

Clase teórica

Géneros de bacterias que no toman la coloración de Gram (I)

Parte 1: *Mycobacterium*

Parte 2: *Treponema y Leptospira*

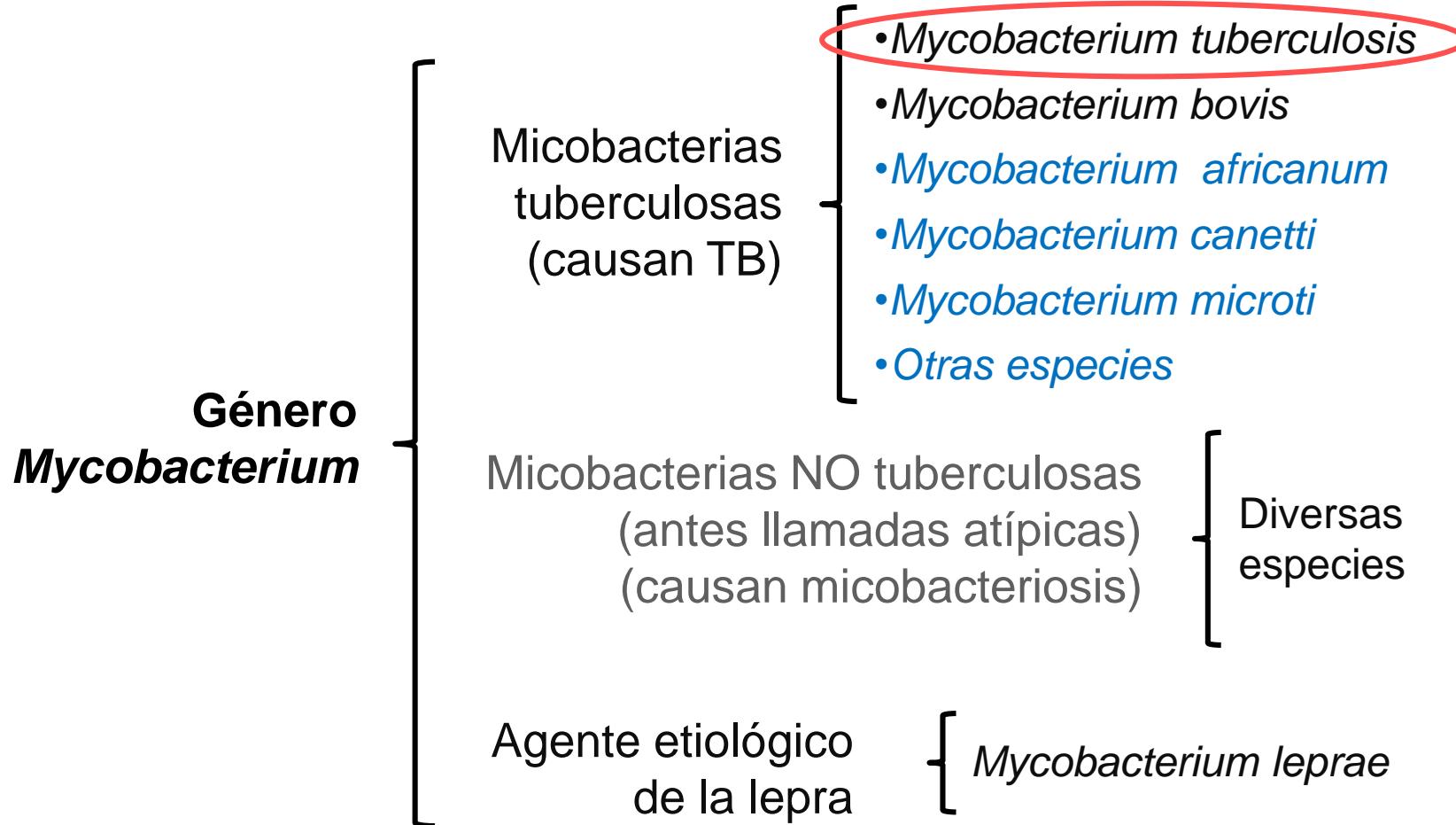


Asignatura: Microbiología y Parasitología I
PRIMERA CATEDRA

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología

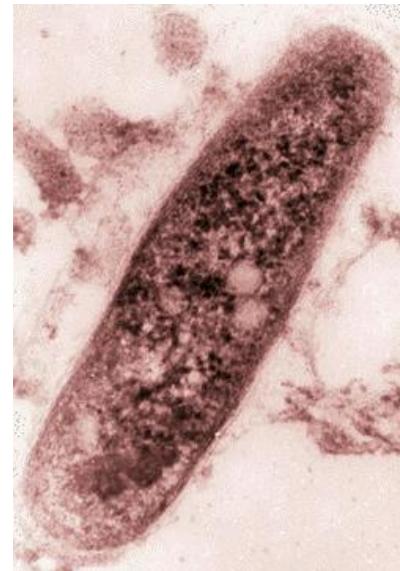
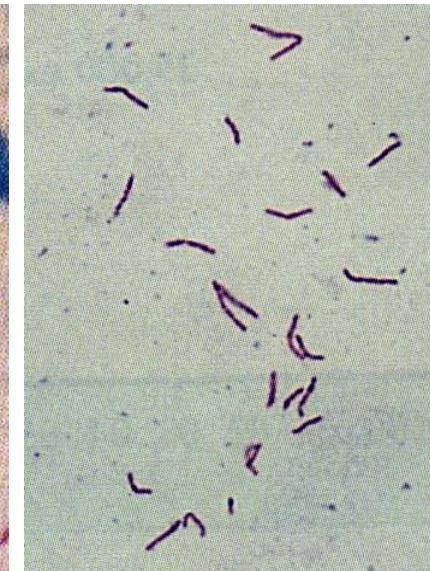
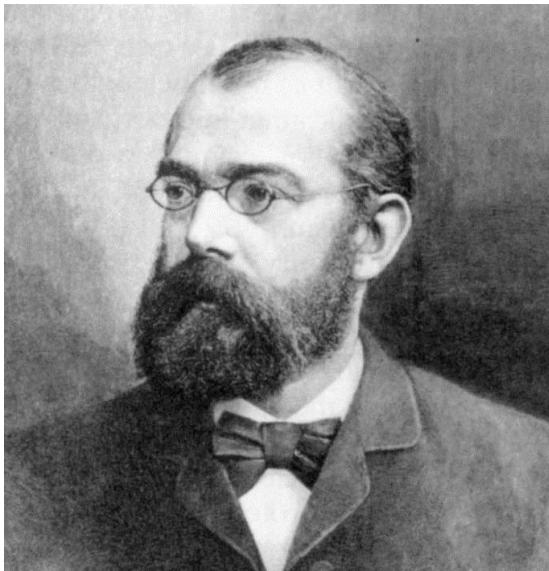
Dr. Daniel O. Sordelli
Profesor Titular

TB: agentes etiológicos



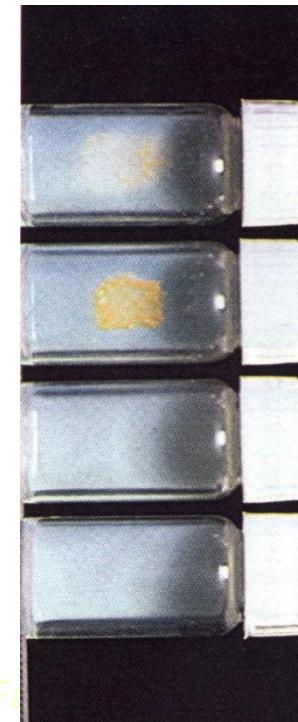
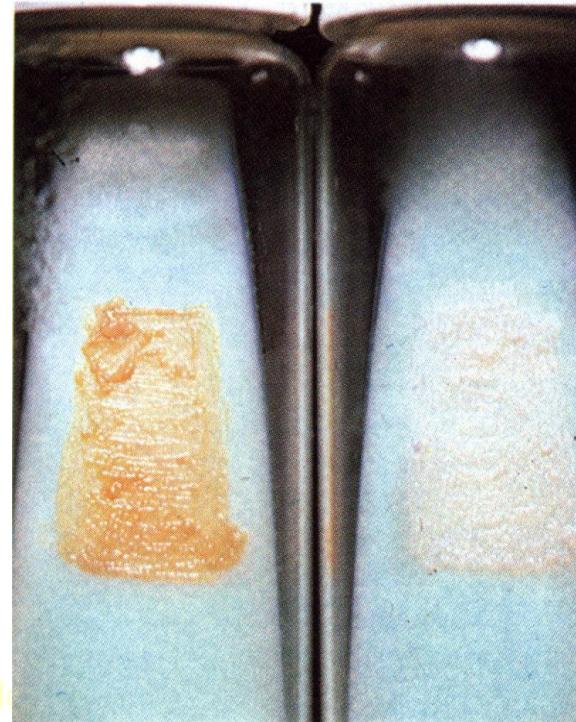
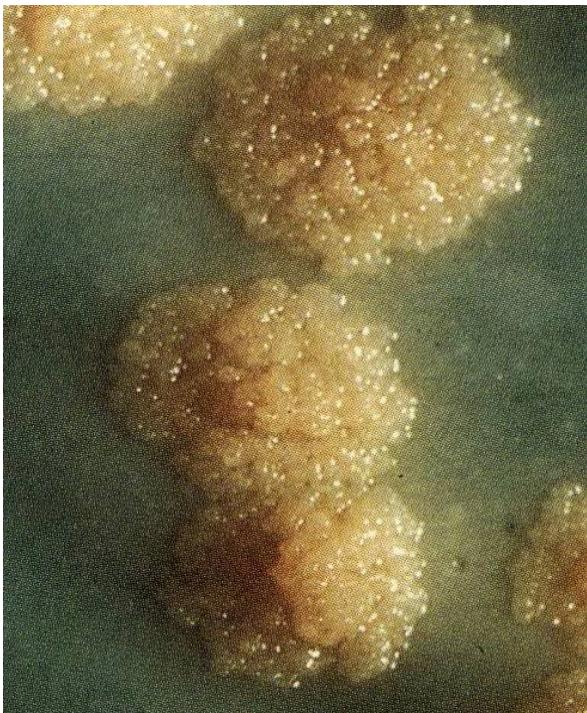
***Mycobacterium*: morfología y tinción**

- Más de 130 especies
- *M. tuberculosis* descubierto por Robert Koch en 1882
- Bacilos inmóviles, delgados, rectos o ligeramente curvos
- No presentan cápsula ni esporas
- Envolturas contienen alta proporción de lípidos (60% en peso)
- Bacilo ácido-alcohol resistentes (tinción de Ziehl-Neelsen) (BAAR)



M. tuberculosis: cultivo in vitro

- ✓ Aerobios estrictos de crecimiento lento (tiempo medio de generación: 12 a 24 horas).
- ✓ Micobacterias patógenas crecen mejor a 37°C.
- ✓ Medios: Lowenstein-Jensen (glicerol, almidón de papa, huevo coagulado, asparagina, verde de malaquita, sales), Stonebrink (huevo, piruvato, sales).
- ✓ Identificación de especie por pruebas bioquímicas (niacina, ureasa, reducción de nitratos, etc.).



TB: diagnóstico microbiológico

Método fluorométrico: BACTEC MGIT 960

Principio: detección de fluorescencia que emite un fluorocromo sensible al O_2 . Inicialmente el O_2 disuelto en el medio de cultivo extingue la emisión de fluorescencia. A medida que la micobacteria consume O_2 , se suprime la extinción (quenching) de la fluorescencia, que así puede ser detectada.



TB: diagnóstico microbiológico

Método de amplificación (Xpert MTB/RIF)

Principio: amplificación por “Real-Time” PCR de secuencias específicas de ADN de *M. tuberculosis* y del gen que codifica la resistencia a la rifampicina. Permite la obtención de resultados en 120 minutos a partir de una muestra de esputo.

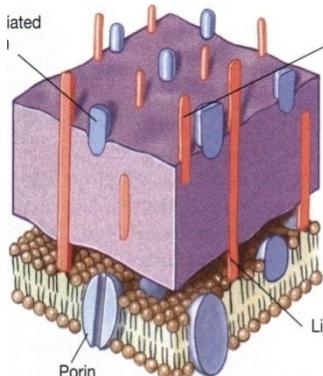


Mycobacterium: resistencia a agentes físicos

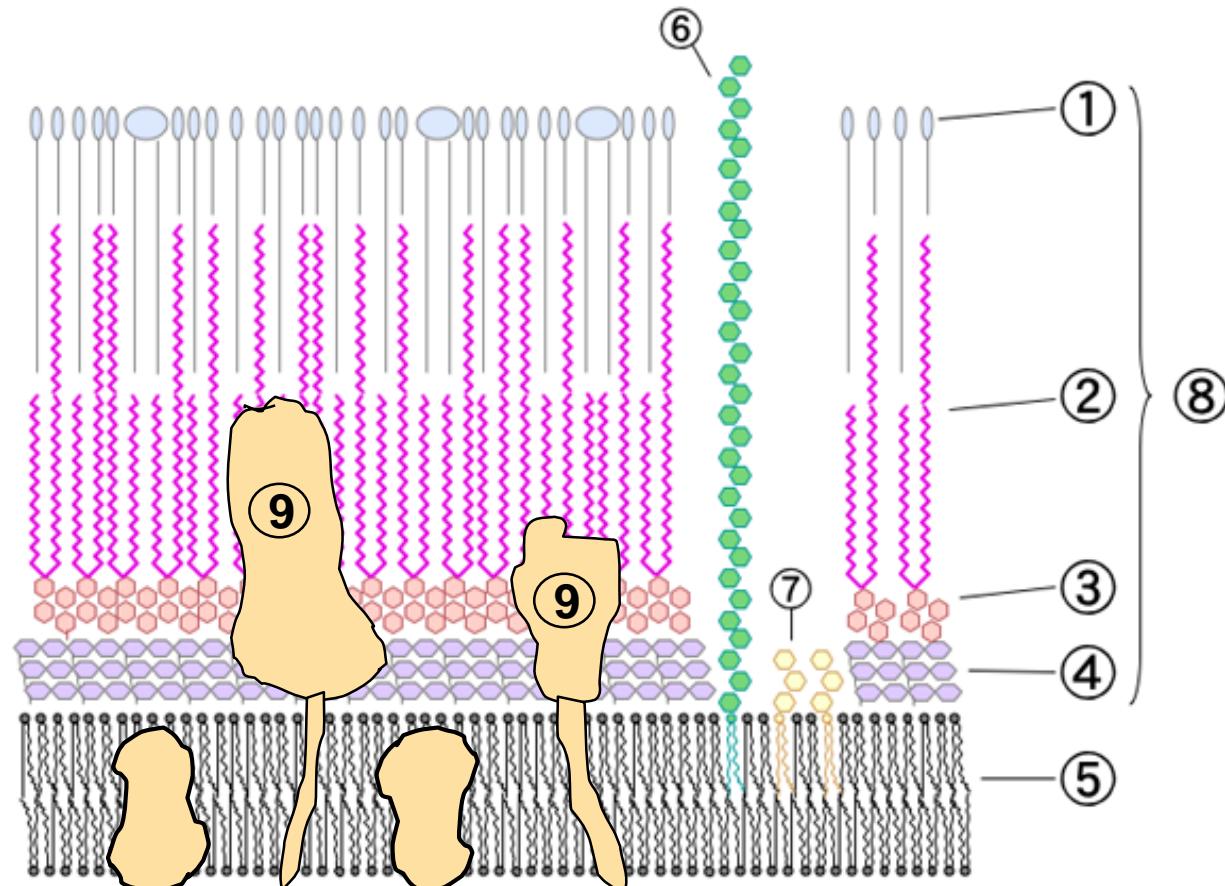
- Resisten ácidos, álcalis y a la mayoría de los desinfectantes.
- Inactivados por formaldehído, glutaraldehído, fenol, etanol al 70% y parcialmente por hipocloritos
- Resisten la desecación
- Son sensibles a la luz solar

Mycobacterium: envolturas

- Estructura de la pared que asemejaría a la de los Gram (+)
- Pared celular con alto contenido lipídico (60% de su peso seco)
- Contenido proteico de la pared aprox. 15% (dan origen al PPD de *M. tuberculosis*)



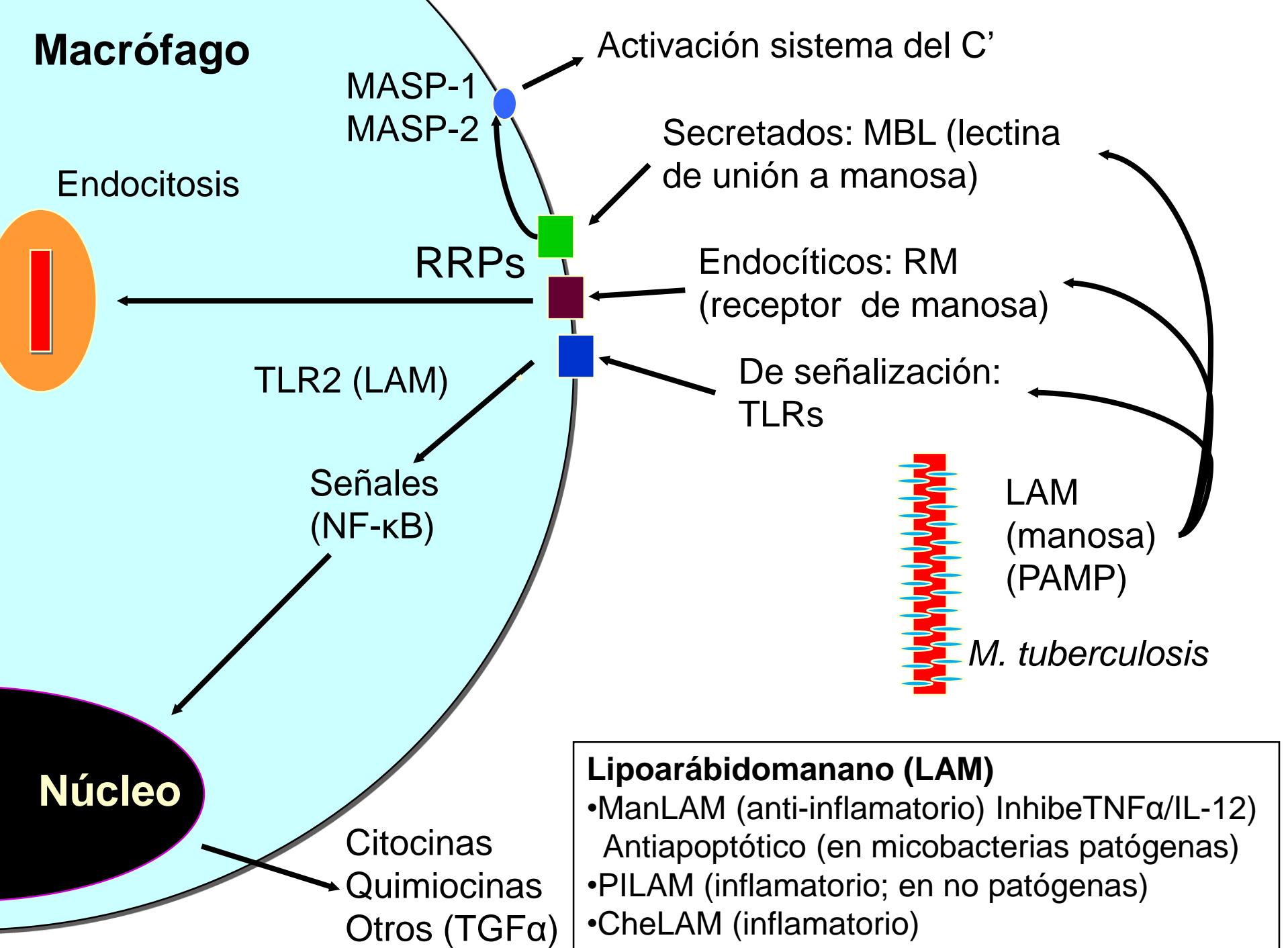
Comparar con *Staphylococcus*



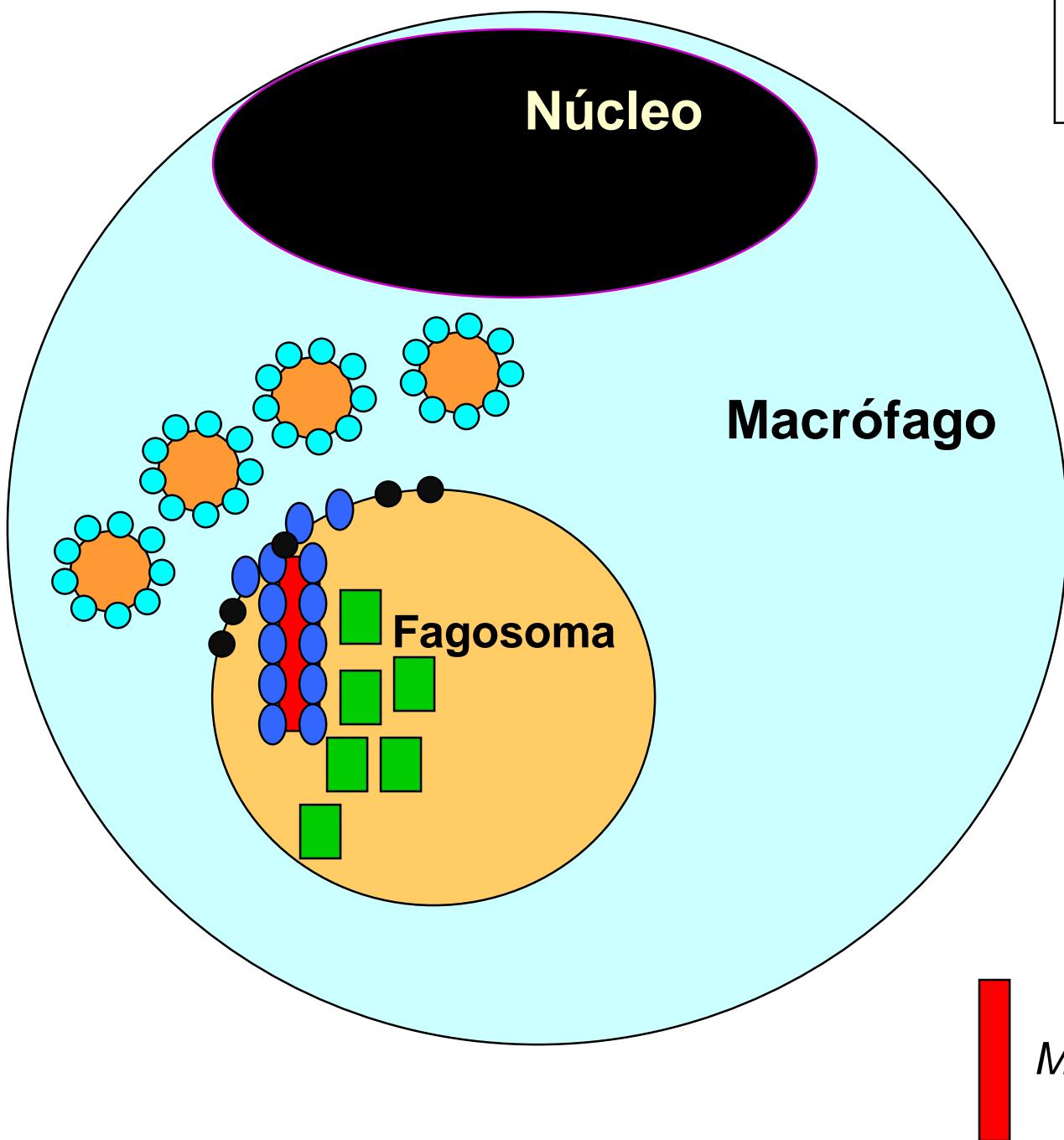
Mycobacterium

- 1) Lípidos exteriores
- 2) Acido micólico
- 3) Arabinogalactano
- 4) Peptidoglicano
- 5) Membrana citoplásmica
- 6) Lipoarabinomanano (LAM)
- 7) Fosfatidilinositol-manósido
- 8) Esqueleto de la pared celular
- 9) Proteínas de la pared

Macrófago



Mycobacterium: **eventos intracelulares**



■ Amoníaco (NH_3)
producido por acción de
ureasa, arginasa,
glutaminasa y
asparaginasa

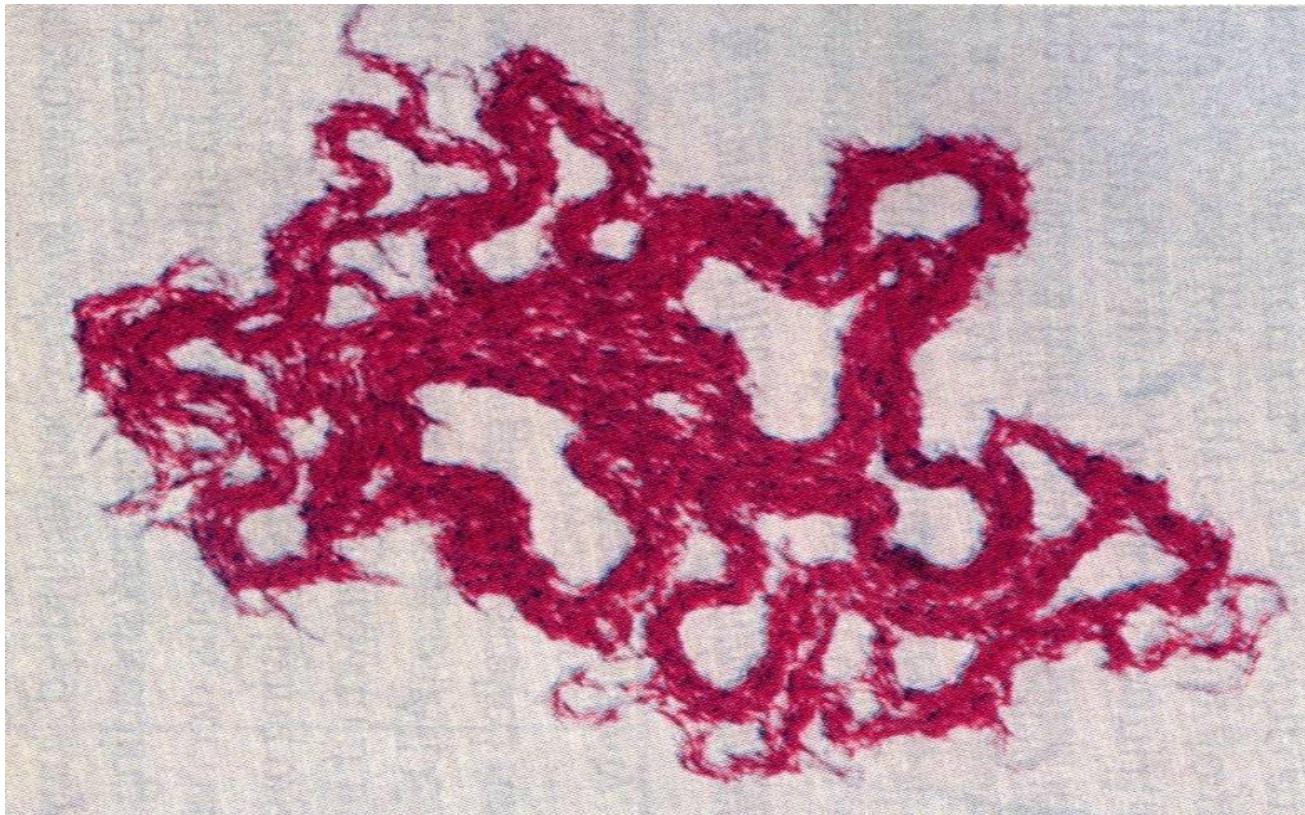
● Lisosomas
(○ EEA1: Ag
endosomal
específico)

● PI-3-P
**● Sulfátidos y
factor cuerda**

M. tuberculosis

***M. tuberculosis*: otros factores de virulencia y patogénesis**

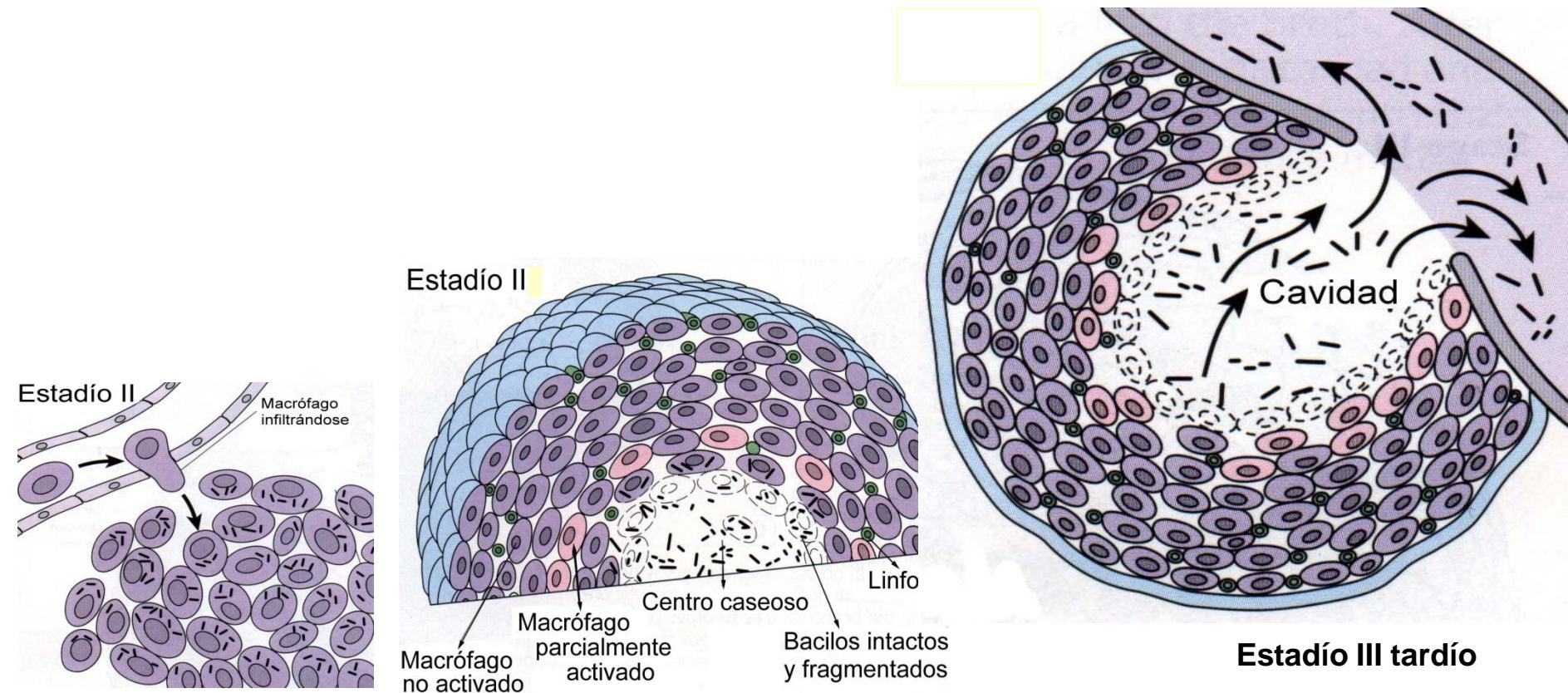
- Factor cuerda (dimicilato de 6,6'-trehalosa)
 - Presente en micobacterias patógenas
 - Intensa actividad proinflamatoria
- Las micobacterias no producen exotoxinas



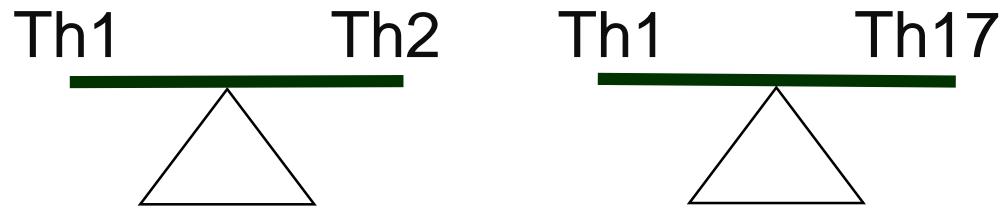
M. tuberculosis: enfermedad de larga evolución

- Evasión

- El huésped se daña a si mismo
- Respuesta inmune adaptativa contra antígenos micobacterianos
- Hipersensibilidad del tipo IV (retardada)

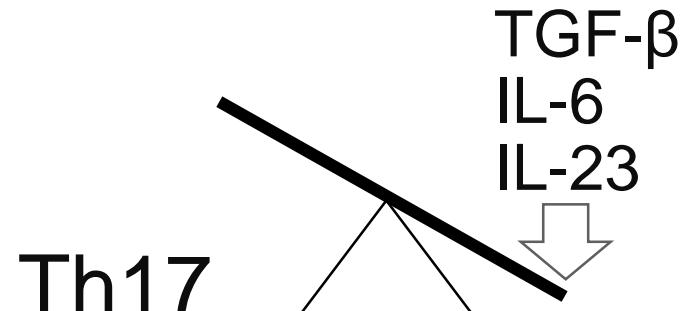
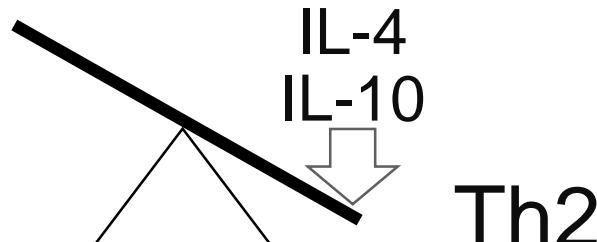
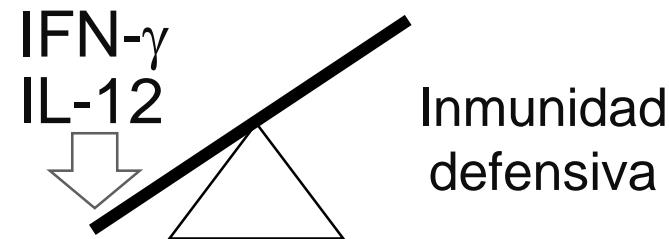


Equilibrios inmunes en la tuberculosis



Factores que alteran el equilibrio:

- Cantidad de antígeno
- Virulencia de la cepa bacteriana
- Estado inmunitario del huésped (enfermedades de base)
- Otros



Estimulación continua de la reacción inmune: hipersensibilidad

Micobacterias tuberculosas y tuberculosis (TB)

- ***Mycobacterium tuberculosis***

- ***Mycobacterium bovis***
- ***Mycobacterium africanum***
- ***Mycobacterium canetti***
- ***Mycobacterium microti***

- Enfermedad crónica, ampliamente diseminada
- Incidencia anual mundial: 8-12 millones
- Prevalencia mundial: 20 millones
- Muertes por TB: 3 millones al año
- De 1.500 a 2.300 millones de infectados
- Argentina: 12.000 a 14.000 nuevos casos al año
- 50% de los casos en área metropolitana Bs. As.
- Co-infección con VIH. Hacinamiento
- *M. bovis*: <1% de los casos de TB pulmonar
- Transmisión aerógena (la más frecuente)
- Muy baja dosis infectante (aprox. 10 bacterias)



Micobacterias no tuberculosas

- Causan micobacteriosis (muy frecuentemente pulmonares)
- Estructura similar a la de *M. tuberculosis*
- Diferenciables por velocidad de crecimiento y pigmentación (antigua clasificación de Runyon)

➤ Crecimiento lento:

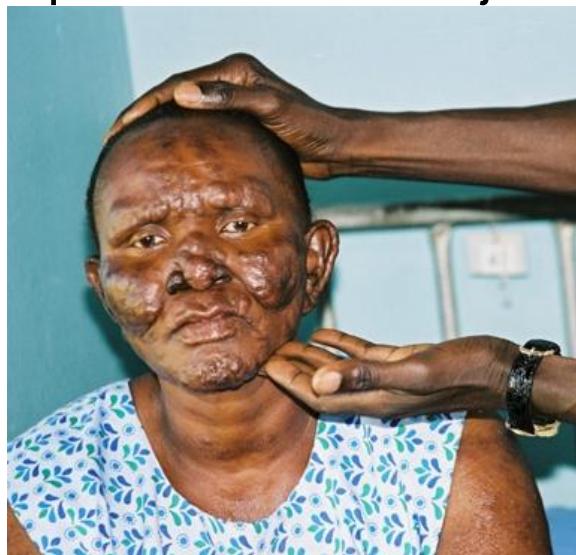
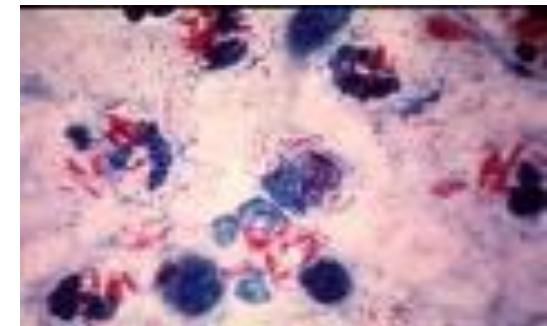
- Acromógenas (no pigmentadas): *avium-intracellularare*, *terrae*, etc.
- Pigmentadas:
 - Fotocromógenas (por exposición a la luz)
(*marinum*, *simiae*, etc.)
 - Escotocromógenas (en ausencia de luz)
(*scrofulaceum*, *xenopi*, etc.)

➤ Crecimiento rápido (*fortuitum*, *cheloneae*, etc) (siempre mucho más lento que la mayoría de las bacterias)

- Menos virulentas que *M. tuberculosis*
- Oportunistas
- Coinfección con HIV

***Mycobacterium leprae* y lepra (Enfermedad de Hansen)**

- Bacilo alcohol-ácido resistente
- ***M. leprae* no crece en medios de cultivo**
- Infección crónica de la piel y mucosas
- Largo período de incubación. hasta 30 años (promedio 5-7 años)
- Área endémica: Chaco, Santa Fe, Formosa, Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos, Misiones.
- Incidencia: de 400 a 500 nuevos casos por año
- Prevalencia: entre 1,5 a 2 por cada 1.000 habitantes en el área endémica
- Manifestaciones clínicas: varían ampliamente entre dos formas polares lepra lepromatosa y lepra tuberculoide.
- Espectro clínico refleja el grado de IMC a *M. leprae*

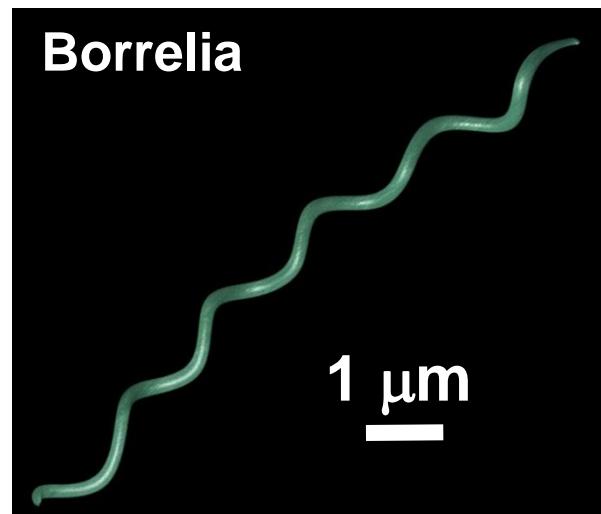
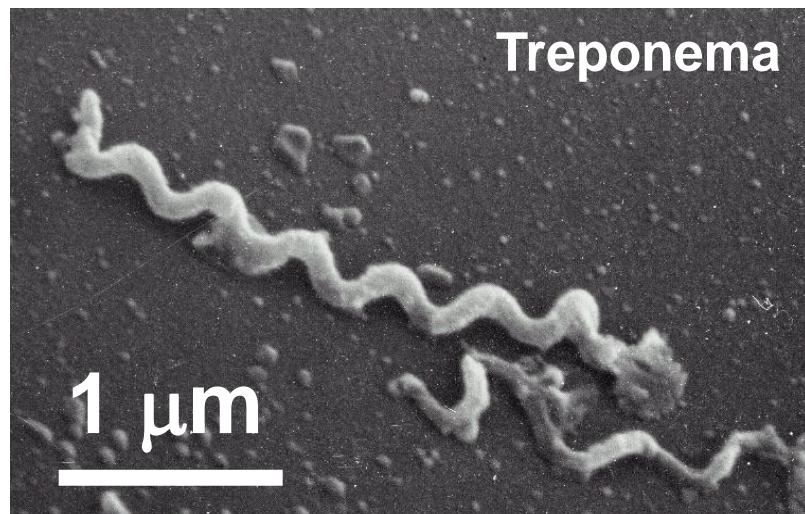
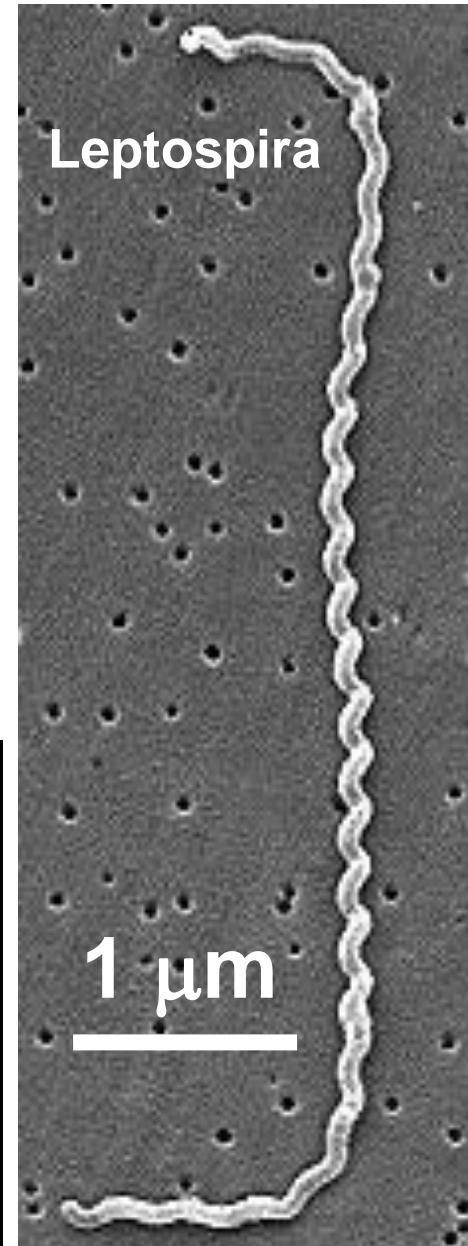


Géneros de bacterias que no toman la coloración de Gram:

PARTE II: *Treponema* y *Leptospira*

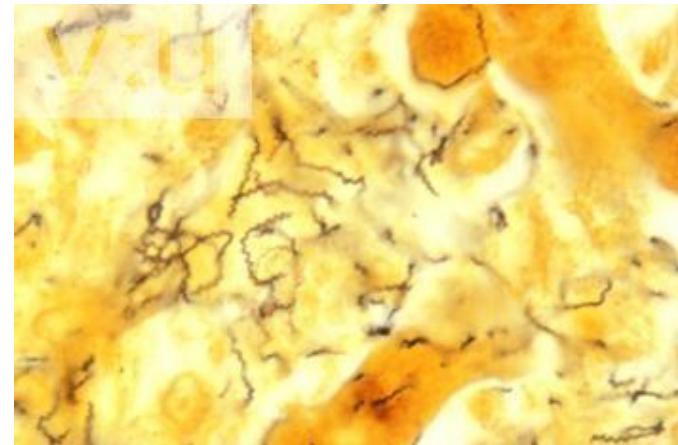
Bacterias con morfología espiralada

- Géneros con importancia médica:
 - *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*
- Especies con importancia médica en Argentina:
 - *Treponema pallidum* subesp. *pallidum* (sífilis)
 - *Leptospira interrogans* (leptospirosis)
- Otras con importancia médica (fuera de Argentina):
 - *Treponema pallidum* subesp. *endemicum* (bejel)
 - *Treponema pallidum* subesp. *pertenuis* (pian)
 - *Treponema carateum* (pinta)
 - *Borrelia recurrentis* y otras spp. (fiebre recurrente)
 - *Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme) (?)



Bacterias del género *Treponema*

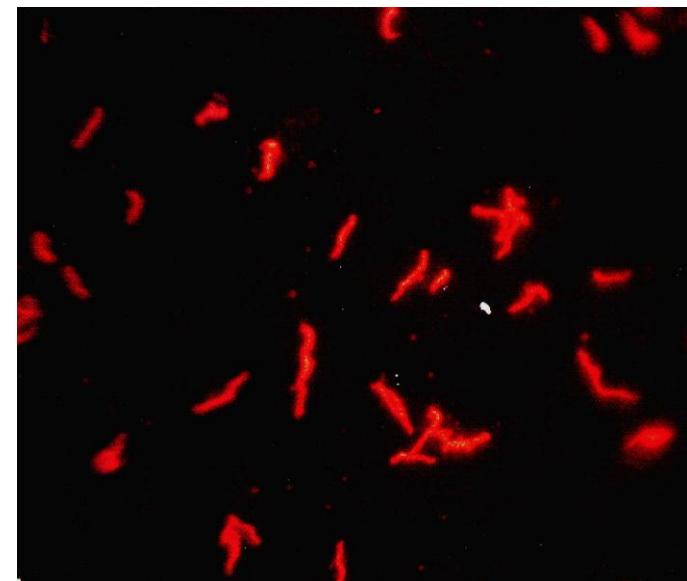
- Muy finas (ϕ sección 0,1-0,2 μm)
- No visibles por tinción de Gram
- Móviles
- Aerobias estrictas
- Tiempo medio de generación:
aprox. 30-33 horas
- **No pueden cultivarse *in vitro***
- Propagación: testículo de conejo



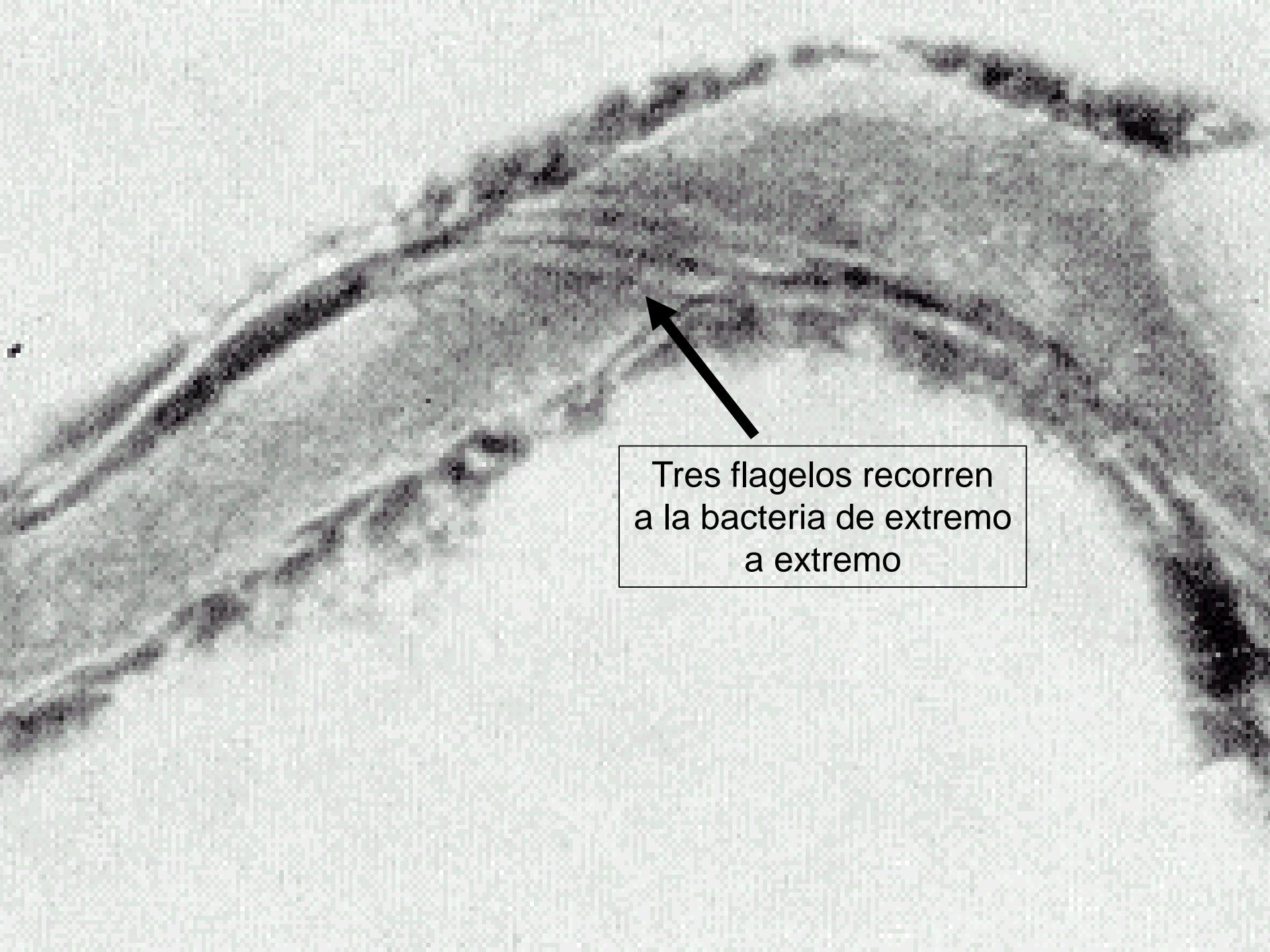
Impregnación argéntica



Departamento de Parasitología e Inmunología A

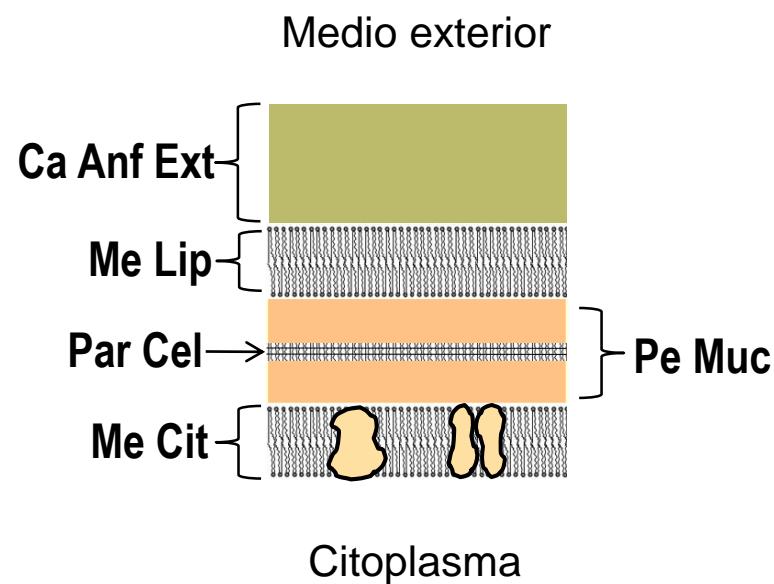
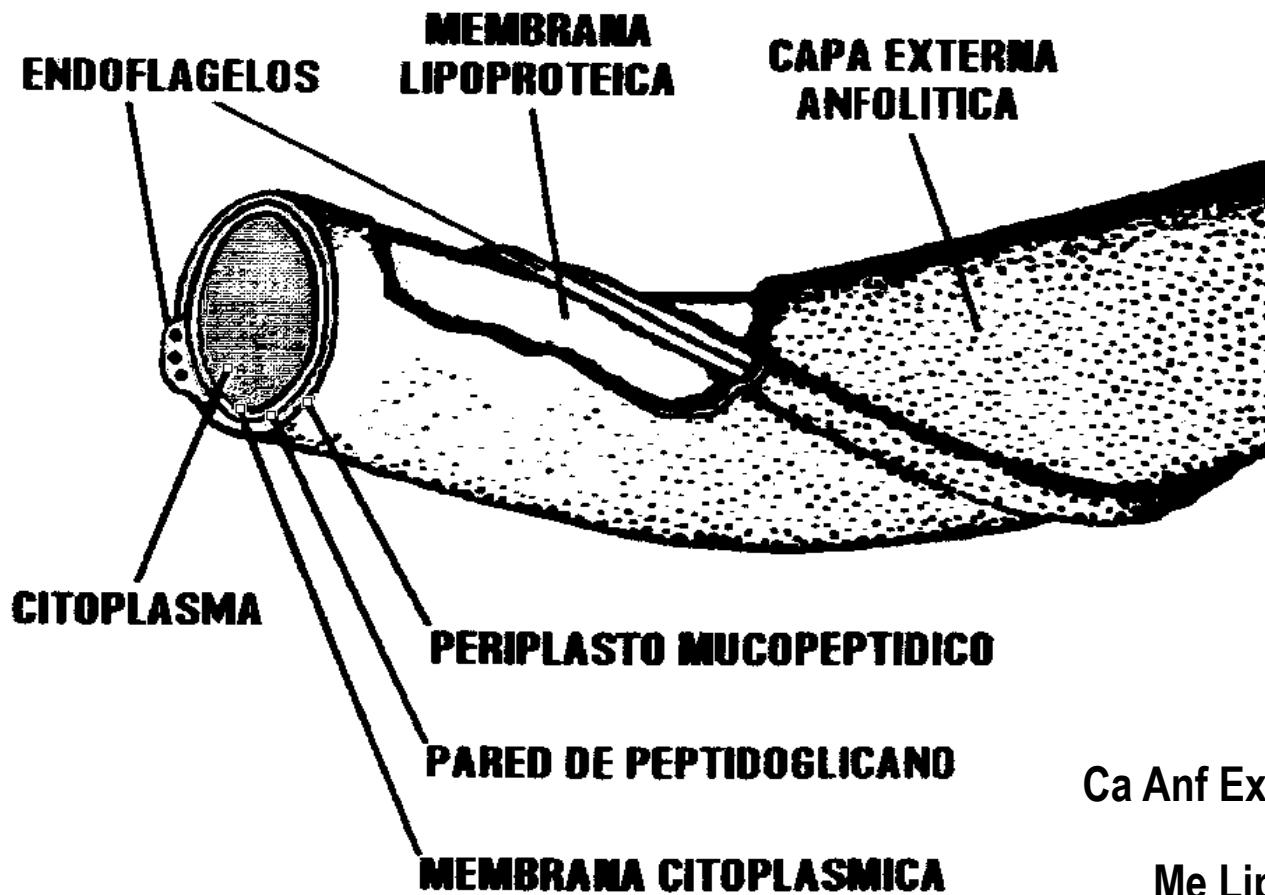


Departamento de Parasitología e Inmunología A

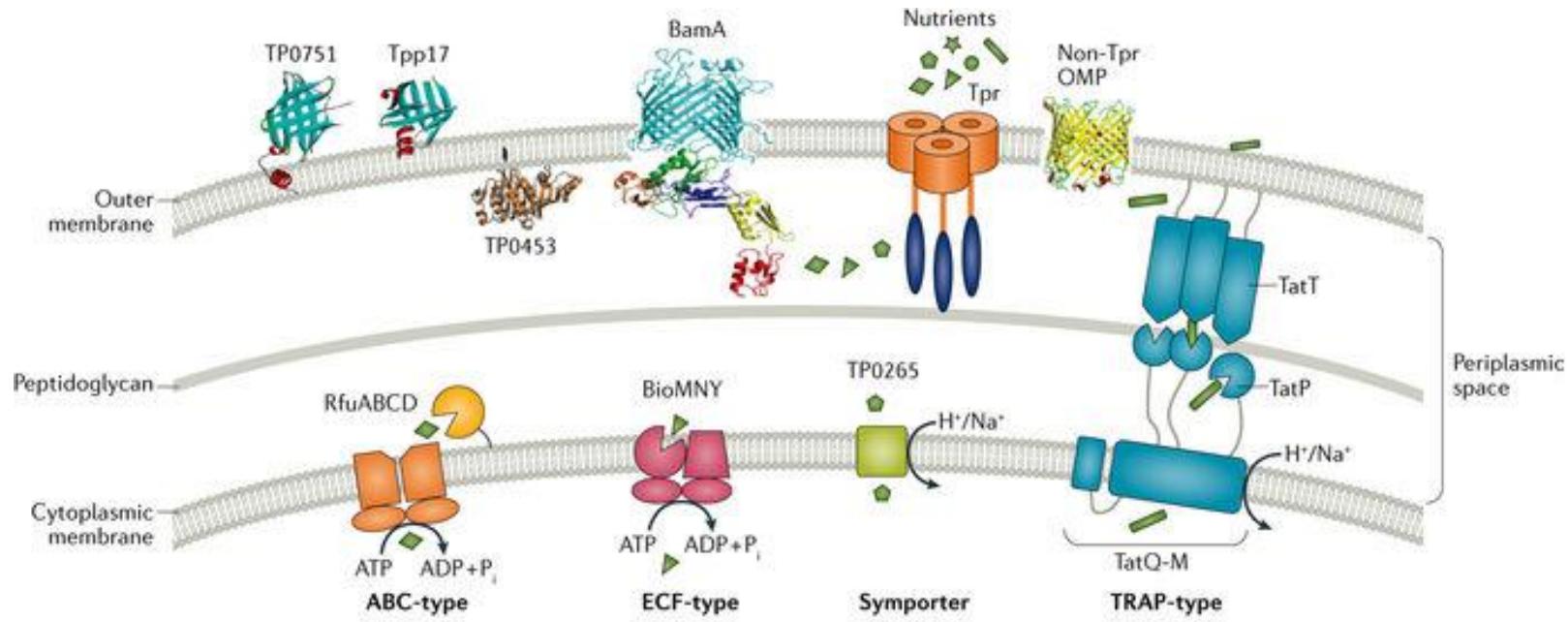
An electron micrograph showing a rod-shaped bacterium. Three long, thin, dark filaments, identified as flagella, extend from the cell. One flagellum is clearly visible on the left side, another is partially visible on the right, and a third is located near the center of the cell. The cell itself has a distinct, somewhat irregular shape.

Tres flagelos recorren
a la bacteria de extremo
a extremo

T. pallidum: esquema de sus envolturas



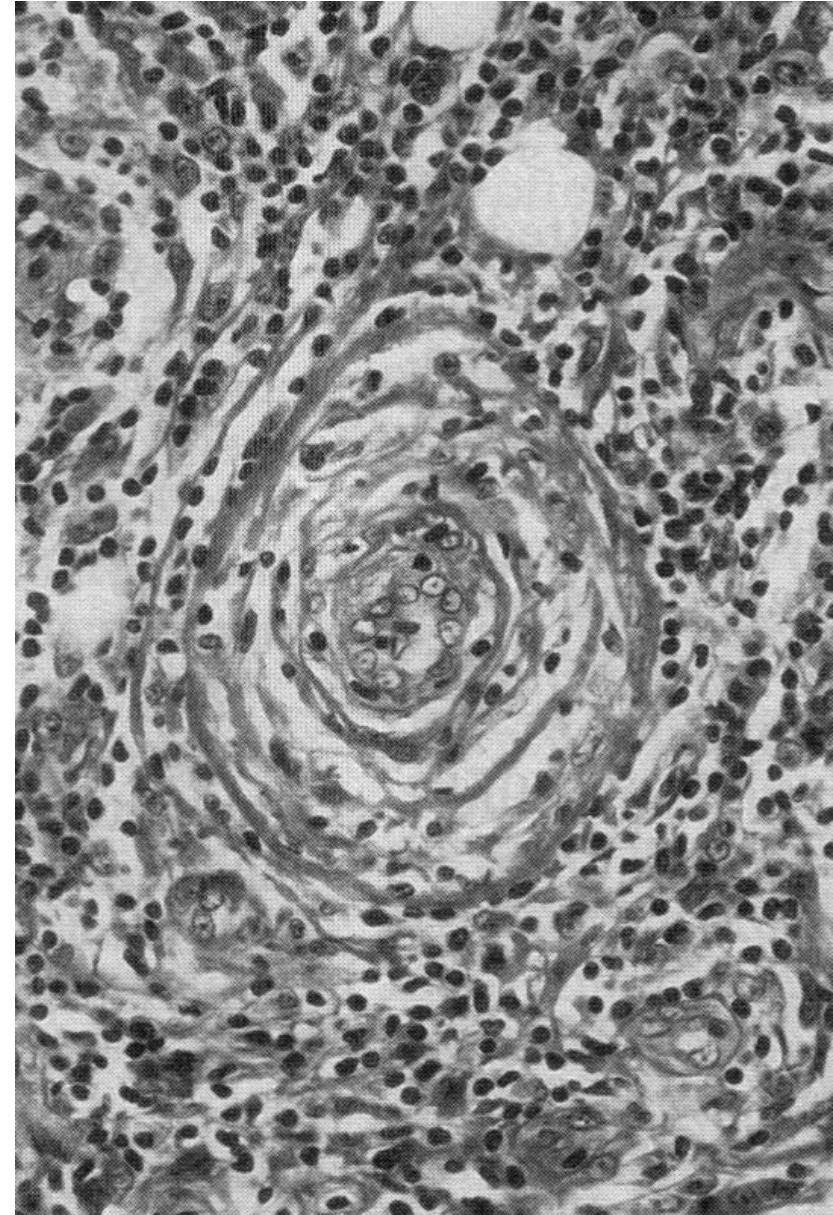
T. pallidum: contenido proteico



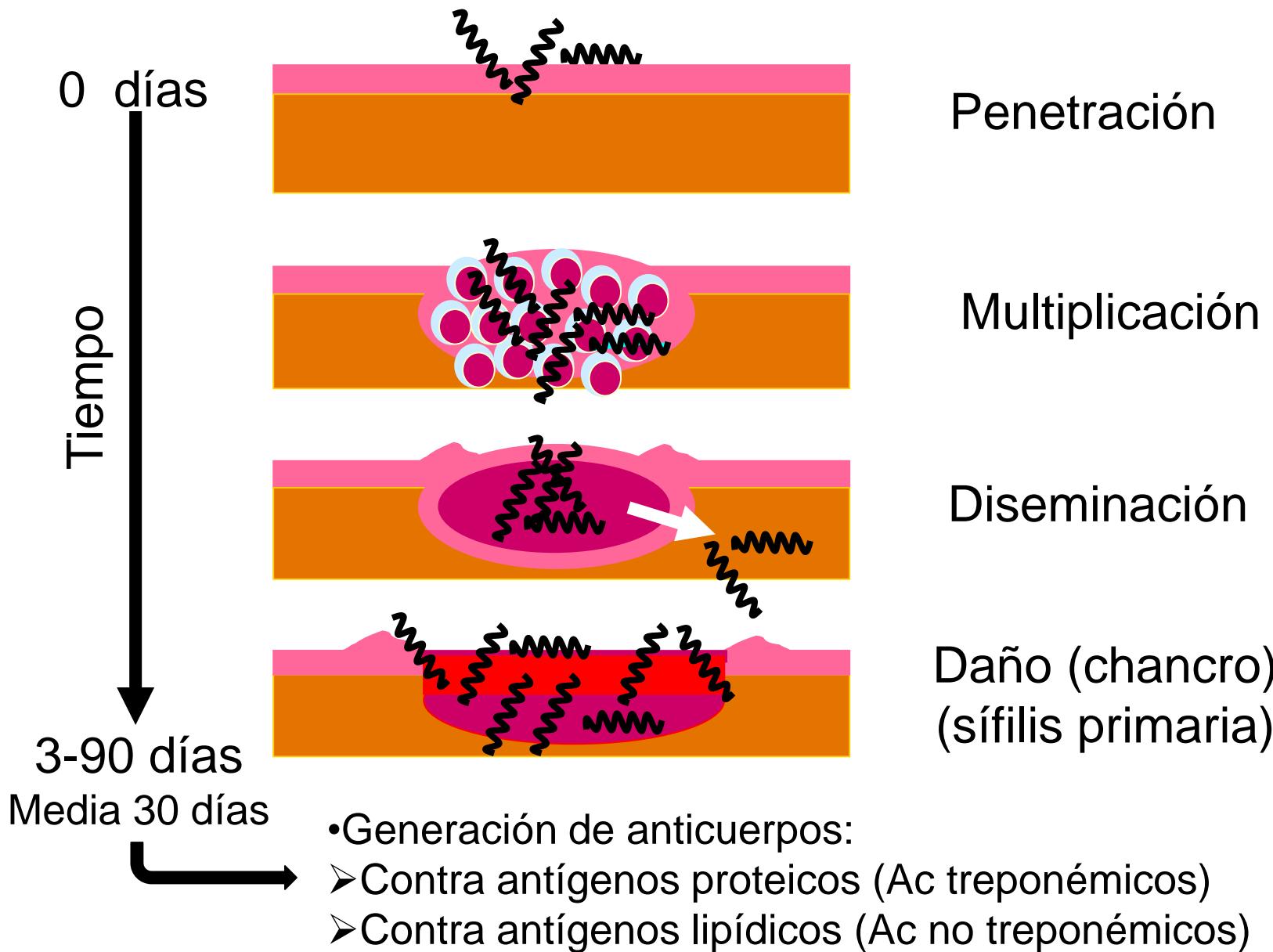
- Muchas proteínas sumergidas en el espacio periplásmico (no actúan como PAMPs): evasión de la inmunidad innata.
- Muy pocas lipoproteinas con exposición al exterior: TP0751 (palilisina: adherencia a laminina y degradación de coágulos); TP0155 y TP0483 (adherencia a fibronectina).
- Diversas proteínas hacen variación antigénica, otras están en un muy baja cantidad.

Virulencia de *Treponema pallidum*

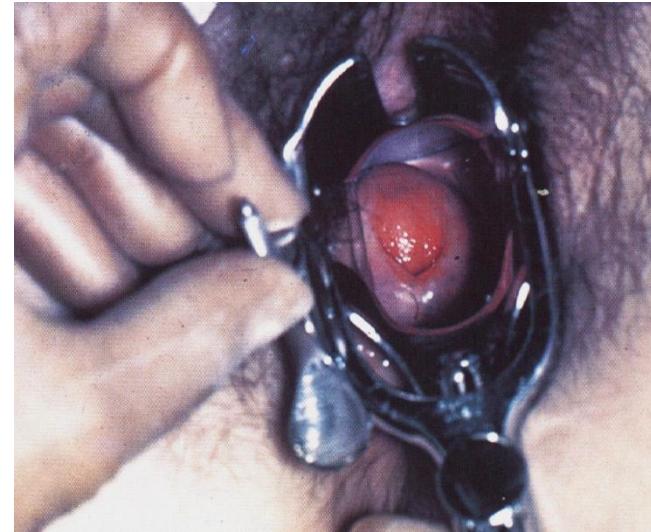
- Alta motilidad
- Símil-lipopolisacárido sin actividad endotóxica
- No produce exotoxinas
- Produce hialuronidasa
- **Adhesinas (tp0155; Tp 0483):** unión a fibronectina (expresión de ICAM-1 y adherencia de monocitos por CD43)
- Adherencia íntima de membranas celulares y envolturas del treponema
- **Evasion** de los mecanismos de defensa innata y adaptativa por enmascaramiento con:
 - fosfolípidos de huésped
 - proteínas del huésped
- Anticuerpos contra lípidos del huésped
- **Endoarteritis obliterativa**



Sífilis: formación del chancre de inoculación



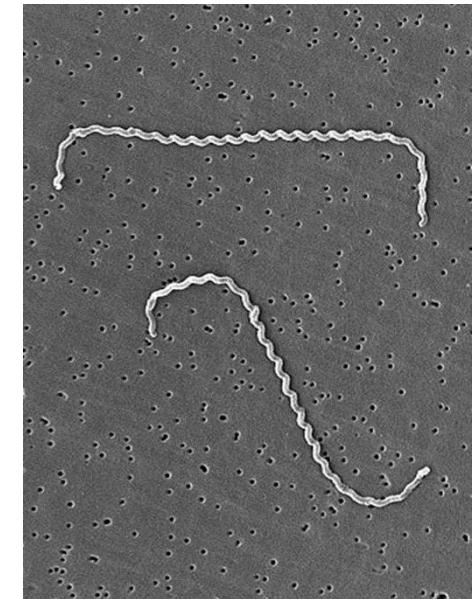
Chancro de inoculación (sífilis primaria)



Posteriormente sífilis secundaria y sífilis terciaria

***Leptospira interrogans* y leptospirosis**

- Aerobias estrictas
- Crecen en medios enriquecidos (Fletcher)
- Crecimiento lento (hasta 12 semanas)
- Temperatura óptima de desarrollo: 28-30°C
- Sobrevive varios días en agua a pH > 7
- Pierden viabilidad en medios ácidos
- Sensibles a la desecación
- Sensibles a muchos desinfectantes



- Doce 12 especies y 7 genomoespecies
- *Leptospira interrogans*: especie prevalente en el hombre
- Especies y genomoespecies subclasicificadas en serogrupos y serovariedades (>260)

***Leptospira interrogans* y leptospirosis**

- Enfermedad zoonótica más ampliamente distribuida en el mundo y quizás la más prevalente.
- Enfermedad infecciosa emergente, según la OMS.
- En América Central y Sudamérica: brotes durante inundaciones por lluvias asociadas al fenómeno de la corriente de El Niño.
- Argentina: 50/100 casos esporádicos/año.
- Puertas de entrada más comunes: abrasiones cutáneas y la conjuntiva.
- No se transmite por contacto interhumano.
- Reservorio: aguas contaminadas con orina de animales enfermos (huéspedes permanentes: roedores; huéspedes accidentales: hombre, perro, animales de granja).

***Leptospira interrogans* y leptospirosis**

Fase I: aguda o septicémica.

- 1^a semana: fiebre alta ondulante, cefalea, mialgias, inyección conjuntival.
- Existe leptospiremia.

Fase II: fase secundaria o inmunitaria.

- 2^a semana: complicaciones asociadas a la localización primaria de las leptospirosis: vasculitis, infiltrados inflamatorios y daño endotelial (¿depósito de inmunocomplejos?). Nefropatía severa con insuficiencia renal. Compromiso hepático: ictericia.
- Existe leptospiruria.

Muchas gracias!

Bibliografía de respaldo:

Murray PR y col. Microbiología Médica, Ed. Elsevier-Mosby, 7^a ed., 2014.
Sordelli DO y col. Bacteriología Médica. Ed. La Librería de las Ciencias, 2006.