

Microbiologia parte speciale

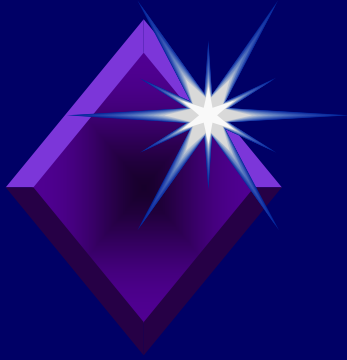
www.fisiokinesiterapia.biz

Fonti: Michele la Placa: principi di Microbiologia Medica X edizione Società editrice Esculapio

<http://www.cdc.gov/>; <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/catalase.htm>; <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/coag.htm>;

<http://uhrn.civicua.org/library/std/staf.htm>

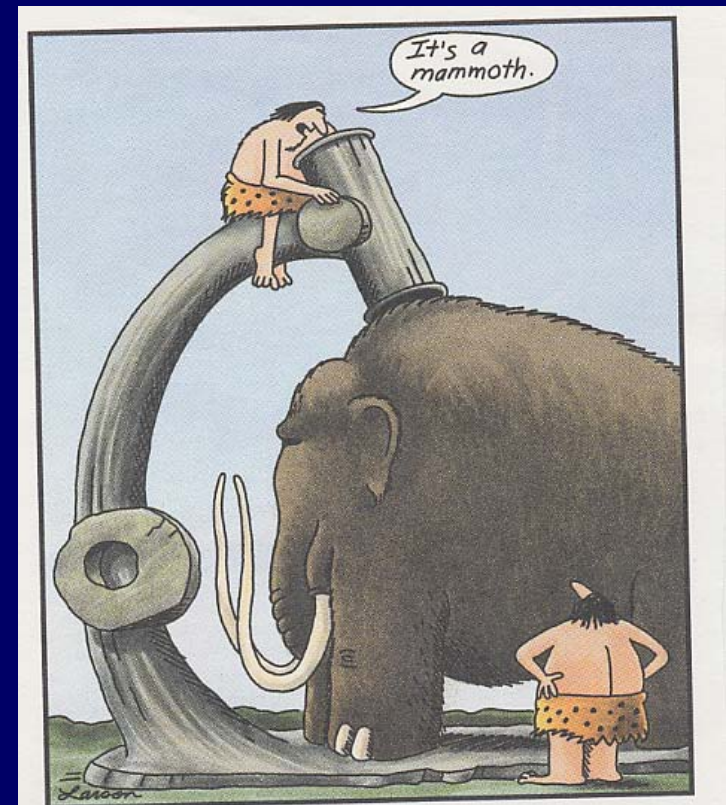
<http://health.allrefer.com/health/nikolskys-sign-nikolskys-sign.html>

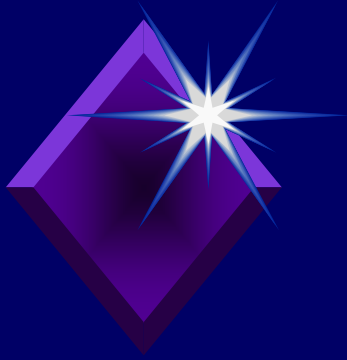


I Batterii di interesse medico: criteri fondamentali per lo studio

Inquadramento dei batteri in un contesto generale

- **Comprensione delle caratteristiche morfofunzionali (conoscenza del meccanismo dell'azione patogena e dei metodi di identificazione)**
- **Cocco:** ne deduciamo automaticamente che:
 - È un batterio Gram positivo
 - Asporigeno
 - Immobile
 - Produttore di esotossine





I Batteri Di Interesse Medico: Criteri Fondamentali Per Lo Studio

Aerobio o anaerobio?

La maggior parte sono aerobi-anaerobi facoltativi

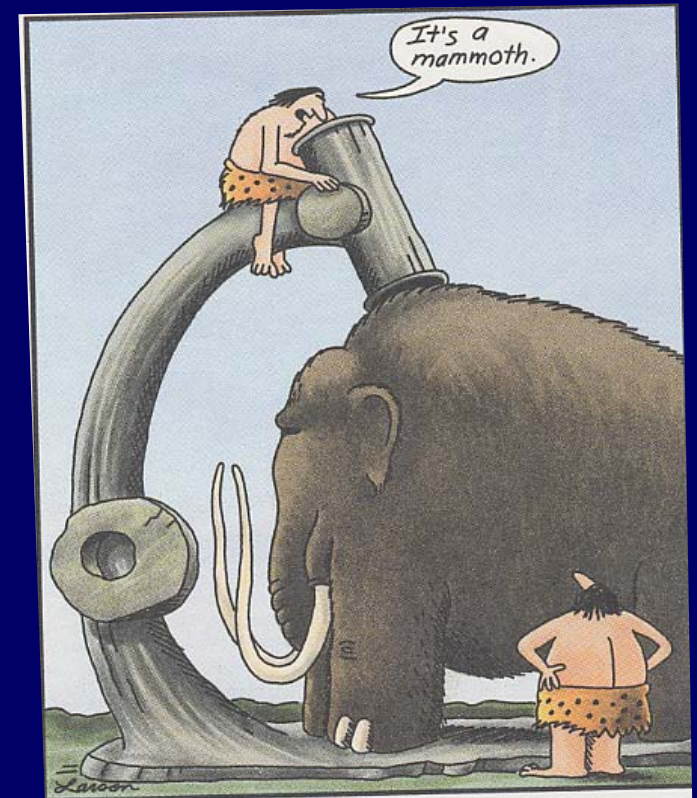
Eccezione: brucella o batteri anaerobi obbligati

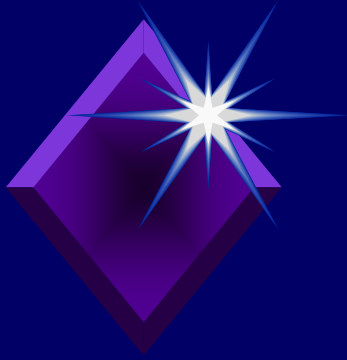
Sporigeno o asporigeno?

S: genere *bacillus* e genere *clostridium*

Quali terreni?

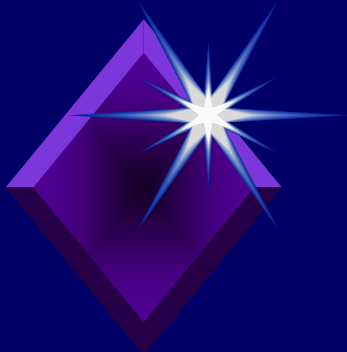
Terreni arricchiti, condizioni particolari ($\pm O_2$)
o terreni abiotici





Cosa dobbiamo sapere?

- ◆ **Caratteristiche generali del batterio**
- ◆ **Meccanismo dell'azione patogena**
- ◆ **Quadro clinico**
- ◆ **Diagnosi di infezione**
- ◆ **Farmaci/vaccini**



Staphylococcus aureus

Gram positivo

Capsulato

Aerobio/anaerobio facoltativo

Catalasi positivi

Produzione carotenoidi

Diffuso uomo e animali



Staphylococcus aureus: i principali quadri patologici

◆Cute e tessuti molli:

foruncoli, favi,

◆Apparato respiratorio:

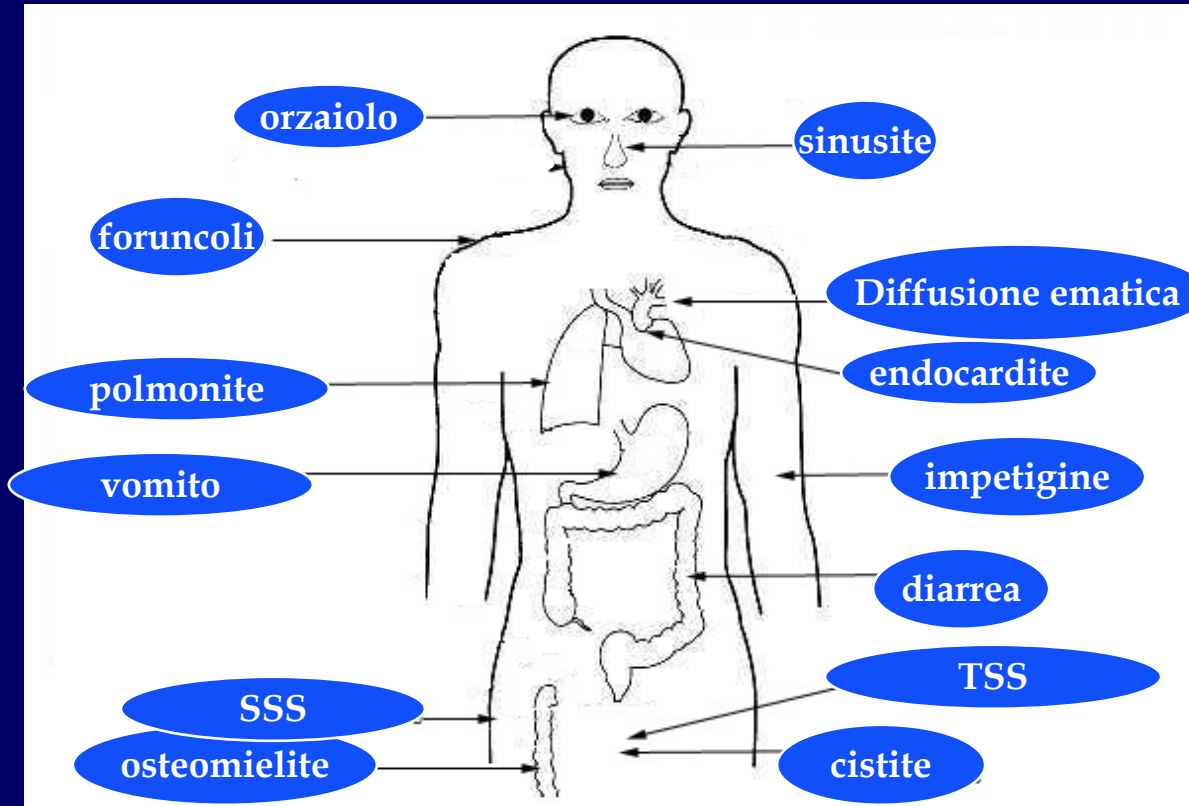
polmonite

◆Apparato scheletrico:

osteomielite

◆Apparato genito urinario:

ascesso renale,
infezione basse vie urinarie



◆Sistema nervoso centrale:

ascessi cerebrali ed epidurali

◆Batteriemia:

complicata da ascessi mediastinici

◆Sindrome da shock tossico:

TSS-1 e tossine pirogene

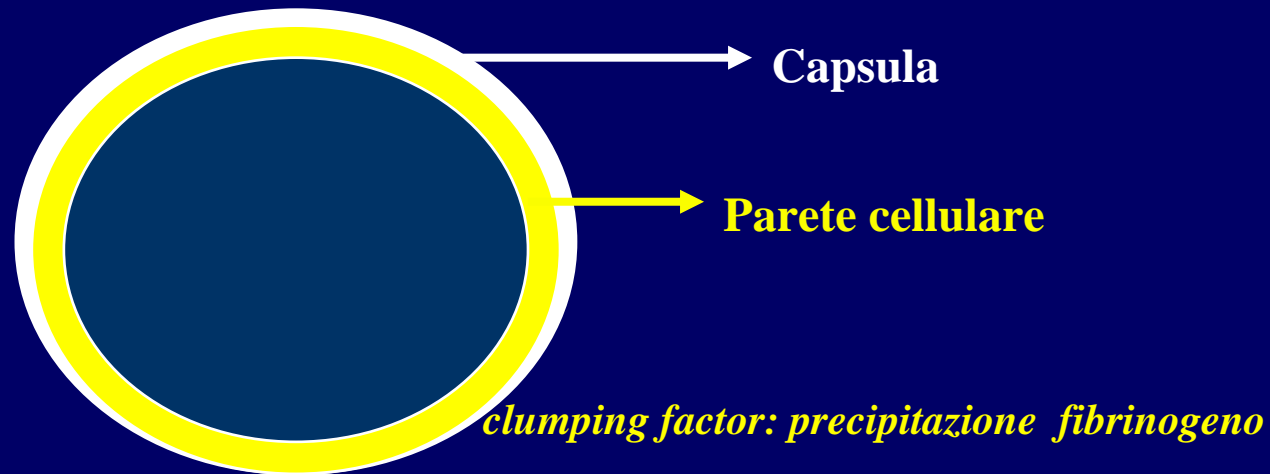
◆Intossicazione alimentare:

gastroenterite (enterotossina)

Caratteri Antigeni

Antigeni specie-specifici:

- ◆ antigene polisaccaridico (acido d-glucosaminuronico + aa)
- ◆ **Adesine: clumping factor, proteina A** (*capacità di interagire con proteine presenti nella matrice cellulare*)





Meccanismo dell'azione patogena: infezione piogena

- ◆ Capsula e proteina A



moltiplicazione negli spazi intercellulari

- ◆ Protezione dal killing

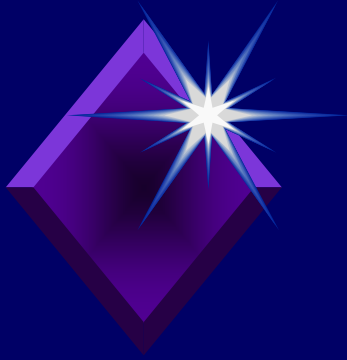


produzione di catalasi e superossidodismutasi

- ◆ Lesione di elementi cellulari e diffusione



Tossine, esoenzimi

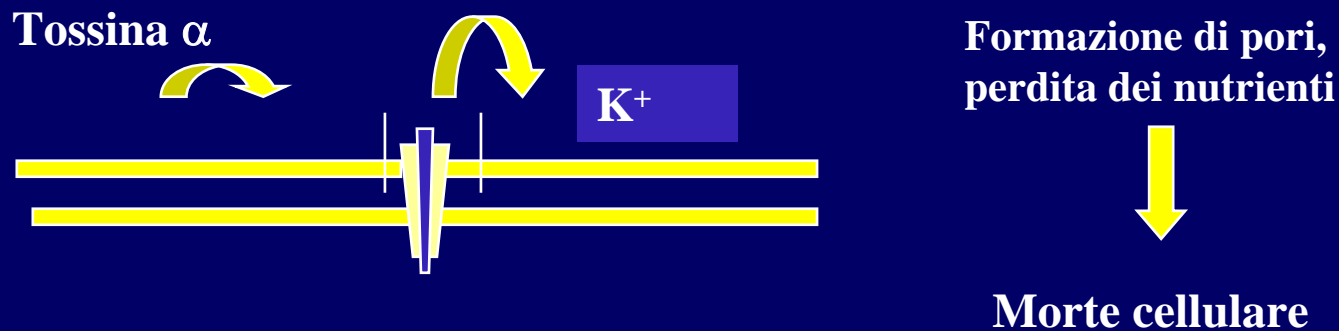


Meccanismo dell'azione patogena: le citolisine

Tossine proteiche (citolisine o emolisine e leucocidina PV) sono in grado di ledere le membrane delle cellule bersaglio, provocandone la morte.

Agiscono con due meccanismi di azione:

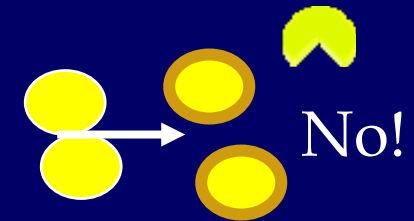
- 1) *induzione di citochine (risposta infiammatoria) formazioni di pori (Tossina α , Tossina δ)*
- 2) *azione enzimatica sui lipidi di membrana (tossina β , tossina γ , e tossina di Panton Valentine (PV))*





Meccanismo dell'azione patogena: gli enzimi

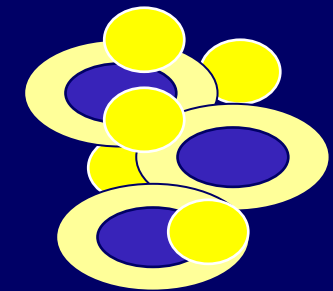
Coagulasi: in combinazione con un fattore denominato CRF (*coagulase reacting factor*) presente nel plasma di uomo e di altre specie animali provoca la trasformazione del **fibrinogeno** in **fibrina**. E' in grado di creare la formazione di uno strato protettivo di fibrina intorno alla cellula batterica (ostacolo alla fagocitosi)



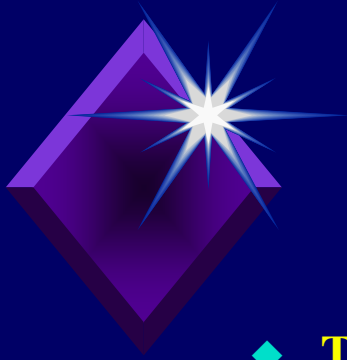
Stafilochinasi: converte il **plasminogeno** presente nel plasma in **plasmina**, permettendo una maggiore invasività

Ialuronidasi: depolimerizza l'acido ialuronico (presente nella sostanza fondamentale del connettivo). Agisce da fattore diffusore, facilitando la diffusione del processo infettivo e dei prodotti tossici elaborati dai batteri.

Maggiore
invasività



Lipasi, esterasi, fosfatasi e DNAsi.

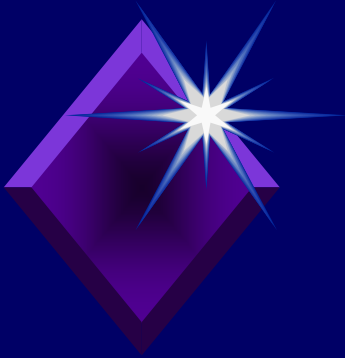


Meccanismo dell'azione patogena: le tossine

- ◆ **Tossina epidermolitica** o tossina esfoliativa: provoca la cosiddetta sindrome della cute ustionata (*scalded skin syndrome*) o necrosi epidermica acuta (prima infanzia). Scollamento spontaneo di ampie zone degli strati superficiali dell'epidermide a causa della rottura dei desmosomi. La tossina raggiunge l'epidermide per via ematica

Aree di scollamento
epidermico superficiale





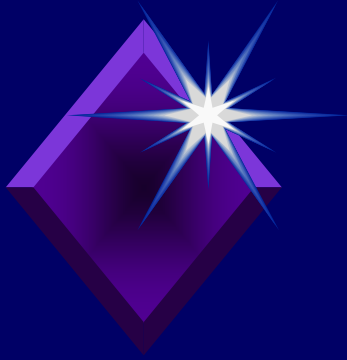
Meccanismo dell'azione patogena: le tossine

- ◆ **Enterotossina:** resistente all'azione di numerosi enzimi proteolitici e mantiene inalterata la sua azione anche dopo esposizione a 100°C.
- ◆ Sintomatologia nell'uomo: vomito, accompagnato in alcuni casi da diarrea, dopo 1-6 h dall'ingestione del cibo. Inoltre salivazione, crampi addominali e prostrazione.
- ◆ Le enterotossine sono essenzialmente degli emetici, in grado di agire sui visceri addominali dove lo stimolo raggiunge i nervi simpatici e il vago.

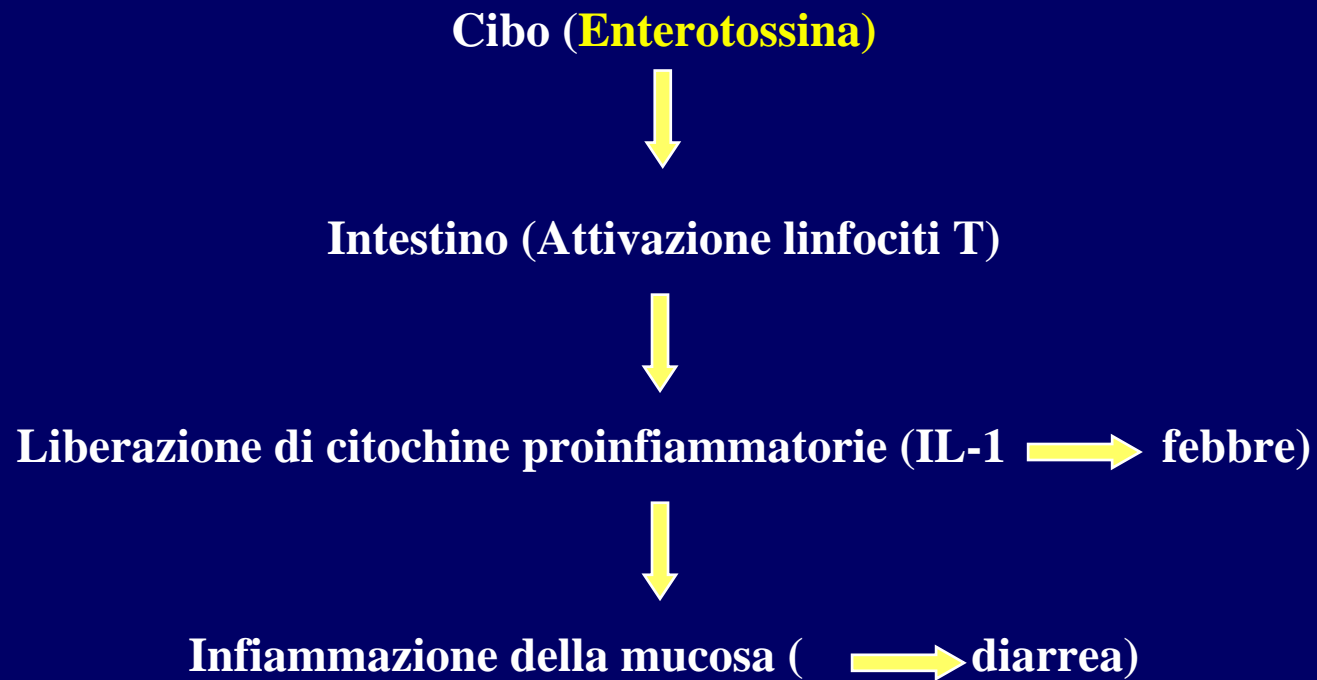
produzione di lipasi



Utilizzo dei lipidi a scopo nutrizionale



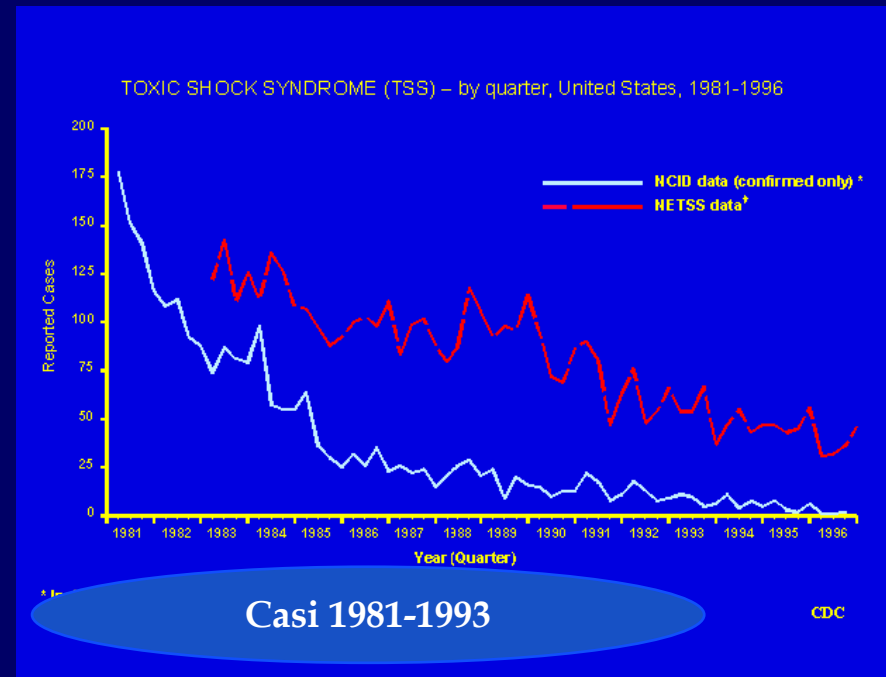
Meccanismo dell'azione patogena: le tossine



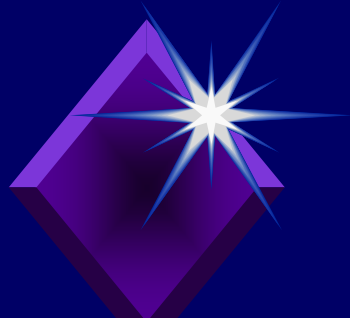


La Sindrome da Shock Tossico

- ◆ Colonizzazione vaginale ad opera di alcuni ceppi, favorita dal flusso mestruale e dall'uso di particolari assorbenti interni. Alcuni casi anche nell'uomo come conseguenza di moltiplicazione del batterio a livello delle mucose.
- ◆ Produzione di una tossina in grado di funzionare come **superantigene**: capace di produrre una serie di citochine.



p.i. 2 giorni. febbre improvvisa e molto alta, diarrea, vomito, esantemi simili a scottature, vertigini, confusione mentale, indolenzimento muscolare

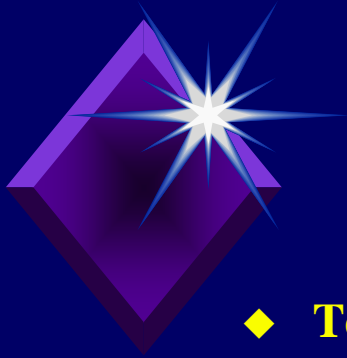


Metodi Di Identificazione

- ◆ **Campioni:** tamponi, materiale purulento, sangue, broncoaspirato e liquor.
- ◆ **Esame microscopico:** l'esame microscopico (cocchi Gram-positivi con la tipica disposizione a grappolo) del campione, purché si tratti di materiale proveniente da raccolte ascessuali chiuse o comunque da zone dell'organismo senza comunicazioni con l'esterno

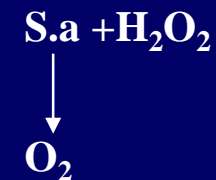
◆ **Esame colturale:**
piastre di agar sangue addizionato del 7,5% di NaCl con l'aggiunta di mannitolo (terreno di Chapman).





Metodi Di Identificazione

- ◆ **Test della catalasi:** una goccia di soluzione al 3% di perossido di idrogeno viene posta su un vetrino a una piccola quantità della colonia sospetta viene aggiunta alla soluzione. La formazione di bolle (rilascio di ossigeno) indica la positività del test. **I batteri produttori di catalasi causano la liberazione di ossigeno** che svolgendosi in forma gassosa provoca la formazione di una schiuma evidente intorno e sulla patina batterica.
- ◆ Distinzione con streptococchi e pneumococchi.





Metodi Di Identificazione

- ◆ **Test della coagulasi:** mescolare, in una provetta, una piccola quantità di una brodocoltura dello stafilococco in esame con 1 o 2 ml di plasma citratato ricco in CRF (preferibilmente di coniglio) e si incuba a 37°C; nel caso di stafilococchi patogeni, entro 3 ore si produce un evidente coagulo, mentre gli stafilococchi apatogeni lasciano inalterata la fluidità della miscela.





Sensibilità Agli Antibiotici E chemioterapici

- ◆ Lo Stafilococco è uno dei batteri che più frequentemente presenta il fenomeno della farmaco-resistenza (soprattutto nell'ambito dei ceppi diffusi in ambito ospedaliero) a causa dell'uso indiscriminato di antibiotici
- ◆ *Staphylococcus aureus* rappresenta la prima causa numero delle infezioni ospedaliere negli Stati Uniti (resistenza alla vancomicina)
- ◆ Resistenza alla meticillina: il 20% degli stipti isolati in ambiente ospedaliero presenta meticillino-resistenza (tutte le penicilline semisintetiche resistenti alle penicillinasi (cloxacillina, nafcillina etc)





Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Among ICU Patients, 1995-2004



Source: National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System

SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

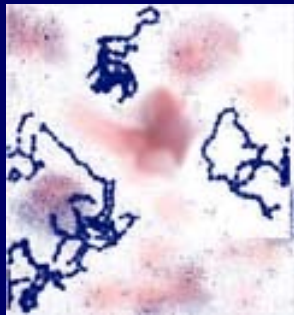


Streptococchi

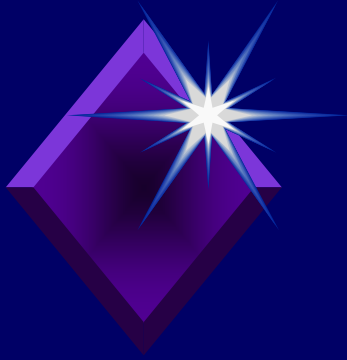
Streptococchi α -emolitici: alone ristretto di emolisi incompleta, con colorazione verdastra (trasformazione metabolica dell'emoglobina)

Streptococchi β -emolitici: alone evidente di emolisi completa

Streptococchi γ -emolitici: nessuno alone di emolisi



<http://www.lf3.cuni.cz/ustavy/mikrobiologie/rep/stpy.htm>



Streptococcus pyogenes β emolitico

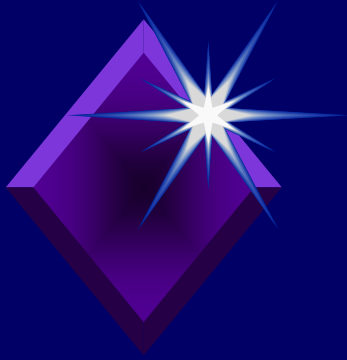
◆ Manifestazioni infiammatorie acute

1. Angina streptococcica e Scarlattina
2. Infezioni cutanee
3. Sindrome da shock tossico
4. Infezioni post-partum



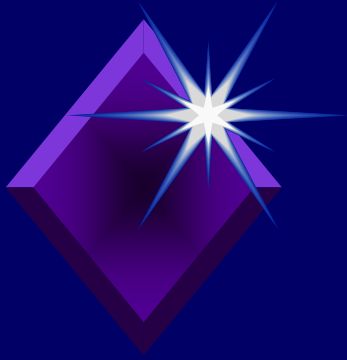
◆ Sequele non suppurative (poche settimane dopo l'episodio acuto)

1. Glomerulonefrite post-streptococcica (ceppi M)
2. Febbre reumatica acuta
3. Eritema nodoso



Angina streptococcica e scarlattina

- ◆ Rinofaringite con tonsillite, febbre elevata e adenopatia satellitare.
- ◆ L'angina streptococcica, nei casi in cui lo streptococco infettante sia in grado di produrre tossina eritrogenica, si accompagna ad un caratteristico esantema e prende il nome di **scarlattina**.
- ◆ *Complicanze localizzate*: ascesso peritonsillare.
- ◆ *Complicanze a distanza*: otite media, mastoidite, polmonite meningite, endocardite acuta ulcerativa.



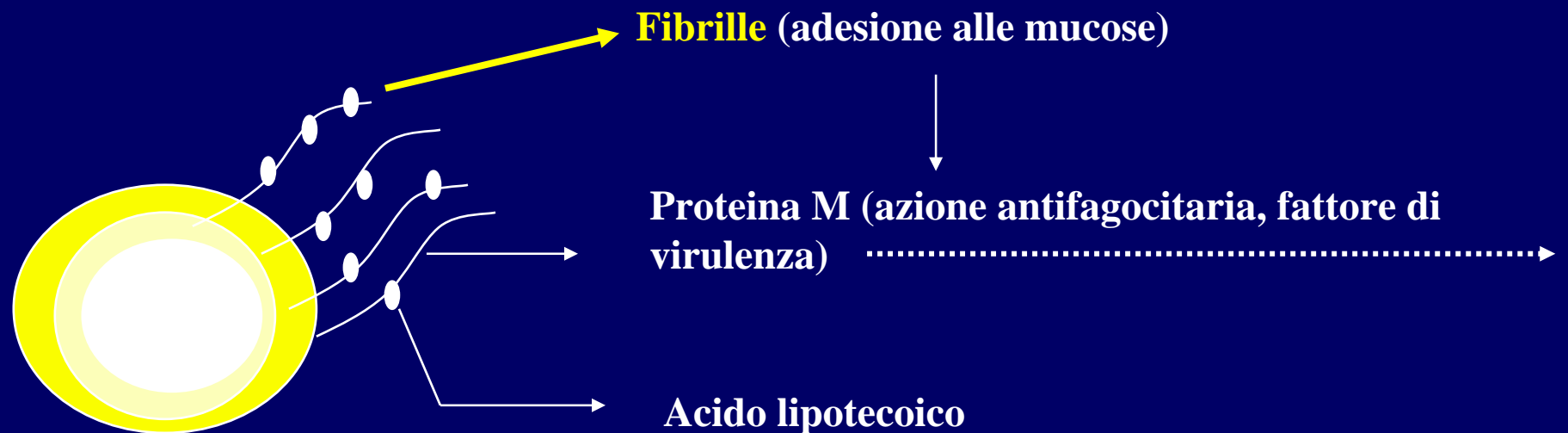
Infezioni cutanee e sindrome da shock tossico

- ◆ Impetigene, erisipela, piodermiti
- ◆ Le infezioni cutanee da stipti produttori di tossina eritrogenica possono provocare, in soggetti con elementi predisponenti, una **sindrome da shock tossico**, clinicamente non distinguibile da quella provocata da *Staphilococcus aureus*, estese lesioni infiammatorie e necrotiche dei tessuti sottocutanei (**fascite necrotizzante**)

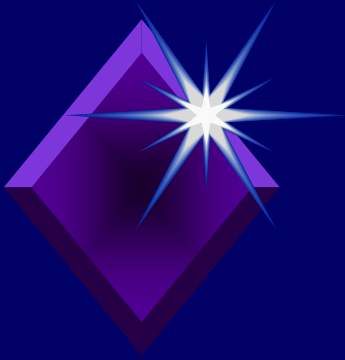


Streptococcus pyogenes b emolitico: strutture superficiali

La cellula batterica presenta una **capsula** (acido ialuronico) ben evidente, dotata di potere antifagocitario, ma non di potere antigene e le **fibrille**, formate dalla proteina M, la quale complessata con acidi lipoteoici, si proiettano all'esterno.

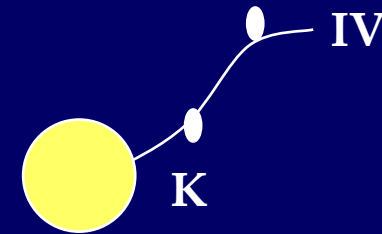


La presenza della capsula è correlata al **potere patogeno**: presente nel 3% degli Streptococchi isolati da faringiti, nel 21% dagli streptococchi isolati da infezioni gravi e nel 42% degli stipiti isolati da pazienti con febbre reumatica



Streptococcus pyogenes β emolitico: caratteri antigeni

- ◆ **Proteina M:** fattore di virulenza: in grado di promuovere l'accumulo dei batteri nel sito di infezione (fenomeno di co-aggregazione di cellule batteriche).
- ◆ **Classe I:** possiedono sequenze ripetute con analogie di sequenza aminoacidica con numerose proteine fibrillari umane (febbre reumatica). Base teorica della presenza di (auto)anticorpi cross reattivi con tessuti dell'ospite nelle sequele autoimmuni.
- ◆ **Classe II:** produzione di O.P. (opacity factor): lipoproteasi.
- ◆ **Proteina F:** (adesina): adesione alle cellule epiteliali (interazione con la fibronectina presente nello spazio intra-cellulare).





Angina streptococcica: meccanismo dell'azione patogena: forme piogeniche acute

Azione antifagocitaria, proteina M e proteina F, **esotossine**, esoenzimi, tossine pirogene

ESOTOSSINE:

- ◆ **Streptolisina O** (ossigeno labile) viene prodotta in vivo, la sua produzione si evidenzia *in vitro* in piastre di agar sangue (β emolisi). Azione sulla membrana cellulare [(formazione di pori con conseguente apoptosi. Potere immunogeno. Azione sui cheratinociti (risposta infiammatoria localizzata della cute)]
- ◆ **Streptolisina S** (ossigeno stabile): scarso o assente potere antigene. Citotossica



Angina streptococcica: meccanismo dell'azione patogena: forme piogeniche acute

Azione antifagocitaria, proteina M, proteina F, esotossine, **esoenzimi**, tossine pirogene.

ESOENZIMI.

- ◆ **Streptochinasi** in grado di catalizzare la trasformazione del plasminogeno in plasmina.
- ◆ **Ialuronidasi**: permette la diffusione del batterio nei tessuti circostanti.
- ◆ **C5a-peptidasi** distrugge il C5a del complemento eliminando, quindi, l'azione di fattore chemiotattico positivo.
- ◆ **Nadasi**: danneggia i leucociti che hanno fagocitato il batterio.
- ◆ **Dnasi**: depolimerizza gli accumuli viscosi di DNA che si formano nelle lesioni ascessuali, favorendo la diffusione del batterio.
- ◆ **Neuroaminidasi**: depolimerizza le secrezioni mucose presenti nelle I vie aeree respiratorie favorendo la colonizzazione degli epitelii.



Angina streptococcica: meccanismo dell'azione patogena: forme piogeniche acute

Azione antifagocitaria, Proteina M, Proteina F, esotossine, esoenzimi, **tossine piogene**

TOSSINE PIROGENE o SPE

Superantigene streptococcico: presente solo in alcune varianti di Streptococco (responsabile di shock tossico).

SPE-A (tossina eritrogenica) potente azione pirogena e responsabile dell'eritema caratteristico e **SPE-C**: responsabili della scarlattina in grado di indurre, nei soggetti predisposti un incremento della risposta di ipersensibilità di tipo ritardato a vari prodotti streptococcici ai quali l'organismo si era sensibilizzato (la scarlattina non è mai la conseguenza della prima infezione).

SPE-B: è in grado di attaccare la fibronectina e la vitronectina e il precursore della IL- β 1 (potenziamento del processo infiammatorio e genesi dello shock).

SPE-F: azione lesiva sugli endoteli polmonari (insufficienza respiratoria acuta)



Angina streptococcica: meccanismo dell'azione patogena: sequele non suppurative

1. **Glomerulonefrite post-streptococcica:** conseguente alla formazione di una notevole quantità di complessi antigene-anticorpo solubili, che si depositano a livello del filtro renale con richiamo e attivazione del complemento (processo infiammatorio localizzato)
2. **Febbre reumatica acuta:** estese lesioni dei tessuti o delle articolazioni: localizzazione di auto anticorpi in tessuti connettivali o articolari
3. **Malattia cardiaca reumatica:** lesioni dei tessuti connettivali e/o muscolari con probabile componente autoimmune
4. **Eritema nodoso:** deposito di immunocomplessi a livello dei capillari cutanei (processo infiammatorio localizzato)



Diagnosi di infezione

- ◆ **Materiale patologico:** essudato faringeo o prelievi di zone cutanee infette
- ◆ **Isolamento:** agar sangue
- ◆ **Identificazione:** sensibilità alla bacitracina

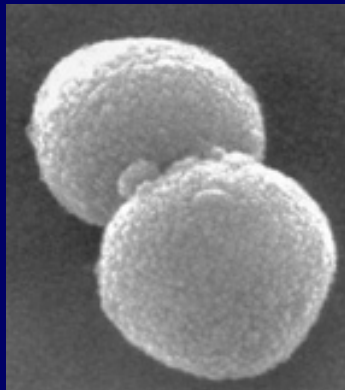
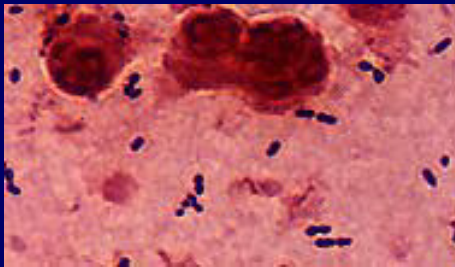
- ◆ **Reazioni sierologiche:** Ricerca di anticorpi prodotti nei confronti della streptolisina O = titolo antistreptolisinico (evidenziabile dopo 2-3 settimane dall'avvenuta infezione e positivo per un lungo periodo di tempo: utilizzabile nella diagnosi delle sequele non suppurative -malattia reumatica, glomeronefrite)





Streptococcus pneumoniae

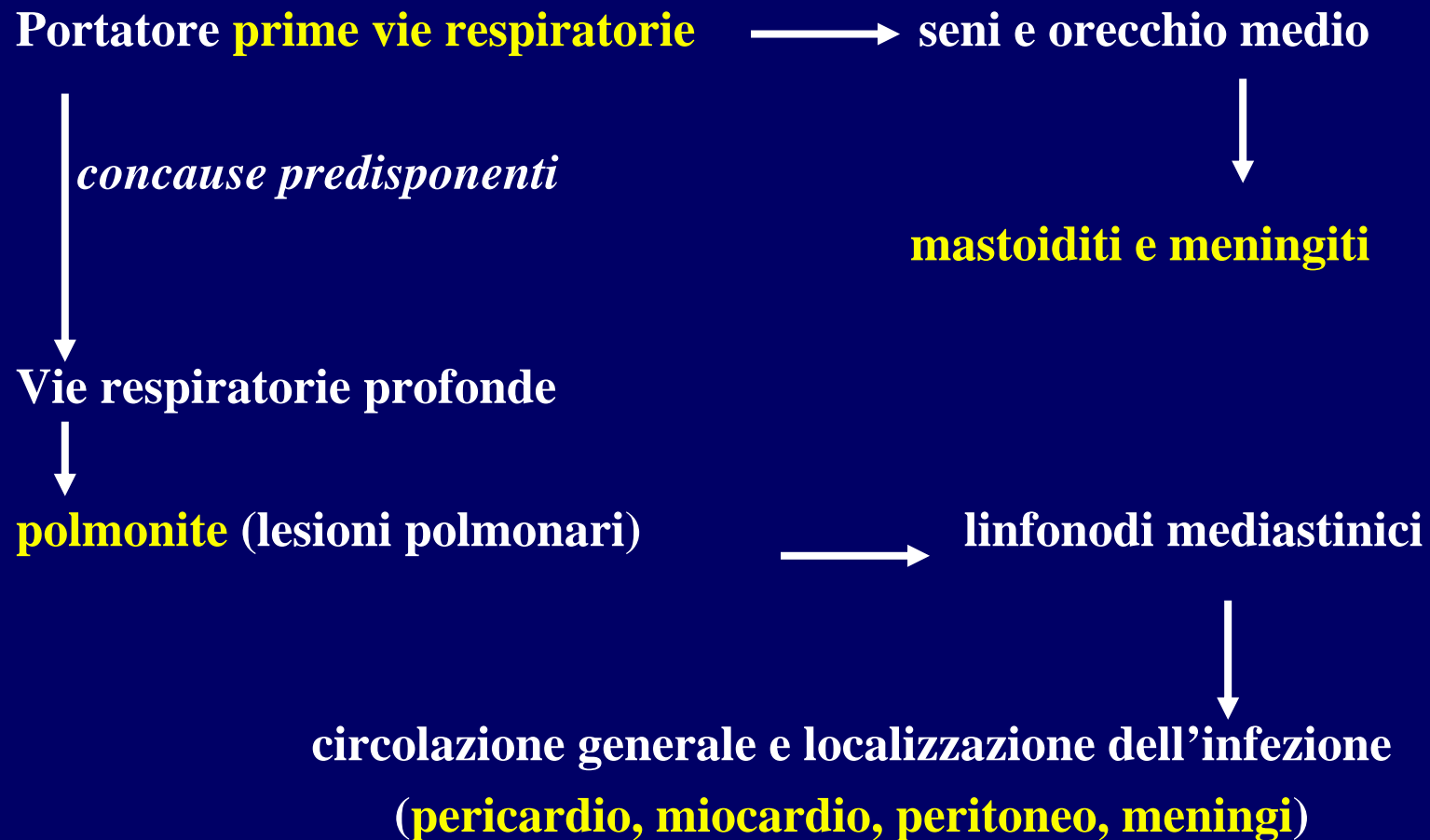
- ◆ Gram +, generalmente appaiati a due a due in corte catenelle, di forma lanceolata. Capsulati, immobili asporigeni, a-emolitici in presenza di O₂, b-emolitici in assenza di O₂
- ◆ E' un ospite frequente delle prime vie respiratorie (30-70% dei soggetti umani sono portatori faringei del batterio)



<http://textbookofbacteriology.net/S.pneumoniae.html>



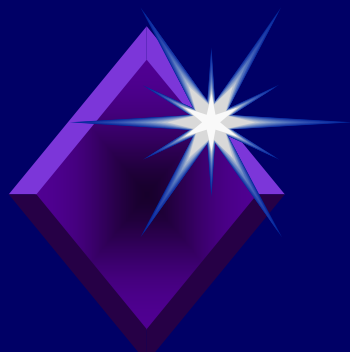
Streptococcus pneumoniae





Meccanismo dell'azione patogena

- ◆ **Capsula:** potere antifagocitario
- ◆ La sopravvivenza del pneumococco alla superficie delle mucose è favorito dalla produzione di una **IgA-1 proteasi** in grado di distruggere gli anticorpi secretori IgA di classe 1.
- ◆ **Pneumolisina** citolisine tiol-dipendenti
- ◆ **Neuroaminidasi** attacco delle glicoproteine e glicolipidi della membrana cellulare
- ◆ **Jaluronidasi** : diffusione dell'infezione nei tessuti.
- ◆ **Autolisina** potenzia l'azione tossica, in quanto la lisi della parete cellulare libera frammenti di peptidoglicano e acidi teicoici, dotati a loro volta di potere tossico.



Streptococcus pneumoniae

Negli **Usa** le infezioni da *Streptococcus pneumoniae* causano ogni anno:

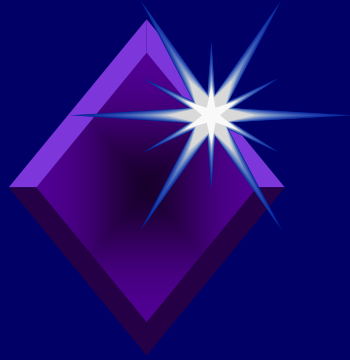
- 100.000- 135.000 ospedalizzazioni per polmonite
- 6 milioni di casi di otite media
- più di 60.000 casi di malattia invasiva, tra cui 3.300 casi di meningite.

L'incidenza di mortalità tra i pazienti adulti, ospedalizzati, con malattia invasiva , è del 14%.

Sequela neurologiche e/o danni nell'apprendimento possono presentarsi nei pazienti con meningite, mentre i soggetti che manifestano otite media possono andare incontro a danni all'udito.

I soggetti a più alto rischio di infezione da *Streptococcus pneumoniae* sono gli anziani ed i bambini al di sotto dei 2 anni.

Gli anziani possono trarre vantaggio vaccinandosi con il vaccino polisaccaridico



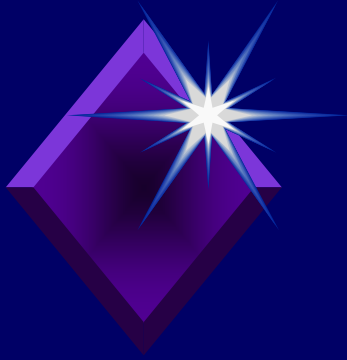
Diagnosi di infezione

- ◆ **Materiale patologico: espettorato di origine profonda, materiale purulento o liquor**
- ◆ **Semina in agar sangue (i globuli rossi sono fonte di catalasi -non posseduta dagli streptococchi)**
- ◆ **Agglutinazione con sieri polivalenti**
- ◆ **Test dell'optochina**



Streptococcus pneumoniae

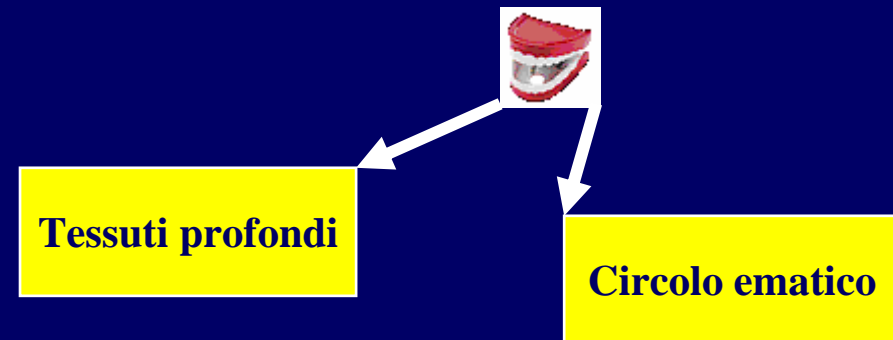
- ◆ Esistono 90 sierotipi di *Streptococcus pneumoniae*;
- ◆ il vaccino polisaccaridico 23-valente comprende l'88% dei sierotipi di pneumococco, mentre il vaccino 7-valente comprende l'80% dei sierotipi responsabili dell' infezione nei bambini al di sotto dei 5 anni.

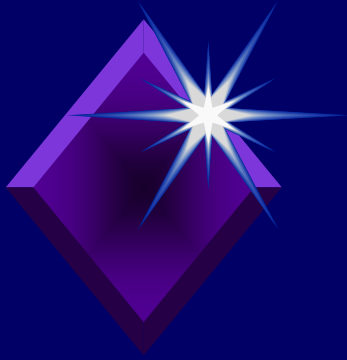


Streptococcus mutans e il cavo orale



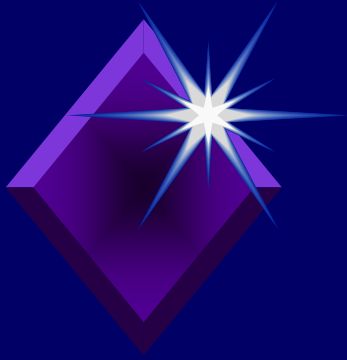
- ◆ **Popolazione microbica del cavo orale:** batteri potenzialmente patogeni, causa di fenomeni morbosi, se riescono ad accedere a tessuti profondi (ascessi dell'osso alveolare) o al circolo ematico (ascessi del polmone, dell'encefalo) attraverso traumi o ferite chirurgiche
- ◆ **Streptococchi viridanti:** possono essere introdotti in circolo in seguito ad avulsioni dentali o al trattamento di lesioni del parodonto





Streptococcus mutans e il cavo orale

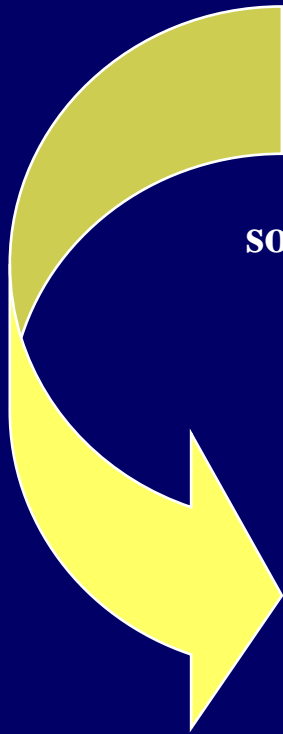
- ◆ La **carie dentale**: processo di **demineralizzazione** dello smalto dentale e successiva alterazione della dentina con la colonizzazione batterica fino alla polpa dentale
- ◆ Il punto di partenza del processo è rappresentato dalla **placca dentale** (formata da batteri, materiali organici salivari e prodotti batterici extracellulari, che insieme costituiscono un complesso biofilm, saldamente adeso alla superficie dello smalto)
- ◆ La specie batterica predominante è rappresentata da *Streptococcus mutans*



Streptococcus mutans* e/o *Streptococcus sanguis



**produzione acido lattico
abbassamento del pH,
solubilizzazione dei cristalli di idrossiapatite
formazione di una breccia nello smalto**



**II invasione di altri batteri
Lesione della dentina
Infiammazione della polpa dentaria
Compromissione delle radici nervose**

