

Asociația Națională a Fabricanților de Produse de Uz Veterinar (ANFPUV) Date sintetice privind evoluția economică a fabricanților de produse de uz veterinar din România în perioada 2020-2022

National Association of Veterinary Products Manufacturers (NAVPM) Synthetic data on the economic evolution of manufacturers of veterinary products in Romania in the period 2020-2022

Nistor MAIEREAN

Președinte ANFPUV, Expert tehnic judiciar

maierean@gmail.com

Cuvinte cheie: ANFPUV, indicatori economici, sinteza, Romania.

Keywords: NAVPM, economical indicators, synthesis, Romania

Rezumat

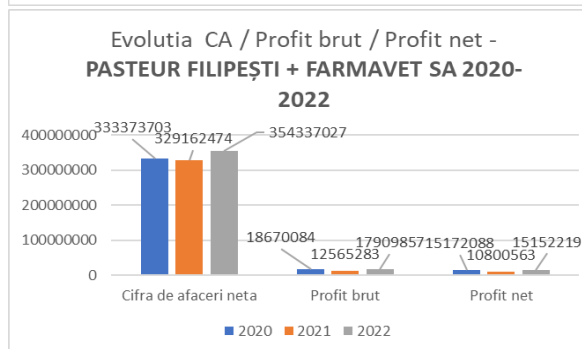
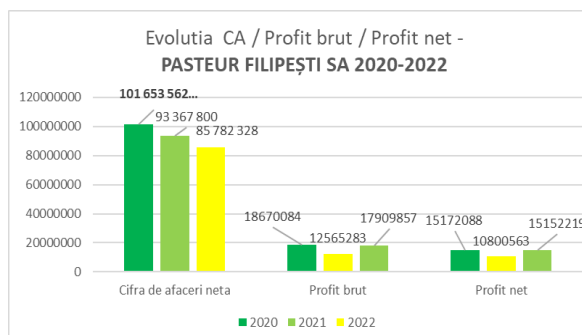
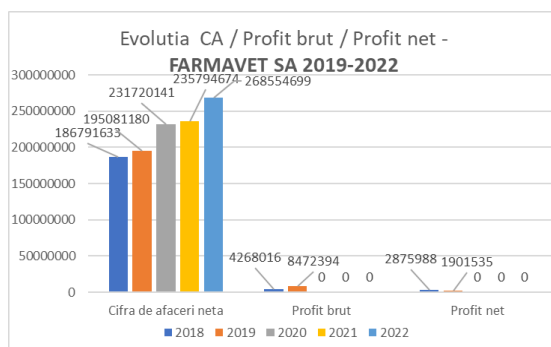
În prezentul material sunt prezentați grafic și punctual principalii indicatori economici ai membrilor Asociației Naționale a Fabricanților de Produse de Uz Veterinar pentru perioada 2020 – 2022. Comparativ sunt prezentate evoluțiile cifrei nete de afaceri și profitul brut vs. profitul net al principalilor membri ai Asociației

Abstract

In this material, the main economic indicators of the members of the National Association of Veterinary Products Manufacturers for the period 2020 – 2022 are presented graphically and punctually. The evolution of net turnover and gross profit vs. the net profit of the main members of the Association

Evoluțiile economice ale membrilor Asociației noastre precum și a altor producători -nemembrii, reflectă cu preocupările susținute ale acestora pentru dezvoltarea propriilor afaceri și sunt în strânsă corelație cu evoluțiile macro-economice ale României.

În continuare vom prezenta indicatorii economici de bază pentru o perioadă de trei ani: 2020-2022, în ceea ce privește evoluția cifrei de afaceri (CA) și a profitului brut vs. profit net al membrilor Asociației și a altor producători din România.



În ceea ce privește producătorul **PASTEUR FILIPEȘTI SA**, unul dintre cei mai mari producători de produse medicinale

veterinare din România, se constată o scădere a **cifrei de afaceri nete** cu 8,15% în 2021 față de 2020 și o scădere de 8,12% în 2022 față de 2021. În ceea ce privește **profitul brut** se constată o scădere cu 32,7% în 2021 față de 2020 și o revenire a profitului brut în 2022 aproape de nivelul din 2020, înregistrând o creștere de 142,53% în 2022 față de 2021.

Profitul net al companiei **PASTEUR FILIPEȘTI SA** înregistrează o scădere de 28,81% în 2021 față de 2020 și o revenire în 2022 la nivelul din 2020, cu o creștere de 140,29%

FARMAVET SA, distribuitorul an gros și cu amănuntul al produselor fabricate de **PASTEUR FILIPEȘTI SA** deși **raportează în perioada 2020-2022, un profit brut și net de nivel zero**, înregistrează în perioada 2019-2022 o **creștere anuală a cifrei de afaceri netă de 118,78% în 2020 față de 2019, 101,76% în 2021 față de 2020 și o creștere de 113,89% în 2022 față de 2021.**

La nivel de **FARMAVET GROUP SA (PASTEUR FILIPEȘTI + FARMAVET SA)** se constată o scădere a **cifrei de afaceri nete** cu 1,26% în 2021 față de 2020 și o creștere de 107,65% în 2022 față de 2021, depășind cifra de afaceri netă din 2020 cu 106,28%. **Profitul brut** înregistrează o scădere semnificativă în 2021, de 32,70% față de 2020, dar și o revenire în 2022 aproape de nivelul din 2020, în procent de 142,53% față de 2021.

Profitul net la nivel de **FARMAVET GROUP SA** suferă o scădere de 28,81% în 2021 față de 2020 și o revenire la nivelul profitului din 2020, înregistrând o creștere de 140,29% în 2022 față de 2021.

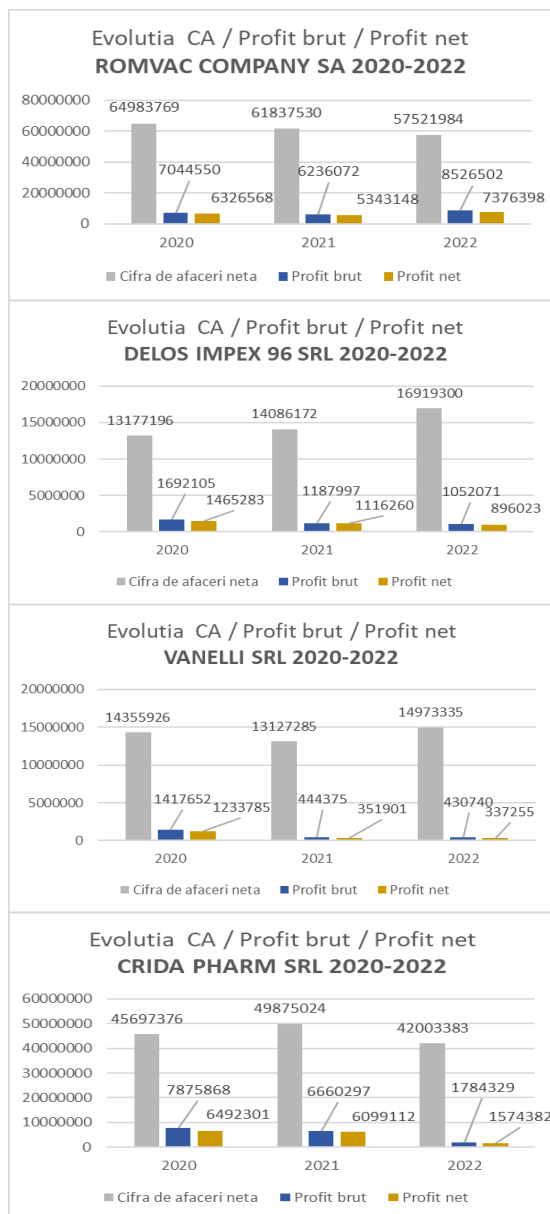
În ceea ce privește cel de al doilea producător pe piața din România, **ROMVAC COMPANY SA**, cifra de afaceri netă din 2020-2022 se situează la o diferență între 5,13 și 6,16 ori față primul clasat **FARMAVET GROUP SA**. Dinamica cifrei de afaceri nete înregistrează între anii 2020-2022 o scădere de 4,84% în 2021 față de 2020 și o scădere de 6,98% în 2022 față de 2021.

Profitul brut înregistrează în 2021 o scădere de 11,48% față de 2020 și o creștere de 136,73% în 2022 față de 2021, depășind cu 121,03% profitul brut din 2020.

Profitul net înregistrat de **ROMVAC COMPANY SA** în 2021 se situează în scădere cu 14,54% față de 2020 și cu o creștere de 138,05% în 2022 față de 2021, depășind cu 116,59% profitul net din 2020.

La nivelul celorlalte companii producătoare de produse medicinale veterinare, chiar dacă

se constată o ușoară creștere a cifrei de afaceri nete, totuși profitabilitatea companiilor are o tendință de scădere mai accentuată între 2020- 2022.



Deși au fost ani foarte dificili din punct de vedere economic membrii Asociației noastre au depus eforturi semnificative pentru a rămâne pe linia de plutire. Acest fapt ne dă speranța că, această Asociație profesională care se apropie de 20 de ani de la înființare, va putea coagula interesele comune ale membrilor pentru o dezvoltare durabilă a industriei farmaceutice românești.

Despre: Antibioerezistență în medicina veterinară

About: Antibioeresistance in veterinary medicine

Romeo Teodor Cristina

Facultatea de Medicina Veterinara Timisoara

romeocristina@usvt.ro

Cuvinte cheie: antibioerezistenta, elemente esentiale, SNEC - medici veterinari

Keywords: antibioeresistance, essentials, LLL – veterinary surgeons

Rezumat

Principalele obiective ale uzului de antiinfecțioase la animalele de rentă sunt: protecția sănătății animalelor și a celei publice; utilizarea responsabilă și optimizarea eficacității fiecărui antibiotic / boli relevante, acum și în viitor; Instruirea permanentă a părților interesate: profesioniștii domeniului, fermieri, etc. În acest rezumat al prezentării din cadrul programului SNEC - 2023, se definește fenomenul rezistenței și se prezintă principalele aspecte de interes pentru medicii veterinari practicieni prin folosirea unor exemple sugestive legate de topicul instalării rezistenței la structurile antiinfecțioase.

Abstract

The main objectives of the use of anti-infectives in farm animals are: the protection of animal and public health; responsible use and optimization of the effectiveness of each antibiotic / relevant diseases, now and in the future; Permanent training of interested parties: professionals in the field, farmers, etc. In this resume of the presentation from the SNEC - 2023 program, the phenomenon of resistance is defined and the main aspects of interest for practicing veterinarians are presented by using some suggestive examples related to the topic of installing resistance to anti-infective structures.

Introducere

Deci, în continuare, antiinfecțioasele a.u.v. constituie mijloace importante în prevenirea și tratamentul afecțiunilor bacteriene, virale, fungice și parazitare și sunt esențiale pentru păstrarea sănătății și bunăstării animalelor! Răspândirea și transmiterea genelor rezistenței este încrucișată și a fost demonstrată ca fiind posibilă între:

- oameni - animale,
- animale - oameni, și între
- animale - mediu.

Un tratament antimicrobian veterinar durabil trebuie să fie legat de problemele de sănătate publică și nu de cele de sănătate animală. Bacteriile colonizează la fel oamenii și animalele!

- Fiecare purtăm aproximativ 10 trilioane de celule bacteriene! Adică un raport de 10 bacterii pt. fiecare dintre celulele noastre!
- Numai pe piele există 20 de nișe ecologice diferite, fiecare având propriul său set de bacterii comensale.

Bacteriile tractului digestiv la om sunt similare cu cele găsite la mamifere omnivore,

constituind aproximativ 35.000 până la 45.000 de specii bacteriene. Rezistența la antibiotice începe cu amplificarea selectivă a unui număr mic de mutanți rezistenți în urma administrării de agenți care permit mutații, și uneori, chiar antibioticele stimulează crearea de mutanți.

Tipuri de acțiuni ce pot să încetinească aceste procese

- încurajarea consumatorilor și a personalului medical să utilizeze antibioticele numai atunci când este necesar,
- reducerea utilizării antibioticelor în creșterea animalelor.
- îmbunătățirea eliminării deșeurilor pentru a opri contaminarea mediului și crearea genelor rezistenței.
- de a face regimurile de dozare mai stricte, astfel încât sub-populațiile mutante de agenți patogeni să nu se amplifice selectiv.

Mulți dintre locuitorii intestinului sunt uciși prin tratamentele cu antibiotice cu spectru larg, dar aceștia tind să se recolonizeze rapid.

Aceasta sugerează că, corpul uman/animal exercită control asupra bacteriilor

colonizatoare! Apariția rezistenței este influențată de doi factori majori:

- cantitatea de antibiotic și
- cum folosim antibioticul.

Utilizarea necorespunzătoare, mai ales la animalele de rentă dar și mediul contaminare, în mod clar ne fac să folosim greșit antibioticele!

Modul în care folosim antibioticele (designul regimurilor de dozare) azi este determinat de eficacitate (vindecare) și siguranță și nu de un protocol care limitează creșterea patogenilor rezistenți!

Atunci când sunt puse sub stress, bacteriile pot să își crească ratele de mutație.

Unul dintre mecanisme este Răspunsul SOS. În acest sistem, expresia a peste 30 de gene este controlată de proteina LexA, la care se leagă genele SOS și astfel vor bloca ARN-m, prin stoparea formării proteinelor codificate de către gene. În consecință, repararea dependentă de SOS este considerată o reparație predispusă erorilor!

După ce stresul este îndepărtat, semnalul care a dus la degradarea LexA se disipează, și proteina LexA va fi refăcută din nou. Aceasta se va lega în amonte de genele SOS, și astfel, expresia acestora va fi redusă la tăcere.

Noile idei de dozare pentru a limita apariția rezistenței sunt încadrate în “teoria ferestrei de selecție” a mutantilor, care conduce la concluzia că de multe ori folosim prea puțin antibiotic atunci când tratăm! În prezent folosim antibiotice când nu ar trebui și astfel le utilizăm în exces, iar atunci când avem nevoie reală de ele, avem tendința de a folosi mai puțin = sub-dozarea. Pentru a opri creșterea mutantilor și pt. a conserva eficacitatea antibioticelor sunt necesare doze mai mari!

Fereastra de selecție a mutantilor

Fereastra de selecție a mutantilor poate da o imagine asupra potentialului de stimulare a rezistenței a antiinfecțioase identificându-se trei situații posibile:

- a) Curba situată deasupra ferestrei pt. mare parte din timpul de tratament = restrânge amplificarea subpopulațiilor microbiene rezistente!
- b) Curba cade în interiorul ferestrei mare parte din perioada de dozare = permite amplificarea mutantilor!
- c) Curba este mai jos fereastra și exercită = presiune selectivă redusă (Fig. 1).

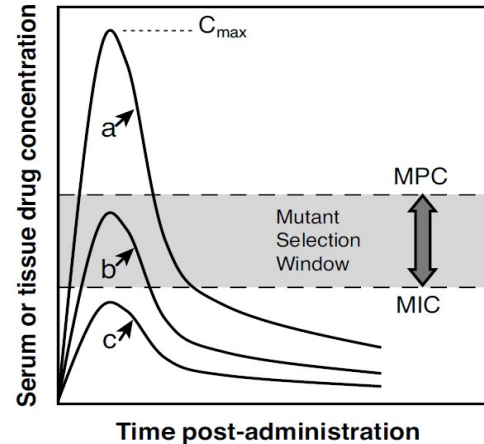


Figura 1. Fereastra de selecție a mutantilor (Sursa: Drlica K, 2003)

Unde:

MIC = Concentrația Minim Inhibantă

MPC = este MIC-ul sub-populației mutante.

MPC-ul poate fi estimat experimental ca și concentrația **ce nu permite creștere bacteriană**. Un exemplu nedorit: *Clostridium difficile*. Pe măsură ce antibioticele noastre au devenit din ce în ce mai puternice, a apărut enterita asociată cu *C. difficile*! Numai în Statele Unite, între 2000 și 2003, cazurile cu această bacterie s-a dublat, în principal în rândul pacienților cu vârstă peste 65 de ani! Azi, frecvența colonizării, a ajuns la 10-25% în rândul pacienților internați și la 2-3% din populația generală.

Evoluții

- 2005, *C. difficile* = principala cauză a diareei bacteriene în spitale, provocând mai multe decese decât toate celelalte infecții intestinale la un loc!
- 2006, apare o tulpină de focar rezistentă la fluoroquinolone, ce produce niveluri crescute de toxine, și se răspândește în spitale;
- 2007, *C. difficile* este responsabilă pt. creșterea costurilor cu asistența medicală cu 3,5 miliarde de dolari/an, doar în SUA.
- *C. difficile* este un formator de spori: în consecință, antisepticele pe bază de alcool moderne nu sunt foarte eficiente. (sporii nu sunt ușor uciși de alcool), deci o parte din răspândirea *C. difficile* a fost legată de utilizarea pe scară largă a dezinfectanților pentru mâini pe bază de alcool, care au înlocuit săpunul și apa.

Fapt: Consumul de medicamente a.u.v. îl depășește pe cel din medicina umană și este recunoscut faptul că medicina veterinară contribuie major la apariția și răspândirea

rezistențelor la oameni. Fermierii folosesc de aprox. zece ori mai mult tonaj de antibiotice decât cel folosit în medicina umană !

În Franța, Spania și România de exemplu, prevalența rezistenței la penicilină a fost stabilită la 25-50%!

Mecanismele bacteriene ale rezistenței (Fig. 2) acceptate la aceasta ora sunt:

- Transformarea
- Transductia si
- Conjugarea

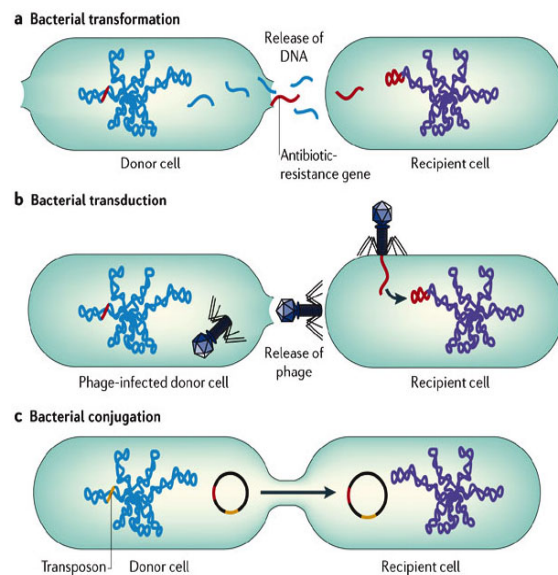
Situsurile / modurile de actiune (Fig. 3) ale bacteriilor asupra medicamentelor fiind:

- Inactivarea
- Amplificarea
- Alterarea
- Scaderea vs. cresterea influxului.

Dintre acestea un interes deosebit îl reprezintă pompele de efflux și mecanismele proprii de inactivare a antiinfecțioaselor.

Actualmente s-au descoperit cinci tipuri de pompe de efflux la bacterii:

- superfamilia de casete de legare ATP (ABC),
- superfamilia de facilitatori majori (MFS),
- familia de extrudare cu mai multe medicamente și compusi toxici (MATE),
- familia de rezistență la multi-drog (SMR) și
- familia diviziei de nodulare (RND).



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

Figura 2. Transferul orizontal al genelor rezistenței bacteriene (Sursa: Furuya, și Lowy, 2006)

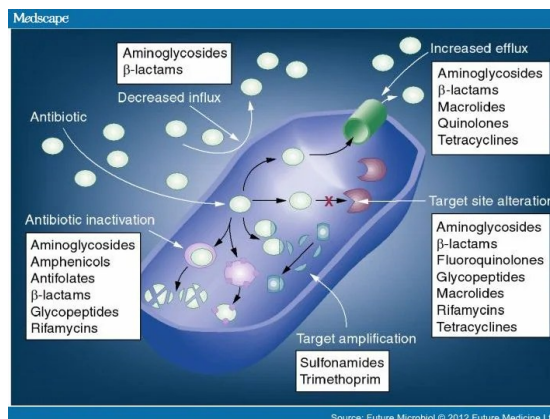


Figura 3. Mecanismele rezistenței la antibiotice la bacterii.

Clasele de antibiotice afectate de fiecare dintre mecanisme sunt enumerate în casete (Sursa: Schmieder și Edwards, 2012).

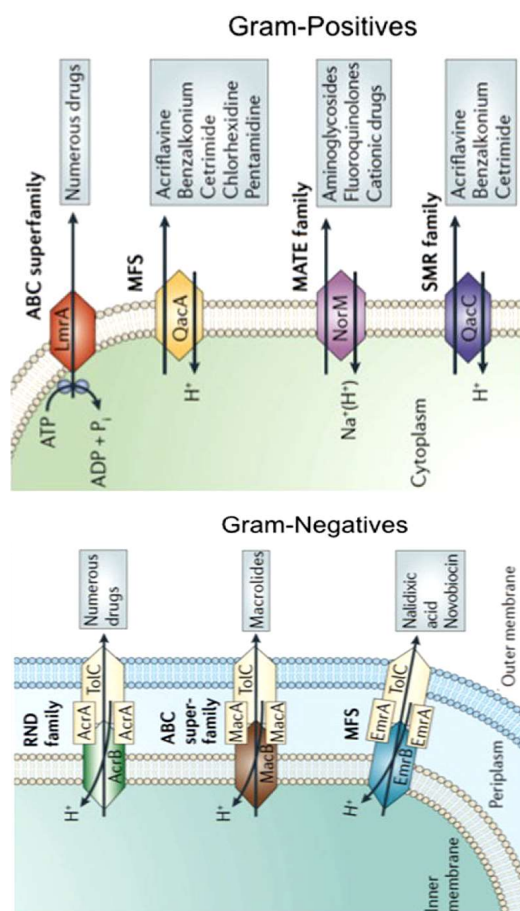


Figura 5. Pompe de efflux specific bacteriilor.
(Sursa: Munita și Arias modif. după Piddock 2006, modif. Munita și Arias, 2016)

Un mecanism interesant este controlul transcripției genei *ermC* în mecanismele instalării rezistenței (Fig. 6).

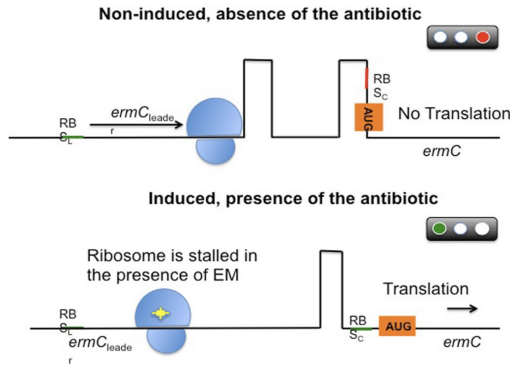


Figura 6. Controlul transcriptei genei *ermC* în mecanismele instalării rezistenței (Sursa: Munita și Arias, 2016)

Unde:

RBSL = loc de legare ribozomal al liderului;

RBSC = loc de legare ribozomal al *ermC*;

AUG = codonul de inițiere

În condiții neinductoare, peptida lider *ErmC* este produsă și ARNm *ermC* formează două ace de păr, împiedicând ribozomul să recunoască locul de legare ribozomal (RBS) al *ermC* = traducerea este inhibată. După expunerea la eritromicină (EM), antibioticul interacționează cu ribozomul și se leagă strâns de peptida lider, blocând progresia translației. Acest fenomen eliberează *ermC* RBS și va permite traducerea.

Impactul utilizării imprudente a antiinfecțioaselor

...considerabil și greu de calculat!

Cele 5 elemente care au stimulat RAM

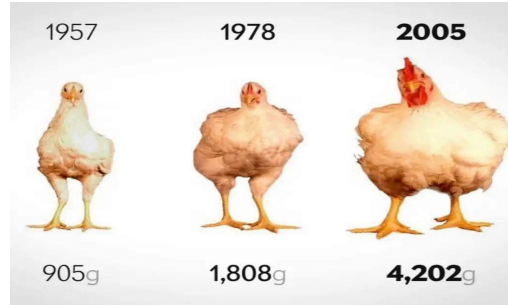
1. Cererea crescută pentru produse alimentare.
2. Modificările sistemelor de producție animală.
3. Schimbarea tendințelor în comerțul cu animale.
4. Creșterea circulației animalelor și produselor specifice.
5. "Specificitatea" creșterii animalelor = Lipsa coerenței la nivel mondial.

50 mg / kgc...

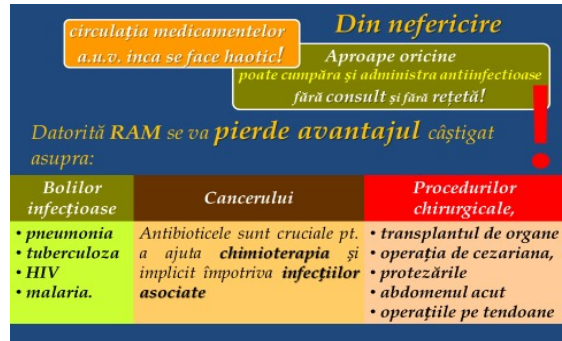
Într-un studiu U.E.: JIACRA (Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis), se arată că, în ultima decadă, consumul mediu total estimat de antimicrobiene exprimat în mg. s.a/ kgc, a fost de:

- **124 mg/kgc** la om cu media de 118 mg/kgc. (cu variații între 50-182 mg/kgc) și de
- **152 mg/kgc** la animalele de rentă cu media 67 mg/kg (cu variații între 3-419 mg/kgc).

Fapt: Atât dovezile moleculare cât și cele epidemiologice indică faptul că prevalența rezistenței la antibiotice la oameni a fost declanșată prin introducerea enrofloxacinii în furajarea păsărilor, fapt care a determinat FDA în 2011 să interzică utilizarea acestui medicament la păsări.



În plus se pot pierde toate efectele favorabile asupra:



Unul dintre cele mai nedorite efecte a fost apariția tot mai galopantă a rezistenței la fluoroquinolone (Fig. 7), după infecțiile banale cu *Campylobacter* și *E. coli* la om este clar urmarea utilizării acestora în furajele animalelor cu transmisia bacteriilor rezistente prin intermediul cărnii & produselor animale contaminate.

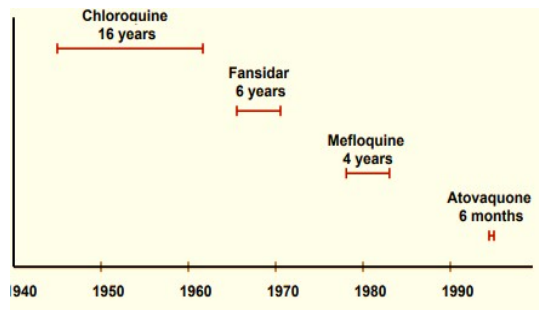


Figura 7. Evoluția apariției galopante a rezistenței la structurile quinolonice (Sursa: <http://www.bio.umass.edu/micro/klingsbeil/590s/Lectures/12590Lect23.pdf>).

Legătura AT / RAM a fost deja demonstrată statistic ($p < 0,01$) pentru:

Antibiotic	Specia bacteriana
Fluorochinolone	Escherichia coli la om și animale
Cefalosporine generația 3&4	E. coli la oameni
Tetraciline și polimixine	E. coli la animale
Carbapeneme și polimixine	Klebsiella pneumoniae la om
Macrolide	La animale sunt asociate cu rezistența încrucișată la animale și oameni pt. Campylobacter spp.
Cefalosporine din generația 3&4	Rezistentă încrucișată la fluorochinolone / E. coli la om
Fluorochinolone	Salmonella spp. și Campylobacter spp. la om a fost legat de AT cu fluorochinolone la animale

Prescrierea excesivă a antibioticelor nu este singura sursă de antibiotice care poluează mediul! (Fig.8).

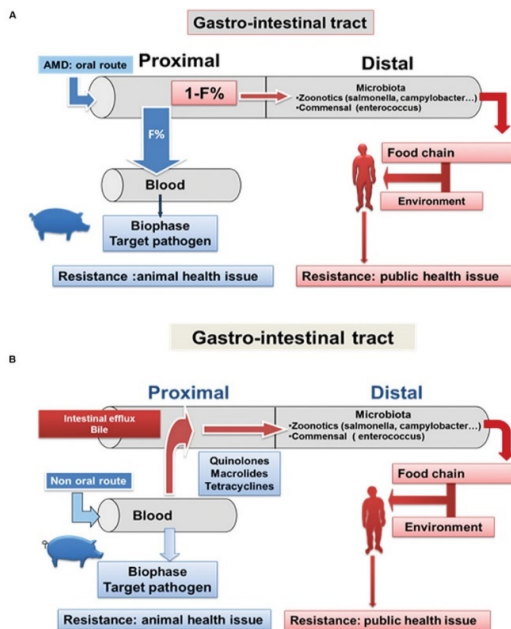


Figura 8. Impactul administrării antibioticelor
(Sursa: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01196/full>)

Încă din anii 70, antibioticele puteau fi găsite în carnea bovinelor, porcinelor și păsărilor, aceleași antibiotice fiind identificate mai apoi în sistemele de apă municipale / freatice sau în sol, cu urmări dramatice pentru următoarea decadă!

- Deși schimbul de gene între microbi are loc rar, chiar și evenimentele rare pot fi semnificative atunci când sunt implicați un număr astronomic de microbi.
- Multe antibiotice nu sunt distruse atunci când "scapă" în mediul inconjurător.

- În consecință, pot apărea rezervoare de antibiotice rezistente în soluri, râuri și lacuri.
- În 2006, U.E. a retras aprobarea pt. utilizarea antibioticelor ca promotori de creștere.

Antibioticele administrate animalelor **nu sunt complet** absorbite de către acestea! În funcție de antibiotic, **între 30 și 90%** din antibiotic poate fi excretat prin urină sau fecale în stare **bioactivă**, chiar **intacte** sau sub formă de metaboliți antibiotici, care-și **pot păstra** mai departe activitatea antimicrobiană.

Antibioticele administrate animalelor ajung adesea în **sol** și **apă** prin deșeurile medicale și medicamentele eliminate necorespunzător sau prin praful provenit din unitățile de creștere industriale.

Fapt: Prin selecție genomul bacterian a devenit de aprox. 1.000 de ori mai mic decât genomul animal / uman! Acest fapt este datorat „**raționalizării genomului**”! Între bacterii există **concurență** pt. resurse. Pentru a se menține și reproduce genomul, bacterian are nevoie de: **energie + resurse**. Un genom mare, va necesita mai **multă energie** pt. a fi păstrat în funcțiune și duplicare.

Concluzii

Sănătatea animalelor este rezultanta unei palete de factori grupați în:

1. Factori legați de animal
2. Sistemul de creștere
3. Management

În România (ca și în Europa...)

Principalele cauze care favorizează apariția fenomenelor de rezistență la medicamente sunt: sub-dozarea sau dozarea inadecvată a s.a., tratamentul bolilor virale la animale cu antibiotice, administrarea la orice tratament a antibioticelor cu spectru larg, în timp ce antibioticele cu spectru îngust ar fi suficiente. Prevenția este "cheia" și se realizează prin:

- Biosecuritate
- Întreținerea corectă a animalelor
- Igienă
- Observația zilnică
- Campaniile de vaccinare
- Identificarea corectă a animalele tratate
- Evidența corectă în registrul de consultații

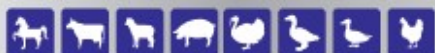
Medicul veterinar va utiliza antibiotice în tratarea animalelor doar atunci când este absolut necesar! Administrarea antibioticelor trebuie să fie complementară cu bunele practici de management, multe stări de boală putând fi evitate prin: utilizarea practicilor de

management care reduc expunerea la bacteriile generatoare de boli; optimizarea mediului pentru animal, inclusiv o bună igienă, nutriție echilibrată și programe de vaccinare coerente. Scrieți și respectați prescripțiile! Notati-vă întotdeauna!

1. Dozajul calculat și / sau creșterea dozelor și / sau schimbarea frecvenței
2. Calea și / sau schimbarea căii de administrare
3. Durata și / sau schimbarea duratei tratamentului / țintei
4. Specia și / sau schimbarea speciei de animal tratată
5. Perioada de așteptare / data terminării PA

Bibliografie

1. **Aarestrup FM, Seyfarth AM, Emborg HD, Pedersen K, Hendriksen RS, Bager F.** 2001. Effect of Abolishment of the Use of Antimicrobial Agents for Growth Promotion on Occurrence of Antimicrobial Resistance in Fecal Enterococci from Food Animals in Denmark. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45(7):2054-2059.
2. **American Veterinary Medical Association.** 2005. Judicious Therapeutic Use of Antimicrobials.
3. **Chopra I, Roberts M.** 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65(2):232-260
4. **Commission Guidelines** for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine / (2015/C 299/04)
5. **Cristina RT, Teusdea V.** 2008. Ghid de farmacie și terapeutică veterinară, Editura Brumar, Timisoara.
6. **Dixon B.** 2006. Sulfa's true Significance. *Microbe* 1(11): 500-501.
7. **Drlica K.** The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Jul;52(1):11-7.
8. **Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS.** 1998. Bailey And Scott's Diagnostic Microbiology, 10th ed. Mosby, US.
9. **Furuya, E., Lowy, F.** 2006. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nat Rev Microbiol* 4, 36-45
10. **Ghidul EPRUMA,** 2015, 2018 - <http://epruma.com>
11. **Giguère S.** 2006. Antimicrobial Drug Action and Interaction: An Introduction. *Antimicrobial therapy in Veterinary Medicine* 4th edn , S Giguère, JF Prescott, JD Baggot, RD Walker and PM Dowling, eds. Blackwell Publishing, Ames Iowa, USA.
12. **Gootz TD.** 1990. Discovery and Development of New Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 3(1):13-31.
13. **Guardabassi L, Courvalin P.** 2006. Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance. *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. FM Aarestrup, eds. ASM Press, Washington DC, USA.
14. <http://amrls.cvm.msu.edu/images/vph/HUMAN-HEALTH-IMPACT>
15. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01196/full>
16. **Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA)** Report European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA) and European Medicines Agency (EMA) Approved: 28 June 2017 EFSA Journal 2017;15(7):4872
17. **Keyes K, Lee MD, Maurer JJ.** 2003. Antibiotics: Mode of Action, Mechanisms of Resistance and Transfer. *Microbial Food Safety in Animal Agriculture Current Topics*. ME Torrence and RE Isaacson, eds. Iowa State Press, Ames, Iowa, USA.
18. **Levy SB.** 2002. The Antibiotic Paradox, 2nd edn. Perseus Publishing, USA.
19. **Munita JM, Arias CA.** 2016. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 4(2):10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
20. **Piddock LJV.** 2006. Multidrug-resistance efflux pumps - not just for resistance. *Nat Rev Microbiol*. 4(8):629-636.
21. **Lista O.I.E** a agentilor antimicrobieni importanti în medicina veterinară
22. **Sales** of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015. Trends from 2010 to 2015. **Seventh ESVAC** report 30 October 2017. EMA/184855/2017 - Veterinary Medicines Division
23. **Selzer PM.** 2009. Antiparasitic and Antibacterial Drug Discovery - From Molecular Targets to Drug Candidates. Wiley-Blackwell-VCH, DE. ISBN: 978-3-527-32327-2
24. **Schmieder R, Edwards R.** 2012. Insights into Antibiotic Resistance Through Metagenomic Approaches. *Future Microbiology*. 7(1):73-89.
25. **Weese JS.** 2006. Prudent Use of Antimicrobials. *Antimicrobial therapy in Veterinary Medicine* 4th eds, S Giguère, JF Prescott, JD Baggot, RD Walker and PM Dowling, eds. Blackwell Publishing, Ames Iowa, USA.



SOLUȚII ORALE



Vitamine

Magne B complex
Selevit Sol
Hepato Protect
Vitamina AD3E
Polivit S



Antinfecțioase

Bisulfim
Enrofloxacină
Tiasol

Antiparazitare

Amprolium
Coccistop S
Levasol



www.pasteur.ro

Agenții patogeni ESKAPE și rezistența la antimicrobiene

ESKAPE pathogens and antimicrobial resistance

Cocoș D.I., Folescu M., Orășan A.S., Dumitrescu E, Cristina R.T.

Facultatea de Medicina Veterinara Timișoara

cocosdaiana98@yahoo.com

Cuvinte cheie: *patogeni ESKAPE, rezistență antimicrobiană, rezistență multiplă*

Keywords: *ESKAPE pathogens, antimicrobial resistance, multidrug resistant*

Rezumat

În ultimele decenii, rezistența la antimicrobiene a devenit o problemă majoră de sănătate publică la nivel global. O categorie distinctă de agenți patogeni, cunoscuți sub acronimul ESKAPE, a devenit particular de preocupantă din cauza capacității lor de a scăpa de efectele tratamentelor antimicrobiene disponibile. Acest acronim reprezintă un grup select de bacterii patogene, dintre care unele sunt extrem de rezistente la antibiotice și pot cauza infecții severe și potențial fatale. Termenul "ESKAPE" este un acronim derivat din inițialele acestor bacterii și include *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter* spp. Rezistența la antimicrobiene în cazul acestor agenți patogeni este alimentată de mai mulți factori, inclusiv utilizarea excesivă și incorectă a antibioticelor, selecția naturală și transferul de gene de rezistență între bacterii. Pentru a face față acestei provocări, comunitatea globală se angajează în multiple eforturi, incluzând cercetarea și dezvoltarea de noi antibiotice, îmbunătățirea practicilor de utilizare a acestor medicamente și promovarea cercetării și educației în domeniul antimicrobian. În lupta împotriva agenților patogeni și a fenomenului rezistenței lor la antimicrobiene, ne confruntăm cu o provocare constantă în cadrul medicinei contemporane, cu implicații semnificative pentru furnizarea de asistență medicală și pentru starea de sănătate publică.

Abstract

In recent decades, antimicrobial resistance has become a major global public health problem. A distinct category of pathogens, known by the acronym ESKAPE, has become of particular concern because of their ability to escape the effects of available antimicrobial treatments. This acronym represents a select group of pathogenic bacteria, some of which are highly resistant to antibiotics and can cause severe and potentially fatal infections. The term "ESKAPE" is an acronym derived from the initials of these bacteria and includes *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* spp. Antimicrobial resistance in these pathogens is fuelled by several factors, including overuse and misuse of antibiotics, natural selection and transfer of resistance genes between bact. To meet this challenge, the global community is engaged in multiple efforts, including research and development of new antibiotics, improving practices in the use of these drugs and promoting antimicrobial research and education. In the fight against pathogens and their antimicrobial resistance, we face a constant challenge in contemporary medicine, with significant implications for healthcare delivery and public health.

Introducere

Societatea Americană de Boli Infecțioase (IDSA) a recunoscut șase specii ca fiind deosebit de amenințătoare din cauza potențialelor lor mecanisme de rezistență multiplă la medicamente și a patogenității acestora. Aceste specii sunt cunoscute sub numele de agenți patogeni ESKAPE, un acronim pentru *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter* spp. [2].

Grupul de bacterii cunoscute sub denumirea colectivă de agenți patogeni ESKAPE reprezintă un motiv de mare îngrijorare din punct de vedere medical din cauza virulenței și a capacității lor de a dezvolta rezistență la antibiotice [9].

Aceste bacterii patogene cuprind atât specii Gram-negative, cât și Gram-pozitive, care au capacitatea de a evada activitatea bactericidă a antibioticelor convenționale [2].

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a elaborat o listă a agenților patogeni prioritari la nivel mondial, rezistenți la antibiotice, pentru a contribui la cercetarea și dezvoltarea de tratamente antibiotice noi și eficiente [6, 23].

În cadrul grupului de agenți patogeni "Prioritatea 1: critic" de pe lista de agenți patogeni prioritari a OMS se află agenții patogeni gram-negativi ESKAPE [17] multidrug resistance (MDR; bacterii care sunt rezistente la trei sau mai multe clase de antibiotice); *Acinetobacter baumannii* (rezistent la carbapenem), *Pseudomonas aeruginosa* (rezistent la carbapenem), *Klebsiella pneumoniae* (rezistent la cefalosporine din a treia generație) și *Enterobacter* spp. (rezistent la cefalosporine din a treia generație).

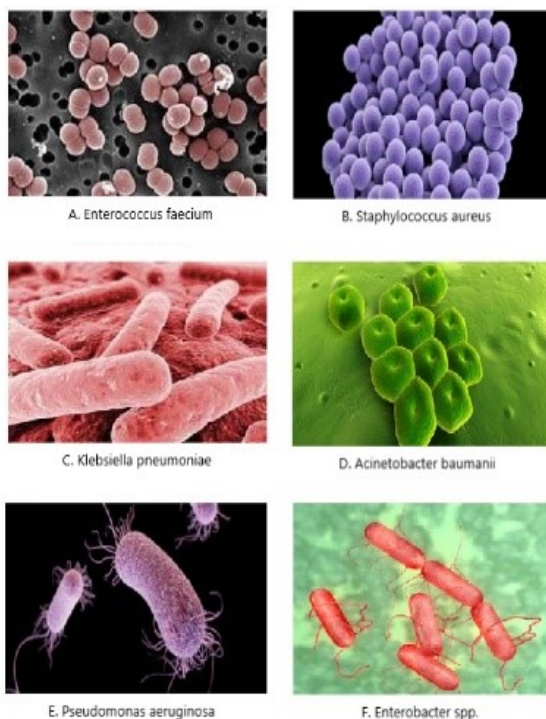


Figura 1.1 Structura fizică a patogenilor ESKAPE: A. *Enterococcus faecium*; B. *Staphylococcus aureus*; C. *Klebsiella pneumoniae*; D. *Acinetobacter baumannii*; E. *Pseudomonas aeruginosa*; F. *Enterobacter* spp. [16].

Grupul de agenți patogeni "Prioritatea a 2-a: ridicată" conține agenți patogeni Gram-pozitivi ESKAPE; *Enterococcus faecium* (rezistent la vancomicină) și *Staphylococcus*

aureus (rezistent la metiliclină, intermediar și rezistent la vancomicină) [23].

Împreună, acestea reprezintă principala cauză a infecțiilor nosocomiale care pun în pericol viața la nivel mondial [9].

Conform studiului efectuat de Orosz și colab. [15], în cadrul analizelor efectuate pe o perioadă de 10 ani în cadrul Institutului de Microbiologie Clinică, de la Universitatea din Szeged, Ungaria, atunci când apariția testelor de sensibilitate la antibiotice cu rezultate de rezistență este reprezentată cronologic pe specii, se poate observa că rezistența la orice antibiotic a fost detectată cel mai frecvent în cazul *E. faecium* și *A. baumannii*.

De remarcat în mod deosebit este creșterea abruptă în cazul *A. baumannii* la sfârșitul anului 2020.

În cazul celorlalte specii, proporția de teste de rezistență a fost mai echilibrată. Pe această bază, agenții patogeni ESKAPE pot fi împărțiți în două grupe: cei cu rezistență stagnantă și cei cu rezistență în creștere.

Într-un alt studiu, efectuat în perioada martie-noiembrie 2019, un total de 163 de păsări sălbatice au fost examinate și recuperate la Centrul de salvare a faunei sălbatice al Universității din Napoli Federico II (Italia). Toate animalele au fost găsite în diferite zone din regiunea Campania (Italia) și aparțineau unui număr de 32 de specii diferite.

Rezultatele studiului confirmă faptul că păsările sălbatice sunt rezervoare de agenți patogeni și bacterii rezistente la antimicrobiene foarte importante și de importanță critică. Datorită capacității lor de a se deplasa și prin depunerea excrementelor, păsările pot juca un rol important ca vectori în circulația și răspândirea în mediu a agenților zoonotici, a bacteriilor rezistente la antimicrobiene și a genelor de rezistență.

Prezența bacteriilor ESKAPE potențial relevante din punct de vedere clinic, a bacteriilor producătoare de ESBL și a tulpinilor MDR nu este surprinzătoare; păsările, datorită capacității lor de a ocupa diferite nișe ecologice și de a se adapta la numeroase medii urbane, suburbane și de creștere a animalelor, reprezintă adevărate santinele ale mediului [18].

Grupul ESKAPE se distinge prin trăsături patogene, de transmitere și de rezistență, care sunt reprezentate de inactivarea enzimatică, schimbarea țintei, alterarea permeabilității celulare prin pierderea porinei sau prin creșterea expresiei pompelor de eflux și protecția mecanică prin sinteza biofilmului [3] și sunt capabile să "scape" de acțiunea biocidă a agenților antimicrobieni [20].

Enterococcus faecium

Speciile *Enterococcus* au fost clasificate anterior ca parte a genului *Streptococcus*. Acestea sunt de formă sferică, anaerobe, facultative Gram-pozitive, care se găsesc adesea în perechi sau lanțuri. Habitatul lor normal este tractul gastro-intestinal al oamenilor și animalelor.

Există mai mult de 20 de specii de *Enterococcus*, dar *Enterococcus faecium* și *Enterococcus faecalis* sunt cele mai relevante din punct de vedere clinic [19].

Ratele rezistenței antimicrobiene în rândul enterococilor sunt deosebit de îngrijorătoare, în special incidența enterococului rezistent la vancomicină (VRE), care este asociat în principal cu *E. Faecium* [19].



Figura 1.2 Structura fizică *Enterococcus faecium* [16]

Staphylococcus aureus

S. aureus este o bacterie Gram-pozitivă de formă rotundă (coccus), cu celule dispuse în grupuri caracteristice, asemănătoare unor ciorchini de struguri. Cu cerințe de creștere nefiresc de nepretențioase. *S. aureus* face parte din flora normală a pielii, în special a nasului și a perineului oamenilor și animalelor. Ratele de purtare sunt ridicate în populația

generală, iar transmiterea poate avea loc prin contact direct sau pe cale aerogenă [19].

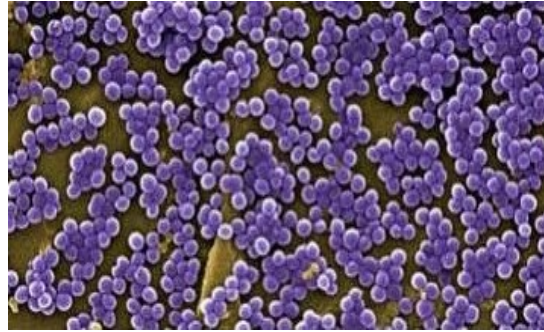


Figura 1.3. *Staphylococcus aureus* [16]

Rezistența la metilicină a fost identificată pentru prima dată la *Staphylococcus aureus* în 1961, ca o consecință a utilizării pe scară largă a penicilinei. Introducerea penicilinei a accentuat, de asemenea, apariția *S. aureus* producător de penicilinază [5].

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae este un membru al familiei Enterobacteriaceae. Este un bacil nepretențios, Gram-negativ, care este de obicei încapsulat.

Speciile din genul *Klebsiella* sunt agenți patogeni bacterieni cel mai adesea asociați cu infecțiile din unitățile medicale, iar infecțiile pot fi endogene sau dobândite prin contact direct cu o gazdă infectată [19].



Figura 1.4. *Klebsiella pneumoniae* (galben) care interacționează cu o leucocită umană (verde).

Sursa: <https://news.asu.edu/20181002-first-experiments-europes-new-x-ray-laser-reveal-structure-antibiotic-disabling-enzyme> [24]

Klebsiella pneumoniae rezistent la carbapeneme (CRKP) reprezintă unul dintre agenții patogeni a căror rezistență este considerată o amenințare urgentă [5, 13].

Acinetobacter baumannii

Speciile de *Acinetobacter* sunt răspândite pe scară largă în mediul înconjurător și contaminatează ușor mediul spitalicesc.

Cel mai important agent patogen uman este *A. baumannii*, care are un timp relativ lung de supraviețuire pe mâinile umane, ceea ce poate duce la rate ridicate de contaminare încrucișată în infecțiile nosocomiale.

A. baumannii este un coccobacil Gram-negativ non-fermentativ și provoacă infecții într-o varietate de locuri, inclusiv tractul respirator și urinar. Tulpinile sunt frecvent rezistente la antibiotice, ceea ce reprezintă o problemă deosebită în secțiile chirurgicale și unitățile de terapie intensivă [19].

Una dintre cele mai periculoase tulpini de *A. baumannii* este *A. baumannii* rezistent la carbapeneme (CRAB), care se află sub lista de amenințări urgente a OMS (Organizația Mondială de Sănătate) și CDC (Centrul pentru Prevenirea și Controlul Bolilor). CRAB este asociat în principal cu pneumonia asociată ventilatorului, infecții ale tractului urinar și infecția rănilor la pacienții spitalizați [5, 13].



Fig.1.5 *Acinetobacter baumannii*.

Sursa: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/acinetobacter.html> [25]

Din punct de vedere istoric, *A. baumannii* a fost asociat cu climatul geografic cald și/sau umed. Între 1987 și 1996, frecvența infecțiilor dobândite atât în comunitate, cât și în spital în Statele Unite a fost observată să crească cu 50% între iulie și octombrie.

Începând cu anii 1970, *A. baumannii* a devenit din ce în ce mai frecventă în climatele temperate, o schimbare atribuită în mare parte

mecanismelor îmbunătățite de persistență a mediului și dezvoltării rezistenței bacteriale la antimicrobiene (MDR-multidrug resistant) [5].

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa este un bacil, anaerob facultativ, Gram-negativ, care face parte din flora intestinală normală. Ratele de purtare sunt destul de scăzute în populația generală, dar sunt mai ridicate la pacienții internați în spitale, în special la gazdele imunocompromise. Pacienții se infectează printr-o sursă exogenă, cum ar fi contactul direct/indirect cu mediul înconjurător, dar sunt posibile și surse endogene [19].



Figura 1.6 *Pseudomonas aeruginosa*.

Sursa: <https://www.laboratuvar.com/ro/gida-analizleri/mikrobiyolojik-analizler/pseudomonas-aeruginosa-tayini> [26]

La nivel mondial, modelele de MDR a *P. aeruginosa* variază substanțial. În prezent, cele mai ridicate rate de MDR la *P. aeruginosa* se înregistrează în America de Nord, Centrală și de Sud, în Europa Centrală și de Vest, în China, India și Asia de Sud-Est [5].

S-a constatat că *Pseudomonas aeruginosa* rămâne în viață în plămâni pacienților diagnosticați cu fibroză chistică timp de mai bine de un deceniu. Acest microorganism colonizează medii umede și, în consecință, poate fi găsit în diverse medii de îngrijire medicală, în special în cazul plăgilor cronice, dispozitivelor de asistență respiratorie și a celor pentru tractul urinar. În aceste locuri, formarea de biofilme favorizează persistența, scapă de răspunsul imunitar și dobândește

rezistență la tratamentul antimicrobian [5, 8, 10].

Enterobacter spp.

Enterobacter cuprinde o familie de specii de bacterii Gram-negative, în formă de baston (bacil), nepretențioase, care sunt uneori încapsulate.

Acestea pot provoca infecții oportuniste la pacienții imunocompromiși, de obicei spitalizați, și conțin o gamă largă de mecanisme de rezistență la antibiotice [19].

Speciile rezistente la mai multe medicamente sunt rezistente la majoritatea β -lactamilor și cefalosporinelor, ceea ce le face foarte greu de tratat [5, 13].

În ultimii 35 de ani, speciile *Enterobacter aerogenes* (acum redenumite *Klebsiella aerogenes*) și *Enterobacter cloacae* au reprezentat amenințări semnificative pentru secțiile neonatale și pacienții din unitățile de terapie intensivă, în special pentru cei dependenți de ventilația mecanică.

Apariția acestor două specii de *Enterobacter* ca agenți patogeni MDR semnificativi clinic a avut loc în valuri epidemice concomitente.

De la începutul anilor 1990 până în 2003, *E. aerogenes* a fost cauza cea mai răspândită clinic a infecției nosocomiale cu *Enterobacter*.

În această perioadă, incidența infecției cu *E. aerogenes* dobândită în spital a fost ridicată în Europa de Vest [5].



Figura 1.7 *Enterobacter cloacae*.

Sursa: <https://prevent-and-protect.com/pathogen/enterobacter-cloacae-en/> [27]

Rezistența la antibiotice

Utilizarea antibioticelor la animalele destinate producției de alimente a devenit în

ultima vreme o preocupare majoră pentru sănătatea publică.

Aceste medicamente sunt utilizate în prezent pentru a preveni și trata bolile infecțioase și, de asemenea, pentru calitățile lor de stimulare a creșterii. Aceste metode au dus la inducerea și răspândirea infecțiilor rezistente la antibiotice de la animale la oameni.

Antibioticele pot fi introduse în mediul înconjurător dintr-o varietate de surse, inclusiv deșeuri umane și deșeuri provenite din creșterea animalelor.

Solul a fost recunoscut ca fiind un rezervor de gene MDR, nu numai datorită prezenței unei game largi și variate de bacterii capabile să producă antibiotice naturale, ci și datorită utilizării gunoierului de grajd natural pe câmpurile de cultură, care poate conține gene MDR sau antibiotice.

Temerile privind pericolele pentru sănătatea umană ale MDR legate de reziduurile de antibiotice din mediu includ posibila amenințare de modificare a microbiotei umane și de promovare a creșterii și selecției bacteriilor rezistente, precum și posibilul pericol de a genera o presiune de selecție asupra microflorei din mediu care să ducă la rezistența la antibiotice în mediu.

Datorită conectivității acestor sectoare, utilizarea antibioticelor, persistența reziduurilor de antibiotice și existența bacteriilor rezistente la antibiotice în habitatele om-animal-mediul sunt toate legate de triunghiul "O singură sănătate" [1, 4].

Tabelul 1.1. Rezistența antimicrobiană *Enterococcus faecium* [5, 13]

Bacteria	<i>Enterococcus faecium</i>
Cel mai frecvent antibiotic rezistent	Vancomicină ampicilină cefalosporine linezolid teicoplanină piperacilină amikacină amoxicilină-clavulanat ampicilină- sulbactam tobramicină acid nalidixic imipenem meropenem

Cea mai gravă tulpină	<i>E. faecium</i> rezistent la vancomicină
Opțiuni de tratament disponibilă	Nitrofurantoină Fosfomicină Cloramfenicol Daptomicină Doxiciclină Omadaciclină Ampicilină-Sulbactam, doză mare

Enterococcus faecium este o cauză proeminentă a infecțiilor asociate asistenței medicale, iar liniile adaptate la spitale sunt din ce în ce mai rezistente la vancomicină.

Mai multe țări europene au raportat în prezent creșteri ale prevalenței *E. faecium* rezistent la vancomicină la pacienții spitalizați. Foarte răspândită în microbiomul intestinal al animalelor sălbatice și domestice.

În comparație cu durata focarelor cauzate de ceilalți agenți patogeni ESKAPE, focarele de *E. faecium* rezistent la vancomicină au o durată lungă, de aproximativ 11 luni, în medie [5].

Tabelul 1.2. Rezistența antimicrobiană *Staphylococcus aureus* [5, 13]

Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>
Cel mai frecvent antibiotic rezistent	β -lactame Aminoglicozide Macrolide Cloramfenicol Trimetoprim Tetraciline Tobramicină Cephatholin Carbapenem Piperacilină Piperacilină-tazobactam Ticarcilină Oxacilină
Cea mai gravă tulpină	<i>S. aureus</i> rezistent la metilicilină (MRSA)
Opțiuni de tratament disponibilă	Vancomicină Clindamicină Daptomicină Linezolid Dalbavancină Tigeciclină Pristinamicină Trimetoprim-sulfamethoxazol Lefamulin Telavancin

Staphylococcus aureus rezistent la metilicilină (MRSA) este cea mai frecventă tulpină de *S. aureus* rezistentă la antibiotice, reprezentând aproape 50% din infecțiile

stafilococice. MRSA este considerat un super-bacterian și este frecvent asociat cu infecții ale pielii și ale țesuturilor moi, infecții ale tractului urinar și cu septicemie [5, 13].

Tabelul 1.3. Rezistența antimicrobiană *K. pneumoniae* [5, 13]

Bacteria	<i>K. pneumoniae</i>
Cel mai frecvent antibiotic rezistent	Polimixine Carbapeneme Fluorochinolone Cefalosporine β -lactame Aminoglicozide Tetraciline Acid nalidixic Ampicilină Amoxiclav Ticarcilină Cefalotină
Cea mai gravă tulpină	<i>K. pneumoniae</i> rezistent la carbapeneme (CRKP)
Opțiuni de tratament disponibilă	Combinatie carbapenem-polimixine Aminoglicozide Imipenem-cilastatin-relebactam Ceftazidimă-avibactam Plazomicină

Antibioticele din clasa cefalosporine și carbapeneme au fost un pilon al tratamentului pentru infecțiile grave cauzate de *Enterobacteriaceae*, cum ar fi *K. pneumoniae*, dar eficacitatea a fost compromisă de achiziția pe scară largă a genelor care codifică enzime, cum ar fi β -lactamaze cu spectru extins (ESBL) și carbapeneme, care mediază rezistența respectivă la aceste medicamente critice.

Ratele ridicate ale mortalității, adesea depășind 40%, au fost asociate cu infecții severe cauzate de *Enterobacteriaceae* rezistente la carbapeneme (CRE) [5].

Tulpinile de *P. aeruginosa* rezistente la mai multe medicamente sunt în creștere la nivel mondial.

Cele mai multe dintre acestea au rezistat la antibioticele utilizate în mod tradițional. Infecția cu astfel de tulpini multirezistente poate avea o rată de mortalitate de până la 60%. Rezistența la ciprofloxacină și levofloxacină a făcut ca aceasta să fie inclusă pe lista de amenințări grave a CDC [5, 10, 13].

**Tabelul 1.4. Rezistența antimicrobiană
A. baumannii [5, 13]**

Bacteria	<i>A. baumannii</i>
Cel mai frecvent antibiotic rezistent	Polimixine Carbapeneme β-lactame Fluorochinolone Cefalosporine Tigeciclină Ceftazidimă Mezlocilină Ticarcilină
Cea mai gravă tulpină	Carbapeneme rezistente la <i>A. baumannii</i> (CRAB)
Opțiuni de tratament disponibilă	Colistin Combinație carbapenem-polimixină Carbapenem în doze mari Cefiderocol Eravacilină

**Tabelul 1.5. Rezistența antimicrobiană
P. aeruginosa [5, 13]**

Bacteria	<i>P. aeruginosa</i>
Cel mai frecvent antibiotic rezistent	Ciprofloxacină Levofloxacină Cefalosporine Piperacilină-tazobactam Carbapeneme Aminoglicozide Quinolone Polimixine Cefoperazonă Moxalactamă Colistină Ticarcilină Ticarcilină-clavulanat Peniciline Ampicilină Amoxicilină Majoritatea β-lactaminelor
Cea mai gravă tulpină	<i>P. aeruginosa</i> rezistentă la ciprofloxacină
Opțiuni de tratament disponibilă	Combinația imipenem-cilastatin-relebactam Piperacilină-tazobactam Ceftolozană-tazobactam Meropenem Ceftazidimă-avibactam Cefiderocol

**Tabelul 1.6. Rezistența antimicrobiană
la *Enterobacter* spp. [5, 13]**

Bacteria	<i>Enterobacter</i> spp.
----------	--------------------------

Cel mai frecvent antibiotic rezistent	β-lactame Carbapeneme Cefalosporine Fluorochinolone Polimixine Acid nalidixic
Cea mai gravă tulpină	<i>Enterobacter</i> spp. rezistent la panmedicamente
Opțiuni de tratament disponibilă	Nitrofurantoină Cefepime Aztreonam Ceftriaxonă Ciprofloxacină Gentamicină Meropenem Piperacilină-tazobactam Trimetoprim Imipenem-cilastatin-relebactam

Potrivit raportului privind rezistența antimicrobiană, elaborat de guvernul britanic, până în 2050, MDR ar putea ucide 10 milioane de oameni în fiecare an [1].

Rezistența antimicrobiană (RAM) este o problemă actuală de sănătate publică la nivel mondial. Mai mulți factori pot influența apariția și răspândirea RAM în industria animală, inclusiv utilizarea antibioticelor și gestionarea fermei.

Multe studii s-au concentrat asupra modului în care utilizarea antibioticelor la animalele destinate producției de alimente a dus la extinderea rezistenței la antibiotice [4].

Mecanisme de rezistență

Având în vedere frecvența cu care organismele ESKAPE sunt întâlnite în mediul clinic, nu este surprinzător faptul că numeroase mecanisme diferite de RAM sunt observate la acești agenți patogeni.

Genele de rezistență antimicrobiană pot fi purtate pe cromozomul bacterian, plasmide sau transpozoni [7]. Acestea pot fi clasificate în linii mari în patru grupe, cuprinzând:

- (i) inactivarea sau modificarea moleculei antimicrobiene;
- (ii) modificări ale site-ului țintă bacterian,
- (iii) penetrarea/acumularea redusă de antibiotice și
- (iv) formarea biofilmelor bacteriene [5, 19].

Mecanismele de rezistență reprezintă un aspect crucial în înțelegerea și combaterea amenințărilor aduse de agenții patogeni ESKAPE.

Aceste mecanisme sofisticate permit bacteriilor să supraviețuiască și să evite efectele antibioterapiei, transformând infecțiile în provocări clinice semnificative [14].

Producția de beta-lactamaze: Multe bacterii din grupul ESKAPE produc beta-lactamaze, enzime capabile să distrugă sau să inactiveze antibioticele beta-lactam, cum ar fi penicilinele și cefalosporinele. Acest lucru le face rezistente la o gamă largă de antibiotice din această clasă [21].

Modificarea țintelor antibiotice: Unele bacterii ESKAPE pot modifica țintele pe care le atacă antibioticele. De exemplu, *Staphylococcus aureus* MRSA a dezvoltat o modificare a proteinei țintă PBP2a, ceea ce face ca antibioticele beta-lactamice să fie mai puțin eficiente împotriva sa [22].

Pompe de eflux: Anumite bacterii ESKAPE au dezvoltat pompe de eflux, care le permit să elimine antibioticul din celulă înainte ca acesta să aibă efect. Aceasta reduce concentrația antibioticului în celulă, ceea ce face tratamentul inefficient [11, 21].

Schimbul de gene de rezistență: Unele bacterii ESKAPE au capacitatea de a transfera gene de rezistență la antibiotice către alte bacterii, prin intermediul plasmidelor sau altor elemente genetice mobile.

Acest fenomen poate duce la răspândirea rapidă a rezistenței la antibiotice în comunitatea medicală [14].

Biofilme: Agenții patogeni ESKAPE pot forma biofilme, care sunt straturi de bacterii aderente la suprafețe și care sunt rezistente la antibiotice. Aceasta face tratamentul infecțiilor asociate cu catetere sau dispozitive medicale dificil de realizat [8].

Repararea ADN-ului: Unele bacterii ESKAPE au mecanisme îmbunătățite de reparare a ADN-ului, ceea ce le permite să supraviețuiască și să se recupereze după expunerea la antibiotice care le cauzează daune genetice [19].

Aceste mecanisme de rezistență sunt rezultatul unei evoluții naturale a bacteriilor,

dar au fost amplificate de utilizarea excesivă și incorectă a antibioticelor. Combaterea rezistenței la antimicrobiene implică dezvoltarea de noi antibiotice, îmbunătățirea practicilor de utilizare a acestora și monitorizarea atentă a răspândirii rezistenței [19].

Main mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens

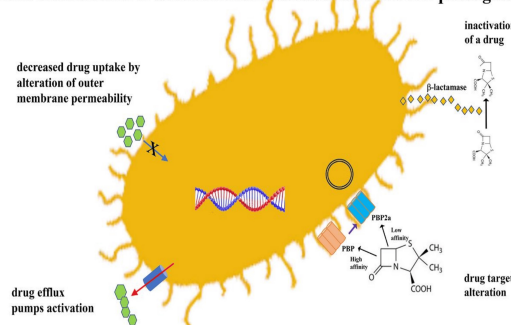


Figura 1.8. Mecanismele de rezistență la antibiotice a agenților patogeni ESKAPE.

Sursa: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1310> [12, 28]

Concluzii

Agenții patogeni ESKAPE sunt majoritatea germenilor izolați din spitale, principalele probleme RAM fiind ESBL și MRSA. Recunoașterea RAM este esențială în înțelegerea acestui fenomen în scopul actualizării protocoalelor locale pentru prescrierea antibioticelor.

În ciuda progreselor semnificative în dezvoltarea antibioticelor și a practicilor de utilizare a acestora, aceste bacterii extrem de rezistente reușesc să evadeze tratamentul și să provoace infecții grave care pot pune în pericol viețile pacienților.

Lupta împotriva agenților patogeni ESKAPE și a rezistenței lor la antimicrobiene rămâne o provocare continuă în medicina modernă, având un impact semnificativ asupra asistenței medicale și a sănătății publice.

Abrevieri

ESKAPE - *Enterococcus*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter spp*;
OMS - Organizația Mondială a Sănătății;
MDR - bacterii care sunt rezistente la trei sau mai multe clase de antibiotice;

CRKP - *Klebsiella pneumoniae* rezistent la carbapeneme

CRAB - *A. baumannii* rezistent la carbapeneme

CDC Centrul pentru Prevenirea și Controlul Bolilor

MRSA - *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilină

ESBLs β -lactamaze cu spectru extins

CRE Enterobacteriaceae rezistente la carbapeneme

RAM - rezistența antimicrobiană

Bibliografie

1. **Ahmad, N., Joji, R.M., & Shahid, M. (2023).** Evolution and implementation of One Health to control the dissemination of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes: A review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, null. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1065796>
2. **Aloke, C., & Achilonu, I. (2023).** Coping with the ESKAPE pathogens: Evolving strategies, challenges and future prospects. *Microbial Pathogenesis*, 175, 105963. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105963>
3. **Arbune, M., Gurau, G., Niculet, E., Iancu, A.V., Lupasteanu, G., Fotea, S., Vasile, M.C., & Tatu, A.L. (2021).** Prevalence of Antibiotic Resistance of ESKAPE Pathogens Over Five Years in an Infectious Diseases Hospital from South-East of Romania. *Infection and Drug Resistance*, 14, 2369–2378. <https://doi.org/10.2147/IDR.S312231>
4. **Barbu, I.C., Gheorghe-Barbu, I., Grigore, G.A., Vrancianu, C.O., & Chifiriuc, M.C. (2023).** Antimicrobial Resistance in Romania: Updates on Gram-Negative ESCAPE Pathogens in the Clinical, Veterinary, and Aquatic Sectors. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms24097892>
5. **De Oliveira, D.M.P., Forde, B.M., Kidd, T.J., Harris, P.N.A., Schembri, M.A., Beatson, S.A., Paterson, D.L., & Walker, M.J. (2020).** Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3), 10.1128/cmr.00181-19. <https://doi.org/10.1128/cmr.00181-19>
6. **Denissen, J., Reyneke, B., Waso-Reyneke, M., Havenga, B., Barnard, T., Khan, S., & Khan, W. (2022).** Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 244, 114006. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114006>
7. **Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R., & Pavilionis, A. (2011).** Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 47(3), 137–146.
8. **Højby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010).** Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
9. **Koeppen, K., Hampton, T.H., Neff, S.L., & Stanton, B.A. (2022).** ESKAPE Act Plus: Pathway Activation Analysis for Bacterial Pathogens. *mSystems*, 7(6), e00468-22. <https://doi.org/10.1128/msystems.00468-22>
10. **Laurentiu, T.A., Nicoleta, M., Octav, P., Gheorghe, I., Marcela, P., Otilia, B., Corina, C.V., Carmen, M.C., & Marutescu, L. (2017).** Resistance features of pseudomonas aeruginosa strains isolated from patients with infectious complications of cardiovascular surgery. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 7, 2004–2008.
11. **Li, X.-Z., & Nikaido, H. (2004).** Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64(2), 159–204. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464020-00004>
12. **Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021).** Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>

13. **Mulani, M. S., Kamble, E.E., Kumkar, S. N., Tawre, M.S., & Pardesi, K.R. (2019).** Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00539>
14. **Munita, J.M., & Arias, C.A. (2016).** Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
15. **Orosz, L., Lengyel, G., Ánosi, N., Lakatos, L., & Burián, K. (2022).** Changes in resistance pattern of ESKAPE pathogens between 2010 and 2020 in the clinical center of University of Szeged, Hungary. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, null, null. <https://doi.org/10.1556/030.2022.01640>
16. **Rahim, M.K.A., Buyong, M.R., Jamaludin, N.M.A., Hamzah, A.A., Siow, K.S., & Majlis, B.Y. (2018).** Characterization of Permittivity and Conductivity for ESKAPE Pathogens Detection. *2018 IEEE International Conference on Semiconductor Electronics (ICSE)*, 132–135. <https://doi.org/10.1109/SMELEC.2018.8481278>
17. **Rice, L.B. (2008).** Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(8), 1079–1081. <https://doi.org/10.1086/533452>
18. **Russo, T.P., Minichino, A., Gargiulo, A., Varriale, L., Borrelli, L., Pace, A., Santaniello, A., Pompameo, M., Fioretti, A., & Dipineto, L. (2022).** Prevalence and Phenotypic Antimicrobial Resistance among ESKAPE Bacteria and Enterobacterales Strains in Wild Birds. *Antibiotics*, 11(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121825>
19. **Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016).** Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, 2016, e2475067. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
20. **Tuttobene, M.R., Pérez, J.F., Pavesi, E.S., Mora, B.P., Biancotti, D., Cribb, P., Altilio, M., Müller, G.L., Gramajo, H., Tamagno, G., Ramírez, M. S., Diacovich, L., & Mussi, M.A. (2020).** Light Modulates Important Pathogenic Determinants and Virulence in ESKAPE Pathogens *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. <https://doi.org/10.1128/jb.00566-20>
21. **Vila, J., Martí, S., & Sánchez-Céspedes, J. (2007).** Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(6), 1210–1215. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl509>
22. **Wright, G.D. (2005).** Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(10), 1451–1470. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.002>
23. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.** (f.a.). Preluat în 31 octombrie 2023, din <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
24. <https://news.asu.edu/20181002-first-experiments-europes-new-x-ray-laser-reveal-structure-antibiotic-disabling-enzyme>
25. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/acinetobacter.html>
26. <https://www.laboratuvar.com/ro/qida-analizleri/mikrobiyolojik-analizler/pseudomonas-aeruginosa-tayini>
27. <https://prevent-and-protect.com/pathogen/enterobacter-cloacae-en/>
28. <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1310>

PRO-PUPPY

COMPRIMATE PENTRU
CĂȚEI ÎN CREȘTERE ȘI CĂȚELE ÎN LACTAȚIE

Prezentare
100
comprimate



Aminoacizi

Oligo-elemente

Vitamine, minerale

COMPRIMATE PENTRU
CĂȚEI ÎN CREȘTERE ȘI CĂȚELE ÎN LACTAȚIE

Produsul conține un complex de vitamine, minerale și aminoacizi, într-un excipient cu gust plăcut de ficat, care asigură palatabilitatea produsului și poate fi administrat ca atare ori în amestec cu hrana.



www.pasteur.ro

Diferite reziduuri de medicamente în miere și cele mai comune tehnici de detectare a acestora în prezent – Un minireview

Various drug residues in honey and their currently most common detection techniques - A minireview

Spiridon Ioana*, Alexandru Diana-Mihaela, Georgescu Mara

Facultatea de Medicină Veterinară, București

*ioanaspiridon16@gmail.com

Cuvinte cheie: reziduuri în miere, tehnici de detectare, antibiotice în miere, pesticide

Key words: honey residue, detection techniques, antibiotics in honey, pesticides

Rezumat

Mierea este un produs natural fabricat de albine, ce conține numeroase zaharuri simple, acizi organici, vitamine, minerale, antioxidanți și enzime, care îi oferă calități nutriționale și medicinale bune. Mierea care a intrat în contact cu substanțe străine, cum ar fi pesticidele sau antibioticele, își pierde o mare parte din proprietățile sale benefice. Pe lângă avantajele și utilitatea lor în agricultură, utilizarea pesticidelor s-a intensificat în ultima vreme și are un efect dăunător asupra albinelor și a articolelor pe care le produc. Controlul prezenței reziduurilor de pesticide este necesar, deoarece practicile apicole și agricole ar putea contamina produsele apicole cu pesticide. În apicultură, antibioticele sunt utilizate pentru a proteja albinele de o serie de boli care le afectează puii. Din cauza apariției rezistenței la oxitetraciclină, eritromicina și tilozina sunt utilizate mai frecvent pentru prevenirea, dar și pentru îngrijirea acestor boli. Mai mult de 35% din toate pesticidele vândute la nivel mondial sunt fungicide, iar utilizarea acestor produse este de așteptat să crească în anii următori. Scopul prezentei lucrări a fost acela de a prezenta și clasifica principalele clase de compuși întâlniți în miere și de a evidenția principalele tehnici de detectare a reziduurilor, utilizate în mod curent pentru controlul calității mierii.

Abstract

Honey is a natural product made by honeybees, containing numerous simple sugars, organic acids, vitamins, minerals, antioxidants and enzymes, which provide good nutritional and medicinal qualities. Honey that has come into contact with foreign substances like pesticides, or antibiotics loses a lot of its beneficial properties. In addition to their advantages and significance in agriculture, pesticide use has escalated recently and has a detrimental effect on bees and the items they produce. Controlling the presence of pesticide residues is necessary since beekeeping and agricultural practices might contaminate bee products with pesticides. In apiculture, antibiotics are used to shield bees from a range of diseases that affect their young. Due to the emergence of oxytetracycline resistance, erythromycin and tylosin are being utilized more frequently for the prevention of as well as the care of these illnesses. More than 35% of all pesticides sold worldwide are fungicides, and usage of these products is expected to rise in the coming years. The purpose of this paper was to present and classify the main classes of compounds found in honey and to highlight the main residue detection techniques used currently in honey quality control.

1. Introducere: importanța mierii, compoziție și reziduuri

Albinele din specia *Apis mellifera* generează mierea, un aliment natural, adunând nectarul din flori sau prin secreția unor componente vegetale.

Unul dintre cei mai importanți polenizatori din natură este albina. Aceasta joacă o funcție vitală în menținerea echilibrului ecologic și în

avansarea dezvoltării agricole. Componentele mierii sunt legate în principal de sursa florală de nectar, de factorii de mediu, de fiziologia albinelor, de colectarea mierii și de tratamentele ulterioare colectării.

În matricea complexă a mierii se găsesc peste 300 de grupe chimice diferite, inclusiv zaharuri (mono- și oligozaharide), acizi organici, aminoacizi, enzime, hormoni,

flavonoide, vitamine, uleiuri esențiale, steroli și fosfolipide.

Numeroasele beneficii medicinale ale acestui produs natural îl fac extrem de valoros, pe lângă aroma sa delicioasă (Hanafi and Ghani, 2027, Blaga et al., 2020).

Cu toate acestea, pesticidele provenite din tehnicile agricole și apicole pot contamina mierea, așa că este important să se monitorizeze reziduurile acestora.

Mierea poate fi utilizată ca bioindicator pentru a identifica existența poluanților din mediul înconjurător, cum ar fi metalele grele, precum și reziduurile de pesticide și antibiotice (Karazafiris et al., 2011).

O formă indirectă de poluare a mierii este reprezentată de substanțele chimice de protecție a plantelor, în special cele ale căror ingrediente active au calități sistemice, se pot transloca în nectar sau sunt persistente în mediu.

Cea de-a doua cauză de contaminare a mierii cu pesticide este reprezentată de medicamentele veterinare (acaricide) pe care apicultorii le folosesc direct în stup pentru a combate infestarea coloniilor de albine cu acarianul *Varroa destructor*.

Prin urmare, poluarea mierii poate avea loc în două moduri: direct din cauza toxinelor apicole sau indirect din activitățile agricole și din mediul înconjurător în general.

Datorită prezenței lor pe scară largă, insecticidele, hidrocarburile aromatice policiclice (HAP) și bifenilii policlorurați (PCB) se numără printre contaminanții periculoși la care poate fi expusă mierea. În agricultură, pesticidele sunt utilizate frecvent pentru a spori randamentul culturilor prin gestionarea unei varietăți de dăunători, boli și buruieni.

Cu toate acestea, aplicarea necorespunzătoare a acestor substanțe, în special a celor incluse în pesticidele organoclorurate (OCP), poate reprezenta un risc pentru sănătatea oamenilor. PCO se acumulează frecvent în mediu și au o serie de efecte negative atât asupra oamenilor, cât și asupra mediului, inclusiv preocupări semnificative privind toxicitatea pentru animalele sălbatice și persistența ridicată în

mediu (Karazafiris et al., 2011; Albero et al., 2023).

Efectele asupra oamenilor includ modificări ale sistemului nervos, apariția cancerului și perturbarea sistemului endocrin.

Din cauza persistenței lor puternice în mediu, HAP și PCB se numără printre poluanții organici atmosferici periculoși care suscită o îngrijorare deosebită, pe lângă pesticide.

Combustia incompletă, erupțiile vulcanice, incendiile de pădure și emisiile autoturismelor produc HAP-uri ca produse secundare.

Cu toate acestea, din cauza persistenței lor extreme, PCB-urile sunt întotdeauna detectate în cantități infime, chiar și după ce utilizarea lor a fost interzisă la nivel mondial pentru o lungă perioadă de timp.

Acești compuși au fost folosiți ca agenți de răcire și lubrifianți în transformatoare, condensatori și alte echipamente electrice (Al-Alam et al., 2017; Abdallah et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Mehdi, et al., 2018).

Reziduurile de antibiotice, inclusiv tetraciclina (TC), fluorochinolonele (FF) și penicilina G (PG), care se găsesc în alimentele de origine animală, cum ar fi mierea, și în mediul înconjurător, capătă o atenție sporită datorită faptului că nivelurile scăzute de antibiotice pot încuraja dezvoltarea bacteriilor rezistente la antibiotice.

Prezența acestora în miere poate avea consecințe negative asupra oamenilor, inclusiv reacții alergice, intoxicații și afectarea sistemului nervos central.

În Uniunea Europeană, antibioticele nu sunt permise pentru tratamentul albinelor din cauza preocupărilor legate de siguranța alimentară și de sănătatea umană (Scripcă et al., 2019; Ağaoğlu et al., 2020; Kumar et al., 2019).

Un ectoparazit care trăiește pe tot parcursul anului, *Varroa destructor* consumă hemolimfa atât a albinelor adulte, cât și a celor larvare.

Se consideră că acest parazit reprezintă un pericol serios pentru apicultură și s-a răspândit în întreaga lume. Se crede că este un factor principal în pierderea coloniilor.

Prin urmare, pentru a preveni răspândirea varrozei în stupi, este necesară o terapie; în

caz contrar, colonia va pieri în trei până la cinci ani.

Pentru a gestiona *Varroa*, se pot folosi uleiuri esențiale de plante, cum ar fi timolul, sau acizi organici, cum ar fi acidul formic sau oxalic.

Cu toate acestea, cele mai frecvente acaricide folosite pentru a gestiona acarianul sunt cele sintetice, cum ar fi amitrazul, fluvalinatul și cumafosul.

Cu toate acestea, dacă aceste pesticide sunt folosite în mod constant în același stup, coloniile de albine pot eșua.

Comisia Europeană (2023) a stabilit limite maxime de reziduuri (LMR) pentru anumite acaricide în miere, care sunt de 0,05 mg/kg pentru acrinatrin și cipermetrin, 0,2 mg/kg pentru amitraz, 0,1 mg/kg pentru cumafos și 0,01 mg/kg pentru clorfenvinfos.

Cu toate acestea, ceara de albine nu are LMR, deși este utilizată în produsele alimentare și farmaceutice.

Dintre toate substanțele studiate, erbicidul atrazină a redus cel mai mult viabilitatea spermatozoizilor la albine; cu toate acestea, chiar și acest efect nu a fost semnificativ din punct de vedere statistic (Al-Alam et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Abdallah et al., 2017; McAfee, et al., 2021; Pohorecka, et al., 2018).

2. Reziduuri din miere – clasificarea

Produsele apicole pot fi contaminate cu diferite substanțe prin două metode diferite: contaminare indirectă și directă.

Metoda indirectă descrie modul în care albinele furajere transportă materiale dăunătoare atunci când adună nectar, mierea de albine, apă, polen și propolis.

Puține studii abordează prezența nitrofuranilor, a toxinelor și a PCB-urilor în produsele stupilor, în timp ce multe se concentrează pe contaminarea produselor stupului cu substanțe agrochimice și metale grele.

Cea mai directă și mai semnificativă metodă se referă la amenințarea reprezentată pentru produsele apicole de insecticidele volatile, antibioticele și erbicidele utilizate în

operațiunile de apicultură (Gaweł, et al., 2019; Rachid et al., 2022; Karazafiris et al., 2011).

Contaminarea indirectă a produselor apicole implică pesticide și reziduuri de antibiotice utilizate în agricultură.

Pesticidele utilizate pe diferite culturi sunt clasificate în grupe pe baza structurii chimice (organofosfați, piretroizi, organoclorurați, carbamați, neonicotinoide etc.), a modului de acțiune (sistemic sau de contact), a țintei (insecticide, acaricide, erbicide, fungicide, bactericide, nematocide) și a sintezei (sintetice sau naturale).

Reziduurile de pesticide găsite în produsele obținute din stupii de albine sunt clasificate în patru grupe: erbicide, fungicide (difenoconazol, captan, tiofanat de metil, iprodion, vinclozolin), acaricide și insecticide (organoclorurați, organofosfați, carbamați și neonicotinoizi) (Abdallah et al., 2017; Blaga, et al., 2020; Wang, et al., 2022).

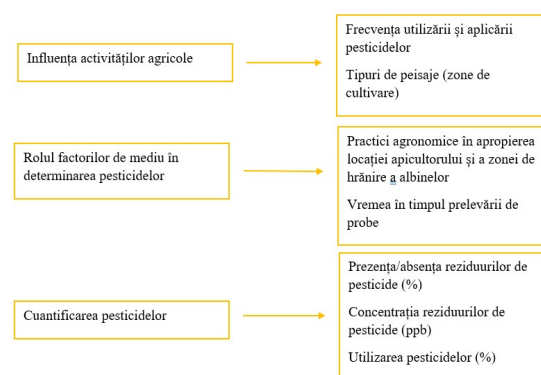


Figura 1. Factori externi care influențează nivelurile de pesticide și tipuri de cuantificare (Lucas et al., 2022; Sanchez-Bayo & Goka, 2016)

Reziduurile de antibiotice datorate utilizării în agricultură pot pătrunde în produsele apicole prin intermediul surselor din mediul înconjurător, precum și al apicultorilor.

Deoarece sulfonamidele și tetraciclinele sunt prezente în apa de băut din fermele de pui, din cuștile de iepuri și de la alte animale, albinele pot, de asemenea, să răspândească antibioticele prin apă (Wang, et al., 2022; Gaweł, et al., 2019; Migdal et al., 2018).

Contaminarea directă a produselor apicole se produce cu reziduri de acaricide, antibiotice și insecticide volatile. Ingredientele

active pe care apicultorii le utilizează ei înșiși riscă să introducă reziduuri nedorite în produsele lor. Medicamentele americane împotriva pojarului, acaricidele și antibioticele sunt utilizate pentru a combate acarianul *Varroa destructor*, nosemoza (paraziții *Nosema apis* și *Nosema ceranae*) și alte infecții (Karazafiris et al., 2011; Albero et al., 2023).

Reziduurile de acaricide frecvent detectate sunt reprezentate de amitraz, cymiazol, bromopropilat, tau-fluvalinat, flumetrin, cumafos, malation.

Utilizarea malationului în apicultură nu a fost niciodată aprobată. În ciuda acestui fapt, o mulțime de apicultori îl utilizează sub formă de

zahăr pudră sau ca agent de pulverizare (Albero et al., 2023).

Reziduuri de antibiotice. Apicultorii utilizează frecvent antibiotice, cum ar fi tetraciclina, cloramfenicolul, sulfatiazolul, streptomicina, tilosina, eritromicina, ciprofloxacina, enrofloxacină, metronidazolul, fumagilina etc (Blaga et al., 2020; Buzia et al., 2019; Lei et al., 2018).

Reziduurile de insecticide volatile în produsele apicole care se întâlnesc frecvent sunt naftalină, 1,2-dibromo-etan (DBE) și 1,4-diclorobenzen (p-DCB) (Wang et al., 2022; Souza et al., 2016).

Tabel 1: Compuși analizați în miere
(Kędzierska-Matysek, et al., 2022; Souza, et al., 2016)

Categoria de utilizare	Compuși	Referințe
Erbicide	6-cloro-4-hidroxi-3-fenil piridazină (metabolit al piridatului), 6-hidroxi-bentazonă (metabolit al bentazonei), acetoclor, amidosulfuron, asulam, bentazonă, bifenox, quinochlamina, chizalofof-P-etil, chizalofof-P-tefuril, Clomazonă, Clorosulfuron, Clortoluron, Cloridazon, Cicloxidim, Desmedifam, Diflufenican, Dimetaclor, Etofumesat, Fenmedifam, Fenoxaprop-P-etil, Flazasulfuron, Florasulam, Fluazifop-P-butil, Flufenacet, Flurocloridonă, Foramsulfuron, Isoproturon, Iodosulfuron-metil-sodiu, Carbetamidă, Carfentrazon-etil, Kletodim, Lenacil, Linuron, Metamitron, Metazaclor, Metolaclor-S, Metribuzin, Metsulfuron-metil, Mesosulfuron-metil, Mesotrion, Napropamidă, Nicosulfuron, Pendimetalin, Pectoxamidă, Propachizafop, Propoxycarbazonă sodică, Propizamidă, Prosulfocarb, Rimsulfuron, Sulfosulfuron, Sulcotrion, Tembotrion, Tepraloxidim, Terbutilazina, Tifensulfuron-metil, Tralkoxidim	(Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017) (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Kędzierska-Matysek, et al., 2022)
Insecticide	2,40 -DDT, 4,40 -DDD, 4,40 -DDE, 4,40 -DDT, 4,4-Metoxiclor, Acetamiprid, Aldrin, alfa-cipermetrin, alfa-Endosulfan, alfa-HCH, azinfos-etil, azinfos-metil, beta-ciflutrin, beta-Endosulfan, beta-HCH, Bifentrin, Clorantpriliprol, clorfenvinfos, clorpirifos-metil, clorpirifos, cis-chlordan, clotianidin, cis-epactlor epoxid, cis-permetrin, deltametrin, diazinon, dieldrin, diflubenzuron, dimetoat, endrin, endosulfan sulfat, esfenvalerat, etofenprox, Etoprofos, Fenitrotrion, Fention, Fention-sulfonă (metabolit al fentionului), Fention-sulfoxid (metabolit al fentionului), Fipronil, Fipronil-desulfinil (metabolit al fipronilului), Fipronil-carboxamidă (metabolit al fipronilului), Fipronil-sulfură (metabolit al fipronilului), Fipronil-sulfonă (metabolit al fipronilului), Flonicamid, Fosmet, HCB, Heptaclor, Heptenofos, Imidacloprid, Imidacloprid-olefină (metabolit al imidaclopridului), Imidacloprid-derivat de uree (metabolit al imidaclopridului), Indoxacarb, lambda-cihalotrin, lindan (gamma-HCH), malation, metiocarb sulfonat (metabolit al metiocarbului), metiocarb sulfoxid (metabolit al metiocarbului), metiocarb, metoxifenozidă, metidation, MITC (izotiocianat de metil) (metabolit al Metam și Dazomet), Nitenpiram, Oxicloridan, Paration etilic, Paration metil, Phoxim, Phosalon, Pirimifos etilic, Pirimifos metil, Pirimicarb, Pirimicarb-desmetil (metabolit al pirimicarbului), Piriproxifen, Profenofos, Resmetrin, Spinosin A, Spiroclufen, Spirotetramat, Spirotetramat-enol (metabolit al spirotetramat), Spirotetramat-enol-glucozid (metabolit al spirotetramat),	(Wang, et al., 2022) (Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017) (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Gawel, et al., 2019) (Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017)

	Spirotetramat-ceto-hidroxi (metabolit al spirotetramat) tau-Fluvalinat, tebufenozidă, teflubenzuron, teflutrin, tetrametrin, tiaclopid, tiaclopid-amidă (metabolit al tiaclopidului), tiametoxam, trans-clordan, trans-eptaclor epoxid, trans-permetrin, triazinfos, zeta-cipermetrin	
Fungicide	Azoxistrobin, Bixafen, Boscalid, Bupirimat, Carbendazim, Carboxin, Clorotalonil, Chimexazol, Ciflufenamidă, Ciazofamid, Cimoxanil, Ciproxanil, Ciprodinil, Ciproconazol, Difenconazol, Dimetomorf, Dimoxistrobin, Epoxiconazol, Fenbuconazol, Fenhexamid, Fenpropidin, Fenpropimorf, Fluchinkonazol, Fludioxonil, Flusilazol, Flutriafol, Imazalil, Ipconazol, Iprodion, Isopirazam, Kresoxim-metil, Mandipropamid, Mepaniprim, Metalaxil-M (Metalaxil), Metconazol, Metrafenonă, Miclobutanil, Pencycuron, Picoxistrobin, Pirimetanil, Proquinazid, Procloraz, Propamocarb, Propiconazol, Prothioconazol-desthio (un metabolit al prothioconazolului), Piraclostrobin, Pirazofos, Quinoxifen, Siltiofam, Spiroxamină, Tebuconazol, Tetraconazol, Tiofanat-metil, Triadimefon, Triadimenol, Trifloxistrobin, Triticonazol, Vinclozolin	(Kędzierska-Matysek, et al., 2022) (Souza, Rocha, de Abreu, & Fernandes, 2016) (Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017)
Acaricide	Bifenazat, Bromopropilat, Clofentezină, Etoxazol, Fenazaquin, Fenpyroximat, Hexithiazox, Propargit, Tebufenpyrad	(Gaweł, et al., 2019; Al-Alam, Fajloun, Chbani, & Millet, 2017)
Medicamente de uz veterinar	Cymiazol, Coumafos, DMF (2,4-dimetilfenilformamidă) (metabolit al amitrazului), DMPF (N-(2,4-dimetilfenil)-N0 - metilformamidă) (metabolit al amitrazului)	(Kędzierska-Matysek, et al., 2022)

3. Metode de detectare

Separarea este un proces esențial care intervine după ce analiții sunt izolați din matrice. Tehnicile cromatografice reprezintă baza procedurilor de analiză a reziduurilor de pesticide și de medicamente veterinare.

Factorul principal care influențează decizia între cromatografia în fază gazoasă și cea în fază lichidă este compoziția chimică a analiților.

În comparație cu cromatografia lichidă, care a fost utilizată pentru substanțe mai puțin volatile și cu greutate moleculară mai mare, cromatografia în fază gazoasă s-a dovedit a fi o metodă eficientă pentru determinarea compușilor volatili și cu greutate moleculară mică.

Cantitatea de substanțe găsite în timpul analizei determină clasificarea tehnicilor de analiză.

Metodele cu un singur reziduu (SRM) și metodele cu reziduuri multiple (MRM) sunt cele două categorii primare. Cele mai multe substanțe chimice sunt găsite folosind tehnici cu reziduuri multiple.

Cu o singură pregătire și analiză a probei, analistul poate identifica o gamă largă de substanțe chimice, dar anumite molecule sunt

unice și pot fi recunoscute doar prin metode sofisticate (cum ar fi amitrazul din miere).

În ultimii ani, datorită îmbunătățirii semnificative a echipamentelor (GC-MS-MS, LC-MS-MS etc.), numărul de substanțe identificate a crescut considerabil și multe laboratoare pot identifica majoritatea ingredientelor active (Souza, et al., 2016; Gaweł, et al., 2019).

Numeroase reziduuri de antibiotice au fost determinate cu ajutorul testului imunoenzimatic (ELISA).

De exemplu, pentru streptomycină și tetraciclină există kituri pentru fiecare tip de antibiotic [Sinogeneclon Streptomycin ELISA (SG-4011) și Sinogeneclon Tetracycline ELISA (SG-4021)] (Ağaoğlu et al., 2020).

▪ Cromatografia în fază gazoasă (GC)

Mai mult decât orice altă tehnică, cromatografia în fază gazoasă a fost utilizată pentru a găsi reziduuri de pesticide și acaricide în articolele realizate de stupii de albine.

După cum s-a indicat anterior, principala aplicație a acestei abordări este identificarea substanțelor chimice volatile și cu greutate moleculară mică. Cu toate acestea, există cazuri în care cromatografia în fază gazoasă este utilizată pentru a examina moleculele cu greutate moleculară mai mare (cum ar fi

amitrazul) în urma unor proceduri laborioase și care necesită mult timp (cum ar fi derivatizarea). În aceste cazuri, materialele au fost transformate în molecule mai volatile înainte de a fi supuse analizei gaz-cromatografice.

Sistemele gaz-cromatografice sunt împărțite în următoarele trei secțiuni majore:

a. Admisia, prima secțiune majoră, este responsabilă de asigurarea intrării probei în cromatograful cu gaz.

b. Cuptorul și coloana în care are loc separarea analitului alcătuiesc cea de-a doua secțiune.

c. Intrarea și coloana asociate cu un detector adecvat.

▪ Cromatografia lichidă (LC)

Cromatografia lichidă este utilizată pentru a izola o gamă largă de substanțe, spre deosebire de cromatografia în fază gazoasă, care se limitează la identificarea celor mai volatili compuși. Este posibil ca aceste substanțe să nu fie suficient de volatile din punct de vedere termic sau suficient de volatile pentru analiza prin cromatografie în fază gazoasă.

În cazul cromatografiei lichide, detectorii cu matrice de diode (DAD), detectorii ultraviolet/vizibil (UVD) și detectorii fluorescenți (FLD) au fost cele mai des utilizate tipuri de detectoare. Spectrometria de masă (MS) este o tehnologie de detecție care devine din ce în ce mai populară.

▪ Cromatografie în strat subțire (TLC)

Principala utilizare a acestei metode este detectarea produselor farmaceutice în probele biologice. Pentru a determina reziduurile de pesticide din alimente, se utilizează în special TLC.

În general, TLC necesită separarea blocurilor cu ajutorul unui mediu de acoperire adecvat (cum ar fi silicagelul) și extragerea probei cu ajutorul unui amestec de solvenți.

Metodele enumerate mai sus pot detecta, de asemenea, elemente minerale și metale grele în miere (Kasiotis et al., 2023; Souza et al., 2016).

▪ **Metodele de determinare a reziduurilor de insecticide volatile** (DBE-1,2-dibromo-etan; p-DCB-1,4-dicloro-benzen; naftalină) în produsele apicole sunt: GC-MS (cromatografie în fază gazoasă-spectrometrie de masă), HPLC (cromatografie lichidă de înaltă performanță), HPLC-UV (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție în ultraviolete), HPLC-DAD (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu detecție Diode-Array), HPLC ASE (cromatografie lichidă de înaltă performanță cu solvent de extracție accelerată), UHPLC-MS (cromatografie lichidă de înaltă performanță-spectrometrie de masă în tandem) (Portakal & Yarsan, 2023; Karazafiris et al., 2011; Díaz, et al., 2023).

Tabelul 2. Eșantioane pentru analiza pesticidelor din miere prin cromatografie lichidă

(Souza et al., 2016; Almeida, et al., 2020)

Clase (și număr) de pesticide analizate	Separare/ Detecție
Acilaminoacizi, benzofurani, anilinopirimidine, carbamați, ariloxifenoxipropionați, benzimidazoli, carbanilat, carboxamide, cloroacetamide, cianoimidazol, diacilhidrazine, dicarboxamide, dinitroaniline, hidroxianilide, imidazoli, morfoline, neonicotinoide, organofosforice, oxadiazină, fenilamide, fenilpirazol, feniluree, fosforotiol, pirazoli, piretroizi, piridine, piridazinonă, pirimidine, ester de sulfat, triazine, tetrazină, acid tetroneic, triazoli și alte pesticide neclasificate	LC-MS/MS
Amidine, avermectine, difenil oxazolină, formamidină, pirazol, fenilpirazol, carboxamidă, ester de sulfat, nicotinoizi, piridazinonă, tiazolidină	LC-MS/MS
Clorofenoli (6 pesticide)	HPLC-UV
Neonicotinoide (7 pesticide)	HPLC-UV
Organofosforice (14 pesticide)	LC-MS/MS
Anilinopirimidină, ariloxifenoxipropionat, anilinopirimidină, cloroacetamidă, organofosforică, strobilurină, piridazinonă, cianoacetamidă oxime, benzoiluree,	LC-ESI-MS/ MS

morfolină, neonicotinoid, quinazolină, imidazol, triazol, piretroizi, pirazol, pirazol, fenilamidă, fosforotolat, sulfoniluree, oxatiină, oxadiazină, carbamat, cloroacetamidă, triazină, tiocarbamat și altele neclasificate (30 pesticide)	
Organofosforice, carbamați (10 pesticide)	HPLC-UV
Neonicotinoide (6 pesticide)	UHPLC/ MS-MS
Neonicotinoide (7 pesticide)	LC-MS/MS
Piretroizi (4 pesticide)	HPLC-UV
Organofosforice, organoclorurați, carbamați, piretroizi, biopesticide, uree, neocotinoide, triazine, triazoli (350 de pesticide)	UHPLC-Orbitrap-MS
Alchilclorofenoxi, feniluree, fenilpirazol (3 pesticide)	HPLC-UV
Amidină, benzimidazol, organofosfor, fenilpirazol, piretroid, neonicotinoid, triazol (8 pesticide)	LC-APCI- MS/MS

Tabelul 3: Alți compuși analizați prin LC-MS/MS
(Abdallah, Hanafi, & Abdel Ghani, 2017; Almeida, et al., 2020)

Compuși	Detectie
Propamocarb, metomil, tiametoxam, carbendazim, imidacloprid, dimetoat, acetamiprid, tiacloprid, aldicarb, carbofuran, simazină, carboxin, cloranthraniliprol, tiocarb, izoproturon, metalaxil, azoxistrobin, flurtamonă, dietofencarb, metoxifenoizidă, metiocarb, fenexamidă, flusilazol, fenoxicarb, anilofos, penconazol, indoxacarb, difenoconazol, trifloxistrobin, benzoat de emamectin, buprofezin, oxadiazon, hexitiazox, teflubenzuron, piridaben.	LC-MS/MS

În conformitate cu Directiva 2001/110/CE a Consiliului din 20 decembrie 2001 privind mierea, acestea nu i se pot adăuga ingrediente alimentare, inclusiv aditivi alimentari, și nici nu i se pot face alte adăugiri în timp ce este vândută ca miere sau utilizată în produse destinate consumului uman.

Pe cât posibil, mierea nu ar trebui să conțină materiale organice sau anorganice străine.

În conformitate cu Directiva 2001/110/CE a Consiliului, pentru ca mierea să fie vândută sau utilizată în orice produs destinat consumului uman, aceasta trebuie să îndeplinească următoarele cerințe de compoziție.

Conținutul de fructoză și glucoză (suma celor două) în mierea de flori nu trebuie să fie mai mic de 60 g/100 g, iar în mierea de miere de albine, amestecurile de miere de albine cu miere de flori nu trebuie să fie mai mic de 45 g/100 g. Conținutul de zaharoză, în general, nu trebuie să fie mai mare de 5 g/100 g.

Conținutul de umiditate nu trebuie să depășească, în general, 20%, iar apoi conținutul de insolubilitate în apă, în miere, în general, să nu depășească 0,1g/100g, iar în mierea presată să nu depășească 0,5g/100g.

Conductivitatea electrică, în majoritatea tipurilor de miere, cu excepția mierii de căpșun (*Arbutus unedo*), *Erica* de eucalipt, de tei (*Tilia spp.*), de iarbă neagră (*Calluna vulgaris*), de manuka (*leptospermum*), de arbore de ceai (*Melaleuca spp.*), nu trebuie să depășească 0,8 mS/cm.

Alți parametri obligatorii care trebuie analizați sunt aciditatea liberă, care, în general, trebuie să fie mai mică de 50 miliechivalenți de acid la 1000 de grame, activitatea diastazei, nu mai mică de 8, iar pentru mierea cu un conținut redus de enzime și cu un conținut de HMF de cel mult 15 mg / kg nu trebuie să fie mai mică de 3.

Nu în ultimul rând, se determină, de asemenea, conținutul de hidroximetilfurfural (HMF) al mierii, care, în general, nu trebuie să depășească 40 mg/kg, existând, desigur, și excepții care pot fi văzute în Directiva 2001/110/CE a Consiliului (Directiva 2001/110/CE a Consiliului din 20 decembrie 2001 privind mierea).

Contaminanții analizați în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei sunt: nivelurile de nitrați, micotoxine, metale, 3-monocloropropan-1,2-diol (3-MCPD), dioxine, PCB și hidrocarburi aromatice policiclice (Regulamentul (CE) Nr. 1881/2006 al Comisiei

din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare).

Alimentele nu pot include nici o cantitate de cloramfenicol sau de metaboliți ai acestuia la un nivel sigur care să prezinte un risc pentru consumatori (Additives, 2004).

Ca metode de testare, de exemplu, pentru depistarea cloramfenicolului și a sulfonamidelor în miere, se poate folosi kitul de testare rapidă bioeasy, care se bazează pe tehnologia de imunocromatografie cu aur coloidal (Georgescu, 2019).

4. Discuții - variații ale rezultatelor în funcție de țară și regiune

Studiul realizat de Kumar și col., (2019) a aratat că în 15,3 % din probele de miere, s-a găsit oxitetraciclină, acesta fiind considerat antibioticul cel mai frecvent utilizat de apicultori împotriva infecțiilor bacteriene cu febra bacteriană a albinelor.

Cu câteva excepții, nivelurile de streptomycină au fost frecvent mai ridicate în același eșantion în cadrul unei cercetări din Turcia. În plus, mierea ambalată are o rată pozitivă și un nivel rezidual mai mare de streptomycină și tetraciclină (Ağaoğlu et al., 2020).

Kędzierska-Matyssek, și col., au concluzionat în studiul lor din 2022 (*Residues of Pesticides and Heavy Metals in Polish Varietal Honey*) că 90% din probele care au fost analizate au prezentat dovezi de reziduuri de pesticide, însă cantitățile nu au fost mai mari decât nivelurile de reziduuri permise, iar substanțele identificate cel mai frecvent au fost tiaclopid, acetamiprid și carbendazim în mierea produsă în sud-estul Poloniei.

Concentrația de metale în organismele albinelor este influențată de pesticidele care au metale ca ingrediente active.

Cercetările privind pesticidele relevă faptul că pesticidele mai hidrofobe pot pătrunde adânc în corpul albinelor, în timp ce pesticidele mai polare se găsesc la suprafața corpului lor.

Cercetările demonstrează că traiul într-un oraș mare este mai plăcut pentru aceste

insecte utile (Migdał et al, 2018; Sadowska et al., 2019).

Tehnica QuEChERS a fost utilizată cu succes pentru a elimina reziduurile de pesticide din miere în marile centuri forestiere din Ghana. S-au găsit cantități foarte mici de Aldrin, γ -HCH, β -HCH, cipermetrin, ciflutrin, clorpirifos, deltametrin, DDT, dimetoat, diazinon, endosulfan, fenvalerat, permetrin, metoxiclor și malation (Darko et al., 2017; Ligor et al., 2020).

Neonicotinoidele au fost cele mai frecvent detectate pesticide și au fost, de asemenea, descoperite în cantități mai mari.

Alte pesticide care pot contamina mediul înconjurător și dăuna sănătății oamenilor și albinelor includ erbicidele, fungicidele și organofosfații.

Constatările studiului demonstrează că pesticidele foarte dăunătoare, inclusiv imidaclopid, sunt prezente și sunt mai frecvente și mai concentrate în zona sudică din mierea produsă în Jalisco (Mexic), unde se practică o agricultură intensă și foarte tehnologizată (Ponce-Vejar et al., 2022).

Într-un alt studiu, probele din centrul și nord-estul Mexicului au avut cele mai mari concentrații de pesticide, în timp ce cele din sud-estul Mexicului au avut cele mai scăzute niveluri.

Albinele sunt expuse la imidaclopid și clorpirifos în Mexicul Central, iar la tiabendazol, fenilfenol, malation și clorpirifos în nord-estul Mexicului (Valdovinos-Flores et al., 2017).

Cercetătorii au examinat 155 de probe de miere care au fost produse în Kosovo și miere importată, utilizând tehnica ELISA pentru a verifica prezența antibioticului streptomycină.

În 155 de probe, streptomycină a fost găsită în 29% dintre probe, în cantități cuprinse între 2,1 și 9,3 ug/kg, în timp ce aceasta era absentă din 71% dintre probe (Rama et al., 2022).

Cercetătorii din Franța nu au descoperit nicio corelație între prezența reziduurilor de pesticide și variațiile numărului de adulți sau de puiet sau mortalitatea coloniilor (Chauzat et al., 2009).

Probele de miere din Slovenia au arătat că într-unul dintre aceste eșantioane a fost găsit un reziduu de pesticid provenit din mediul înconjurător (insecticidul tiacloprid), în timp ce aproximativ jumătate dintre eșantioane conțineau reziduuri de medicamente de uz veterinar precum amitraz, cumafos și/sau timol (Česnik et al., 2019).

În România, este prezent hexaconazolul, precum și tiabendazolul în grupa alcătuită din miere de rapiță de la Sibiu, floarea-soarelui și tei de la Galați.

Niciuna dintre aceste substanțe chimice nu a fost detectată în trei probe de miere (miere de mentă din Iași, miere de hrișcă din Sibiu și miere polifloră din Vâlcea).

Deoarece amitrazul este instabil în starea acidă naturală a mierii, acesta nu a fost detectat în niciuna dintre probele examinate.

Resturi de carbendazim, care a fost aplicat pe floarea-soarelui în timpul creșterii, au fost detectate atât în probele de miere din Iași, cât și în cele din Galați, la o concentrație de aproximativ 5 lg/kg.

Probele de miere de albine, de primăvară și de polifloră au inclus reziduuri de fungicide (propiconazol, penconazol și metalaxil) pulverizate pe pomii fructiferi în primăvară.

S-a descoperit că imazalilul, propiconazolul și tebuconazolul erau prezenți în mierea de rapiță.

Tebuconazolul și imazalilul au fost cei mai răspândiți doi poluanți găsiți în eșantionul de miere de rapiță prelevat din județul Iași.

Mierea de primăvară care a fost obținută din județul Iași a inclus șase substanțe chimice care au fost identificate: imazalil, flusilazol, tebuconazol, ciproconazol și hexaconazol (Blaga et al., 2020).

Tabelul 4: Limitele maxime de reziduuri în Europa (Regulamentul (CE) NR. 1881/2006,
(<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>)

Reziduuri de pesticide	Nivelul maxim de reziduuri (mg/kg)
1,1-Dicloro-2,2-bis(4-etilfenil)etan, 1,2-dibromoetan (dibromură de etilenă), 1,2-dicloroetan (diclorură de etilenă)	0,05
Metilesterul acidului 2,5-diclorobenzoic, 2-amino-4-metoxi-6-(trifluorometil)-1,3,5-triazină (AMTT), Aldrin și Dieldrin, Clordan, Clorfenvinfos, Clorpirifos, Hexaclorobenzen, Monuron, Diazinon, Endrin, Lindan, compuși ai mercurului.	0,01
Amitraz, Tiacloprid	0,2
Antrachinona	0,02
Acrinatin, Atrazină, Azoxistrobin, Benalaxil, Bensulfuron-metil, Benthiavalicarb, Bifenazat, Bifenox, Bifentrin, Bifenil, Bromofos-etil, Bromopropilat, Bromuconazol, Butralin	0,05
Boscalid	0,15
Camphechlor (Toxaphene), Captan, Carbaryl, Carbofuran, Chlorotoluron, Chloroxuron, Chlorsulfuron, Clothianidin, Cyfluthrin, Cymoxanil, Cypermethrin, Cyproconazol	0,05
Cumafos, Metribuzin	0,1
DDT, Deltametrin, Difenoconazol, Diflubenzuron, Dimoxistrobin, Diniconazol, Dioxation, Difenilamină, Ditiocarbamați	0,05
Epoxiconazol, Ethoxysulfuron, Etoazol, Etridiazol	0,05
Fenbuconazol, Fenoxicarb, Fenpyrazamină, Fenvalerat, Flucitrat, Flufenoxuron, Flufenacet, Flumetralin, Fluquinconazol, Fluvalinat, Foramsulfuron, Hexythiazox	0,05
Fiponil	0,005
Imazalil, Imazapic, Imazapyr, Imidacloprid, Indoxacarb, Ipconazol	0,05
Linuron, Lufenuron, Malathion, Mandestrobin, Metaldehidă, Metconazol, Metiocarb, Milbemectin, Novaluron, Oxadiazon, Fenotrin, Pirimicarb, Profenofos, Propanil, Propiconazol, Propoxur, Pimetrozină, Pirazofos, Resmetrin, Sulfosulfuron.	0,05
Tebuconazol, teflutrin, teflutrin, terbutilazină, tiabendazol, tiametoxam, tiobencarb, triazoxid, valifenalat, vinclozolin	0,05

Prin comparație, nivelurile maxime de reziduuri diferă considerabil în țările non-europene față de cele din Europa. De exemplu, în Australia Boscalidul are LMR de 0,5 mg/kg, pentru Captan 0,1 mg/kg, carbaril 0,02 mg/kg, cipermetrin și ciproconazol 0,01 mg/kg, fenbuconazol 0,02 mg/kg, fenoxicarb 0,1 mg/kg, fenvalerat 0,01 mg/kg, fluquinconazol și fluvinat 0,02 mg/kg (Australia New Zealand Food Standards Code).

Concluzii

Controlul reziduurilor de pesticide, insecticide, antibiotice și alți compuși din produsele apicole este esențial pentru a ne asigura ca produsele date spre consum nu sunt contaminate și își păstrează calitățile.

Cea mai utilizată metodă de detecție în studiile investigate a fost reprezentată LC-MS/MS și GC-MS.

Din cauza criteriilor agențiilor de reglementare, care stabilesc limitări și mai mici, UHPLC și spectrometria de masă în tandem sunt considerate frecvent cele mai bune metode.

Aceste criterii sunt îndeplinite de acești detectori datorită sensibilității și selectivității lor excelente, precum și datorită identificării precise a analiților la limite de detecție foarte scăzute.

Metodele de detecție descrise pot fi utilizate, de asemenea, pentru detectarea elementelor minerale și a metalelor grele, împreună cu multitudinea de reziduuri de pesticide, acaricide, antibiotice (cloramfenicol, β -lactame: Peniciline și Cefalosporine, Sulfonamide, Tetracicline) și alte reziduuri de medicamente.

În general, rezultatele studiilor au arătat că nivelul pesticidelor, inclusiv al erbicidelor și insecticidelor, nivelul acaricidelor și al antibioticelor nu au depășit limitele admise.

Variatatea rezultatelor obținute este influențată de condițiile de mediu, adică de utilizarea pesticidelor în agricultură, de utilizarea antibioticelor fie preventiv, fie terapeutic sau de utilizarea diferitelor tratamente în interiorul stupului.

Extinderea analizei gamei de reziduuri în studiile științifice ar echilibra situația actuală de contaminare și protecția acordată de normele legislative actuale.

Bibliografie:

1. **Abdallah O, Hanafi A, Abdel Ghani S** (2017). Pesticides contamination in Egyptian honey samples. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12: 317–327.
2. **Ağaoğlu S, Alemdar S, Ercan N** (2020). Antibiotic Residues in Filtered Honeys. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(11): 2408–2415.
3. **Al-Alam J, Fajloun Z, Chbani A, Millet M** (2017). A multiresidue method for the analysis of 90 pesticides, 16 PAHs, and 22 PCBs in honey using QuEChERS-SPME. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(21): 5157-5169.
4. **Albero B, Miguel E, García-Valcárcel A** (2023). Acaricide residues in beeswax. Implications in honey, brood and honeybee. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(4): 454.
5. **Almeida M, Oloris S, Faria V, Ribeiro M, Cantini D, Soto-Blanco B** (2020). Optimization of Method for Pesticide Detection in Honey by Using Liquid and Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometric Detection. *Foods*, 9(10): 1368.
6. Australia New Zealand Food Standards Code (Food Standards Australia New Zealand Act 1991) (<https://www.legislation.gov.au/Details/F2023C00814>)
7. **Baša Česnik H, Kmecl V, Velikonja Bolta Š** (2019). Pesticide and veterinary drug residues in honey - validation of methods and a survey of organic and conventional honeys from Slovenia. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(9): 1358-1375.
8. **Blaga G, Chițescu C, Lisă E, Dumitru C, Vizireanu C, Borda D** (2020). Antifungal residues analysis in various Romanian

- honey samples analysis by high resolution mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(5): 484-494.
9. **Buzia O, Ploscutanu G, Elisei A** (2019). Tetracyclines Residues in Honey. *Revista de Chimie -Bucharest- Original Edition-*, 70(5): 1544-1550.
 10. **Chauzat MP, Carpentier P, Martel A, Bougeard S, Cougoule N, Porta P, Lachaize J, Madec F, Aubert M, Faucon JP** (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology*, 38(3): 514-523.
 11. **Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006** setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>
 12. **Darko G, Addai Tabi J, Adjaloo M, Borquaye L** (2017). Pesticide Residues in Honey from the Major Honey Producing Forest Belts in Ghana. *Journal of Environmental and Public Health*, 2017: 7957431.
 13. **Díaz M, O'Connell D, Jordan S, O'Connor C, Martin P, Jones J, Garvey J** (2023). Analysis of Pesticide Levels in Honey and Pollen from Irish Honey Bee Colonies Using a Modified Dutch Mini-Luke Method with Gas and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(34): 12657–12667.
 14. **Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey.** <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:010:0047:0052:EN:PDF>
 15. **EU Pesticides Database (v3.1).** <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>
 16. **Gaweł M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyniak A** (2019). Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 282: 36-47.
 17. **Georgescu M** (2019). Animal Derived Food, Laboratory Analysis. CD Press, Bucharest.
 18. **Karazafiris E, Tananaki C, Thrasyvoulou A, Menkissoglu-Spirodi U** (2011). Pesticide Residues in Bee Products. *InTech, Pesticides in the Modern World*: 89-126, doi: 10.5772/19409.
 19. **Kasiotis K, Zafeiraki E, Manea-Karga E, Anastasiadou P, Machera K** (2023). Pesticide Residues and Metabolites in Greek Honey and Pollen: Bees and Human Health Risk Assessment. *Foods*, 12(4): 706.
 20. **Kędzierska-Matysek M, Teter A, Skąlecki P, Topyła B, Domaradzki P, Poleszak E, Florek M** (2022). Residues of Pesticides and Heavy Metals in Polish Varietal Honey. *Foods*, 11(15): 2362.
 21. **Kumar A, Gill JP, Bedi JS, Chhuneja PK, Kumar A** (2019). Determination of antibiotic residues in Indian honeys and assessment of potential risks to consumers. *Journal of Apicultural Research*, 59(1): 25-34.
 22. **Lei H, Guo J, Lv Z, Zhu X, Xue X, Wu L, Cao W** (2018). Simultaneous Determination of Nitroimidazoles and Quinolones in Honey by Modified QuEChERS and LC-MS/MS Analysis. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018: 4271385.
 23. **Ligor M, Bukowska M, Ratiu I, Gadzała-Kopciuch R, Buszewski B** (2020). Determination of Neonicotinoids in Honey Samples Originated from Poland and Other World Countries. *Molecules*, 25(24): 5817.
 24. **Lucas K, Fweja L, Mihale M** (2022). Determining Pesticide Residues in Bee produce and their Potential Risk to Consumers in Tanzania. *International Journal of Agriculture*, 7(1): 26-42.
 25. **McAfee A, Milone J, Metz B, McDermott E, Foster L, Tarpay D** (2021). Honey bee queen health is unaffected by contact

- exposure to pesticides commonly found in beeswax. *Scientific Reports*, 11(1): 15151.
26. **Mehdi Y, Mutlaq A, Al-Balas Q, Azzi E, Bouadjela L, Taïbi N, Dakiche H, Touati L, Boudriche L, Bachari K** (2018). Physicochemical characterization and determination of chloramphenicol residues and heavy metals in Algerian honeys. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 33322–33333.
 27. **Migdał P, Roman A, Popiela-Pleban E, Kowalska-Górska M, Opaliński S** (2018). The Impact of Selected Pesticides on Honey Bees. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(2): 787-792.
 28. **Pohorecka K, Kiljanek T, Antczak M, Skubida P, Semkiw P, Posyniak A** (2018). Amitraz Marker Residues in Honey from Honeybee Colonies Treated with Apiwarol. *Journal of Veterinary Research*, 62(3): 297-301.
 29. **Ponce-Vejar G, Ramos de Robles S, Macias-Macias J, Petukhova T, Guzman-Novoa E** (2022). Detection and Concentration of Neonicotinoids and Other Pesticides in Honey from Honey Bee Colonies Located in Regions That Differ in Agricultural Practices: Implications for Human and Bee Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13): 8199.
 30. **Portakal P, Yarsan E** (2023). Investigation of the activity of different pharmaceutical formulations including coumaphos against *Varroa jacobsoni* in naturally infested honey- bee colonies and analysis of the residue in honey. *Advances in Food Sciences*, 35(4): 177-180.
 31. **Rachid B, Jaber A, Cheble E** (2022). Multiresidue chromatographic method for the determination of antibiotic residues in honey by high-performance liquid chromatography with DAD detection. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(Suppl 1): 157-161.
 32. **Rama A, Haziri I, Miftari I, Zuka A, Zhuri B, Latifi A, Hasani D, Latifi F** (2022). Determination of streptomycin residues in imported and locally produced honey in Kosovo. *International Journal of Food Contamination*, 9(10), <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00096-3>
 33. **Sadowska M, Gogolewska H, Pawelec N, Sentkowska A, Krasnodębska-Ostręga B** (2019). Comparison of the contents of selected elements and pesticides in honey bees with regard to their habitat. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 371–380.
 34. **Sanchez-Bayo F, Goka K** (2016). Impacts of Pesticides on Honey Bees. *InTech*: 77-97.
 35. **Scripcă L, Norocel L, Amariei S** (2019). Comparison of Physicochemical, Microbiological Properties and Bioactive Compounds Content of Grassland Honey and other Floral Origin Honeys. *Molecules*, 24(16): 2932.
 36. **Souza Tette PA, Rocha GL, de Abreu Gloria MB, Fernandes C** (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149(2016): 124-141.
 37. **Valdovinos-Flores C, Alcantar V, Gaspar O, Saldaña-Loza L, Dorantes-Ugalde J** (2017). Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico. *Journal of Apicultural Research*, 56(5): 667-679.
 38. **Wang F, Wang Y, Li Y, Zhang S, Shi P, Li-Byarlay H, Luo S** (2022). Pesticide residues in beebread and honey in Apis cerana cerana and their hazards to honey bees and human. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 238: 113574.



PRODUSE INJECTABILE



ANTIINFECTIOASE

Amoxicilină FP 20%
C.T.P. 12
Enrofloxacină FP 10%
Enrofloxacină FP 5%
Gentamicină FP 10%
Kanamycină FP 25%
Lincomycină spectinomycină 5/10
Oxitetracilină FP 10%
Oxitetracilină FP 20% Retard
Penstrep
Tilozină FP
Tiamulin FP 10%

VITAMINE

REHIDRATANTE
Borogluconat de calciu 38%
Sel-E-Vit
Vitamina AD3E
Vitamina B1+B6
Vitamina C FP 10%
Vitamina K3

ANTIPARAZITARE

Evomec
Evomec Plus
Prazicest

ANTIINFLAMATOARE

Dexametazonă

PRODUSE HORMONALE

Oxitocină FP
Progesteron FP
Proliz

ANESTEZICE

Velased



www.pasteur.ro

Ingrediente bioactive organice de uz medicinal cu proprietăți antibacteriene, antiinflamatoare și antioxidante

Organic bioactive medicinal ingredients with antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant properties

Cristina Dumitrache^{1),2)}, Maria Crivineanu¹⁾, Mihaela Eremia²⁾, Diana-Mihaela Alexandru^{1),*}

¹⁾ University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Faculty of Veterinary Medicine, Bucharest, Romania

²⁾ National Institute for Chemical Pharmaceutical Research and Development, Bucharest, Romania

* albu.dm@gmail.com

Cuvinte cheie: *Boswellia*, cosmeceutice, antibacteriene, antiinflamatoare, antioxidante

Key words: *Boswellia*, cosmetics, antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant

Rezumat

Formularea produselor cosmeceutice care conțin produse vegetale și animale este preocuparea actuală a multor cercetători din domeniul farmaceutic și face obiectul multor studii de specialitate. Ingredientele active naturale din categoriile oleorășini și surse vegetale se folosesc frecvent în sfera cosmeceuticii datorită proprietăților sale medicale, printre care cele mai importante fiind acțiunea antibacteriană, antifungică, antiinflamatoare și antioxidantă. În cadrul acestui micro-review au fost prezentate ingredientele bioactive obținute din rășini ale speciei *Boswellia*, caracteristicile lor generale și mecanismele de acțiune prin care compușii analizați pot produce un efect benefic. Datorită eficacității demonstrate, numeroase produse cosmeceutice au în compoziție compuși obținuți din rășinile speciilor de *Boswellia*.

Abstract

The formulation of cosmeceutical products containing plant and animal compounds is the current concern of many researchers in the pharmaceutical field and it is the subject of many specialized studies. Natural active ingredients from the oleoresins and vegetable sources are frequently used in the field of cosmeceuticals due to their medical properties, among which the most important are the antibacterial, antifungal, anti-inflammatory and antioxidant action. In this minireview, we present the bioactive ingredients obtained from the resins of the *Boswellia* species, their general characteristics and the mechanisms of action by which the analyzed compounds can produce a beneficial effect. Due to the demonstrated effectiveness, numerous cosmeceutical products contain compounds obtained from the resins of *Boswellia* species.

Introducere

În plante, pe lângă substanțe principale cu rol activ (enzime, pigmenți, vitamine, hormoni) există numeroase substanțe secundare, grupate în diferite clase pe baza proprietăților lor comune.

Printre acestea, se numără și rășinile (Burnea și colab., 1977), care sunt produse de excreție ale plantelor. Ele apar frecvent în țesutul lemnos al unor plante (conifere, arbori tropicali etc) și în scoarța rănită. Recent, în preparatele cosmetice / cosmeceutice sunt

utilizate extractele din diferitele specii de *Boswellia*, familia *Burseraceae*, folosite în medicina tradițională în întreaga lume pentru tratamentul mai multor boli (Farah și colab., 2017; Padhi și Mahapatra, 2013).

Există aproximativ 25 de specii cunoscute aparținând genului *Boswellia*, cele mai multe dintre acestea apărând în Arabia, coasta de nord-est a Africii și a Indiei.

Unele dintre speciile importante din acest gen sunt: *Boswellia serrata*, *B. sacra*, *B. carterii*, *B. neglecta*, *B. papyrifera*, *B. dalzielii* (Woolley și colab., 2012; De Rapper și colab.,

2012; Blain și colab., 2010; Devi și colab., 2012).

Rășina, de culoare alb lăptoasă și/sau maro-portocalie, poartă denumirea de "tămâie

indiană" și se obține prin incizia scoarței arbustului *Boswellia* (Figura 1).

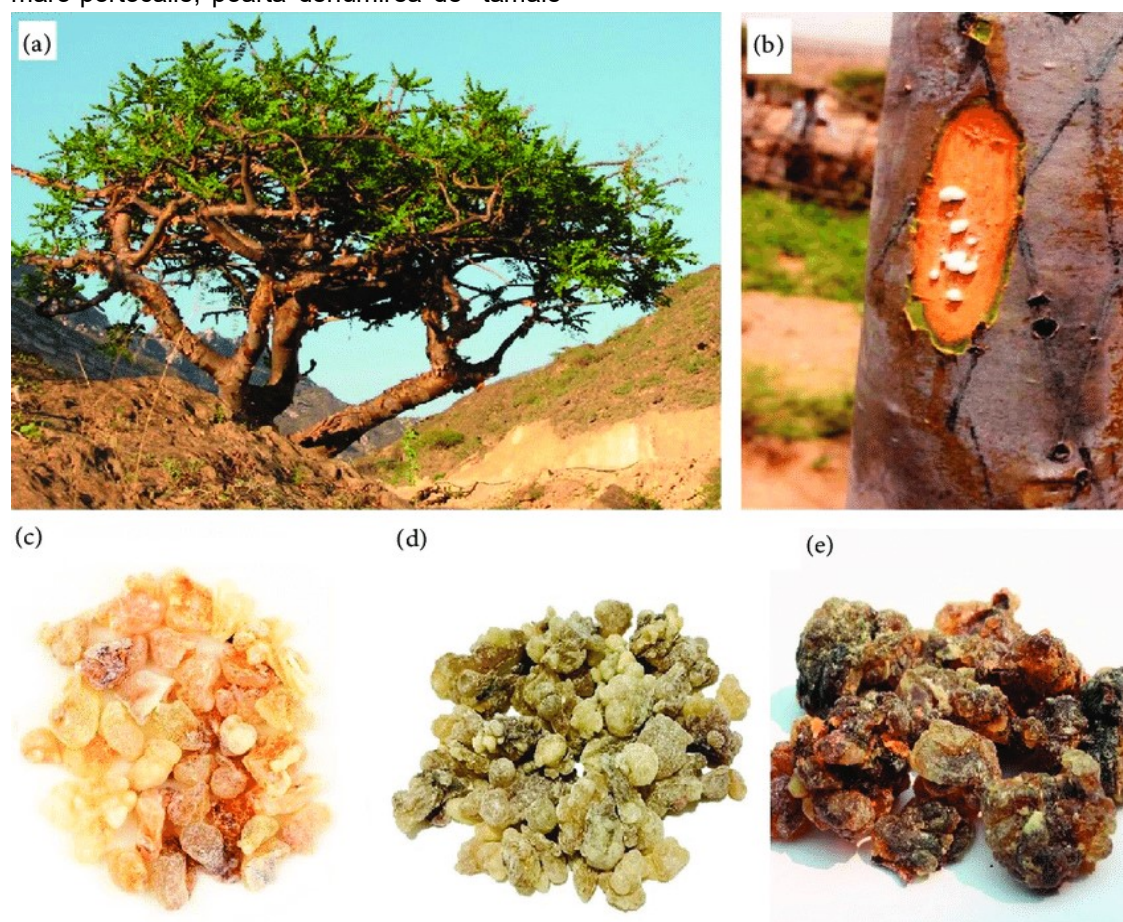


Figura 1. (a) Copacul *Boswellia sacra* (b) taierea unei mici bucati din trunchiul de *B. sacra* si formarea de tamaie de cea mai buna calitate (c) tamaie de cea mai buna calitate; (d) tamaie de calitate buna; si (e) tamaine de o calitate inferioara (Rashan și colab., 2021)

Tămâia utilizată în tratamente medicale (de exemplu în medicina Ayurveda) este recoltată doar de la patru varietăți ale speciei *Boswellia* (*Boswellia serrata*, *B. papyrifera*, *B. carterii* și *B. sacra*). Seva secretată de arborii tineri este cea mai bună, iar un asemenea arbust poate produce aproximativ 2-3 kg de tămâie pe an.

Rășinile *Boswellia* sunt un amestec de ulei esențial, gumă și rășină.

Ele conțin 5-10% uleiuri esențiale, rășină solubilă în alcool 65-85%, restul de 21% este gumă solubilă în apă, constituită din polizaharide (~ 65% arabinoză, galactoză, xiloză) și substanțe polimerice (Bhuchar și colab., 1982; Gangwal și colab., 1995).

Acizii boswellici

Aceștia se găsesc în rășina diferitelor varietăți de arbuști din genul *Boswellia* (*Boswellia serrata*, *B. carterii*), originari din Orientul Mijlociu și Africa.

Se estimează că aceștia sunt constituenții principali ai rășinii arbustului *Boswellia* reprezentând aproximativ 30% din compoziția acesteia. Din punct de vedere chimic, fac parte din clasa triterpenelor pentaciclice (Farah și colab., 2017).

Partea rășinoasă a acestora posedă monoterpene, diterpene, triterpene, acizi triterpenici tetraciclici și patru acizi triterpenici pentaciclici principali, adică acidul β -boswellic, acidul acetil- β -boswellic, acidul 11-keto- β -

boswellic și acidul acetyl-11-keto- β -boswellic, responsabil pentru inhibarea enzimelor pro-inflamatorii.

Uleiurile esențiale din *Boswellia carterii* fac parte din categoria de uleiuri de olibanum intens studiate, iar acetatul de octil este constituentul major al răsinii în procent de 60%.

În hidrodistilatul de *B. carterii* au fost identificați componenții săi principali: α -thujen (1,7%), α -pinen (10,9%), camfen (1,0%), sabinen (0,7%), β -pinen (0,3%), mycen (0,5%), hexilacetat (0,3%), p-cymen (1,4%), Z-p-ocimen (0,4%), E-beta-ocimen (1,7%), limonen (1,5%), 1,8-cineol (1,2%), 1-octanol (11,9%), linalool (2,1%), α -piren epoxid (0,5%), trans verbenol (0,4%), terpinen-4-ol (0,4%), acetat de octil (39,3%), geranil acetat (0,4%), E-nerolidol (0,2%), cembren A (2,1%), cembren C (0,1%), verticilla-4(20),7,11-trien (6,0%) incensol (1,0%) și incensol acetat (2,3%) (Al-Yasiry și Kiczorowska, 2016).

Fracțiunea de gumă a răsinilor *Boswellia* conține polizaharide, și anume zaharuri de pentoză și hexoză, precum și unele enzime oxidante și digestive. În gumele rășinoase ce provin din "*indian frankincense*" au fost identificate patru tipuri diferite de proteoglicani și glicoproteine.

Componentele principale (32-56%) sunt solubile în apă, substanțele polimerice din rășina ce provine de la *Boswellia carterii* și *Boswellia serrata* sunt reprezentate de proteine arabinogalactan.

Acești proteoglicani conțin în principal unități de D-galactoza în lanțurile principale ale catenei care sunt puternic ramificate în pozițiile 3 și 6.

În lanțul lateral al catenei există acid uronic, acid glucuronic și o grupare terminală de arabinoză. Grupul de polimeri conține concentrații ridicate de fructoză, manoză și glucozamină indicând apariția glicoproteinelor.

Partea de carbohidrați din proteoglicanii neutri din primul grup este constituită din L-arabinoză și D-galactoză.

Partea proteică este formată din aminoacizi ca: hidroxiprolina și serină indicând că acești proteoglicani sunt "extensii" ale structurii.

Principala diferență între guma rășinoasă obținută din *Boswellia carterii* și cea provenită din *Boswellia serrata* o reprezintă conținutul ridicat de proteine (22%) din guma din *Boswellia serrata* față de cea din *Boswellia carterii*.

Substanțele din categoria gumelor rășinoase au multiple utilizări. Artrita reumatoidă este o boală care afectează 2-3% din populație. Medicina convențională include tratamente cu medicamente antiinflamatoare steroidiene sau non steroidiene.

Fan și colab. au raportat faptul că extractul acetonc din gumele rășinoase din *Boswellia carterii* reduc durerile artritice a labelor șoarecilor pe care s-a efectuat experimentul (Fan și colab., 2005).

Kimmatkara împreună cu echipa să menționează faptul că în studii asemănătoare efectuate pe un grup de 30 de pacienți cu osteoartrită la genunchi care au primit tratament cu extracte boswellice au constatat o scădere a durerii la genunchi, o mărire a flexibilității acestora facilitând parcurgerea pe jos a unor distanțe mari (Kimmatkar și colab., 2003).

Extractul din gumele rășinoase din *Boswellia* poate deveni astfel, un remediu terapeutic pentru pacienții cu osteoartrite sau alte tipuri de artrite.

S-a demonstrat că, pe lângă efectele antiinflamatoare, extractele din gumele rășinoase *Boswellia* prezintă efect asupra sistemului imunitar prin inhibarea activității NFKB responsabilă de producția granulocitelor neutrofile.

Referințele din literatura de specialitate indică faptul că gumele rășinoase *Boswellia* au și efect antifungic (Camarda și colab., 2007).

Mothana a raportat faptul că gumele rășinoase și uleiurile esențiale din *Boswellia carterii*, *Boswellia papyrifera*, *Boswellia serrata* și *Boswellia rivae* prezintă o înaltă activitate biologică împotriva tulpinilor de fungi (Mothana, 2011).

Cercetătorii încearcă, în prezent, să realizeze medicamente bazate pe extracte din aceasta rășină, care să se utilizeze în tratamentul mai multor boli inflamatorii cronice

inclusiv colită ulcerativă cronică, artrită reumatoidă, boala Crohn și astm bronșic.

De asemenea, se fac studii pentru a cerceta efectele lor antidepresive și efectele benefice la pacienții cu tumori cerebrale (Al-Yasiry și Kiczorowska, 2016, Farah și colab., 2017).

Produsele cosmetice și de îngrijire a pielii fac parte din îngrijirea de zi cu zi. Protecția și conservarea pielii este esențială pentru sănătatea bună.

Pielea, cel mai mare organ din corp, separă și protejează mediul intern de cel extern. Elementele de mediu, poluarea aerului, expunerea la radiația solară, precum și procesul de îmbătrânire normală cauzează deteriorarea cumulată a pielii ADN, collagen și membranele celulare.

Cosmeceuticele fiind produse cosmetice care au beneficii medicamentoase sunt capabile să îmbunătățească funcționarea biologică a pielii datorită tipului de ingrediente funcționale pe care le conțin. Aceste produse îmbunătățesc funcționarea / textura pielii prin combaterea efectelor dăunătoare ale radicalilor liberi, menținând astfel structura keratinei în stare bună și făcând pielea mai sănătoasă.

Compușii de origine vegetală sunt de mare interes în industria cosmetică, datorită efectelor benefice ale acestora, ceea ce a condus la realizarea de biocosmetice aplicabile în cosmetica terapeutică. O mare varietate de compuși de origine vegetală se găsesc în diferite preparate cosmetice / cosmeceutice, cum ar fi: quercetolul, hesperina, diosmina, nangiferina, luteina, licopenul, acidul rosmarinic, acidul elagic, acidul clorogenic.

Printre efectele pe care le pot avea aceste ingrediente în preparatele cosmeceutice se enumeră efectele:

- **antiinflamatorii,**
- **antibacteriene**
- **antifungice și**
- **antioxidante.**

a. Activitatea antiinflamatoare

Citokinele pro-inflamatorii cum ar fi TNF α , IL-1 β și IL-6 joacă un rol important în răspunsul inflamator, prin modularea inflamației acute și cronice. Astfel, TNF- α și IL-1 β acționează

celulele inflamatorii și induc producția de alți mediatori inflamatori, care la rândul lor modulează evenimente celulare importante, incluzând expresia genelor, deteriorarea ADN și proliferarea celulară care contribuie la diferite tulburări inflamatorii.

Prin urmare, manipularea celulară a producției de TNF- α și IL-1 β este importantă pentru reglarea răspunsului inflamator.

Eicosanoidele sunt, de asemenea, mediatori potențiali ai inflamației lipidice. Un rol important îl joacă compușii lor: în special, leucotrienii, prostaglandinele și lipoxina. Acestea sunt derivate din acidul arahidonic eliberat de fosfolipază prin metabolizarea ulterioară de (COX)-1/2 sau LOX și sunt implicați într-o varietate de funcții biologice homeostatice și inflamații.

Odată cu eliberarea acidului arahidonic în celulă, au loc mai multe reacții enzimatică care implică diferite tipuri de enzime, cum ar fi 12-LOX, 5-LOX, 15-LOX și COX, fiecare reacție duce la producerea unui tip diferit de mediator de inflamație.

Partea rășinoasă a *Boswelliei serrata*, după cum am prezentat anterior, conține monoterpene, diterpene, triterpene, acizi triterpenici tetraciclici și patru acizi triterpenici pentaciclici principali, în special acidul β -boswellic, acidul acetil- β -boswellic, acidul 11-keto- β -boswellic și acidul keto- β -boswellic.

Dintre acești acizi, acidul acetil-11-keto-boswellic (AKBA) a fost determinat a fi cel mai puternic inhibitor al 5-lipoxigenazei (5-LOX), enzima cheie a biosintezei leucotrienelor din acidul arahidonic în cascada inflamatorie celulară.

S-a arătat că AKBA din *B. carterii* inhibă producția de mediatori inflamatori și reduce producția de leucotriene prin acțiunea inhibitoare asupra lipoxigenazei.

În acest context, Bishnoi împreună cu echipa sa au explicat că acidul boswellic, AKBA s-a dovedit a fi un inhibitor specific de tip ne-reducător al activității 5-LOX care acționează fie prin interacțiunea directă cu 5-LOX, fie prin blocarea translocării sale. Suprimarea sintezei leucotrienelor prin inhibarea 5-LOX este considerată mecanismul principal care stă la baza efectului

antiinflamator al acidului boswellic (Bishnoi și colab., 2005).

Testele clinice au confirmat faptul că activitățile antiinflamatorii ale metabolizilor rășinilor triterpenici sunt în mare parte atribuite inhibării 5-LOX, a nitricoxid sintază (iNOS), a ciclooxigenazei-2 (COX-2) și factorul nuclear- κ B (NF- κ B). COX-2 și 5-LOX, două enzime implicate în oxigenarea acidului arahidonic, sunt în reglaj în sistemul nervos central în timpul îmbătrânirii și sunt asociate cu diferite patologii cerebrale legate de îmbătrânire.

5-LOX este o enzimă care catalizează transformarea acidului arahidonic în LTA₄, care la rândul său este transformată în leucotrienă B₄ (LTB₄) sau leucotrienă C₄ (LTC₄).

Investigațiile mai detaliate au arătat că acizii boswellici, ca noi inhibitori non-redox, se leagă la un sit selectiv pentru triterpenii pentaciclici pe 5-LOX. AKBA a fost cel mai eficient dintre acizii boswellici testați, cu valori ale IC₅₀ de 1,5-50 μ M, în funcție de setările experimentale (tip de celule, stimul, celule animale sau umane).

Au fost necesare concentrații mai mari de AKBA pentru a inhiba 5-LOX izolate decât 5-LOX în celule intacte.

Acest lucru indică faptul că inhibarea eficientă în celulele intacte poate fi dependentă de mecanismele celulare suplimentare.

Atunci când este utilizat în concentrații mai scăzute, un extract de *B. serrata* a crescut activitatea 5-LOX. AKBA a fost identificat că un inhibitor direct al ciclooxigenazei-1 (COX-1), în timp ce COX-2 a fost inhibat doar ușor de acizii boswellic.

Acizii boswellici sunt responsabili de inhibarea 5-lipoxigenazei într-o manieră non-redox și necompetitivă, conducând la inhibarea biosintezei leucotrienelor în granulocitele neutrofile. Mai mult, ei pot inhiba elastaza în leucocite, pot induce apoptoza și pot suprima topoizomerasele liniilor celulare leucom și gliom.

În ciuda utilizării bine cunoscute în medicina tradițională și a efectelor sale antiinflamatorii, nu s-au făcut încercări de a profita în continuare de întregul potențial al speciilor *Boswellia*, în special de *Boswellia*

carterii, care este mult mai puțin studiat (Mostafa și colab., 2015).

Din cunostințele noastre, nici un studiu nu a implicat încorporarea fracțiunii biologice active a *B. carterii* într-o formulare adecvată care să-i îmbunătățească biodisponibilitatea orală, sporind astfel efectul său antiinflamator.

b. Activitatea antibacteriană

Fracțiunile acide ale rășinilor *B. carterii* și *B. serrata* sunt caracterizate prin activitate antibacteriană ridicată. În uleiul *B. carterii* s-a descoperit o activitate antibacteriană asupra tulpinii *Bacillus*, principalele substanțe active fiind verticila-4 (20), 7,11-trien și stimsolul.

De asemenea, în *B. carterii*, activitatea antibacteriană a fost prezentă datorită acidului acetil-keto-boswellic (AKBA), α - și β -BA, precum și acidului 3-oxo-tirucalic.

În *B. serrata*, activitatea acestor compuși a fost considerată mai puternică (Al-Yasiry și Kiczorowska, 2016).

Proprietățile anti-bacteriene ale rășinilor pot fi atribuite prezenței acidului fenolic în acidul boswellic.

Compușii fenolici din acizi organici îmbunătățesc eficiența proteinei și a energiei prin reducerea competiției microbiene cu gazda pentru nutrienți și pierderea endogenă a azotului, prin scăderea incidenței infecțiilor subclinice și a secreției mediatorilor imuni și prin reducerea producției de amoniac.

O echipă de cercetători au determinat *in vitro* pe un panou clinic semnificativ de bacterii orale, activitățile antibacteriene ale acizilor boswellici din *B. serrata*.

Acidul acetil-keto-boswellic (AKBA) a fost cel mai activ din cei patru acizi boswellic testați împotriva tuturor agenților patogeni bacterieni. AKBA a prezentat un nivel MIC cuprins între 2 și 4 μ g/ml față de toate tulpinile testate, cu excepția *F. nucleatum*, prezentând o valoare MIC > 128 μ g/ml, în timp ce KBA și BA au prezentat o activitate moderată anti-Gram-pozitivă (MIC $\approx$ 8-64 μ g/ml).

Toți compușii au prezentat activitate antibacteriană, dar s-a constatat că AKBA este cel mai activ dintre acizii boswellici împotriva agenților patogeni gram-pozitivi bacterieni,

ceea ce poate conduce la utilizarea acestuia în produsele cosmeceutice antibacteriene.

c. Activitate antifungică

În literatura de specialitate sunt prezente studii privind efectul antifungic al răsinilor din specia *Boswellia*.

Astfel, Camarda și Mothana au arătat că uleiurile esențiale din răsinile de *B. carteri*, *B. papyrifera*, *B. serrata* și *B. rivae* prezintă o activitate ridicată împotriva tulpinilor fungice. Valorile minime ale concentrației inhibitorii au fost la fel de scăzute, 6,2 µg/ml.

Uleiurile esențiale din cele patru specii *Boswellia* au prezentat o activitate antifungică semnificativă și față de *Candida albicans* și *C. tropicalis*.

Cercetatorii au descoperit că o componentă limonenă prezentă în uleiurile esențiale din *Boswellia* este responsabilă pentru activitatea antifungică (Camarda și colab., 2007; Mothana, 2011)

Uleiul esențial din lui *B. carteri* a prezentat o inhibare semnificativă a creșterii și a producerii de afla-toxine de către o tulpină toxigenică de *Aspergillus flavus* alimentată în hrană în concentrații de 1,75 ml/ml, și respectiv 1,25 ml/ml. Acest ulei expus la un spectru larg fungitoxic împotriva a 12 mucegaiuri alimentare, a prezentat o activitate antioxidantă puternică, cu o valoare a IC50 și un procent de inhibare a acidului linoleic de 0,64 ml/ml, și respectiv 51,68%.

d. Activitatea antioxidantă

Literatura menționează proprietățile antioxidante ale răsinilor *Boswellia*.

Testele farmacocinetice ale răsinilor din genul *B. carterii*, *B. frereana*, *B. sacra* și *B. serrata* au arătat că sunt inhibitori moderați până la potențiali ai enzimelor CYP, cu potență egală pentru inhibarea enzimelor majore de metabolizare a medicamentului 1A / 2C8 / 2C9 / 2C19 / 2D6 și 3A4. P450 (CYP) este un grup mare și diversificat de enzime care catalizează oxidarea substanțelor organice.

Substraturile enzimelor CYP includ intermediari metabolici, cum ar fi lipidele și hormonii steroizi.

Pe de altă parte, Hartman și echipa sa au menționat alți antioxidanți; ei au raportat prezența limonenului (22,4%) și a unei proporții ridicate de esteri, de ex. duva-3,9,13-trien-1,5a-diol-1-acetat (21,4%), ca compuși predominanți în activitatea antioxidantă (Hartmann și colab., 2012).

Concluzii

Potrivit literaturii de specialitate, atât uleiurile volatile cât și terpenoidele ce intră în compoziția răsinilor speciilor *Boswellia*, au proprietăți medicale, inclusiv efecte antiinflamatorii, anticanceroase și antimicrobiene.

Acțiunea antiinflamatoare a răsinilor se datorează în special acizilor boswellici, care au un puternic efect inhibitor asupra 5-lipoxigenazei.

Acțiunea antibacteriană se datorează în special acidului fenolic prezent în rășinile *Boswellia*, dar și acidului acetyl- keto-boswellic care are un efect puternic asupra agenților patogeni gram-pozitivi.

Uleiurile esențiale obținute din speciile *Boswellia* au un efect antifungic puternic împotriva a 12 mucegaiuri alimentare dar și față de mai multe specii de *Candida*.

În urma acestor studii se poate crea oportunitatea utilizării răsinilor *Boswellia* în preparatele cosmetice / cosmeceutice cu activitate farmaceutică antiinflamatoare, antibacteriană și/sau antioxidantă.

Bibliografie

1. Ali Ridha Mustafa Al-Yasiry, Bożena K (2016). Frankincense – therapeutic properties, *Postepy Hig Med Dosw* (online), vol.70:380-391.
2. Bhuchar VM, Agarwal AK, Sharma SK (1982). Constituents of gum obtained from *Boswellia serrata* exudates. *Indian J Technol*, 20:38.
3. Bishnoi M, Patil CS, Kumar A, Kulkarni SK (2005). Protective effects of nimesulide (COX Inhibitor), AKBA (5LOX inhibitor), and their combination in aging-associated abnormalities in mice.

- Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 27: 465-470,
4. **Blain EJ, Ali AY, Duance VC** (2010). *Boswellia frereana* (frankincense) suppresses cytokine-induced matrix metalloproteinase expression and production of pro-inflammatory molecules in articular cartilage. *Phytother Res*, 24(6): 905-12.
 5. **Burnea I, Popescu I, Neamțu, Stancu E, Lazăr S** (1977). *Chimie si biochimie vegetală*, Ed. Didactică si Pedagogică.
 6. **Camarda L, Dayton T, Di Stefano V, Pitonzo R, Schillaci D** (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia* spp. (*Burseraceae*). *Ann. Chim.*, 97: 837-844.
 7. **De Rapper S, Van Vuuren SF, Kamatou GP, Viljoen AM, Dagne E** (2012). The additive and synergistic antimicrobial effects of select frankincense and myrrh oils-a combination from the pharaonic pharmacopoeia. *Lett Appl Microbiol.*, 54(4): 352-8.
 8. **Devi PR, Adilaxmamma K, Rao GS, Srilatha Ch, Raj MA** (2012). Safety evaluation of alcoholic extract of *Boswellia ovalifoliolata* stem bark in rats. *Toxicol Int.*, 19(2): 115-20.
 9. **Dina Mahmoud Mostafa, Nagwa Mohammed Ammar, Sameh Hosam Abd El-Alim, Ahmed Alaa Kassem, Rehab Ali Hussein, Gamal Awad si Sally Abdul-Wanees El-Awdan** (2015). *Boswellia carterii* Liquefied Systems with Promoted Anti-inflammatory Activity. *Current Drug Delivery*, Vol. 12, No. 4.
 10. **Fan AY, Lao L, Zhang RX, Zhou AN, Wang LB, Moudgil KD, Lee DY, Ma ZZ, Zhang WY, Berman BM** (2005). Effects of an acetone extract of *Boswellia carterii* Birdw. (*Burseraceae*) gum resin on adjuvant-induced arthritis in lewis rats. *J. Ethnopharmacol.*, 101: 104-109.
 11. **Farah I, Shah AK, Asif H** (2017). Phytochemistry and potential therapeutic actions of Boswellic acids: A mini-review, *Asian Pac J Trop Biomed.*, 7(6): 513–523.
 12. **Fleischmann R, Stern R, Iqbal I** (2004). Anakinra: an inhibitor of IL-1 for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 4: 1333-1344.
 13. **Gangwal ML, Vardhan DK** (1995). Carbohydrate contents of *Boswellia serrata*. *Asian J Chem*, 7:677.
 14. **Hartmann RM, Martins MI, Tieppo J, Fillmann HS, Marroni NP** (2012). Effect of *Boswellia serrata* on antioxidant status in an experimental model of colitis rats induced by acetic acid. *Dig. Dis. Sci.*, 57: 2038-2044.
 15. **Kimmatkar N, Thawani V, Hingorani L, Khiyani R** (2003). Efficacy and tolerability of *Boswellia serrata* extract in treatment of osteoarthritis of knee – a randomized double blind placebo controlled trial. *Phytomedicine*, 10: 3-7.
 16. **Mothana RA** (2011). Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of the endemic Soqatraen *Boswellia elongata* Balf. f. and *Jatropha unicostata* Balf. f. in different experimental models. *Food Chem. Toxicol.*, 49: 2594-2599.
 17. **Padhi M, Mahapatra S** (2013). *Boswellia serrata*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *IREBIC*, 4(2): 74-83.
 18. **Rashan L, White A, Haulet M, Favelin N, Das P, Cock IE** (2021). Chemical Composition, Antibacterial Activity, and Antibiotic Potentiation of *Boswellia sacra* Flueck. Oleoresin Extracts from the Dhofar Region of Oman. *Evid Based Complement Alternat Med*. May 24;2021: 9918935. doi: 10.1155/2021/9918935. PMID: 34122610; PMCID: PMC8169251.
 19. **Woolley CL, Suhail MM, Smith BL, Boren KE, Taylor LC, Schreuder MF, et al.**, (2012). Chemical differentiation of *Boswellia sacra* and *Boswellia carterii* essential oils by gas chromatography and chiral gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.*, 1261: 158-63.



PRODUSE ANTIPARAZITARE

- Amprolium FP 10%
- Cocostop S
- Cyper-Vet 10%
- Diazinol
- Evomec
- Evomec Plus
- Fasciozone
- Helmizol A 10
- Helmizol A 2,5
- Levasol
- Prazicest
- Pyratel CD
- Vermizol A 100
- Singal F

www.pasteur.ro

Impactul Probioticelelor asupra Sistemului Imunitar: O Perspectivă Holistică

The Impact of Probiotics on the Immune System: A Holistic Perspective

Folescu Mihai, Orășan A. Sergiu, Cocoș I. Daiana, Dumitrescu Eugenia, Florin Muselin,
Alexandru O. Doma, Cristina T. Romeo
FMV Timișoara

mikefolescu@gmail.com

Cuvinte cheie: probiotice, răspunsul imunitar, igiena, antibiorezistență, axa creier-intestin, imunitatea înnașcută.

Key words: probiotics, immune response, hygiene, antibiotic resistance, gut-brain axis, innate immunity.

Rezumat

Sistemul imunitar uman reprezintă o rețea complexă de celule, țesuturi și organe care colaborează pentru a apăra organismul împotriva invadatorilor nocivi. În ultimii ani, s-a manifestat un interes tot mai mare în ceea ce privește rolul probioticelor în reglarea răspunsurilor imunitare. Probioticele sunt definite ca microorganisme vii care aduc beneficii sănătății gazdei atunci când sunt administrate în cantități adecvate, astfel au atras atenția pentru potențialul lor de a influența pozitiv funcționarea sistemului imunitar. Tractul gastro-intestinal este gazda a trilioane de microorganisme, cunoscute sub numele de microbiomul intestinal, care joacă un rol fundamental în modelarea sistemului imunitar. Probioticele, în principal bacterii precum speciile *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*, sunt componente integrale ale acestei comunități microbiene. Interacțiunea dintre probiotice și sistemul imunitar are loc prin intermediul axului gastrointestinal-imunitar, un sistem de comunicare bidirecțional între tractul digestiv și sistemul imunitar.

Abstract

The human immune system is a complex network of cells, tissues and organs that work together to defend the body against harmful invaders. In recent years, there has been increasing interest in the role of probiotics in regulating immune responses. Probiotics are defined as live microorganisms that benefit the health of the host when administered in adequate amounts thus they have attracted attention for their potential to positively influence the functioning of the immune system. The gastrointestinal tract is home to trillions of microorganisms, known as the gut microbiome, which play a fundamental role in shaping the immune system. Probiotics, mainly bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species, are integral components of this microbial community. The interaction between probiotics and the immune system occurs through the gastrointestinal-immune axis, a two-way communication system between the digestive tract and the immune system.

Introducere - Echilibrarea răspunsurilor imune adaptive.

Probioticele au un rol în echilibrarea răspunsurilor imune adaptive, care implică activarea limfocitelor T și B. Studiile au arătat că anumite tulpini de probiotice pot promova dezvoltarea celulelor T reglatoare (Tregs), care ajută la menținerea toleranței imune și previn răspunsurile inflamatorii excesive.

În plus, probioticele influențează producția de imunoglobuline, sporind capacitatea organismului de a iniția un răspuns imunitar eficient împotriva unor patogeni specifici. Inflamația cronică este implicată în diverse condiții de sănătate, inclusiv boli autoimune și afecțiuni metabolice. Probioticele manifestă proprietăți antiinflamatorii prin modularea producției de citokine și promovarea eliberării

de molecule antiinflamatorii. Acest efect antiinflamator contribuie la echilibrul general al sistemului imunitar și poate avea consecințe în prevenirea sau gestionarea afecțiunilor inflamatorii [1,2,5,6].

Aplicațiile terapeutice potențiale ale probioticelor în întărirea răspunsurilor imune se extind la diverse afecțiuni de sănătate, inclusiv boli infecțioase, afecțiuni alergice și boli inflamatorii intestinale. Cu toate acestea, este crucial să recunoaștem natura specifică a efectelor probioticelor la nivel de tulpină, deoarece diferite tulpini pot exercita influențe distincte asupra sistemului imunitar.

Pe măsură ce cercetarea în acest domeniu avansează, abordările personalizate pentru intervențiile cu probiotice pot deveni mai prevalente, adaptând regimurile de probiotice la profilurile imune individuale.

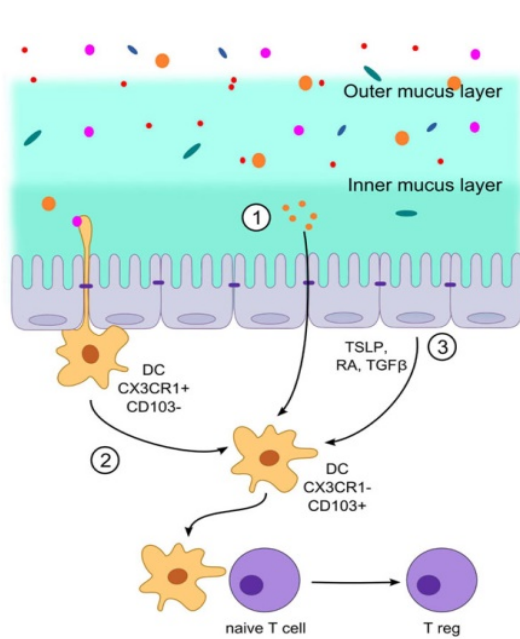


Figura 1. Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli

Sursa: https://www.researchgate.net/figure/Potential-immunomodulatory-mechanisms-of-probiotic-lactobacilli-1-It-is-not-yet-clear_fig4_221699437 [40]

1. Rolul vital al probioticelor într-o lume excesiv de igienică

Într-o epocă dominată de o căutare necruțătoare a curățeniei și a igienei, rolul vital al probioticelor a apărut ca o contrabalansare la capcanele unei lumi excesiv de igienizate.

În timp ce curățenia este esențială pentru prevenirea răspândirii agenților patogeni, un mediu excesiv de igienic poate duce la un dezechilibru în microbiom, comunitatea complexă de microorganisme care locuiește în corpul uman [2,3,4,8].

Obsesia contemporană pentru curățenie și igiena a transformat mediile noastre de viață în peisaje sterile, pline de produse antibacteriene, dezinfectanți și o teamă generală de amenințările microbiene. Cu toate acestea, această căutare necruțătoare a curățeniei a dat naștere din neatenție la o lume prea igienizată, în care echilibrul delicat al microbiomului uman este amenințat constant.

În acest context, încorporarea probioticelor apare ca un far de speranță, oferind un mijloc de a restabili și menține armonia microbiană într-o lume care uneori se îndreaptă spre curățenia excesivă.



Figura 2. Produse de curatat antibacteriene si antimicrobiale

Sursa: <https://www.thewbdelivery.com/discover-the-difference-between-antibacterial-and-antimicrobial/> [41]

2.1. Paradoxul igienei

Obsesia societății moderne pentru curățenie, alimentată de frica de boli infecțioase, a dat naștere unei situații paradoxale. În timp ce practicile stricte de igienă urmăresc să protejeze persoanele de agenții patogeni dăunători, ele îndepărtează din greșeală gama variată de microorganisme benefice care joacă un rol crucial în menținerea sănătății generale. Ipoteza de igienă sugerează că expunerea redusă la microbi la începutul vieții poate contribui la o susceptibilitate crescută la alergii și boli autoimune.



Figura 3. Săpun EM, (Effective Microorganisms), care este o tehnologie unică care combină microorganisme benefice naturale: bacterii lactice și drojii.

Sursa: <https://getillum.ca/collections/laundry/products/probiotic-soap> [42].

Probioticele, adesea denumite bacterii „bune” sau „prietenoase”, servesc ca aliați microbieni în lupta împotriva consecințelor curățeniei excesive.

Aceste microorganisme vii, precum diferite tulpini de *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*, pot fi introduse în organism pentru a restabili echilibrul perturbat de practicile riguroase de igienă. Prin colonizarea intestinului și a altor suprafețe mucoase, probioticele contribuie la un microbiom divers și rezistent [9,11,14,15].

2.2. Creșterea rezistenței imune

Unul dintre rolurile fundamentale ale probioticelor este capacitatea lor de a modula sistemul imunitar. Într-o lume prea igienă, în care sistemele imunitare ar putea lipsi de expunere la diverși stimuli microbieni, probioticele acționează ca antrenori ai sistemului imunitar.

Ele ajută la educarea celulelor imunitare, promovând un răspuns echilibrat și robust la potențialele amenințări. Această modulare imunitară poate fi deosebit de benefică în reducerea riscului de alergii, infecții și tulburări inflamatorii [20, 21].

În timp ce căutarea curățeniei este incontestabil importantă în prevenirea răspândirii bolilor infecțioase, consecințele nedorite ale unei lumi excesiv de igienizate devin din ce în ce mai evidente.

Expunerea la o gamă variată de microorganisme este crucială pentru dezvoltarea și menținerea unui sistem imunitar sănătos. Lipsa diversității microbiene poate contribui la o susceptibilitate crescută la alergii, tulburări autoimune și alte probleme de sănătate - un aspect subliniat de ipoteza de igienă [25].

Într-o lume prea igienizată, în care sistemele imunitare ar putea lipsi de expunere la o varietate de provocări, probioticele joacă un rol crucial în modularea răspunsurilor imune.

Aceste bacterii prietenoase stimulează sistemul imunitar, promovând un mecanism de apărare echilibrat și rezistent.

Proprietățile de stimulare a sistemului imunitar ale probioticelor devin deosebit de relevante în mediile în care căutarea constantă a sterilității poate compromite din neatenție capacitatea organismului de a genera răspunsuri imune eficiente [16,17,18].

2.3. Conexiunea intestin-creier

Cercetări recente au dezvăluit relația complicată dintre intestin și creier, cunoscută sub numele de axa intestin-creier.

Probioticele influențează nu numai sănătatea fizică, ci și bunăstarea psihică. Un mediu prea steril a fost asociat cu un risc crescut de probleme de sănătate mintală.

Probioticele, prin stimularea unui microbiom intestinal sănătos, pot contribui la rezistența emoțională și la claritatea mentală [17, 18, 19, 24, 25].

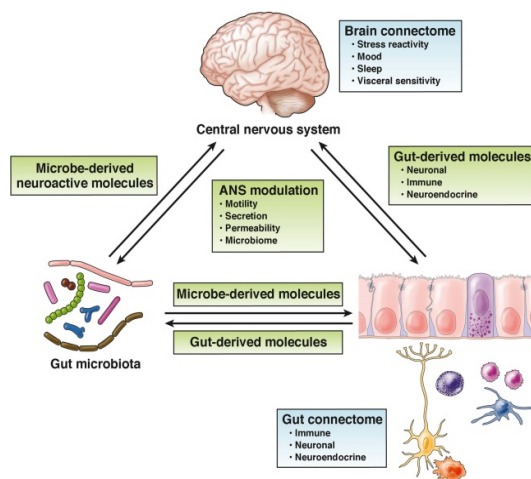


Figura 4. Axa creier-intestin

Sursa: <https://www.vital.ly/blog/Gut-brain-Axis/post=49/> [43]

Intestinul, denumit adesea „al doilea creier”, este un centru central pentru interacțiunea dintre organism și locuitorii săi microbieni.

Probioticele contribuie nu numai la sănătatea digestivă, ci și la bunăstarea generală, inclusiv la sănătatea mintală.

Cercetările emergente sugerează că axa intestin-creier joacă un rol vital în reglarea dispoziției și a funcției cognitive.

Probioticele, prin hrănirea unui microbiom intestinal sănătos, pot exercita efecte pozitive asupra sănătății mintale într-un mediu în care peisajul steril ar putea contribui la stres și anxietate.

2.4. Dincolo de antibiotice

Pe măsură ce navigăm într-un peisaj dominat de săpunuri antibacteriene, medii sterilizate și utilizarea excesivă a antibioticelor,

recunoașterea importanței menținerii unui ecosistem microbial echilibrat este esențială.

Folosirea fără discernământ a antibioticelor, un alt semn distinctiv al unei societăți hiper igienică, poate duce la epuizarea atât a bacteriilor dăunătoare, cât și a celor benefice.

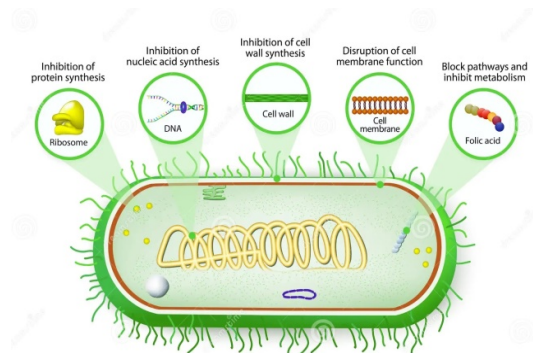


Figura 5. Mecanismul de acțiune al antibioticelor
Sursa: <https://thumbs.dreamstime.com/z/mechanisms-action-antimicrobials-antibiotic> [44]

Probioticele oferă o soluție naturală și țintită pentru a reface microbii benefici perturbați de terapia cu antibiotice. Acest lucru poate ajuta la atenuarea efectelor secundare ale antibioticelor și poate promova o recuperare mai rapidă [22, 23].

Probioticele oferă o soluție naturală pentru a contracara consecințele nedorite ale tratamentelor cu antibiotice prin completarea bacteriilor benefice care pot fi perturbate în timpul unor astfel de terapii.

Această abordare dublă de a folosi antibiotice atunci când este necesar și de a încorpora probiotice pentru restaurare subliniază o abordare mai echilibrată și mai atentă a asistenței medicale.

3. Utilizarea probioticelor în igiena globală

În era modernă a cercetării medicale și a conștientizării asupra sănătății, probioticele au câștigat o importanță crescândă, devenind protagoniste în menținerea și îmbunătățirea igienei globale.

Aceste microorganisme benefice au un impact semnificativ asupra sănătății umane și a mediului înconjurător, jucând un rol vital în promovarea unui echilibru microbiologic esențial pentru bunăstarea societății.

3.1. Probioticele în igiena personală

Un aspect crucial al igienei personale este menținerea unui echilibru sănătos al florei microbiene, în special în zonele sensibile ale corpului.

Probioticele, prin capacitatea lor de a coloniza și de a promova o populație diversificată de bacterii benefice, contribuie la prevenirea și combaterea infecțiilor, inclusiv a celor asociate cu igiena personală.

De exemplu, utilizarea probioticelor în produse de igienă intimă poate ajuta la menținerea unui pH echilibrat și la prevenirea proliferării bacteriilor patogene [31, 32].



Figura 6. Sapun pentru igiena intima cu probiotice (Bacillus coagulans)

Sursa: <https://www.candidafreedom.com/product/candida-freedom-probiotic-soap-4-oz-bar-lemon-original> [45]

3.2. Probioticele în curățenia mediului

Rolul probioticelor în igiena globală se extinde dincolo de corpul uman și ajunge la mediul înconjurător. Produsele de curățenie tradiționale pot să distrugă atât bacteriile nocive, cât și cele benefice, perturbând astfel echilibrul microbiologic al unui mediu.

În schimb, produsele de curățenie bazate pe probiotice aduc un beneficiu dublu: nu doar că elimină murdăria și bacteriile patogene, dar și promovează creșterea bacteriilor benefice care ajută la menținerea unui mediu mai sănătos și mai echilibrat [30].



Figura 7. Veo active-probiotics o formulă care este alimentată de milioane de probiotice ce biodegradează murdăria ascunsă și murdăria din adâncimea suprafețelor din bucătărie

Sursa: <https://www.veocleaner.com> [46]

3.3. Probioticele în lupta împotriva infecțiilor globale

În contextul amenințărilor la nivel global, cum ar fi pandemiile, probioticele joacă un rol crucial în consolidarea sistemului imunitar al individului.

Un sistem imunitar puternic poate face față mai eficient atacurilor de agenți patogeni, contribuind astfel la prevenirea și controlul răspândirii bolilor infecțioase la nivel global.

Suplimentarea dietei cu probiotice sau utilizarea lor în alimentație poate spori rezistența organismului și poate reduce riscul îmbolnăvirilor [28,29].

În fața sterilității, probioticele apar ca gardieni microbieni, oferind un mijloc natural și eficient de a reintroduce bacteriile benefice în ecosistemul uman.

Aceste microorganisme vii, predominant tulpini de *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*, joacă un rol esențial în susținerea comunității microbiene diverse care constituie microbiomul uman.

Probioticele acționează ca întăriri, ajutând la refacerea și menținerea echilibrului delicat perturbat de atacul agenților antibacterieni [27,29].



Figura 8. Suplimente cu probiotice: *Lactobacillus acidophilus* La-14 (100 milioane UFC)

Sursa: <https://www.desertcart.ae/products/1305349-nature-s-bounty-probiotic-acidophilus-100-tablets-pack-of-2-packaging-may-vary> [47]

3.4. Probioticele și sustenabilitatea

Probioticele au devenit un element esențial în promovarea igienei globale, având un impact semnificativ asupra sănătății individuale și a mediului înconjurător.

De la menținerea echilibrului microbionic al corpului uman la contribuția la curățenia durabilă a mediului, aceste microorganisme benefice aduc un beneficiu holistic.

Într-o lume preocupată de sănătate și sustenabilitate, recunoașterea rolului vital al probioticelor în igiena globală devine tot mai evidentă și esențială pentru un viitor sănătos și echilibrat.

O perspectivă importantă în lumea modernă este legată de sustenabilitate și reducerea impactului asupra mediului. Probioticele, fiind organisme vii și biodegradabile, se încadrează în tendințele de mediu prietenoase.

Acestea pot să înlocuiască substanțele chimice agresive din produsele de igienă și curățenie, contribuind la reducerea poluării și la protejarea ecosistemelor [35].

4. Microbiomul și sistemul imunitar

Funcția principală a tractului gastro-intestinal (GI) constă în procesele de digestie și absorbție a nutrienților prezenți în lumenul intestinal. Pe lângă acești nutrienți proveniți din alimente, în intestin pot pătrunde și microorganisme exogene, precum bacterii, fungi, paraziti și viruși.

Abundența celulelor imune innăscute și a celulelor imune adaptive care coabitează cu trilioanele de microorganisme comensale

benefice în tractul gastrointestinal impune necesitatea unei bariere eficiente. Această barieră are rolul de a regla interacțiunile gazdă-microbiom și de a menține homeostazia tisulară.

4.1. Flora intestinală normală

Mediul din tractul gastro-intestinal uman nu este uniform, ci prezintă diferențe semnificative între stomac și colon.

De aceea, nu este surprinzător că comunitățile microbiene rezidente în diversele secțiuni ale tractului digestiv variază în mai multe aspecte, cum ar fi densitatea celulelor, compoziția și activitatea metabolică.

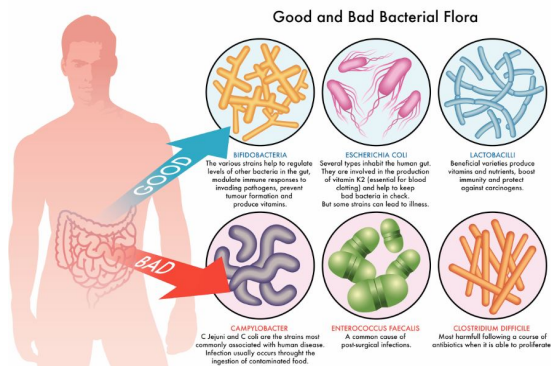


Figura 9. Flora intestinală normală

Sursa: <https://www.wrinklescenter.com/5-interesting-facts-about-the-intestinal-flora/> [48]

La nivelul stomacului se găsesc: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus parasanguinis*, diverse specii de *Prevotella* și *Porphyromonas*, *Rothia dentocariosa*, *Atopobium parvulum* și *Fusobacterium nucleatum*. Se poate presupune că habitatul principal al multor dintre aceste specii este cavitatea bucală, de unde ajung în stomac prin înghițire.

Bacteriile identificate în conținutul gastric cuprind *Lactobacillus spp.* și *Streptococcus spp.*, fiind capabile să reziste la pH-ul relativ scăzut.

O proporție semnificativă a microorganismelor din intestinul subțire sunt anaerobe facultative, însă această proporție scade de la duoden către ileonul terminal, deoarece nivelul de oxigen devine tot mai limitat, iar potențialul redox scade.

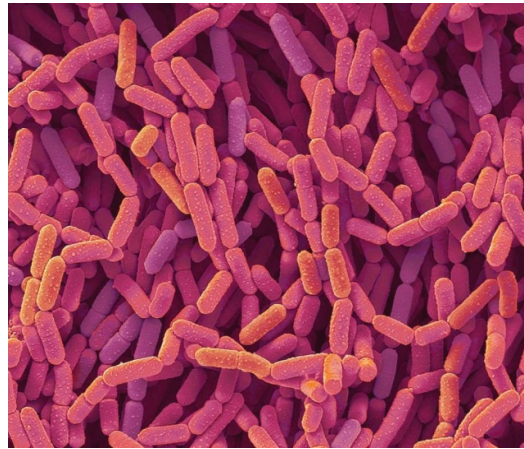


Figura 10. Lactobacillus Rhamnosus - micrografie electronică cu scanare colorată

Sursa: *Lactobacillus Rhamnosus Bacteria* is a photograph by Steve Gschmeissner/science Photo Library uploaded on September 15th, 2018 <https://fineartamerica.com> [49].

Aici întâlnim bacterii precum: grupurile *Lactobacillales*, *Clostridiales* și grupul *Veillonella*, precum și speciile înrudite cu *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus gnavus*, *Ruminococcus obeum* și *Bacteroides plebeius*.

La nivelul colonului și fecalelor întâlnim diverse genuri precum: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* (*Bifidobacterium spp.*), *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* și *Cyanobacteria*.

4.2. Microbiomul și epiteliul intestinal

Flora microbiană normală joacă un rol esențial în activarea sistemului imunitar robust al mucoasei la indivizii sănătoși. Intestinul subțire uman este dotat cu 200 până la 300 de plăci Peyer (definite ca agregate de >10 foliculi limfoizi) și zeci de mii de foliculi izolați [33].

În contrast, mucoasa colonului nu include plăci Peyer, ci prezintă numeroși foliculi unici [33, 34].

Plăcile Peyer sunt caracterizate de prezența constantă a centrilor germinativi mari și a zonelor active de celule T între foliculii de celule B [37]. Spațiul dintre foliculi este, de asemenea, bogat în limfocite în epiteliu și lamina propria [36, 38].

În intestinul subțire, aproximativ 1 limfocit se găsește pentru fiecare 10 celule epiteliale. În colon, raportul este de 2 până la 5 limfocite la 100 de celule epiteliale. Lamina propria, în

special în intestinul subțire, este populată de celule CD4+ și celule plasmatic IgA, precum și de macrofage, celule dendritice, mastocite și, ocazional, eozinofile.

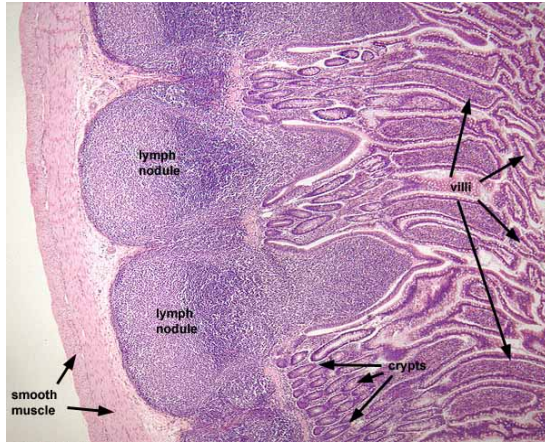


Figura 11. Placile Peyer – Intestinul subțire
Sursa: <https://histology.siu.edu/erg/GI196b.htm> [50]

Epiteliul intestinal nu doar îndeplinește un rol esențial în menținerea unei relații homeostatice între gazdă și microbii prezenți, ci constituie și prima linie de apărare împotriva agenților patogeni și microbilor. Drept urmare, celulele epiteliale intestinale au dezvoltat diverse mecanisme de răspuns la prezența microbilor, fie ei comensali sau non-comensali.

Aceste celule au capacitatea de a restricționa fizic translocarea micro-organismelor potențial dăunătoare din tractul intestinal în țesutul înconjurător, furnizând astfel o barieră fizică. De asemenea, ele eliberează peptide antimicrobiene și mucus, care controlează compoziția și localizarea microbiană. În ciuda funcției sale de barieră, epitelul intestinal joacă un rol crucial în transmiterea semnalelor de la suprafața barierei către sistemul imunitar al mucoasei subiacente.

Orice deficiențe în aceste funcții pot avea consecințe semnificative asupra homeostaziei intestinale și au fost identificate ca factori cheie în patogeniza inflamației intestinale.

4.3. Structura imunitară a epiteliului intestinal

Pentru a facilita absorbția eficientă a nutrienților, intestinul subțire este pliat într-un număr mare de invaginări tubulare, cunoscute

sub denumirea de cripte, și în si in vilozități asemănătoare degetelor (Marshman et al., 2002; Ziv și Bendayan, 2000).

Această configurare permite mărirea semnificativă a suprafeței disponibile. În special în porțiunea inferioară a intestinului subțire (ileon), regiunile criptelor sunt întrerupte de foliculii limfoizi agregați, cunoscuți sub numele de placile lui Peyer (PP) (Mowat, 2003).

Aceste placi Peyer conțin grupuri de agregate limfoide situate în submucoasa intestinului subțire și găzduiesc numeroase celule imunitare, inclusiv celule B, celule T și celule dendritice (Jung et al., 2010). Deasupra epitelului, acești foliculi limfoizi sunt compuși din celule epiteliale specializate, denumite celule microfold (M) (Corr et al., 2008; Mabbott et al., 2013; Miller et al., 2007).

Celulele M (microfold) facilitează trecerea conținutului luminal și întâlnirea acestuia cu celulele prezentatoare de antigen (APC) situate mai în profunzime.

Procesele de absorbție a apei și compactare a scaunului pentru o eliminare rapidă au loc predominant în intestinul gros (Kvietys și Granger, 2010).

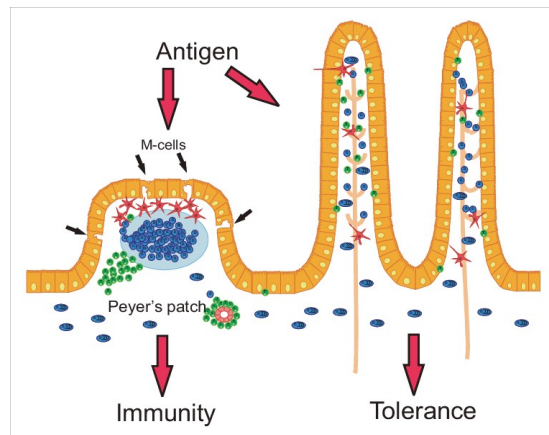


Figura 12. Celulele M microfold –
Sursa: <https://www.researchgate.net/figure/Antigen-uptake-in-the-intestine-Antigen-might-enter-through-microfold-M-cells-in fig1 240052759> [51]

Deoarece vilozitățile ar interfera cu acest proces, epitelul colonic este organizat în numeroase cripte extinse, asociate cu o suprafață luminală plană (Barker, 2014).

Colonul include, de asemenea, țesut limfoid asociat intestinului, cum ar fi foliculii

limfoizi izolați, care prezintă similarități cu placile Peyer din intestinul subțire (Gibbons și Spencer, 2011).

4.4. Relația dintre epiteliul intestinal și celulele imunitare

Flora microbiană influențează răspunsurile imune, deoarece componentele celulei bacteriene, cum ar fi lipopolizaharidele sau peptidoglicanul, sunt modulatori extrem de puternici ai imunității in vitro și in vivo.

În 1997 s-a descoperit existența receptorilor de recunoaștere a modelelor de mamifere (PRR) și a receptorilor de tip toll (TLR), a căror funcție este de a recunoaște structurile conservate pe bacterii și virusi.

Există acum dovezi abundente că semnalizarea prin TLR afectează funcția celulelor dendritice, ceea ce determină diferențierea celulelor T și răspunsurile anticorpilor la antigenele dependente de celulele T [36,38].

În timpul infecțiilor intestinale, celulele laminei proprii și/sau celulele enterice exprimă o varietate extinsă de citokine inflamatorii, furnizând astfel semnale continue despre starea de activare a ambelor compartimente.

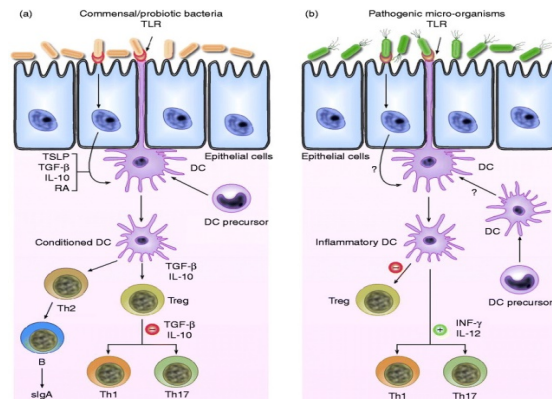


Figura 13. Rolul receptorilor Toll-like în dezvoltarea imunotoleranței mediate de probiotice

Sursa: <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/role-of-tolllike-receptors-in-the-development-of-immunotolerance-mediated-by-probiotics> [52]

Această interacțiune are un rol crucial în apărarea împotriva agenților patogeni intestinali. Rezistența la colonizarea de către agenții patogeni poate fi reglată fie prin inhibarea directă de către microbiota gazdă, fie

indirect prin răspunsurile imune ale gazdei mediate de microbiom.

Bacteriile comensale și cele patogene angajează receptori de tip Toll-like (TLR), generând răspunsuri imune distincte.

Bacteriile comensale și probioticele interacționează cu bariera celulelor epiteliale intestinale și cu celulele dendritice (DC) rezidente în intestin.

Această interacțiune duce la exprimarea unor citokine precum IL-10, factorul de creștere transformant (TGF)-β și limfopoietina stromală timică (TSLP) în celulele epiteliale intestinale.

Activarea TLR mediată de bacterii stimulează reglarea în sus a TGF-β și IL-10, ceea ce poate limita capacitatea de răspuns a DC intestinale, contribuind la expansiunea și/sau supraviețuirea celulelor T cu rol reglator și restrângând abilitatea de a iniția răspunsuri ale celulelor Th1, Th2 și Th17.

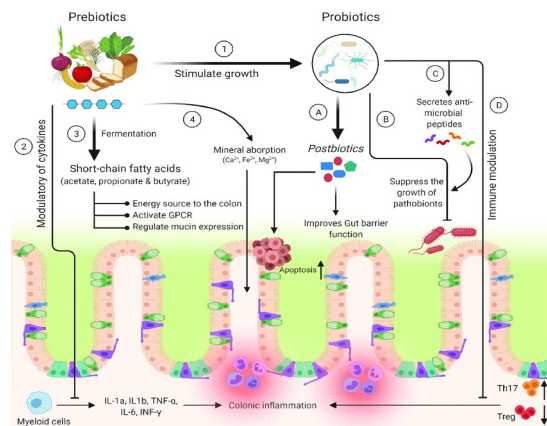


Figura 14. Mecanisme de acțiune a prebioticelor și probioticelor.

Sursa: https://www.researchgate.net/figure/Mechanism-of-action-of-prebiotics-and-probiotics-The-health-benefits-of-prebiotics-on_fig1_354937700 [53]

Bacteriile patogene posedă factori de virulență care interacționează cu bariera celulelor epiteliale intestinale și cu DC rezidente în intestin. Invazia epitelului și interacțiunea directă cu DC activează TLR, determinând o creștere a producției de citokine proinflamatorii, inclusiv interferon (INF)-γ și IL-12, care pot iniția răspunsurile celulelor Th1, Th2 și Th17. RA, acid retinoic; sIgA, Ig A secretată; Th, celula T helper; Treg, celula reglatoare T.

De exemplu, microbii comensali contribuie la rezistența împotriva colonizării de către agenții patogeni invadatori, cum ar fi *Salmonella typhimurium*, prin stimularea sistemului imunitar.

Acest lucru se realizează printr-un microbiom specific care sprijină producția de IFN- γ antibacterian de către celulele imune innăscute și adaptative. IFN- γ poate induce mecanisme de apărare în epiteliul intestinal, inclusiv secreția de peptide antimicrobiene, generarea de vacuole umplute cu mucus de către celulele caliciforme și eliberarea de mucus în lumenul intestinal.

4.4. Mecanismul de acțiune al probioticelor

Principalele mecanisme de acțiune asociate cu activitatea probioticelor în interacțiunea cu mucoasa intestinală sunt:

- **Legare Competitivă și Excludere:** Tulpinile probiotice pot înlocui bacteriile inofensive prin competiția pentru locurile de atașare (1) sau prin uciderea/inhibarea creșterii bacteriilor patogene prin producerea de compuși antibacterieni sau reducerea pH-ului local (2).
- **Imunomodulare:** Probioticele au capacitatea de a modula sistemul imunitar prin stimularea celulelor imune ale gazdei, inclusiv inducerea producției de citokine (3) sau creșterea secreției de imunoglobulina IgA la nivel local (4).
- **Neutralizarea Toxinelor:** Bacteriile probiotice pot neutraliza și elimina toxinele din intestin (5).
- **Influența Asupra Integrității Tisulare:** Probioticele pot afecta integritatea epitelială și tisulară prin sinteza în doze mici de oxid nitric (NO) (6), stimularea producției de mucus (7), promovarea proliferării celulelor epiteliale intestinale (8), inhibarea producției de carcinogeni endogeni (9) și furnizarea de nutrienți prin producția de acizi grași cu catenă scurtă (SCFA).

Un alt mecanism relevant de acțiune asociat cu probioticele constă în capacitatea

lor de a modula sistemul imunitar, implicând activarea celulelor limfoide din țesutul limfoid asociat intestinului prezent în lamina propria și submucoasă.

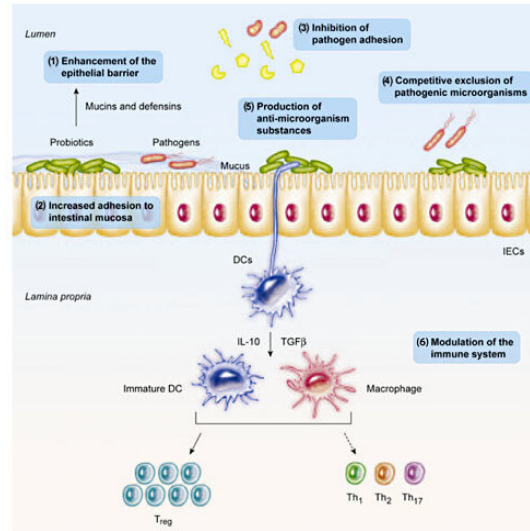


Figura 15. Interacțiunea probioticelor cu sistemul imunitar

Sursa: https://www.researchgate.net/figure/Major-mechanisms-of-action-of-probiotics_fig1_272021145 [54]

Explicația rolului de imunomodulare al probioticelor, ilustrat adesea prin utilizarea lui *Lactobacillus rhamnosus* ca model, constă în reducerea producției de citokine inflamatorii proinflamatoare, cum ar fi factorul de necroză tumorală α (TNF- α) și interleukinele 6 și 12 (IL-6 și IL-12), de către celulele dendritice imature, în timp ce stimulează producția de IL-12 și IL-18 de către celulele dendritice mature (Saxelin et al., 2005).

Aceste interacțiuni cu țesutul limfoid pot surveni prin intermediul microorganismului intact sau a fragmentelor acestuia, cum ar fi peretele celular peptidoglican, complexe de acid lipoteicoic (LTA), proteinele din stratul S și motivele nemetilate de citozină-fosfat-guanină (CpG) ale ADN-ului, sau prin metaboliții produși în situ (Ouwehand et al., 1999).

Aderența probioticelor la celulele gazdă poate iniția o cascada de semnalizare care conduce la modularea imunității sau, alternativ, poate răspunde la eliberarea de factori solubili (Oelschlaeger, 2010), inclusiv recunoașterea receptorilor sau a receptorilor de tip Toll (TLR).

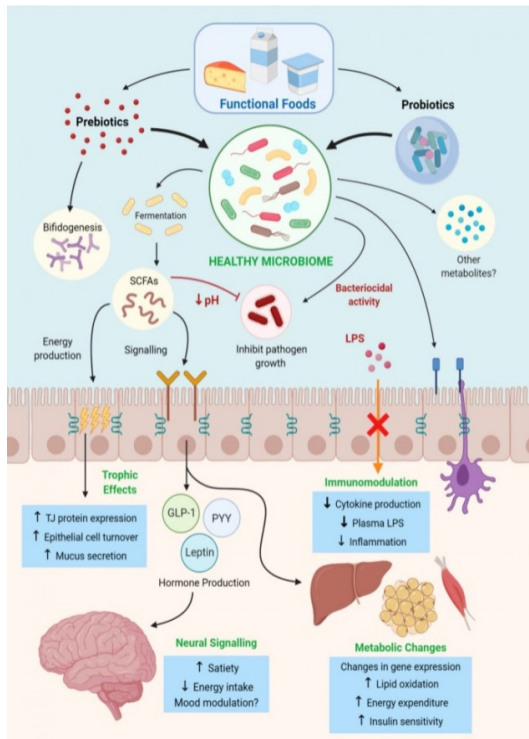


Figura 16. Mecanismele prin care prebioticele și probioticele, inițiază modificări metabolice pentru a contracara dezvoltarea obezității și a sindromului metabolic include: generarea de produși metabolici microbieni, de acizi grași cu catenă scurtă (SCFA), acidificarea pH-ului luminal, reglarea sistemului imunitar prin modularea producției de citokine, facilitarea senzației de sațietate prin semnalizarea pe ruta intestin-creier și îmbunătățirea metabolismului oxidativ

Sursa: <https://www.provivapharma.com/microbial-medicine-prebiotic-and-probiotic-functional-foods-to-target-obesity-and-metabolic-syndrome> [55]

Celulele imune utilizează TLR specializate pentru a detecta diferite componente microbiene separat sau simultan. Activarea diferitelor TLR declanșează răspunsuri variate ale gazdei, permitând modularea sistemului imunitar (Marteau și Shanahan, 2003).

Principalele răspunsuri imune asociate cu evenimentele de infecție includ, în general, sistemul imunitar dobândit, care constă în principal din limfocitele B și limfocitele T sensibilizate (Th1, Th2 și Th3), precum și sistemul imunitar înnăscut, care cuprinde în principal macrofagele și celulele naturale ucigașe (NK) (Nomot, 2005).

Celulele dendritice (DC), reprezentând celule prezentatoare de antigen care inițiază răspunsul în mucoasa intestinală și joacă un rol crucial în reglarea imună a echilibrului

dintre celulele T helper Th1, Th2 și Th3 (Marteau et al., 2002).

5. Concluzii

Recunoașterea importanței diversității microbiene și înțelegerea echilibrului delicat al microbiomului este crucială pentru menținerea sănătății generale.

Probioticele, prin încurajarea armoniei microbiene, nu numai că ajută la rezistența imunitară și sănătatea intestinului, dar reprezintă și o dovadă a necesității unei abordări mai nuanțate a curățeniei - una care să recunoască relația simbiotică dintre oameni și microorganismele care împart spațiile lor de viață.

În acest dans delicat între sterilitate și simbioză, probioticele oferă o cale de restabilire a echilibrului și de a promova o conviețuire mai sănătoasă cu lumea microbiană.

În concluzie, relația dintre probiotice și răspunsul imunitar este un domeniu fascinant de cercetare cu perspective promițătoare pentru sănătatea umană.

Axul gastro-intestinal-imunitar servește ca o interfață dinamică în care probioticele interacționează cu sistemul imunitar, influențând atât răspunsurile înnăscute, cât și cele adaptative.

Pe măsură ce înțelegerea acestor interacțiuni se aprofundează, exploatarea potențialului probioticelor de a modula funcționarea sistemului imunitar poate deschide noi direcții pentru strategii preventive și terapeutice în domeniul sănătății.

Bibliografie

1. **Cremon C., Barbaro M.R., Ventura M., Barbara G.** Pre- and probiotic overview. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2018**; 43:87–92. doi: 10.1016/j.coph.2018.08.010.
2. **Cristina RT, Teusdea.** Ghid de farmacie și terapeutică veterinară, 2008, Editura Brumar, Timisoara.
3. **Damián M.R., Cortes-Perez N.G., Quintana E.T., Ortiz-Moreno A., Noguez C.G., Cruceño-Casarrubias C.E., Pardo M.E.S., Bermúdez-Humarán L.G.**

- Functional Foods, Nutraceuticals and Probiotics: A Focus on Human Health. *Microorganisms*. 2022; 10:1065. doi: 10.3390/microorganisms 10051065.
4. **Ding S., Yan W., Ma Y., Fang J.** The impact of probiotics on gut health via alternation of immune status of monogastric animals. *Anim. Nutr.* **2021**; 7:24–30. doi: 10.1016/j.aninu.2020.11.004.
 5. **Donaldson D.S., Else K.J., Mabbott N.A.** The Gut-Associated Lymphoid Tissues in the Small Intestine, Not the Large Intestine, Play a Major Role in Oral Prion Disease Pathogenesis. *J. Virol.* **2015**; 89:9532–9547. doi: 10.1128/JVI.01544-15.
 6. **Eslami M., Bahar A., Keikha M., Karbalaee M., Kobylak N.M., Yousefi B.** Probiotics function and modulation of the immune system in allergic diseases. *Allergol. Immunopathol.* **2020**; 48: 771–788. doi: 10.1016/j.aller.2020.04.005.
 7. **Fanning S., Hall L.J., Cronin M., Zomer A., MacSharry J., Goulding D., Motherway M.O.C., Shanahan F., Nally K., Dougan G., et al.** Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2012**; 109:2108–2113. doi: 10.1073/pnas.1115621109.
 8. **George Kerry R., Patra J.K., Gouda S., Park Y., Shin H.S., Das G.** Benefaction of probiotics for human health: A review. *J. Food Drug Anal.* 2018; 26:927–939. doi: 10.1016/j.jfda.2018.01.002.
 9. **Hansen I.S., Baeten D.L.P., den Dunnen J.** The inflammatory function of human IgA. *Cell. Mol. Life Sci.* **2018**; 76:1041–1055. doi: 10.1007/s00018-018-2976-8.
 10. **Hevia A., Delgado S., Sánchez B., Margolles A.** Molecular players involved in the interaction between beneficial bacteria and the immune system. *Front. Microbiol.* 2015; 80:1363–1376. doi: 10.3389/fmicb.2015.01285.
 11. **Hollenberg M.D., Epstein M.** The innate immune response, microenvironment proteinases, and the COVID-19 pandemic: Pathophysiologic mechanisms and emerging therapeutic targets. *Kidney Int. Suppl.* **2022**; 12:48–62. doi: 10.1016/j.kisu.2021.12.001.
 12. **Kim Y.-K., Shin C.** The Microbiota-Gut-Brain Axis in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiological Mechanisms and Novel Treatments. *Curr. Neuropsychopharmacol.* **2018**; 16:559–573. doi:10.2174/1570159X15666170915141036.
 13. **Kogut M.H., Lee A., Santin E.** Microbiome and pathogen interaction with the immune system. *Poult. Sci.* **2020**; 99:1906–1913. doi: 10.1016/j.psj.2019.12.011.
 14. **Li A., Wang Y., Li Z., Qamar H., Mehmood K., Zhang L., Liu J., Zhang H., Li J.** Probiotics isolated from yaks improves the growth performance, antioxidant activity, and cytokines related to immunity and inflammation in mice. *Microb. Cell Fact.* **2019**; 18:112. doi: 10.1186/s12934-019-1161-6.
 15. **Li H., Liu F., Lu J., Shi J., Guan J., Yan F., Li B., Huo G.** Probiotic Mixture of *Lactobacillus plantarum* Strains Improves Lipid Metabolism and Gut Microbiota Structure in High Fat Diet-Fed Mice. *Front. Microbiol.* **2020**; 11:512. doi: 10.3389/fmicb.2020.00512.
 16. **Liu K.** Dendritic Cells. *Encycl. Cell Biol.* 2016; 3:741–749.
 17. **Ly, N.P., Litonjua, A., Gold, D.R. and Celed. J.C. (2011)** Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity? *J. Allergy Clin. Immunol.*, 127, 1087–1094.
 18. **Markowiak-Kopeć P., Śliżewska K.** The Effect of Probiotics on the Production of Short-Chain Fatty Acids by Human Intestinal Microbiome. *Nutrients*. **2020**; 12:1107. doi: 10.3390/nu12041107.
 19. **Marteau, E. (2001)** Prebiotics and probiotics for gastrointestinal health. *Clin. Nutr.*, 20, 41–45.
 20. **Marteau, P. and Shanahan, F. (2003)** Basic aspects and pharmacology of

- probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 17, 725–740.
21. **Marteau, P., Seksik, P. and Jian, R. (2002)** Probiotics and health: new facts and ideas. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 13, 486–489.
 22. **Mazziotta C, Tognon M, Martini F, Torreggiani E, Rotondo JC.** Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health. *Cells.* **2023** Jan 2;12(1):184. doi: 10.3390/cells12010184. PMID: 36611977; PMCID: PMC9818925.
 23. **Ménard O., Gafa V., Kapel N., Rodriguez B., Butel M.J., Waligora-Dupriet A.J.** Characterization of immunostimulatory CpG-rich sequences from different *Bifidobacterium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**; 76:2846–2855. doi: 10.1128/AEM.01714-09.
 24. **Mörbe U.M., Jørgensen P.B., Fenton T.M., von Burg N., Riis L.B., Spencer J., Agace W.W.** Human gut-associated lymphoid tissues (GALT); diversity, structure, and function. *Mucosal Immunol.* **2021**; 14:793–802. doi: 10.1038/s41385-021-00389-4.
 25. **Ola Skold, (2011),** Antibiotics and antibiotic resistance, Editura John Wiley & Sons, Inc. ePDF ISBN: 978-1-118-07556-2.
 26. **P van Baarlen, Wells JM, Kleerebezem M.** Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends Immunol.* **2013** May; 34 (5):208-15. doi: 10.1016/j.it.2013.01.005. Epub 2013 Feb 26. PMID: 23485516.
 27. **Peng X., Ed-Dra A., Song Y., Elbediwi M., Nambiar R.B., Zhou X., Yue M.** Lactocaseibacillus rhamnosus alleviates intestinal inflammation and promotes microbiota-mediated protection against *Salmonella* fatal infections. *Front. Immunol.* **2022**; 13:973224. doi: 10.3389/fimmu.2022.973224.
 28. **Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A.** Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol.* **2014**; 20(42):15632-49. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15632. PMID: 25400447; PMCID: PMC4229528.
 29. **Ranjha M.M.A.N., Shafique B., Batool M., Kowalczewski P.Ł., Shehzad Q., Usman M., Manzoor M.F., Zahra S.M., Yaqub S., Aadil R.M.** Nutritional and Health Potential of Probiotics: A Review. *Appl. Sci.* **2021**; 11:11204. doi: 10.3390/app112311204
 30. **Salminen, S., Nybom, S., Meriluoto, J., Collado, M.C., Vesterlund, S. and El-Nezami, H. (2010)** Interaction of probiotics and pathogens—benefits to human health? *Curr. Opin. Biotechnol.*, 21, 157–167.
 31. **Sánchez B., Delgado S., Blanco-Míguez A., Lourenço A., Gueimonde M., Margolles A.** Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol. Nutr. Food Res.* **2017**; 61:1600240. doi: 10.1002/mnfr.201600240
 32. **Snigdha S., Ha K., Tsai P., Dinan T.G., Bartos J.D., Shahid M.** Probiotics: Potential novel therapeutics for microbiota-gut-brain axis dysfunction across gender and lifespan. *Pharmacol. Ther.* **2022**; 231:107978.
 33. **Stein, K., Borowickia, A., Scharlaua, D., Schettlera, A., Scheub, K., Obstb, U. and Gleia, M. (2012)** Effects of synbiotic fermentation products on primary chemoprevention in human colon cells. *J. Nutritional Biochem.*, 23, 777–784.
 34. **Thursby E., Juge N.** Introduction to the human gut microbiota. *Biochem. J.* **2017**; 474:1823–1836. doi: 10.1042/BCJ20160510.
 35. **Vamanu E., Gatea F.** Correlations between Microbiota Bioactivity and Bioavailability of Functional Compounds: A Mini-Review. *Biomedicines.* **2020**; 8:39. doi: 10.3390/biomedicines8020039.
 36. **Vijay K.** Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *Int. Immunopharmacol.* **2018**; 59:391–412. doi: 10.1016/j.intimp.2018.03.002.

37. **Vlasova A.N., Takanashi S., Miyazaki A., Rajashekara G., Saif L.J.** How the gut microbiome regulates host immune responses to viral vaccines. *Curr. Opin. Virol.* **2019**; 37:16–25. doi: 10.1016/j.coviro.2019.05.001.
38. **Yadav M.K., Kumari I., Singh B., Sharma K.K., Tiwari S.K.** Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2022**; 106:505–521. doi: 10.1007/s00253-021-11646-8.
39. **Yang F., Chen H., Gao Y., An N., Li X., Pan X., Yang X., Tian L., Sun J., Xiong X., et al.** Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and hypertension: Mechanism and treatment. *Biomed. Pharmacother.* **2020**; d130:110503. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110503.
40. https://www.researchgate.net/figure/Potential-immunomodulatory-mechanisms-of-probiotic-lactobacilli-1-It-is-not-yet-clear_fig4_221699437.
41. <https://www.thewbdelivery.com/discover-the-difference-between-antibacterial-and-antimicrobial/>
42. Sursa:<https://getillum.ca/collections/laundry/products/probiotic-soap>
43. <https://www.vital.ly/blog/Gut-brain-Axis/post=49/>
44. <https://thumbs.dreamstime.com/z/mechanisms-action-antimicrobials-antibiotic>
45. <https://www.candidafreedom.com/product/candida-freedom-probiotic-soap-4-oz-bar-lemon-original>
46. <https://www.veocleaner.com>
47. <https://www.desertcart.ae/products/1305349-nature-s-bounty-probiotic-acidophilus-100-tablets-pack-of-2-packaging-may-vary>
48. <https://www.wrinklescenter.com/5-interesting-facts-about-the-intestinal-flora/>
49. <https://fineartamerica.com>
50. <https://histology.siu.edu/erg/GI196b.htm>
51. https://www.researchgate.net/figure/Antigen-uptake-in-the-intestine-Antigen-might-enter-through-microfold-M-cells-in_fig1_240052759
52. <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/role-of-tolllike-receptors-in-the-development-of-immunotolerance-mediated-by-probiotics>
53. https://www.researchgate.net/figure/Mechanisms-of-action-of-prebiotics-and-probiotics-The-health-benefits-of-prebiotics-on_fig1_354937700
54. https://www.researchgate.net/figure/Major-mechanisms-of-action-of-probiotics_fig1_272021145
55. <https://www.provivapharma.com/microbial-medicine-prebiotic-and-probiotic-functional-foods-to-target-obesity-and-metabolic-syndrome>

PETSPOT FORTE

Fipronil ++ Piriproxifen +



**Previne infestația și elimină
căpușele, puricii, păduchii.**

Formulă unică pe bază de
fipronil și piriproxifen

www.pasteur.ro

Despre glanda mamară la vacă: Aspecte morfologice și histologice

About the mammary gland in cow: Morphological and histological aspects

Stoichescu Caius, Brezovan Diana Cristina T. Romeo

Facultatea de Medicina Veterinara Timisoara

dragosstoichescu@yahoo.com

Cuvinte cheie: glanda mamară, vacă, morfologie, histologie, citologie

Keywords: mammary gland, cow, morphology, histology, cytology

Rezumat

Glandele mamare sunt locul principal al sintezei și secreției laptelui, iar afecțiunile sale precum mastita este cauza comună a scăderii producției de lapte. Din acest considerent, cunoașterea anatomiei glandei mamare în diferite stadii ale sale este de dorit, pentru a înțelege elementele necesare ale fiziologiei, patologiei și managementului diferitelor boli ale mamelei. În prezentul referat bibliografic sunt prezentate principalele elemente de anatomie (structura internă și externă), morfologia, histologia și citologia glandei mamare precum și elementele celulare ale sintezei și secreției laptelui.

Abstract

The mammary glands are the main site of milk synthesis and secretion, and its conditions such as mastitis are the common cause of decreased milk production. For this reason, knowledge of the anatomy of the mammary gland in its various stages is desirable, in order to understand the necessary elements of the physiology, pathology and management of various mammary diseases. In this bibliographic report, the main elements of anatomy (internal and external structure), morphology, histology and cytology of the mammary gland are presented, as well as the cellular elements of milk synthesis and secretion.

Introducere

Deoarece glandele mamare sunt foarte predispuse la leziuni traumatice, infecții și alte boli, cunoașterea anatomiei acestora este esențială în înțelegerea patologiei și abordarea celei mai corecte căi în tratarea și restabilirea stării normale a ugerului.

Mamiferele au apărut pe pământ în urmă cu peste 100 de milioane de ani și se crede că au evoluat dintr-un tip avansat de reptilian.

Una dintre cele mai importante caracteristici comune tuturor mamiferelor este capacitatea lor de a secreta lapte. Dintre acestea, glanda mamară a vacii este cea mai avansată formă din un punct de vedere evolutiv.

Glanda mamară a diferitelor specii diferă ca număr, locație, dimensiune și forma deși histologia și citologia tesutului secretor este foarte asemănătoare (Tabelul 1) (9).

Cu toate acestea, exemple de tip foarte primitiv de mamară glandele există și în natură.

Tabelul 1.
Glanda mamară la diferite specii (1)

Specia	Mameloane prezente în regiunea		
	toracică	abdominală	inghinală
Bovine	-	-	4
Bubaline	-	-	4
Oaie,	-	-	2
Capra	-	-	2
Cabaline	-	-	2
Elefant	2	-	-
Suine	6	6	4
Câine	4	4	2
Șobolan	6	2	4
Șoarece	6	-	4
Hamster	-	-	2
Om	2	-	-

De exemplu, porumbeii produc în gușă o substanță alba fluidă, denumită lapte de porumbel, pe care îl regurgitează în ciocul puiilor.

Ornitorincul cu cioc de rață posedă glande mamare foarte asemănătoare din punct de vedere morfologic cu cele ale vacii, dar nu are mameloane. Aici laptele este secretat din 100-150 de tuburi separate ale glandelor mamare care se deschid la baza „părului mamar” (1).

Structura anatomică a glandei mamare

Dintre formațiunile anexe de origine ectodermică ale aparatului genital femel, o poziție deosebită o ocupă glanda mamară, datorită rolului pe care îl are asupra dezvoltării postnatale a nou-născutului – prin asigurarea celui mai adecvat și echilibrat aliment (laptele) și prin înzestrarea produsului de concepție cu primul "echipament defensiv" imun (15).

Structura externă a glandei mamare la vacă

La bovine, glanda mamară poartă numele de *uger* și este format din patru glande separate sau *sferturi*, fiind localizat ventral, în regiunea ingvinală a corpului (Fig. 1).

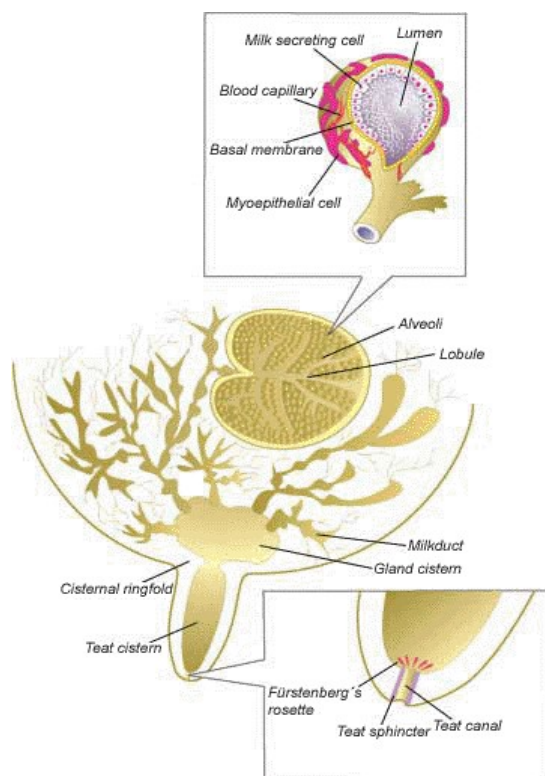


Figura 1. Reprezentarea schematică a anatomiei ugerului (21).

Fiecare sfert prezintă câte un mamelon, care la rândul lui este prevăzut cu un singur orificiu. Ugerul este acoperit cu păr, cu excepția zonei papilare.

Cele patru sferturi sunt grupate în două jumătăți distincte – stângă și dreaptă

(separarea este observabilă macroscopic prin prezența șanțului intermamar, situat în porțiunea ventrală a ugerului).

Sferturile caudale pot depozita 55–60% din laptele produs și cântăresc 55–60% din greutatea totală a ugerului. De obicei, mameloanele caudale sunt mai scurte decât cele craniale (9).

Papilele mamare (*papilla mammae*) sau mameloanele funcționează atât ca singurul orificiu pentru eliberarea secreției de lapte cât și ca singurul mod prin care nou-născuții sunt hrăniți. La bovine, zona papilară nu prezintă glande sudoripare, sebacee și fire de păr.

Dimensiunea și forma mameloanelor diferă foarte mult, independent de dimensiunea, forma și producția de lapte a ugerului.

Dimensiunea medie a mameloanelor craniale este de 6,6 cm lungime, cu un diametru de 2,9 cm și 5,2 cm lungime, cu 2,6 cm în diametru pentru cele caudale.

Un procent de aproximativ 50% din vacile de lapte prezintă mameloane supranumerare.

Unele dintre aceste papile extramamelonare se pot deschide în glanda mamară, dar majoritatea nu comunică cu sinusul galactifer. În general, aceste mameloane supranumerare se îndepărtează chirurgical înainte ca femelele să atingă vârsta de un an. Un pseudo-mamelon nu prezintă canal papilar și prin urmare nu comunică cu structurile interne ale glandei mamare (9, 19).

Canalul papilar (*ductus papillaris*) funcționează ca singurul canal care face legătura între sistemul secretor intern și mediul exterior.

Ductul papilar constituie principala barieră împotriva agenților infecțioși agresivi, este căptușit cu un epiteliu asemănător pielii și este menținut închis de către fibrele musculare care se organizează formând sfincterul canalului. Lungimea acestui canal crește direct proporțional cu creșterea numărului de lactații (9).

Rozeta lui Furstenburg este reprezentată de 6-10 falduri sau pliuri longitudinale ale mucoasei. Faldurile rozetei pot

supraplia deschiderea canalului papilar atunci când crește presiunea în ugerul plin. De asemenea, rozeta lui Furstenburg poate constitui locul major de intrare pentru leucocitele care părăsesc epiteliul papilar și pătrund în cisterna papilară, implicându-se astfel în apărarea locală împotriva instalării mamitelor (19, 22).

Inelele cricoide sau faldurile anulare marchează regiunea din porțiunea terminală proximală a cisternei papilare, delimitând această zonă de cisterna glandulară. Aceste inele nu sunt întotdeauna vizibile la disecția glandei mamare (11).

Cisterna papilară (sinus papillaris) reprezintă cavitatea existentă în structura papilei mamare (mamelonului) care se continuă cu cisterna glandulară și care prezintă în interior numeroase falduri longitudinale și circulare ale mucoasei.

Cisterna glandulară (sinus lactiferus) denumită și cisterna ugerului se deschide direct în cisterna papilară.

Ocazional, se poate forma un sept conjunctiv între cele două cisterne ducând la apariția unui sfert așa-zis „orb” deoarece nu poate elibera laptele (anomalie care se corectează ușor chirurgical) (10, 12).

Cisterna glandulară funcționează ca loc de stocare a laptelui și variază foarte mult ca formă și dimensiune. Frecvent, se pot forma buzunărașe în mucoasa cisternei, cel mai adesea în porțiunea terminală a canalelor lactifere mari (10, 11).

Pentru a menține glanda mamară atașată în regiunea ingvinală, în mod corespunzător este necesară existența unui **sistem suspensor** puternic (de exemplu, ugerul unei vaci din rasa Holstein cu producție ridicată cântărește aproximativ 55 kg: 25 kg când este gol, plus 30 kg în lactație).

Sistemul de ligamente și alte țesuturi implicate în atașarea ugerului constituie un element extrem de sensibil și critic, de care depinde o lactație eficientă (Fig. 2).

În suportul ugerului sunt implicate șapte elemente:

- **Pielea** – este considerată un suport minor.
- **Fascia superficială** – țesutul subcutanat areolar – este situată imediat sub piele.
- **Țesutul conjunctiv dens neorientat** – realizează o legătură între suprafața dorsală a sferturilor anterioare și peretele abdominal. Slăbirea acestei legături cauzează desprinderea ugerului de peretele abdominal.
- **Tendonul subpelvian** – nu face parte, în mod direct, din aparatul suspensor al ugerului, dar stă la originea ligamentului suspensor lateral superficial și a celui profund. Nu formează un strat tisular continuu dar se atașează de pelvis în mai multe puncte.
- **Ligamentul suspensor lateral superficial** – derivă din tendonul subpelvian și este format din țesut conjunctiv fibros (poate conține și fibre elastice în număr mic). Acest ligament se extinde anterior și ventral până ajunge la uger, pe care îl înconjoară.
- **Ligamentul suspensor lateral profund** – este mai mic în grosime decât stratul superficial și este alcătuit din țesut fibros. De asemenea, are originea în ligamentul subpelvian și se extinde ventral, alături de ligamentul suspensor lateral superficial. Acest ligament se atașează de suprafața convexă laterală a ugerului prin numeroase lamele, care pătrund în țesutul secretor, formând septurile conjunctive (6, 9, 22).

Atât ligamentul suspensor lateral superficial cât și cel profund conferă un suport substanțial al ugerului.

Ligamentele suspensoare laterale stâng și drept nu se unesc în regiunea ventrală a ugerului, iar structura lor fibroasă nu le permite întinderea pe măsură ce glanda mamară secretă laptele. Astfel, în perioada de lactație, numai zona centrală a ugerului tinde să se distanțeze de corp (Fig. 3).

Canalele lactifere ale celor patru sferturi (glande mamare) nu se intersectează. Astfel, dacă se injectează o substanță colorată (indicator) într-un sfert, aceasta nu va difuza și în celelalte sferturi.

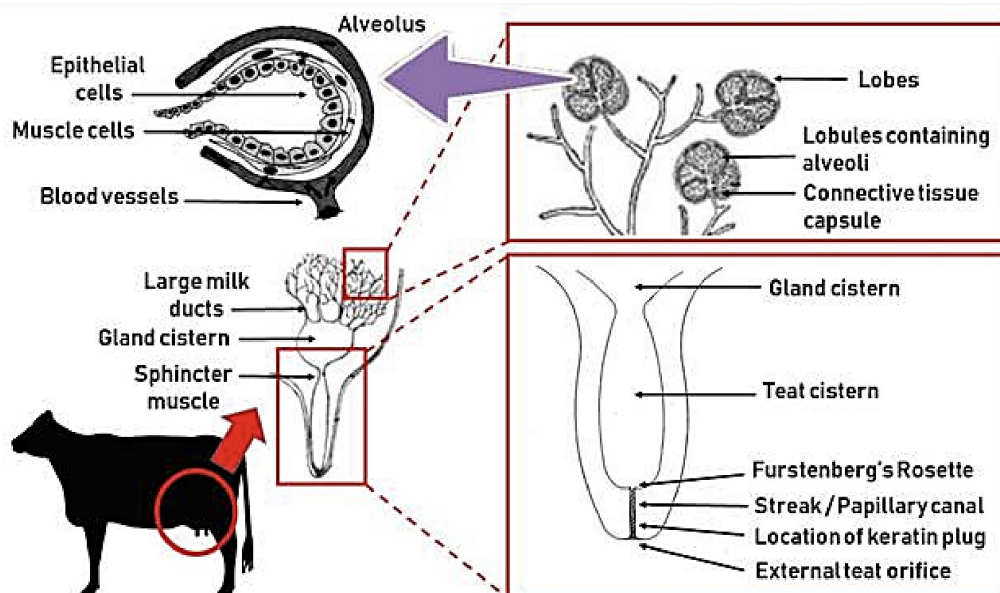


Figura 2. Anatomia glandei mamare (16).

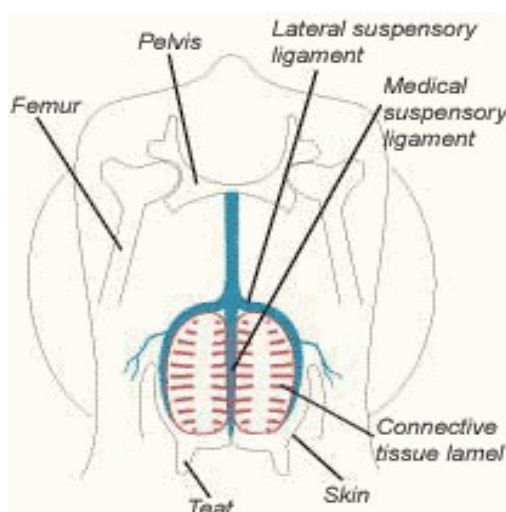


Figura 3. Reprezentarea schematică a sistemului suspensor al ugerului. Schematic picture of the suspensory structure of the udder (22).

Deoarece fiecare sfert este separat, nu are loc un transfer de lapte dintr-un sfert în celălalt, dar antibioticele pot difuza în uger, datorită rețelei vasculare foarte bogate din structură (3, 10).

Ligamentul suspensor median –

reprezintă elementul cel mai important din sistemul suspensor al ugerului la vacile de lapte. Este alcătuit din două straturi de țesut elastic care provin din fascia peretelui

abdominal și care se atașează de suprafețele mediane late ale celor două jumătăți ale ugerului. Ligamentul suspensor median este foarte rezistent la întindere.

Este capabil de extensie, pe măsură ce laptele se secretă și permite creșterea în greutate a ugerului.

Este localizat în centrul de greutate al ugerului, conferind o suspensie echilibrată și simetrică, astfel încât, chiar dacă restul de ligamente ar fi distruse, glanda mamară poate rămâne atașată în regiunea ingvinală a corpului (10).

Structura internă a glandei mamare la vacă

Structura internă a glandei conține:

- **Țesut conjunctiv** – reprezentat de țesutul fibros (colagen) și de țesutul adipos (adipocite);
- **Țesut secretor** – reprezentat de celulele epiteliale secretoare specializate în secreția laptelui (10).

Raportul țesut conjunctiv / țesut secretor variază în funcție de individ și de gradul de dezvoltare a glandei mamare, fiind optim pentru o activitate secretorie eficientă, în cazul în care țesutul glandular este reprezentat în proporție de 75 - 80% (19).

Țesutul secretor al ugerului este organizat în lobi, fiecare lob fiind alcătuit din mai mulți lobuli. Fiecare lobul conține un număr variabil de alveole secretoare.

Alveolele (acinii)

Sunt structuri asemănătoare unor săculeți unde se sintetizează și se secretă laptele.

Alveola este considerată unitatea discretă de secreție a laptelui. Lumenul alveolar este căptușit de un singur strat de celule epiteliale secretoare (11, 16).

Diametrul fiecărei alveole este cuprins între 50 și 250 nm. Epiteliul glandular este înconjurat de celule mioepiteliale contractile care se contractă ca răspuns al acțiunii ocitocinei, conducând la eliberarea laptelui din lumenul alveolar în canale lactifere mai mici.

Alveola este căptușită, peste celulele mioepiteliale, de țesut conjunctiv. Rețeaua capilară care vascularizează alveolele secretoare este componenta țesutului conjunctiv stromal interlobular (11, 17).

Lobulii sunt grămezi de 150-220 alveole încapsulate într-un strat de conjunctiv ($\approx$ 7-8 mm diametru).

Lobii sunt formați din numeroși lobuli delimitați de țesut conjunctiv.

Sistemul de canale lactifere

Canalele sau ductele lactifere sunt tubi prin care laptele este transportat din alveole până în cisterna glandulară. Canalele interlobare sau principale care drenează laptele din mai mulți lobuli sunt căptușite de un epiteliu bistratificat cu celule nesecretoare asociate cu numeroase celule mioepiteliale (11, 18).

Canalele intralobare se găsesc plasate în interiorul lobului și drenează laptele din mai multe regiuni ale lobului respectiv. Canalele intralobulare sunt canale mici existente în lobuli.

Canalele interlobulare sau secundare, care drenează laptele din mai mulți lobuli, prezintă un epiteliu monostratificat alcătuit din celule secretoare, înconjurat de celule mioepiteliale foarte sensibile la acțiunea ocitocinei.

Canalele intercalare sau terțiare pătrăsc alveolele și au dimensiunile cele mai mici (2, 4, 6, 11, 19).

Sistemul vascular

Sistemul sanguin asigură alimentarea continuă cu substraturi pentru sinteza laptelui.

Se știe că toți precursorii laptelui provin din sânge, majoritatea autorilor considerând că pentru fiecare unitate de lapte sintetizat prin ufer trec 400 - 500 de unități de sânge prin uger ($\sim$ 280 ml pe sec).

Creșterea de 2-6 ori a fluxului sanguin în glanda mamară, începând cu 2-3 zile de pregătire crește eficiența extragerii componentelor din sânge. Scăderea producției de lapte, odată cu înaintarea lactației nu este datorită scăderii fluxului sanguin, ci mai degrabă pierderii celulelor epiteliale secretoare prin fenomenul de apoptoză (22).

Vascularizația glandei mamare este extrem de importantă pentru funcționarea eficientă a acesteia deoarece toți precursorii laptelui provin din sânge (Fig. 4).

În urma unui experiment, s-a constatat că administrarea glucozei intravenos în artera iliacă externă conduce la creșterea sintezei de lactoză în lapte, dar are ca efect negativ scăderea sintezei de lipide și proteine precum și reducerea circulației sangvine în glanda mamară (2, 4, 11).

Un procent de 8% din volumul total de sânge este cuprins în volumul total al ugerului unei vaci lactante. Pentru a produce 20 de litri de lapte/zi, prin glanda mamară a unei vaci în lactație trebuie să circule 10000 l de sânge, revenind 500 l pentru fiecare litru de lapte. Aceeași cantitate de lapte este produsă, secretată, stocată și eliberată zilnic succesiv dintr-un țesut secretor cu o greutate de 25 kg.

Aceste corelații au în vedere existența unui țesut secretor extins, un aport sangvin adecvat și un țesut conjunctiv de susținere.

Debitul circulației sangvine poate fi determinat pe minut și are o valoare aproximativă de 20-30% din debitul sangvin total (1, 2, 18).

Vasele sangvine care asigură suportul nutritiv celor două jumătăți ale ugerului nu se

intersectează, deși câteodată pot exista unele excepții minore (11, 15).

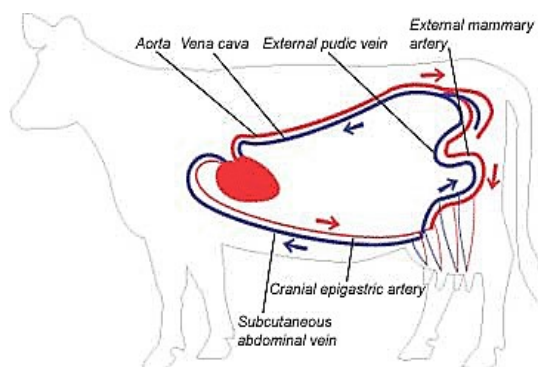


Figura 4. Reprezentare schematică a sistemului vascular al ugerului la vacă, ilustrând suportul arterial și venos (21).

Sistemul arterial

Din cord, sângele oxigenat ajunge în uger prin artera aortă. În zona pubisului, artera aortă se ramifică în arterele iliace comune. Acestea se vor ramifica, la rândul lor, în artera iliacă internă și externă.

Artera iliacă externă devine artera femurală (care vascularizează membrele posterioare), din care se va desprinde o ramură ce formează artera pudendă externă și artera abdominală posterioară.

Artera pudendă externă trece prin canalul ingvinal, părăsind cavitatea abdominală, și devine artera mamară (≈21 cm).

Odată pătrunsă în uger, artera mamară se ramifică în artera mamară cranială (anterioară) și artera mamară caudală (posterioară), care vor da mai departe ramificații colaterale.

O cantitate mai mică de sânge ajunge în glanda mamară prin artera perineală (ramură a arterei iliace interne), care vascularizează numai sferturile posterioare.

Imediat sub inelul ingvinal, artera pudendă formează o curbă în forma literei S – flexura sigmoidă, care permite distensia descendentă a ugerului pe măsură ce se secretă laptele, fără a afecta vasele sangvine (10).

Sistemul venos

Venele care părăsesc glanda mamară au un traiect antiparalel cu arterele. Există trei

vene importante în fiecare jumătate a ugerului care transportă sângele neoxigenat:

- **Vena pudendă externă** care părăsește ugerul pe un traiect antiparalel cu artera pudendă externă (2-3 cm diametru).
- **Vena abdominală subcutanată** se găsește în porțiunea terminală cranială a sferturilor anterioare și străbate peretele abdominal (1 – 2,5 cm diametru). Este o venă cu un diametru larg, vizibilă sub pielea zonei ventrale a abdomenului, care va pătrunde în cavitatea abdominală la nivelul procesului xifoid și se unește cu vena cavă.
- **Vena perineală** părăsește sferturile caudale antiparalel cu artera perineală (0,5 cm diametru). Această venă transportă mai puțin de 10 % din sângele care părăsește ugerul.

Anastomozele care se realizează între venele mamare anterioare și posterioare dau naștere unui „cerc venos” care, la rândul lui, previne blocarea circulației sangvine în uger, în timpul decubitului (10, 15).

Sistemul nervos

În ceea ce privește sistemul nervos al glandei mamare, există câteva aspecte importante.

- Inervația ugerului este difuză comparativ cu alte țesuturi.
- În glanda mamară, nervii simpatici sunt asociați arterelor și nu inervează alveolele secretorii.
- Nervii senzitivi sunt localizați în papile și în piele și sunt implicați în transmiterea ascendentă a reflexului de ejecție a laptelui.
- Sistemul secretor și respectiv celulele mioepiteliale nu prezintă inervație, acestea contractându-se numai ca răspuns al acțiunii mesagerilor endocrini (ocitocina).
- Puține terminații nervoase pătrund în profunzimea glandei mamare și, din acest motiv, biopsia sau intervențiile chirurgicale pot fi efectuate utilizând numai anestezie locală.

Sistemul limfatic

Sistemul limfatic asigură mijloacele de echilibrare a dinamicii fluidelor fluidelor în țesut. Moleculele mari, proteinele, metaboliții, produșii de secreție, nu revin la drenaj venos, dar sunt identificați în spațiile interstițiale, perturbând echilibrul normal al presiunii osmotice din țesuturi, această dereglare a schimbului de lichide, va antrena trans-capilar excesul de lichid care se acumulează în spațiile interstițiale.

Lichidele extracelulare drenate din țesut înapoi în sânge prin rețeaua limfatică conțin limfocite și macrofage în limfă noduri, un răspuns imun la bacterii și străine transport vitamina K, lipide (1, 16).

Multe molecule de dimensiuni diferite, în special proteinele, părăsesc capilarele, dar nu toate se reîntorc în circulația sangvină. Acestea, împreună cu metaboliții celulari și anumiți produși de secreție se găsesc în spațiul extracelular (interstițial).

Dacă aceste molecule rămân în spațiul interstițial, în țesut apare un dezechilibru al presiunii osmotice, care va îngreuna schimbul transcapilar de fluide. În acest fel, excesul de fluid se va acumula în spațiul interstițial conducând la apariția edemului tisular (16).

Funcțiile sistemului limfatic în general și în glanda mamară, în special, sunt următoarele:

- Prin sistemul limfatic, fluidele extracelulare sunt drenate din țesut și reintră în circulația sangvină.
- Sistemul limfatic conține un număr mare de leucocite, în principal limfocite și macrofage, concentrate în limfonoduri. Leucocitele se mobilizează și inițiază răspunsuri imune împotriva bacteriilor și a structurilor „non-self”.
- Rețeaua limfatică are rol în transportul unor componente absorbite la nivel intestinal, cum sunt lipidele (10, 19).

Rețeaua limfatică își are originea în spațiul interstițial unde se formează capilarele limfatice. Acestea sunt asemănătoare capilarelor sangvine, dar sunt mult mai permeabile și cu o rezistență scăzută la pasajul fluidelor. Capilarele limfatice nu prezintă membrane bazale și converg în vase

limfatice mai mari. Circulația limfatică este unidirecțională, de la țesuturi, prin vasele limfatice, până în vena cavă. Limfa este un fluid clar, incolor, cu o compoziție similară plasmei sangvine.

Modificările care apar în plasma sangvină se răsfrâng și asupra plasmei limfatice. Concentrația proteică plasmatică a limfei este mult mai scăzută comparativ cu cea sangvină (1,5% pentru limfă și 6% pentru sânge).

Proteinele specifice diferă, de exemplu, albumina are o greutate moleculară mai mică decât globulinele și părăsesc capilarele mult mai rapid, astfel că raportul albumine/globuline este 1:8 pentru plasmă și 2:5 pentru limfă.

Concentrația proteică limfatică variază invers proporțional cu rata de formare a limfei iar rata de filtrare variază în funcție de țesut. În ficat și intestin, limfa conține 5% proteine comparativ cu extremitățile, unde concentrația proteică ajunge la 0,5%. Circulația limfatică este, de obicei, lentă, fiind influențată în primul rând de rata de formare a limfei. În uger, aproape toate vasele limfatice trec prin limfonodurile supramamare.

De obicei, există unul sau două limfonoduri în fiecare jumătate a ugerului (Fig. 5).

Uneori pot exista chiar 7 limfonoduri / jumătate. Frecvent, există limfonoduri accesorii situate în profunzimea glandei și limfonoduri superficiale situate imediat sub piele. Vasele limfatice părăsesc glanda mamară prin inelul ingvinal (similar circulației sangvine).

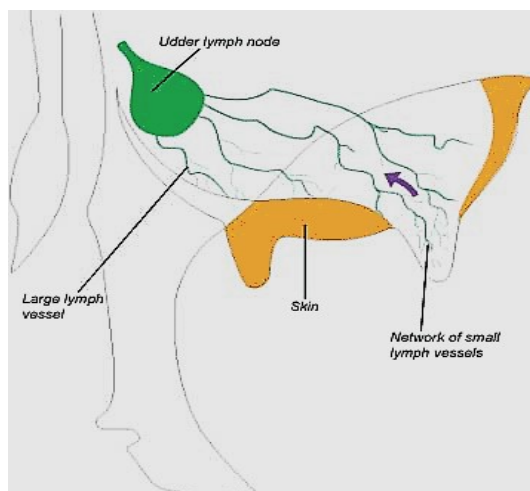


Figura 5. Sistemul limfatic al ugerului la vacă (17, 21).

În cazul apariției mamei, în limfonoduri crește rata de proliferare și eliberare a limfocitelor în vasele limfatice, care ajung în circulația sangvină a ugerului pentru a iniția un răspuns imun adecvat (5, 10, 13).

Histologia și citologia glandei mamare

Glandele mamare sunt glande tubulo-alveolare care provin din transformarea glandelor sudoripare. Alveolele secretorii prezintă un epiteliu monostratificat columnar al cărui celule variază marcant din punct de vedere al înălțimii în timpul diferitelor stadii de activitate secretorie (Fig. 6).

La scurt timp după producerea laptelui, alveolele încep o nouă fază secretorie. În acest moment, lumenul este parțial închis iar epitelul prezintă o suprafață neregulată (6, 19).

Privite în ansamblu, celulele epiteliale columnare (*lactocitele*) prezintă, în porțiunea bazală, un reticul endoplasmatic rugos foarte bine dezvoltat iar în porțiunea apicală, picături de lipide aflate în strânsă legătură cu mitocondriile și veziculele secretate, încărcate cu miceli proteice lactoformatoare (2, 18).

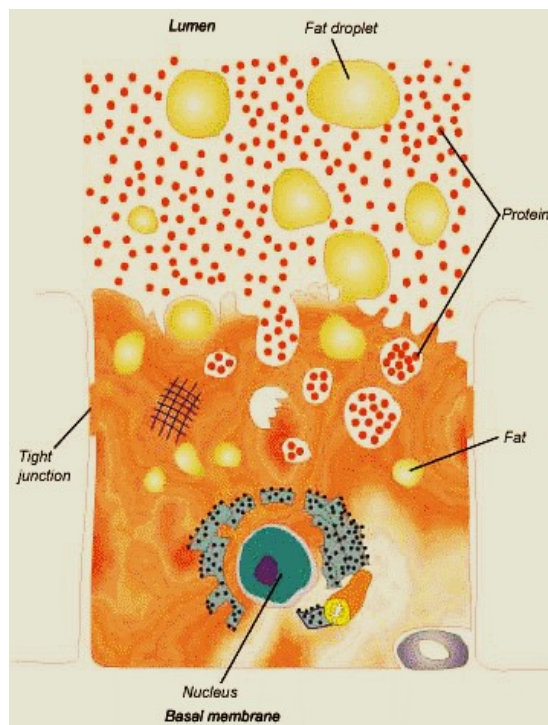


Figura 6. Reprezentarea schematică a celulei epiteliale alveolare (21).

Deoarece ciclul secretor este continuu, picăturile de lipide se deplasează spre polul apical al celulei, traversează membrana celulară și ajung în lumenul alveolar, fapt ce explică o secreție de tip *apocrin*.

Aceste picături de lipide eliberate sunt înconjurate de o cantitate variabilă de citoplasmă și de plasmalema desprinsă din membrana celulară (14, 17, 18).

Acumularea picăturilor de lipide se exprimă prin aspectul franjurat al suprafeței apicale al celulelor. Frecvent, picături mici de lipide pot conflua și forma o picătură de grăsime unică de dimensiuni mari. Membranele laterale ale celulelor sunt, de obicei, neobservabile (14, 17, 18).

Veziculele încărcate cu miceli proteice se deplasează și ele spre suprafața celulei și sunt eliberate prin exocitoză. Prin urmare, laptele este produs atât prin secreție apocrină cât și prin secreție *merocrină*. În timpul procesului de secreție, nucleul poate fi plasat bazal sau apical. Uneori, nucleul poate fi eliberat în lumen și devine parte componentă a produsului secretat (3, 6, 14, 18).

Celulele epiteliale sunt supuse unor mari variații de structură și arhitectonică și cu toate acestea, sunt strâns legate una de alta, prin numeroase dispozitive speciale de legătură intercelulară. Prezența și numărul acestor structuri de legătură exprimă gradul de solicitare mecanică la care este supus un epiteliu (19).

Celulele epiteliale prezintă un turnover rapid, fapt care implică o regenerare celulară sincronă în scopul reglării diviziunii, diferențierii și autoconservării.

În epiteliile glandulare mamare este necesar ca spațiile intercelulare să fie complet închise pentru a evita pierderile de lichid interstițial din țesutul conjunctiv subadiacent și pentru a evita pătrunderea în organism a bacteriilor (7, 16, 19).

Joncțiunile intercelulare care asigură etanșeitățile structurilor epiteliale se formează și evoluează odată cu celulele epitelului mamar și suferă fenomene de degenerare odată cu desprinderea celulelor îmbătrânite.

Aceste structuri de legătură sunt împărțite în trei categorii funcționale, după cum urmează:

- **joncțiuni de adezivitate** – care asigură aderarea mecanică a celulelor,
- **joncțiuni impermeabile** – care asigură etanșeitatea epiteliului și
- **joncțiuni de comunicare** – care mediază trecerea unor molecule de dimensiuni mici (ioni, glucide aminoacizi, nucleotide, hormoni, vitamine etc.) de la o celulă la alta (14, 17, 18).

Celulele epiteliale glandulare funcționează ca o barieră selectivă, care separă fluidele din diferite compartimente ale țesutului mamar, menține diferențele chimice dintre acestea și nu permite trecerea directă a substanțelor aflate la polul vascular al celulelor în lumenul alveolelor mamare secretorii (14, 17, 18).

Funcția de barieră selectivă este îndeplinită de joncțiunile impermeabile, plasate la polul apical al celulelor, care realizează transportul transepitelial, limitând difuzarea substanțelor prin spațiul intercelular.

Joncțiunile de comunicare (gap) asigură cooperarea metabolică a celulelor secretorii epiteliale cu importanță deosebită în embriogeneză și implicit în mamogeneză (are loc o distribuire a substanțelor trofice, înainte ca sistemul circulator să se formeze), constituind, de asemenea, o cale de transmitere a semnalelor chimice la distanță (7, 18; 19).

În cursul lactogenezei, celulele secretorii trec printr-un însemnat proces de diferențiere, volumul lor crescând considerabil, iar în citoplasmă se evidențiază complexul Golgi și reticulul endoplasmatic foarte bine reprezentați, alături de numeroase mitocondrii (sinteza laptelui este un proces care se realizează cu un consum mare de energie), celula devenind aptă încă dinaintea inițierii acestui proces.

Începând din acest stadiu, lactocitele nu se mai multiplică și evoluează inevitabil spre epuizare și dispariție.

Producerea continuă a laptelui determină mărirea lumenului alveolar și fuzionarea parțială a alveolelor adiacente.

La sfârșitul ciclului secretor, celulele epiteliale prezintă o formă cubică și chiar pavimentoasă. În lumenul alveolar al glandei mamare pot să apară mai multe tipuri celulare

cum ar fi: celule epiteliale descumate, leucocite și macrofage, toate fiind componente ale laptelui, pe perioada lactației.

Oricum, macrofagele și leucocitele, în special în timpul lactației timpurii, sunt predominante, fiind considerate componente ale colostrului (7, 18, 19).

Rata și dinamica activității alveolelor mamare este corelată cu nivelul producției de lapte și cu durata lactației.

Celulele mioepiteliale prezente în structura lobulului sunt foarte sensibile și se contractă ca răspuns la acțiunea ocitocinei (eliberată de către neurohipofiză), forțând, în acest fel, laptele să pătrundă din unitățile secretorii în sistemul canalicular (Fig. 7).

Înainte de muls, aproximativ 20-30% din cantitatea de lapte este repartizată în sinusul lactifer și aproximativ 55-65% în țesutul lobuloalveolar, contracția celulelor mioepiteliale constituind factorul principal responsabil de eiecția laptelui (18).

Țesutul interstițial la glandei mamare asigură un important suport structural pentru unitățile secretorii și conține vase sangvine, vase limfatice și nervi.

Fiecare unitate secretorie este înconjurată de țesut conjunctiv lax, care prezintă un plex extins de capilare sangvine și limfatice. În structura stromei, plasmocitele și limfocitele se găsesc alături de fibroblaste, numărul lor crescând la parturiție, atunci când începe secreția colostrului (Banks, 1981).

Grupuri de unități secretorii tubuloalveolare formează *lobuli*, care sunt separați prin septuri de țesut conjunctiv (Fig. 8).

Lobulii glandulari nu se găsesc, în același timp, în aceeași fază secretorie. Astfel, unii lobuli se pot găsi în faza terminală a ciclului lor secretor, fiind saturați cu lapte, în timp ce alți lobuli își încep activitatea secretorie.

Prin urmare, o singură secțiune histologică poate prezenta lobuli în diferite stadii de activitate secretorie. În mod normal, toate alveolele dintr-un lobul se găsesc aproximativ în aceeași fază de secreție (6, 19).

Țesutul conjunctiv interlobular este subțire și conține canalele lobulare, vasele sangvine și limfatice mai mari.

Sistemul glandular de canale începe cu **canalul intralobular**, care prezintă un epiteliu monostratificat cubic, cu excepția porțiunii proximale, care este căptușită cu un epiteliu monostratificat columnar secretor.

Grupul de unități secretorii (acini) drenate de același canal excretor intralobular, formează o unitate numită **adenomer** (6, 19).

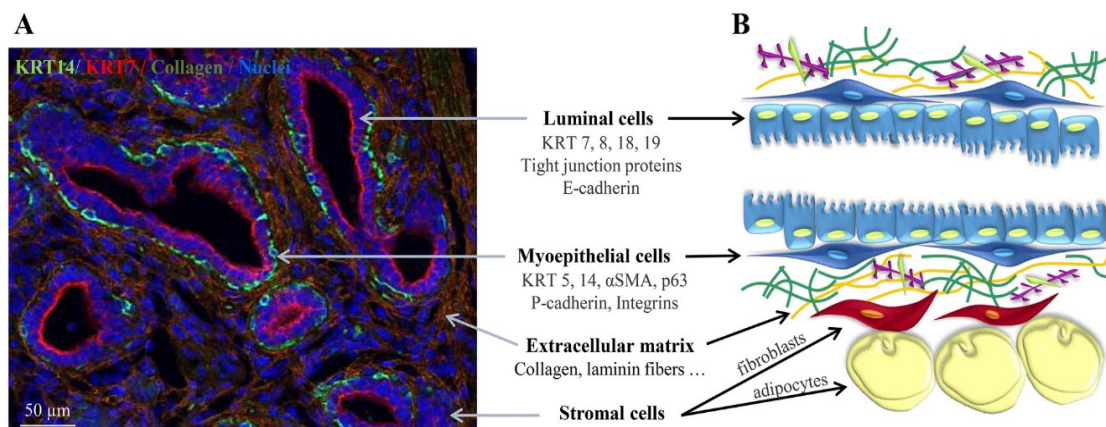


Figura 7. Organizarea epitelului în glanda mamară a vacilor care alăptează (8).

Secțiune de țesut mamar analizată prin imunofluorescență indirectă și marcată pentru keratinele KRT14 și KRT7 și collagen de tip I pentru matricea extracelulară. Nucleii au fost contracolorați cu DAPI. B Reprezentare schematică a stratului dublu epitelial cu celule luminal și mioepiteliale, toate separate de celulele stromale prin lamina bazală constituită din proteine de matrice extracelulară. Proteinele prezente în fiecare tip de celulă sunt indicate la mijloc. α SMA mușchi neted actină alfa, cheratina KRT. Bară de scară = 50 μ m 9 (8).

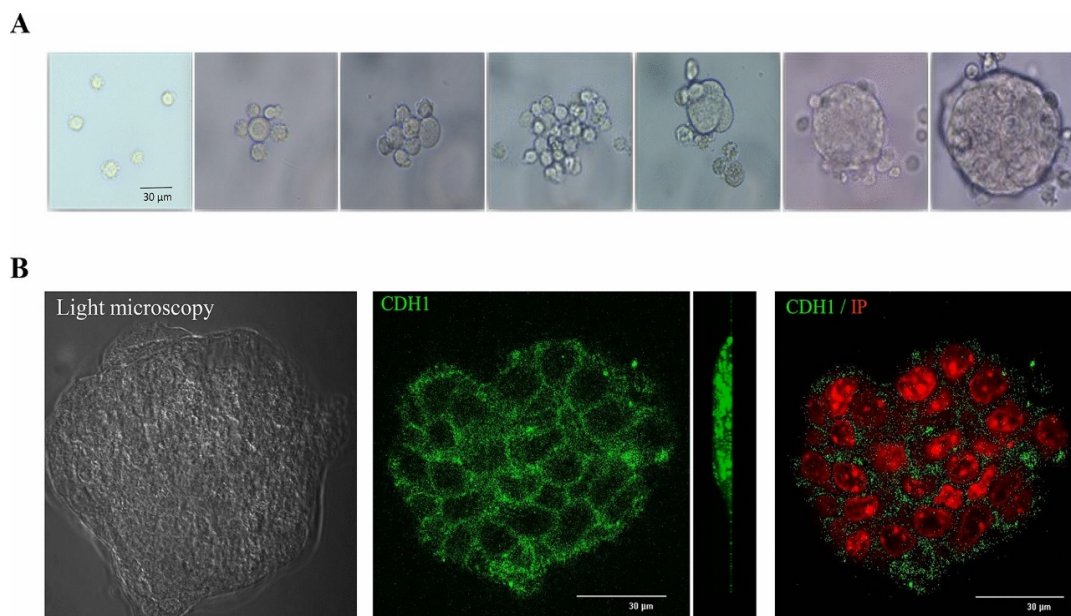


Figura 7. Cultură celulară tridimensională a celulelor epiteliale mamare cu gel Matrigel® (8).

A. Imagini de microscopie luminoasă ale formării mammosferei prin auto-asamblare celulară (linie celulară BME-UV1, mărire $\times 10$) din ziua însămânțării până în ziua 9 a culturii.

B. Imagini de microscopie confocală ale unei secțiuni de mammosferă în lumină vizibilă (stânga) și în urma imunofluorescenței indirecte cu anticorpi anti-E-cadherină (CDH1, vedere ortogonală în panoul din dreapta) și co-etichetare cu iodură de propidiu (colorarea nucleelor, CDH1/IP).

Bară de scară = 30 μ m.

Canalele intralobulare confluează și formează *canalele lobulare*, care prezintă un epiteliu monostratificat cubic sau columnar nesecretor. Canalul lobular este considerat canalul excretor principal pentru un lobul.

Numeroase canale lobulare se unesc și formează *canalul lobar*. Acesta este canalul excretor pentru un lob și prezintă un epiteliu bistratificat cubic sau columnar.

Pe lângă funcția de excreție a laptelui, canalele lobare se pot dilata și pot servi la stocarea laptelui (Banks, 1981; Șincai, 2000).

Numeroase canale lobare drenează laptele în sinusul glandular (cisterna glandulară), care prezintă același tip de epiteliu. Acest sinus este un compartiment comun pentru fiecare sfert mamar, și este situat la baza lor.

Volumul cisternei este foarte variabil. O ușoară constricție sau faldul anular separă sinusul glandular de sinusul papilar, cel din urmă prezentând un epiteliu bistratificat columnar (2, 19).

Faldul inelar care separă cele două sinusuri nu este întotdeauna vizibil. Cele două cisterne formează împreună sinusul lactifer.

Sinusul papilar se continuă cu canalul papilar, care prezintă un orificiu intern marcat de schimbarea bruscă a tipului de epiteliu, și anume devine multistratificat pavimentos cheratinizat. Tunica mucoasă din această zonă este organizată în falduri longitudinale, numită rozeta lui Furstenburg (6, 7, 9, 19).

Epiteliul canalului are o structură asemănătoare epidermei și se continuă cu orificiul extern (2, 19).

Țesutul conjunctiv al glandei mamare variază în funcție de poziția lui în organ.

Țesutul conjunctiv intralobular prezintă o distribuție difuză, este format din țesut conjunctiv areolar (lax) și conține o rețea capilară foarte extinsă. Numeroase celule mioepiteliale sunt asociate intim alveolelor și canaliculilor secretori.

Țesutul conjunctiv interlobular (intralobar) și interlobar este, de asemenea, lax, cu numeroase fibre elastice și de colagen, vase sangvine, limfatice și nervi.

Canalele excretoare mai mari au asociate benzi de celule musculare netede și fibre elastice dispuse helicoidal (2, 6, 19).

Capsula glandei mamare este formată din țesut conjunctiv fibroelastic, cu un conținut mai mare în fibre elastice, împărțind glanda mamară în cele patru sferturi.

Membrana externă a capsulei este formată din țesut conjunctiv fibros dens alb (orientat), care cuprinde ligamentul suspensor lateral. Ligamentul suspensor median este bogat, în special, în fibre elastice (2).

Tunica mucoasă și țesutul conjunctiv asociat (lamina propria și submucoasa) din sinusul și canalul papilar se găsesc în strânsă legătură și se continuă cu derma și epiderma pielii, care acoperă papila mamară.

Epiteliul este bistratificat columnar, și se continuă cu lamina propria a țesutului conjunctiv areolar, bogat în fibre elastice. Nu există o submucoasă distinctivă (Fig. 9).

Tunica musculară este reprezentată de benzi de țesut muscular neted (2, 6, 10).

Fibrele musculare netede formează un sfincter atât în zona orificiului intern al canalului papilar, cât și la joncțiunea dintre sinusul papilar și sinusul glandular. Vasele sangvine și limfatice asociate straturilor musculare netede prezintă un perete subțire și se dispun longitudinal.

Țesutul conjunctiv periferic mușchilor netezi este reprezentat de derma pielii (țesut conjunctiv dens neorientat), care prezintă o structură tipică cu excepția faptului că, în cazul glandei mamare, este bogată în fibre elastice (2; 6, 19).

Involuția glandei mamare începe imediat după încetarea lactației sau după întreruperea bruscă a suptului sau mulsului, când apare distensia alveolelor secretorii determinată de acumularea laptelui în lumen.

Dacă produsul de secreție nu va fi eliberat din alveole, timp de câteva zile, în celulele epiteliale începe un proces degenerativ și laptele va fi absorbit treptat.

Caracteristică pentru glanda mamară în involuție este prezența țesutului conjunctiv în proporție mai mare în detrimentul elementelor glandulare (Fig. 10).

În parenchimul glandular involutiv, se găsesc doar câteva alveole secretorii dispuse izolat și puține ramificații ale sistemului canalicular. Cele două elemente structurale glandulare prezintă un epiteliu monostratificat cubic, cu predominarea celulelor mioepiteliale subiacente.

Septurile de țesut conjunctiv sunt subțiri și pot apare adipocite dispuse izolat sau în cuiburi. În structura alveolelor, a canalelor lactifere sau în țesutul interstițial sunt prezente, în cantități semnificative, limfocitele și limfoplasmocitele. De asemenea, în lumenul alveolar se observă prezența unor corpi refringenți de cazeină, numiți *corpora amylacea* (2).

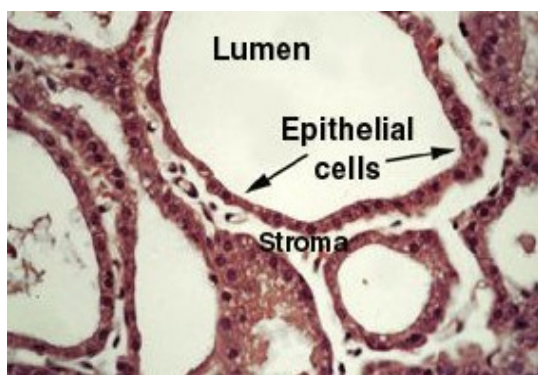


Figura 9. Structura alveolelor (acinilor) la vacă (11)

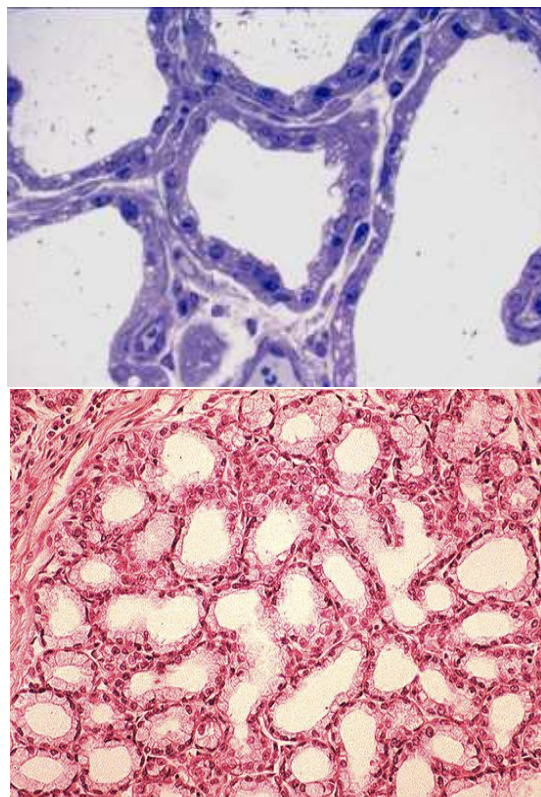
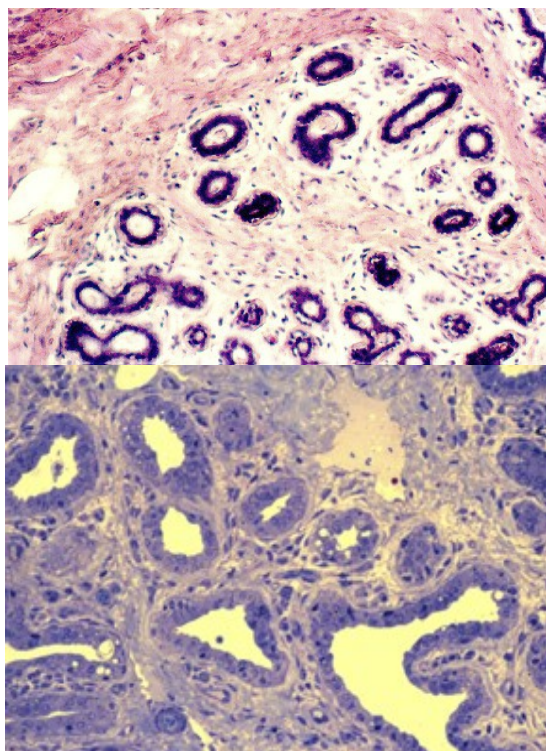


Figura 10. Aspectul glandei mamare și la vacă: a, b - repaus mamar; c,d - lactație (11, 21)

Mecanismul celular al sintezei și secreției laptelui

Laptele este produsul de secreție al glandei mamare, elaborat pe baza unor procese de sinteză și filtrare selectivă, cu sediul în structurile lactifere.

Sinteza laptelui se realizează cu participarea unui material biologic preformat și vehiculat prin intermediul circulației sanguine generale.

Majoritatea constituenților din lapte – grăsimile, lactoza și aproape toate proteinele – sunt produși în celulele epiteliale alveolare mamare pe seama substanțelor precursorare din sânge, în timp ce alți constituenți – apa, imunoglobulinele, vitaminele și sărurile minerale – se integrează în produsul final, prin transport direct (2, 5, 18).

În stadiul de lactație, în celulele epiteliale din glanda mamară se sincronizează patru procese secretorii: exocitoza, sinteza și secreția lipidelor, secreția transmembranară a ionilor și apei și transitoza din spațiul interstițial a unor proteine extraalveolare, cum

ar fi imunoglobulinele, hormonii și albuminele. Al V-lea proces, *secreția paracelulară*, permite transferul direct de componente din spațiul interstițial în lapte.

Această cale este accesibilă în glanda mamară numai pe perioada de gestație, permițând transferul de molecule cel puțin la fel de mari, ca și greutatea moleculară, și de intacte, cum sunt imunoglobulinele (**Fig. 11**).

Calea paracelulară este inaccesibilă când glanda mamară se află în perioada de lactație intensă, când se formează o barieră impermeabilă între lapte și spațiul interstițial.

Această barieră se poate deschide în perioada de involuție a glandei mamare sau în cazul apariției mamitelor (**14, 18**).

Existența unei selecții active la nivelul epiteliului glandular, determină uneori pentru același constituent concentrații sangvine și lactice foarte diferite (**18**).

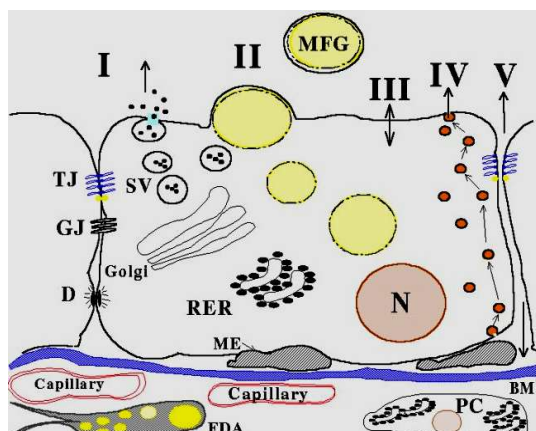


Figura 11. Reprezentarea schematică a celulei alveolare în faza de secreție (**13**):

N – nucleu;
TJ – joncțiuni impermeabile;
GJ – joncțiuni gap;
D – desmozom;
SV – veziculă secretorie;
FDA – adipocit;
PC – limfoplasmocit;
BM – membrană bazală;
ME – celulă mioepitelială;
RER – reticul endoplasmatic rugos;
I – exocitoză; II – secreția apocrină; III – transportul apical; IV – transcitoză și V – calea paracelulară.

Exocitoza

Este procesul prin care vezicule din citoplasmă, care conțin diverse substanțe, fuzionează cu plasmalema și sunt eliminate în afara celulei. Toate celulele sintetizează în mod continuu cantități mici de proteine în scop

plastic sau funcțional. Majoritatea componentelor hidrosolubile din lapte sunt eliberate din celulă prin exocitoză. Pe măsura diferențierii lor, celulele secretorii alveolare mamare sintetizează însă, cantități excesiv de mari de protein (**3, 5, 10, 11, 14**).

Aminoacizii care pătrund în citoplasma celulelor epiteliale secretorii, prin polul bazal al membranei celulare, trecere care este accelerată de sistem simport de transport activ, sunt legați de ARN-ul de transport. Sinteza proteinelor se realizează utilizând aminoacizii legați de ARN-ul de transport pentru a descifra mesajul codificat de ARN-ul mesager.

Ribozomii se atașează de membrana reticulului endoplasmatic prin subunitățile lor mari. Proteinele sintetizate și transferate în lumenul reticulului endoplasmatic rugos suferă fenomene de clivaj a secvențelor de aminoacizi de inițiere, de formare a punților disulfidice, de glicozilare și de modificare a unor radicali ai aminoacizilor (**3, 5, 10, 11**).

Prin aceste modificări multiple, proteinele de secreție își creează structura lor terțiară finală.

Moleculele proteice vor fi apoi transferate în sacii golgieni, cu ajutorul veziculelor formate din membranele reticulului endoplasmatic rugos. În sacii golgieni, polipeptidele suferă mai departe procese de adiție a carbohidraților, fosfaților sau a altor grupări prostetice și vor fi înglobate în veziculele secretorii. În plus, în cursul procesării proteinelor din lapte, veziculele golgiene din celulele alveolare ale glandei mamare în lactație, sintetizează lactoza din precursori: galactoza și glucoza.

Monozaharidele sunt foarte active din punct de vedere osmotic și pătrund din citoplasmă în sacii golgieni (**10, 11**).

Membrana complexului Golgi este impermeabilă pentru lactoză și din acest motiv, secreția acestora se realizează împreună cu proteinele, veziculele de exocitoză cuprinzând ambele componente (**3, 5, 10, 11, 14**).

Formarea miceliilor cazeinice începe pe fața „cis” a sacilor golgieni cu condensarea moleculelor de cazeină. Adiția calciului și a fosforului în veziculele secretorii golgiene conduc la maturarea miceliilor de cazeină și la

formarea unor particule suficient de dense pentru a fi observabile prin microscopie electronică. Veziculele secretorii reprezintă sursa pentru majoritatea constituenților hidrosolubili ai laptelui, inclusiv citrații, nucleotidele, calciul, fosfații, și probabil ionii monovalenți și glucoza (3, 5, 11).

Oricum, membrana apicală a celulelor alveolare mamare prezintă transportori pentru ionii monovalenți și glucoză, iar concentrația celulară a acestor două substanțe poate fi ajustată printr-un transport membranar direct (6, 11, 18).

Veziculele secretorii se deplasează spre membrana celulară cu care fuzionează și eliberează conținutul lor în spațiul luminal alveolar. Modalitatea de secreție a laptelui care implică exocitoza este constitutivă în procent ridicat. Acest lucru se traduce prin faptul că, odată începută secreția lactată după parturiție, exocitoza este continuă, produșii secretați nefiind stocați în celulele epiteliale. Apa pătrunde în veziculele golgiene terminale (6).

Sinteza și secreția lipidelor.

Trigliceridele, sintetizate din precursori – acizi grași și glicerol, în reticulul endoplasmatic neted al celulelor alveolare mamare, fuzionează în picături de lipide, care se vor deplasa spre polul apical al celulei.

Precursorii lipidelor din lapte sunt preluați de către celulele epiteliale, în zona laterobazală, prin joncțiuni gap. La bovine, acizii grași cu catena de până la 14 atomi de carbon și aproximativ jumătate din cei cu catena de 16 atomi de carbon sunt sintetizați în celulele epiteliale alveolare mamare, în special din conversia acidului acetic și în mai mică măsură a acidului β-hidroxi-butiric.

Glicerolul provine fie din trigliceridele preluate din sânge (chilomicromi), fie din conversia ad-hoc a glucozei în epiteliul secretor mamar (3, 5, 14).

Picăturile de lipide devin proeminente și vor fi acoperite treptat de plasmalema apicală, separându-se în final de celulă ca globule de grăsime specifice laptelui. Includerea ocazională a unei cantități crescute de citoplasmă în interiorul globulelor permite pătrunderea în lapte și a altor componente citoplasmice (3, 5, 10, 11, 14).

Plasmalema care înconjoară globulele de grăsime îndeplinește două funcții: reprezintă sursa principală de fosfolipide și colesterol pentru nou-născuți și previne fuzionarea globulelor de grăsime în particule mai mari, fapt ce ar îngreuna excreția lor (11, 14).

De asemenea, membrana celulară care înconjoară picăturile de lipide le asigură stabilitatea acestora în suspensie și protejează conținutul față de acțiunea lipazei din lapte.

La bovine, celulele alveolare glandulare prezintă o capacitate remarcabilă de *desaturare* a acizilor grași utilizați în sinteza trigliceridelor, proces deosebit de important, întrucât flora microbiană din prestomacuri saturează acizii grași din furaje, glanda mamară primind astfel pe cale sangvină o cantitate mică de acizi grași nesaturați (3, 5, 10, 11, 14).

Recuperarea de către celula secretorie mamară a membranei pierdute prin acest proces de exocitoză se realizează prin încorporarea membranelor veziculelor secretorii proteice provenite din structurile complexului Golgi (5, 18).

Transportul prin membrana apicală.

În contrast cu alte căi de secreție a laptelui, modalitatea de transport direct a substanțelor prin membrana apicală a celulelor alveolare mamare este mai puțin înțeleasă și cercetată (5, 10, 11).

Anumiți cercetători au conceput o tehnică pentru determinarea moleculelor care pot utiliza această cale, prin infuzarea ascendentă de izotopi ai unor molecule mici, prin canalul papilar la ovine și calcularea cantității de substanțe care a părăsit laptele și a pătruns în circulația sangvină (3, 5, 10, 11, 14).

În urma acestui experiment, s-a constatat că sodiul, potasiul, clorul, anumite monozaharide și apa sunt permeabile și traversează direct membrana apicală a celulelor secretorii, dar nu și calciul, fosfații și citrații.

Studiile asupra secreției de bicarbonat de sodiu au arătat prezența în membrana apicală a unui canal antiport clor – bicarbonat de sodiu. De asemenea, studiile efectuate cu izotopi stabili au confirmat existența transportului direct al glucozei prin membrana

apicală a celulelor secretorii din glanda mamară (3, 11).

Modul cum funcționează secreția directă prin polul apical al celulelor nu este pe deplin cunoscută, din moment ce componentele hidrosolubile ale laptelui se formează cu participarea complexului Golgi și a veziculelor secretorii (3, 5, 10, 11, 14)..

Ceea ce se cunoaște cu siguranță este faptul că acest mecanism de transport și secreție este limitat la un număr modest de molecule mici, deși frecvent multe substanțe medicamentoase pătrund în lapte prin transferul direct atât prin membrana latero-bazală cât și prin porțiunea apicală a celulelor alveolare mamare. Din acest motiv, multe substanțe terapeutice sunt transferate rapid și eficient în lapte (11, 14).

Transcitoza moleculelor din spațiul interstițial.

Este un fenomen de transport prin vezicule care se deplasează de la o suprafață celulară la alta.

Transcitoza este o formă de transport a macromoleculelor când se formează vezicule care se deplasează în celulă dinspre fața luminală spre fața interstițială sau invers, realizându-se schimbul de substanțe. Uneori, când viteza de formare și de circulație este mare, veziculele pot fuziona și forma canale care străbat celulele de pe o față pe alta (7, 14, 19).

Prin transcitoză are loc secreția albuminei serice și a δ -globulinelor. Dintre cele două tipuri de proteine, δ -globulinele se remarcă prin importanța lor imunologică.

În timpul lactației rămâne disponibilă numai transcitoza. Imunoglobulinele (aparțin în special claselor Ig G și Ig A) care pătrund în lapte prin acest mecanism sunt sintetizate fie de către celulele alveolare și eliberate în spațiul interstițial al glandei mamare, fie de către limfoplasmocitele plasate adiacent laminei proprii a membranei bazale sau în alte țesuturi (20).

Imunoglobulinele G prezintă origine sangvină, iar imunoglobulinele A sunt sintetizate de limfoplasmocitele localizate în vecinătatea alveolei mamare (20).

Apariția imunoglobulinelor în lapte este asigurată de prezența receptorilor specifici pentru acestea, care recunosc și rețin moleculele respective, care urmează a fi eliminate prin transcitoză (7, 14, 19, 20).

Multe proteine, hormoni și factori de creștere care apar în lapte din plasma sangvină sunt, de asemenea, secretați prin mecanisme similare, dar mai puțin studiate (14).

Substanțele minerale din lapte au origine sangvină și ajung în secreția lactată tot prin transcitoză, străbătând celula secretoare alături de proteinele plasmatice (albuminele serice și imunoglobulinele) sau prin exocitoză, fiind înglobate în veziculele proteice, concentrațiile lor fiind reglate prin intermediul presiunii osmotice. Cu toate că structurile lactifere de la nivel alveolar și canalicular sunt permeabile pentru apă, laptele rămâne izoosmotice cu plasma sangvină (5, 18).

Proteinele intacte pot străbate epiteliul glandei mamare din fluidul interstițial în lumenul alveolar, fie prin transcitoză, fie prin mecanism paracelular.

Mecanismul paracelular de secreție permite pasajul substanțelor printre celulele epiteliale. În timpul perioadei de lactație maximă, chiar și pasajul printre celulele epiteliale a unor substanțe cu greutate moleculară foarte mică este împiedicat de structuri asemănătoare manșoanelor, numite joncțiuni impermeabile care mențin celulele foarte strâns legate una de alta (3, 9, 14).

Deși celulele sistemului imun pot ajunge în lapte printre celulele epiteliale, prin diapedeză, joncțiunile se închid etanș, nu formează canale de comunicare și nu permit trecerea de particule (mai mari de 5 nm în diametru) prin locul de migrare a celulei fagocitare (14, 20).

Leucocitele sunt capabile să pătrundă și să traverseze orice epiteliu secretor sau nesecretor, numărul celulelor fagocitare în migrare fiind corelat liniar cu numărul și integritatea joncțiunilor impermeabile și de asemenea, cu intensitatea procesului inflamator acut (dacă există) (10, 14, 20).

În timpul perioadei de gestație, în cazul apariției mamitelor sau după involuția glandei mamare, aceste joncțiuni se slăbesc și permit

componentelor din spațiul interstițial să treacă în lapte fără nici o barieră, în același timp putând să pătrundă retrograd componente ale laptelui în citoplasma celulelor secretorii (10, 14). Această slăbire a joncțiunilor impermeabile este utilă încă din momentul eliberării produșilor de secreție ai laptelui, permițând pătrunderea celulelor inflamatorii și moleculelor cu rol protector în spațiul lactifer iar în perioada involuției fiziologice, substanțele rezultate în urma dezintegrării celulelor glandulare pot fi îndepărtate prin fagocitoză (10, 14).

În cazul în care aceste joncțiuni devin permeabile, în secreția de lapte crește concentrația ionilor de sodiu și clor, fapt deosebit de important în diagnosticarea tulburărilor ce afectează glanda mamară (14).

Bibliografie

1. **Banerjee GC.** (1998). Textbook of Animal Husbandry. 8th Ed., IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, pp. 340-380.
2. **Banks W.J.** (1981). *Applied Veterinary Histology*, Williams & William, London.
3. **Bray R.R., Shearer J.K.** (2002). *Milking management I – the udder*, University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Science. 272
4. **Cant J.P.** (2002). *Milk synthetic response of bovine mammary gland to an increase in the local concentration of arterial glucose*, *J. Dairy Sci.* 85:494-503.
5. **Constantin N., Cotruș M., Șonea A.** (1998). *Fiziologia animalelor domestice – Fiziologia glandei mamare*; Ed. Coral Sanivet, București, p. 395-418.
6. **Dellman D.H.** (1993). *Textbook of Veterinary Histology*, 4th Edition, Lea & Febiger, Philadelphia.
7. **Diculescu I., Onicescu D.** (1987). *Histologie medicală*, Ed. Medicală, București.
8. **Finot L., Chanut E., Dessauge F.** Mammary gland 3D cell culture systems in farm animals. *Vet. Res.*, 2021, 52, Article number: 78.
9. **Hurley W.L.** (2002). *Mammary gland Anatomy of cattle*, Lactation Biology, ANSCI 308, Dept. of Animal Sciences, Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.
10. **Hurley W.L.** (2002). *Mammary gland involution and the dry period*, Lactation Biology, ANSCI 308, Dept. of Animal Sciences, Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.
11. **Hurley W.L.** (2002). *Mammogenesis of cow mammary gland*, Lactation Biology, ANSCI 308, Dept. of Animal Sciences, Univ. of Illinois, Urbana-Champaign
12. **Khan S., Manjusha K.M., Banu S.A., Haritha C.V., Kumar R., Pawde A.M.** (2020). Surgical Affections of Udder and Teats in Large Ruminants. *Raksa Tech. Rev.* (ISSN:2250-1134), , 9(2): 16-21.
13. **Morin D.E., Hurley W.L.** (2002): *Mastitis is lesson B*, Dept. of Clinical. Veterinary Medicine, Univ. of Illinois, Urbana-Champaign, 278.
14. **Neville C.M.** (2002). *Milk secretion: an overview*, Dept. of Physiology, Denver, CO 80262.
15. **Paștea E., Coțofan V., Chițescu Șt., Miclea M., Cornilă N., Nicolescu V., Radu C., Popovici I., Palicica R.** (1985). *Anatomia comparată a animalelor domestice*, Vol. I, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
16. **Pandey Y., Taluja JS, Vaish R., Pandey A., Nidhi Gupta N., Kumar D.** Gross anatomical structure of the mammary gland in cow. *J. Entomol. Zool. Stud.* (ISSN: 2349-6800), 2018, 6(4): 728-733.
17. **Riservati D.T.** *The Mammary Gland. Dairy Knowledge.* 2009, 6:22-24.
18. **Rotaru O., Ognean L.** (1998). *Morfologia și fiziologia populației celulare din lapte*, Ed. Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca.
19. **Șincai M.** (2000). *Histologie Veterinară vol. II*, Ed. Mirton, Timișoara
20. **Târziu E.** (2004). *Imunologie*, Ed. Brumar, Timișoara.
21. www.delaval.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.html
22. https://www.groupe-esa.com/ladmec/bricks_modules/brick01/co/ZBO_Brick01_4.html



Date despre evoluția fenomenului rezistenței la antiinfecțioase în 16 unitati de cresterea porcului din Banat

Data on the evolution of the resistance phenomenon to anti-infectives in 16 pig breeding units from Banat

Doma O. Alexandru, Cristina T. Romeo
Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

dao_west@yahoo.com

Cuvinte cheie: rezistență, antiinfecțioase, suine, afecțiuni digestive, afecțiuni respiratorii, Banat
Keywords: resistance, anti-infectives, pigs, digestive diseases, respiratory diseases, Banat

Rezumat

Afecțiunile respiratorii și digestive de origine bacteriană la specia suine pot determina apariția unor simptome severe cu impact major economic asupra fermelor. Din totalitatea agenților patogeni, *E. coli*, reprezintă un factor important în apariția sindromului enteric, producând pagube materiale însemnate prin scăderea productivității, asociate cu creșterea costurilor de producție asociată cu indici scăzuți ai profitabilității. În acest sens, prezentul studiu propune evidențierea principalelor aspecte epidemiologice și etiopatogenice la suinele aflate în jurul vârstei de înțarcare din 16 unități de creștere a porcului situate în zona de vest a României. Obiectivele studiului au fost: evidențierea leziunilor anatomo-patologice specifice, examinarea bacteriologică, identificarea biochimică a germenilor patogeni prin metoda API 20E. Din materialul biologic prelevat de la suine s-au recoltat 139 de probe din pulmoni, porțiuni ficat, intestin subțire, splină și limfonoduri mezenterice, care ulterior au fost analizate microbiologic. În ordine descrescătoare, *E. coli* a fost identificat în cele mai multe probe, urmat de *Streptococcus suis* și *E. coli* β -hemolitic în egală măsură. Cu o incidență mult mai mică examenul microbiologic a relevat *Salmonella* spp și *Pasteurella multocida*, iar c agenți patogeni din genul *Klebsiella* spp, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* și *Mannheimia haemolytica* au avut o incidență sporadică. În concluzie, afecțiunile identificate în cele 16 fermele din Banat luate în studiu au fost preponderant digestive și au fost produse, în mare parte de *E. coli*, care a avut rate crescute ale incidenței, în special la categoriile de tineret suin. Modificările anatomo-patologice cele mai frecvente identificate au fost: distensia abdominală, ansele intestinului subțire pline cu gaze, conținutul colonului având o consistență păstos-apoasă cu pereții mult subțiați, ileita proliferativă, limfonodurile mezenterice mărite în volum și stomacul destins cu un conținut gelatinos.

Mulțumiri

Această lucrare a apărut în cadrul proiectului: Program pentru creșterea performanței și inovării în cercetarea doctorală și postdoctorală de excelență - **PROINVENT**, Contract nr. 62487/03.06.2022 POCU/993/6/13 - cod **SMIS: 153299**

Abstract

Respiratory and digestive diseases of bacterial origin in pigs can cause severe symptoms with major economic impact on farms. Out of all the pathogens, *E. coli* represents an important factor in the occurrence of enteric syndrome, producing significant material damage by decreasing productivity, associated with increased production costs associated with low profitability indices. In this sense, the present study proposes highlighting the main epidemiological aspects and etiopathogenic in pigs around the weaning age from 16 pig breeding units located in the western part of Romania. The objectives of the study were: the identification of specific anatomical-pathological lesions, bacteriological examination, and biochemical identification of pathogenic germs using the API 20E method. From the biological material taken from the pigs, 139 samples were collected from the lungs, portions of the liver, small intestine, spleen and mesenteric lymph nodes, which were later microbiologically analyzed. In descending order, *E. coli* was identified in most samples, followed by *Streptococcus suis* and β -haemolytic *E. coli* equally. With a much lower incidence, the microbiological examination showed *Salmonella* spp and *Pasteurella multocida* relevant, and pathogens from the genus *Klebsiella* spp, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Mannheimia haemolytica* had a sporadic incidence. In conclusion, the diseases identified in the 16 farms in Banat studied were predominantly digestive and were mostly caused by *E. coli*, which had high incidence rates, especially in the pig youth categories. The most common anatomic-pathological changes identified were: abdominal distension, loops of the small intestine full of gas, the contents of the colon having a pasty-

watery consistency with much thinned walls, proliferative ileitis, enlarged mesenteric lymph nodes and a distended stomach with a gelatinous content.

Acknowledgements

This work appeared within the project: Program for increasing performance and innovation in doctoral and postdoctoral excellence research - **PROINVENT**, Contract no. 62487/03.06.2022 POCU/993/6/13 - **SMIS code: 153299**

Introducere

Afecțiunile respiratorii și digestive de origine bacteriană la suine pot determina apariția unor simptome severe cu impact major asupra sporului mediu zilnic de creștere, influențează calitatea cărnii, iar indicatorii de rentabilitate se modifică și eficiența fermelor scade (2, 5, 9, 11, 13, 18).

În contextul actual, o atenție deosebită trebuie acordată tineretului după înțărcare, datorită factorilor care se abat asupra indivizilor prin suprasolicitarea organismului la noile condiții de furajare, modificare a florei intestinale și scăderea statusului imun (3, 6, 25, 26, 28).

Amploarea cazuisticii cu manifestări diareice și respiratorii în ferme, a atras atenția multor cercetători, care susțin faptul că aceste afecțiuni sunt produse de bacterii patogene cu antibio rezistență multiplă. Astfel pot apărea dezechilibre funcționale prin apariția unor procese patologice, un exemplu de acest gen sunt tulpinile de *E. coli* din intestinul subțire la purcei (diareea de înțărcare) (4, 7, 8, 10, 12, 14).

Prezentele cercetări au avut ca scop evidențierea unor aspecte epidemiologice și etiopatogenice a suinelor aflate în jurul vârstei de înțărcare din unitățile de creștere a porcului situate în zona de vest a României. Din totalitatea agenților patogeni, *E. coli*, reprezintă un factor important în apariția sindromului enteric, producând pagube materiale însemnate prin scăderea productivității, asociate cu creșterea costului de producție și indice scăzut al profitabilității (6).

Obiectivele studiului

- Evidențierea leziunilor anatomo-patologice specifice
- Examinare bacteriologică
- Identificarea biochimică a germenilor patogeni prin metoda API 20E

1. Materiale și metode

Vestul României este o zonă bine cunoscută cu o puternică dezvoltare în industria agro-alimentară, datorită reliefului propice și poziționării geo-strategice față de vestul Europei și bineînțeles interconectarea feroviară și rutieră, facilitează schimbul intracomunitar.

Astfel că, investițiile în sistemul zootehnic cu precădere în creșterea și ameliorarea porcului, ne-au demonstrat că, fermierii se focusează pe calitatea produselor obținute conform standardelor actuale, astfel că, ameliorarea raselor și obținerea unui randament bun la sacrificare, implicit asigurarea unui procent ridicat de carne raportat la greutatea animalului, calitatea furajelor și modernizarea / tehnologizarea fermelor reprezintă cheia succesului unor astfel de unități.

Fermele sunt constituite ca un sistem intensiv de creștere pe principiul "all in-all out" și sunt structurate pe categorii de vârstă și greutate. Fermele sunt construite din beton, acoperite cu panouri de tablă cu izolație în interior. Pardoseala hănelor este formată dintr-un schelet de beton armat care servește drept suport pentru grătarele de plastic pe care stau animalele. Sistemul de canalizarea este organizat pe pernă de apă cu canale sub grătar, iar evacuarea dejecțiilor se realizează prin deversare continuă în depozitele proprii destinate stocării dejecțiilor (figura 1).

Furajarea animalelor se realizează automatizat cu ajutorul hrănitivelor din material plastic pe structură metalică sau din beton, iar adăparea se face prin rețeaua proprie prevăzută cu suzete sub presiune, la intrarea în adăposturi sunt amplasate rezervoarele cu apă și furaje combinate.

Hrănirea se face, conform vârstei după tehnologia de creștere adoptată.



Figura 1. Organizarea fermelor de porci (original Doma)

Studiul s-a desfășurat în perioada Octombrie 2022 - Septembrie 2023 în care au fost monitorizate 16 unități specializate în creșterea și îngrășarea suinelor, localizate în zona de vest a României. În aceste ferme au fost examinate suinele care au prezentat modificări clinice, iar o atenție deosebită am acordat cazurilor de enterită colibacilară și afecțiunilor respiratorii.

Aceste afecțiuni sunt frecvent întâlnite, datorită faptului că se transmit rapid și cu ușurință de la un animal la altul. Adesea, ele sunt cauzate de diferite tipuri de bacterii patogene care, fără un tratament bine optimizat și la timp aplicat pot duce la diminuarea efectivelor datorită gradului ridicat de mortalitate și implicit a pierderilor economice însemnate pentru fermieri.

Este firesc, că menținerea condițiilor de biosecuritate, a sănătății animalelor și a condițiilor igienico-dietetice asigură o producție de înaltă calitate din punct de vedere organoleptic al carnii de porc (1, 17, 23, 26).

În cadrul acestui studiu am urmărit statusul de sănătate al suinelor și am analizat macroscopic modificările anatomopatologice survenite în urma afecțiunilor bacteriene întâlnite la porcii din cadrul fermelor monitorizate. Ulterior s-au prelevat probe în vederea examinării microbiologice de laborator pentru identificarea agenților patogeni (figura 2).

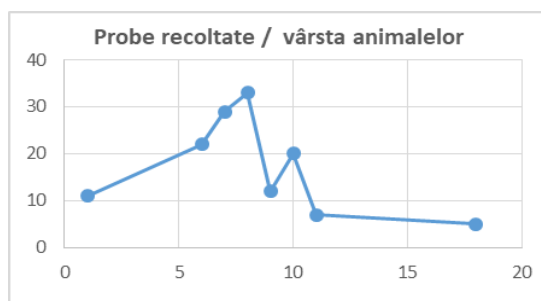


Figura 2. Numărul și vârsta animalelor examinate

Din materialul biologic prelevat de la suine s-au recoltat 139 de probe din pulmoni, porțiuni ficat, intestin subțire, splină și limfonoduri mezenterice, care ulterior au fost introduse în bulion, și de aici, cu ajutorul ansei Drigalsky s-au transferat pe medii uzuale și selective: agar nutritiv, bulion, agar cu sânge 5%, mediul Mac Conkey, Levin și s-au turnat în plăci Petri (figura 3).

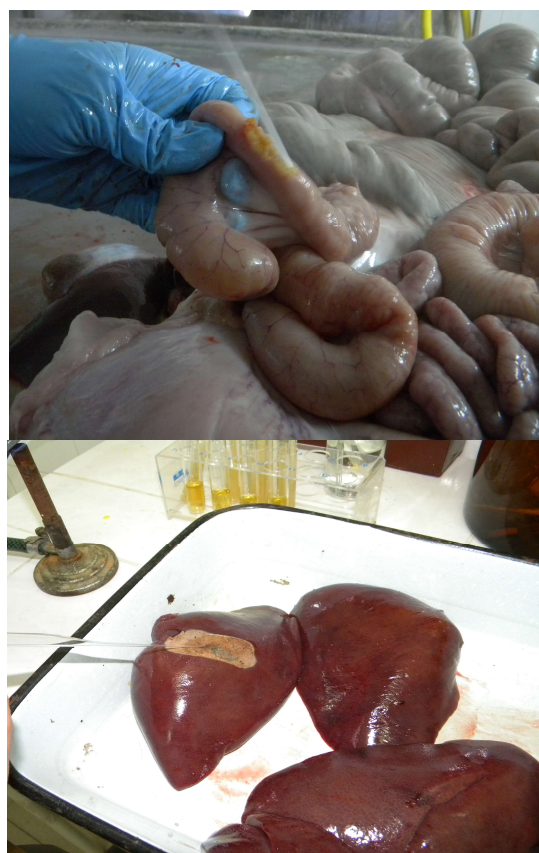


Figura 3. Prelevarea probelor din intestin și din ficat (original Doma)

Probele din intestine au fost recoltate în cadrul fermelor în momentul examenului necropsic cu ajutorul eprubetelor prevăzute cu anse de recoltare și cu mediu nutritiv de

cultură bacteriană, iar din porțiunile de organe, care necesită procedură mai complexă de prelevare, au fost transportate către laboratorul de boli infecțioase în condiții optime de temperatură conform prevederilor legale în vederea recoltării. Toate probele recoltate de la suinele care au prezentat manifestări clinice și modificări morfopatologice au fost supuse testării microbiologice, iar pentru dezvoltarea microorganismelor a fost necesară termostatarea probelor timp de 24 de ore, la 37° C (figura 4)

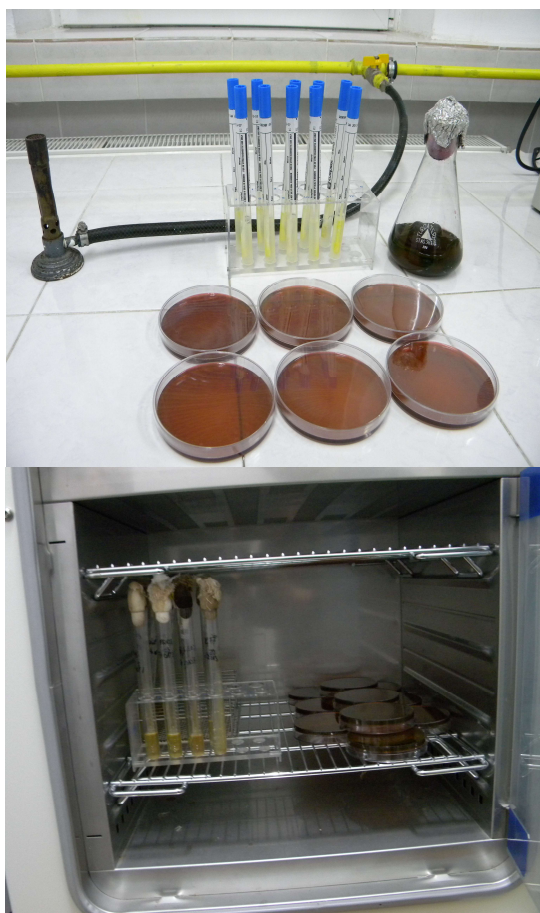


Figura 4. Pregătirea probelor pentru însămânțarea pe medii selective și incubarea probelor la temperatură de 37° C (original Doma)

Identificarea agentului patogen s-a realizat cu ajutorul testului API 20E, acest sistem este alcătuit din două componente fabricate din material plastic:

1. Tăviță din plastic, care permite asigurarea unui mediu umed în timpul efectuării testului;

2. Galerie pe care se găsesc 20 de compartimente separate, fiecare compartiment fiind reprezentat de o alveolă și un tub în care se află mediu nutritiv deshidratat specific.

În funcție de prezența sau absența agentului patogen aflat în studiu, se pot observa modificări colorimetrice prin adăos de reactivi suplimentari la nivelul celor 20 de compartimente (figura 5). Sistemul permite realizarea simultană a 23 de teste biochimice diferite (15, 16, 20).



Figura 5. Kituri API 20E (Biomerieux) utilizate în testare

Comparativ cu metodele clasice, utilizarea sistemelor multitest de identificare prezintă o serie de avantaje, dintre care amintim:

- obținerea rezultatelor într-un timp scurt, în unele cazuri chiar într-un interval de 5 ore;
- uniformitatea rezultatelor;
- precizia/siguranța rezultatelor;
- simplitatea tehnicilor de lucru;
- un consum minim de materiale și medii de cultură (15, 16, 20).

Evaluarea finală a testului presupune înregistrarea tuturor rezultatelor pozitive (+) sau negative (-), iar identificarea speciei se realizează consultând *Indexul* furnizat de firma producătoare (15, 16, 20).

După interpretarea rezultatelor, probele pozitive au fost supuse testării prin metoda disc-difuzimetrică pentru a stabili eficiența substanțelor antimicrobiene și verificarea statusului rezistenței conform standardului Clinical and Laboratory Standards Institute 2009 (CLSI-2009) (21, 28, 29).

Tehnica de lucru a sistemului multi-test API 20E este redată în Tabelul 1.

Tabelul 1. Tehnica de lucru a sistemului multi-test API 20E

Etapa I – Inocularea	Etapa II – Evaluarea testului
Izolarea în cultură pură a microorganismului de testat;	După perioada de termostatare de 18-24 de ore rezultatul din compartimentul GLU este negativ, microorganismul testat nu aparține familiei <i>Enterobacteriaceae</i> , pentru identificarea lui este necesară o perioadă suplimentară de incubare;
Se stabilește apartenența microorganismului testat în categoria Gram-negativ și oxidază-negativ, cu ajutorul colorației Gram și a testului oxidazei	Rezultatele obținute nu sunt relevante, dacă pe placa de examinat apar mai puțin de trei rezultate pozitive și compartimentul GLU este negativ;
Testul API este notat cu numărul microorganismului de testat și numele lucrătorului care efectuează identificarea;	Testul va continua dacă GLU este de culoare galbenă (pozitiv), iar pe placă numărul minim al reacțiilor pozitive este depășit.
Pentru a preveni contaminarea probelor de analizat cu germeni din mediul ambiental (aer sau mobilierul de lucru), se recomandă a se respecta condițiile de manipulare aseptice;	Se adaugă următorii reactivi:
Colonia microbiană selectată pentru a continua procedura se transferă într-o soluție de NaCl de concentrație 0,85% (ser fiziologic)	Se adaugă o picătură de clorură ferică 10% în tubul TDA reacției pozitive (roșu-cafeniu) sau negative (galben);
Cu ajutorul unui Vortex, serul fiziologic inoculat se omogenizează bine.	În tubul VP se adaugă o picătură de soluție Barritt A sau B după 10 minute se face evaluarea rezultatului pozitiv (roz închis sau roșu) sau negativ (incolor);
Cu o pipetă se adaugă 5 ml de apă distilată în tăvița sistemului API;	În tubul IND se adaugă o picătură de reactiv Kovacs, iar după două minute se citește rezultatul: pozitiv (apare un inel roșu) sau negativ (apare un inel galben spre cafeniu);
Galeria API este introdusă în tavă cu grijă, astfel încât să prevenim contaminarea testului;	Dacă la nivelul tubului GLU apar bule de gaz, fapt care indică formarea de N ₂ gazos și reducerea de NO ₂ - (azotitului)
Cu ajutorul unei pipet Pasteur sterile, se distribuie soluția inoculată de NaCl în cele 20 de compartimente ale galeriei API;	În compartimentul GLU se adaugă două picături de reactiv pentru azotit, se așteaptă 2-3 minute, apoi se citește rezultatul: reacția pozitivă, care confirmă reducerea nitrului (roșu).
Compartimentele ADH, LDC, ODC, H ₂ S și URE se vor umple parțial;	Pentru a confirma rezultatul negativ al testului se adaugă praf de zinc, se așteaptă 10 minute după care se examinează proba: reacție pozitivă - reducerea azotitului și apariția culorii roz-portocaliu, reacție negativă - prezența N ₂ și apare culoarea galbenă;
Compartimentele CIT, VP și GEL se vor umple complet;	În compartimentele MAN, INO și SOR se adaugă câte o picătură de peroxid de hidrogen (apă oxigenată) și se citește rezultatul după 2 minute: reacție pozitivă - apar bule sau reacție negativă.
Cu o altă pipetă Pasteur se adaugă ulei mineral steril la suprafața lichidului din compartimentele ADH, LDC, ODC, H ₂ S și URE, pentru a asigura condiții de anaerobioză, apoi se acoperă cu un capac din plastic testul API 20E și se incubează la temperatura de 37°C, timp de 18-24 ore.	

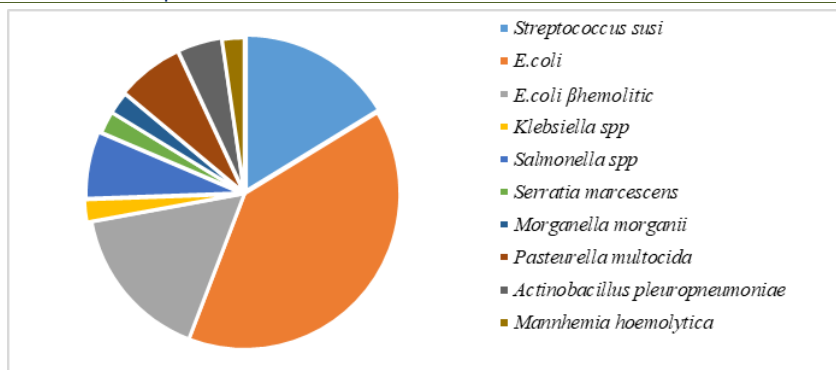


Figura 6. Incidența agenților patogeni din ferme

În figura 6 sunt expuse cele mai frecvente afecțiuni la porcii din unitățile luate în studiu nostru fiind enunțate în ordine descrescătoare.

E. coli a fost identificat în cele mai multe probe, urmat de *Streptococcus suis* și *E.coli* β hemolitic în egală măsură pentru ambele tipuri de microorganism, cu o consecință mult mai mică față de pedecesoarele putem menționa *Salmonella spp* și *Pasteurella multocida*, iar celelalte cazuri de afecțiuni bacteriene determinate de agenți patogeni din genul *Klebsiella spp*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* și *Mannhemia haemolytica* au avut o incidență sporadică. Din totalul probelor examinate s-au luat în calcul doar cele 44 de probele pozitive (figura 9) care au fost testate prin metoda disc-difuzimetrică Kirby-Bauer, având ca principiu de funcționare determinarea sensibilității sau a rezistenței unei culturi bacteriene față de un antibiotic.

Această metodă se realizează în placi Petri cu medii solide, unde se va însămânța cultura pură bacteriană (figura 7).

Pe suprafața plăcilor Petri în care a fost turnat mediul de cultură și însămânțat cu agentul patogen pregătit de testare se aplică microcomprimetele cu antimicrobiene de diferite concentrații astfel că, în imediata apropiere a discului se va forma câte un godeu de difuziune bazat pe gradient de concentrație locală a antibioticului.

Cu toate că prin această metodă nu se poate stabili concentrația minimă inhibitoare (CMI), ne oferă informații relevante asupra sensibilității speciei testate față de substanțele antimicrobiene utilizate (22, 29).

Dimensiunea haloului format în jurul compimatului este direct proporțională cu sensibilitatea agentului patogen (figura 7).

După formarea godeului din jurul compimatului cu substanță activă se măsoară diagonala acestuia cu ajutorul unui șubler sau a unei rigle, iar rezultatul se compară cu tabelul interpretativ CLSI/2009 (Clinical Laboratory Standard Institute USA, 2009) (19, 21, 28).

Clasificarea antibioticelor se face în funcție de acțiunea lor, care se bazează pe capacitatea de inhibare bacteriană (tabelul 2).

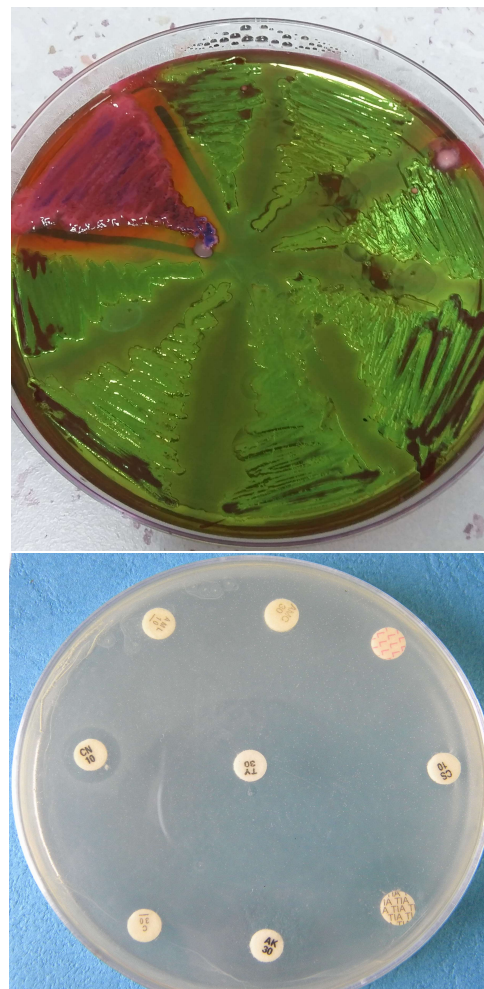


Figura 7. Izolarea bacteriană și testarea susceptibilității bacteriene

Tabelul 2. Antibioticele utilizate

Antibioticele utilizate	
Amoxiciclină	Flunequine
Ampicilină	Gentamicină
Ceftiofur	Lincomicină
Ciprofloxacină	Neomicină
Cobactan	Oxitetraciclină
Colistin sulfat	Penicilină
Doxiciclină	Spectinomycină
Enrofloxacină	Sulfamide potențiate
Eritromicină	Tetraciclină
Florfenicol	Tilozină

Diametrul zonei de inhibiție al fiecărui microcomprimat cu substanță activă a fost utilizat pentru a compara punctele de întrerupere recomandate de CLSI 2009, astfel se pot încadra, ca fiind susceptibile, intermediare sau rezistente (19, 21, 29).

Rezultatele au fost împărțite în trei categorii după cum urmează:

- sensibil (susceptibil-S),
- moderat sensibil (intermediar-MS),
- rezistent (R),

2. Rezultate si discuții

Diagnosticarea porcilor s-a realizat pe baza semnelor clinice evidențiate de personalul medical veterinar din unități, coroborate cu evaluarea anatomopatologică a leziunilor și examenele de laborator prin identificarea agenților patogeni efectuate în cadrul disciplinelor de necropsie și boli infecțioase din cadrul Facultății de Medicină Veterinară din Timișoara.

În urma evaluării statusului clinic și a modificărilor anatomopatologice (tabelul 3) a suinelor din cadrul fermelor luate în studiu nostru, s-a constatat prezența unor leziuni

comune de tip hemoragic în focare localizate în intestinul subțire, cu precădere în treimea anterioară, pe tot traiectul duodenului și o mică porțiune din jejun, enterita hemoragică, colitită hemoragică, limfonoduri mezenterice mărite și hemoragice, congestie hepatică, exudat în cavitatea pericardică, congestie renală, congestie pulmonară, aspect mozaicat al pulmonilor, edem interlobular bine evidențiat, stomac destins plin cu furaje nedigerate, porțiuni de mucoasa gastrică de culoare negricioasă.

Pe lângă modificările cromatice de tip hemoragic, a fost observată distensia intestinală prin acumulare de gaze.

Tabelul 3. Modificările anatomo-patologice

Unitatea	Tipul unității	Modificările anatomo-patologice semnalate
1	F1	Distensie abdominală, ansele intestinului subțire pline cu gaze, conținutul colonului cu o consistență păstos-apos, pereții mult subțiați, ileită proliferativă, bronhopneumonie hemoragică difuză, limfonoduri mezenterice mărite în volum, congestie și hiperplazie hepatică, stomac destins cu un conținut gelatinos-mucus.
2	F1	Enterită hemoragică, colitită hemoragică, limfonoduri mezenterice mărite și hemoragice, congestie hepatică, exudat în cavitatea pericardică, congestie renală, congestie pulmonară, aspect mozaicat al pulmonilor, edem interlobular bine evidențiat, stomac destins plin cu furaje nedigerate, porțiuni de mucoasă gastrică de culoare negricioasă.
3	F1	Perihepatită, hiperplazie hepatică și splenică, congestie hepatică, vezica biliară mult mărită în volum, bronho-pneumonie hemoragică, cu aspect mozaicat, prezența edemului, stomac mult destins cu un conținut gălbui și puține resturi de furaje nedigerate, ileită proliferativă localizată, ansele jejunale pline cu gaze, enterită hemoragică, limfonoduri mezenterice mărite în volum și congestionate.
4	F1	Cianoza râului, distensie abdominală, poliserozită fibrinoasă în cavitatea abdominală, (ficat, splină, anse intestinale), enterită hemoragică extinsă, colitită hemoragică, exudat sero-sangvinolent abundent în cavitatea abdominală, bronho-pneumonie în diferite faze cu localizare pe lobii apicali și cardiaci, cord mărit cu peteșii și sufuziuni subepicardice, distrofie hepatică, peritonită.
5	F1	Cadavre anemice, peteșii și sufuziuni subepicardice, hiperplazie și congestie hepatică, stomac destins plin cu lapte coagulat nedigerat, enterită cataral-hemoragică, edem gelatinos al mezocolonului, conținutul intestinului subțire plin cu gaze, de culoare galbenă, de consistență lichidă, limfonodurile mezenterice congestionate și mărite în volum.
6	F1	Cadavre cahectice, anemie, trenul posterior murdărit cu fecale de culoare galbuie, peteșii și sufuziuni subepicardice, stomac plin cu lapte coagulat nedigerat, enterita catarală, conținutul intestinal cu o consistență lichidă, galbuie, limfonodurile mezenterice mărite în volum, ușoară hiperplazie splenică, distrofie hepatică, edem discret al colonului spiralat.
7	F2	Cianoza râului, distensie abdominală, stomac cu un conținut apos cu foarte puține furaje, gastrită hemoragică, diaree de culoare galbuie, enterită hemoragică, ileită proliferativă hemoragică pe porțiuni mici, meningită hemoragică.
8	F2	Distensie abdominală, ansele intestinului subțire pline cu gaze, conținutul colonului cu o consistență păstos-aposă, pereții mult subțiați, ileită proliferativă, bronho-pneumonie hemoragică difuză, limfonoduri mezenterice mărite în volum, congestie și hiperplazie hepatică, stomac destins cu un conținut gelatinos-mucus.
9	F2	Cianoza râului, distensie abdominală, stomac cu un conținut apos cu puține furaje, gastrită hemoragică, diaree de culoare galbuie, enterită hemoragică, ileită proliferativă hemoragică pe porțiuni mici, meningită hemoragică.

10	F1	Limfonoduri mezenterice mărite în volum și congestionate, edem gelatinos al mezenterului colonului spiralat, edem al pleoapelor, în cavitatea abdominală prezența unei rețele discrete de fibrină, stomac plin cu furaj, ileită regională, proliferarea accentuată a mucoasei ileonului cu reducerea în dimensiuni a lumenului intestinal, artrite seroase.
11	F1	Edem gelatinos al mezocolonului, conținutul intestinului subțire plin cu gaze, de culoare galbenă, de consistență lichidă, limfonodurile mezenterice congestionate și mărite în volum, exudat sero-sangvinolent abundent în cavitatea abdominală, bronho-pneumonie și cardiaci, cord mărit cu peteșii și sufuziuni subepicardice, distrofie hepatică, peritonită
12	F2	Stomac destins, mucoasă gastrică de culoare negricioasă în anumite porțiuni, enterită hemoragică, congestie hepatică, exudat în cavitatea pericardică, congestie renală, congestie pulmonară.
13	F2	Stomac destins plin cu lapte coagulat nedigerat, conținutul intestinului subțire plin cu gaze, enterita cataral- hemoragica, edem gelatinos al mezocolonului, de culoare galbenă cu consistență lichidă, limfonodurile mezenterice congestionate și marite în volum, hiperplazie și congestie hepatică.
14	F2	Abdomen mărit în volum, ansele intestinale pline cu gaze, ileită proliferativă, pereții intestinali subțiați, limfonoduri mezenterice mărite în volum, bronho-pneumonie hemoragică difuză, congestie și hiperplazie hepatică și splenică, stomac destins cu un conținut gelatinos-mucus.
15	F2	Enterită hemoragică, congestie hepatică, exudat în cavitatea pericardică limfonoduri mezenterice mărite în volum, congestie renală, congestie pulmonară, aspect mozaicat al pulmonilor, stomac destins plin cu furaje nedigerate,
16	F1	Pleurita fibro-adezivă, edem interlobular pronunțat, bronhopneumonie hemoragică-necrotică în focare, bronhopneumonie în diferite faze de hepatizație, aspect mozaicat al pulmonilor în lobii apicali, prezența unor micro abcese încapsulate, limfonodurile traheobronhice mărite în volum și infiltrații hemoragice.

**F1 – fermă mixtă; F2- fermă tineret

3. Concluzii

În urma cercetărilor efectuate putem afirma că:

1. Afecțiunile digestive la pocii din fermele luate în studiu sunt produse preponderent de *E. Coli* cu o rată crescută a incidenței, în special la tineretul suin, cu modificările anatomo-patologice caracteristice de distensie abdominală, ansele intestinului subțire pline cu gaze, conținutul colonului cu o consistență păstos-apos, pereții mult subțiați, ileită proliferativă, limfonoduri mezenterice mărite în volum, stomac destins cu un conținut gelatinos-mucus.
2. În cea de-a doua categorie *Streptococcus suis* și *E. coli hemolitic* sunt evidențiați mai rar comparativ cu prima categorie, iar cele mai evidente modificări macroscopice sunt la nivelul mucoasei gastrice în anumite porțiuni fiind prezentă o nuanță negricioasă, enterită hemoragică, exudat în cavitatea pericardică, cord mărit cu peteșii și sufuziuni subepicardice, endocardită ulcero-vegetantă - prezența unor depozite albe-gălbui, friabile.
3. *Pasteurella multocida* și microorganismele din genul *Salmonella spp* două afecțiuni ce produc modificări respiratorii și digestive sunt clasificate în cea de-a treia categorie în funcție nivelul de patogenitate evidențiat în cercetarea noastră. Este important să menționăm că prezența acestor microorganisme asociate cu cianoza râtului, rinita, bronho-pneumonie hemoragică difuză, distensie abdominală, poliserozită fibrinoasă în cavitatea abdominală, congestia pulmonară evitentă, aceste modificări pot varia în funcție de tulpină, stadiul afecțiunii și răspunsul specific al organismului gazdă.
4. În cazul afecțiunilor generate *Klebsiella spp*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* și *Mannhemia hoemolytica* au o rată sporadică a incidenței.
5. Evoluția variată a afecțiunilor digestive și respiratorii la porci sunt probleme comune în unitățile de profil și pot avea cauze variate.
6. Excluzând microorganismele responsabile, factori genetici, de mediu, de gestionare și de nutriție pot influența evoluția lor. Astfel că, implementarea măsurilor de biosecuritate pot contribui semnificativ la menținerea sănătății porcilor în ferme.

Bibliografie

1. **Aarestrup F. (2012).** Get pigs off antibiotics. *Nature*, 486: 465–466.
2. **Aarestrup F.M., Wegener H.C., Collignon P. (2008).** Resistance in bacteria of the food chain epidemiology and control strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 6: 733-750.
3. **Aarestrup F.M., Wegener H.C., Collignon P. (2008).** Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 6(5): 733-750.
4. **Bessone F.A., Bessone G., Marini S., Conde M.B., Alustiza F.E., Zielinski G. (2017).** Presence and characterization of *Escherichia coli* virulence genes isolated from diseased pigs in the central region of Argentina. *Vet World* 10(8): 939–945.
5. **Cristina R.T., Doma, A.O., Dumitrescu E., Muselin F., Chirila A.B. (2018).** Despre evolutia si implicatiile fenomenului rezistentei la medicamentele antiinfecioase si antiparazitare de uz veterinar si evolutia acestui fenomen in Romania. *Med Vet / Vet Drug.* 12(1): 4-49.
6. **Cristina R.T., Moruzi R.F, Dumitrescu E., Muselin F., Doma A.O. (2020)** Consumul de antimicrobiene, impactul economic și social al rezistenței. *Med Vet / Vet Drug.* 14(1): 56-65.
7. **Cristina R.T., Moruzi R.F, Dumitrescu E., Muselin F., Doma A.O. (2020).** Utilizarea responsabilă a antimicrobienelor, noi mijloace și strategii împotriva fenomenului RAM. *Med Vet / Vet Drug.* 14(1): 67-76.
8. **Cristina R.T., Moruzi R.F, Dumitrescu E., Muselin F., Doma A.O. (2020)** Introducere în rezistența la antimicrobienele utilizate în medicina veterinară *Med Vet / Vet Drug* 14(1): 10-28.
9. **Cristina R.T., Moruzi R.F, Dumitrescu E., Muselin F., Doma A.O. (2020)** Răspunsul microorganismelor la tratamentele antimicrobiene. *Med Vet / Vet Drug.* 14(1): 42-54.
10. **Cristina R.T., Moruzi R.F., Dumitrescu E., Muselin F., Doma A.O. (2020).** Modalități de instalare a rezistenței la antimicrobiene și studierea eficacității antimicrobienelor. *Med Vet / Vet Drug* 14(1): 30-40.
11. **Cutler S.A., Lonergan S.M., Stahl C.H. (2007).** Dietary inclusion of colicin E1 prevents post-weaning diarrhea in pigs, *Animal Industry Report: AS 653, ASL R2227.*
12. **Doma A.O., Chirila A.B., Dumitrescu E., Muselin F., Cristina R.T. (2015).** The importance of antibiotic resistance evolution in Western Romania's swine units. Eurobiotech Congress, Bucharest, Romania, 7-9/05/2015. *J Biotechnol*, 208 Suppl, S102.
13. **Doma A.O., Dumitrescu E., Muselin F., Cristina R.T. (2015).** Elemente de structura bacteriana si mecanismele transmiterii rezistentei la antibiotice. *Med Vet / Vet Drug*, 9(2): 4-27.
14. **Doma A.O., Dumitrescu E., Muselin F., Tirziu E., Dégi J., Cristina R.T. (2019).** Resistance profile screening in pig farms in western Romania. *Lucr St Med Vet. Timisoara*, LII(3): 37-44.
15. **Doma A.O., Popescu R., Mituletu M., Muntean D., Dégi J., Boldea M.V., Radulov I., Dumitrescu E., Muselin F., Puvaca N., Cristina R.T. (2020).** Comparative Evaluation of qnra, qnrb, and qnrs genes in *Enterobacteriaceae* ciprofloxacin-resistant cases, in swine units and a hospital from western Romania. *Antibiotics.* 9(10): 698.
16. **Doma, A. O., Cristina, R. T., Muselin F., Dumitrescu E., Dégi J., Imre K., Boldea M., Vlad D. C., Popescu P., Cimporescu A., Bratu D. C. (2022).** The Role of Methyl-(Z)-11-Tetradecenoate Acid from the Bacterial Membrane Lipid Composition in *Escherichia coli* Antibiotic Resistance. *BioMed Research International* 2022/6/13
17. **Dosen R., Prodanov-Radulovic J., Pusic I., Stojanov I., Stojanovic D., Ratajac R., (2011).** Resistance *Escherichia coli* isolates to antibiotics from the organ samples originating from swine

- farms. *Biotechnol Anim Husband.* 27(3): 861-866.
18. **Habrun B., Komp G., Cvetn Z., Spicic S.I., Benic M., Mitak M. (2010).** Antimicrobial sensitivity of *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *A. pleuropneumoniae* isolated from diagnostic samples from large pig breeding farm in Croatia, *Vet Arhiv.* 80(5): 571-583.
 19. **Hawser S.P., Badal R.E., Bouchillon S.K., Hoban D.J., Hsueh P.R. (2010).** Comparison of CLSI 2009, CLSI 2010 and EUCAST cephalosporin clinical breakpoints in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from the SMART global surveillance study. *Int J Antimicrob Agents.* 36(3): 293-294.
 20. **Holmes B., Willcox W.R., Lapage S.P. (1978).** Identification of *Enterobacteriaceae* by the API 20E system. *J Clin Pathol.* 31: 22-30.
 21. **Hombach M., Bloemberg G.V., Böttger E.C. (2012).** Effects of clinical breakpoint changes in CLSI guidelines 2010/2011 and EUCAST guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother.* 67(3): 622–632.
 22. **Hudzicki J. (2009).** Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *Am Soc Microbiol.* pp. 1-23. Available at: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf> (visited Jan, 10, 2021).
 23. **Inmaculada Cuevas, Alfonso Carbonero, David Cano, Ignacio García-Bocanegra, Manuel Ángel Amaro Carmen Borge (2020)** Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* type B isolates associated with acute septicemia in pigs and cattle in Spain. *BMC Veterinary Research* volume 16, Article number: 222
 24. **Leigh B. Rosengren, Cheryl L. Waldner, Richard J. Reid-Smith, Sylvia L. Checkley, Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. (2018).** Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules.* 23(4): 795.
 25. **Moreno M.A. (2014).** Opinions of Spanish pig producers on the role, the level and the risk to public health of antimicrobial use in pigs. *Res Vet Sci.* 97(1): 26-31.
 26. **Moruzi R.F., Tîrziu E., Muselin F., Dumitrescu E., Hutu I., Mircu C., Tulcan C., Doma A.O., Degi J., Degi D.M., Boboc M.G., Chirilă A.B., Iancu I., Băraîtăreanu S., Cristina R.T. (2019).** The importance of databases to manage the phenomenon of resistance to antimicrobials for veterinary use. *Rev Rom Med Vet.* 29: 40–57.
 27. **Surpat A.S., Pascu C., Costinar L., Văduva I., Faur B., Tătar D., Herman V., (2011).** *Escherichia coli* strains characterization isolated from post-weaning diarrhea in pigs, *Bull UASVM, Veterinary Medicine*, 68(2): 286-289.
 28. **Wolfensberger A., Sax H., Weber R., Zbinden R., Kuster S.P., Hombach M., (2013).** Change of antibiotic susceptibility testing guidelines from CLSI to EUCAST: influence on cumulative hospital antibiograms. 8(11): e79130.
 29. *****Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition (2012).** This document contains the current Clinical and Laboratory Standards Institute–recommended methods for disk susceptibility testing, criteria for quality control testing, and updated tables for interpretive zone diameters.



O gamă
variata de produse
farmaceutice de uz veterinar

SUPLIMENTE NUTRIȚIONALE LICHIDE

Farmavit AD3E + C
Farmavit AD3E
Farmavit Aminocomplex
Farmavit AD3E + KC
Farmavit E + Se
Vitamina E

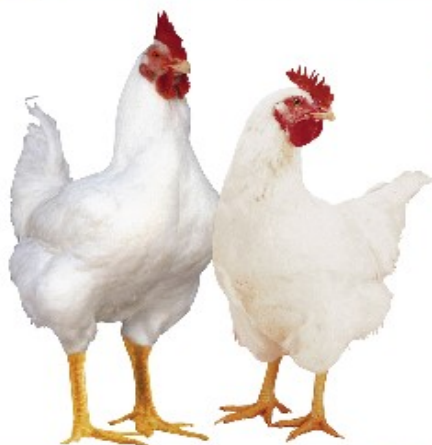


EXTRACTE NATURALE DIN PLANTE

XL Herbs - dezinfectant
ANTI AI Herbs - antiviral
CG Herbs - tratamentul afecțiunilor aparatului respirator
King Herbs - imunostimulator
Entice Herbs - tratamentul afecțiunilor aparatului digestiv
Coccilin - tratarea coccidiozei, histomonozii, trichomonozii



BEDGEN 40 AS premix



- * Stimulează secreția de bilă
- * Detoxifică și protejează ficatul
- * Emulsifică grăsimile
- * Imunostimulator

Îmbunătățește digestia
Îmbunătățește producția de ouă și ecloziunea
Reduce incidența Sindromului Ficatului Gras
Reduce efectele eroziunii pipotei
Stimulează sistemul imunitar

www.vetorex.ro | office@vetorex.ro | 0744.631.428

A preliminary histological study, in an experimental murine model, of gastritis induction, compared to the protective effect of a biological preparation.

Un studiu histologic preliminar, într-un model experimental murin, de inducere a gastritei, comparativ cu efectul protector a unui preparat biologic.

Orășan A. Sergiu, Brezovan Diana, Dumitrescu Eugenia, Muselin Florin, Folescu Mihai, Cocoș Daiana, Doma O. Alexandru, Cristina T. Romeo
Faculty of Veterinary Medicine Timisoara

sergiuorasan@gmail.com

Keywords: Phytotherapy, peptic ulcer, induced gastritis.

Cuvinte cheie: Fitoterapie, ulcer peptic, gastrită indusă.

Rezumat

Ulcerul peptic este o afecțiune cronică ce afectează un număr semnificativ de persoane din întreaga lume, estimat la aproximativ 10% din populația globală. Acesta este rezultatul unui dezechilibru între factorii agresivi, precum sucul gastric și aciditatea crescută a acestuia, și mecanismele de apărare ale mucoasei stomacului și intestinului subțire. Aspecte precum expunerea la anumite substanțe sau infecția cu bacterii precum *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) sunt considerate factori declanșatori în apariția ulcerului peptic. Printre factorii de risc se numără utilizarea frecventă a medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) și nivelurile ridicate de stres. Tratamentele convenționale pentru ulcerul peptic includ inhibitorii pompei de protoni (IPP) și antagoniștii receptorilor de histamină-2 (H2), care sunt eficiente în scăderea secreției de acid gastric. Cu toate acestea, aceste tratamente pot fi asociate cu efecte secundare și pot duce la recurențe sau interacțiuni nedorite cu alte medicamente. În contrast, abordările naturale și terapiile complementare au câștigat popularitate în gestionarea și tratarea ulcerului peptic. Plantele medicinale și compușii activi din acestea au fost recunoscuți pentru proprietățile lor antiinflamatoare și de protecție a mucoasei stomacului. Unele plante precum *Curcuma longa* sau *Angelica keiskei* au fost studiate pentru potențialul lor de a reduce inflamația și de a promova vindecarea ulcerelor, precum și alte preparate naturale cum ar fi lăptișorul de matcă sau propolisul, provenite din apicultură. De exemplu, lăptișorul de matcă este cunoscut pentru proprietățile sale antiinflamatoare și antimicrobiene, care pot contribui la reducerea iritației mucoasei gastrice și la vindecarea ulcerărilor. *Angelica keiskei*, cu compușii săi activi, a demonstrat capacitatea de a proteja mucoasa și de a reduce producția excesivă de acid gastric. Turmericul, bogat în curcumină, este un alt ingredient studiat pentru efectele sale antiinflamatoare și antioxidante, care pot sprijini vindecarea și reducerea simptomelor ulcerului peptic.

Abstract

Peptic ulcer disease is a chronic condition that affects a significant number of people worldwide, estimated at approximately 10% of the global population. This is the result of an imbalance between aggressive factors, such as gastric juice and its increased acidity, and the defense mechanisms of the lining of the stomach and small intestine. Aspects such as exposure to certain substances or infection with bacteria such as *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) are considered triggers in the development of peptic ulcers. Risk factors include frequent use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and high levels of stress. Conventional treatments for peptic ulcers include proton pump inhibitors (PPIs) and histamine-2 (H2) receptor antagonists, which are effective in decreasing gastric acid secretion. However, these treatments may be associated with side effects and may lead to recurrences or unwanted interactions with other medications. In contrast, natural approaches and complementary therapies have gained popularity in the management and treatment of peptic ulcers. Medicinal plants and their active compounds have been recognized for their anti-inflammatory and protective properties of the stomach lining. Some plants such as *Curcuma longa* or *Angelica keiskei* have been studied for their potential to reduce inflammation and promote ulcer healing, as well as other natural preparations such as royal jelly or propolis, derived from beekeeping. For example, royal Jelly is known for its anti-inflammatory and antimicrobial properties, which can help reduce irritation of the gastric mucosa and heal ulcers. *Angelica keiskei*, with its active compounds, has demonstrated the ability to protect the mucosa and reduce the excessive production of gastric acid. Turmeric, rich in curcumin, is another ingredient studied for its anti-inflammatory and antioxidant effects, which may support healing and reduce peptic ulcer symptoms.

1. Introduction

Peptic ulcer, a condition involving the formation of lesions in the lining of the stomach or duodenum, is the result of an imbalance between factors affecting the integrity of the mucosa and those that damage it.

This injury is often induced by stomach acid and is characterized by damage to the mucosa, sometimes penetrating even into the deep layers of the stomach, such as the submucosa or muscle layer [58].

Estimates show that between 5 and 10% of the general population faces this condition [1, 13]. However, recent epidemiological data have shown a decreasing trend in the incidence, number of hospital admissions and mortality rate associated with peptic ulcer disease [20].

This decline can be attributed to the introduction of new therapies and improved hygiene, helping to reduce infections with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), a bacterium known for its involvement in peptic ulcers [3].

Traditionally, it was believed that mucosal damage in peptic disease is the consequence of a hypersecretory acidic environment, often associated with dietary factors or stress.

Risk factors include *H. pylori* infection, alcohol and tobacco use, and use of anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *H. pylori* infection and NSAID use are considered the main risk factors for both gastric and duodenal ulcers.

However, only a small proportion of people infected with *H. pylori* or using NSAIDs develop peptic ulcers, which highlights the importance of individual sensitivity in mucosal damage [1, 20].

Research has revealed that functional polymorphisms in various cytokine genes, such as interleukin-1-beta (IL-1B), can influence mucosal interleukin 1 β production, thereby influencing the association between *H. pylori* and gastroduodenal diseases [20].

Also, the risk of complications associated with peptic ulcers, such as bleeding in the upper gastrointestinal tract, is higher in NSAID and aspirin users, especially when used in combination with anticoagulants [12, 15].

Studies have found that aspirin use and *H. pylori* infection increase the risk of peptic ulcer disease [11].

There is also a subset of idiopathic ulcer cases, which account for about one-fifth of all cases [8].

The precise mechanisms behind the development of idiopathic ulcers remain unclear, but studies suggest the implication of an imbalance between factors contributing to mucosal integrity and those affecting it (such as ischemia, medications, steroids or chemotherapeutic agents, as well as radiation therapy), along with factors such as viruses, histamine, gastric bypass, and metabolic disorders [16].

It appears that psychological stress may also play a role in increasing the incidence of peptic ulcers [13].

Peptic ulcer remains a complex condition, and a full understanding of its developmental mechanisms and factors contributing to its evolution is essential for effective management and treatment of this health problem.

2. Materials and methods

Our study aimed to address an alternative treatment route of gastritis caused by the administration of NSAIDs, the proposed experimental design being carried out on 24 laboratory mice from the BALB/c line (12 males and 12 females).

The mice included in the experiment were divided into 2 large groups, the first batch being the group in which gastritis was induced with aspirin and not treated with any phytotherapeutic preparation, and the second group, which was administered by oral gavage the mixture of biological preparations as described below.

Out of the 2 batches included in the experiment, two slaughters were carried out, in accordance with the methodologies in force [Directive 2010, NRC, 2011].

The first slaughter on day 7 since the initial administration of aspirin and the second slaughter was on day 14.

2.1. Experimental protocol

The induction of gastritis was performed with aspirin from the pharmaceutical company Bayer, at a dose of 20 mg / mouse. 2 plant extracts (*Curcuma longa* and *Angelica keiskei*), in standardized form, and freeze-dried royal

jelly, purchased commercially, were chosen as biological preparations.

The dose was calculated by extrapolating doses from human medicine to veterinary medicine using Löwe's Law [9].



Figure 1 . Liposomal Turmeric 0.2 ml / mouse (7 mg/mouse)



Figure 2. Royal Jelly - 0.2 ml (0.2 mg/mouse)

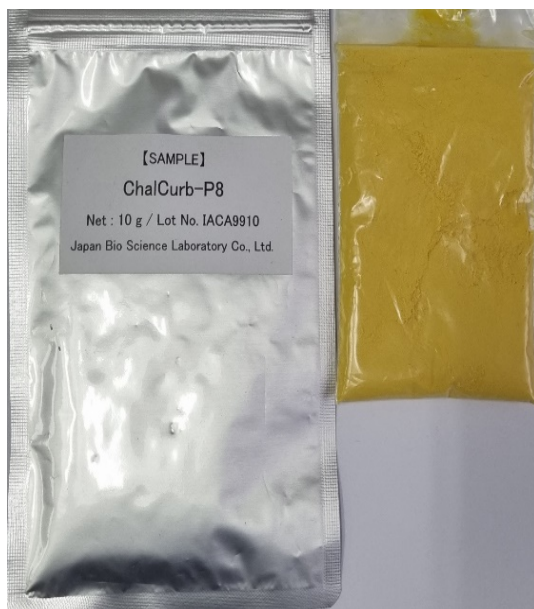


Figure 3 and 4. *Angelica keiskei* - 0.2 ml (2 mg / mouse)



Figure 5. Handling and intragastric administration in BALB/c mice.

From the 3 biological products, a mixture was made and administered for 7 and 14 days, respectively, after induction of gastritis with aspirin. Administration of the mixture was performed by intragastric administration with an "oral gavage" probe.

For histological processing, the cytoarchitecture of the stomach (mucosa/submucosa/muscle) was analyzed.

2.2. Histological study

The skin fragments were fixed in ethyl alcohol 80° for at least 7 days, after which they were washed, dehydrated and included in paraffin.

The sections thus prepared were processed for histological study by hematoxylin–eosin staining. The histological images were captured using Olympus CX41 microscope software.

3. Results and discussions

Peptic ulcer is the result of a pathological condition in which the biological balance between the defending and aggressing factors of the gastrointestinal tract is disturbed. Among the main aggressive endogenous factors contributing to this disorder are gastric hydrochloric acid, pepsin (a gastric enzyme), reactive free radicals and oxidants, leukotrienes (substances produced by cells of the immune system that can cause inflammation), bile reflux and endothelins (substances that regulate vascular tone). These factors act collectively to affect the integrity of the gastrointestinal mucosa and may contribute to ulceration formation [7].

Defensive factors that protect the gastric mucosa include gastric mucus barrier, bicarbonate, mucosal blood flow, active surface phospholipids, prostaglandins (PG), nitric oxide (NO), and antioxidant performance, both enzymatic and non-enzymatic.

These factors are essential for maintaining the integrity of the mucosa and protecting it against aggression from the gastric environment and other endogenous sources.

Through their synergistic action, these factors contribute to supporting and protecting the gastrointestinal mucosa against lesions and the formation of peptic ulcers [7, 19].

In the present study, the protective action of the combination of biological products between turmeric, *Angelica keiskei* and freeze-dried royal jelly was pursued, compared to the untreated group, which was given aspirin only.

The microscopic examination was performed at the level of the mucosa, submucosa and muscle of the stomach, the organs being harvested on days 7 and 14, post gastritis induction.

From a histological point of view, in the group that received only aspirin and was sacrificed 7 days after administration, the presence of peritubular edema in the mucosa and submucosa was found.

Also, the presence of areas with erosion and inflammatory infiltrate in the mucosa and submucosa.

In the mucous cells of the stomach or the protective mucus layer, the monolayered columnar epithelium shows a slight degeneration, and in areas of mucosa with an apparently normal appearance, a slight edema has been found (Figure 6).

After 14 days, the presence of peritubular edema in the mucosa was again found.

Also, the cyto-architecture of the stomach reveals areas with integral epithelium, areas with apparently normal appearance with slight signs of improvement, but also areas with discontinuous epithelium, accompanied by inflammatory infiltrate (Figure 6).

Compared to the batch of mice that received phytotherapeutic treatment, in the group slaughtered at 7 days, a lower inflammatory infiltrate was observed, with normal areas and erosion areas still existing.

An important change was that in the treated group the absence of edema was observed, compared to the untreated group, where peritubular edema was present (Figure 7).

In the slaughtered group after 14 days of treatment, areas of mild erosion are still present, concomitant with normal-looking areas and continuous epithelium. In addition, mucosal cell detachment and lack of inflammatory infiltrate were identified (Figure 7).

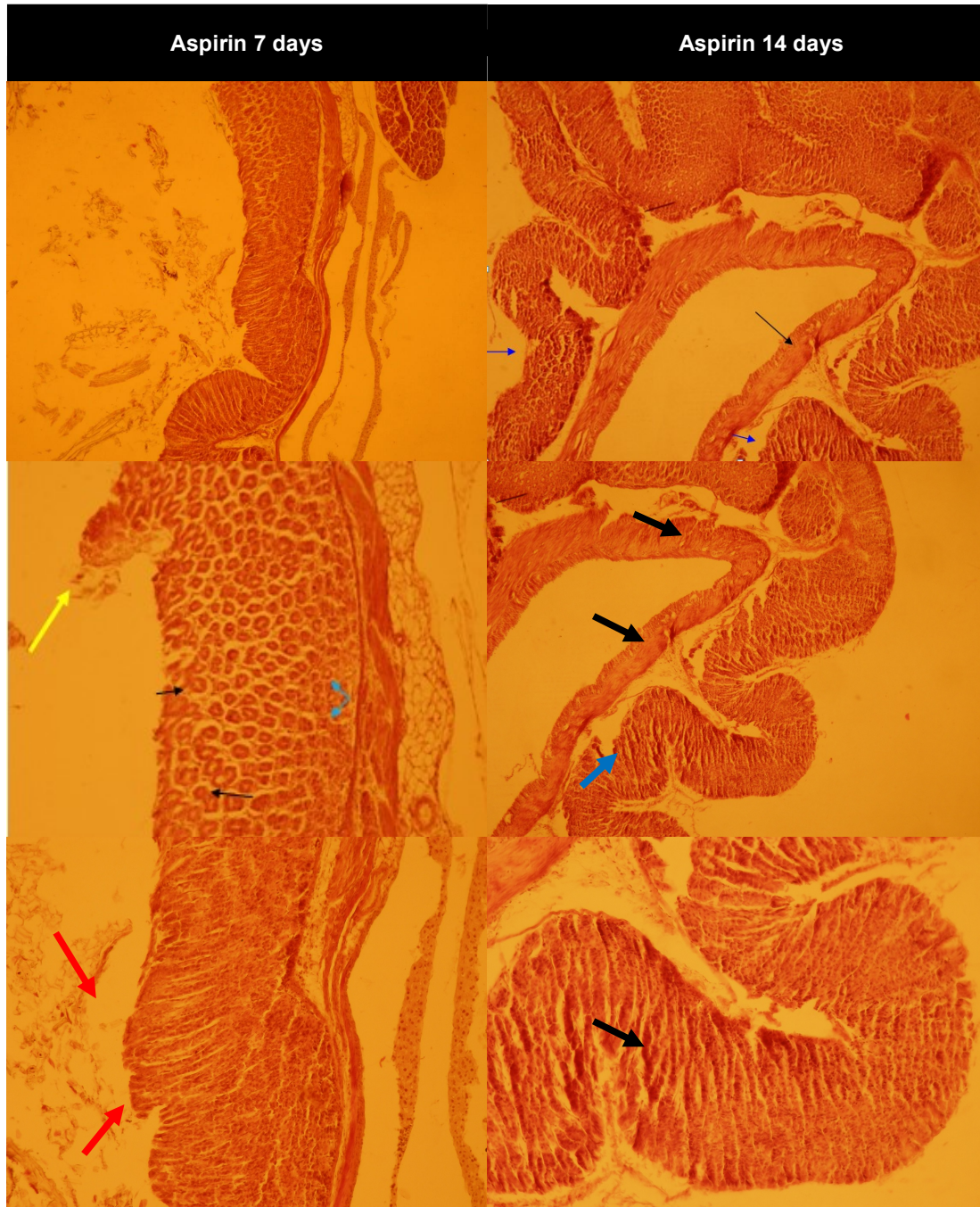
Gastric mucus acts as a barrier that restricts the exposure of gastric cells to various harmful agents of both exogenous and endogenous origin. Increased mucus

production could be a central factor in ulcer healing by protecting damaged tissue from various aggressors, such as some drugs and oxidants.

In fact, mucus secretion obviously contributes to improving epithelial recovery

after acute injuries, by forming a mucoid cap over the initial reepithelialization.

In addition, the formation of buffering capacity and neutralization of luminal hydrochloric acid are the main physiological functions of gastric mucus [2, 10].



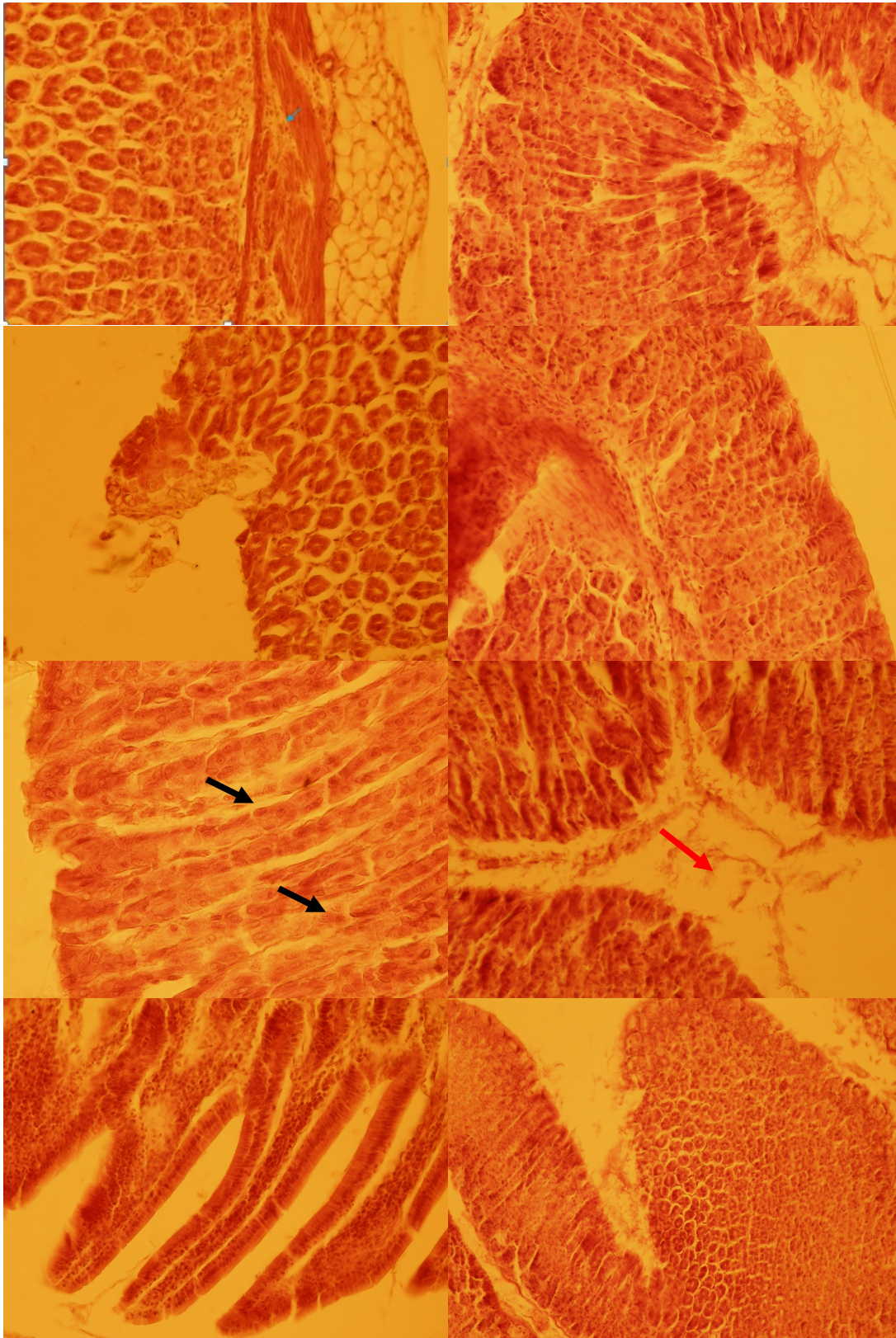
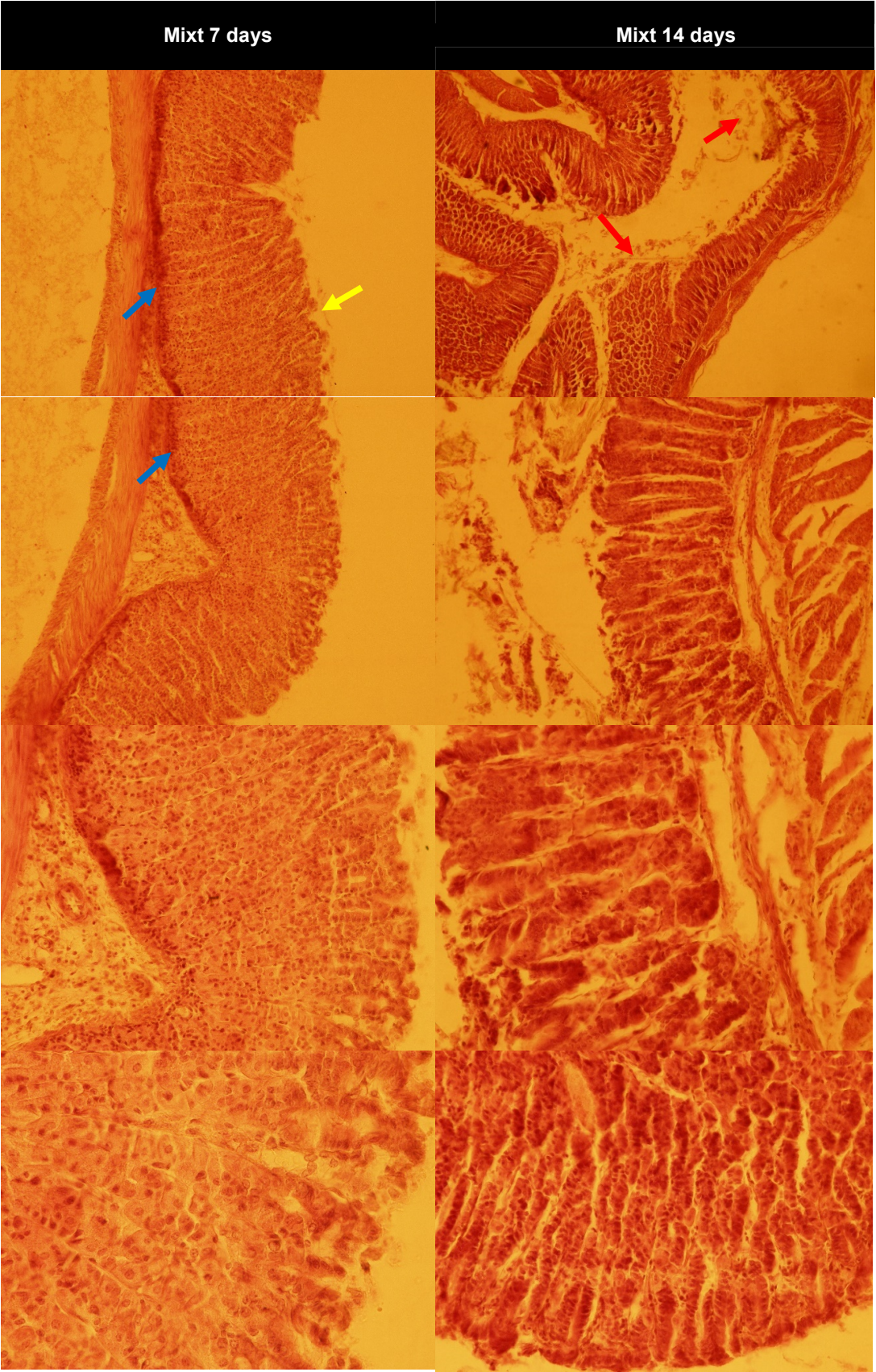


Figure 6. Histological section of the stomach, with changes of peritubular edema —→, Erosion zone —→, Inflammatory infiltrate —→, Degenerated mucous cells —→ (Staining H.E. ob. 4×, 10×, 20×, 40×).



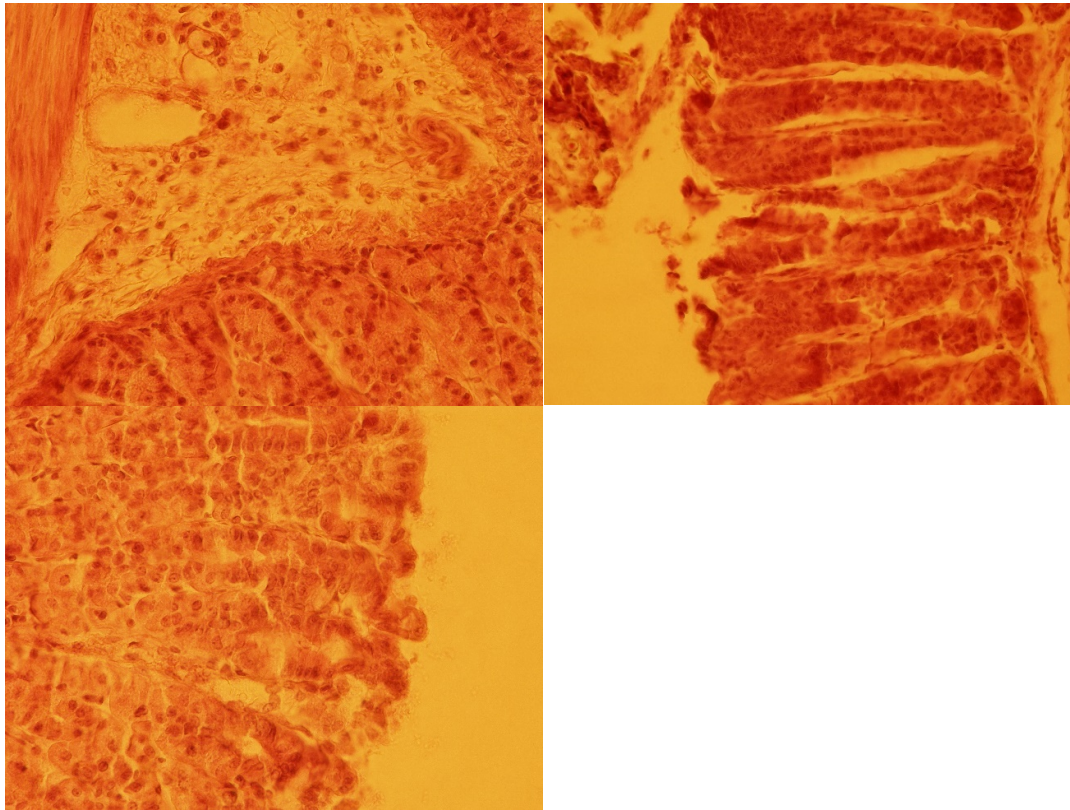


Figure 6. Histological section of the stomach, with changes of peritubular edema →, Erosion zone →, Inflammatory infiltrate →, Degenerated mucous cells → (Staining H.E. ob. 4×, 10×, 20×, 40×).

According to several scientific articles, peptic ulcers induced by NSAIDs are the most serious complication of any synthetic drug therapy [4, 21].

It is widely accepted that NSAID-induced ulceration is mediated by suppressing the cyclooxygenase-dependent pathway (COX) and subsequently blocking prostaglandin (PG) synthesis.

Various aspects, such as interactions between leukocytes and endothelium, neutrophil infiltration, cytokine imbalance and oxidative stress of the mucosa, contribute to the pathogenesis of gastric mucosal lesions initiated by anti-inflammatories.

Activation of adhesion molecules, including cell adhesion molecules (CAM) and intercellular adhesion molecule (ICAM-1), is associated with infiltration of neutrophils into the gastric mucosa.

These complex processes are part of the mechanisms by which NSAIDs can induce lesions of the gastrointestinal mucosa, which can lead to ulceration and serious complications for patients.

Relevant scientific articles highlight the magnitude and complexity of these adverse effects associated with the use of NSAIDs, in clinical treatment [16, 20].

In other studies conducted, as well as the current study, aspirin has been shown to be an excellent gastritis-inducing agent, confirming the validity of the use of this molecule in experimental gastritis induction studies on laboratory animals.

Also, the association between phytotherapeutic preparations, *Curcuma longa* and *Angelica keiskei*, the latter being less studied, plus royal jelly, is already scientifically proven to have a role in improving inflammation of the stomach mucosa, in studies performed on laboratory animals.

The study has shown that their administration can improve histological lesions induced after administration. Specifically, the main mechanism of NSAID-associated lesions in the gastroduodenal mucosa involves systemic inhibition of cyclooxygenase-1 (COX-1), which is responsible for prostaglandin synthesis.

It is associated with a number of adverse effects, including reduced mucosal blood flow, diminished mucus and bicarbonate secretion, and inhibition of cell proliferation.

Concomitant administration of exogenous prostaglandins and use of selective NSAIDs for cyclooxygenase-2 (COX-2) have been associated with a reduction in mucosal damage and the risk of ulcers.

Therefore, therapeutic strategies aimed at simultaneous administration of these compounds may diminish the negative effects of NSAIDs on the gastrointestinal mucosa.

These selective approaches could represent a new direction in effective disease management, minimizing side effects associated with the use of NSAIDs in clinical treatments [5].

However, the different physicochemical properties of NSAIDs cause differences in their toxicity [6].

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs disrupt phospholipids in the mucosa and lead to the decoupling of oxidative mitochondria, phosphorylation, thus initiating mucosal damage.

NSAIDs, when exposed to an acidic environment, such as gastric juice with a low pH around 2, experience a chemical change.

They become protonated, that is, they bind to a proton at the atomic level.

This process allows them to more easily pass through lipid membranes to enter epithelial cells lining the gastrointestinal mucosa.

There, the environment is less acidic, with a pH of about 7.4.

In this more alkaline environment, NSAIDs change chemically and release hydrogen ions (H⁺), making them less able to efficiently cross lipid membranes.

As a result, they remain stuck inside epithelial cells, accumulating in them. This accumulation can trigger changes in normal cellular functioning.

For example, it can affect the process of oxidative phosphorylation, which is essential for energy production in our cells.

By reducing mitochondrial activity, NSAIDs can compromise the ability of cells to generate energy, causing a decrease in the overall level of energy available for optimal body function.

In addition, nonsteroidal anti-inflammatory drugs can increase the permeability of epithelial cells, which can lead to easier penetration of harmful substances or loss of beneficial substances, disrupting the integrity and normal functioning of the gastrointestinal mucosa.

Thus, these NSAID-induced changes can contribute to mucosal damage and ulceration in the gastrointestinal tract [17].

4. Conclusions

- Our study reconfirmed aspirin's effectiveness in inducing gastritis in murine models.
- Signs of improvement in the cytoarchitecture of the stomach were found in both the treated and untreated groups on day 14 of slaughter.
- Signs of improvement in the cytoarchitecture of the stomach were found in both the treated and untreated groups on day 14 of slaughter.
- Taking aspirin, along with certain phytochemical constituents, can reduce side effects associated with long-term medication and reduce overall expenses for peptic ulcer treatments and inappropriate NSAIDs.

5. Recommendations

- We recommend conducting new studies by investigating different plant extracts that may lead to the discovery of new safe drugs with gastroprotective activity.
- Always use plants with high antioxidant activity, especially in treatments used in peptic ulcers.
- Formulation of new medicinal pharmaceutical forms, including herbal active principles.

Bibliography

1. **Ami D. Sperber, Shrikant I. Bangdiwala, Douglas A. Drossman, Uday C. Ghoshal, Magnus Imren, Jan Tack, William E. Whitehead, et al.,** Worldwide Prevalence and Burden of Functional

- Gastrointestinal Disorders, *Gastroenterology*, 2021, 160(1): 99-.
2. **Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K.** Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. *World Gastroenterol.* 2012; 18: 4811 - 4822.
 3. **Ardalani H.; Avan A.; Ghayour-Mobarhan, M.** Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna J. Phytomed.*, 2017, 7(4), 285-294.
 4. **Bahramsoltani R, Farzaei MH, Rahimi R.** Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review. *Arch Dermatol Res.* 2014;306:601–617.
 5. **Bhala N.; Emberson J.; Merhi A.; Abramson S.; Arber N.; Baron J.A.; Bombardier C.; Cannon C.; Bjarnason I.; Scarpignato C.; Takeuchi K.; Rainsford K.D.** Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007, 26, 95–106. [CrossRef].
 6. **Borrelli F, Izzo AA.** The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother Res.* 2000;14:581–591.
 7. **Charpignon C.; Lesgourgues B.; Pariente A.; Nahon S.; Pelaquier A.; Gatineau-Saillant G.; Roucayrol A.M.; Courillon-Mallet, A.;** Group de l'Observatoire National des Ulcères de l'Association Nationale des Hépatogastroentérologues des Hôpitaux Généraux (ANGH). Peptic ulcer disease: One in five is related to neither *Helicobacter pylori* nor aspirin / NSAID intake. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2013, 38, 946–954.
 8. **Cristina RT, Teusdea V.** Ghid de farmacie și terapeutică veterinară, 2008, Ed. Brumar, Timisoara.
 9. **Halter F, Tarnawski AS, Schmassmann A, Peskar BM.** Cyclooxygenase 2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. *Gut.* 2001;49:443–453.
 10. **Huang J.Q.; Sridhar S.; Hunt R.H.** Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease: A meta-analysis. *Lancet.* 2002, 359, 14–22.
 11. **Lanas Á.; Carrera-Lasfuentes P.; Arguedas Y.; García S.; Bujanda L.; Calvet X.; Ponce J.; Perez-Aisa, Á.; Castro M.; Muñoz M.;** et al. Risk of upper and lower gastrointestinal bleeding in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, or anticoagulants. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2015, 13,906–912.e2.
 12. **Lanas A.; Chan, F.K.L.** Peptic ulcer disease. *Lancet* 2017, 390, 613–624.
 13. **Levenstein S.; Rosenstock S.; Jacobsen R.K.; Jorgensen T.** (2015) Psychological stress increases risk for peptic ulcer, regardless of *Helicobacter pylori* infection or use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*, 13, 498–506.e1.
 14. **Masclee G.M.; Valkhoff, V.E.; Coloma P.M.; de Ridder M.; Romio, S.; Schuemie M.J.; Herings R.; Gini R.; Mazzaglia G.; Picelli G.** (2014); et al. Risk of upper gastrointestinal bleeding from different drug combinations. *Gastroenterology*, 147, 784–792.
 15. **McColl K.E.** (2009) *Helicobacter pylori* - negative nonsteroidal anti-inflammatory drug-negative ulcer. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, 38, 353–361.
 16. **Mössner J.** (2016) The indications, applications, and risks of proton pump inhibitors. *Deutsch. Arztebl. Int.* 2016, 113,477–483.
 17. **Orasan A.S, Moruzi F.R. , Dumitrescu E, Muselin F., Doma A.O., Vlad Corina , Folescu M., Cristina R.T.** (2022). The pathogenesis of gastritis - A complete approach to pathological mechanisms, histological changes, at the level of the gastric mucosa, and the classification of gastric lesions. *Medicamentul Veterinar / Vet Drug.*16(2):16-31

18. **Repetto MG, Liesuy SF.** (2002) Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35:523–534.
19. **Souza MH, Mota JM, Oliveira RB, Cunha FQ.** (2008) Gastric damage induced by different doses of indomethacin in rats is variably affected by inhibiting iNOS or leukocyte infiltration. *Inflamm Res.*;57:28–33.
20. **Tarnawski AS, Jones MK.** (2003) Inhibition of angiogenesis by NSAIDs: molecular mechanisms and clinical implications. *J Mol Med (Berl)*; 81:627–636.

**NOUA FABRICĂ DE MEDICAMENTE
A COMPANIEI FARMACEUTICE
DELOS**



- Certificată GMP
- Organizată pentru producerea medicamentelor pulverulente și soluțiilor orale bazată pe folosirea unor tehnologii și utilaje moderne



Keratin forte

ȘAMPON CU CHERATINĂ,
BIOTINĂ, ALOE VERA ȘI PROVITAMINA B5
PENTRU CABALINE, CĂINI ȘI PISICI

Prezentare
1 L
200 ml



Curăță delicat

Reduce căderea părului

Regenerează firele de păr

Hidratează și conferă strălucire

ȘAMPON CU CHERATINĂ, Biotină, ALOE VERA ȘI PROVITAMINA B5

Șamponul **Keratin Forte** este special creat pentru a regenera, întări și hrăni în profunzime părul. Îmbogățit cu cheratină, biotină, aloe vera și provitamina B5. Șamponul curăță delicat, accelerează procesul de regenerare a firelor de păr, conferă strălucire, hidratează și reduce căderea părului.



www.pasteur.ro

Instrucțiuni pentru autori

Revista Medicamentul veterinar / Veterinary Drug (Med. Vet. / Vet. Drug) este publicația oficială a **Asociației Naționale a Fabricanților de Produse de Uz Veterinar din România (ANFPVUR)** cu apariție semestrială în lunile Mai – Iunie și Decembrie.

Sunt așteptate spre publicare lucrări din domenii conexe topicului acestei reviste, care să fie asimilabile următoarelor:

- a. **Articole științifice originale** care să prezinte rezultate originale ale cercetării fundamentale ale medicamentului sau conexe; extindere 4-10 pagini; rezumat, în engleză, 200-300 cuvinte; 3-6 cuvinte cheie; minim 10 referințe bibliografice.
- b. **Sinteze**, extindere maximum 20 pagini, rezumat, în engleză, 200-300 cuvinte; 3-6 cuvinte cheie; referințe bibliografice conexe.
- c. **Rapoarte de caz**, care să prezinte rezultate originale ale practicii terapeutice; extindere 2-3 pagini; rezumat, în engleză, 100-200 cuvinte; 3-5 cuvinte cheie; 6-10 referințe bibliografice,
- d. **Comunicări scurte**, în care se poate face prezentarea unor rezultate parțiale sau scurte observații punctuale din cadrul fazelor cercetării științifice sau a practicii curente veterinare, opinii științifice etc, extindere 1-3 pagini; rezumat, în engleză, 100-200 cuvinte; 3-5 cuvinte cheie; fără referințe bibliografice sau, excepțional, doar una - două titluri strict legate de tematică.
- e. **Traduceri din literatura de specialitate**, extindere 1-2 pagini; 3-5 cuvinte cheie; referințe bibliografice.
- f. **Anunțuri și reclame**, din domeniile conexe (apariții editoriale, evenimente, prezentări produse noi, agenda manifestărilor asociației etc).

Structura editorială și acoperirea tematică a publicației

1. Legislația medicamentului veterinar,
2. Marketingul medicamentului veterinar,
3. Biotehnologia medicamentului,
4. Cercetarea medicamentului
5. Terapeutică veterinară
6. Varia

În vederea publicării și evaluării prezentarea lucrărilor către secretariatul științific se poate face personal, prin poștă pe adresa: **Dr. Romeo**

Teodor Cristina (F.M.V. Timișoara, Calea Aradului 119, 300645, tel. 0256277140, fax. 0256277140, sau cel mai simplu ca fișier atașat, la adresa: rtcristina@yahoo.com

Lucrările vor fi supuse analizei **peer-review** de către **Comitetul Științific** al revistei care are secretariat zonale, cu notificarea autorilor (în cazul lucrărilor acceptate în forma finală pentru publicare sau pentru scurte corecturi care se impun). **Refuzarea unei lucrări de la publicare nu este obligatoriu notificată autorului.**

Disclaimer:

Întreaga responsabilitate privind autenticitatea, exactitatea și onestitatea datelor în materialele prezentate spre publicare revine exclusiv autorilor !

Copyright®

Legea **Copyright**-ului impune ca autorii să semneze un formular tipizat **Copyright**, prin care aceștia transferă către revistă, reprezentată de Editorul șef, dreptul de publicare al materialului trimis. Autorii lucrărilor acceptate la publicare vor primi din partea editorului șef un formular foarte simplu în format Word, care va trebui completat, semnat și retrimis acestuia. La fel vor primi formulare și peer-review-erii.

După publicare, autorii vor putea folosi întotdeauna și oriunde, fără nici un fel de notificare sau permisiune prealabilă articolul propriu (mai puțin publicarea în aceeași formă), în conformitate cu deontologia redactării lucrărilor științifice, dar cu citarea ca sursă primară de publicare a revistei: **Medicamentul veterinar / Veterinary drug**

Instrucțiuni de redactare a lucrărilor științifice originale:

Număr pagini: în conformitate cu tipul de articol,
 Lucrările: redactate în limba română și/sau engleză, obligatoriu în cazul lucrărilor originale!
 Rezumatul: obligatoriu în română și engleză,
font 9 arial
 Format pagină: tip pagina: **A4** (29,7 x 21cm),
 Oglinda paginii: în cm
 top -2,5;
 left -2,5;
 right -2,5;
 bottom -2,5;
 gutter-0,
 Header/Footer: 1,3 cm.,
 Paginare: centru – jos,
 Fonturi: **Arial**, cu diacriticele limbii române:
 ă, â, î, ș, ț, Ă, Â, Î, Ț, Ț,
 Tabs-uri: 0,7 cm.

1. Titlul lucrării: majuscule, **bold**, **centrat**, **12 pt.**, bilingv, mai întâi în limba română, apoi în engleză.

2. Autorii: centrat 10 pt., bold, întâi prenumele, apoi numele de familie. Prenumele bărbaților - numai inițială, prenumele femeilor – în întregime.

Instituția (sub autori imediat) de care aparține fiecare autor (fără prescurtări), centrat, 9 p.

- când autorii aparțin mai multor instituții se marchează fiecare autor la sfârșitul numelui, cu un număr corespunzător (ca exponent), fiecare număr va fi asociat unei instituții.

Exemplu:

STUDIUL EFICIENȚEI UNOR PRODUSE QUINOLONICE

STUDIES ON SOME QUINOLONES EFFICACY

R.T. Cristina¹, Eugenia Dumitrescu¹,
V. Teușdea²

¹Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara,

²Facultatea de Medicină Veterinară București

3. Cuvinte cheie: aliniat stânga sus la un tab, 9 pt., **nebolduit, italic**, blingv, în limba română, apoi în limba engleză, cât mai concis și într-o ordine logică.

Exemplu:

Cuvinte cheie: *quinolone, eficacitate, farmacodinamie*

Keywords: *quinolones, efficacy, pharmacodynamic*

4. Rezumatul obligatoriu atât în limba engleza, (cu titlul: **Abstract**), cât și în limba română – **bold, 9 p., centrat**.

- conținutul rezumatului, conform tip de articol, **9 pt.**, aliniat stânga – dreapta (justify)

5. Introducere – dacă se impune, fără titlu, aliniat stânga – dreapta (justify), **10,5 p.**

6. Subtitlurile lucrării:

Material și metodă, Rezultate și discuții, Concluzii
Toate aceste subtitluri: cu majuscule, **bold, centrat, 11 p., numerotate**. Corpul textului lucrării: **10,5 p.**, aliniat stânga–dreapta (justify).³

7. Mulțumirile (Acknowledgements), dacă este cazul, **normal, centrat, italic, 10 p.**

- pot fi înscrise mulțumiri la adresa unei anumite persoane, sponsor, sau se poate folosi formularea de tipul: „Lucrarea a fost realizată pe baza grantului nr..... obținut de către.... din partea ... etc.”

8. Bibliografia: cu majuscule, **bold, centrat, 12 p.:**

Conținutul: aliniat stânga – dreapta justify **bold, 10 p.**, Redactarea bibliografiei se face în ordinea strict alfabetică a primului autor. Se vor scrie:

- numărul curent;

- autorii (**bold**):

- primul autor -numele, apoi prenumele, apoi ceilalți autori.

- la bărbați, doar inițiala prenumelui,

- la femei, prenumele întreg;

- anul în paranteze drepte,

- denumirea publicației citate, preferabil în întregime sau folosind prescurtările consacrate în literatură,

- pentru reviste: autor(i), anul apariției denumirea articolului (normal), urmat de denumirea revistei (italic), volumul (cu **bold**), numărul (în paranteza [...]), paginile (normal);

- pentru cărți: autor(i), anul apariției, denumirea cărții, capitolului, ediție, editură, oraș, (toate normal);

- pentru teze: autor, anul apariției, denumirea tezei, universitatea unde a fost susținută, localitatea, (toate normal).

- citarea autorilor, în ordinea din lucrare.

- în cazul lucrărilor scrise cu litere slave, arabe, asiatice etc. va fi efectuată transcrierea în alfabetul arab.

Exemple:

a. pentru cărți:

Cristina R.T. (2006). Introducere în farmacologia și terapia veterinară. Ed. Solness, Timișoara.

b. Lucrări științifice:

Cernea, M., Cozma, V., Cristina Cernea, Sas, C., Anca Mărculescu, (2004). Testarea *in vitro* a rezistenței cyathostomelor la albendazol. *Lucr. Șt., Med. Vet. Timișoara*, **37**, 357-360.

c. Lucrările unor congrese sau organizații:

*** **FEDESA** (2000) – Antibiotics for animals. A FEDESA perspective on antibiotics, Animal Health and the Resistance Debate, vol. February: 6;

*** **EMA Committee for Veterinary Medicinal Products** – Doxycycline Hyclate, Summary report (1), EMA/MRL/270 /97- Final June 1997.

d. site-uri web

www.noahcompendium.co.uk

J. Antimicrob. Chemother. (2003)

www.jac.oupjournals.org/cgi/content/abstract/dkh007v1

Citarea autorilor sau a lucrărilor în text:

- autorii vor fi citați în text între paranteze simple, numele autorului fiind urmat de anul apariției lucrării.

- ex.: (Paștea, 1990)[...].

- dacă sunt doi autori, vor fi citați ambii: ex. (Teușdea și Mitrănescu, 1999)[...].

- dacă sunt mai mulți de doi: ex. (Taylor și col., 2004).

- dacă se face referire la un autor, care la rândul lui este citat de către alt autor: (Trif și col. cit. de Oros, 2006)[...].

- verificați ca toți autorii din bibliografie să fie citați în text și viceversa, toți autorii din text să apară la bibliografie.

- citarea lucrărilor se face înscriind numărul de ordine al lucrării (lucrărilor) în paranteze drepte, de regula, la sfârșitul frazei. ex.: „Aceste aspecte au fost relevate de numeroși autori din literatura de specialitate [1, 3, 15, 33]”.

Italicile: se scriu obligatoriu cu italice:

- cuvintele în limba latină: *ad libitum, in vitro, in vivo, et al., per se, ad hoc, inter alia, inter se* etc.

- denumirile științifice ale speciilor: *Haemonchus contortus, Brachyspira spp., Datura stramonium, Candida albicans* etc.

- constante și necunoscute matematice,

- prima folosire în text a unui termen special,

- denumirile anatomice în limba latina: mușchiul *latissimus dorsi*, osul *humerus*, vena *cava caudalis*.

nu se scriu obligatoriu cu italice: corpus luteum, via, N.B., i.m., i.v., s.c., post mortem, post partum etc.;

Liniuța de unire:

- nu se recomandă despărțirea în silabe la capătul rândului, ci scrierea cuvântului întreg.

- poate fi utilizată după prefixe: anti-estrogenic, pre-tratament, non-activ, post-partum,

Nerecomandabil

- nu se admite limbajul echivoc, neștiințific și imprecis.

- nu sunt recomandate expresii ca: „Un bine cunoscut cercetător ...”, „de la 10 la 12 ore” etc.

Parantezele:

- se pot utiliza toate cele trei tipuri, fără să existe o regulă generală.

Se scriu cu majusculă:

- toate denumirile științifice ale speciilor, numele claselor, ordinelor și familiilor (bacteriene, virale, parazitare etc).
- numele proprii ale persoanelor, instituțiilor,
- abrevierile.
- numele bolilor nu vor fi capitalizate.

Numeralele:

- se folosesc litere pentru numerele de la unu la nouă (ex.: doi, cinci, șapte) și cifre peste nouă (ex.: 10, 11, 231 etc.);
- separarea zecimalelor: prin virgula în cazul redactării în limba română și prin punct, în cazul limbii engleze;
- pentru numerele mari din text se vor adopta formulări cât mai scurte, ex.: 10.000.000 / 10^7 ;
- pentru înmulțire se folosește semnul $\times$; ex. 129 $\times$ 236,
- pentru împărțire, semnul /. Exemplu: 129/236.

Unitățile de măsură:

- se vor exprima conform standardelor internaționale agreeate și utilizate în literatura de specialitate.
- exprimarea concentrației și a compoziției: se preferă exprimarea în moli (M sau mM) sau echivalenți (Eq sau mEq) (cu excepțiile legate de procentul de mortalitate, exprimarea procentuală (%) a soluțiilor sau alte valori simple care se pretează la această formă de prezentare fiind folosită recomandabil în aceste situații).

Simbolurile:

- conform standardelor matematice: ex. $>$, $<$, $=$, $\pm$, $\equiv$, $\geq$, $\leq$, $\neq$, $\approx$, ∞ , ϕ , $\varnothing$ etc.
- semnele statistice: ex. $*P<0,05$, $**P>0,01$, $***P<0,001$ etc.

Abrevierile:

- vor fi cele standard ex: FSH, LH, ACTH, DNA, RNA, approx., I.U.- internațional units; vs – versus etc.

Redactarea tabelelor:

- tabelele vor fi concepute astfel încât să ocupe toată lățimea oglinzii paginii, fără să o depășească.
- dacă un tabel trece pe pagina următoare, el va fi precedat de o linie care să cuprindă repetarea capătului de tabel sau dacă este de mari dimensiuni, acesta va fi inserat fără cap de tabel pe fiecare pagină.
- corpul de literă la tabele poate fi de 8 sau 9.
- numerotarea tabelelor se face aliniat dreapta, italic, astfel: **Tabelul 1**
- titlul tabelului va fi redactat în limba română și în limba engleză, bold, centrat.
- numerotarea și titlul tabelelor vor fi redactate cu corpul de literă **10**.
- textul tabelului, în interiorul acestuia, va fi redactat de asemenea bilingv.
- titlurile tabelelor să fie suficient de detaliate, fără prescurtări.
- tabelele (ca și figurile) vor fi obligatoriu citate în text și comentate.
- dacă există tabele care conțin note, acestea, ca și legenda, se vor scrie imediat sub tabel.

Materialul ilustrativ:

- este reprezentat de figuri (noțiunea incluzând fotografii, desene, scheme, grafice etc.).
- toate figurile vor fi prezentate în alb-negru sau color, cu un contrast cât mai bun.

- dimensiunea acestora să nu depășească $\frac{1}{4}$ din lățimea oglinzii paginii.

- numerotarea figurilor se face centrat, sub figură, cu bold: **Fig. 1**.

- titlul, urmează după numerotare, simplu, centrat, **10 pt.**, adnotările din cadrul figurilor se vor face cu corpul literă **8**.

- numerotarea și textul figurilor vor fi redactate în limba română.

- toate figurile vor fi citate în text (și comentate).

Notele de subsol (footnotes)

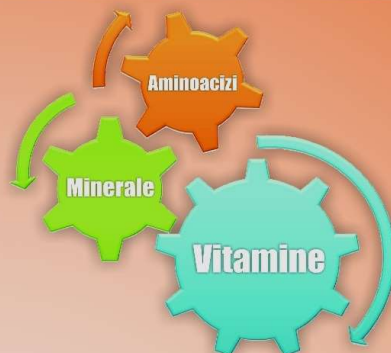
- acestea se vor marca cu cifre, mărimea fontului **8**.

- notele de pe o pagina trebuie să se regăsească în subsolul paginii respective.

Head Editor

Prof. Dr. Romeo T. Cristina

NOU!



SOLUȚIE ORALĂ

SELEVIT SOL

COMPLEX DE VITAMINE, MINERALE, AMINOACIZI, SELENIU



**RECOMANDAT
PENTRU:**

- * Lipsa de vitamine/oligoelemente
- * Situații de stres, stări de convalescență
- * Stimularea sistemului imunitar
- * Obținere de parametri superiori de producție
- * Creșterea fertilității
- * Prevenirea/tratamentul atrofiilor musculare



FarmaVer
Fondat 1995

Distribuitor: S.C. Farmavet S.A.
Calea Giulești nr. 333, Sector 6, 060269 București
Office@farmavet.ro
Tel. 021/221.99.60, 021/220.69.09 Fax 021/220.69.32



producător
Pasteur
Filipești
ROMÂNIA