



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FACULTAD DE MEDICINA.
II CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA**

Profesor Titular: Dr. Norberto Sanjuan
**MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA I
SEMINARIO N° 2:**

Staphylococcus spp. y Streptococcus spp.

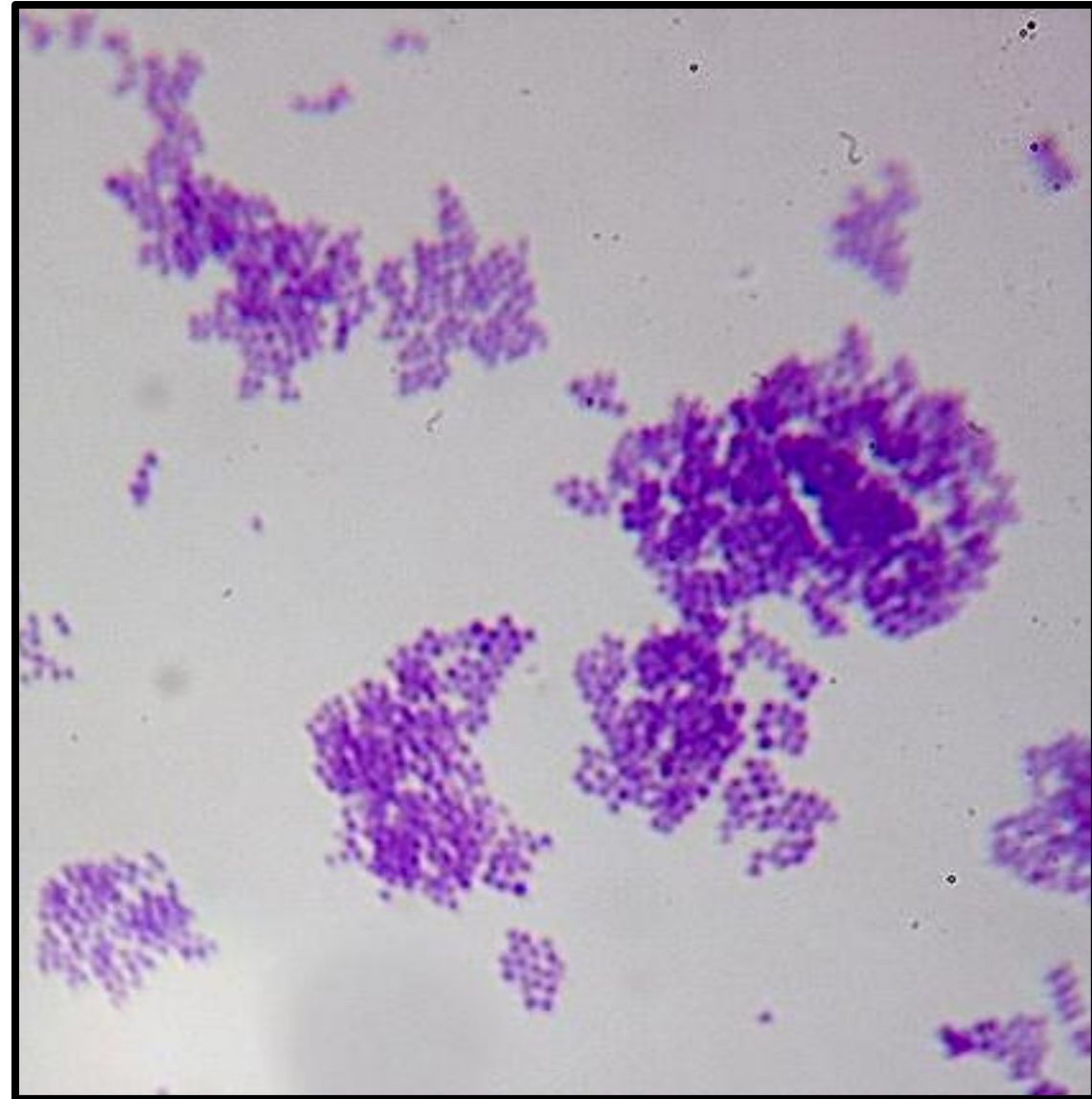
2022



Staphylococcus spp.

Características microbiológicas

- ✓ Cocos con coloración Gram positiva (+)
- ✓ Agrupados en racimos
- ✓ Anaerobio facultativo (oxidán y fermentan hidratos de carbono)
- ✓ Catalasa positivos
- ✓ Pueden o no presentar actividad de coagulasa
- ✓ Inmóviles, incapaces de formar esporas
- ✓ Colonizan piel y mucosas
- ✓ Resistencia a los anti-microbianos



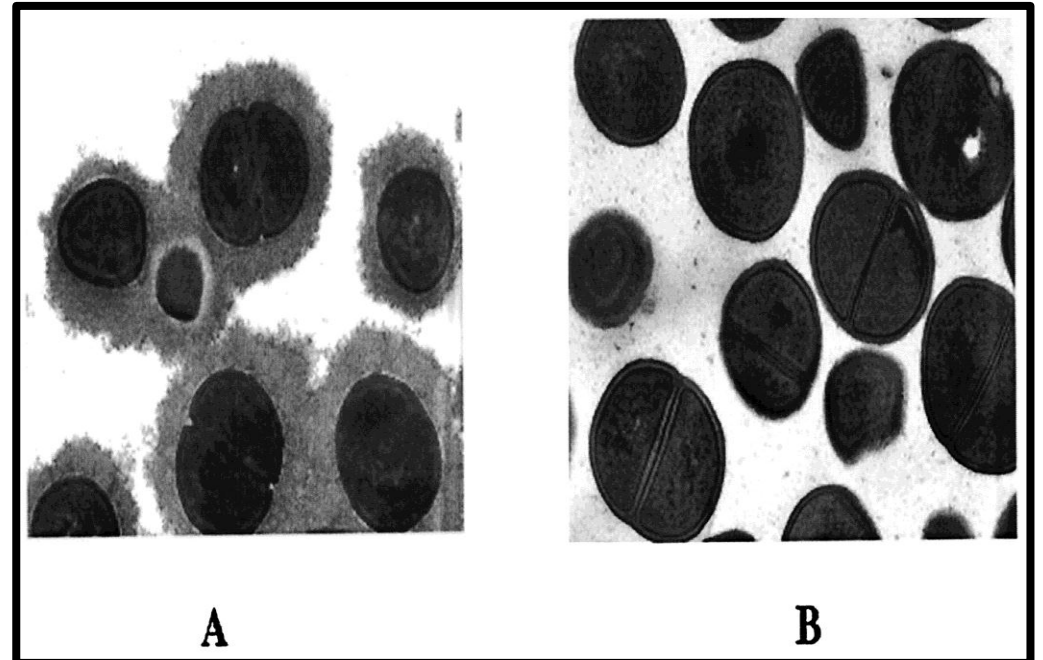
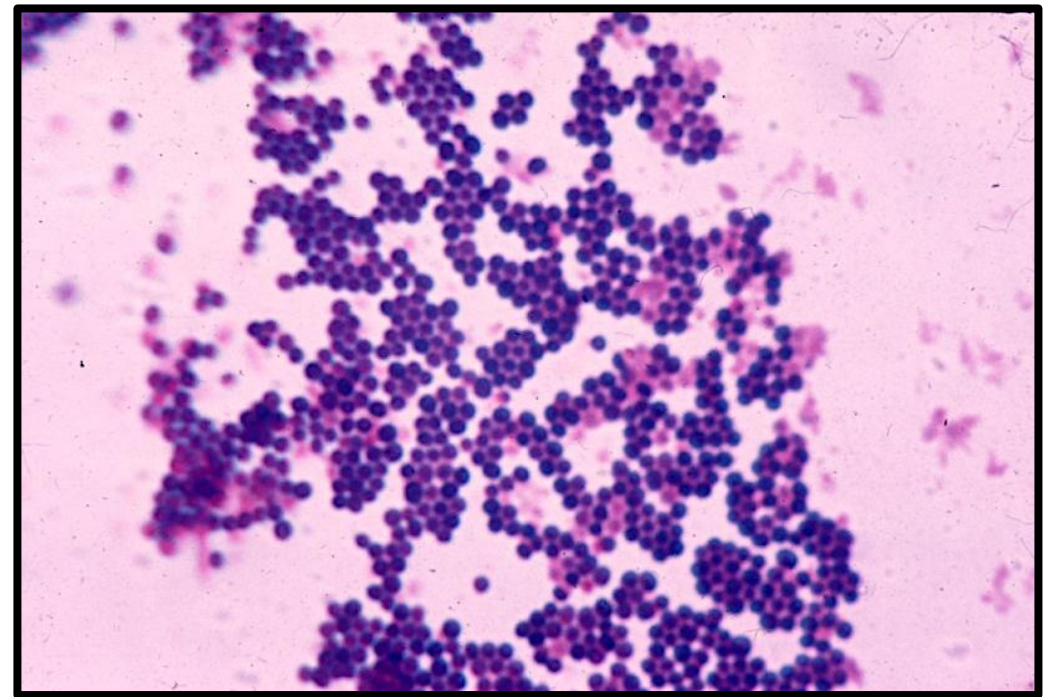
SPECIES	COAGULASE*
<i>S. aureus</i>	++
<i>S. epidermidis</i>	—
<i>S. capitis</i>	—
<i>S. caprae</i>	—
<i>S. saccharolyticus</i>	±
<i>S. warneri</i>	—
<i>S. pasteurii</i>	—
<i>S. haemolyticus</i>	—
<i>S. hominis</i>	—
<i>S. lugdunensis</i>	—
<i>S. auricularis</i>	—
<i>S. saprophyticus</i>	—
<i>S. cohnii</i>	—

<u>Coagulasa positivos</u>	<u>Coagulasa negativos</u>
<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. hominis</i> <i>S. capitis</i>

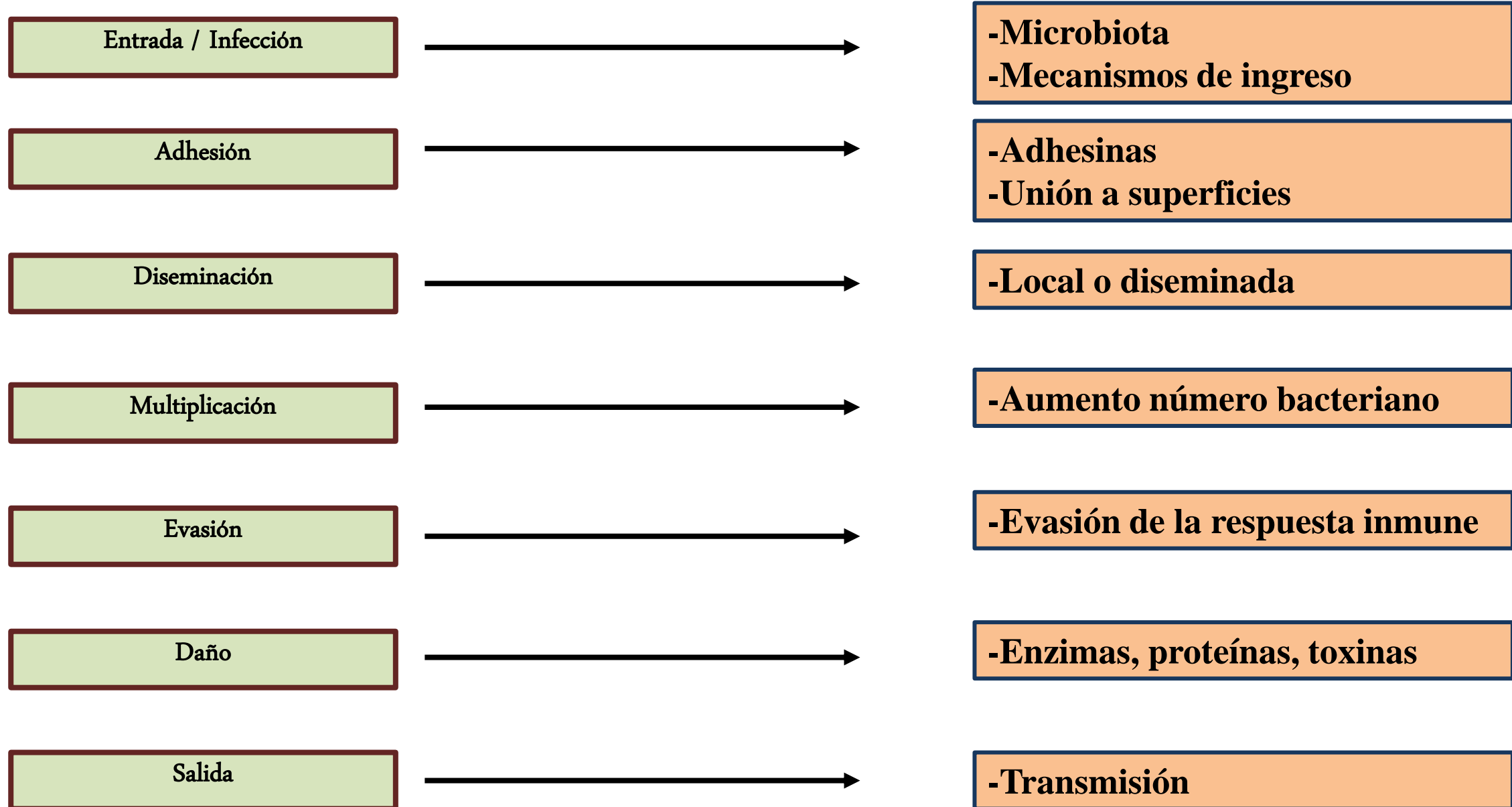


Staphylococcus aureus

- ✓ Coco agrupado en racimos inmóvil
- ✓ El 90% presenta cápsula en su exterior
- ✓ Catalasa y coagulasa positivo
- ✓ Presenta factores de agrupamiento
- ✓ Presenta adhesinas y toxinas como factores de patogenicidad (20-30 genes)



¿Cómo estudiar la patogenicidad bacteriana?



Entrada - Hábitat

- ✓ Colonizan piel y mucosas
- ✓ Nicho preferencial
- ✓ Colonizan piel sana (incluyendo pliegues y periné)
- ✓ Colonización permanente o transitoria
- ✓ Contaminación de materiales estériles



Adherencia



■ Pared celular:

➤ Peptidoglicano:

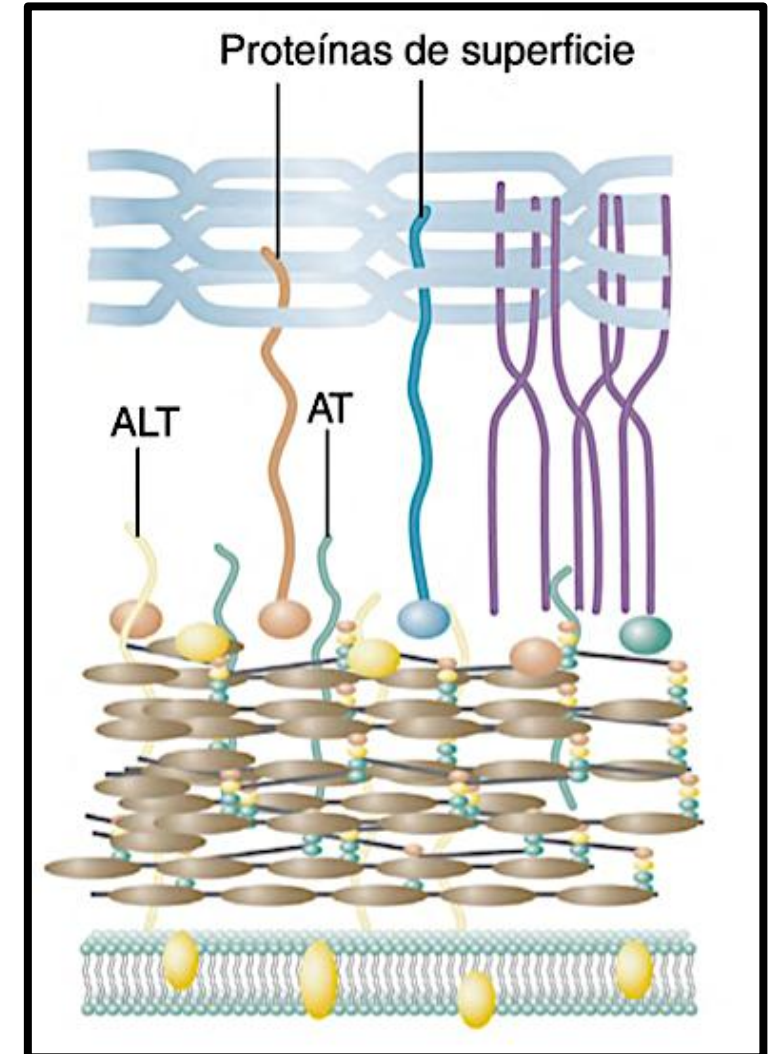
- Cadenas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico
- Enlaces de puente peptídicos entre disacáridos
- Plasticidad y resistencia
- Sitio de anclaje de adhesinas
- Reconocimiento por respuesta inmune
- Sistema regulador: Enzimas PLP

➤ Ácidos teicoicos

- 50% peso seco
- Metabolismo de pared celular
- Adhesión a epitelios

➤ Ácidos lipoteicoicos

- Anclados en membrana plasmática
- Inducción de liberación de citoquinas inflamatorias



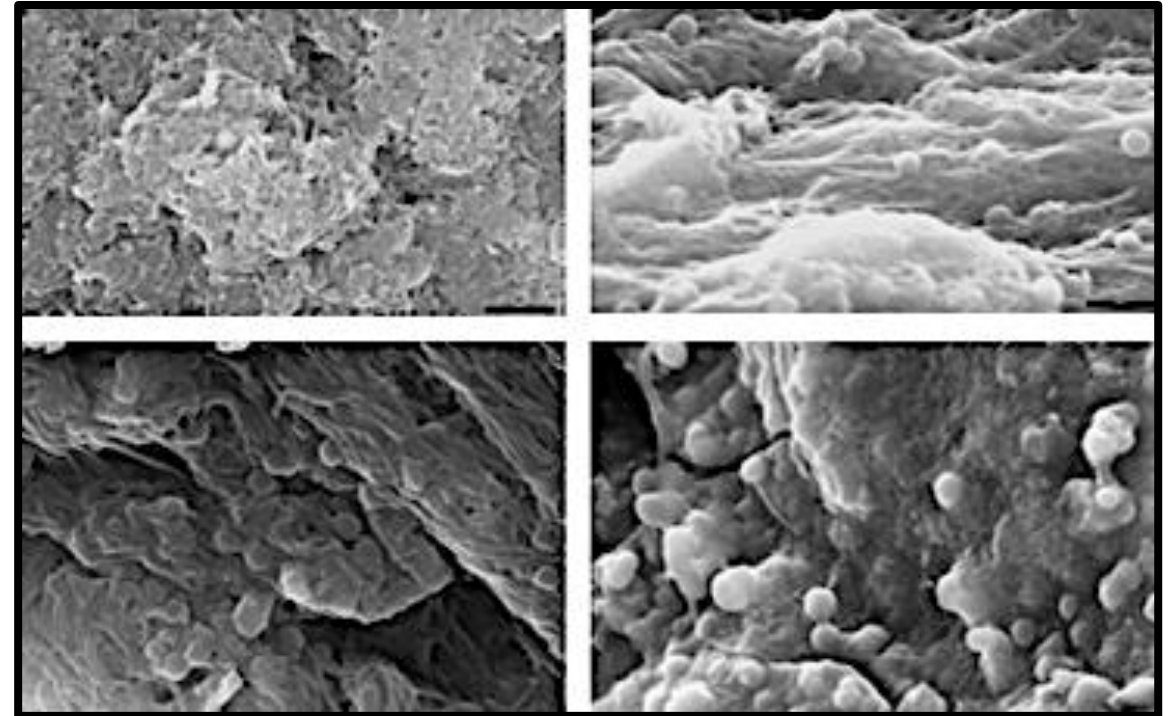
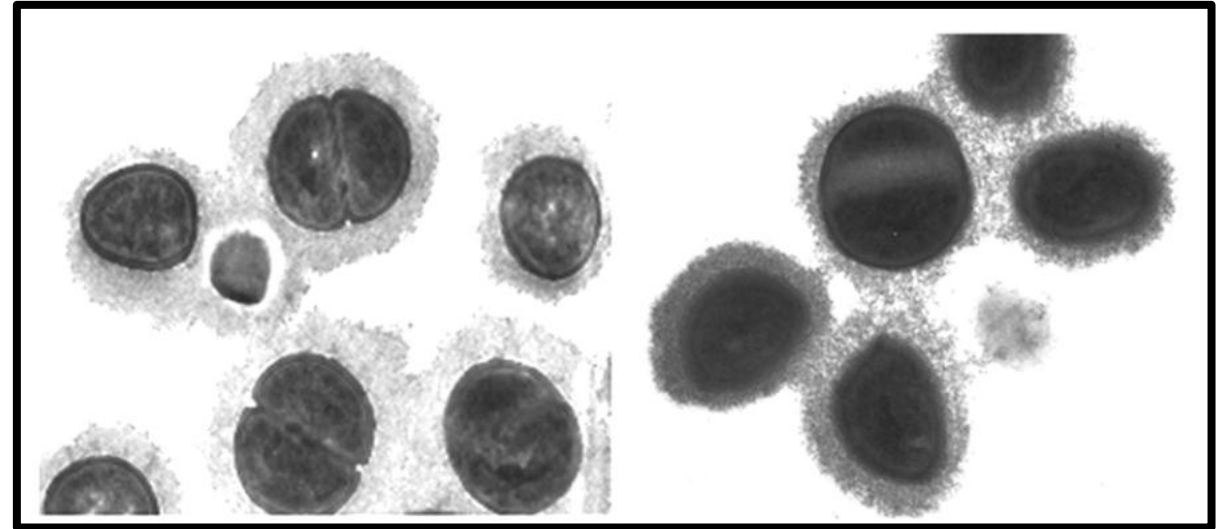
Adherencia

➤ Cápsula:

- Polisacáridos. 11 serotipos diferentes
- Antifagocitarias y aumentan la virulencia

➤ Biopelícula o biofilms

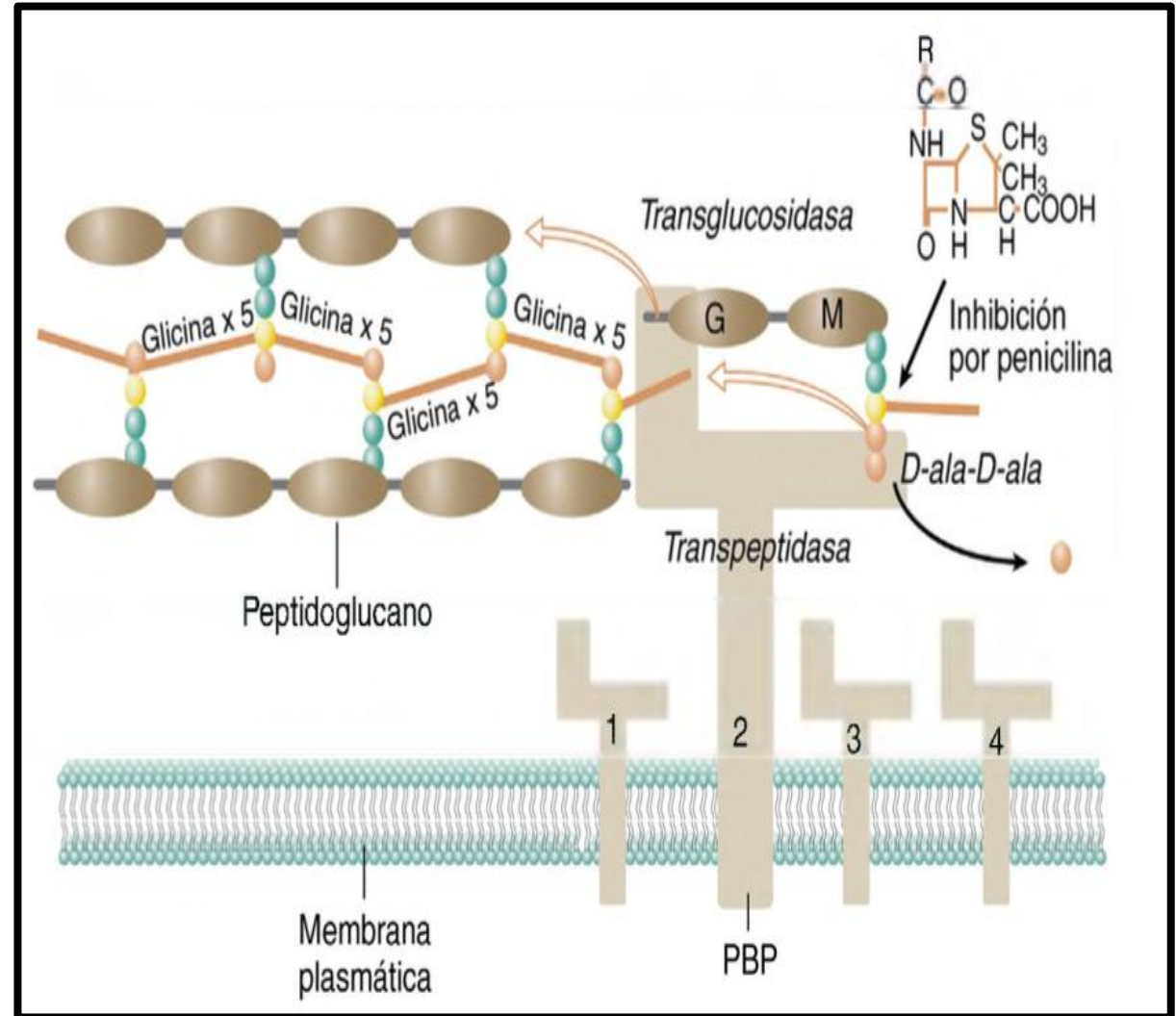
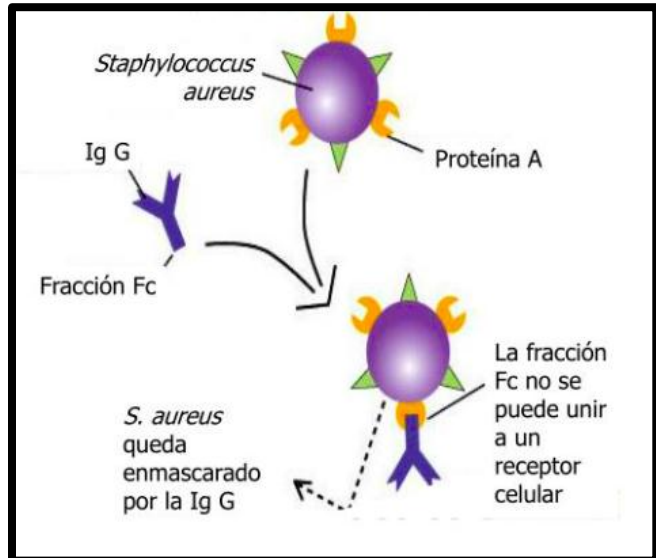
- Trama extracelular de polisacáridos y proteínas
- Bacterias en fase latente
- Contaminación de materiales estériles



Adherencia

➤ Adhesinas

- Adhesión a proteínas de la matriz
- Factor de agrupamiento B (ClfB)
→ colonización epitelio nasal
- Proteínas de unión a fibronectina (FnBPA y B)
- Proteína de unión al colágeno (cna)
- Proteína A
- Proteínas de regulación inmune



Daño por toxinas

- ✓ Síntesis de potentes hemolisinas y leucotoxinas
- ✓ Alteración del reconocimiento del sistema inmune
- ✓ Factores codificados en plásmidos y fagos



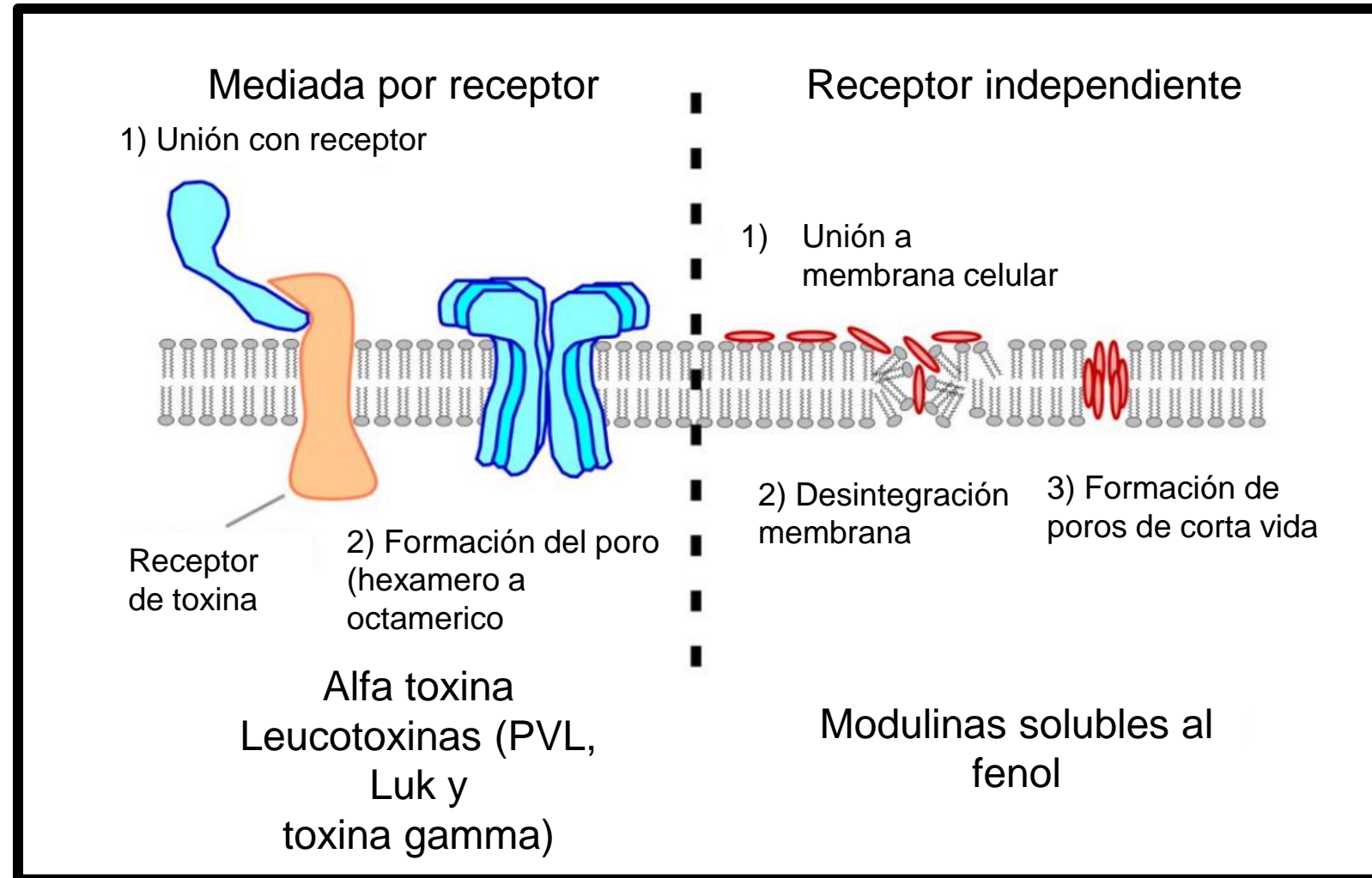
✓ Mediada por Recetor

-**Toxina alfa:** lisis de glóbulos rojos y leucocitos, no neutrófilos. Actividad de desintegrina y metaloproteionasa

-**Toxinas formadoras de poros:** leucocidina Pantón-Valantine (PVL), leucocidinas Luk DE y AB y toxina gamma.

✓ No mediada por Receptor

-**Toxina delta:** lisis de neutrófilos. Alta toxicidad.



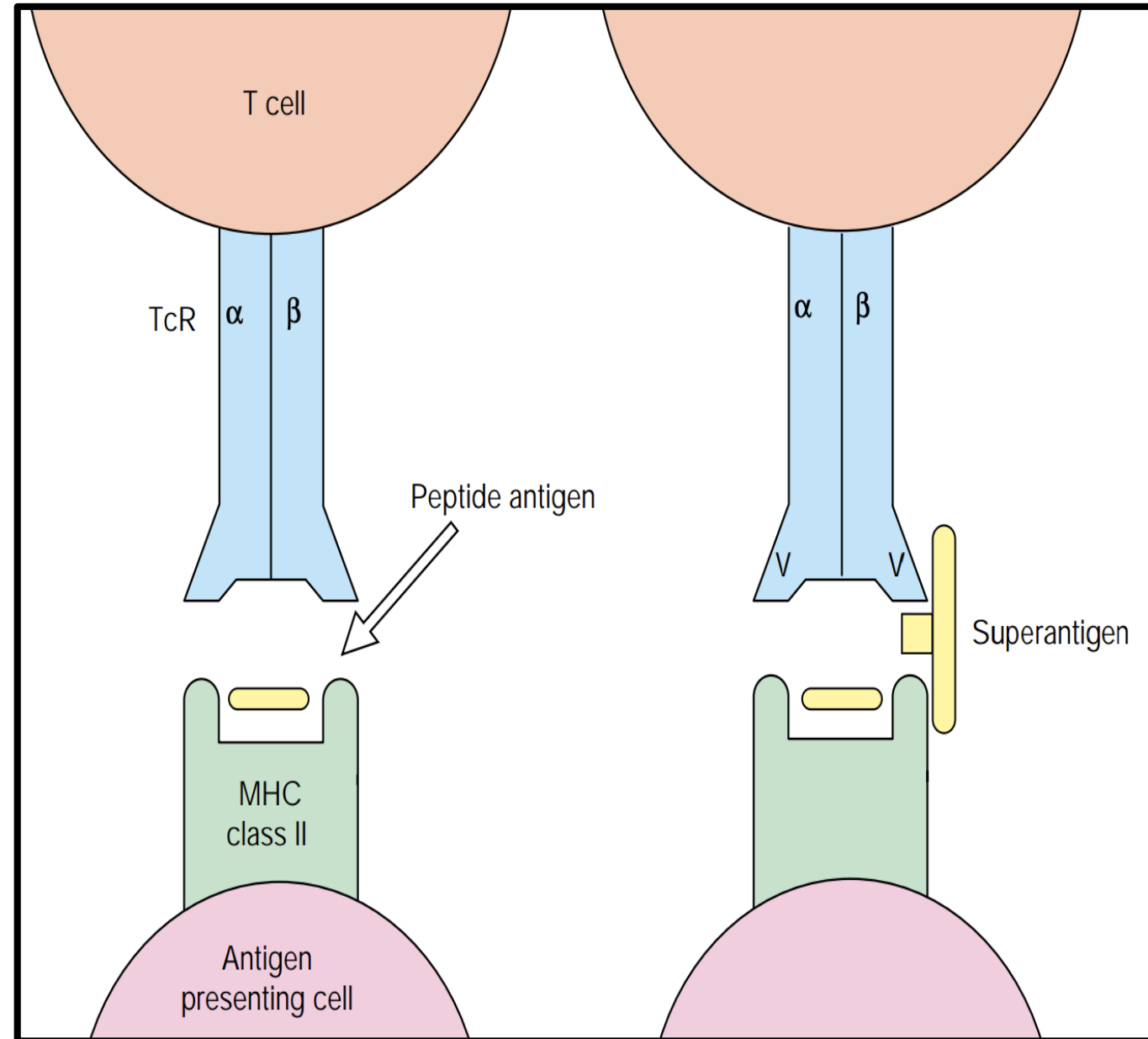
Daño por toxinas

✓ Toxinas que interfieren con la función del receptor: superantígenos

-Enterotoxinas: 20 enterotoxinas y similares. Intoxicación alimentaria por ingesta de toxinas que han sido liberadas en alimentos. SEA, SEB y SEC son las relacionadas con intoxicación alimentaria y SEB y SEC con shock tóxico.

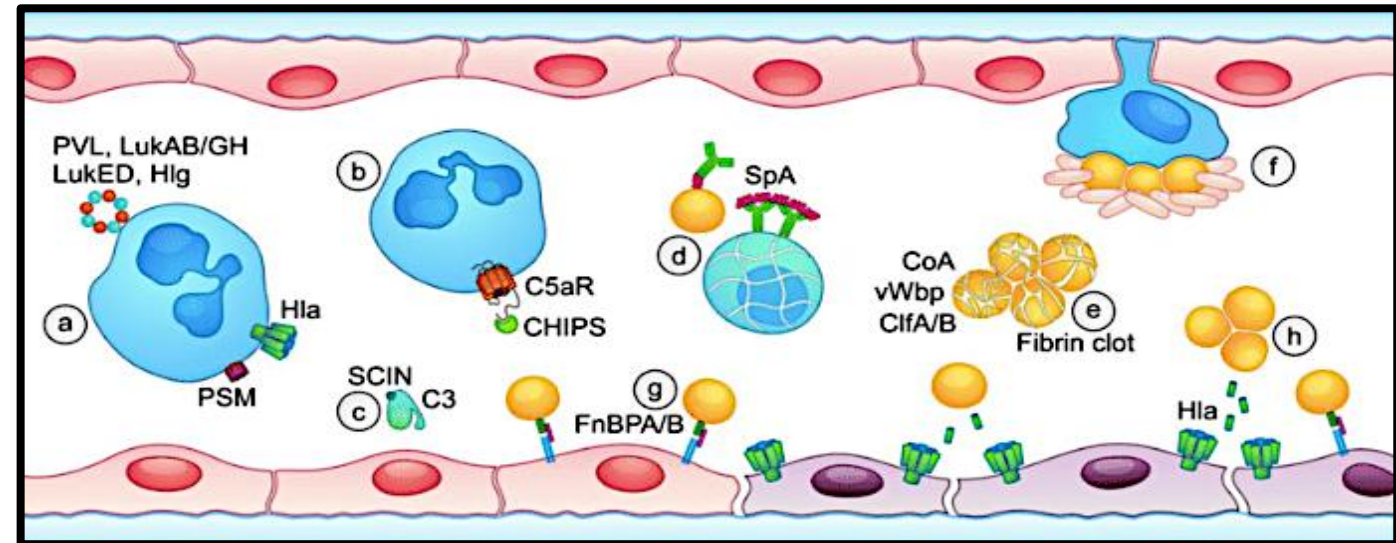
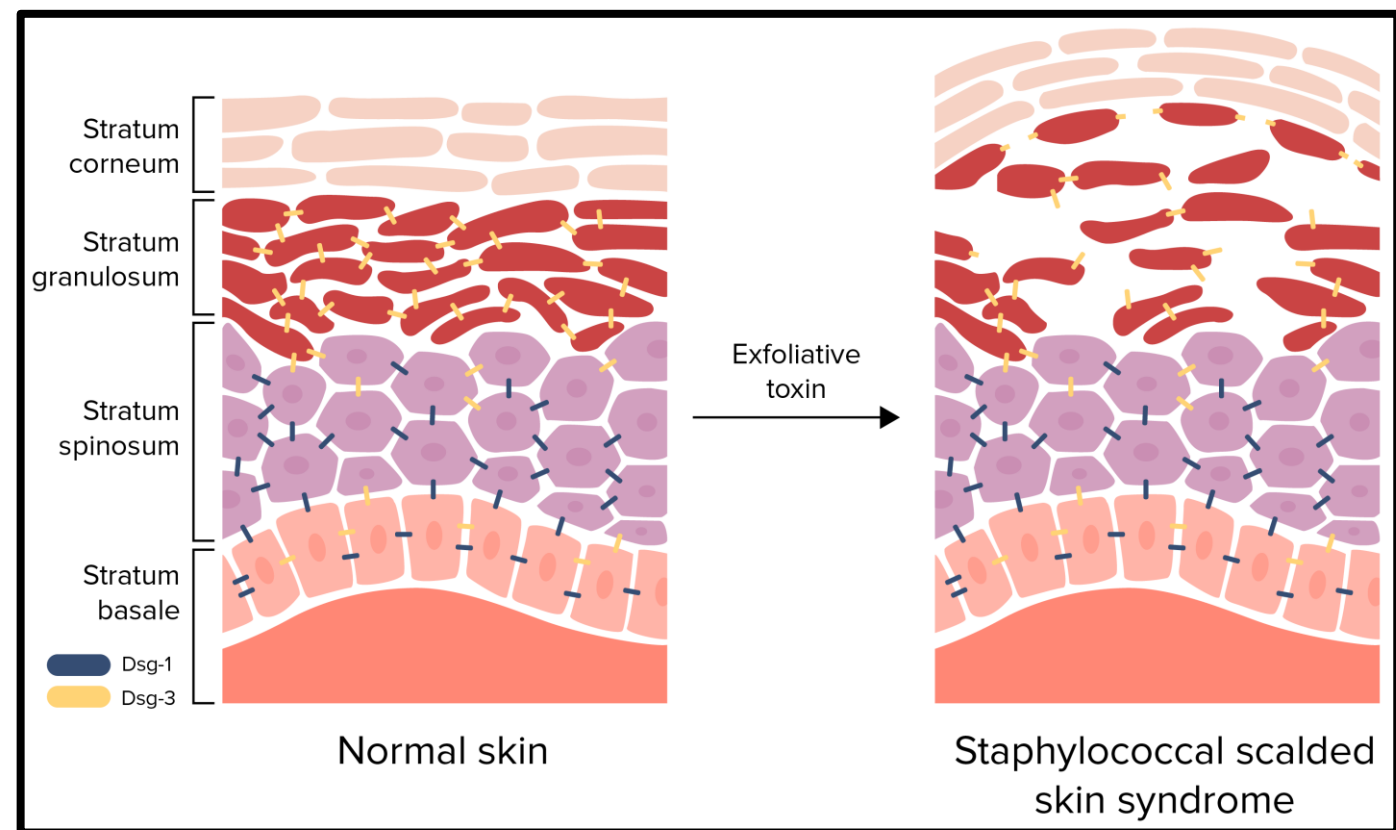
-Toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1): estimula la liberación masiva de IL-1, IL-2, TNF-alfa y otras citocinas. Activación hasta el 20% de la población T

-Proteínas secretadas que interfieren en receptores de leucocitos



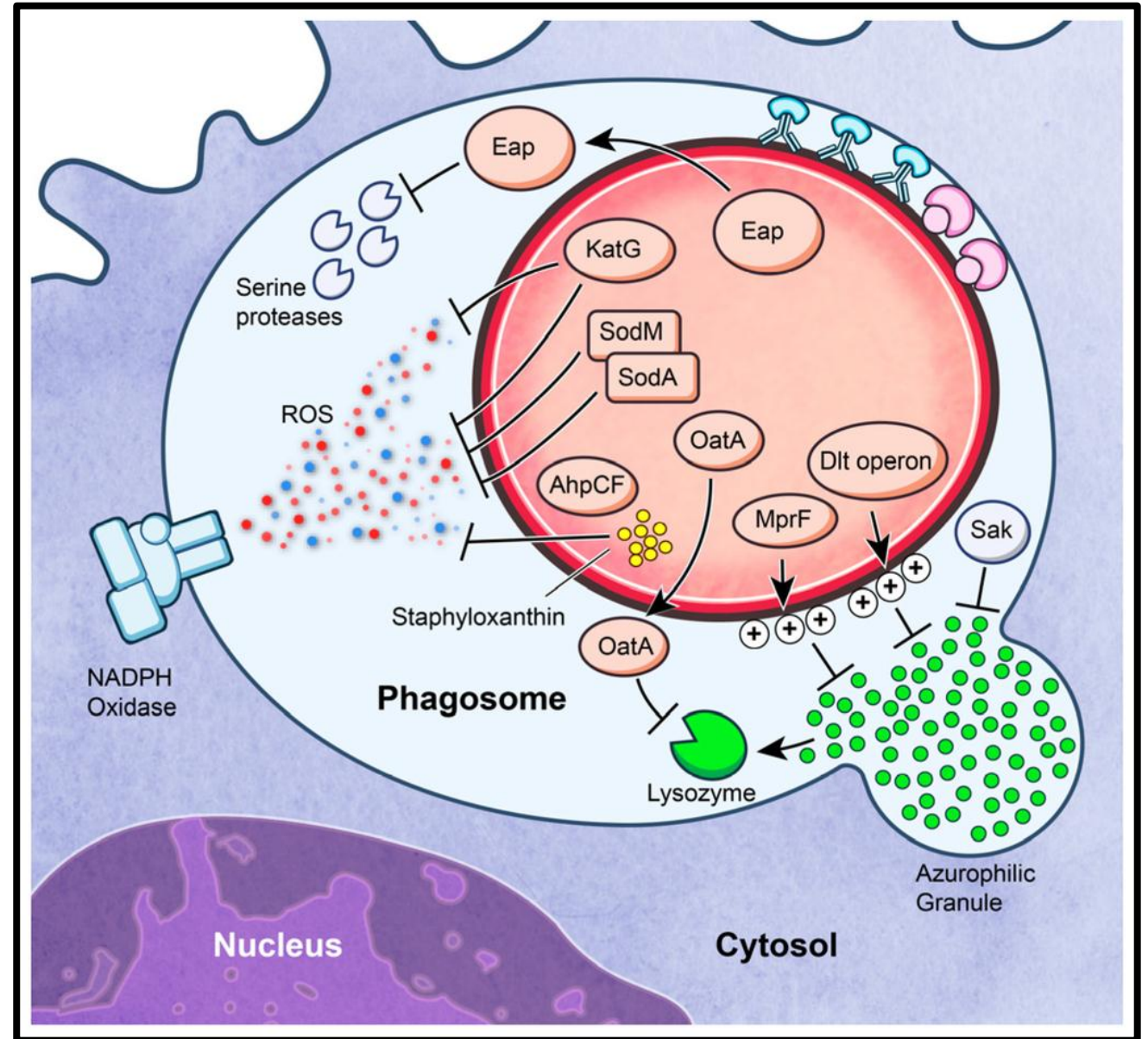
Daño por enzimas

- ✓ **Proteasas** inespecíficas y específicas (aureolisina, glutamil endopeptidasa, cisteína proteasa)
- ✓ Toxinas exfoliativas: escisión de cadherinas desmosómicas
- ✓ **Estafiloquinasa**: activación de plasmina, inhibición de factor C3b
- ✓ **Coagulasas**: estafilocoagulasa y factor de von Willebrand
- ✓ Toxina Beta: esfingomielinasa



Inhibición de la función de los neutrófilos

- Toxinas y proteínas moduladoras
- Alteración en activación, quimiotaxis y adhesión
- Alteración fagocitosis
- Evasión de la lisis



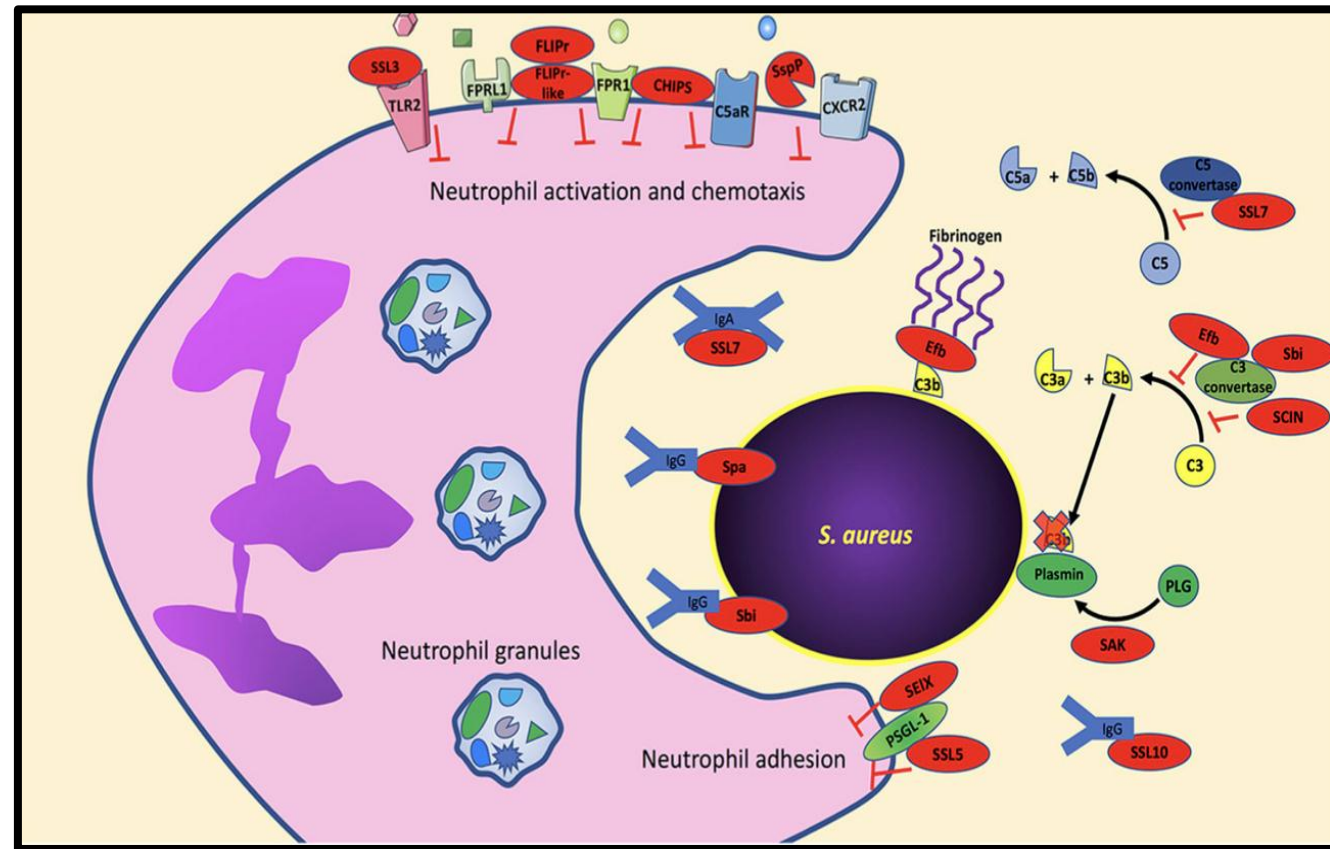
Inhibición de la función de los neutrófilos

Alteración activación, quimiotaxis y adhesión

- ✓ CHIPS: proteína inhibidora de la quimiotaxis de *S. aureus*. Unión al C5aR.
- ✓ FLIPR y FLIPR like: inhibe activación y movilización de neutrófilos.
- ✓ Estafilopanina A: evita reclutamiento de neutrófilos.
- ✓ SEIX y SSL

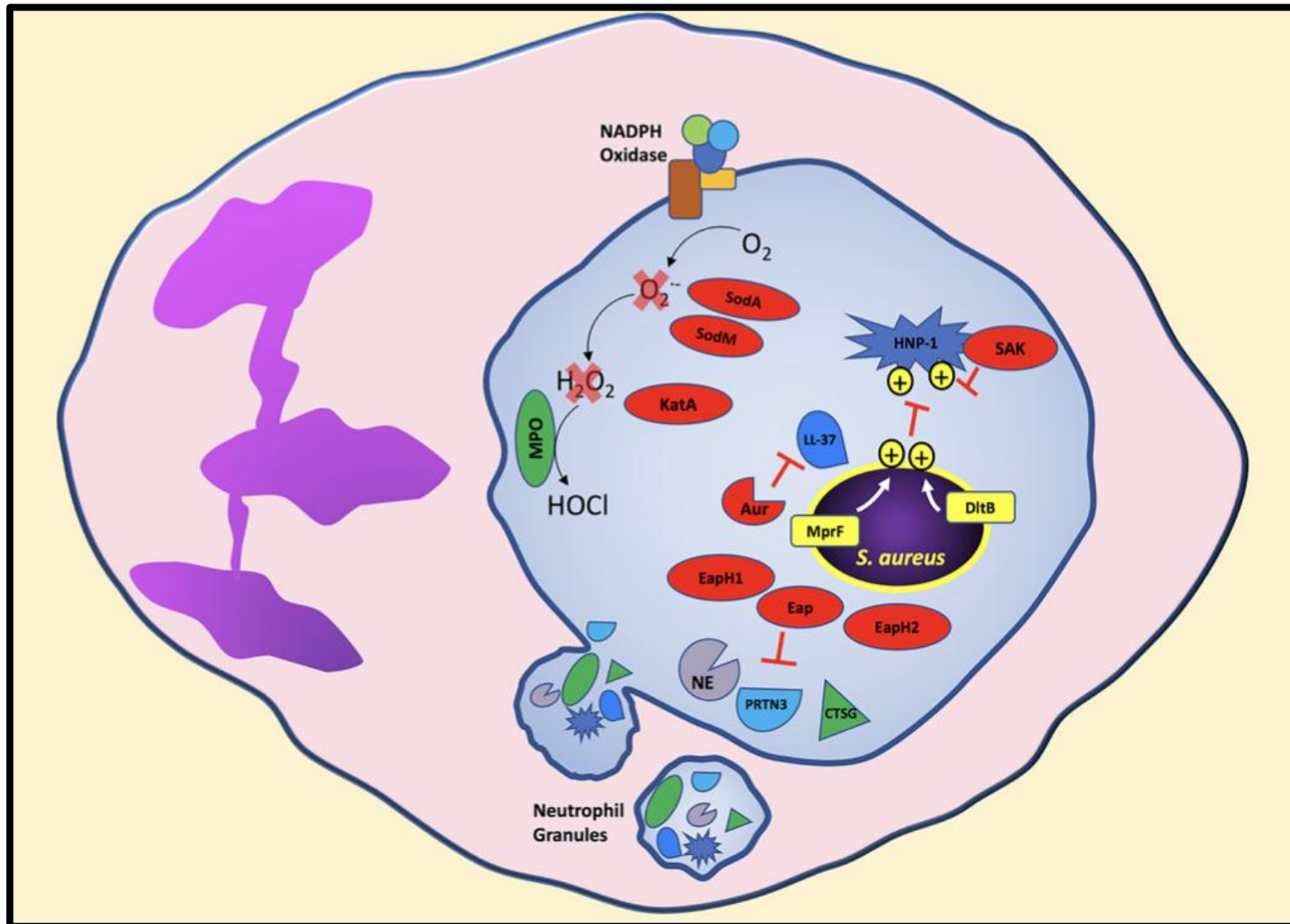
Alteración de la fagocitosis

- ✓ Cápsula bacteriana
- ✓ Inhibición de la opsonización por Complemento
- ✓ Inhibición del reconocimiento de Ig:
 - Proteína A
 - Sbi



Inhibición de la función de los neutrófilos

Evasión de la lisis por neutrófilos



➤ Lisis no oxidativa: rol del ácido teicoico

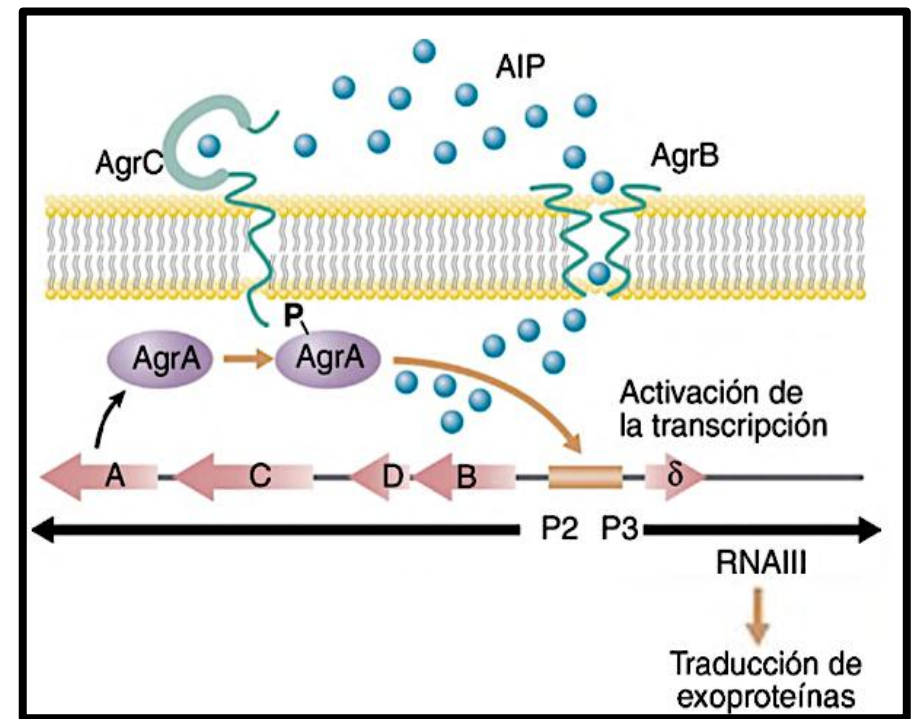
➤ Lisis oxidativa: superóxido dismutasas y catalasa. Resistencia a la muerte por peróxido de hidrógeno



Regulación

✓ agr (*accessory gene regulator*)

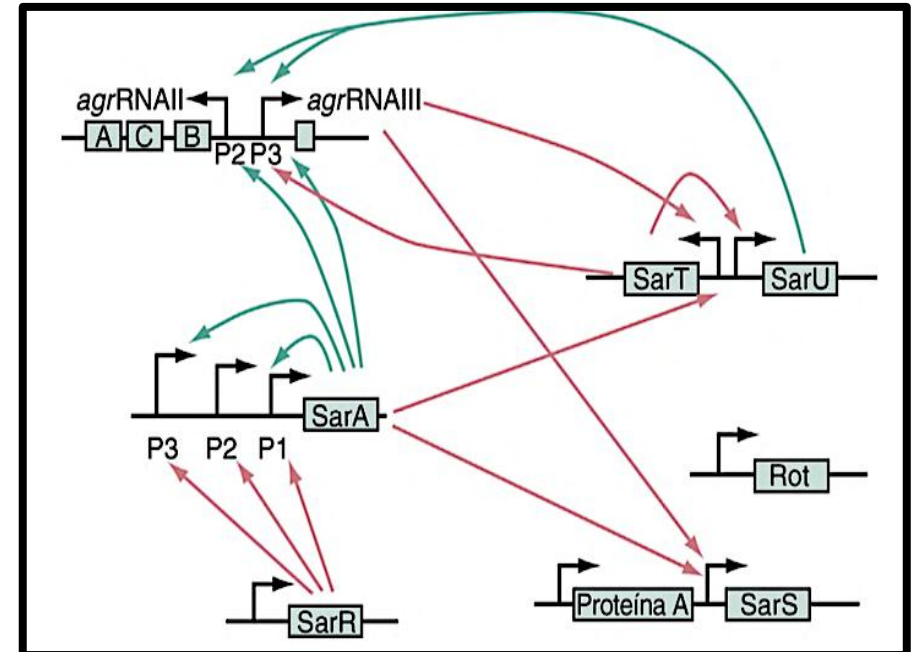
- Mecanismo de detección del quórum
- Facilita expresión de adhesinas durante fase exponencial y modifcina expresión de exoproteínas durante fase estacionaria



✓ Proteínas de unión al ADN

- Sar A

✓ ARN pequeños



Resistencia antibiótica

- ✓ Desarrollo de resistencia a casi la totalidad de antibióticos conocidos (principalmente inhibidores de pared e inhibidores ribosómicos)
- ✓ *S. aureus* meticilina sensible (SAMS)
- ✓ *S. aureus* meticilina resistente (SAMR):
 - Aumento de la prevalencia a partir de la década del '60
 - Principalmente en el medio intra-hospitalario
 - Aumento de casos en la comunidad en la última década (diferente al hospitalario)
 - Resistencia intrínseca a partir del gen *mecA* que codifica a la proteína PBP2A
 - Tratamiento de referencia con vancomicina (glucopéptido)
- ✓ *S. aureus* resistente a vancomicina (SARPV):
 - Resistencia a partir de trasposones. Fenotipo VanA



Patogenia

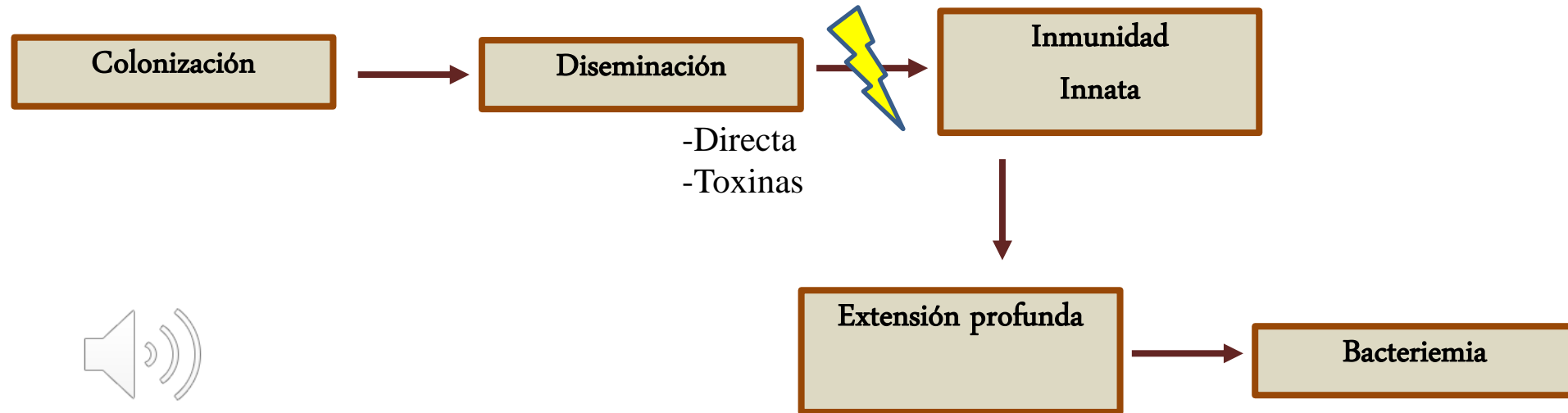
- **Distribución:**

1) piel y partes blandas, 2) vía respiratoria inferior, 3) bacteriemia y endocarditis

- Infecciones nosocomiales
- Factores de riesgo: edad, hemodiálisis, diabetes, cáncer activo
- Portador nasal crónico

- **Portador:**

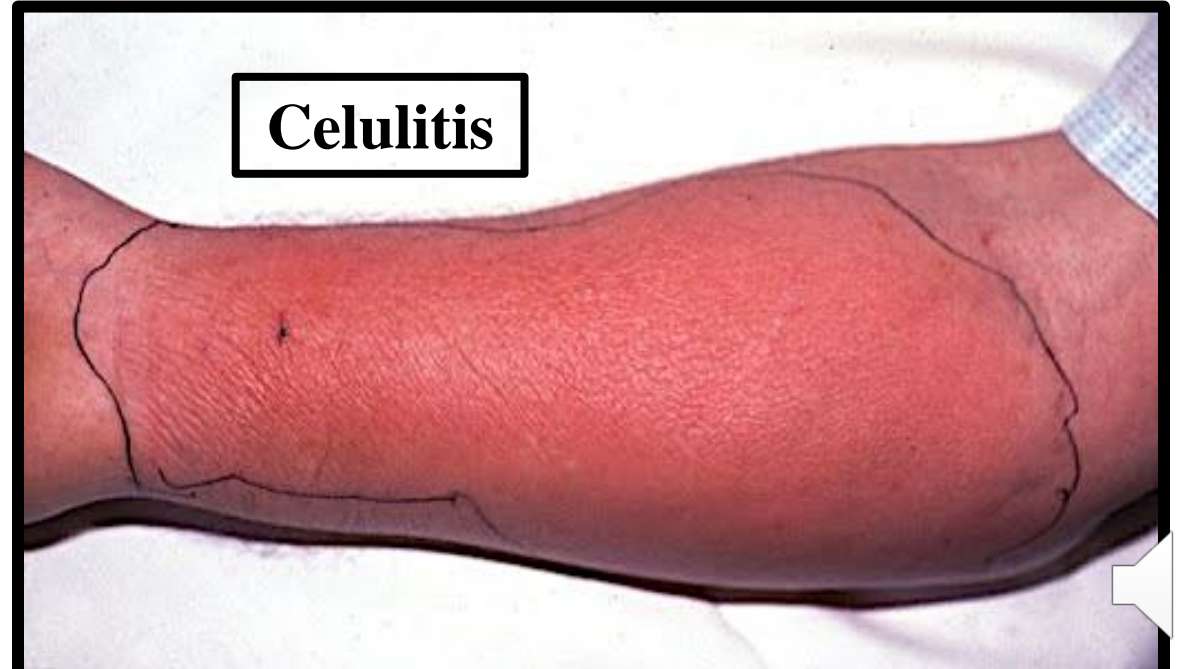
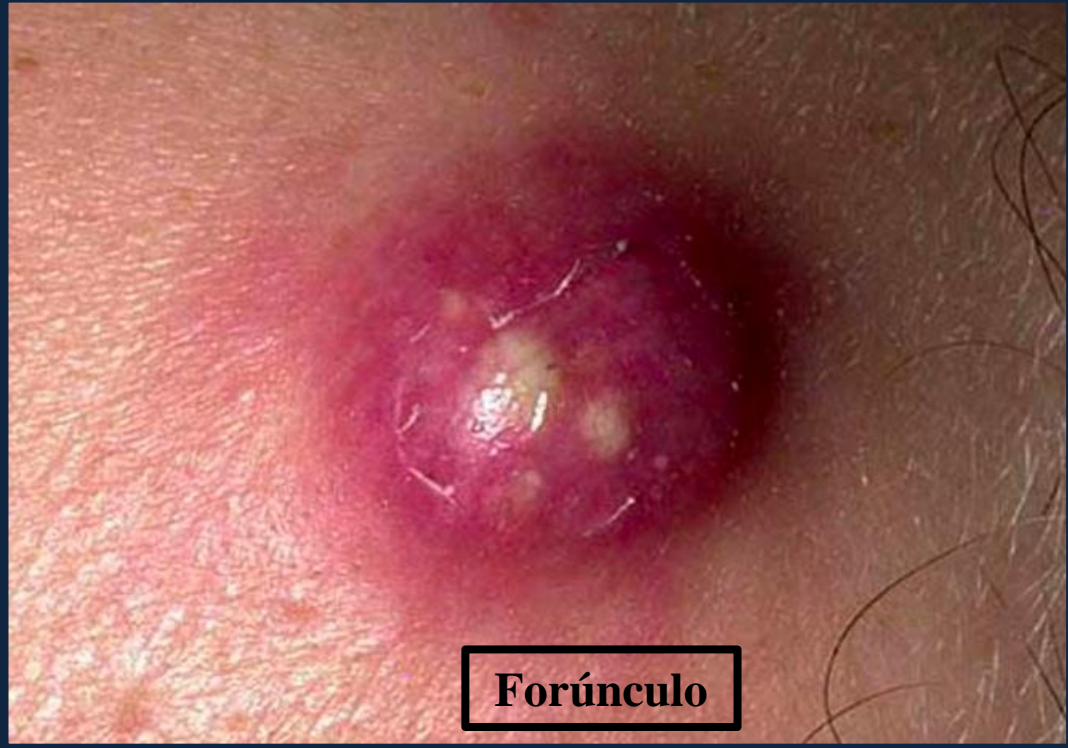
1) persistente, 2) intermitentes y 3) no portadores



Infecciones de piel y partes blandas

- **Pioderma primario:**
 - ✓ Epidermis → Impétigo
 - ✓ Dermis superficial → Foliculitis
 - ✓ Dermis profunda → Forúnculo
- **Tejido celular subcutáneo** → erisipela, celulitis y fascitis

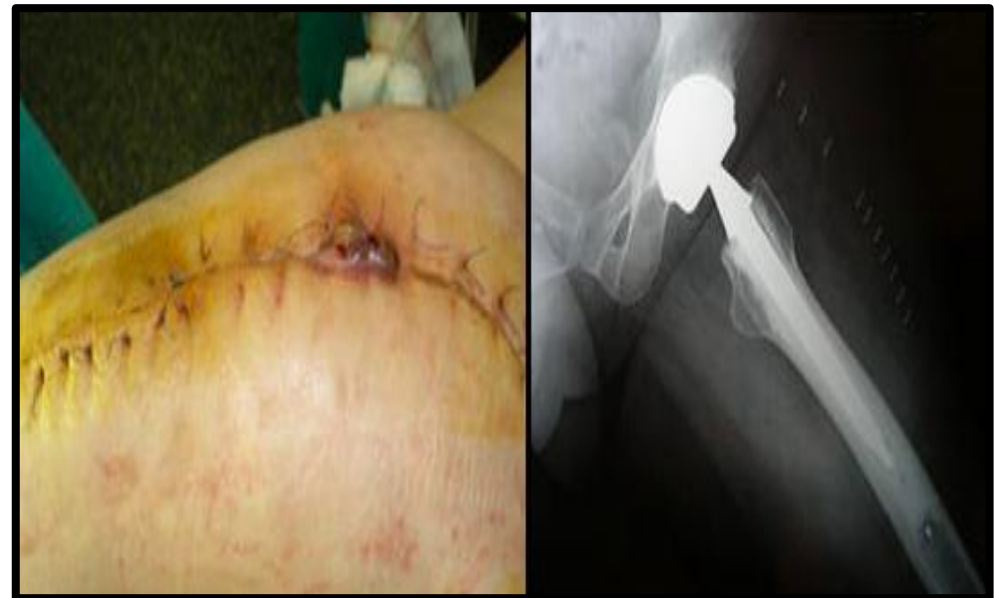
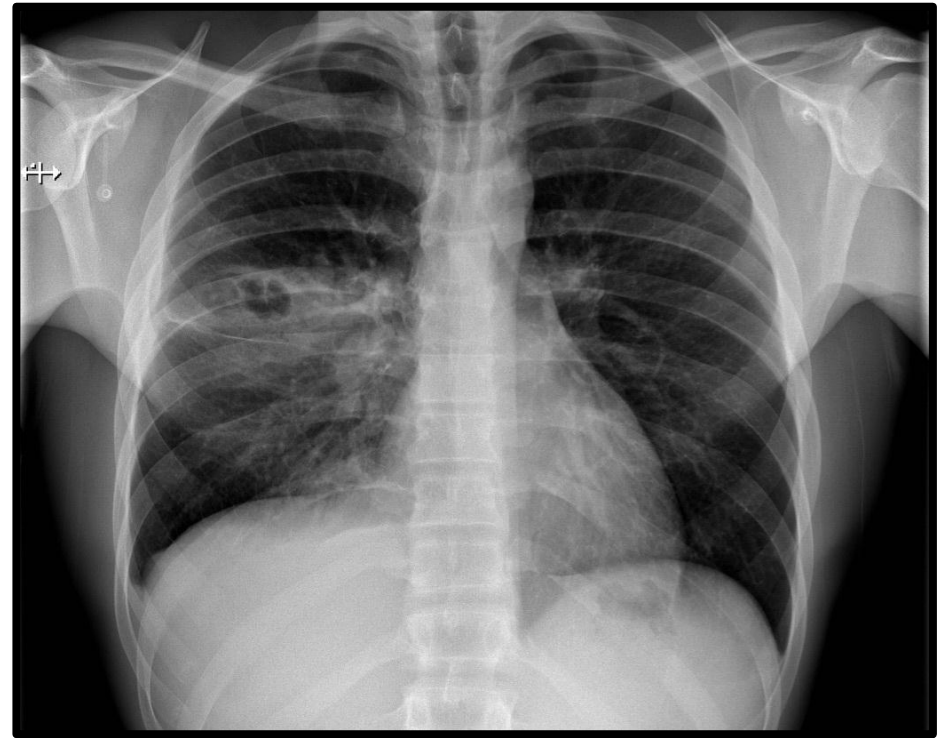




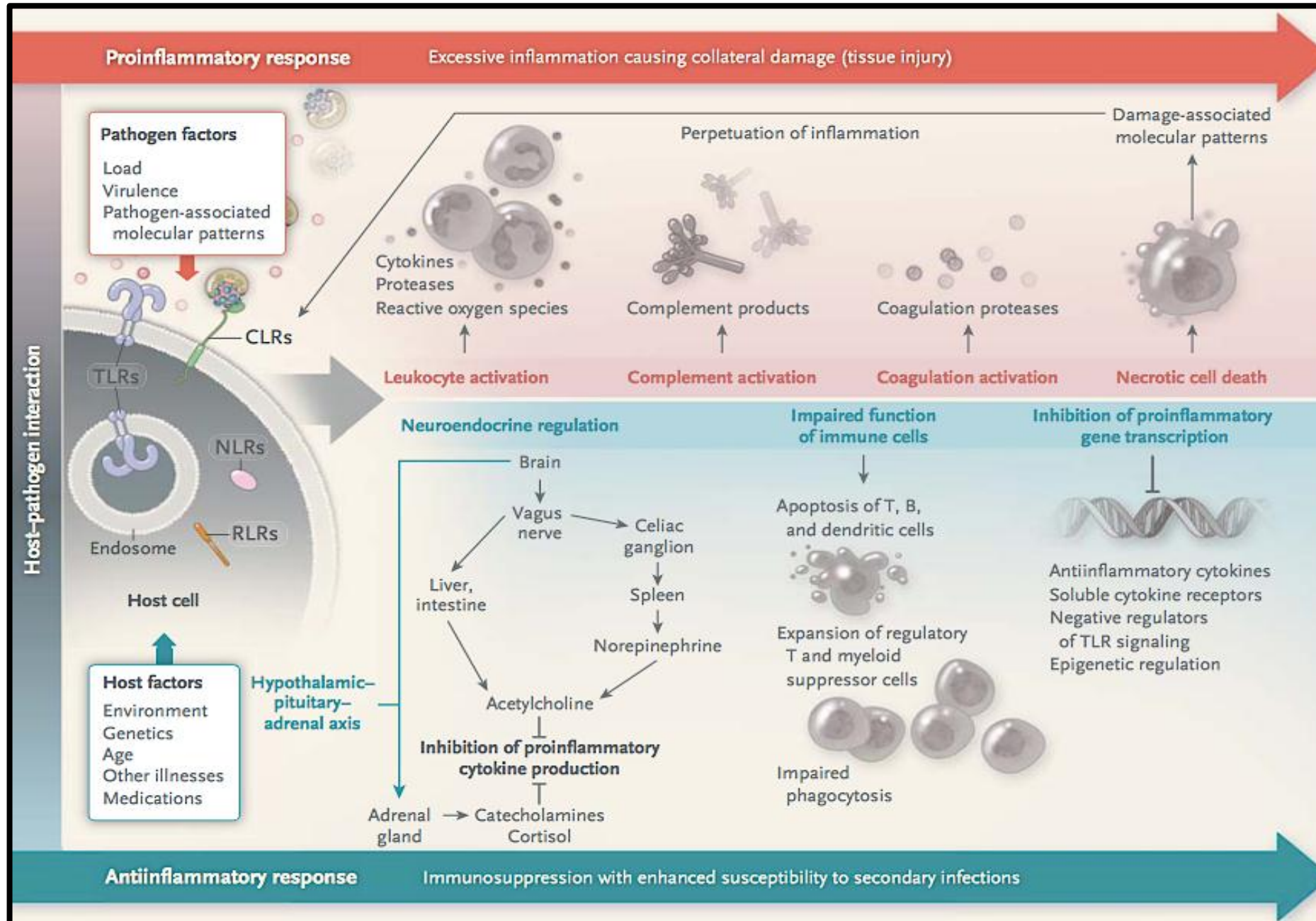
✓ **Neumonía**

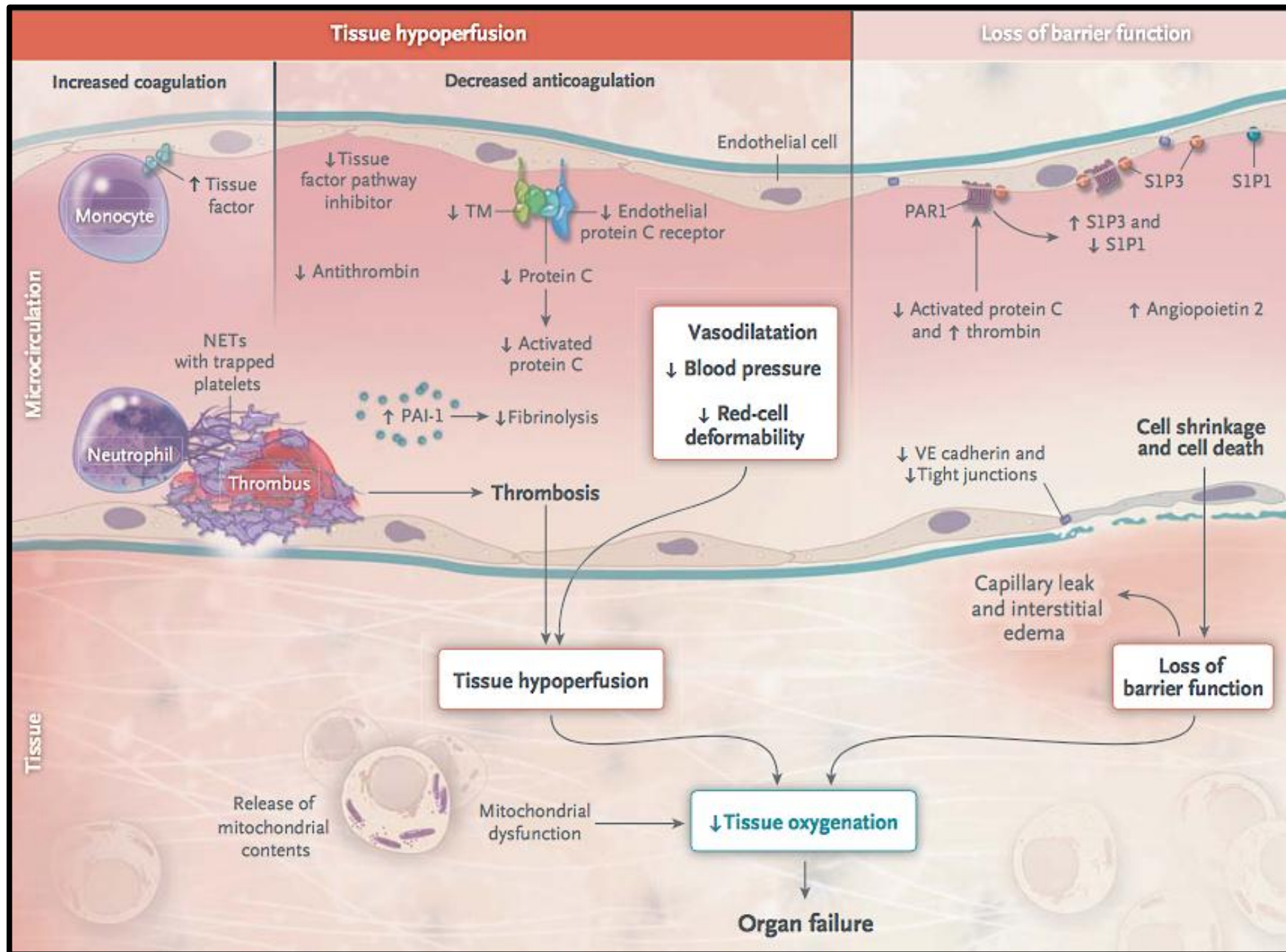
✓ **Osteomielitis**

✓ **Infección protésica**

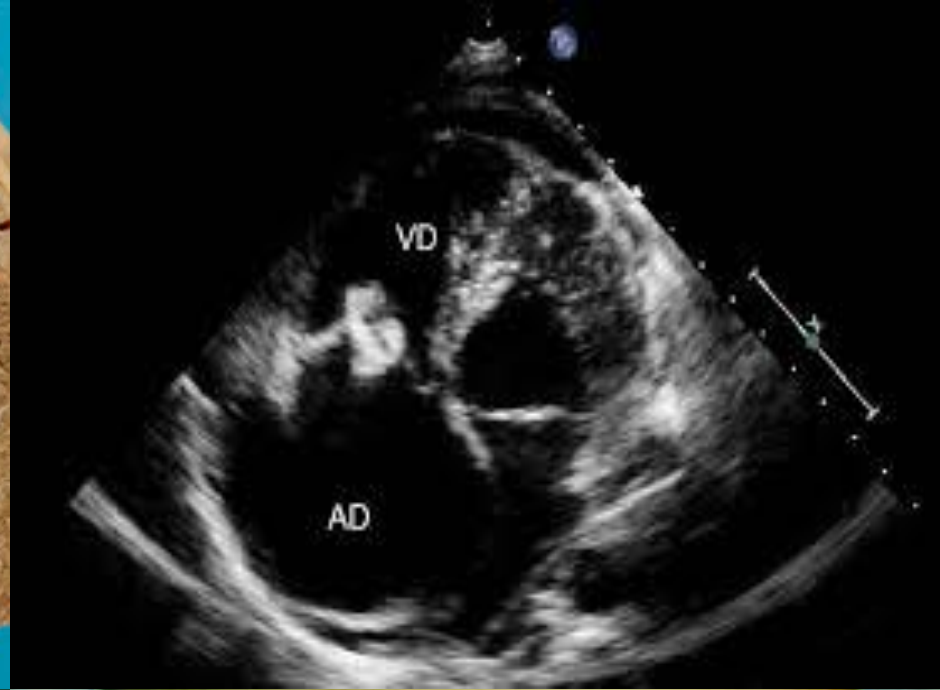


Bacteremia y sepsis





Endocarditis infecciosa

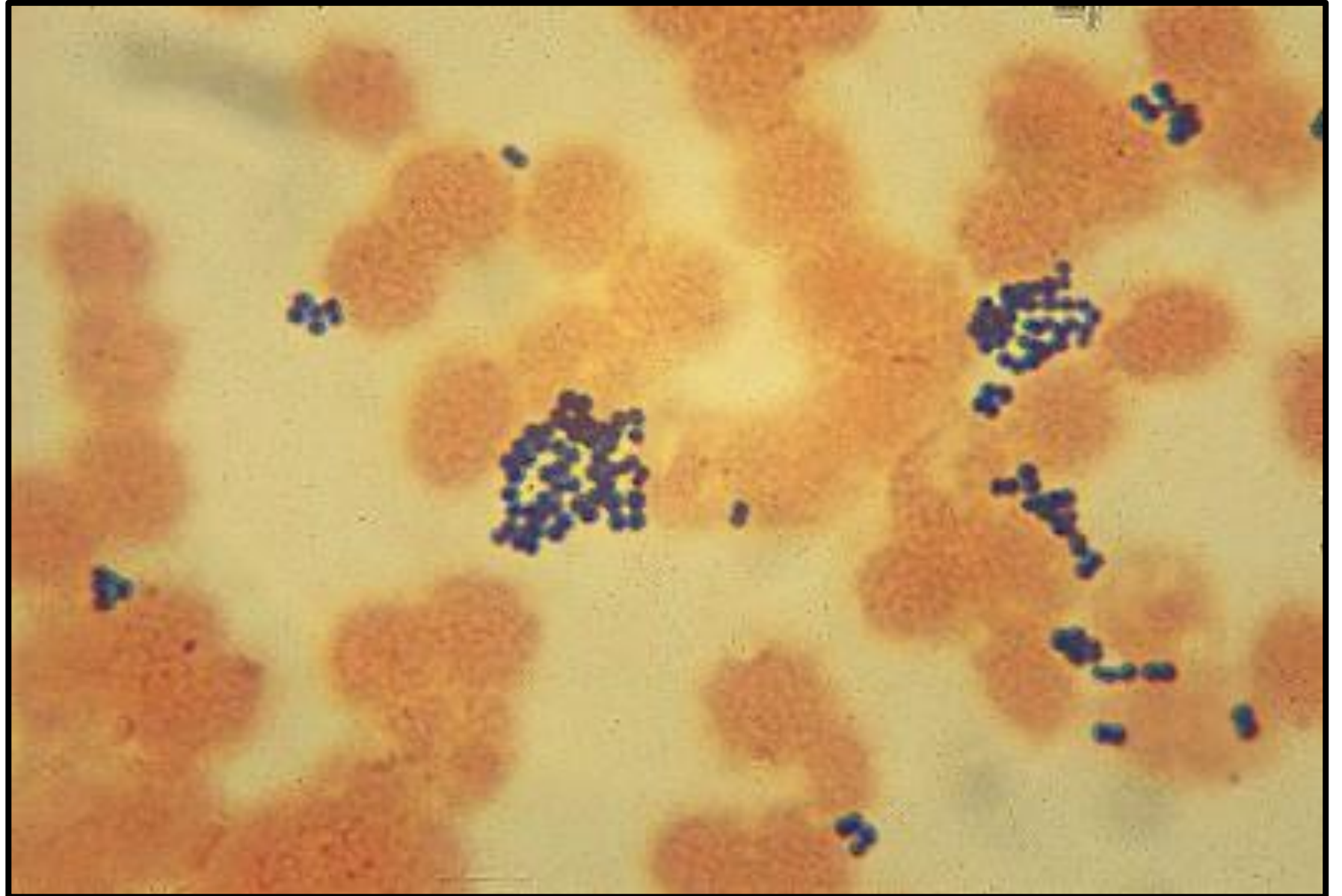


Diagnóstico de laboratorio

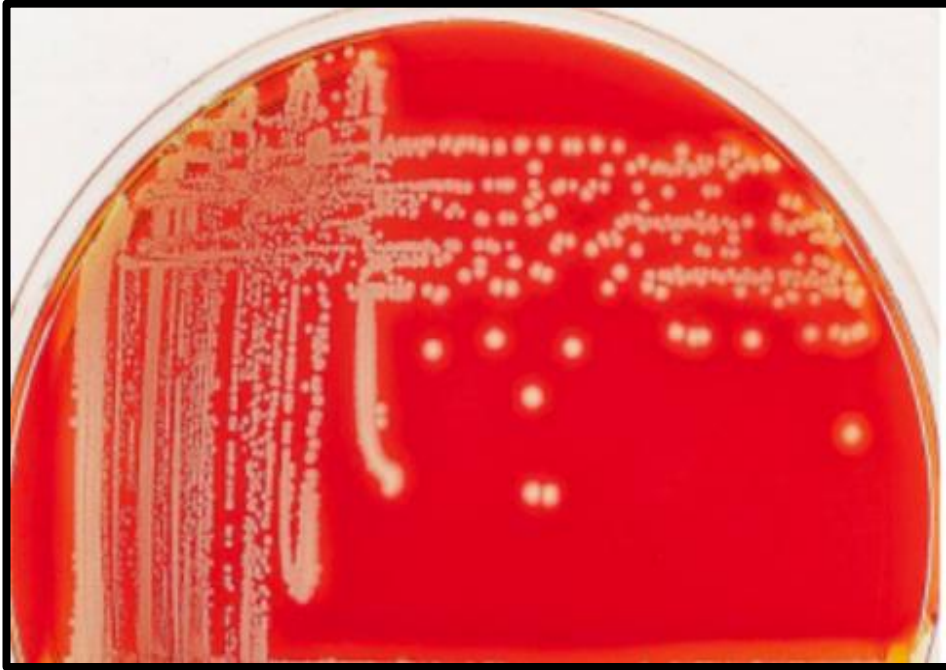
- Toma de muestra → lesiones, anatomía patológica, hemocultivos
- Cultivo, bacterioscopía, caracterización bioquímica, antibiograma.



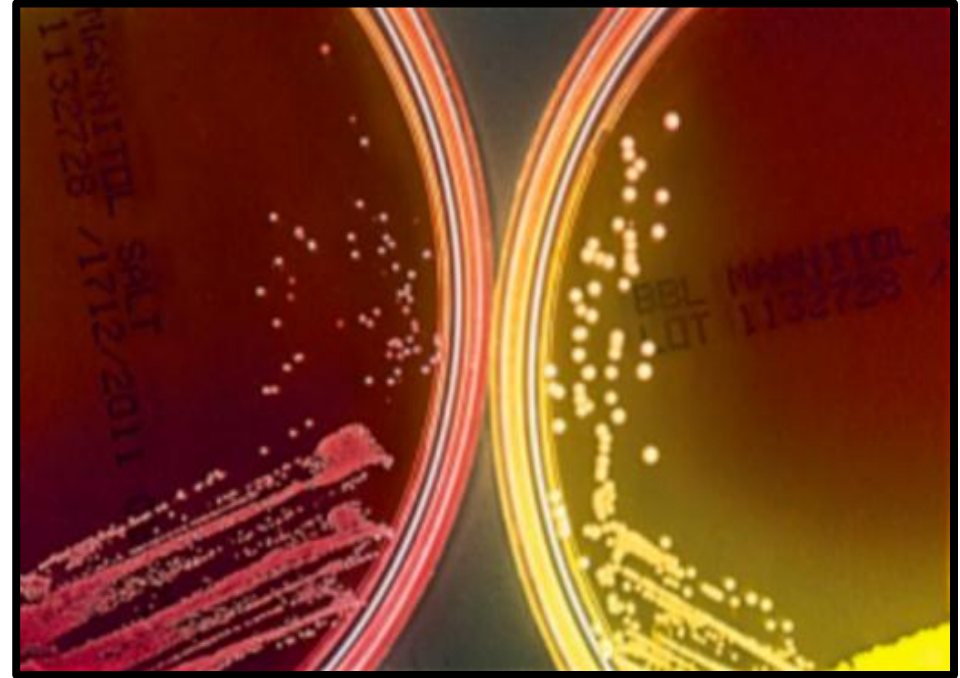
Microscopía óptica



Cultivos y caracterización

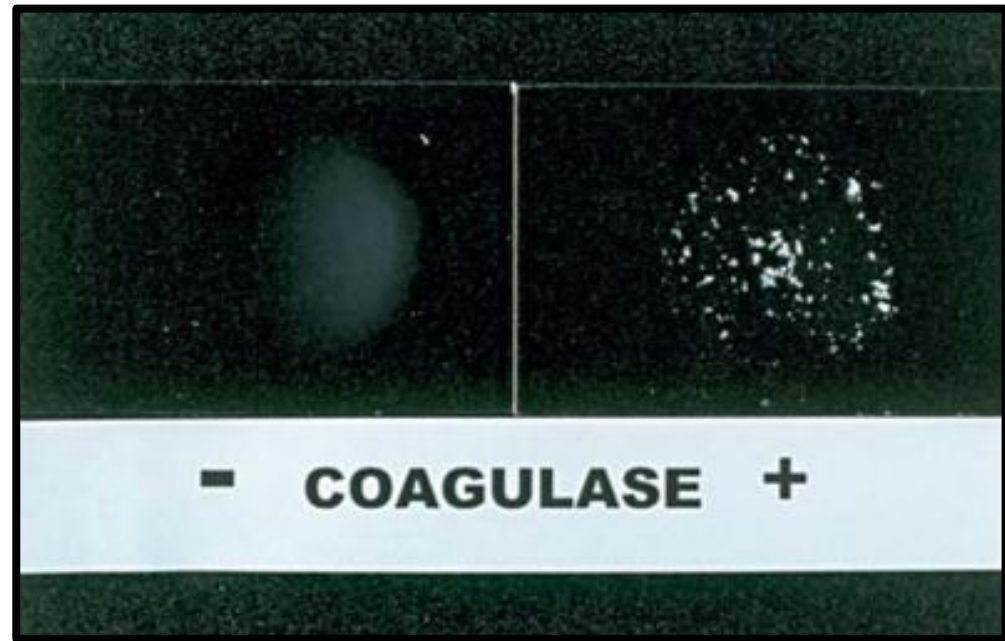


Agar sangre

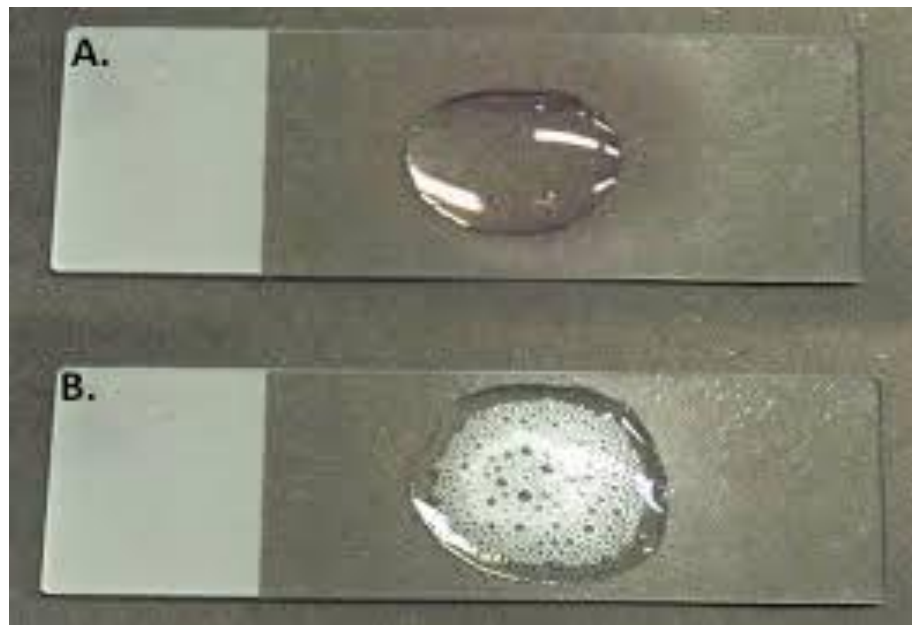


Agar manitol





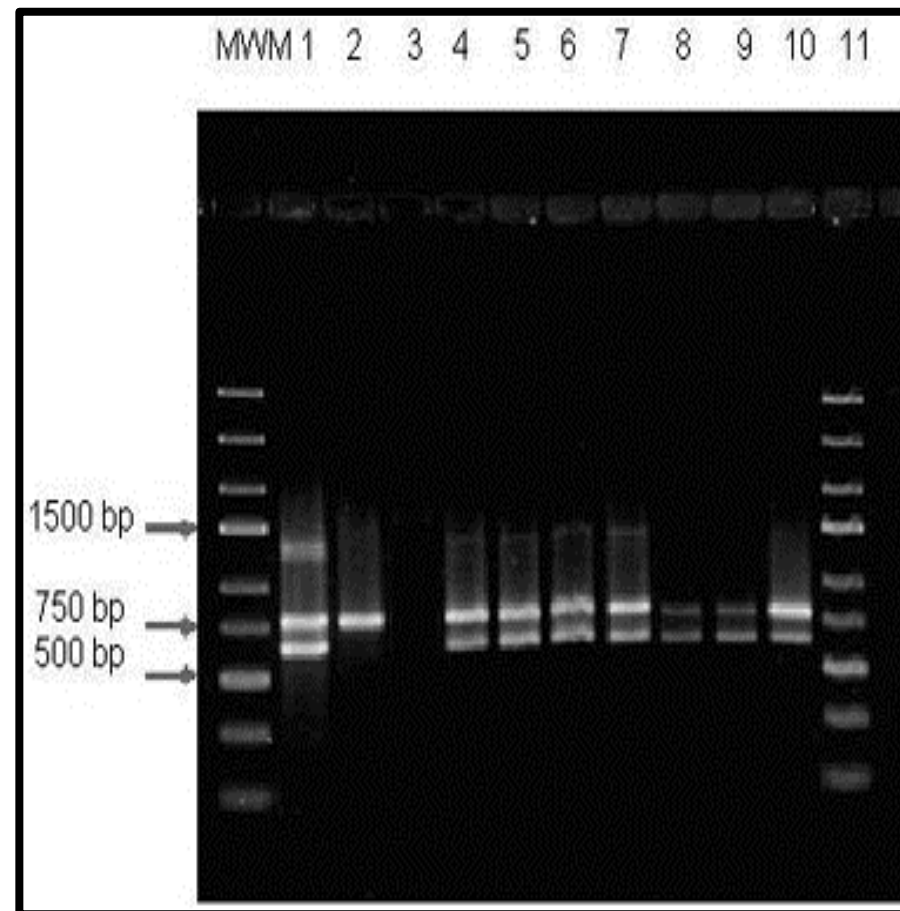
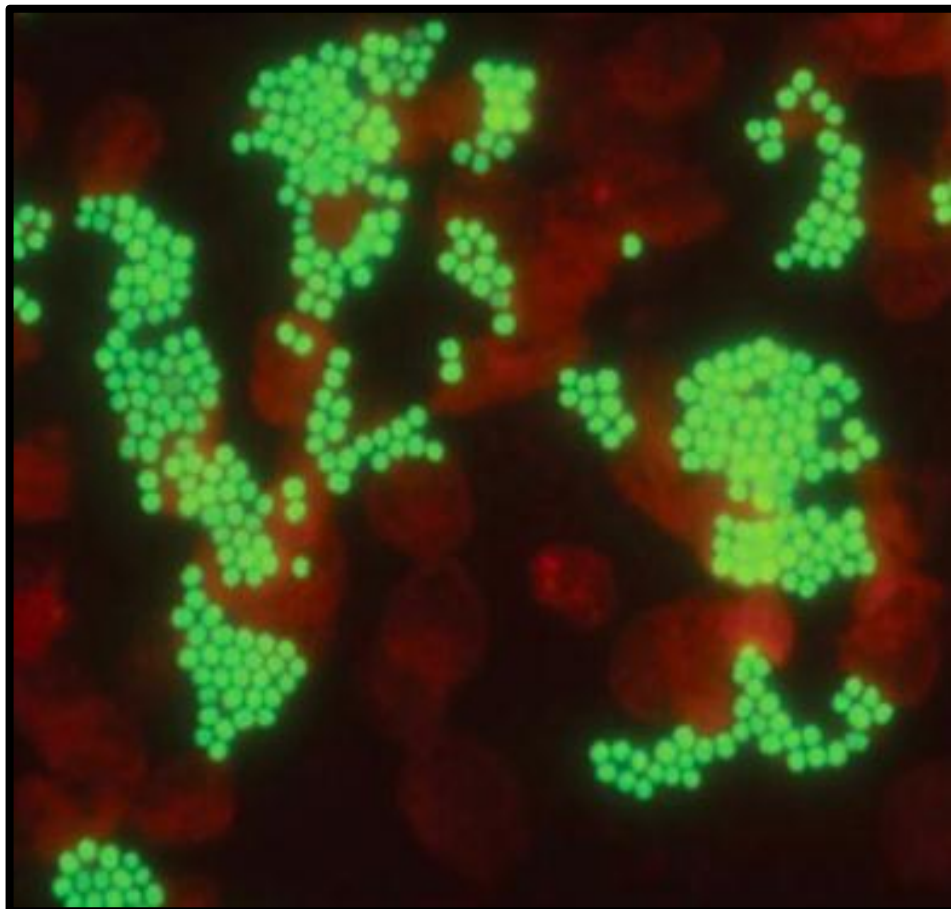
Test de coagulasa



Test de catalasa



Biología molecular

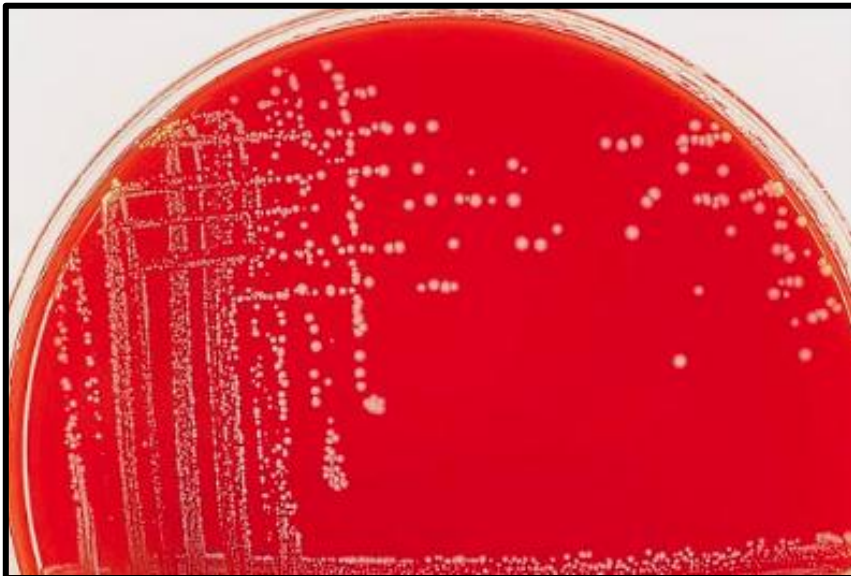


Pruebas de susceptibilidad

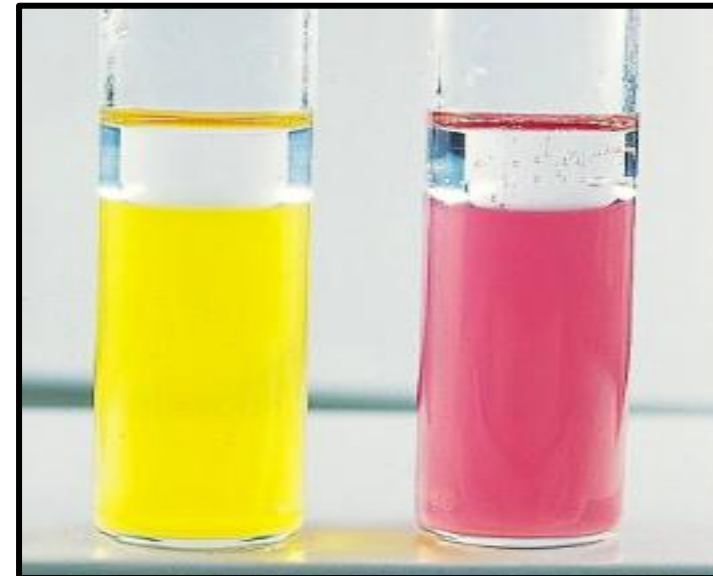


Staphylococcus coagulasa negativos

- Especies más frecuentes: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis* y *S. haemolyticus*
- Micro-flora normal de piel y mucosas. Diferencias en distribución anatómica (Ej *S. capitis* en cuero cabelludo, o *S. saprophyticus* en tubo digestivo)
- **Factores de patogenicidad:**
 - ✓ Bio-films → adherencia, maduración (sistema PIA) y dispersión
 - ✓ Ácido poli-gamma-DL-glutámico (PGA)
 - ✓ Sistema Aps
 - ✓ Péptidos antimicrobianos



S. epidermidis



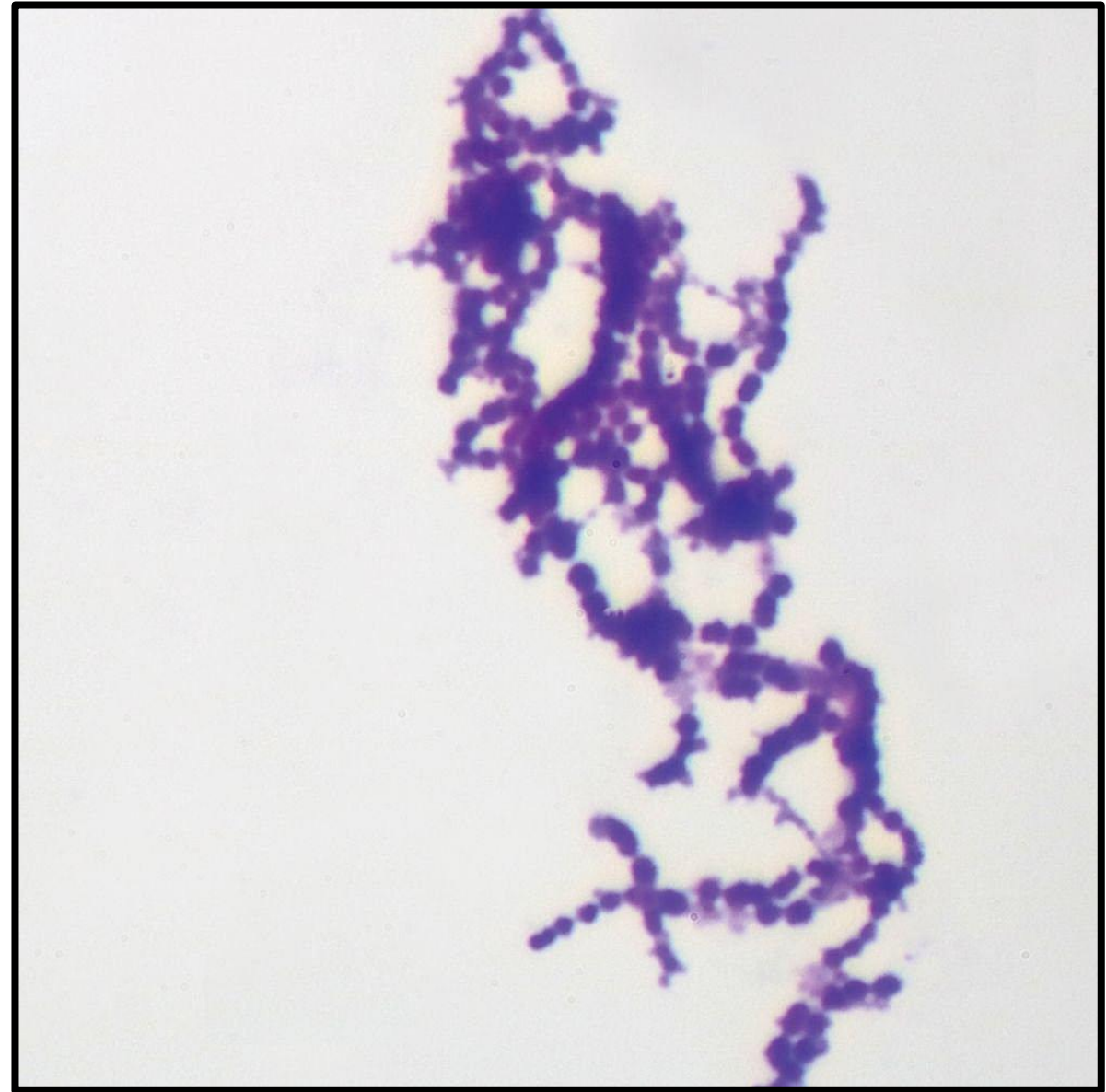
S. lugdunensis



Streptococcus spp.

Características microbiológicas

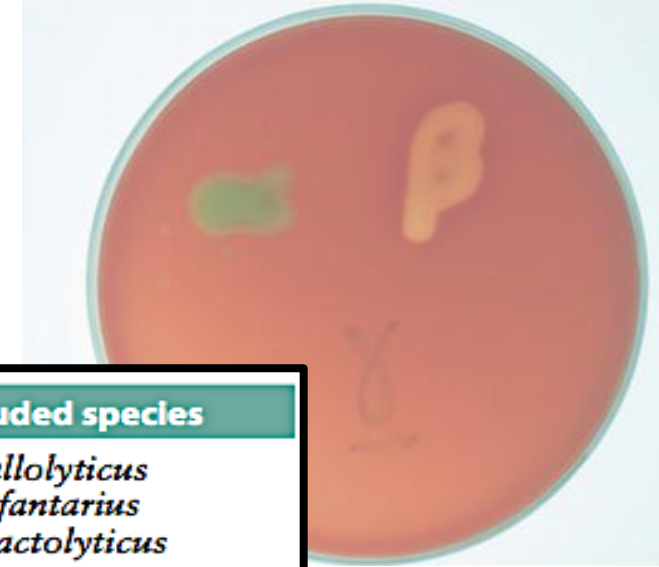
- ✓ Cocos con coloración Gram positiva (+) dispuestos en cadena / pareja
- ✓ Catalasa negativos
- ✓ Estrictos desde el punto nutricional
- ✓ Anaerobios facultativos
- ✓ Flora normal y patógenos primarios



Taxonomía

SPECIES	LANCEFIELD ANTIGEN(S)	HEMOLYTIC REACTION(S)
<i>S. pyogenes</i>	A	β
<i>S. agalactiae</i>	B	β, γ
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	C, G ⁺	β
<i>S. pneumoniae</i> and the <i>S. mitis</i> spp. group	Not detected or not useful for differentiation	α
<i>S. anginosus</i> spp. group	A, C, F, G, or no detectable antigen	α, β, γ
<i>S. bovis</i> spp. group	D	α, γ
<i>S. mutans</i> spp. group	Not useful for differentiation	α, γ , occasionally β

Group	Included species
Bovis	<i>S. gallolyticus</i> <i>S. infantarius</i> <i>S. alactolyticus</i>
Mitis	<i>S. mitis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. pseudopneumoniae</i> <i>S. cristatus</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. oralis</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. sanguinis</i>
Anginosus (milleri)	<i>S. anginosus</i> <i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i>
Mutans	<i>S. mutans</i> <i>S. criceti</i> <i>S. downei</i> <i>S. ratti</i> <i>S. sobrinus</i>
Salivarius	<i>S. salivarius</i> <i>S. vestibularis</i>



Streptococcus pyogenes

- Estreptococos del grupo A, dispuestos en cadenas cortas
- Catalasa negativos
- Hemólisis completa (β -hemólisis)
- Constituyentes somáticos y productos extracelulares



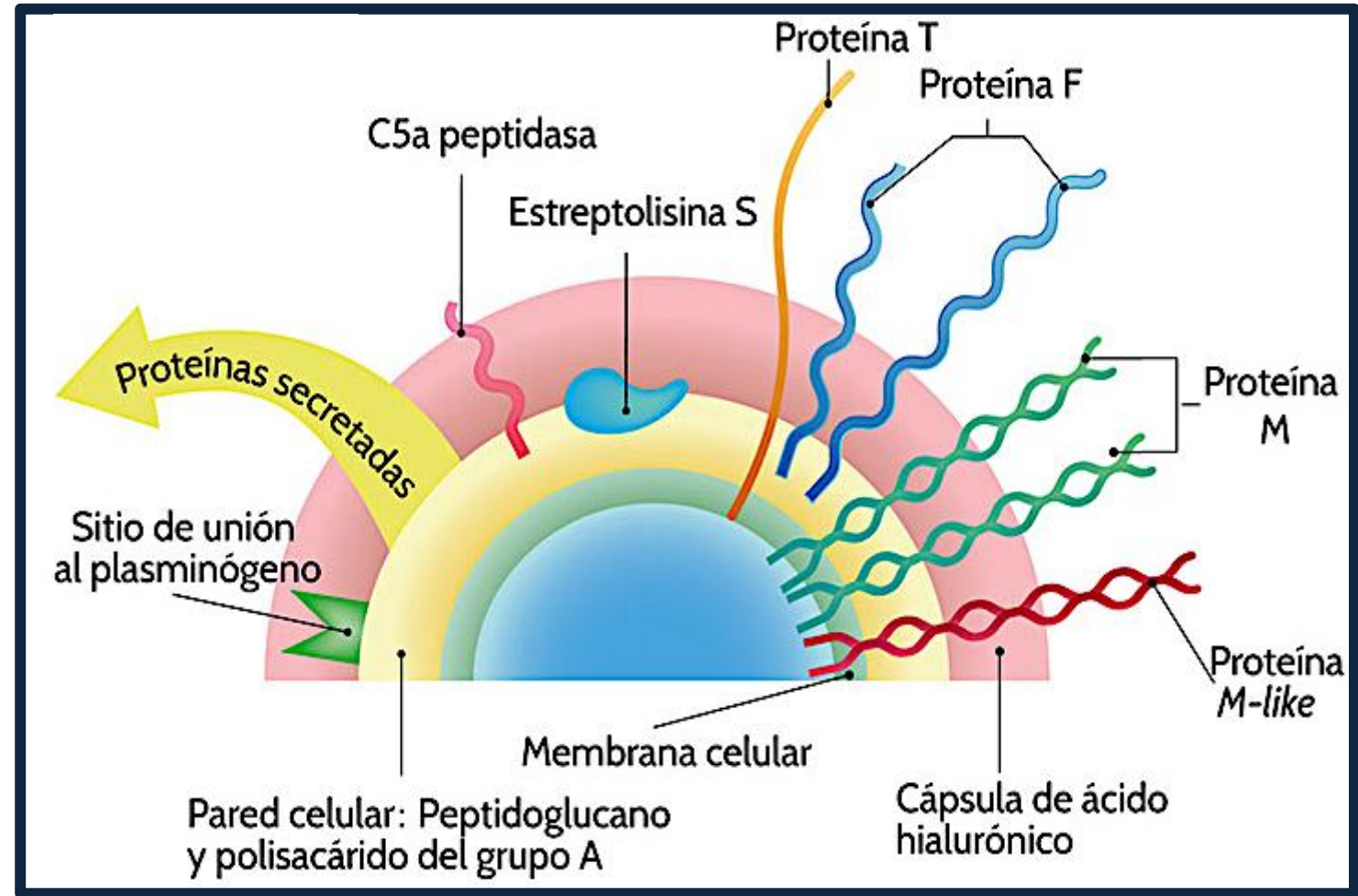
Adherencia



➤ Mucosa nasofaríngea y piel

➤ Constituyentes somáticos:

- ✓ Ácido Lipoteicoico (LTA): adherencia inicial
- ✓ Pilis y adhesina Cpa
- ✓ Proteína M : adhesión a epitelios y matriz
- ✓ Proteínas de unión a la fibronectina (PrtF1, SfbI)
- ✓ Mayoría de adhesinas no presentes en serotipos



Productos extracelulares:



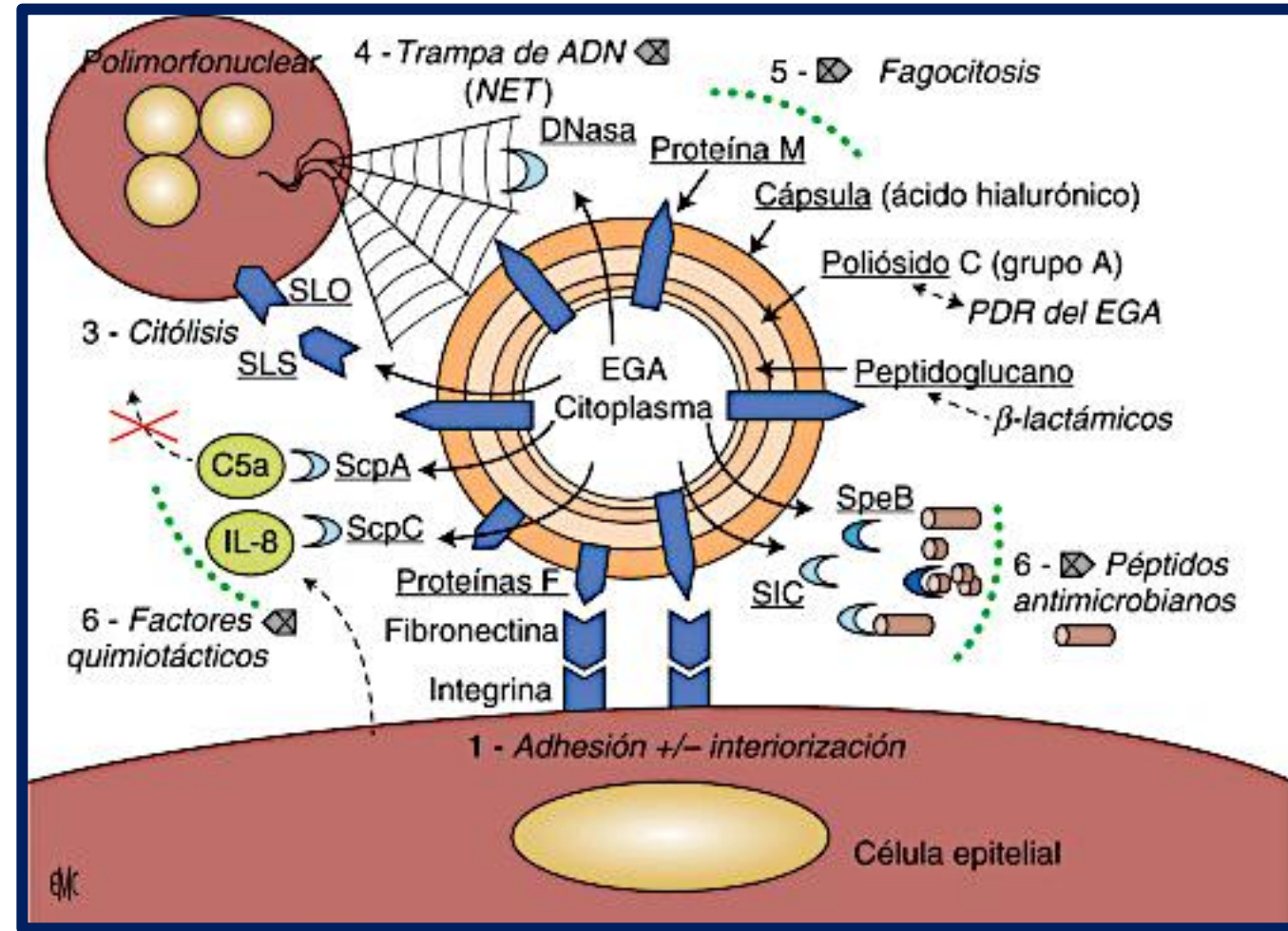
✓ Resistencia a la opsonofagocitosis

- Proteínas inhibidoras del complemento: C4bP y factor H
- Cápsula
- Inhibidor del complemento (SIC)
- Leucocidinas: SLO
- Proteínas de unión a Ig: MrP.
- Enzimas lisan Ig: IdeS

✓ Resistencia a los PAMPs: SpeB

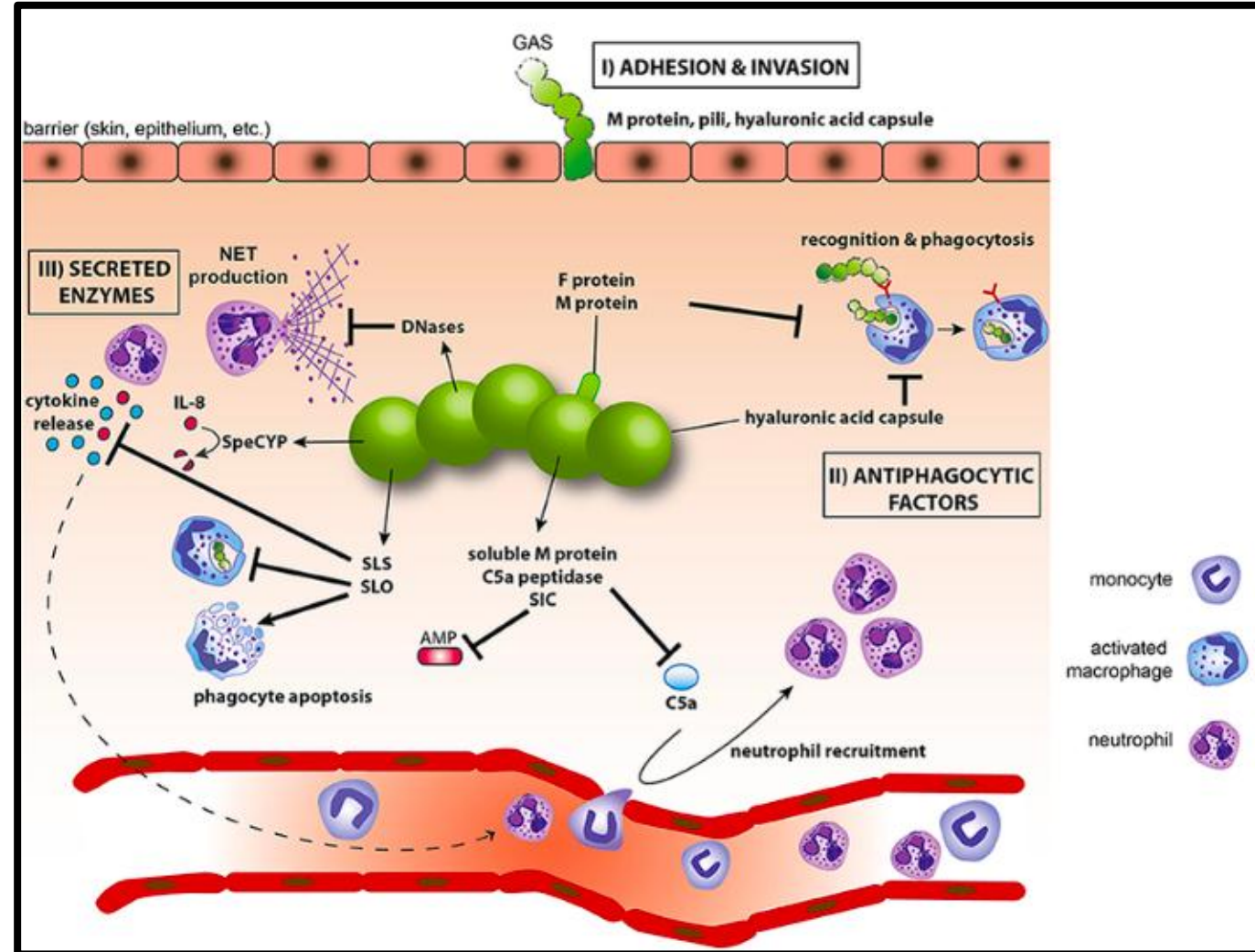
✓ Alteración de mecanismo de eliminación por neutrófilos

- Proteasa de la envoltura SpyCEP y ScpA
- Resistencia a las NET

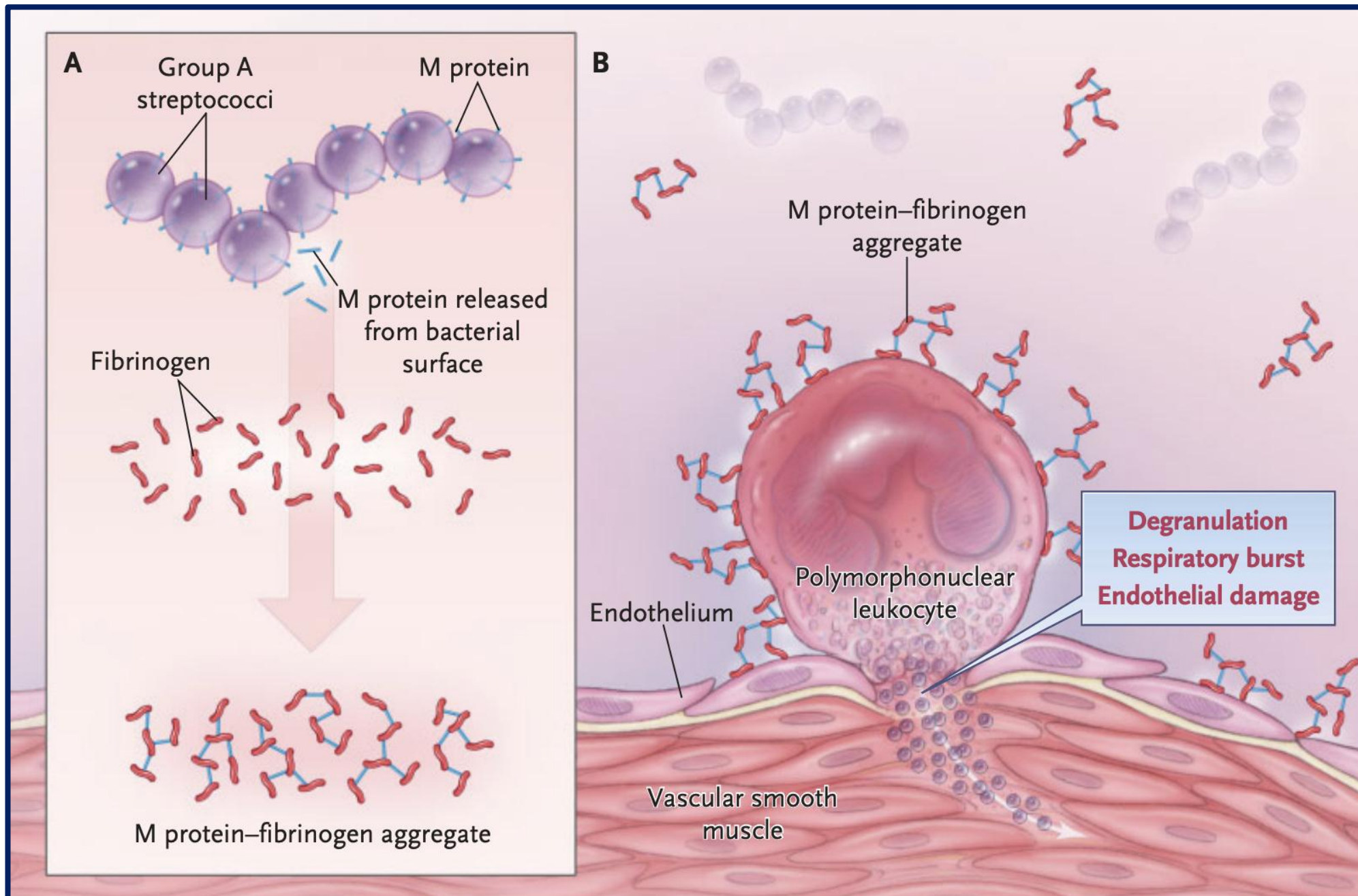


Productos extracelulares: daño

- **Hemolisinas:**
 - ✓ Streptolisina O
 - ✓ Streptolisina S
- **Enzimas** (vinculadas en daño a partes blandas)
 - ✓ ADNasa (A-D)
 - ✓ Hialuronidasas
 - ✓ Estreptocinasa
 - ✓ C5a peptidasa
- **Exotoxinas pirógenas estreptocócicas**
 - ✓ Exotoxina B pirógena estreptocócica (SpeB)
 - ✓ SpeA (vinculada con shock tóxico)
 - ✓ SpeC (vinculada con escarlatina)
 - ✓ Superantígeno estreptocócico (SSA)



Desregulación de la coagulación



Patogenia

Faringitis

- ✓ Cepa del grupo A de mayor frecuencia. En infancia.
- ✓ Transmisión: gotitas de saliva o secreciones nasales
- ✓ Colonización de orofaringe
- ✓ Odinofagia y fiebre
- ✓ Edema, hiperplasia linfoide, hiperemia y exudados parcheados



Escarlatina

- ✓ Cepas que presentan exotoxinas pirógenas
- ✓ Exantema en tronco y miembros y oclusión de glándulas sudoríparas
- ✓ Escarlatina séptica y tóxica



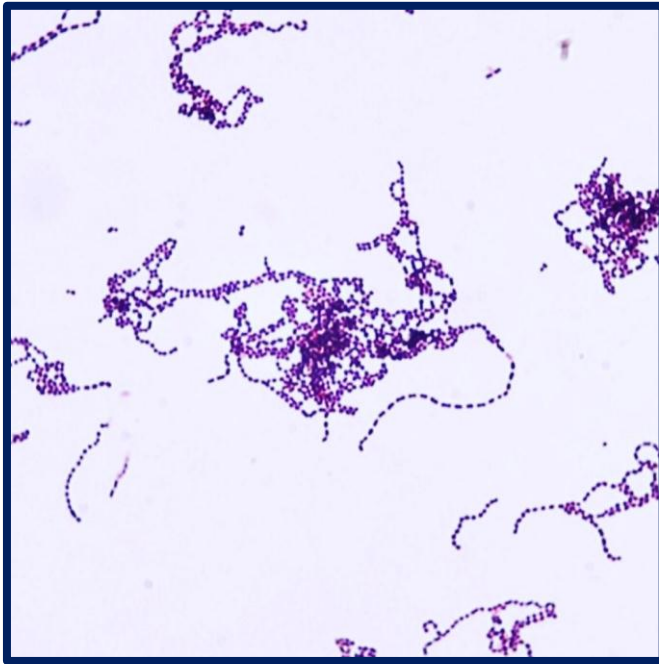
Infecciones tejidos blandos



Diagnóstico de laboratorio

- Toma de muestra
- Envío al laboratorio en medio de transporte, sin refrigerar.
- Cultivo y caracterización.

Microscopía, cultivo y caracterización



Agar sangre, beta hemólisis

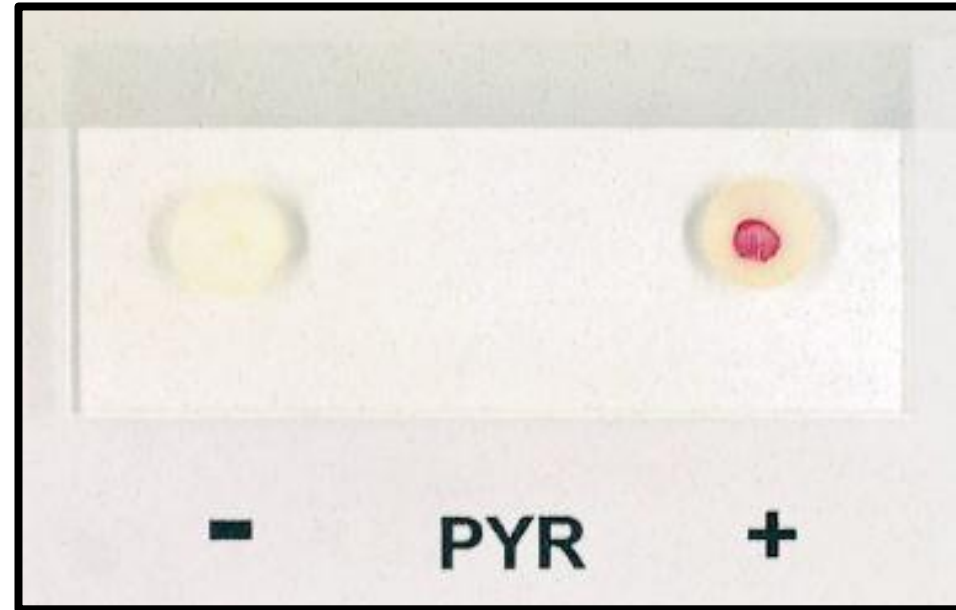


Prueba de Bacitracina





Strep-test



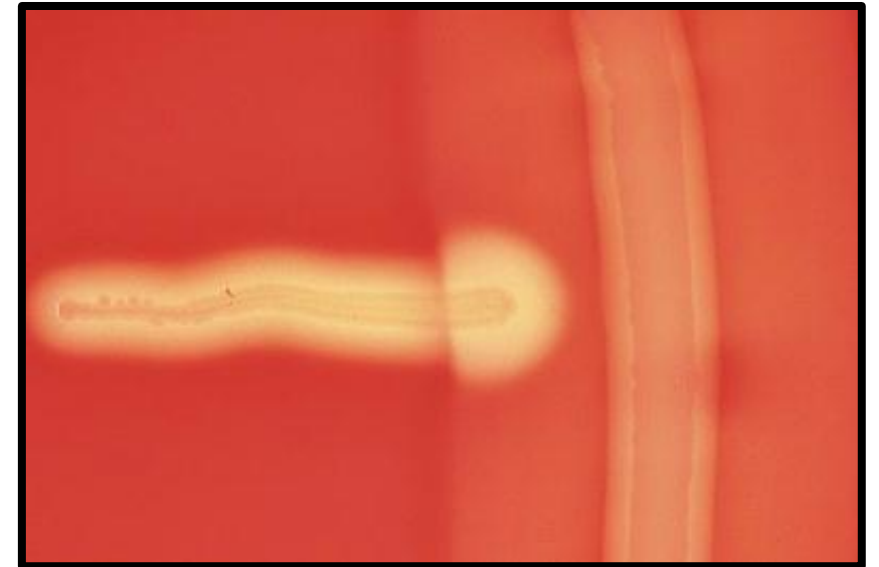
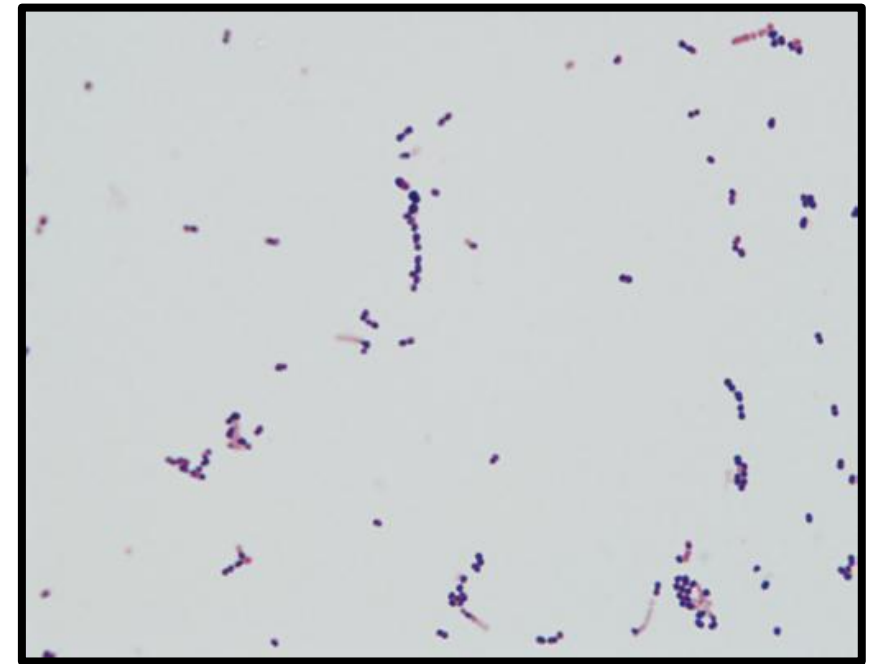
PYR-Test

Bacti-card



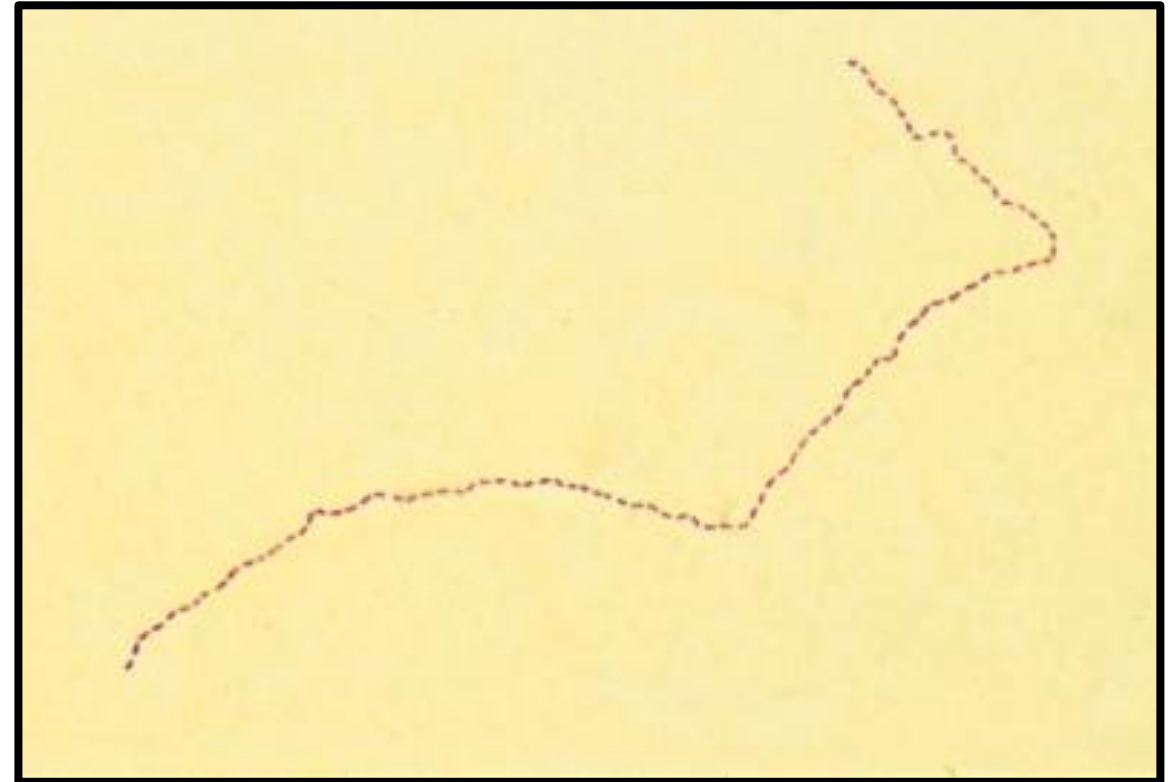
Streptococcus agalactiae

- Diplococos del grupo B, β -hemolítico
- Coloniza área genital y tracto gastro-intestinal bajo (asintomática)
- Transmisión por vía ascendente o canal del parto
- Patogenicidad:
 - ✓ Adherencia a partir de proteína α
 - ✓ Pilis que favorecen traslocación
 - ✓ Cápsula
 - ✓ B-hemolisina / citolisina
- Síndromes clínicos:
 - ✓ Bacteriemia
 - ✓ Infección del tracto genital femenino
 - ✓ Infección en lactantes
 - ✓ Neumonía – Endocarditis – Artritis – Osteomielitis
 - ✓ Infección del tracto urinario
 - ✓ Meningitis



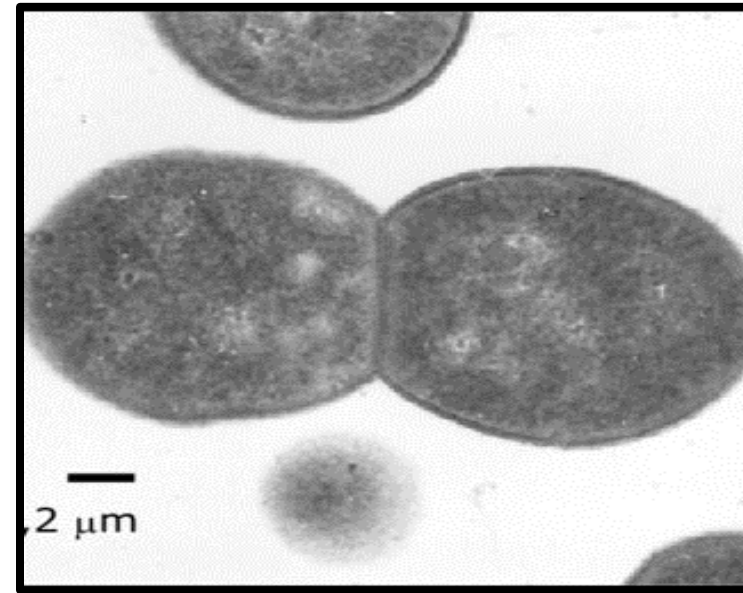
Streptococcus Grupo *viridians*

- Cocos α -hemolíticos. Resistencia a la optoquinina y falta de solubilidad en bilis
- Exigente para el crecimiento
- Flora normal de vía respiratoria alta, genitales y tubo digestivo
- Adherencia en cavidad oral
- Patogenia:
 - ✓ Dextrano extra-celular
 - ✓ FimA
 - ✓ Ácidos lipoteitoicos
- Síndrome clínicos:
 - ✓ Bacteriemia transitoria
 - ✓ Endocarditis infecciosa
 - ✓ Meningitis



Streptococcus pneumoniae

- Diplococo lanceolado
- Catalasa negativo, pero productor de peróxido de hidrógeno
- α -hemolítico

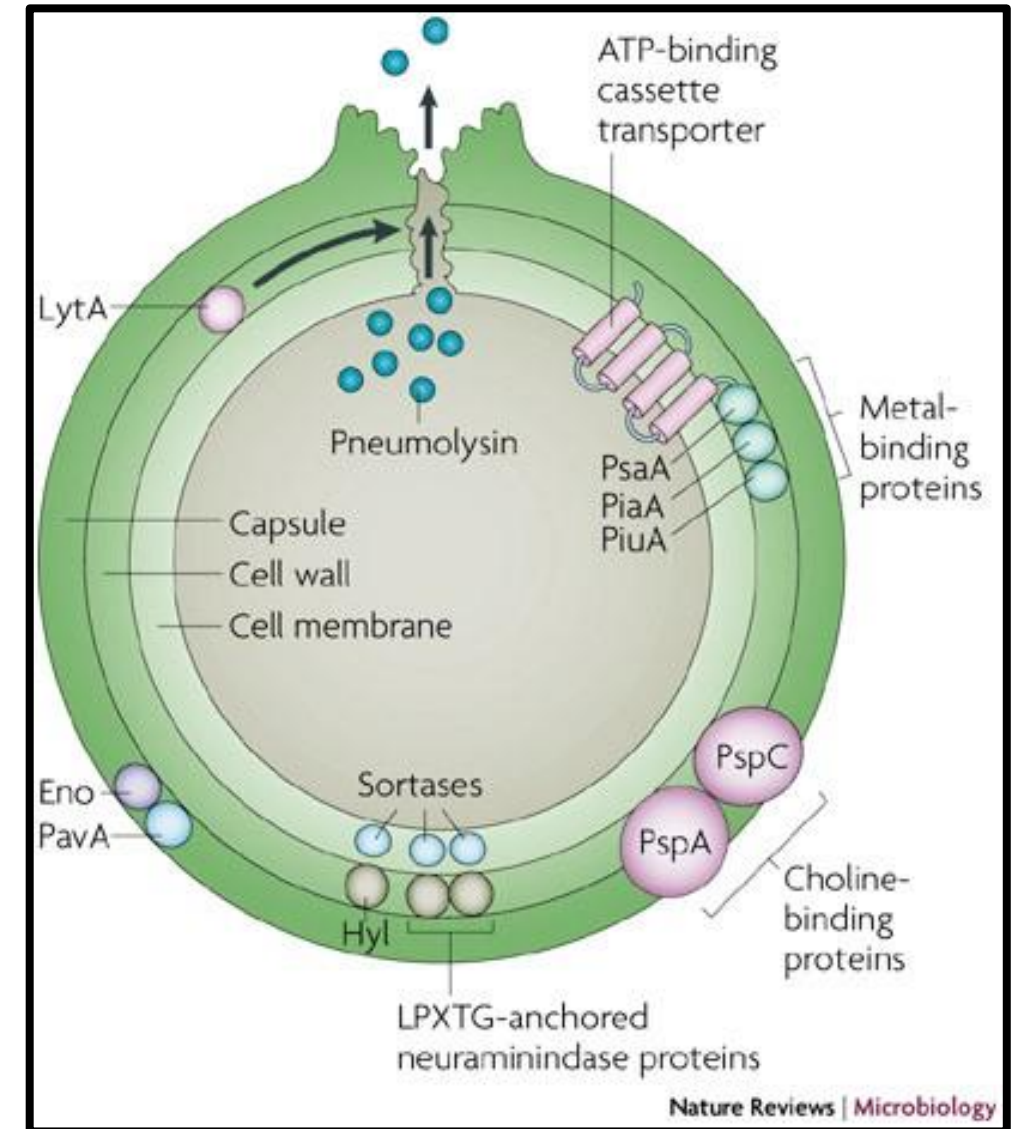


- Pared celular: peptidoglicano y ácido teitoico.
- Polisacárido C
- Cepas capsuladas en su mayoría, asociada a enfermedad diseminada
- Autoinducción – *quorum sensing*
- Infecciones relacionadas: *colonización asintomática – infecciones en vía aérea alta – infecciones diseminadas*
- Primera causa bacteriana de neumonía



Factores de virulencia

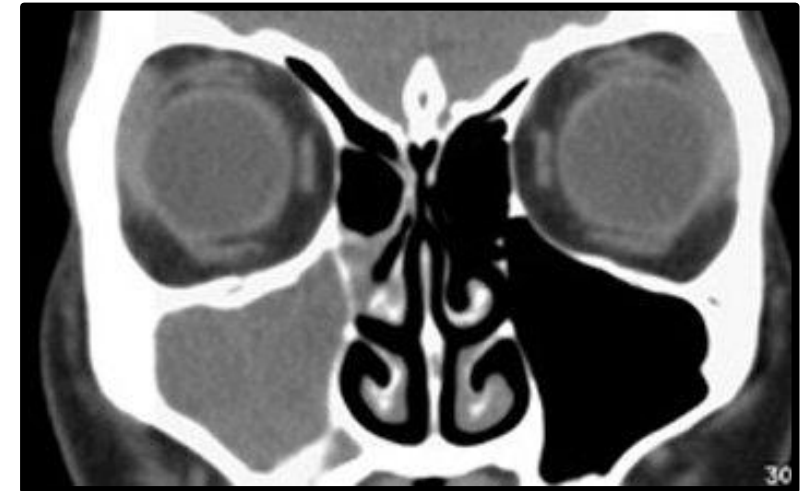
- **Cápsula**
- **Neumolisina** (hemolisina): citolítica.
- **Ácidos teicoicos**: liberación por la lisis bacteriana activa el complemento y provoca la liberación de citoquinas proinflamatorias.
- **Neuraminidasas**: (Nana, Bgaa, Strh): desenmascaran receptores celulares.
- **Iga proteasa**: hidroliza a IgA



Síndromes clínicos

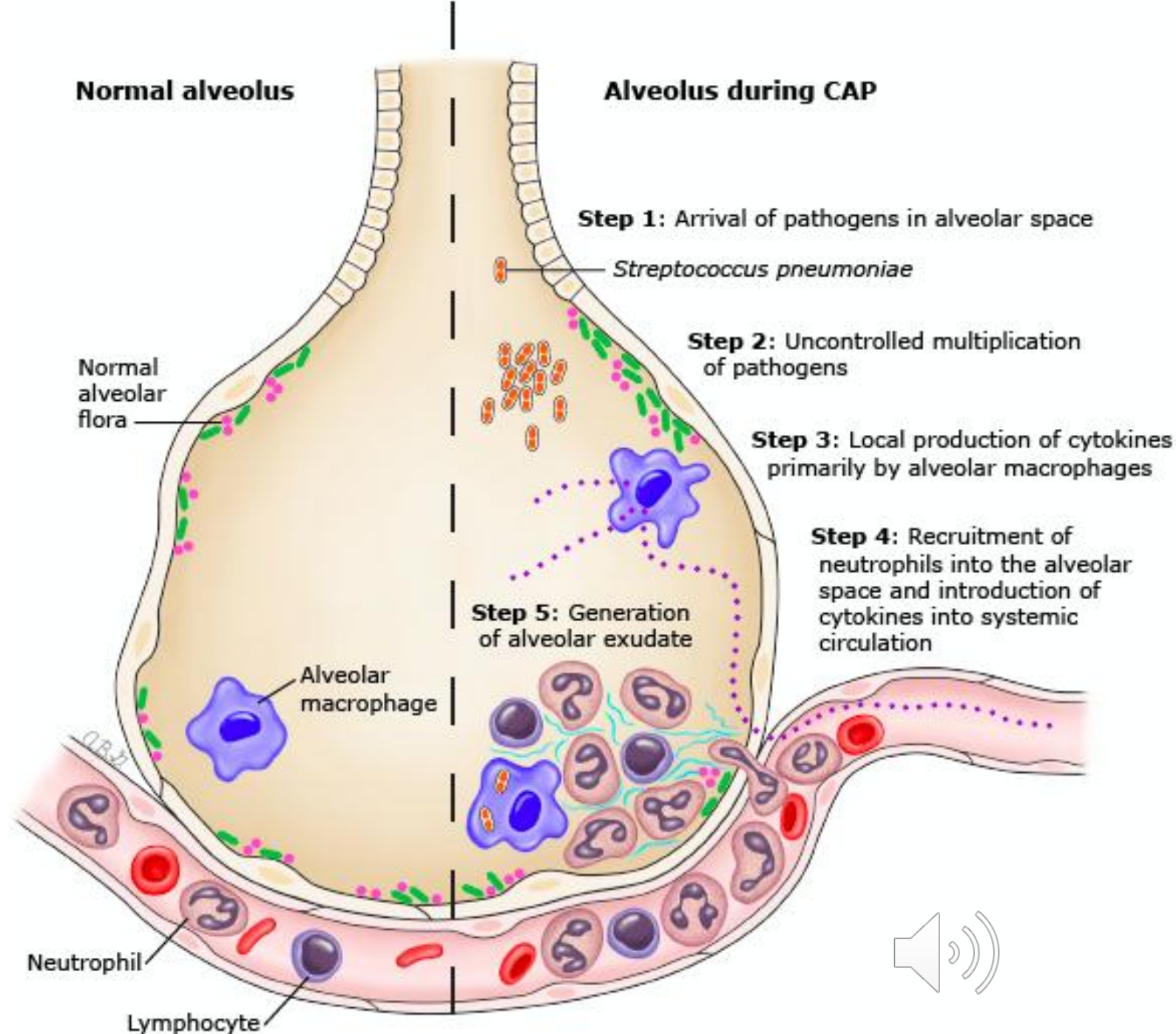


- **Otitis media:**
 - ✓ Vinculada con infección viral previa
 - ✓ Etiología más frecuente
- **Sinusitis:**
 - ✓ Favorecida por obstrucción previa (virus y alérgenos)
 - ✓ Persistencia sintomática
- **Pneumonía**
- **Meningitis:**
 - ✓ Causa más frecuente
 - ✓ Siembra hematógena o contigua
- Otras infecciones

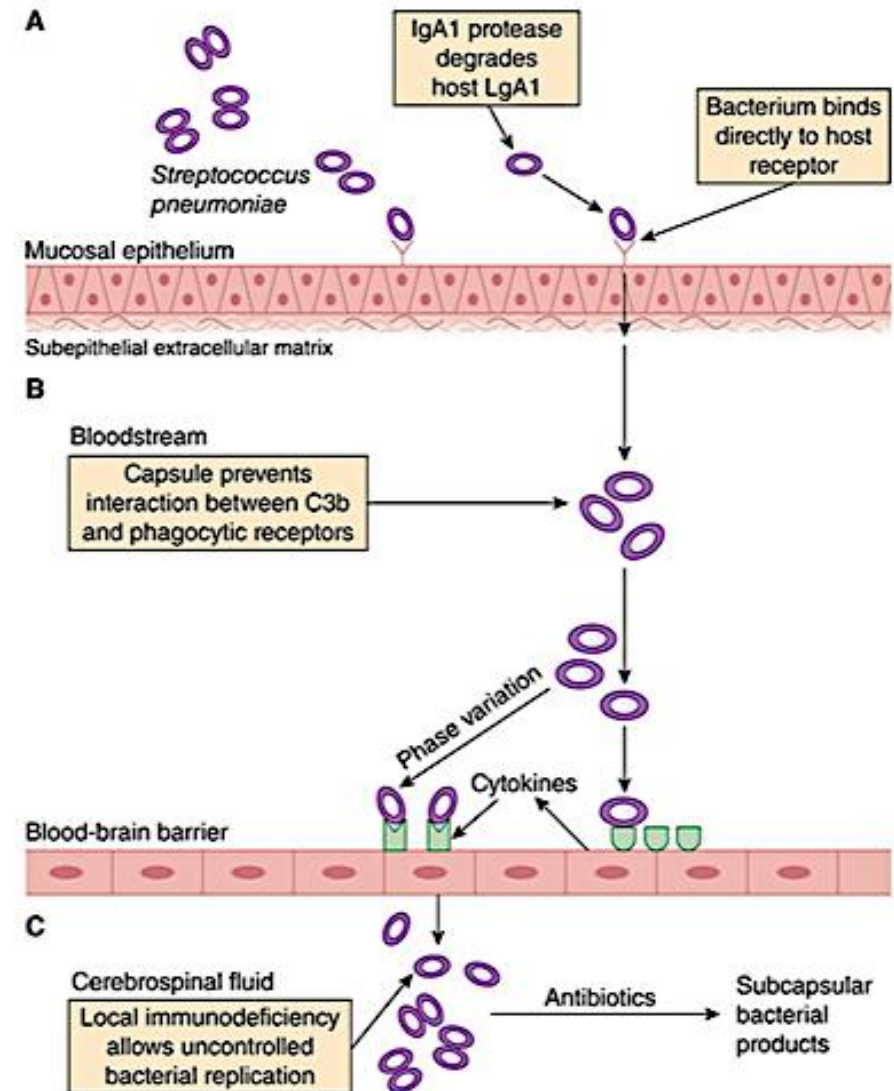


Patogenia - Neumonía

- 1. **COLONIZACIÓN NASOFARÍNGEA:** 30% de los niños y 10% de los adultos por aerosoles entre personas.
- 2. **ASPIRACIÓN HACIA EL PULMÓN O INHALACIÓN:** La cápsula inhibe la unión a receptores del epitelio respiratorio alto.
- 3. **LIBERACIÓN DE NEURAMINIDASAS:** Aumenta la adherencia del neumococo a los neumonocitos e inhibe la fagocitosis.
- 4. **RECONOCIMIENTO DE LOS PAMPS POR EL TLR 2:** Activación de liberación de citoquinas proinflamatorias y quimiotácticas para neutrófilos.
- 5. **AFLUENCIA DE NEUTRÓFILOS:** Liberación de proteasas e intermediarios reactivos del oxígeno.
- 6. **DAÑO TISULAR.**

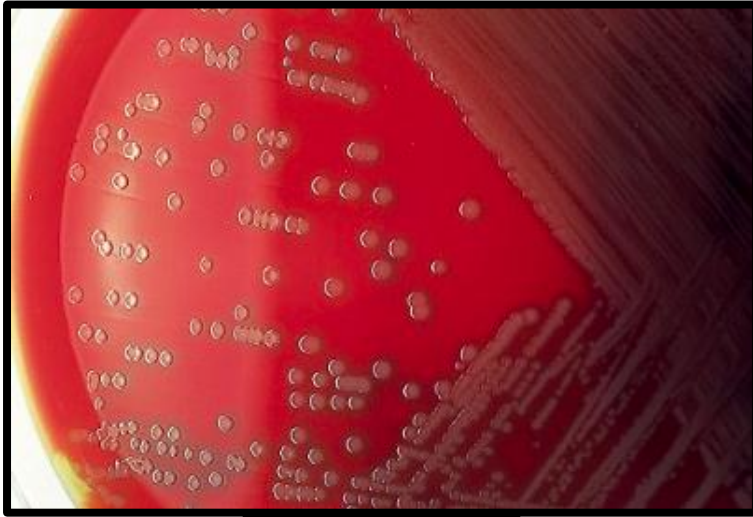


Patogenia - Meningitis



Diagnóstico

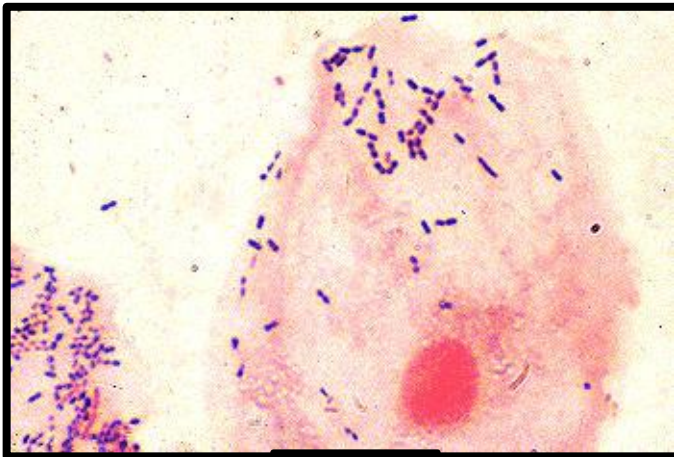
- **Toma de muestra:** esputo, lavado bronquiolo-alveolar, punción lumbar
- Microscopía, cultivo, pruebas de sensibilidad



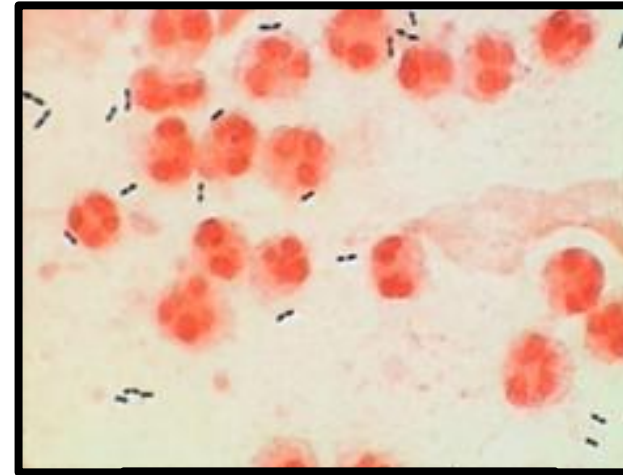
Agar sangre



Prueba optoquinina



Esputo



Líquido ceforraquídeo

Enterococcus spp.

- Cocos en pareja o cadenas cortas o largas
- Especies de importancia: *E. faecalis* y *E. faecium*
- Flora normal del tubo digestivo
- Colonización por Enterococos resistentes a la vancocimina (EVR)
- **Patogenia:**
 - ✓ Sustancia de agregación (AS)
 - ✓ Proteína de superficie (Esp)
 - ✓ Proteína ElrA
 - ✓ Cápsula
 - ✓ Citolisina-hemolisina
 - ✓ Gelatinasa y proteasa de serina
- **Síndromes clínicos:**
 - ✓ Bacteriemia y endocarditis infecciosa
 - ✓ Infección del tracto urinario
 - ✓ Meningitis

