене специјализације је непознат, али се претпоставља да ова бактерија има јединствену способност да се веже за епител уретре и мокраћне бешике. Узрочник је опортунистичких инфекција урогениталног система. Данас се зна даје *S. lungdunensis* узрочник агресивног ендокардитиса. Фактори вируленције којима ова коагулаза-негативна бактерија изазива инфекцију нису познати.

**Стафилококне болести посредоване токсинима**

Стафилококе изазивају три обољења посредована токсинима. Симптоми ових обољења су резултат деловања различитих токсина, чак и у одсуству бактерија. Прво обољење је **стафилококни синдром опарене коже** које се углавном јавља код новорођенчади. Ово обољење карактерише екстензивно љуштење коже и посредовано је егзотоксинима, **ексфолијатином-А** и -**В**. Ови токсини су високо специфичне ткивне серин протеазе, а делују на нивоу дезмозома што резултира раздвајање слојева епидерма.

Друго обољење узроковано егзотоксинима је **токсични шок синдром** који карактеришу грозница, оспа по кожи и хипотензија. Ова болест је првобитно била у вези са употребом високо упијајућих тампона за које се претпоставља да омогућују улазак кисеоника у вагину и на тај начин стимулишу производњу токсина у бактеријама. Кисеоник је апсолутно неопходан за производњу токсина који индукују токсични шок синдром. Токсични шок синдром може често да прати било коју врсту стафилококне инфекције, а јавља се и код мушкараца и код жена. Од посебног значаја је и повећана удруженост токсичног шок синдрома са плућним инфекцијама и некротизирајућом пнеумонијом, а нарочито оних који су изазвани сојевима резистентним на метицилин.

Егзотоксини који су кључни у развоју токсичног шок синдрома су **TSSТ-1**, **стафилококни ентеротоксини,** а нарочито ентеротоксин серотипа -В и -С. Ова три егзотоксина, бактерије ослобађају у високим концентрацијама, што индукује развој TSS. Ови токсини функционишу као **суперантигени** који унакрсно повезују β-ланац Т-ћелијског рецептора са молекулима главног комплекса ткивне подударности II класе на макрофагима. Ефекат ове интеракције је масовно ослобађање цитокина из макрофага и Т лимфоцита који затим посредују у патогенези TSS. На пример, интерлеукин- 1 (ендогени пироген) ослобођен из макрофага изазива грозницу која се јавља у склопу TSS. TNF-α из макрофага и TNF-β ослобођен из Т лимфоцита повећавају пропустљивост капилара што за последицу има хипотензију. IFN-γ и интерлеукин-2 које синтетишу Т лимфоцити су одоговорни за осип код оболелих од TSS. Претпоставља се да масовно ослобађање IFN-γ у току TSS може и да спречи синтезу заштитних антитела која неутралишу суперантигене. Стафилококни суперантигени су структурно слични стрептококним токсинима који такође изазивају TSS.

**Стафилококни ентеротоксини серотипа -А, -Е и -I** су главни узрок тровања храном. Наведени егзотоксини изазивају обољење, уз одсутво бактерија. Другим речима, реч је о алиментарној интоксикацији која настаје уношењем контаминиране хране. Ови токсини убрзавају цревну перисталтику и директно делују на центар за повраћање, у мозгу. Они су термостабилни и отпорни на дејство протеаза. За разлику од токсина који су изузетно термостабилни, стафилококе које их производе су осетљиве на кување. Важно је истаћи да исти сој *S.* *aureus*-аможеизазвати неколико поменутих обољења.

**Дијагноза**

Стафилококне инфекције су једне од најчешћих инфекција у ванболничкој и болничкој средини и релативно се лако дијагностикују. Код тешко оболелих особа, садржај локализованих апсцеса се аспирира и затим се користи за бојење по Gram-у и за култвацију (у циљу идентификације стафилокока), као и за испитивање осетљивости на антибиотике (антибиограм). Присуство великих Gram- позитивних кока у виду гроздастих формација указују на стафилококну инфекцију. Крв оболелих се користи за култивацију како би се утврдило да ли су бактерије инвадирале у крвоток. Коагулаза тест служи за разликовање *S.* *aureus*-а од коагулаза-негативних стафилокока.

**Терапија**

За лечење инфекција изазваних *S.* *aureus*-ом користе се антибиотици који делују на различите процесе који су од суштинског значаја за опстанак као што су синтеза бактеријског ћелијског зида (нпр. β-лактами), метаболизам фолне киселине (сулфонамиди), и синтеза бактеријских протеина (нпр. макролиди, линкозамиди и аминогликозиди) (Табела 3).

Стафилококни апсцес се дренира уз давање одговарајућег антибиотика. Бактерије, тј. **метицилин-осетљиви сојеви *S. aureus-а* (MSSA**, енгл. Methicillin-Sensitive S. Aureus) су осетљиви на полусинтетски пеницилин као што је нафцилин. Полусинтетски пеницилини и цефалоспорини су отпорни на стафилококну β-лактамазу и убијају ове бактерије. Учесталост **метицилин-резистентног *S. aureus-*а (MRSA**, енгл. Methicillin-Resistant S. Aureus) је повећана најпре у болничкој, а у новије време и у ванболничкој средини. Инфекције изазване овим MRSA сојевима захтевају лечење ванкомицином. Остали антибиотици који активно делују на MRSA су аминогликозиди, макролиди, клиндамицин, тетрациклини, доксициклин, и/или триметоприм/сулфаметоксазол. Ови лекови могу бити корисни и представљају другу линију лекова у лечењу одређених врста стафилококне инфекције (нарочито код особа који су алергичне на пеницилин).

Клиндамицин, инхибитор синтезе протеина, је користан антибиотик у лечењу болести изазваних егзотоксинима стафилокока. Овај лек има већу способност да спречи синтезу егзотоксина него да инхибира раст бактерија због чега је лек избора у лечењу оних болести који су посредовани егзотоксинима. Избор лекова треба да се заснива на осетљивости бактеријског соја на антибиотицима, као и на посебним карактеристикама пацијената.

**Табела 3.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Антистафилококна терапија и механизми резистенције | | | |
| Класификација | **Антимикробни лекови** | **Механизам деловања** | **Глани механизам резистенције** |
| β-лактами | метицилин, оксацилин, нафцилин, цефалоспорини | Инхибирају синтезу ћелијског зида | β-лактамазе (пеницилиназе), модификован протеин који везујe пеницилин PBP2a (mecA) |
| Гликопротеин | Ванкомицин | Инхибира синтезу ћелијског зида тако што инхибира инкорпорацију новосинтетисаних прекурсора у пептидогликан који је у саставу ћелијског зида | задебљани ћелијски зид заробљава ванкомицин; промена везујућег места |
| Макролиди | еритромицин, кларитромицин и азитромицин | Инхибирају синтезу протеина тако што спречавају везивање пептидил трансферазе за 50S субјединицу рибозома | Метилаза која диметилује аденин у оквиру 23S везујуће места макролида на рибозому; пумпа која избацује макролиде |
| Линкозамид | клиндамицин | Везује се за 50S субјединицу рибозома и на тај начин инхибира синтезу протеина | унакрсна резистенција на макролиде |
| Аминогликозиди | гентамицин, амикацин | Везује се за 30S субјединицу рибозома и на тај начин инхибирају синтезу протеина | унакрсна резистенција на макролиде и клиндамицин |
| Тетрациклини | тетрациклин, доксициклин | Везује се за 30S субјединицу рибозома и на тај начин инхибирају синтезу протеина | Аминогликозид-модификовани ензим |
| Сулфонамиди | триметоприм/сулфаметоксазол | инхибира синтезу фолне киселине | Замена једне аминокиселине у дихидрофолат редуктази |

У последњих неколико година, идентификован је **ванкомицин-резистентни *S. aureus* (VRS**A, енгл. Vancomycin-Resistant S. Aureus). VRSA је стекао гене који кодирају резистенцију на ванкомицин и то од резистентних врста *Enterococcus*-а код особа инфицираних са обе врсте патогена. Новији антимикробни лекови као што су линезолид, и даптомицин, генерално су ефикасни против мултирезистентних стафилокока (отпорни на више антибиотика). Ови антибиотици углавном служе за лечење само у оним случајевима када не може да се користи ванкомицин.

***STREPTOCOCCUS* И *ENTEROCOCCUS***

Стрептококе и ентерококе чине хетерогену групу бактерија које насељавају и изазивају инфекције људи и животиња. Код људи, стрептококе узрокују болести као што су стрептококни фарингитис ("упала ждрела"), целулитис, неонатални менингитис, апсцес мозга, ендокардитис и фатални некротизирајући фасциитис ("flesh-eating" бактерије).

**Класификација стрептокока и ентерокока**

Постоји неколико подела:

* **На основу хемолизе**: када се стрептококе и ентерококе гаје на крвном агару формирају колоније могу бити окружене зоном делимичне хемолизе која је зеленкасте боје (α-хемолиза), одсуство зоне хемолизе (γ-хемолиза или нехемолиза), или јасна зона потпуне хемолизе која се уочава као прозрачна, светла зона (β-хемолиза), што је приказано на слици 1;
* **На основу групно-специфичних антигена**: на основу антигена ћелијског зида, различите стрептококе/ентерококе су сврстане у групе од А до U. Многе врстe стрептокока не могу да се сврстају ни у једну од ове групе, јер нема антисерума који реагују на њихове антигене ћелијског зида;
* **На основу врсте:** разне врсте стрептокока могу се идентификовати коришћењем **биохемијских тестова** којима се анализира метаболизам и присуство ензима у бактеријама. Новије молекуларне технике могу разликовати врсте стрептокока на основу **ДНК секвенци**.

У клиничкој лабораторији, све три методе могу да се користе за идентификацију стрептокока. Ентерококе, иако реагују са групним D антисерумом, данас су сврстане у посебан род. У табели 4 наведене су неке клинички релевантне стрептококе и ентерококе.



**Слика 1.**

**Хемолитичка класификација стрептокока**.

Способност да индукују зону хемолизе на крвном агару је важна карактеристика која се користи за класификацију стрептококних врста у клиничкој лабораторији. Делимична лиза се зове **α-хемолиза** и резултат је изласка хемоглобина из лизираних ћелија што за последицу има зеленкасту боју (нпр. вириданс стрептококе). Одсуство лизе се зове **γ-хемолиза** (нпр. *E. faecalis*). **β-хемолиза** (нпр. *S. piogenes*) представља зону потпуне лизе и разградње хема што за последицу има формирање јасне, прозрачне зоне око стрептококних колонија.

**Табела 4.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Клиничке релевантне стрептококе и ентерококе | | | |
| Класификација | **Род/Врста** | **хемолиза** | **Болести људи** |
| Група А | *S. pyogenes* | β | фарингитис, инфекције коже и меког ткива, токсични шок, некротизирајући фасциитис, акутна реуматска грозница, шарлах, целулитис |
| Група В | *S. agalactiae* | β,γ | менингитис и сепса новорођенчета |
| Група С/G | *S. dysgalactiae* | β | респираторне инфекције и инфекције дубљег ткива |
| Група D: *Enterococcus* | *E. faecalis, E. faecium* | α, γ | нозокомијалне инфекције, инфекције уринарног система, ендокардитис |
| Вириданс, *Mitis* група | *S. mitis, S. sanguinis, S. gordonii* | α | ендокардитис, системске инфекције код неутропеничних пацијената |
| Вириданс, *Mutans* група | *S. mutans, S. sobrinus* | α, γ | каријес зуба и ендокардитис |
| Вириданс, *Salivarius* група | *S. salivarius, S. vestibularis* | α | опортунистичке инфекције код имунодефицијентних особа |
| Вириданс, *Anginosus* група | *S. milleri, S. anginosus, S. intermedius* | α, γ | апсцес, ендокардитис |
| *S. pneumoniae* | α | пнемонија, сепаса, менингитис, запаљење средњег уха |

**Стрептококе групе А**

**Епидемиолошке карактеристике**

Стрептококе групе А (*S. piogenes*) су најважније патогене бактерије које изазивају обољења код људи. Тешке инфекције изазване овим бактеријама су данас ређе у развијеним замљама, али спорадична појава високо вирулентних сојева нас подсећа на то да ове стрептококе имају рекурентни патогени потенцијал. Спектар болести изазваних стрептококама групе А зависи од типа соја, фактора домаћина и улазног места.

*S. piogenes* јеубиквитаран у људској популацији и дистрибуиран је широм света. Болести се најчешће јављају код деце школског узраста, између 5. и 15. године живота, од којих је најчешћи **акутни тонзилофарингитис**, или "гнојна ангина". Изазивају и инфекције коже и меког ткива, које се заједнички зову **пиодермије**. Пиодермије су најраспрострањеније у предшколском узрасту и чешће су заступљене у тропским климатским условима или у периоду топлих и влажних климатских услова. Постстрептококне стерилне секвеле, посредоване имунским механизмима, као што су акутни гломерулонефритис и акутна реуматска грозница су чешће у земљама у развоју.

Стрептококе групе А су обично присутне у назофаринксу и на кожи човека. У току зимских месеци, чак 20% деце школског узраста су клицоноше (ове стрептококе су присутне у ждрелу), од којих многи немају симптоме инфекције. Инфекција се преноси респираторним капљицама, или директним контактом у случају кожних инфекција. Особе код којих је колонизована слузница носа ове стрептококе преносе ефикасније у односу на оне код којих су колонизовани кожа или ждрело.

**Улазно место**

Обзиром да не могу да продру кроз нетакнуту кожу, стрептококе могу да доспеју у дубље слојеве приликом њеног оштећења или траума коже (нпр. огреботине, лезије код овчијих богиња, ране и екцем). У многим случајевима, оштећења коже могу бити прилично дискретна, тако да чак и мале огреботине могу представљати улазно место овим бактеријама. **М протеин** је важан адхезин који се везује за кератиноците, главни тип ћелија у површном слоју коже.

У случају стрептококне инфекције ждрела, бактерије се везују за слузницу ждрела помоћу **адхезина** на површини бактеријске ћелије. **Хијалуронска киселина капсуле** стрептокока групе А може да им омогући да се вежу за CD44 рецептор на епителним ћелијама ждрела а и на кератиноцитима. Ове бактерије се везују и за молекуле екстраћелијског матрикса као што су фибронектин и ламинин и то помоћу адхезина (**липотеихоична киселина** и **стрептококни протеини који везују фибронектин**).

Када стрептококе групе А уђу у домаћина, оне најпре морају да избегну фагоцитозу и имунски одговор, затим да се умноже и да успоставе инфекцију. Ове стрептококе поседују два главна **антифагоцитна фактора**, **М протеин** и **хијалуронску киселину капсуле**. Додатно, стрептококе групе А продукују неколико протеина који разграђују хемотаксине (одговорне за регрутацију неутрофила ​​на месту инфекције), протеине који инактивирају или разграђују антитела, и оне протеине који блокирају антимикробну функцију пептида.

**Ширење и умножавање**

Стрептококе групе А обично остају локализоване на месту почетне инфекције. У орофаринксу, инфекције су обично самоограничавајуће и локализоване у ждрелу и на крајницима. Ретко, инфекција може да узрокује перитонзиларни апсцес или може да се прошири у суседне структуре, мастоидне ћелије или у средње ухо.

Инфекције површних слојева коже, праћене стварањем круста (краста), означене су као **импетиго** и најчешће се јављају код деце која живе у топлим и влажним климатским условима. Инфекције дубљих слојевима коже узрокују **еризипел** и **целулитис**.

У ретким случајевима, стрептококе групе А могу да населе фасције, између коже и мишића, услед трауматске повреде коже. У оваквим случајевима, инфекција може да се прошири брзо и проксимално од почетног места инфекције. Стрептококе групе А луче неколико ензима којима промовишу њихово ширење дуж фасција што резултира фатална обољења, као што су **некротизирајући фасциитис** и **миозитис**. Ови ензими су протеазе, хиалуронидазе, дезокирибонуклеазе (ДНазе) и **стрептокиназе**. Стрептокиназе могу да се вежу за плазминоген са којим формира каталитички комплекс који разграђују плазминоген на плазмин. Плазмин се затим везује за површину стрептокока групе А. Овакве стрептококе обложене плазмином могу да разграђују и да се шире кроз фибрин (главна компонента крвног угрушка и баријера која спречава ширење микроба). Стрептококе групе А луче и **стрептолизин- S и -О**, тј. хемолизине који лизирају мембрану различитих ћелија домаћина. Сматра се да код инвазивних инфекција, ови хемолизини доприносе опсежном оштећењу ткива.

**М протеин**

М протеин игра централну улогу у патогенези инфекција изазваних стрептококама групе А. Овај протеин је влакнаст и изувијан и ковалентно је везан за ћелијски зид бактерија. М протеин омогућава везивање за кератиноците и спречава опсонизацију комплемента на два начина. Прво, М протеин се везује за **фибриноген** при чему се формира густи слој на површини бактерија и на тај начин омета таложење система комплемента који је активиран алтернативним путем. Друго, М протеин се везује за **регулаторне протеине комплемента** који спречавају формирање опсонина ослобођених каскаднном активацијом комплемента. Упркос овим антифагоцитним својствима М протеина, антитела специфична за хиперваријабилне регионе на амино крају овог протеина су способна да ефикасно опсонизују бактерије и да пруже заштиту од инфекције. Међутим, утврђено је да постоји **преко 200 различитих типова М протеина**. Због тога антитела која се стварају у току претходне инфекције не могу да заштите од реинфекције.

**Хијалуронска киселина капсуле**

Хијалуронска киселина капсуле је друга антифагоцитна структура на површини стрептокока. Хијалуронска киселина је у великој количини присутна и у хуманом везивном ткиву. Стрептококе које су обавијене капсулом која садржи хијалуронску киселину тако скривају своје антигене тако да их имунски систем домаћина "не види". Епидемије тешких инфекција које су изазване стрептококама групе А, најчешће индукују управо инкапсулирани сојеви бактерија. Ова капсула омета адхеренцију стрептокока групе А на епителним ћелијама, и бактерије могу изгубе капсулу у раним фазама инфекције. Ово се може постићи разградњом капсуле уз помоћ хијалуронидазе коју луче саме бактерије.

**Стрептококни токсини**

Шарлах је токсемија која је искључиво удружена са гнојном ангином. Три токсина одговорна у патогенези шарлаха су стрептококни пирогени егзотоксини -А, -В и -С (SPE, енгл. Streptococcal Pyrogenic Exotoxin). Поред тога што изазивају осип који је каракатеристичан за шарлах, SPE-А и SPE-С функционишу и као бактеријски суперантигени који неспецифично активирају велики број клонова Т лимфоцита. Овако активирани Т лимфоцити масовно ослобађају проинфламаторне цитокине што резултира стање слично сепси које карактеришу шок и дисфункција бројних органа. Стрептококни токсични шок синдром је веома сличан токсичном шок синдрому изазваним *S. aureus*-ом. SPE-А је најчешће у вези са овим синдромом, мада стрептококе групе А секретују и друге суперантигене.

**Болести посредоване имунским механизмима**

Иако су већина инфекција изазваних стрептококама групе А благе, интензивни инфламаторни одговор на инфекцију може изазвати групу болести означене као **несупуративне секвеле (постстрептококне стерилне секвеле)**. **Акутна реуматска грозница**, најважнија секвела, је била значајан узрок оштећења срчаних залистака у ери пре увођења антибиотика, а данас, само у земљама у развоју. Тонзилофарингитис је једини тип стрептококне инфекције који може да индукује акутну реуматску грозницу. Клиничке манифестације ове секвеле јављају се 1. до 4. недеље након гнојне ангине а то су **кардитис, полиартритис, хореа** (неуролошки поремећај који се манифестује неконтролисаним покретима), **поткожни нодули** и карактеристични осип тј. **еrythema marginatum**. Од свих наведених манифестација најчешћи су кардитис и полиартритис. Све ове акутне манифестације могу да се повуку.

Стрептококна упала грла и крајника, мора се лечити антибиотицима како би се спречио настанак акутне реуматске грознице и трајно оштећење срца који може да прати акутни кардитис. Особе које су претходно прележале ову секвелу, уколико касније у току живота поново имају стрептококни тонзилофарингитис подложније су егзацербацијама болести. Покренута запаљенска реакција у срцу може да резултира формирањем великих **ожиљака на митралном и/или аортном залистку** и **стенозе**. Овакво "**реуматско обољење срца**" индукује функционални поремећај срца. Турбулентни проток крви преко ожиљцима деформисаних залистака представља предиспонирајући фактор за развој бактеријског ендокардитиса. Акутна реуматска грозница и реуматска болест срца могу бити превенирани и то применом антибиотика којима се бактерије уклањају пре него што се фулминантни имунски одговор покрене. Ово је главни разлог раног дијагностиковања и агресивног лечења упале ждрела. Некомплетно лечење за последицу има развој ове пострептококне секвеле. Оболелим од акутне руматске грознице се обично **превентивно ординирају антибиотици** до касног зрелог доба, или чак доживотно како би се спречиле поновне стрептококне инфекције које ће неминовно погоршати започето оштећење срца.

Реуматска грозница је аутоимунска болест у којој имунски систем оштећује сопствена ткива. Стрептококе групе А поседују велики број површинских молекула који су структурно слични неким компонентама ткива домаћина, тако да се дешава унакрсна реакција између антигена стрептокока (неки типови М протеина) и неких ткивних структура у срцу, синовији и неурона мозга што резултује оштећење ткива. Овакве стрептококе групе А одређеног М типа се зову и **реуматогени сојеви**. Међутим, само код малог броја људи који су инфицирани реуматогеним сојем се развија акутна реуматска грозница.

Друга важна стерилна секвела је **акутни постстрептококни гломерулонефритис**, који је изазван малим бројем М-типова стрептокока. За разлику од акутне реуматске грознице која се јавља само после тонзилофарингитиса, ова секвела се може јавити или после тонзилофарингитиса или после пиодермије. Уз то, лечење антибиотицима не спречава ову компликацију. Сматра се да **имунски комплекси**, изграђени од стрептококних протеина и антитела, се таложе у базалној мембрани гломерула што узрокује активацију комплемента и касније оштећење бубрега. Акутни постстрептококни гломерулонефритис се обично јавља од 1. до 4. недеље после инфекције. Оболели имају повишену концентрацију протеина у крви и у мокраћи, што за последицу има бубрежну инсуфицијенцију, због које им је неопходна дијализа.

**Дијагноза**

Различите стрептококне инфекције коже узрокују карактеристичну клиничку слику, на основу које се дијагноза обично поставља. Импетиго, инфекцију површинских слојева коже, обично карактерише скуп малих мехурића на црвеној основи који прскају и затим се формирају крусте. Еризипел (црвени ветар), карактеришу јарко црвени региони коже који су оштро ограничени од околног ткива и брзо се шире. Дубоке инфекције, као што су миозитис и некротизирајући фасциитис прате интензивни болови са знацима некрозе коже. Обзиром на њихово брзо ширење, код ових обољења треба одмах започети са лечењем и то са интарвенском применом антибиотика уз хируршку интервенцију.

Дијагноза стрептококног тонзилофарингитиса је с друге стране, више збуњујућа. Ово обољење се не може са сигурношћу разликовати од вирусног фарингитиса, који је такође веома чест код деце. Због тога узима се брис ждрела за бојење по Gram-у и култивацију на крвном агару, као и за откривање групе угљенохидратних антигена бактерија. Ови угљенохидратни антигени су веома специфични, тако да позитиван тест указује на присуство стрептокока групе А. У случају постстрепткокних стерилних секвела, дијагноза захтева сигуран доказ о претходној инфекцији стрептококама групе А. Обзиром да бактерије нису дуго присутне у организму, серолошки титар антитела специфичних за ове стрептококе може да се користи за доказивање претходне инфекције. Најчешће се анализира антистрептолизин О титар, анти-ДНазе В титар и Streptozyme ® screen (тест аглутинације који детектује мешавину пет секретованих стрептококних ензима).

**Лечење и превенција**

Пеницилин је лек избора у терапији стрептококних обољења код оних особа које нису алергичне на пеницилин. У случају паренетералне пеницилина, лечење траје 10 дана што представља стандардну терапију. Због могућности развоја стерилних секвела ово лечење не сме да буде краће. Алтернатива терапија је једна доза дугоделујућег пеницилина (Бензатин пеницилин) инјекцијом који се тако дуже време одржава у крви. Особама алергичним на пеницилин, ординирају се еритромицин или неки други макролидни антибиотици.

**Стрептококе групе В**

Стрептококе групе В (*Streptococcus agalactiae*) су аеробне Gram-позитивне диплококе које на крвном агару изазивају β-хемолизу. Насељавају ниже регије гастроинтестиналног система, а код жена и генитални систем. Ове стрептококе углавном не изазивају значајна обољења код здравих људи. Колонизација ових бактерија у гениталном систему трудница може индуковати инфекције опасне по живот код новорођенчета, а новорођенче се инфицира у току порођаја и то приликом проласка кроз инфицирани вагинални канал. Стопа колонизације код трудница се креће од 15 до 40%, па се код трудница скрининиг ових инфекција обавља од **35. до 37. недеље трудноће** а узима се вагинални брис и брис ректума. Ако трудница има позитиван налаз, антибиотици дају се интрапартално како би се смањио ризик од трансмисије на дете. И поред ових мера, стрептококе групе В су и даље водећи узрок неонаталне сепсе и менингитиса. Стопа смртности одојчади је око 5%, а многа деца након прележане неонаталне инфекције имају дуготрајне проблеме као што су конвулзије, глувоћа, застој у развоју и моторни дефицит. Код трудница, стрептококе групе В могу изазвати инфекцију уринарног система, ендометриозу и амнионитис. Друга популација становништво која је подложна тешким инфекцијама ових стрептокока су старије особе, а нарочито оне са хроничним болестима (дијабетес, болести јетре, бубрега или малигноми). Стрептококе групе В су осетљиве на пеницилин, тако да је овај антибиотик прва линија лекова у терапији болести изазваних овим стрептококама.

Стрептококе групе В помоћу **полисахаридне капсуле** избегавају опсонизацију и фагоцитозу. Постоји девет капсуларних серотипова, при чему је тип III одговоран за већину случајева неонаталне сепсе и менингитиса (у САД-у). Капсуларни полисахариди су лоши антигени па индукују слаб заштитни имунски одговор. Због тога, постоји велико интересовање за развој конјуговане вакцине (конјугат протеина и угљених хидрата), која је слична вакцини против *Haemophilus*-а *influenzae* типа б и пнеумокока, а користила би се код жена у репродуктивном добу.

**Друге патогене стрептококе**

**Стрептококе групе С и групе G (*S. disgalactiae*)** су β-хемолитичке бактерије и могу да изазову обољења слична оним које изазивају стрептококе групе А. Најчешће изазивају респираторне инфекције, инфекције дубоких ткива и несупуративну стерилну секвелу тј. акутни гломерулонефитис, али не и акутну реуматску грозницу. Поседују неколико фактора вируленције, слично стрептококама групе А, као што су М протеин, адхезини и стрептокиназе.

**Вириданс стрептококе** су α-хемолитичке врста бактерија, присутне у усној дупљи, а које на крвном агару око колонија индукују зеленкасту пребојеност ("*viridis*" на латинском значи зелено). Већина вириданс стрептокока, укључујући *S. mitis, S. sanguinis, S. gordonii, S. mutans* и *S. sobrinus* повремено улазе у крвоток и могу да узрокују ендокардитис код особа са оштећеним срчаним залисцима (нпр. код особе које су прележале акутну реуматску грозницу). *S milleri* је анаеробна и често учествује у развоју апсцеса **полимикробне етиологије** и то у мозгу, јетри и трбушној дупљи.

**Ентерококе**

Код људи, две врсте ентерокока, ***E. faecalis*** и ***E. faecium*** су медицински најважније и изазивају инфекције уринарног система, инфекције рана, ендокардитис, интраабдоминалне апсцесе и бактеријемију. Ентерококе су део нормалне флоре гастроинтестиналног и урогениталног система. Дуго се сматрало да су ове бактерије безопасни колонизатори. Међутим, након учестале примене антибиотика неке ентерококе су развиле изузетну резистенцију. Године 1990., регистровано је да су ове бактерије постале један од најважнијих узрочника нозокомијалних (интахоспиталних) инфекција и да су развиле резистенцију чак и на ванкомицин тј. антибиотик последње линије у терапији обољења изазваних Gram-позитивним бактеријама. Преносе се, пре свега, преко руку здравствених радника, али се такође могу пренети и са неживе средине као што су метални делови кревета, тастатуре рачунара, драперије и инструменати.

И поред ниске вируленције, ентерококе поседују неке значајне особине као што су способност формирања биофилма и продукција цитолизина. Један од разлога што ове бактерије представљају значајан здравствени проблем у болницама је то што поседују **урођену (унутрашњу) резистенцију** на неколико антибиотика. Пеницилин обично убија бактерије тако што омета синтезу њиховог ћелијског зида. На ентерококе, пеницилин делује само **бактериостатски** (тј. инхибира раст), док су цефалоспорини у потпуности неефикасни. Ентерококе су резистентне и на аминогликозиде и то тако што ометају њихов продор у цитоплазму. Елиминација ових бактерија се може постићи комбинацијом пеницилина и аминогликозида, при чему пеницилин оштећује ћелијски зид бактерија и на тај начин олакшава улазак аминогликозида.

Ентерококе конјугацијом (помоћу транспозона и плазмида) и помоћу бактериофага преузимају нове гене резистенције и на тај начин стичу **спољашњу (стечену) резистенцију**. На овај начин, ентерококе стичу потпуну резистенцију на пеницилин или аминогликозиде чак и када се дају у комбинацији (резистенција на синергички ефекат ова два антибиотика). Поред тога, постоји све већа учесталост и ванкомицин-резистентних ентерокока (VRE, енгл. Vancomycin-Resistant Enterococci) које поседују гене резистенције на ванкомицин које преузимају из егзогено стечених плазмида и транспозона. Неколико изолата ванкомицин-резистентних *Staphilococcus aureus*-а настали су након преноса гена резистенције са VRE, и то у току коинфекције.

VRE представљају велики здравствени проблем у многим болницама. *E. faecium* и *E. faecalis* су најчешћи изазивачи инфекција у болницама иако су вероватно мање резистентне на ванкомицин. Многи сојеви VRE су високо резистентни на пеницилин и аминогликозиде, као и на њихов синергички ефекат. Новији антибиотици који се користе у лечењу ових инфекција су линезолид, инхибитор синтезе бактеријских протеина; даптомицин, новији бактериоцидни липопептид који се инсертује у бактеријску мембрану и омогућује излазак цитоплазматског садржаја. Ипак, спровођење контролних мера и мудро коришћење антибиотика у болницама и свим другим здравственим установама су најбољи начини да се спречи ширење инфекција изазваних VRE сојевима.

**ПНЕУМОКОК И БАКТЕРИЈСКА ПНЕУМОНИЈА**

*Streptococcus pneumoniae* (пнеумокок), и даље је водећи узрок тешких инфекција, а нарочито бактеријске упале плућа, широм света. Пнеумокок обично насељава слузницу назофаринкса, не изазивајући болест, осим ако му фактори домаћина омогуће приступ нормално стерилним регијама као што су плућа, у којима затим могу да покрену акутни инфламаторни одговор. Присуство дебелог слоја површинских полисахарида на бактерији инхибира одбрамбене механизме домаћина као што је фагоцитоза посредована компонентама комплемента или антителима. Лечење обољења изазваних овим патогеном постаје отежано због стицања и ширења резистенције на антибиотике.

**Опште карактеристике пнеумокока**

Пнеумокок се сврстава у род *Streptococcus*-а. Ово је аеробна стрептокока која заједно са *S. oralis, S. sanguis,* и *S. mitis* колонизује слузницу назофаринкса, али у поређењу са њима, пнеумокок много чешће изазива инфекције. Пнеумокок, као и друге стрептококе, нема ензим каталазу тако да се у току метаболизма ове бактерије ствара велика количина **водоник пероксида**. Пнеумокок синтетише **пнеумолизин** (токсин који везује холестерол) који заједно са водоник пероксидом инхибира раст конкурентних чланова микрофлоре и узрокује оштећења ткива и инхибира ефикасну одбрану домаћина. Поред тога, пнеумокок је окружен дебелим ћелијским зидом чије површинске структуре препознају компоненте урођене имуности што стимулише снажну запаљенску реакцију. У стационарној фази раста, пнеумокок експримира ензим, **аутолизин**, којима разграђује сопствени ћелијски зид. Ово континуирано самоуништење, или аутолиза, додатно доприноси ослобађању проинфламаторних медијатора.

Споља од ћелијског зида бактерија је "слузава" или "глатка" капсула, састављена од полисахарида. Дебела полисахаридна капсула игра важну заштитну улогу тако што смањује активацију комплемента.

Капсула је нарочито важна за пнеумококе јер им омогућава да опстану у крвотоку, где је активност комплемента најефикаснија. Захваљујући овој капсули пнеумококе могу да изазову инфекцију изван дисајних путева. На пример, у току бактеријемије пнеумококе пролазе кроз крвно-мождану баријеру и доспевају у централни нервни систем где узрокују менингитис. Бактерије које поседују капсулу (инкапсулиране пнеумококе) су најчешћи узрочници ове инфекције, опасне по живот. С друге стране, неинкапсулиране пнеумококе ретко изазивају ову болест.

Капсуларни полисахариди су изузетно имуногени и детерминишу серотип бактерија. Због тога што су мета имунског система, капсуларни полисахариди пнеумокока су нарочито подложни антигенској варијацији. Антигенске варијације резултују више од 90 серотипова пнеумокока који се разликују у хемијској структури капсуларних полисахарида. Капсуларни полисахариди омогућују екстраћелијско преживљавање пнеумокока све док не започне продукција специфичних антиполисахаридних антитела која неутралишу бактерије и служе као опсонини и тако учествују у њиховој елиминацији. Антитела специфична за ове капсуларне полисахариде играју важну улогу у заштити од оних инфекција које су изазване пнеумокококама истог серотипа, а имају минималан утицај у заштити од других серотипова.

**Епидемиолошке карактеристике пнеумокока**

Пнеумококна пнеумонија је најчешћи облик **бактеријског запаљења плућа** и један од водећих узрока смртности, код људи. Инциденца је највиша код деце млађе од 5 година код одраслих особа старијих од 40 година. Фактори који предиспонирају пнеумококну инфекцију су спленектомија, мултипли мијелом и HIV инфекција. Поред пнеумоније, пнеумокок је водећи узрочник запаљења средњег уха, акутног синузитиса и хроничног бронхитиса. У току бактеријемије, пнеумококе могу да доспеју у стерилне регије и да изазову пнеумококну инфекцију перитонеалне шупљине (перитонитис), зглобова (септички артритис) или срчаних залистака (ендокардитис). Инкапсулирани сојеви пнеумокока изазивају менингитис.

**Резервоар** *S. pneumoniae* је човек. Почетни корак у интеракцији патогена и домаћина је **колонизација** слузнице назофаринкса. Исход ове колонизације је различит, бактерије могу бити елимисане, могу да асимптоматски перзистирају неколико недеља или месеци (**клицоношто**), или могу да изазову болест. Исход ове колонизације зависи од вирулентности соја пнеумокока и ефикасности одбрамбених механизама домаћина. Неки серотипови *S. pneumoniae* су вирулентнији од других. Тако на пример, неки серотипови могу изазвати тешке болести, док други колонизују назофаринкс и ретко изазивају болест.

Пнеумококе су присутне у две трећине деце, предшколског узраста и степен колонизације са смањује са старењем. Једна особа може да буде колонизована више пута у току живота, обично са различитим серотиповима пнеумокока. Понекад, једна особа може да буде истовремено колонизована са више серотипова пнемокока.

**Трансмисија** пнеумокока са болесне особе, или много чешће са здраве клицоноше, се остварује **капљицама** респираторног секрета. Преноси се и контаминираним рукама. Трансмисија се дешава директно са особе (у породицама и у колективима).

**Улазно место пнеумокока**

Болест се јавља када се бактерија шири, из назофаринкса до нормално стерилних регија дисајних путева, а на ово ширење обично утичу бројни фактори домаћина. Одбрамбени механизми домаћина су: 1) **епиглотис** који штити дисајне путеве од аспирације; 2) **рефлекс кашља**; 3) слој лепљивог **секрета**; 4) **цилије респираторног епитела**; 5) **алвеоларни макрофаги** који фагоцитују бактерије и стране честице. Сви ови механизми ефикасно спречавају ширење бактерија са горњих дисајних путева и успостављање инфекције у доњим дисајним путевима. Међутим, бројни фактори могу да ослабе ове одбрамбене механизме, а то су губитак свести, пушење цигарета, конзумирање алкохола или вирусне инфекције. Уз то, запаљење средњег уха је често последица дисфункције Еустахијеве тубе која омогућава улазак назофарингеалног садржаја у стерилни простор средњег уха.

**Ширење и умножавање бактерија као и оштећења ткива**

У првој фази пнеумококне пнеумоније, алвеоле бивају испуњене **серозном течношћу** која садржи велики број бактерија, али мало инфламаторних ћелија. Течност која испуњава алвеоле служи као хранљиви медијум који омогућава умножавање бактерија и служи као средство за ширење инфекције, како у суседне алвеоле, тако и у околне регије плућа. Ово истицање течности може да угрози основну функцију плућа тј. размену гасова.

У другој фази, која се зове **рана консолидација**, алвеоле су инфилтрисане неутрофилима и еритроцитима. Јаки **хемотактички сигнали**, које индукује пнеумокок као и алтернативно активиран **систем комплемента**, стимулишу регрутовање великог броја неутрофила и акутни инфламаторни процес. Због присуства капсуле, пнеумококе избегавају фагоцитозу. Неутрофили или макрофаги који су успели да ингестирају пнеумококе убрзо их убијају. Обим успешне фагоцитозе одређује исход инфекције.

Имунски систем ангажује различите механизме како би инкапулиране пнеумококе постале осетљивије на фагоцитозу неутрофила. Ако је особа претходно имала контакт са одређеним серотипом пнеумокока, она поседује специфична-антикапсуларна антитела која интерагују са системом комплемента и омогућују опсонизацију бактерија што олакшава њихову фагоцитозу. Компоненте комплемента које се ослобађају након активације, углавном алтернативним путем, се везују за површину бактерија и нарочито су важне у заштити домаћина.

Додатни заштитни механизам урођене имуности подразумева интеракцију **С-реактивног протеина (CRP,** енгл. C-Reactive Protein) са површинским молекулима бактерија. Везивање CRP за бактеријску површину индукује активирање комплемента, класични путем. Обзиром да ниво CRP драстично расте у серуму оболелих од бројних инфламаторних болести, а не само у току пнеумококне инфекције, CRP се означава као **протеин акутне фазе**.

Трећа фаза пнеумококне пнеумоније зове се **касна консолидација**. У овој фази, алвеоле су испуњене неутрофилима и са неколико преосталих пнеумокока. Макроскопски, оштећене регије плућа по изгледу подсећају на јетру, због чега овај феномен, патолози означавају као **хепатизација**. У четвртој финалној фази, или фази **резолуције**, неутрофили бивају замењени макрофагима "чистачима", који уклањају дебрис настао у току запаљенских процеса. У већини случајева, архитектура плућа се углавном враћа у нормално стање. Ова репарација се разликује од оне која се дешава у многим другим облицима пнеумоније, када опоравак прате некроза и фиброза (замена племенитог ткива ожиљним ткивом).

Пнеумококна пнеумонија може да узрокује локалне и удаљене компликације. Најчешћа локална компликација је плеурални излив (изливање течности у плеурални простор) који се јавља у око једне четвртине свих случајева. Инфекција плеуралног простора се зове **емпијем**, и овај гнојни процес захтева дренажу инфициране течности.

Удаљене компликације пнеумококне пнеумоније су резултат ширења бактерија путем крви. У раним фазама упале плућа, бактерије могу да уђу у дренирајуће лимфне судове, затим доспевају у ductus thoracicus, а одатле у крвоток. У току бактеријемије, пнеумококе могу изазвати секундарна метастатска жаришта (нпр. инфекцију меких можданица мозга). Код мале деце, бактерије које насељавају назофаринкс, такође, директно могу да се шире путем крви (процес који се зове окултна бактеријемија).

Антитела и систем комплемента олакшавају фагоцитозу пнеумокока уз помоћ макрофага у слезини и јетри. Због тога особе након спленектомије су подложне између осталог пнеумококним инфекцијама.

**Дијагноза**

У случају упале плућа, први корак у постављању микробиолошке дијагнозе је испитивање спутума. **Бојењем по Gram-у,** у спутуму се уочавају неутрофили и више од 10 ланцета Gram-позитивних **диплокока** што са сигурношћу указује на пнеумококну пнеумонију.

За коначну идентификацију узрочника наопходна је култивацијаспутума на **крвном агару**. Пнеумококне колоније су окружене зоном **α-хемолизе**, зелено-смеђе пребојености. Пошто већина других стрептококних врста које у великој мери колонизују горње дисајне путеве су α-хемолитичке, пнеумококе се од њих разликују на основу других особина а то су осетљивост на **оптохин** и растворљивост у жучним солима. Пошто су пнеумококе пробирљиви микроорганизми и захтевају факторе раста, ове бактерије, код оболелих од пнеумококне пнеумоније, не морају увек да се изолују у култури спутума. Тако, негативни налаз културе испљувка не искључује ово обољење. Лажно позитиван налаз је последица контаминације узорка спутума који пролази кроз колонизовану усну дупљу.

**Лечење и превенција**

**Пеницилин** је лек избора у лечењу пнеумококне инфекције. Други антибиотици, макролиди или селектовани флуорохинолони, се ординирају у случају да су оболели алергични на пеницилин. Упркос ефикасности пеницилина, стопа морталитета од пнеумококне упале плућа је и даље неприхватљиво висока, и то због рапидног напредовања инфекције или ослабљених одбрамбених снага домаћина.

Од 1990. г. постоји велики пораст резистентних сојева пнеумокока на антибиотике. Око три четвртине резистентних сојева на пеницилин има средњи ниво резистенције тако да се и даље могу третирати са пеницилином или сродним лековима, али не и у случају када је инфекција захватила централни нервни систем јер је пенетрација пеницилина недовољна. Преостала једна четвртина сојева, показује висок ниво резистенције (минимална инхибиторна концентрација ≥ 2 mg по ml) тако да се ови сојеви морају третирати са другим антибиотицима. Пеницилин- резистентни сојеви су често отпорни и на друге β-лактаме.

Механизам резистенције пнеумокока на пеницилин не подразумева производњу β-лактамаза. Уместо тога, резистентне пнеумококе имају измењене **протеине за које се везује пеницилин**. Штавише, пнеумококе са измењеним протеинима постају отпорне и на друге β-лактаме, укључујући и цефалоспорине. Изгледа да пнеумококе, генетску информацију која кодира ове измењене протеине, стичу од других врста стрептокока које колонизују орофаринкс. Ова резистенција је резултат селективног снажног притиска изазване присуством антибиотика. Због тога, бактерије имају природну способност да се прилагоде тако што преузимају и интегришу ДНК бактерија из свог окружења процесом познатим као **трансформација**.

Вакцинација је нарочито важна код људи са највишим ризиком за настанак пнеумококне болести, а то су млађа деца, старе особе, као и особе са предиспонирајућим факторима. Антигенска варијација пнеумокока представља значајну препреку у развоју вакцина заснованих на примени полисахаридних антигена капсуле. Ипак, већина случајева пнеумококне упале плућа је узрокована ограниченим бројем серотипова. Тако данас, вакцина садржи капсуларне полисахариде 23 најчешћих серотипова, а препоручује се старима и особама са предиспонирајућим факторима.

Повећана стопа антибиотске резистенције пнеумокока подстакла је на то да се побољша превенција, а нарочито код деце. Конјугована вакцина против пнеумокока садржи и до 13 серотипова, најчешће присутних у овој старосној групи, који су конјуговани са протеином (носачем) што резултира ефикаснију продукцију антитела. За разлику од вакцина које садрже искључиво полисахаридне антигене, протеини, код конјугованих вакцина регрутују CD4+Т лимфоците који помажу В лимфоцитима у продукцији антитела. Ова конјугована вакцина смањује клицоноштво и показало се да је веома ефикасна у борби против инвазивних пнеумококних болести, а у извесној мери, и у спречавању пнеумоније и запаљења средњег уха.

**GRAM- НЕГАТИВНЕ КОКЕ: *NEISSERIA***

Gram- негативне коке обухватају само један род бактерија који често изазива обољења. У роду *Neisseriа*, две важне патогене бактерије за људе су: *Neisseria gonorrhoeae*, изазивач гонореје и *N. meningitidis*, главни узрочник септикемије и менингитиса.

Гонокок (*N. gonorrhoeae*) обично изазива локализовани цервицитис и уретритис. Уз то, може изазвати и инфекције горњих делова гениталног система или дисеминоване инфекције. Гонокок, помоћу пила и других фактора адхеренције, се везују за епител уретре мушкараца, или епител грлића материце жена, где изазива брз инфламаторни одговор. Продор бактерија у горње делове репродуктивног система жена резултира инфекцију и упалу материце и јајовода, односно **пелвичну инфламаторну болест (PID,** енгл. Pelvic Inflammatory Disease). Ова болест може да индукује стварање ожиљака у горњим деловима гениталног система и у суседним органима, као и хронични карлчни бол. Ожиљци тубе јајовода могу узроковати **ванматеричну трудноћу** (развој ембриона у јајоводу уместо у материци) и/или стерилитет. Код мушкараца, продор гонокока у горње делове репродуктивног система је ређи, али може да изазове **епидидимитис**. Ретко, локализована гонококна инфекција може да инвадира у крвоток и да изазове акутни дерматитис-артритис-теносиновитис синдром (компликација постојеће упале тетива и зглобова) који се назива и **дисеминована гонококна инфекција (DGI**, енгл. Disseminated Gonococcal Infection). Терминални комплекс система комплемента, кога граде компоненте касне фазе активације комплемента, може да лизира већину *Neisseriа*. Због тога, особе са дефицијенцијом неких компоненти система комплемента су предиспониране за системско ширење и гонокока и менингокока.

Менингококе, такође, поседују пиле и колонизују слузницу горњих дисајних путева код људи. Менингококе су окружене капсулом која им омогућује да избегну одбрамбене механизме домаћина, као што је убијање бактерија у крвотоку уз помоћ система комплемента. Захваљујући томе, менингококе могу да се појачано умножавају у крви. Ове бактерије ослобађају и велику количину компоненти спољашње мембране у виду мембранских "blebs"-ова који садрже липополисахарид (LPS, енгл. LipoPolySaccharide) или **ендотоксин**. Овај LPS, такође, се зове и **липоолигосахарид (LOS**, енгл. LipoOligoSaccharide) јер *Neisseria*-е немају О антиген. LOS, у крвотоку или у цереброспиналној течности, индукује ослобађање снажних биолошких медијатора, укључујући и TNF-α који изазива системске знаке менингококцемије, дисеминовану интраваскуларну коагулацију (DIC, енгл. Disseminated Intravascular Coagulation), и шок. Менингококе показују тропизам према централном нервном систему и могу да изазову бактеријски менингитис са озбиљним компликацијама.

**Опште карактеристике *Neisseriа***

Гонокок и менингокок припадају роду *Neisseriа*, главна група Gram-негативних кока која изазива обољења код људи. Род *Neisseriа* обухвата бројне непатогене бактерије које често насељавају слузницу здравих људи, а нарочито назофаринкса. Друга Gram-негативна кока, *Moraxella catarrhalis*, изазива инфекције дисајних путева, а нарочито код имунодефицијентних особа. *Neisseria*-есу факултативно анаеробне бактерије. Оне имају ћелијски зид, типичан за Gram-негативне бактерије и садржe протеине спољашње мембране и ендотоксин. Како је претходно наведено, овај ендотоксин нема понављајуће О-антигенске субјединице и стога је класификован као LOS. Ове бактерије су осетљиве и не могу дуго да преживе у спољашњој средини. Једини извор инфекције је инфицирана особа.

*Neisseriа*-е расту у "чоколадном" агару, комплексном медијуму који се добија након кувања крви а садржи гвожђе и витамине, неопходне за њихов оптимални раст.

**Епидемиолошке карактеристике и улазно место**

Човек је једини познати резервоар гонокока. И мушкарци и жене могу да буду клицоноше гонокока без видљивих симптома, мада је преваленција асимптоматских клицоноша већа код жена. Асимптоматске клицоноше представљају велики проблем у контроли гонореје, јер без симптома, постоји мања вероватноћа да ће бити дијагностиковани или да ће примати терапију. Важно је да се тестирају и лече све особе које су биле у сексуалном контакту са оболелим од гонореје.

Када гонококе доспеју у вагину или на слузницу уретре, оне се везују за епителне ћелије дисталног дела уретре или грлића материце и умножавају се. Неколико површинских структура гонокока олакшавају везивање и усидравање бактерија у епителним ћелијама уретре или вагине. Гонококе поседују пиле, и друге површинске протеине, липоолигосахариде што им све заједно помаже да се вежу за ћелије домаћина.

Генетски механизми бактерија омогућавају им да експримирају или не експримирају многе од фактора адхеренције (феномен који се зове **фаза варијације**) или да мењају своје површинске структуре (**антигенска варијација**). Пили и површински протеини су имунодоминанти. Међутим, ове структуре су веоме променљиве, па су због тога лоше мете имунског система. Овим се објашњава зашто антитела која су усмерена против ових компоненти гонокока нису ефикасна у борби против различитих сојева ових бактерија.

У зависности од врсте протеина спољашње мембране које исказују гонококе, неутрофили могу или не могу да их фагоцитују. Неки од спољашњих мембранских протеина се зову **Opa протеини** (енгл. colony opacity-associated proteins). Неутрофили не могу да вежу оне бактерије које немају ове протеине. Гонококе које немају Opa протеине су најчешће удружене са PID, DGI и артритисом.

**Ширење и умножавање**

Након колонизације слузница, гонококе се брзо умножавају и излучују се у великом броју у гениталним секретима инфицираних мушкараца и жена.

Генитални секрети садрже IgG, као и IgА1 и IgА2. Гонококе продукују екстрацелуларне протеазе које специфично разграђују IgА1, али не и IgА2, и то у региону шарке. Ову особину поседују и друге бактерије које насељавају епител слузница, укључујући *Haemophilus influenzae* и неке стрептококе. Протеазе делују и на површинске протеине гонокока, а могу и да помогну овим бактеријама да избегну фагоцитозу и то уклањањем Fc фрагмента IgА молекула. Обзиром да овај регион препознају фагоцити, последица уклањања Fc региона помоћу бактеријских протеаза је смањена фагоцитоза гонокока.

**Оштећења ткива**

Није познато да гонококе луче егзотоксин, тако да оштећење ткива домаћина је највероватније изазвано LОS и другим компонентама бактеријског ћелијског зида као што је пептидогликан. И LОS и пептидогликан подстичу синтезу TNF-α у различитим ћелијама домаћина. Показано је да TNF-α индукује десквамацију цилијарних ћелија са слузнице јајовода. Поред смрти цилијарних ћелија, и нецилијарне епителне ћелије које садрже гонококе, такође, могу да лизирају при чему ослобађају ткивне факторе који стимулишу упални процес. Инфламаторни одговор у уретри мушкараца је одговоран за локалне симптоме као што су бол при мокрењу (дизурија) и цурење гноја из уретре. Ови симптоми се много не разликују од симптома уретритиса изазваног другим гениталним патогенима (нпр. *Chlamidia-*ма). Међутим, код гонореје, уретрални секрет је обилан, зелено-жуте боје, а бол је интензивнији. Код жена, гонококни цервицитис се чешће јавља без симптома, међутим, код неких могу да се јаве дизурија, диспареунија (болни сексулани однос), или нелагодност.

**Преживаљавање гонокока у крвотоку**

Система комплемента, IgG и IgМ учествују у елиминацији *N. gonorrhoeae* у циркулацији*.* Мете антитела су LOS, главни протеин спољне мембране, назван **протеин I,** као и други протеини на површини бактерије. Зато, гонококе да би могле да преживе у крвотоку, оне морају да избегну овај механизам одбране.

Гонококе, а нарочито сојеви који индукују DGI, избегавају одбрамбене механизме домаћина тако што мењају LOS и то додавањем терминалне сијаличне киселине на кратки угљенохидратни ланац. Обзиром да је сијалична киселина негативно наелектрисан молекул а и површинска је компонента еукариотских ћелија, оваквом модификацијом LOS, бактерије се мимикрирају и тако штите од антитела. Уз то, сојеви гонокока који изазивају DGI могу да се вежу за C4b-везујући протеин и за фактор H, два регулаторна протеина која спречавају активацију система комплемента.

Фактори домаћина, такође, утичу на исход гонококних инфекција. На пример, особе са дефицитом последњих компоненти активационе каскаде система комплемента, а које граде терминални комплекс који оштећује мембрану, су предиспониране за настанак рекурентних системских инфекција изазваних и гонококама и менингококама.

Клиничке манифестације DGI су промене на кожи у виду пустула окружене црвенилом, тендосиновитис и **супуративни** (**гнојни) артритис**. Често, култура крви, синовијалне течности или кожних лезија су стерилне из неколико разлога. Прво, гонококе могу бити присутне, али у броју који је сувише мали да би биле детектоване у култури. Друго, ове бактерије имају посебне нутритивне захтеве па не расту у уобичајеним условима културе. У случају тендосиновитиса, фрагменти пептидогликана (муреина) ћелијског зида, или вероватно имунски комплекси у чији састав чешће улазе гонококни антигени него вијабилне гонококе, се депонују у синовији и изазивају локалну упалу.

**Исход гонококне инфекције**

Симптоми инфекције уретре код мушкараца се обично повлаче за неколико недеља, без лечења. Међутим, ако се не лече, поновне инфекције могу узроковати ожиљке и стриктуре у уретри. Оваква секвела гонококне инфекције је данас ретка, јер већина људи тражи медицинску помоћ када се развију симптоми уретритиса. Код жена, симптоми цервицитиса су цервикални секрет, крварење и бол. Парадоксално, локалне урогениталне инфекције су асимптоматске у око 30% жена и често резултују компликацијама. Хронична упала јајовода индукује формирање ожиљака и стриктура, што за последицу има дуготрајне секвеле а то су као хронични пелвични бол; ванматерична трудноћа; рекурентнa PID изазванa *Chlamidiaе*-jaмa, анаеробима и другим бактеријама; и стерилитет. Из непознатих разлога, DGI се претежно јавља код жена. Гонококни артритис се јавља код одраслих, сексуално активних особа.

Исход гонококне инфекције не зависи само од пола, већ и од благовременог лечења. Благовремено лечење смањује ризик од дисеминованих инфекција и компликација.

**Табела 5.**

|  |
| --- |
| Гонококне инфекције: локација и врсте |
| Инфекције доњих делова гениталног система  цервицитис  уретритис (мушкарци и жене)  формирање апсцеса у жлездама у близини вагине (нпр. Бартолинијеве жлезде)  Инфекције горњих делова гениталног система  ендометритис  епидидимитис  пелвична инфламаторна болест (инфекција јајовода, јајника или аднекса ткива)  Друге локализоване инфекције  ректална гонореја (проктитис)  фарингитис  opthalmia neonatorum (билатерални конјунктивитис)  Дисеминована гонококна инфекција  дерматитис-артритис-теносиновитис синдром: грозница, полиартритис и теносинодерматитис  моноартикуларни септички артритис (један инфицирани зглоб)  ретко, ендокардитис (инфекција захвата срчани залистак) или менингитис (инфекција централног нервног система) |

**Менингококне инфекције**

Гонококе и менингококе су таксономски блиске, ове две бактерије показују око 90% сличности у својим ДНК секвенцама, обе имају сличне факторе вируленције (пиле, протеине спољашње мембране и липоолигосахарид). Обе бактерије могу да колонизују слузницу без изазивања симптома, а процењено је да је у ендемским подручјима, 5 до 10% становништва су носиоци менингокока. И гонококе и менингококе узрокују гнојне инфекције. Док су гонококне инфекције најчешће локалне и ретко леталне (чак и у случају ширења у крвоток), менингококна инфекција крвотока индукује системско и фатално обољење. Главни фактор вируленције менингокока је **капсула** која игра важну улогу у патогенези менингококне инфекције.

Менингококе колонизују назофаринкс, најчешће, без локалних симптома или системских последица. Особе подложне менингококцемији или менингококном менингитису су често дефицитарне у антикапсуларним антителима или у каскадној активацији система комплемента. Специфична антикапсуларна антитела или антитела усмерена против других површинских компоненти менингокока, су вероватно синтетисана у току унакрсне реакције на антигене или у току претходне колонизације, и имају задатак да спрече инвазију и умножавање менингокока у крви.

Ако су менингококе успеле да избегну одбрамбене механизме у крвотоку, оне се брзо умножавају и достижу изузетно висок титар у крви. Супротно томе, када гонококе доспеју у крвоток, код већине особа, оне су обично елиминисане одбрамбеним механизмима домаћина. Гонококни менингитис се јавља у ретким случајевима, а гонококна бактеријемија је данас ретко фатална.

Пут ширења менингокока до менингеа је контроверзан. Ове бактерије могу да се шире директно преко ламине криброзе дуж олфакторног нерва до субарахноидалног простора. Много чешће менингококе напуштају назофаринкс и улазе у крвоток а затим пролазе крвно мождану баријеру и доспевају у цереброспиналну течност.

Током менингококне сепсе јављају се симптоми и знаци циркулаторног колапса, мултиорганске дисфункције и коагулопатије. Повећана пропустљивост крвних судова и вазодилатација резултују синдром капиларне пропустљивости са периферним едемом. Излазак течности и протеина плазме из крвних судова за последицу има хиповолемију и смањен прилив венске крви у срце, хипотензију и редуковану перфузију у виталним органима. На молекуларном нивоу, патофизиологија менингококне сепсе је комплексна и резултат је деловања цитокина и хемокина, као и компоненти система комплемента и коагулације.

Мада је липоолигосахарид (ендотоксин) саставни део ћелијског зида бактерије, живе менингококе могу да активно отпуштају ендотоксин у великој количини помоћу спољашњих мембранских везикула које садрже и друге површинске протеине. Ендотоксин менингокока је примарно одговоран за септички шок, екстензивна ткивна оштећења и мултиорганску дисфункцију и то тако што стимулише ослобађање инфламаторних медијатора као што су TNF-α и IL-1. Додатно, ендотоксин менингокока активира коагулациони систем и систем комплемента. На тај начин менингококе узрокују разорну системску болест коју карактеришу **фулминантни септички шок** и **дисеминована интраваскуларна коагулација (DIC,** енгл. Disseminated Intravascular Coagulation) са генерализованим кожним манифестацијама (петехијима и екхимозом), менингитисом, шоком, и смрћу.

Менингококе изазивају широк спектар клиничких манифестација: менингококну сепсу са или без менингитиса, бактеријемију са или без сепсе, хроничну менингокцемију, пнеумонију, септички артритис... Менингитис и сепса су најчешће клиничке манифестације менингококне инфекције. Менингококно обољење може да се ефикасно спречи вакцинама које садрже капсуларни полисахарид. Изузетак је обољење изазвано менингококама серогрупе В. Капсула сојева серогрупе В је слабо имуногена, и обично не индукује синтезу заштитних антитела.

**Дијагноза**

Налаз неутрофила који садрже Gram- негативне диплококе у цервикалном или уретралном секрету сугерише на гонококну инфекцију. Позитивни микроскопски налаз уз одговарајуће клиничке симптоме оправдава започињање антибиотске терапије пре него што су резултати култивације познати. Бојење по Gram-у уретралног ексудата мушкараца је поузданије него бојење цервикалног ексудата код жена. Код бојења цервикалног ексудата, овај налаз може бити негативан, и поред позитивног резултата културе. Позитивни налаз бојења по Gram-у цервикалног секрета је потврдни доказ активне гонореје код жена са симптомима, али рутински бојење по Gram-у секрета жена без симптома нисје клинички користно.

**Табела 6.**

|  |
| --- |
| Менингококне инфекције |
| Менингококни менингитис  Менингококни бактеријемија  Менингокцемија (фулминантна пурпура и Waterhouse-Friderichsen синдром)  Индекција дисајних путева  Пнеумонија  Епиглотитис  *Otitis media*  Фокална инфекција  Конјунктивитис  Септички артритис  Уретритис  Пурулентни перикардитис  Хронична менингокцемија |

Гонококе расту на неколико врста хранљивих медијума који омогућавају паушалну идентификацију у року од једног дана. Најчешће коришћен медијум је "чоколадни" агар који садржи загрејану крв и има изглед млечне чоколаде. Посебни варијетети овог медијума су *Thaier-Martin* и *Martin-Levis* медијум који садрже јединствене антибиотике који инхибирају раст других врста бактерија, као и гљивица присутних у гениталном систему. Узорци узети из грлића материце, уретре и другим местима увек треба гајити на чоколадном агару са антибиотицима (нпр. *Thaier-Martin* или *Martin-Levis* медијум) да би се инхибирао раст физиолошке флоре. Важно је напоменути да је повремено сој гонокока осетљив на антибиотике који се користе у *Thaier-Martin* медијуму. Из тог разлога, течности које су обично стерилне (нпр. ликвор, крв и синовијална течност) треба гајити на чоколадном агару без антибиотика да би омогућио раст оних сојева који су осетљиви на антибиотике.

Иако су бојење по Gram-у и култивација главне дијагностичке технике код менингококних инфекција, PCR (детекција нуклеинске киселине) као брза молекуларна техника је данас доступна у клиничким лабораторијама.

**Терапија**

Данас, релативно висок проценат гонокока поседује плазмид који кодира β-лактамазу, ензим који разграђује пеницилин. Због широкe распрострањености резистенције на пеницилин, препоручена почетна терапија за гонореју више није пеницилин, већ β-лактамаза резистентни антибиотици (цефалоспорин-цефиксим или цефтриаксон) орално или интрамускуларно. Због изолације сојева отпорних на продужени спектар цефалоспорина постоји забринутост да је гонокок постигао статус "супербактерије". Особе инфициране *N. gonorrhoeae* често су коинфициране *Chlamidiа*-ом *trachomatis*. Зато се препоручује да особе које се лече од гонококне инфекције, такође, узимају азитромицин или доксициклин (лекове на које су хламидије осетљиве). Лечење менингококне инфекције интравенским антибиотицима, као што су цефтриаксон или пеницилин је индикована.

**BORDETELLA И ВЕЛИКИ КАШАЉ**

**Увод**

Пертусис, или велики кашаљ, је изазван *Bordetella*-ом *pertussis* и *Bordetella*-ом *parapertussis*, двема сродним бактеријама које код људи колонизују епител назофаринкса, трахеје, бронхија и бронхиола. Ови **Gram-негативни кокобацили** синтетишу снажне токсине који продиру у ткива, убијају ћелије, имобилишу цилијарни апарат и изазивају нагомилавање слузи у дисајним путевима. Карактеристичне нападе (пароксизме) кашља прати дуг инспираторни "стридор" услед сензибилизације рецептора кашља у трахеји и напора оболелих да искашљу акумулирани мукус и ћелијски дебрис. Убијене, целе *Bordetella*-е *pertussis,* заједно са токсоидима дифтерије и тетануса улазе у састав **DiTePer вакцине**, која се даје новорођенчадима и више година касније. Ретка, нежељена дејства DiTePer вакцине (епизоде ​​грознице са конвулзијама) могу се избећи давањем **ацелуларне вакцине** која садржи инактивисане токсине и адхезине.

Велики кашаљ**,** или **пертусис** је респираторно обољење, а нарочито је тешко код одојчади и мале деце. Ово је једно од најважнијих контагиозних инфективних болести са стопом преноса која у породицама приближно износи око 90%.

Број случајева великог кашља, у земљама са универзалним програмом вакцинације, је у порасту последњих неколико деценија. Сматра се да је ово повећање резултат имунодефицијенције код старијих адолесцената и младих одраслих особа, као и примене савременијих дијагностичких техника.

Локалне манифестације великог кашља су **трахеитис** и **бронхитис**, са акумулацијом слузи, инфламаторних ћелија, бактерија и мртвих епителних ћелија у лумену дисајних путева. Функција **мукоцилијарног апарата** је поремећена услед оштећења цилијарних епителних ћелија, а кашаљ се лако индукује јер су рецептори за кашаљ сензибилисани. Убрзо се јавља стални кашаљ са инспираторним стридором (рика услед едема епиглотиса), мукозна секреција, повраћање и апнеја. Због отока епиглотиса кашаљ подсећа на рику због чега се ова болест зове и "магарећи кашаљ". Системске манифестације су благо повишена телесна температура, малаксалост и лимфоцитоза. Гутање може да индукује напад кашља због чега одојчад и мала деца одбијају храну и воду што за последицу има између осталог и дехидратацију.

***Bordetella pertussis* и *Bordetella parapertussis***

*Bordetella*-есу мали, Gram-негативни аеробни кокобацили. *B. pertussis* и *B. parapertussis* могу да инфицирају само људе и не могу дуго да преживе изван организма.

*Bordetella*-е поседују специфичне протеине (адхезине) на својој површини који им омогућују да се вежу за цилијарне епителне ћелије респираторног система. Ове бактерије, луче и токсине који продиру у ћелије домаћина што на крају узрокује знаке и симптоме болести. Као и друге Gram-негативне бактерије, *Bordetella* садржи ендотоксин (липополисахарид) који идукује инфламаторни одговор и последично симптоме болести, укључујући и грозницу.

**Епидемиолошке карактеристике*****B. pertussis* и *B. parapertussis* и клиничке манифестације**

*B. pertussis* и *B. parapertussis* изазивају обољења искључиво код људи. Сматра се да њихова перзистенција у људској популацији зависи од инфекције старијих адолесцената и одраслих особа са имунодефицијенцијом. Основа изузетне контагиозности пертусиса је непозната и збуњујућа јер је способност трансмисије *B. pertussis* или *B. parapertussis* са оболелих ниска и опада како болест напредује. Бактерија се ретко преноси са назофаринкса здравих особа.

Код одојчади и мале деце обично се јавља "класични" велики кашаљ који карактеришу три фазе. **Катарална фаза** се често не разликује од почетне фазе прехладе и праћена је ринорејом, лакримацијом и благим кашљем. **Пароксизмална фаза** започиње после 7 до 14 дана, са симптомима који се погоршају и карактеришу је напади кашља. Пароксизме одликују 10 или више силовитих спазама кашља током једног експиријума, који су праћени снажним инспиријумом кроз затворени епиглотис што резултира класичну "магарећу рику". Током пароксизама, могу се јавити цијаноза, егзофталмус (избуљене очи), протрузија језика, саливација, лакримација и набрекле вене на врату. На крају пароксизма, пацијент често повраћа. На почетку болести обично се јавља неколико напада кашља у току једног сата, а касније на врхунцу болести јављају се и даноноћно. Пароксизмална фаза траје од 2 до 8 недеља. **Рековаленсцентна фаза**, током које учесталост и интензитет пароксизама се смањује, може трајати и до 6 месеци. Код старијих адолесцената и одраслих особа обично се развија блага болест или асимптоматска инфекција. Постаје све јасније да нити имунизација нити претходна инфекција не пружају доживотни имунитет. Због тога је важно да лекари који лече децу узму комплетну историју болести свих чланова породице и да их упозоре да могу да оболе или да већ имају велики кашаљ.

Пертусис са благим и атипичним клиничким манифестацијама се нарочито јавља код: 1) старије деце и одраслих особа; 2) млађе деце која су некомплетно имунизована; 3) код новорођенчади и одојчади која су делимично заштићена мајчиним антителима.

**Улазно место**

*B. pertussis* и *B. parapertussis* најчешће улазе у трахеју и бронхије инхалацијом. Бактерије се специфично везују за цилије епителних ћелија дисајних путева. Претпоставља се да је велики кашаљ искључиво површинска инфекција и да бактерије остају на површини слузница и не инвадирају дубља ткива. Друге важне бактеријске болести са овом карактеристиком су дифтерија и колера. Бактерије, који су изазивачи оваквих болести, излучују токсине који имају драматичне ефекте на ћелије домаћина и одговорни су за већину манифестација болести.

Молекуларна основа тропизма *Bordetella* за цилије је највероватније последица специфичних интеракција, између бактеријских адхезина и рецепторских протеина на цилијама. За неколико површинских протеина *B. pertussis* и *B. parapertussis,* сматра се да функционишу као адхезини. То су фимбрије (**Fim**), такође познате и као пили, **филаментозни хемаглутинин (FHA**, енгл. Filamentous HemAgglutinin) и **пертактин** (**Prn**) који сви заједно улазе у састав ацелуларне вакцине против пертусиса. Циљ примене овакве вакцине је да се подстакне синтеза антитела усмерених управо против ових протеина. Везивањем за ове структуре, антитела могу да блокирају адхезију бактерија за рецепторе на ћелијама домаћина и на тај начин ће спречавају успостављање инфекције. Претпоставља се да на ћелијама домаћина, неколико протеина фамилије интегрина служе као рецептори за које се ови бактеријски протеини везују.

**Ширење и умножавање**

Резултати добијени у моделима заснованим на коришћењу експерименталних животиња, указују на то да се током првих неколико недеља инфекције, *Bordetella* драстично умножава и да може да се брзо шири из назофаринкса у душник, бронхије и бронхиоле. Маса бактерија бива заробљена у цилијама и у густој слузи. Претпоставља се да бактерије, секрецијом егзополисахаридног матрикса, доприносе у формирању биофилма. Субмукоза испод бактерија бива све више упаљена, а перибронхијални лимфни чворови су увећани. Могућност култивације *B. pertussis* или *B. parapertussis* из секрета назофарингса или спутума седрастично смањује након катаралне фазе. Да ли су у том тренутку бактерије биле активно елиминисане (упркос чињеници да су симптоми најтежи неколико недеља), или су се преселиле у дубља, мање приступачна места у дисајним путевима, је непознато.

**Оштећења ткива**

У иницијалној фази инфекције дешава *B. pertussis* и *B. parapertussis* помоћу адхезина колонизују цилијарни епител трахеје и бронхија.*B. pertussis* и *B. parapertussis* произведе широк спектар фактора вируленције (Табела 7). Ови фактори делују на велики број типова ћелија, укључујући и ћелије имунског система што бактеријама омогућава да значајно модулирају имунски одговор домаћина.

**Пертусис токсин** (**PT**, енгл. Pertussis Toxin), који секретује само *B. pertussis,* је удружен са лимфоцитозом и сличан је многим другим бактеријским токсинима (нпр. колера токсин, дифтерија токсин и егзотоксин А *Pseudomonas*-а). Делује тако што утиче на метаболизам цикличног аденозин монофосфата (cAMP, енгл. cyclic AdenosineMonoPhospahate). PT је и АВ токсин, који се састоји од А (активне) субјединице и В (везујуће) домена који садржи пет различитих субјединица. Токсин се везује за ћелије домаћина В доменом што омогућава да А фрагмент да уђе у ћелију и да делује у цитоплазми. Један од циљних протеина овог токсина је **G протеин** укључен у регулацију аденилат циклазе. ADP-рибозилацијом инхибиторног G протеина, PT узрокује конститутивну активност целуларне аденилат циклазне што за последицу има висок ниво cAMP у интоксицираним ћелијама што инхибира важну микробицидну способност фагоцита, као што су хемотакса и оксидативни стрес.

И *B. pertussis* и *B. parapertussis* синтетишу и луче протеин који улази у еукариотске ћелије и директно ремети њихову функцију, и то након активације калмодулина, протеина који везује Ca2+. Слично PT, овај протеин, који се зове **токсин аденилат циклазе (ACT**, енгл. Adenylate Cyclase Toxin) узрокује изузетно висок ниво cAMP у интоксицираним ћелијама и на тај начин инхибира мицробицидну функцију фагоцита.

Локално оштећење респираторног епитела је, у великој мери, последица другог токсина, **трахеалног цитоксина (TCT**, енгл. Tracheal CytoToxin). Овај токсин паралише цилије што индукује нагомилавање мукуса у дисајним путевима. Овај токсин, такође специфично убија цилијарне ћелије и изазива њихову екструзију са епитела. Сличан токсин продукују и гонококе који делује на аналоган начин тако што убија цилијарне епителне ћелије у јајоводу.

Постојећа (преформирана) антитела, нарочито IgА, синтетисани у току претходне инфекције или вакцинације спречавају болест. Међутим, када се болест испољи, антитела могу да играју мању улогу, јер егзотоксини када уђе у циљну ћелију домаћина постају недоступни антителима.

**Дијагноза**

Клинички знаци и симптоми (нарочито карактеристична "рика") болести су карактеристични и олакшавају постављање дијагнозе. Међутим, лабораторијска дијагностика *B. pertussis* је тешка јер број бактерија се смањује како се тежина симптома повећава. Тако, *B. pertussis* и *B. parapertussis* се могу култивисати само код малог броја инфицираних пацијената.

За култивацију *B. pertussis*, узима се брис са задњег зида ждрела. Брис се често третира пеницилином којим се убијају осетљиве бактерије физиолошке флоре (*B. pertussis* је суштински отпорна на овај лек). Брис се затим засејава на *Bordet-Gengou* медијуму и инкубира 2 до 4 дана. Позитивна идентификација узрочника је могућа и коришћењем специфичног антисерума. Користе се и антитела, директно обележена флуоресценцијом, за визуелизацију бактерија у култури. PCR метода служе за утврђивање *Bordetella* специфичне- ДНК у спутуму или у узорку добијеним брисом ждрела. Серолошка анализа има малу дијагностичку вредност код неких оболелих особа.

**Табела 7.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Главни токсини и фактори вируленције *B. pertussis* и *B. parapertussis* | | | | |
| Назив | **Хемијски састав** | **Место деловања** | **Биохемијска активност** | **Физиолошки ефекти** |
| Пертусис токсин | Протеин | Локално и системско | ADP-риболизација G протеина | Оштећује хемотаксу неутрофила, фагоцитозу, бактриоцидну активност; лимфоцитозу |
| Токсин аденилат циклазе | Протеин | Локално | Конвертује ATP у cAMP  Инсерција мембране | Сензитизација хистамина опонаша активност пертусис токсина у неутрофилима; Повећава пропустљивост капилара утиче на формирање едема; Хемолитичка активност |
| Трахеални цитотоксин | Муреин | Локално | Стимулише синтезу азот моноксида | Цитопатогено оштећење трахеалног епитела; Убија цилијарне епителне ћелије; Адјувант |
| Ендотоксин | Липополисахарид | Системско | Везујући CD14 и TLR4 стимулише проинфламаторни одговор | Грозница; Адјувант |
| Фимбрије (пиле) | Протеин | Локално | ? | Олакшава адхезију за респираторни епител |
| Филаментозни хемаглутинин | Протеин | Локално | Везује хепарин; Аглутинира еритроците | Адеренција и модулација урођеног имунског одговора |

**Лечење и превенција**

Макролиди и тетрациклини су ефикасни против *B. pertussis*. али су најефикаснији ако се дају што раније у току болести.

Вакцинација против пертусиса је широко распрострањена. Пошто ни имунизација, нити инфекција не изазивају доживотни имунитет, а изгледа и да одрасле особе представљају резервоар инфекције који могу да се заразе децу, препоручује се бустер вакцинација сваких 10 година.

***HAEMOPHILUS INFLUENZAE***

**Увод**

Бактерије рода *Haemophilus* су једне од најмањих бактерија. Ћелијски зид ових бактерија је структурно сличан ћелијском зиду других Gram-негативних бактерија. *Haemophilus influenzae* може да поседује полисахаридну капсулу, док друге бактерије рода *Haemophilus* нису инкапсулиране.

За култивацију бактерија рода *Haemophilus* неопходна је хранљива подлога која садржи крв или крвне продукте (назив потиче од грчке речи **"haema" - крв** и **"philos" – воли**) који су неопходни за њихов оптимални раст. Ова подлога садржи факторе егзогени хематин и/или NAD (енгл. Nicotinamide Adenine Dinucleotide). Ови фактори раста зову се још и **фактор Х (хемин)** и **фактор V (NAD)** и присутни су у еритроцитима. У хранљивом медијуму, оптимална концентрација фактора Х, а нарочито фактора V се обезбеђује тако што се еритроцити лизирају пажљивим загревањем крви (при чему се добија чоколадни агар) или се еритроцити разграђују па се додају појединачно као саплемент. Док су еритроцити једини извор хематина, фактора V се продукује и помоћу неких других бактерија и квасница. Тако, на крвном агару *Haemophilus influenzaе* формира колоније само у близини колонија *Staphylococcus*-акоји продукује фактор V (**феномен "сателитизма"**).

За разлику од *Haemophilus*-а *influenzaе* који је инкапсулиран, већина бактерија рода *Haemophilus* не поседују капсулу и изазивају системска обољења као што су пнеумонија, менингитис, артритис, ендокардитис и инфекције меких ткива.

**Карактеристике *Haemophilus*-а *influenzaе***

*Haemophilus influenzaе* поседује или не поседује **капсулу**. Разликује се 6 серотипова *Haemophilus*-а *influenzaе* на основу полисахаридних антигена капсуле. Капсула типа b садржи полимер рибозе, рибитола и фосфата који се зове **PRP** (енгл. PolyRibitol Phosphate). Ови површински полисахариди су важни фактори вируленције, а нарочито *H. influenzaе* типа b. Неинкапсулирани сојеви *H. influenzaе* су класификовани на основу **протеина спољашње мембране** и других фактора. Ови протеини су присутни и код инкапулираних сојева *H. influenzaе* али нису удружени са њиховом вируленцијом. *H. influenzaе* типа b изазива акутне инфекције централног нервног система, опасне по живот, епиглотитис, као и инфекције меких ткива, нарочито код деце. У случају акутног менингитиса развија се кома и оболели умиру за краће од 1. дана. У земљама у којима се спроводи вакцинација против *H. influenzaе* типа b*, H. influenzaе* такође изазива мање фулминантне инфекције бронхија, синуса и средњег уха. Ове инфекције су најчешће изазване неинкапсулираним сојевима.

**Епидемиолошке карактеристике**

*Haemophilus influenzaе* је присутан у **нормалној флори назофаринкса** код 20-80% здравих особа, у зависности од старости, годишњег доба и других фактора. Већина ових бактерија су **неинкапсулиране**, али нису ретки ни и **капсулирани сојеви**, укључујући *H. influenzaе* тип b. Менингитис се обично јавља у прве 2. године живота. Епиглотитис и пнеумонија показују највећи пик од 2. до 5. године живота. Више од 90% ових случајева је изазвано *H. influenzaе* тип b. Применом конјуговане вакцине против *H. influenzaе* значајно је редукована учесталост инвазивних обољења, чак и до 99%.

**Патогенеза инвазивних обољења**

Из непознатог разлога, сојеви *H. influenzaе* који су у саставу нормалне флоре назофарингса повремено инвадирају у дубља ткива. Бактеријемија омогућава ширење *H. influenzaе* до централног нервног система и развој метастатских инфекција у удаљеним местима као што су кости и зглобови. Системско ширење је типично за инкапсулиране сојеве *H. influenzaе,* више од 90% инвазивних сојева је тип b. Полисахаридна капсула је главни фактор вируленције *H. influenzaе* типа b. Када доспеју у циркулацију ова капсула штити *H. influenzaе* типа b од фагоцитозе и ћелијске лизе посредоване системом комплемента.

Везивање за ћелије респираторног епитела је посредовано **пилама**, као и другим адхезинима. Када прођу кроз баријеру слузница, капсула ових бактерија их штити од опсонизације и фагоцитозе на исти начин као и друге инкапсулиране бактерије (*S. pneumoniae* и *N. meningitidis*). Ендотоксин, у саставу ћелијског зида, је токсичан за цилијарне ћелије у дисајним путевима, али ендотоксин *H. influenzaе* је мање значајан у инфекцији него ендотоксин *N. meningitidis. H. influenzaе* продукује непознат егзотоксин.

**Патогенеза локализованих обољења**

Неинкспсулирани сојеви *H. influenzaе* изазивају обољења под одређеним условима када на пример из горњих делова дисајних путева доспеју у средње ухо, синусе или бронхије. Ово се дешава када услед вирусне инфекције или структурног оштећења постоји поремећај у уклањању *H. influenzaе.* Најчешћа локализована обољења су *otitis media*, синузитис и егзацербација хроничног бронхитиса. Неинкспсулирани сојеви *H. influenzaе* могу дапоседују пиле који им омогућују да се вежу за ћелије домаћина, али ово присуство пила није обавезно. Неинкспсулирани сојеви *H. influenzaе* поседују **површинске протеине** велике молекулске тежине (**HMW1**и **HMW2)** који нису присутни код инкапсулираних сојева. Ови протеини, такође, посредују у везивању бактерија за епителне ћелије, а неки од њих су хомологи са филаментозним хемаглутинином важног у адхеренцији *Bordetella*-е *pertussis* за цилијарне епителне ћелије.

**Отпорност на инфекције изазване *H. influenzaе***

Имуност на инфекцију изазвану *H. influenzaе* типа b је посредована **антикапсуларним (PRP) антителима** која заједно са системом комплемента учествују у елиминацију ових бактерија. У првих неколико месеци, новорођенчад су обично заштићена антителима мајке. Пик инциденце инфекције изазване *H. influenzaе* типа b је између 6. и 18. месеца живота када је ниво ових антитела у серуму најнижи. Продукција ових антитела се повећава са годинама, а антитела достижу оптималан ниво до 10. године живота. Системске инфекције изазване *H. influenzaе* (менингитис, епиглотитис и целулитис) су код одраслих особа ретке.

Полисахарид PRP је Т-независни антиген. У примарном одговору на инфекцију су укључени В лимфоцити без значајног учешћа помагачких Т лимфоцита. Конјугацијом PRP са протеинским антигеном покреће се и Т-ћелијски имунски одговор.

**Обољења изазвана** ***H. influenzaе***

Главна клиничка манифестација инфекција изазваних *H. influenzaе* типа b је менигитис и јавља се у 50% случајева. Друге клиничке манифестације су пнеумонија, епиглотитис, септикемија, целулитис и септички артритис. Локализоване инфекције могу бити изазване инкапсулираним сојевима, укључујући и *H. influenzaе* тип b, али у већини случајева су изазвани неинкапсулираним сојевима.

**Менингитис** изазван *H. influenzaе* типа b је акутно пурулентно обољење. Овом обољењу често претходе инфекције горњих дисајних путева као што су фарингитис, синуситис и *otitis media*.

**Акутни епиглотитис** је тешка инфекција у којој је развија упала епиглотиса и околног ткива што за последицу има опструкцију дисајних путева. *H. influenzaе* тип b је један од изазивача ове болести. Болест се развија изненада, а јављају се грозница, упала ждрела, промуклост и потмуо кашаљ. Ово обољење брзо прогредира у току 24 сата. Оболела деца имају осећај губитка ваздуха, инспираторни стридор а примећује се и увлачење респираторне мускулатуре при сваком инспиријуму. Значајна карактеристика ове болести је инфламиран, отечен и црвен епиглотис. Манипулације, укључујући рутински преглед гуше или узимање бриса, могу да индукују ларингоспазам и акузну опструкцију дисајних путева.

Мек црвено-плави оток на образу и периорбиталној регији је честа манифестација **целулитиса** који је изазван *H. influenzaе* типа b. Грозница и умерено токсично стање су често присутни. Целулитис може да се развије након инфекије горњих дисајних путева и запаљења средњех уха. **Септички артритис** започиње грозницом и локалним знацима инфламације најчешће у пределу једног великог зглоба. Бактеријемија је обично присутна и код целулитиса и код артритиса.

*H. influenzaе* је важан узрочник **конјунктивитиса**, **запаљења средњег уха**, као и акутног и хроничног **синузитиса**. Такође ова бактерија узрокује и **егзацербацију хроничног бронхитиса**. Већина ових обољења су изазвана неинкапсулираним сојевима и обично остају локализована без настанка бактеријемије. Ова обољења могу бити акутна или хронична у зависности од анатомског места. На пример *otitis media* је акутно и болно јер су захваћени мали блиски простори, али након антибиотске терапије и поновног отварања Еустахијеве тубе, ово запаљење се обично повлачи без компликација. Удруженост *H. influenzaе* са хроничним бронхитисом је много комплекснија. Сматра се да *H. influenzaе* и друге бактерије играју значајну улогу у егзацербацији запаљења. **Пнеумонију** изазивају и инкапсулирани и неинкапсулирани сојеви *H. influenzaе.* Инкапсулирани сојеви узрокују обољење слично пнеумококној пнеумонији, а и неинкапсулирани сојеви изазивају пнеумонију, а нарочито код особа са хроничним бронхитисом.

**Дијагноза**

Клинички налаз и бојење по Gram-у су обично довољни за постављање дијагнозе. Дијагноза се потврђује изолацијом бактерије са места инфекције или из крви. Хемокултура је нарочито важна код системских инфекција јер је тешко добити адекватан узорак директно са места инфекције. Бактериолошки, мали Gram-негативни кокобацили који расту на чоколадном агару али не и на крвном агару несумњиво сугеришу на *Haemophilus.*

**Лечење и превенција**

*H. influenzaе* је обично осетљив на ампицилин, цефалоспорине, тетрациклине, аминогликозиде и сулфонамиде. Мање је осетљив на пеницилин и еритромицин. Лечење системских инфекција је компликовано због сојева који продукују β- лактамазу*.* Данашња пракса је да се започне са емпиријском терапијом тј. са трећом генерацијом цефалоспорина (цефтриаксон и цефотаксим) који могу да се замене ампицилином ако се утврди да је сој који је изазвао инфекцију осетљив на овај антибиотик.

Вакцина која садржи пречишћен PRP је почела да се примењује 1985. г. Међутим, ова вакцина, индукује слаб имунски одговор на полисахаридне антигене, и примењује се само код деце старости 2. године и код старијих. Обзиром да имунизација не обухвата старосну групу деце која је најосетљивија на инвазивна обољења изазвана *H. influenzaе* типа b, нова стратегија вакцинације се заснива на стимулацији Т-ћелијски зависног имунског одговора код деце. Да би се ово постигло дизајнирана је конјугована вакцина која садржи PRP конјугован са протеинима пореклом из *Corynebacterium diphteriae* (токсоид) или *N. meningitidis* (протеин спољашње мембране). Прва конјугована вакцина је лиценцирана 1989.г., а касније 1990.г. је препоручена за универзалну имунизацију почев од 2. месеца живота. Овом имунизацијом драстично је редукован менингитис изазван *H. influenzaе* типа b. Истовремено је драстично смањена и колонизација *H. influenzaе* код имунизованих људи.

**LEGIONELLA, ПАРАЗИТ АМЕБА И МАКРОФАГА**

*Legionellae* су разноврсни род аеробних Gram-негативних бацила, који обухвата опортунистичке патогене који паразитирају у макрофагима људи. Ове бактерије паразитирају у амебама (протозоама) присутним у води и земљишту, а повремено колонизује климатске уређаје и системе за водоснабдевање. Људи се инфицирају инхалацијом. Код особа са имунодефицијенцијом може да се јави тежи облик пнеумоније који се зове Легионарска болест. Обзиром да је ова инфекција је често удружена са контаминираним воденим системима, Легионарска болест се јавља у болницама, хотелима и другим великим зградама.

**Епидемиолошке карактеристике**

*Legionella pneumophila* је први пут откривена, у току епидемије упале плућа код америчких легионара, у Филаделфији 1976. г. Многе врсте у *Legionella* су убиквитарне, присутне у воденим срединама или у земљишту, а неке су значајни узрок упале плућа. Најчешћи облик инфекције је спорадичана пнеумонија. У болницама стечене легионелозе изазивају тежак клинички облик.

Бројне епидемије Легионарске болести су последица **колонизације водоводних система** *L. pneumophila*-ом. У болницама или хотелима, у којима су се јавиле епидемије, сој *L. pneumophila* који је изолован у култури узорака респираторних путева оболелих се обично може наћи и у води са чесме, или у седименту из резервоара топле воде. *Legionella* је нарочито прилагођена на топле водоводне системе у зградама. Бактерија расте на температури од 46°С, а толерише и много веће температуре. *Legionella* је **релативно резистентна на хлор**. Поред тога, бактеријски биофилм је отпоран на биоциде.

Легионарска болест се јавља услед **примарне инфекције плућа**. Патоген се никада не преноси са особе на особу, уместо тога, људи се инфицирају из **спољашње средине**, обично при контакту са системима за водоснабдевање који су колонизовани овим микроорганизмом. Тушеви, фонтане, опрема за инхалацију, централни системи за климатизацију ослобађају **инфективне аеросоле**.

Ризик од инфекције не зависи само од величине удахнутог инокулума већ и од осетљивости домаћина. Познато је неколико фактора који предиспонирају инфекцију, а то су пушење, поодмакло доба, хронична болест плућа и имуносупресија (нпр. код трансплантације, терапији кортикостероидима).

**Умножавање и ширење**

У ваздушним просторима плућа, *Legionella* је ингестирана у резидентне алвеоларне макрофаге. Ови фагоцити, прва линија одбране домаћина, не убијају и не успевају да инхибирају раст *L. pneumophila*-е у плућима.

После ингестије, у фагоцитима *L. pneumophila* блокира фузију фагозома са лизозомом. Фагозом са *L. pneumophila*-ом је удружен са **ендоплазматским ретикулумом**. Овај феномен подсећа на **аутофагију**, одговор на стрес којим еукариотска ћелија секвестрира и разграђује свој цитоплазматски садржај, укључујући и органеле. Ако су нутритивне материје доступне у овом простору, *L. pneumophila* диферентује у **репликативну форму**. На крају, ћелија домаћина бива потпуно испуњена бактеријама док је количина хранљивих материја смањена. У овом тренутку, бактерије прекидају своју репликацију и прелазе у **трансмисивну (инфективну) форму**.

У трансмисивној форми, *L. pneumophila* експримира факторе који лизирају мембрану еукариота и ослобађа се потомство бактерија из инфициране ћелије домаћина. Инфективна форма бактерија исказује и **флагелу** која олакшава њено ширење у воденој средини. Ова форма је и **резистентна на осмотски шок**, као и друге факторе стреса што бактеријама омогућава екстрацелуларно преживљавање. Уз то, од кључног значаја за трансмисију су фактори који **блокирају фузију фагозома са лизозомом** након ингестије у следећу ћелију домаћина.

Домаћин може да инхибира раст интрацелуларне *L. pneumophila*-епомоћу механизама урођене имуности. Након контакта са *L. pneumophila*-ом, макрофаги луче TNF-α који инхибира раст ове интрацелуларне бактерије. Већина здравих људи су отпорни на Легионарску болест.

Када се инфекција успостави, њен исход зависи од специфичног имунског одговора. У контакту са ћелијама које презентују антигене *Legionella*-е у склопу II класе молекула ткивне подударности, антиген-специфични лимфоцити се активирају, а затим се умножавају и луче цитокине. Један од најважнијих цитокина је интерферон- γ који супримира раст *L. pneumophila*-е у макрофагима тако што индукују ћелије да секвестрирају **гвожђе** од интрацелуларних бактерија. Ово ограничавање приступа гвожђа, есенцијалне хранљиве материје, може да буде критична функција имунског система у контроли инфекције изазване *L. pneumophila*-ом.

**Оштећења ткива**

Макрофаги, заражени *L. pneumophila*-ом, ослобађају цитокине којима повећавају инфлукс моноцита и неутрофила из крви у ваздушне просторе плућа. Нодуларна жаришта инфекције се увећавају и постају видљива као инфилтрирати на рендгену плућа. Ова жаришта се обично развијају у микроапсцесе који се затим спајају и формирају шупљину. Бронхије и бронхиоле нису оштећене.

Већина локалних оштећења су последица снажног запаљенског одговора у присуству инфекције. Липополисахарид *L. pneumophila*-е је слабији него ендотоксини код већине Gram-негативних бактерија. Када макрофаги препознају флагелин *L. pneumophila*-е, они луче проинфламаторне цитокине IL-1β и IL-18.

Легионарска болест обично започиње као "грип". Сви оболели имају **грозницу** и развијају се клиничке карактеристике пнеумоније: **кашаљ, отежано дисање** и евентуално **бол у грудима**. Оболели ретко имају обилан прурулентни (жуте или зелене боје) спутум удружен са бактеријском бронхопнеумонијом. **Воденаста дијареја**, мучнина, повраћање, или бол у стомаку могу да буду присутни. Ниво кисеоника у крви може бити низак што може допринети у настанку конфузије и летаргије. Код многих пацијената, други лабораторијски тестови могу да укажу на дисфункцију бубрега или јетре.

**Дијагноза**

Лабораторијска дијагноза легионарске болести може бити отежана. Бактерије нису присутне у великом броју, у спутуму и лоше се боје. Код бојења по Gram-у обично се уочава обиље неутрофила, али не и бактерије. Неколико **брзих техника идентификације** узрочника може да се користи за постављање брзе дијагнозе. На пример, испитивање спутума **антителом које је директно обележено флуоресцентном бојом**, или детекција антигена *L. pneumophila*-е серогрупе 1 у мокраћи помоћу **ELISA-e**. Иако ови тестови могу бити корисни у спровођењу иницијалне терапије, ниједан од њих није довољно осетљив или специфичан да би се користио као једини дијагностички метод.

**Лечење и превенција**

Успешна антибиотска терапија захтева оне лекове који могу да продру у инфициране ћелије, у којима бактерије расту, а то су макролиди/кетолиди, флуорохинолони и тетрациклини. Пеницилин или цефалоспорини слабо пенетрирају у еукариотску ћелију.

Превенција Легионарске болести подразумева мониторинг система воде и клинички надзор случајева легионелозе. У болницама, хотелима и другим великим зградама, у којима су се десили ови случајеви, контролишу се водоводни системи на присуство легионела. Загађени системи се уклањају или деконтаминирају загревањем воде до 60°С, ултраљубичастим зрачењем, или се третирају са јонима бакра и сребра или монохлорамином.