

BATTERIOLOGIA CLINICA

Battericon significato clinico nell'uomo

BATTERIOLOGIA CLINICA

- **Cocchi Gram+: Stafilococchi, Streptococchi, Pneumococchi**
- **Bacilli Gram+: Corinebatteri**
- **Bacilli Gram+ Aerobi (Bacilli)**
- **Bacilli Gram+ Anaerobi (Clostridi)**
- **Cocchi Gram-: Neisserie**
- **Bacilli Gram-: Enterobatteri**
- **Bacilli Gram-: Bacilli non enterici**
- **Micobatteri**

Suggerimento per lo studio della Batteriologia clinica:

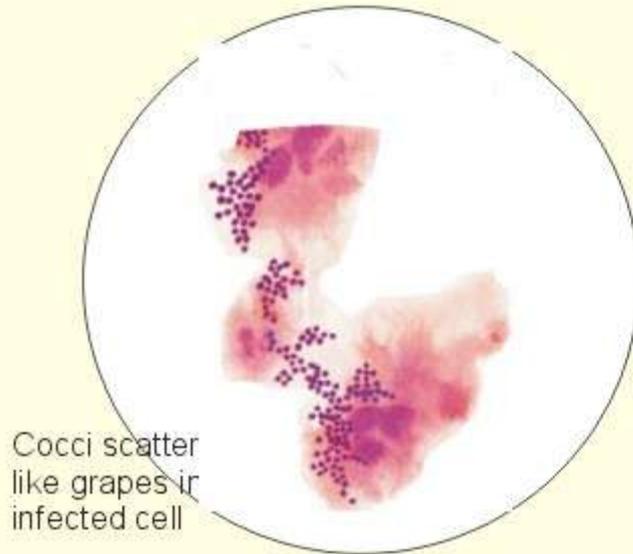
NON imparare a memoria la classificazione e tutte le caratteristiche di un batterio, ma focalizzarsi sulle **caratteristiche** che lo distinguono dagli altri e lo rendono importante per la patogenesi.

A volte si possono dedurre informazioni utili considerando anche solo la morfologia: un COCCO è Gram + (solo Neisserie sono Gram-), asporigeno, (solo bacilli e clostridi producono spore), immobile (solo alcuni enterococchi hanno flagelli), non produce endotossine (prodotte solo da Gram-), e quindi molto probabilmente produrrà esotossine.

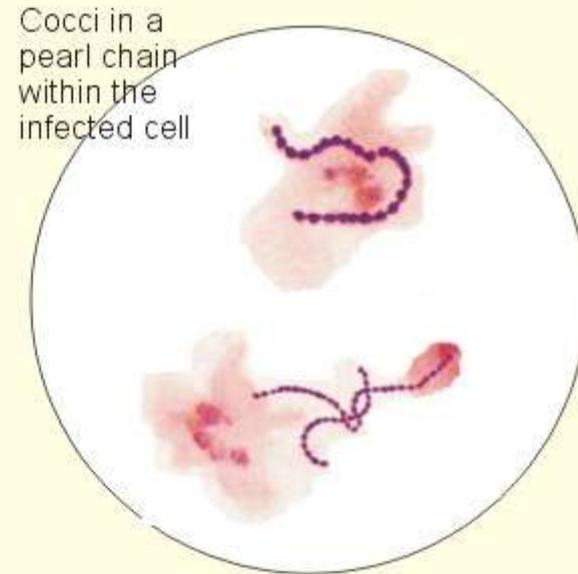
Tutti i batteri di interesse medico sono generalmente aerobi/anaerobi facoltativi (tranne Brucelle – aerobi obbligati) e pochi gruppi anaerobi obbligati (es. Clostridi)

Cocchi Gram+ (piogeni)

Microscopic Pictures Of Cocci



Stafylococci in pus
Therapy: Penicillin



Streptococci in pus
Therapy: Phenoxy-methylpenicillin

Fig. 33-2

KMc

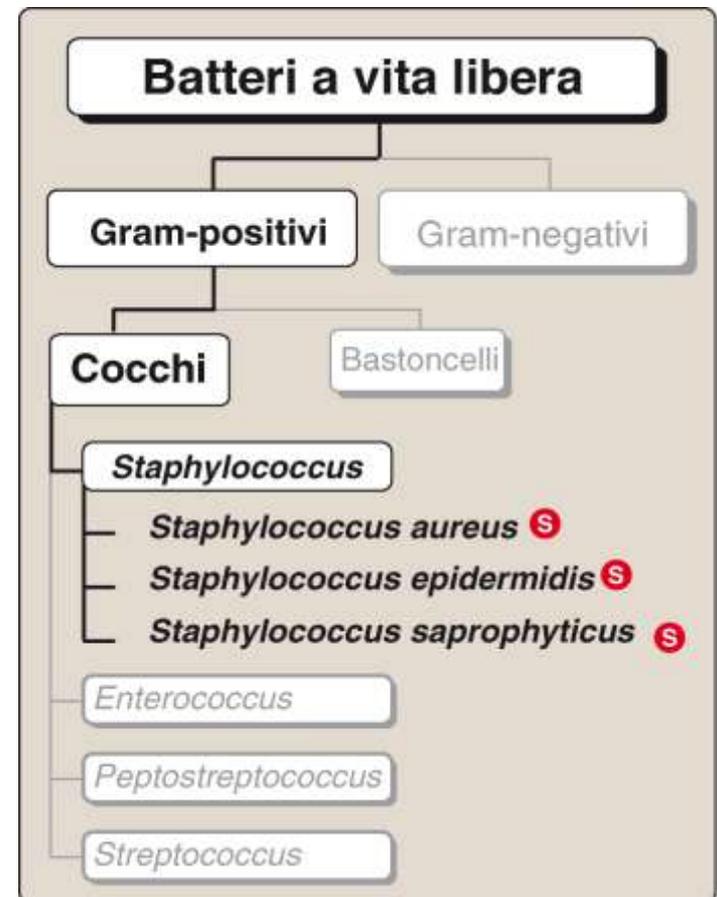
Stafilococchi

Streptococchi

STAFILOCOCCCHI



- **Gram +**
- **Cocchi (1 micron)**
- **Disposti a grappolo**
- **Immobili**
- **Aerobi-anaerobi facoltativi**
- **Catalasi positivi** (distinzione da Streptococchi catalasi negativi)
- **Asporigeni**
- **Alofili** (crescono in 7.5-10% NaCl)



Batteri **UBIQUITARI**, sia come flora normale (pelle, mucose) che su oggetti. Sono **RESISTENTI a calore ed essiccamento** (es. 50°C 30')
⇒ oggetti e materiali sono un'importante sorgente di infezione.

Comprendono **molte specie**, alcune comunemente associate a malattia.

La specie più virulenta è **Staphylococcus aureus**, GIALLO e coagulasi (+), mentre le altre specie sono BIANCHE e coagulasi (-).

Le malattie variano da lievi a fatali. Soprattutto le infezioni nosocomiali sono difficili da trattare, per la facile acquisizione di resistenze.

Stafilococcus Aureus

E' il più patogeno, ma per l'infezione occorrono comunque **fattori predisponenti**: lesioni cutanee locali, traumi, ustioni, interventi chirurgici, cateteri, ostruzione di un follicolo, o immunocompromissione.

La malattia può essere conseguenza di:

1. **INFEZIONE**: Vera e propria infezione invasiva
2. **INTOSSICAZIONE**: azione delle tossine in assenza di infezione invasiva
3. **TOSSINFEZIONE**: combinazione di invasione e intossicazione



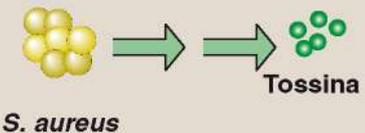
Infezione

La malattia da *S. aureus* può essere per buona parte o interamente il risultato di un'infezione invasiva.



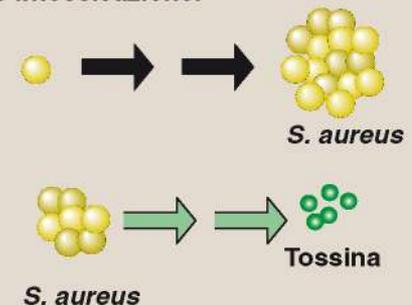
Intossicazione

La malattia da *S. aureus* può essere per buona parte o interamente il risultato dell'azione delle tossine in assenza di infezione (tossicosi "pura").



Infezione e intossicazione

La malattia da *S. aureus* può essere una combinazione di infezione e intossicazione.



S. Aureus: EPIDEMIOLOGIA

S. aureus è **diffuso** nella popolazione sana (>20%), presente su cute e membrane mucose di nasofaringe e vagina.

Lo stato di portatore può essere persistente.

I portatori sono la fonte di infezione per se stessi (**endogena**) e per gli altri (**esogena**).

Ci si infetta per **contatto diretto**, o per contatto con **oggetti contaminati**, o con cibo contaminato (**intossicazioni**).

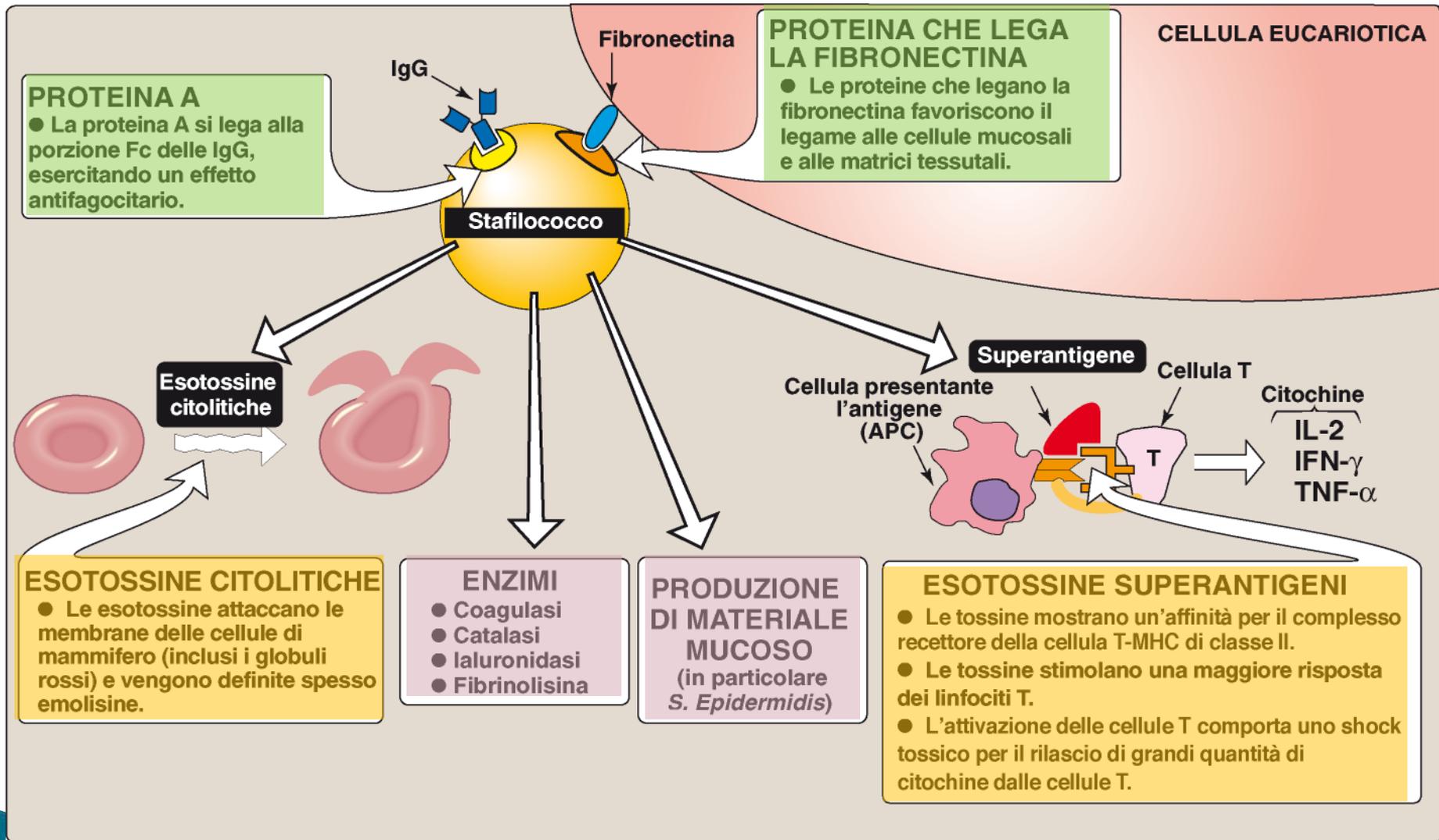
S. Aureus: PATOGENESI

S. aureus possiede numerosi **FATTORI DI VIRULENZA**:
la sua patogenesi dipende dalla loro **azione combinata**.

Tre tipi di fattori di virulenza:

1. Fattori di virulenza legati alla **PARETE** cellulare
2. **TOSSINE**
3. **ENZIMI**

Fattori di virulenza di *S. aureus* (non sono tutti!)



1. Fattori di virulenza legati alla parete

CAPSULA: polisaccaridi (ac. glucosaminuronico legato ad aa). Inibisce fagocitosi, facilita adesione (cateteri ed altri materiali sintetici)

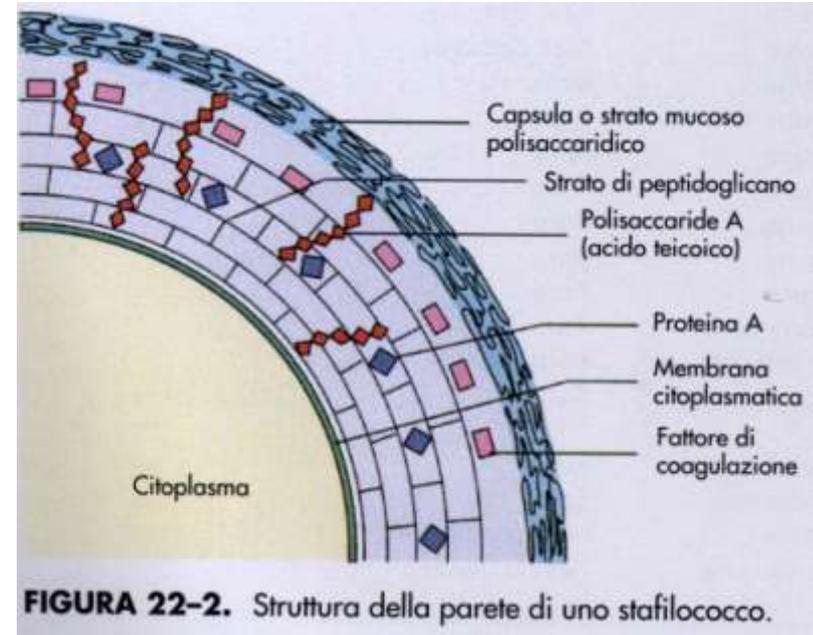
PARETE :

- **acidi teicoici**, legati covalentemente al peptidoglicano, che mediano l'attacco degli S. alle mucose.

- **Proteina A**, componente della parete di *S. aureus*, si proietta in parte all'esterno, lega la porzione Fc delle IgG esercitando un effetto **antiopsonina** (quindi fortemente anti-fagocitario).

- **FnBP**, proteina che lega la fibronectina; insieme ad altre proteine di superficie favorisce adesione a cellule e matrici (**adesine**: fibronectina, collagene, ecc.).

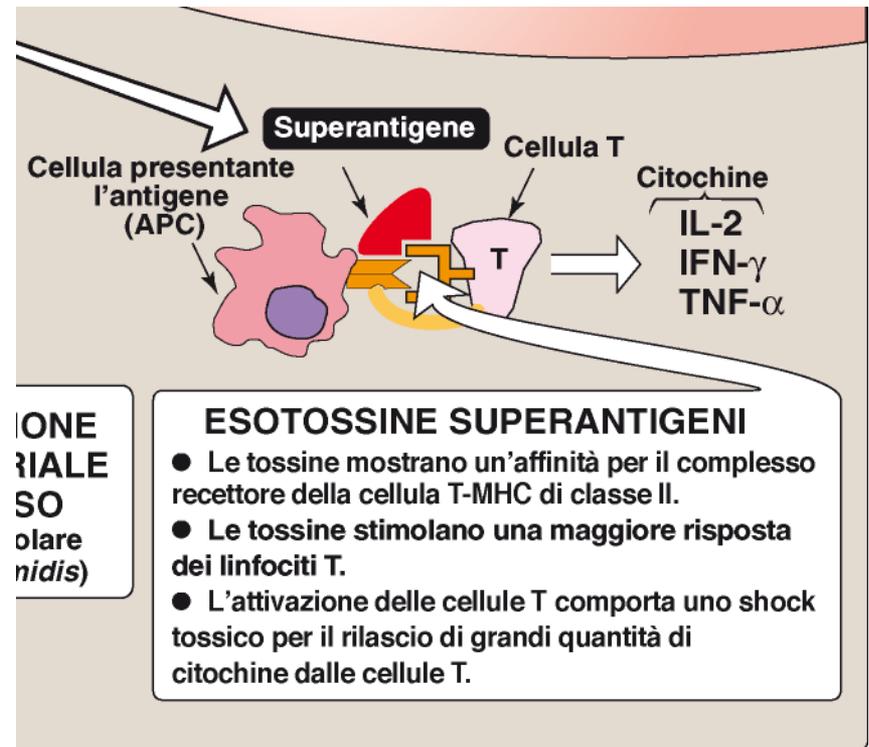
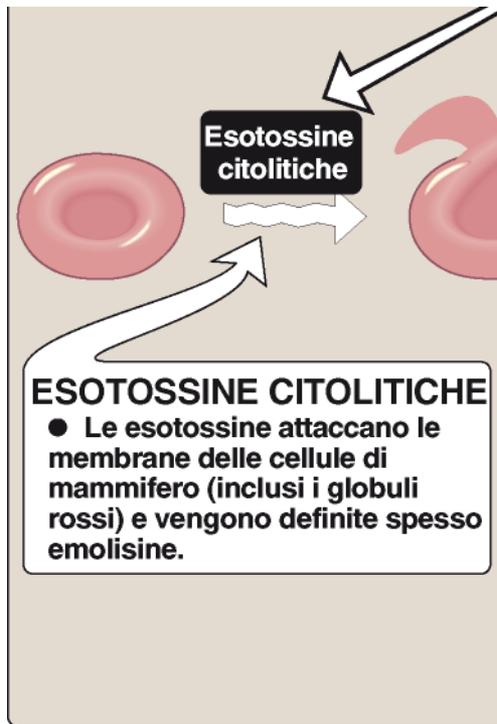
- **coagulasi legata**, che converte il fibrinogeno in fibrina, provocando l'aggregazione dei batteri.



2. Tossine

1. Esotossine citolitiche

2. Esotossine superantigeni

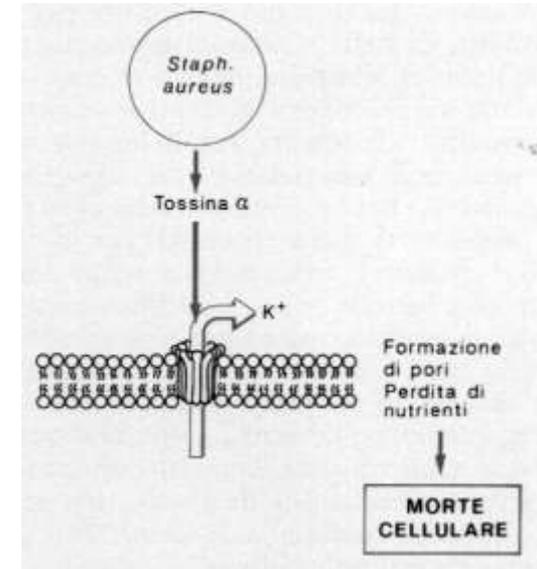


1. ESOTOSSINE CITOLITICHE

Sono **5**, chiamate anche **emolisine**, possono lisare anche i neutrofili, con rilascio di enzimi lisosomiali che contribuiscono al danno tissutale

Tossina "a" = tossica per molti tipi cellulari, media la lisi inserendosi nella membrana plasmatica e formando pori. Provoca necrosi

Tossina "b" = labile al calore, tossica per molte cellule fra cui macrofagi, idrolizza fosfolipidi di membrana. Consente a *S. aureus* di proliferare anche in presenza di intensa risposta infiammatoria.



Tossina "d" = rompe le membrane con azione simile ai detergenti

Tossine "g" e "**leucocidina P-V**" = attive su neutrofili e macrofagi (P-V anche su leucociti, probabilmente induce la formazione di canali di membrana)

2. ESOTOSSINE SUPERANTIGENE

Sono **tre**:

Tossina 1 della sindrome da shock tossico (TSST-1)

Causa la TSS, con febbre, ipotensione, gravi problemi causati dal rilascio di CK (coagulazione intravasale, ipotensione, shock, danni irreparabili a molti organi). Viene prodotta a **pH neutro con alte concentrazioni O₂**, di rado prodotta nelle ferite, il cui ambiente è acido e parzialmente anaerobico.

Tossina esfoliativa. Causa la necrolisi epidermica tossica, sindrome della cute scottata (dermatite esfoliativa) in neonati o pazienti immunodepressi. Si tratta di proteasi che **rompono i desmosomi** nello strato granuloso dell'epidermide.

Enterotossine. Prodotte da circa metà di tutti gli isolati, 6 diversi tipi antigenici (A-I), resistono a enzimi gastrici e a riscaldamento (100°C 30'). Causa intossicazioni alimentari (crescita del batterio e produzione di tossina nei cibi, che rimangono contaminati anche dopo riscaldamento). Stimolano CK proinfiammatorie e causano (entro poche ore dall'ingestione) febbre, vomito (stimolano recettori della mucosa GI che generano impulsi che raggiungono il SNC), diarrea.

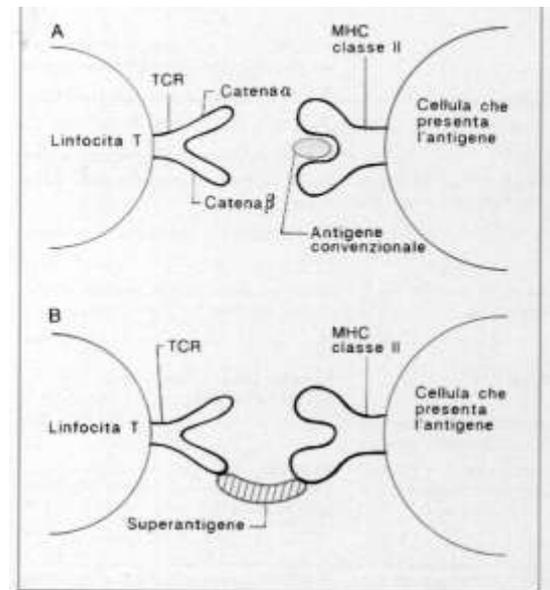


Figura 7.13. Schema della combinazione di un «superantigene» con il recettore delle cellule T (TCR: *T-cell receptor*). **A)** L'antigene convenzionale, elaborato dalla cellula che lo ha precedentemente internalizzato, viene esposto, nel contesto del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (MHC classe II), al riconoscimento del TCR con specifica capacità combinatoria. **B)** Un superantigene, invece, è in grado di legare direttamente (senza la necessità di una precedente internalizzazione ed elaborazione) le proteine del MHC classe II e di legare aspecificamente la catena β del recettore del linfocita T helper.

3. Enzimi

Coagulasi: eso-enzima prodotto da *S. aureus* che trasforma il fibrinogeno in fibrina, **causando coagulazione**. La formazione di uno strato di fibrina attorno ad un ascesso provocato da stafilococchi può proteggere il batterio e favorirne l'adesione.

Catalasi: prodotta da tutti gli Stafilococchi, trasforma il perossido di idrogeno in acqua e ossigeno.

Ialuronidasi: Idrolizza l'ac ialuronico dei tessuti connettivi, facilitando la diffusione del batterio nei tessuti.

Stafilochinasi: (fibrinolisinasi) può rompere gli ammassi di fibrina, facilitando la diffusione del batterio.

Lipasi: associate all'infezione ed invasione dei tessuti cutanei e sottocutanei, essenziali per consentire la crescita e la diffusione nelle aree sebacee.

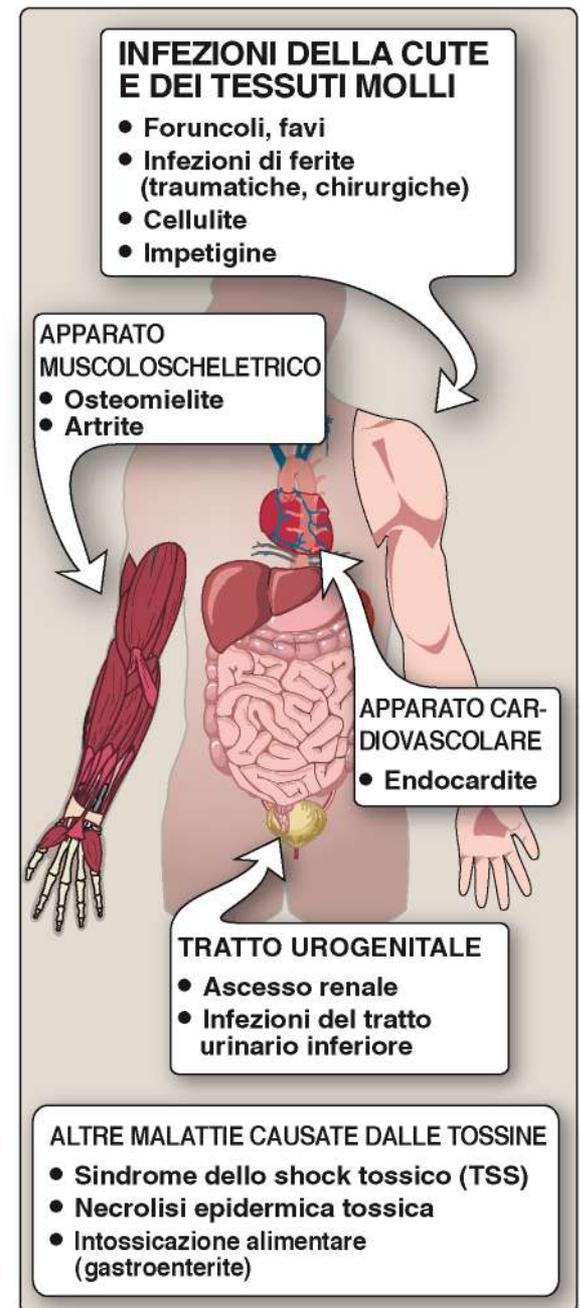
Nucleasi: probabile ruolo nel fluidificare il materiale purulento e favorire la diffusione del batterio.

β -lattamasi: responsabili della resistenza alle penicilline, per la diffusione di plasmidi trasmissibili (nel 1941 >90% di St. erano invece sensibili!)

IMPORTANZA CLINICA

S. aureus infetta **cute** e **mucose**, dando infezioni localizzate a decorso spesso benigno. Conseguenze gravi si hanno quando i batteri invadono la circolazione sanguigna, cosa che si manifesta soprattutto in ospiti traumatizzati o compromessi: la **batteriemia** può essere mortale, e provocare ascessi disseminati, infezioni ai **polmoni**, al **cuore** ai **muscoli** o alle **meningi**. Le infezioni possono quindi essere:

1. Infezioni localizzate della cute
2. Infezioni localizzate profonde
3. Infezioni sistemiche
4. Malattie associate a tossine



1. Infezione localizzate alla cute:

Foruncoli, ascessi superficiali, con coinvolgimento di follicoli o ghiandole sebacee.

Es: **follicolite** (infiammazione del follicolo pilifero), **orzaiolo** (infezione di un follicolo ciliare), ascessi sottocutanei tipo **favi** (derivati da unione dei foruncoli nel sottocutaneo, con possibile batteriemia e diffusione sistemica), **impetigine** (lesione cutanea che si sviluppa prima come macula poi come vescicola con pus e successiva crosta)



Follicolite: della gamba, attorno al follicolo pilifero causa arrossamento e vescicole piene di pus (pustole). Può svilupparsi in seguito ad irritazione (es. da rasoio).

Orzaiolo: infezione follicolo ciliare



Impetigine: infezione cutanea superficiale (arrossamento, con croste gialle o dorate). E' frequente in bambini, su faccia, naso, braccia, tronco superiore.



2. Infezioni localizzate profonde:

Diffusione ai tessuti profondi per trauma o disseminazione di infezioni superficiali.

Osteomielite: causata da traumi o disseminazione ematogena; negli adulti più spesso a livello vertebrale

Artrite settica: infezione dello spazio articolare in bambini o in pazienti che hanno ricevuto iniezioni intra-articolari

Endocardite acuta: grave infezione (mortalità 50%), associata spesso all'uso di aghi contaminati (tossicodipendenti)

3. Infezioni sistemiche:

Setticemia: spesso non si riesce ad identificare il focolaio primario di infezione, il 50% dei casi in seguito ad infezione nosocomiale.

Polmonite: è comune in pazienti con setticemia o endocardite. Causa la polmonite grave necrotizzante.

Infezioni nosocomiali: tra le cause più comune di infezioni ospedaliere (ferite chirurgiche o da decubito, cateteri, ecc.). Progressione a setticemia. Per la prevenzione sono importanti le normali misure di igiene (lavarsi le mani, meglio con antisettici)

4. Malattie associate a tossine

1. Sindrome da shock tossico: febbre, eritema, desquamazione, vomito, diarrea, ipotensione, danni epatici, renali, ecc.

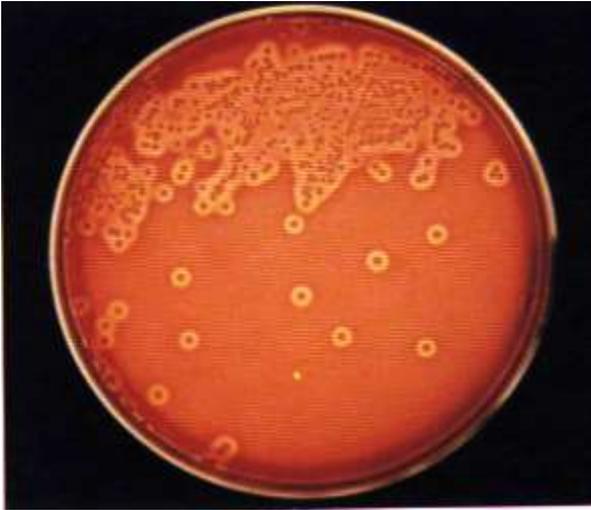
Descritta originariamente in associazione all'uso di particolari tamponi intravaginali (non più in commercio) che favorivano la crescita di *S.* nel tampone stesso e la produzione di tossina.

2. Gastroenterite stafilococcica: si tratta di **intossicazione**, non di infezione. Brevissima incubazione (4-6h), dovuta all'ingestione di cibo contaminato da parte di operatori infettati (specie in maionese, dolci, insalate, gelati o carni salate). **Il cibo contaminato deve rimanere a T amb perché i batteri producano la tossina.** Il successivo riscaldamento può uccidere i batteri, ma non eliminare la tossina. La malattia dura circa 24 h, con vomito, dolori addominali, nausea, diarrea acquosa, senza febbre. Inutili gli antibiotici.

3. Enterocolite: alcuni ceppi di *S. aureus* possono causare **infezione** del tratto enterico soprattutto in pazienti trattati con antibiotici a largo spettro (eliminazione flora normale, proliferazione *St.*, **produzione enterotossina A**)

4. Sindrome st. della cute scottata: epidermolisi stafilococcica acuta in pazienti suscettibili (neonati, adulti immunodepressi), rara tossidermia stafilococcica causata dalla tossina esfoliativa, che attacca la sostanza adesiva intercellulare dello strato granuloso, causando prima bolle poi il distacco di ampie zone epidermiche necrotiche e una marcata desquamazione.

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO



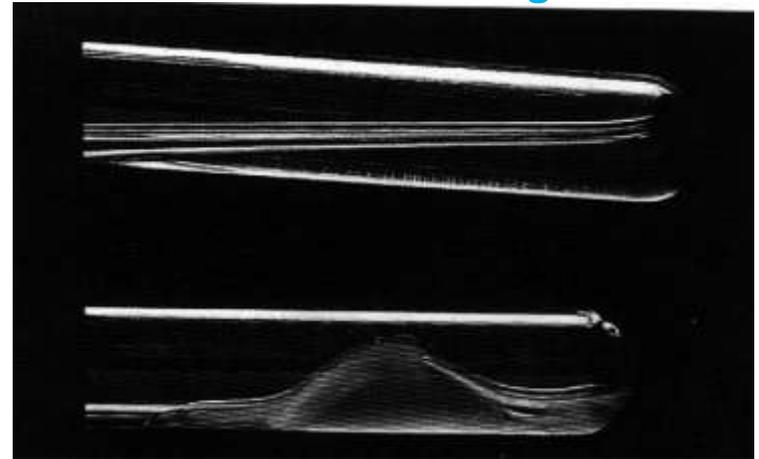
Alla colorazione i batteri sono **Gram+** , disposti a **grappolo**.
Per la coltura si usa **agar sangue** (presenza di **emolisi**):
colonie grandi, lisce, **gialle** (*S. aureus*) o bianche (altri).
Terreno selettivo di **Chapman**, con 7.5% di NaCl (inibiti gli altri batteri), mannitolo e indicatore pH: *S. aureus* fermenta il mannitolo: colonie circondate da aloni giallo (dovuto alla fermentazione dello zucchero).
Tutti gli Stafilococchi sono **Catalasi+**,
Solo *S. aureus* è anche **coagulasi+**.

Test della catalasi

Il test per la catalasi viene effettuato aggiungendo perossido di idrogeno al 3% a una colonia su una piastra agar. Le colture catalasi-positive producono immediatamente O_2 e formano bolle.



Test della coagulasi



TERAPIA

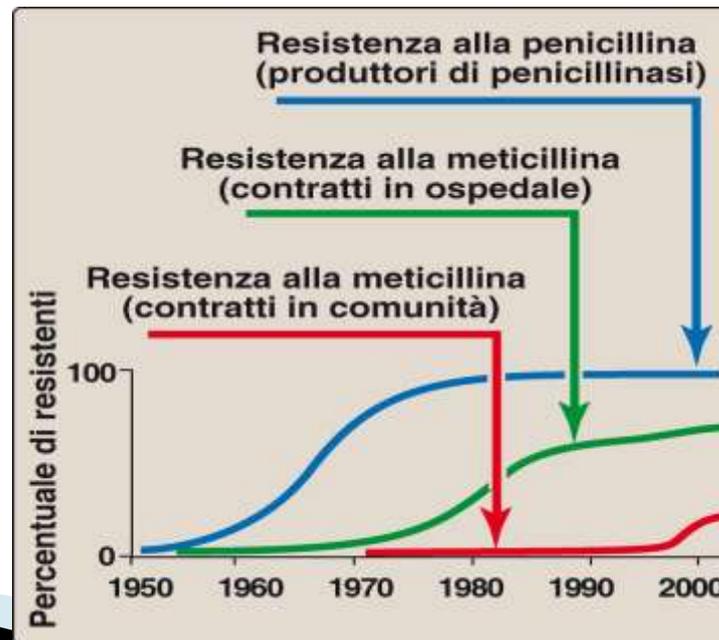
Le infezioni gravi richiedono antibiotici sistemici, la cui scelta è complicata dalla frequente **resistenza**.

Di fatto tutte le infezioni nosocomiali sono resistenti alla penicillina (plasmidi e trasposoni), e cominciano ad essere resistenti anche agli antibiotici β -lattamasi-resistenti (meticillina, oxacillina).

MRSA = methicillin resistant staphylococcus aureus

Fino a poco tempo fa, MRSA si trovavano implicati in infezioni nosocomiali, ma recentemente si sono verificate diverse gravi infezioni extranosocomiali.

L'antibiotico di scelta per il trattamento di MRSA è la **vancomicina**, ma stanno comparando ceppi resistenti.



SOS antibiotici

Il loro uso smodato oppure sbagliato li rende inefficaci. Fra poco i batteri ci uccideranno di nuovo. A meno che...

Ogni giorno 1,5 milioni di italiani (2,3% della popolazione), usa un antibiotico a domicilio (>18% tra 2000-2007). Un'indagine dell'Istituto superiore di sanità ha dimostrato che l'80% degli italiani ha assunto un antibiotico, nel 44% dei casi senza ricetta medica.

Abuso. L'uso era sceso nel 44% dei casi: nel 29% infatti avrebbe dovuto curare l'influenza e nel 14% il raffreddore, entrambi di origine virale, quando contro i virus gli antibiotici sono inefficaci. Non solo: il 40% degli utilizzatori non aveva completato il ciclo di cura, attuando così la strategia migliore per selezionare ceppi di batteri resistenti agli antibiotici. Oggi la velocità con cui gli antibiotici sono scoperti è inferiore alla velocità con cui i batteri li disarmano. Anzi di questo passo, resteremo senza armi. A meno di ricorrere subito a usare gli antibiotici solo quando veramente necessari e in modo corretto.

La guerra dei batteri. Nell'illustrazione, lo sviluppo di batteri sempre più resistenti agli antibiotici.

La guerra dei batteri

Nell'illustrazione, lo sviluppo di batteri sempre più resistenti agli antibiotici.



Stafilococco aureo

Causa di foruncoli, congiuntiviti, infezioni della pelle, polmoniti, setticemie, infezioni da catetere. Oltre la metà delle infezioni nelle farmacie sono dovute a ceppi antibiotico-resistenti.

Streptococcus pneumoniae

Responsabile di polmoniti, meningiti, sepsi, otiti, sinusiti e polifantasi che impediscono il ricovero, oltre che di otiti, sinusiti, congiuntiviti e bronchiti soprattutto in bambini e anziani.

Escherichia coli

È la causa più frequente di gastroenteriti e setticemie, e di infezioni associate a catetere urinario. Normalmente presente nel tubo digerente, è diffusa nell'ambiente e negli animali.

ANTIBIOTICI

A lato la scala temporale della scoperta dei vari antibiotici, e sopra, alla destra dei 3 tipi di batteri, la rispettiva scala temporale dello sviluppo dei vari ceppi antibiotico-resistenti.

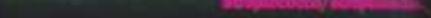
Stafilococco/penicillina

Il primo antibiotico diventa inefficace dopo soli 5 anni dalla scoperta (1948).



Streptococcus/ampicillina

Scoperta nel 1961, diventa inefficace nel 1966.



E. coli/doramicina

Scoperta nel 1969, diventa inefficace nel 1974.



E. coli/streptomina

Scoperta nel 1943, diventa inefficace nel 1948.



Streptococcus/tetraciclina

Scoperta nel 1948, diventa inefficace nel 1953.



Dietro le linee nemiche: così si sviluppa l'antibiotico-resistenza

Le mutazioni genetiche consentono ai batteri di adattarsi ai nuovi farmaci: ecco le loro strategie.

1) Travestirsi

Le proteine superficiali dei batteri cambiano forma, in modo che il farmaco non possa più riconoscerli nei recettori.

Insulti. Questa strategia è stata usata per esempio dallo stafilococco per scarteggiare la penicillina.

2) Alzare mura di cinta

La membrana che avvolge il batterio cambia in modo da impedire all'antibiotico di entrare.

Cappellone. Stafilococco e streptococco hanno usato questa strategia per difendersi efficacemente dall'attacco delle tetracicline.

3) Disarmare il nemico

I batteri imparano a produrre enzimi che inattivano le parti aggressive della molecola di antibiotico.

Letta. L'Escherichia coli, per esempio, ha scoperto le cefalosporine usandole questa sofisticata strategia di difesa.



Stafilococco/metaciclina

Il nuovo antibiotico viene scarteggiato l'anno stesso della sua introduzione.



Stafilococco/vancomicina

Il farmaco usato quando gli altri fallivano, viene vinto dal batterio.



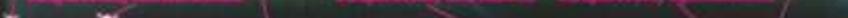
Stafilococco/linezolid

Nuova classe di antibiotici dopo 35 anni: sconfitta in un anno.



Streptococcus/penicillina

Scoperta nel 1948, diventa inefficace nel 1953.



E. coli/tetraciclina

Scoperta nel 1948, diventa inefficace nel 1953.



E. coli/trimetoprim-sulfametossazolo

Scoperta nel 1970, diventa inefficace nel 1975.



E. coli/cefalosporine

Scoperta nel 1969, diventa inefficace nel 1974.



E. coli/ciprofloxacina

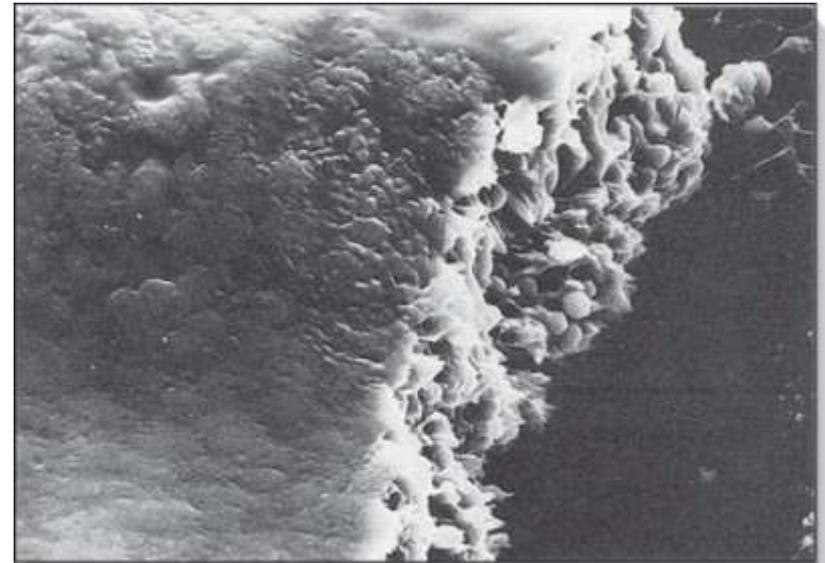
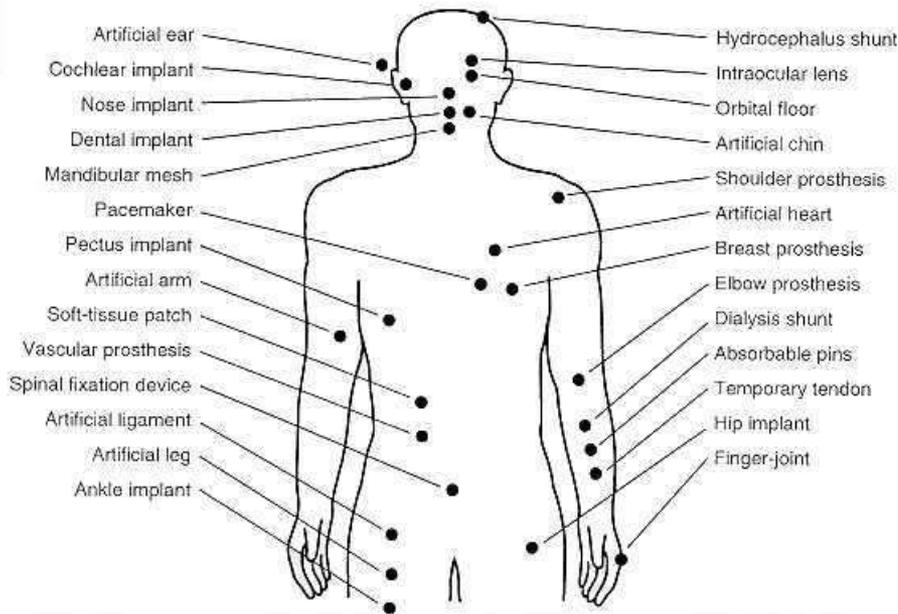
Scoperta nel 1985, diventa inefficace nel 1990.



STAFILOCOCCCHI COAGULASI-NEGATIVI

Delle **12 specie** coagulasi-, individuate nella cute e nelle narici, la specie più importante e associata ad infezioni è ***S. epidermidis***, una delle principali cause di endocarditi in pazienti con **valvola artificiale**: decorso lento, può non essere associata a batteriemia, porta al distacco della valvola e a gravi complicazioni cardiache. Causa anche inf. di **protesi e cateteri** (la capsula polisaccaridica consente l'adesione e protegge da antibiotici e risposta infiammatoria). Anche questi stanno diventando **resistenti** a molti antibiotici.

Infezioni da Stafilococchi in impianti



***S. Epidermidis* su materiale che ricopre la superficie di un catetere colonizzato dal batterio**