fimp Federazione Italiana Medici Pediatri

VACCINI E VACCINAZIONI

massimo resti

Sessione sui “cocchi”.

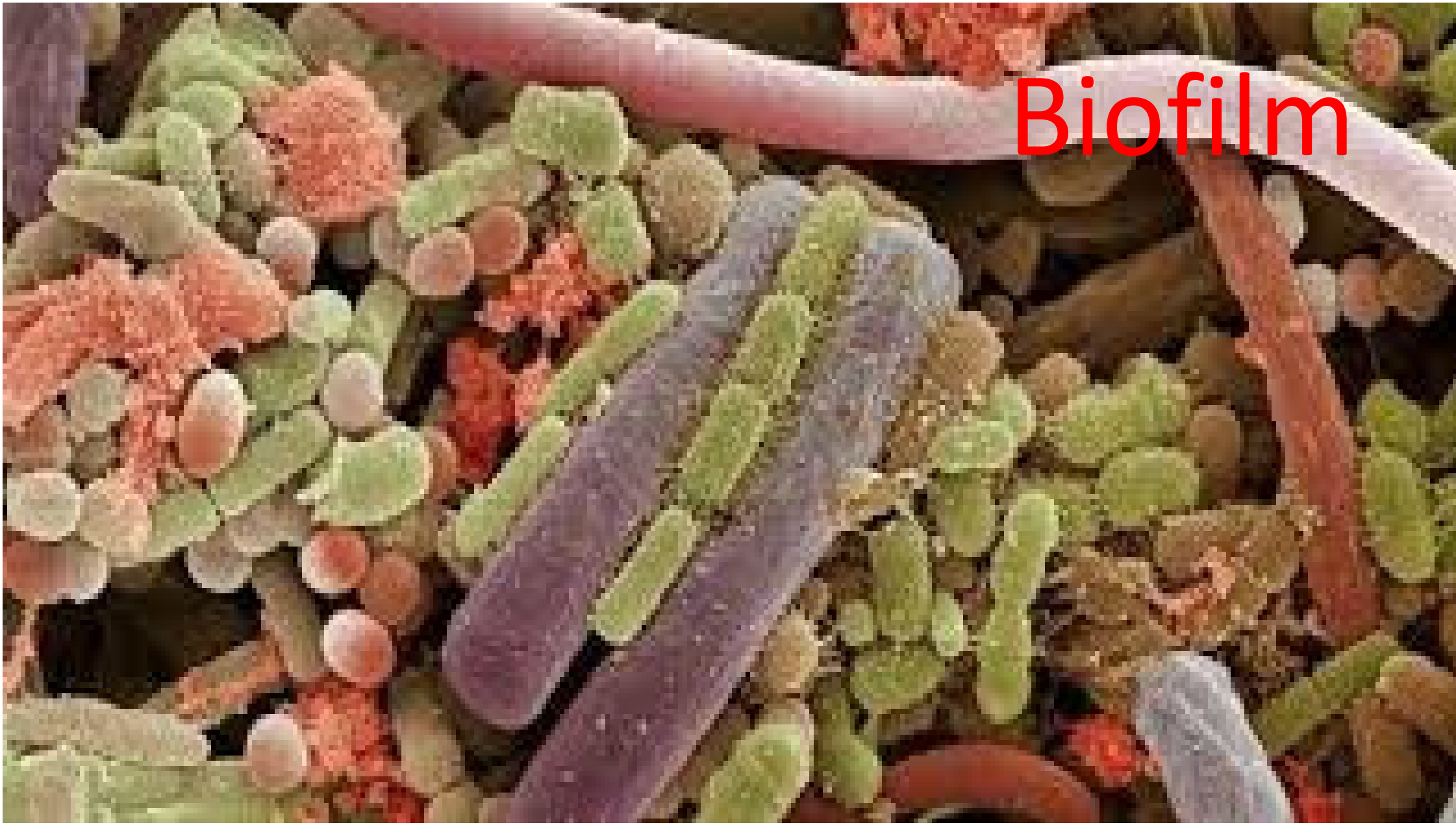
Conoscere per combattere: su questo ci giochiamo la partita

Conoscere le strategie dei “cocchi” per farci ammalare e applicare le strategie degli umani per non farsi invadere dai “cocchi

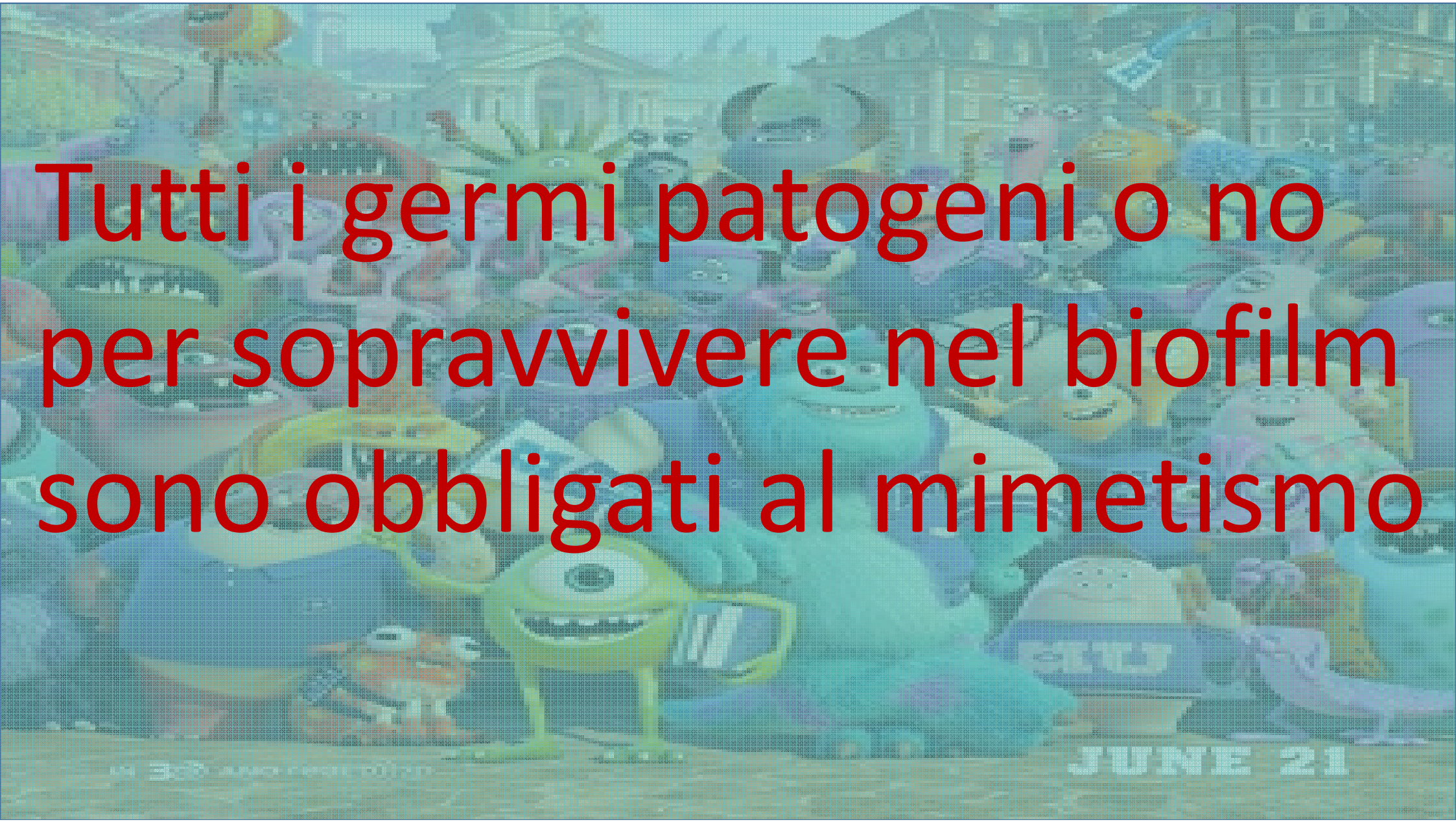
NAPOLI
11 giugno 2016

2ª edizione

Vaccinando su e giù per lo stivale


Biofilm

Il trasformista


Tutti i germi patogeni o no
per sopravvivere nel biofilm
sono obbligati al mimetismo

ARTICLE

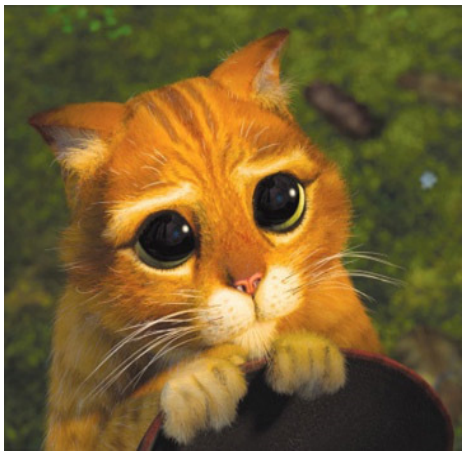
Received 19 Mar 2014 | Accepted 21 Aug 2014 | Published 30 Sep 2014

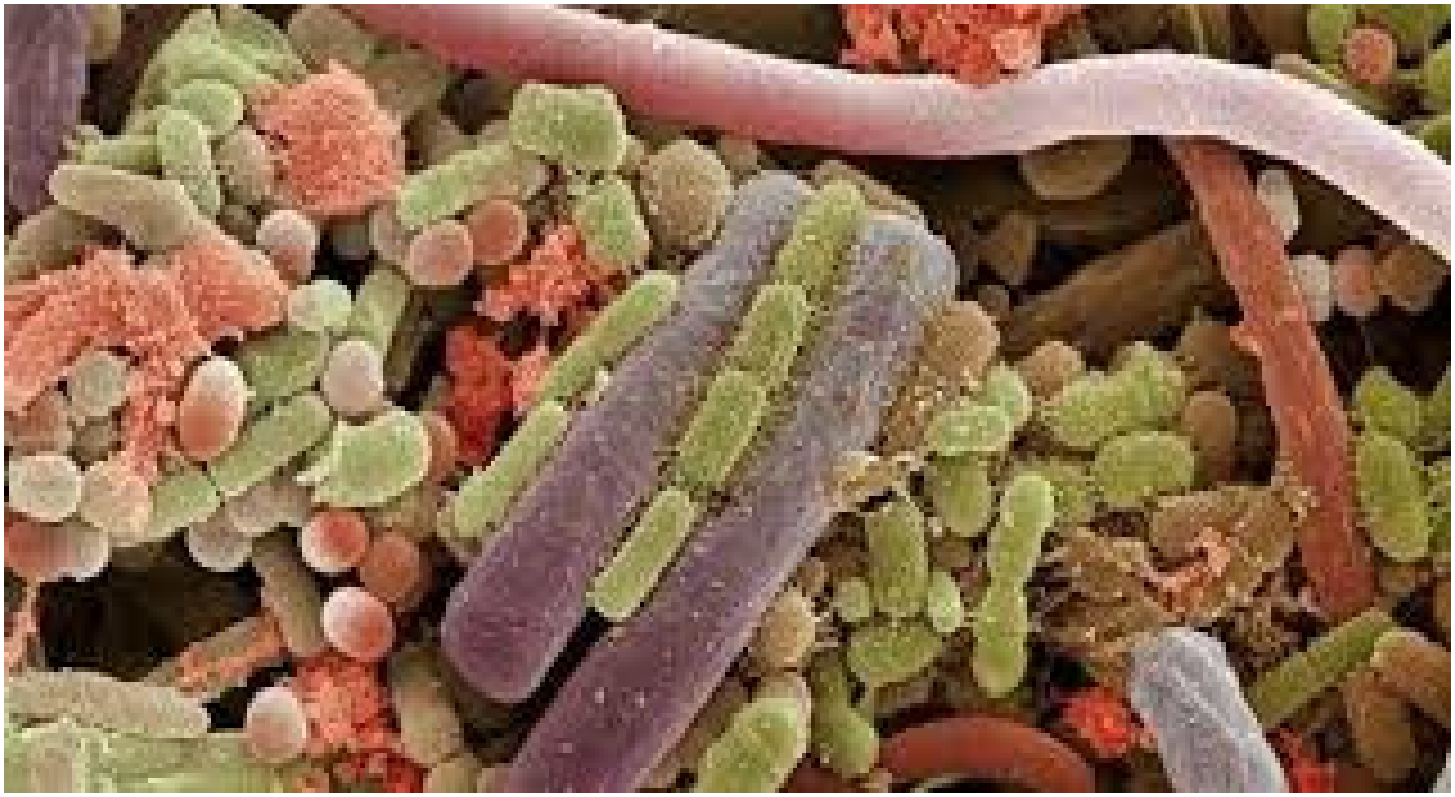
DOI: 10.1038/ncomms6055 OPEN

A random six-phase switch regulates pneumococcal virulence via global epigenetic changes

Ana Sousa Manso[1,2], Melissa H. Chai[3], John M. Atack[4], Leonardo Furi[1,2], Megan De Ste Croix[1], Richard Haigh[1], Claudia Trappetti[3], Abiodun D. Ogunniyi[3], Lucy K. Shewell[4], Matthew Boitano[5], Tyson A. Clark[5], Jonas Korlach[5], Matthew Blades[6], Evgeny Mirkes[7], Alexander N. Gorban[7], James C. Paton[3], Michael P. Jennings[4,*] & Marco R. Oggioni[1,2,*]

c'è un gruppo di geni che, come la pozione del dottor Jeckyll e mister Hyde, che trasforma lo pneumococco da batterio killer responsabile della polmonite e di una forma di meningite a batterio inoffensivo che vive tra gola e naso





Biofilm

Mimetismo:

- rallentano il metabolismo
- inibiscono la produzione della capsula
- bloccano la sintesi di pneumolisina

Il lupo e l’agnello
pasceranno assieme,
il leone mangerà la
paglia come il bue,
e il serpente si nutrirà
di polvere.

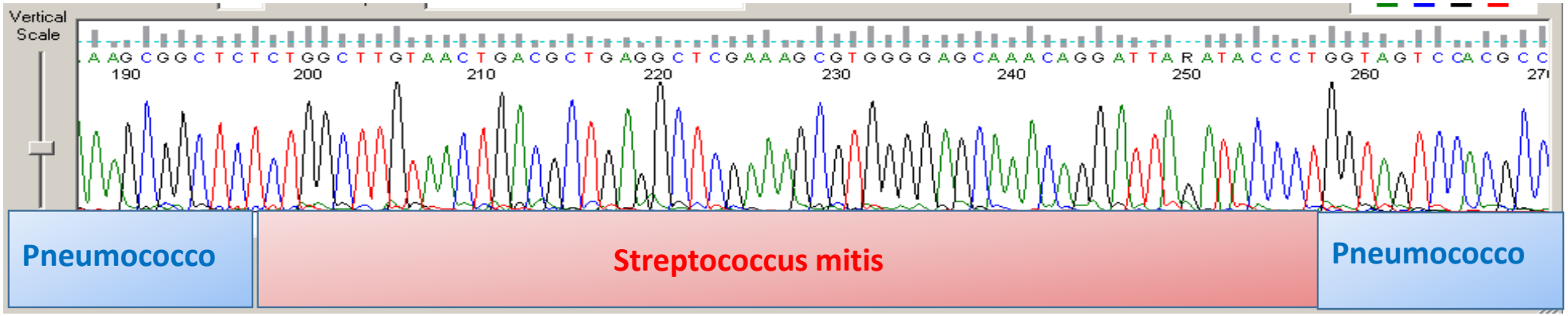
Is 65, 25

Pneumococco

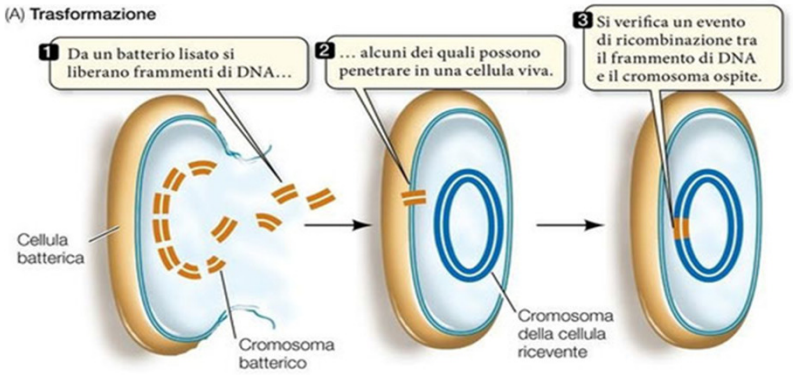
DNA

DNA

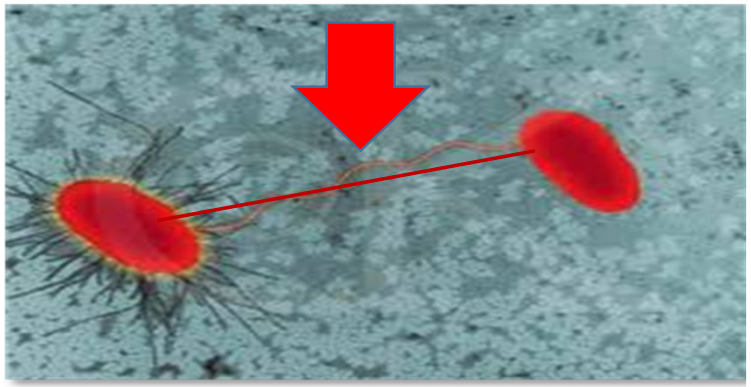
Streptococcus mitis

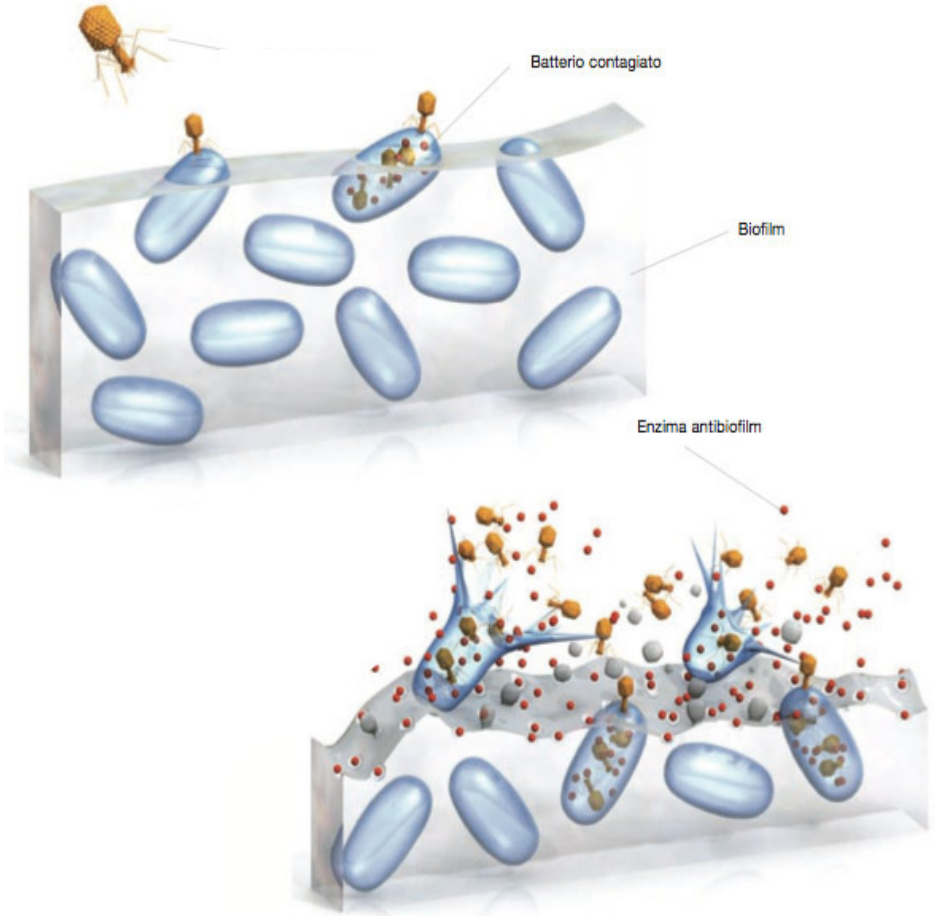


trasformazione



coniugazione

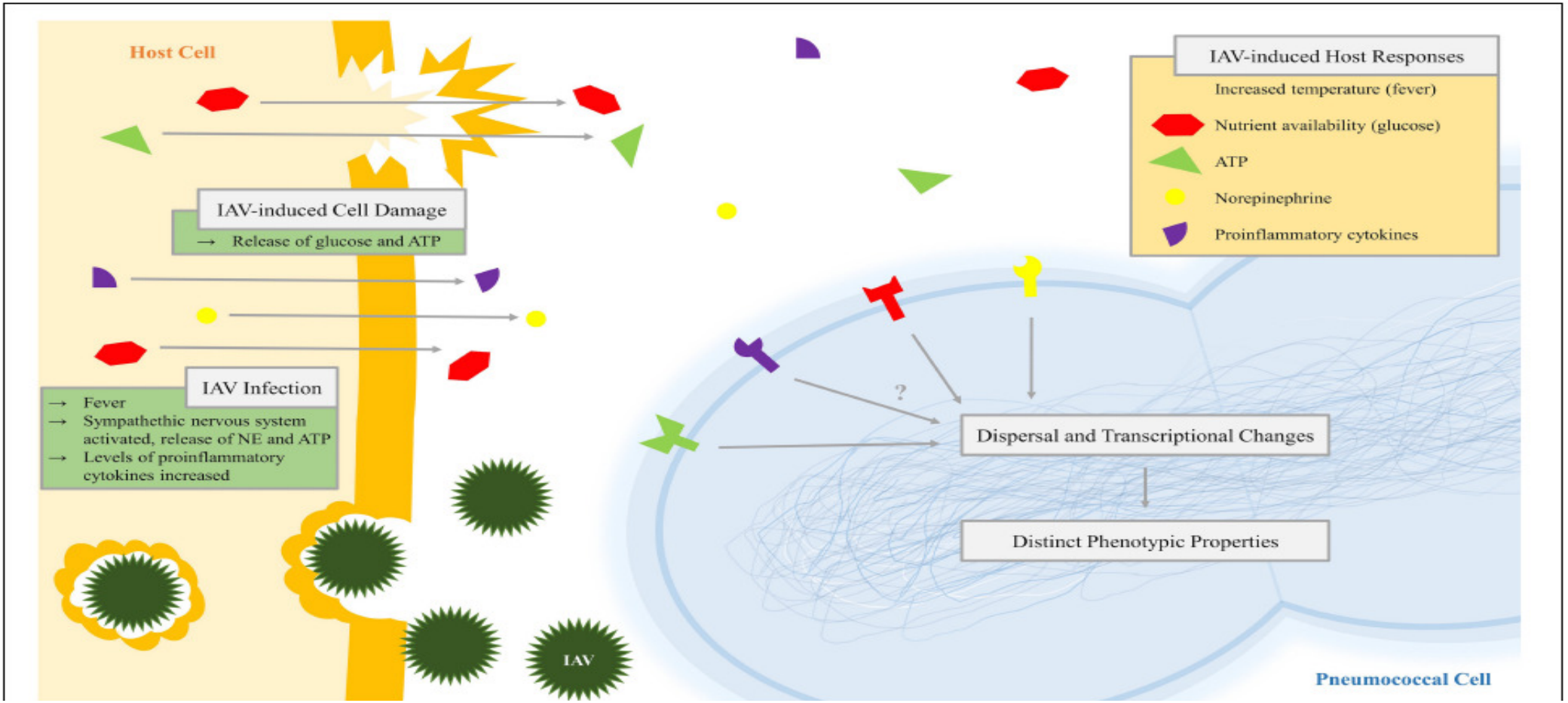




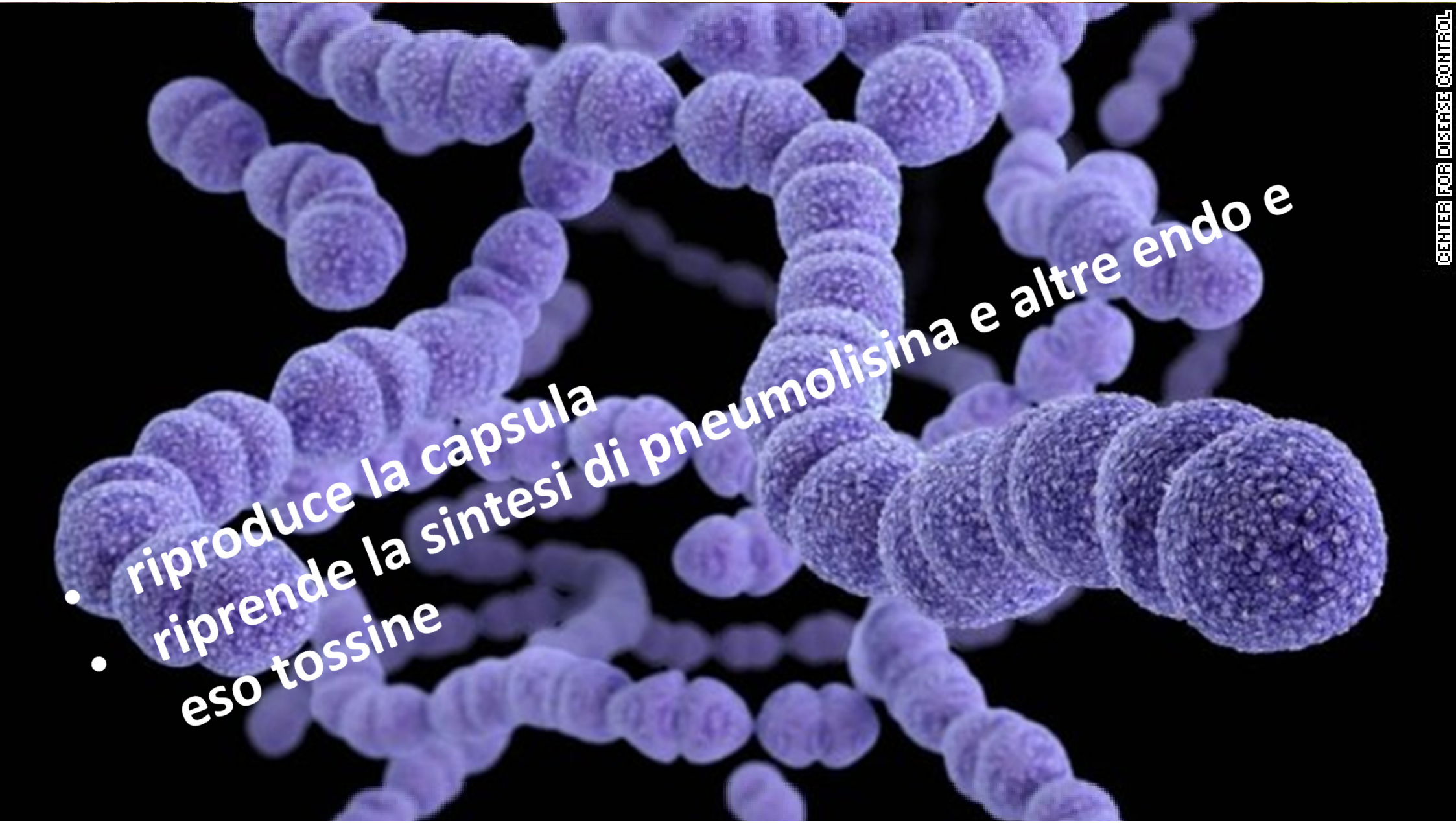
Infezione virale (Influenza)

commensali

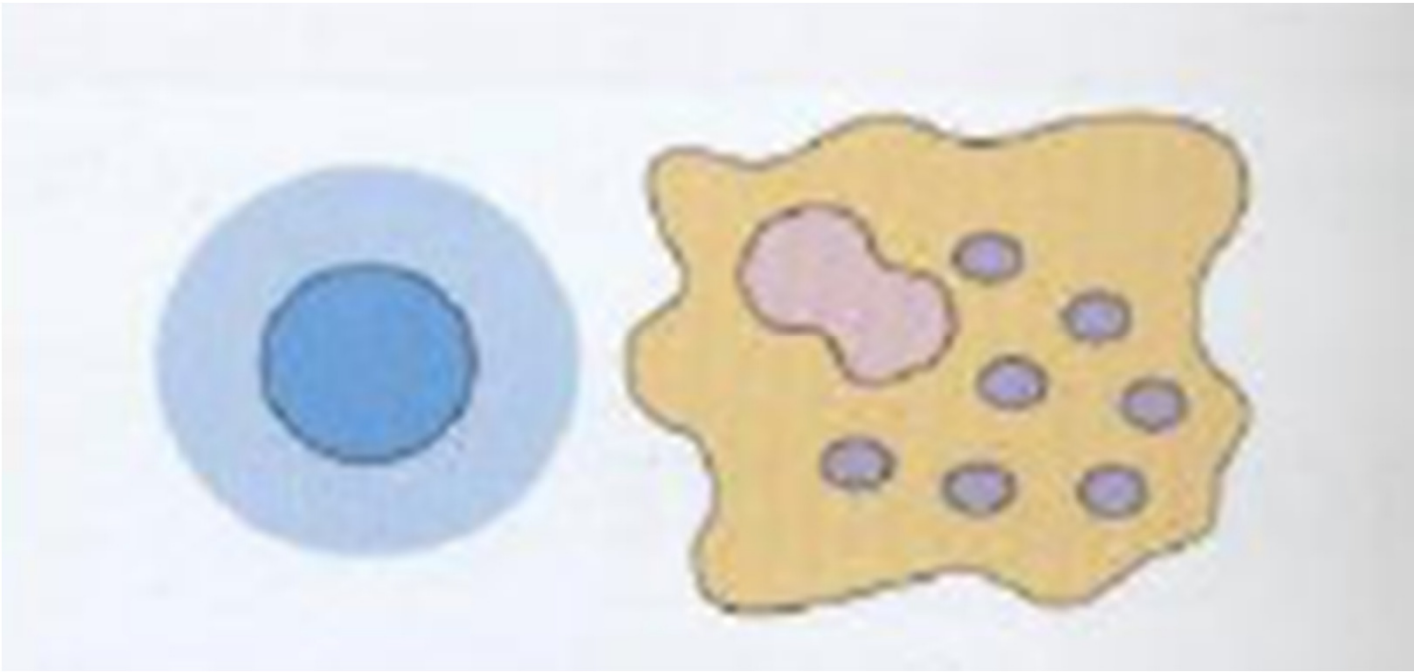
patogeni virulenti



- riattiva il metabolismo


riproduce la capsula
riprende la sintesi di pneumolisina e altre endo e
eso tossine
CENTER FOR DISEASE CONTROL

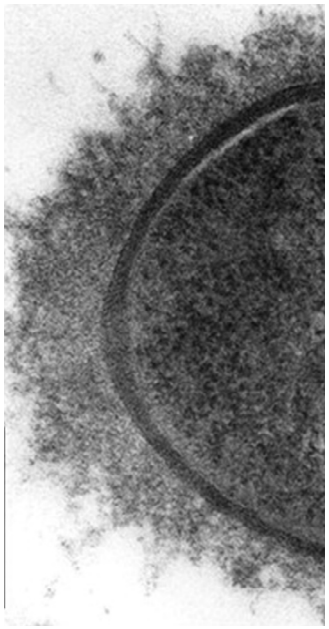
La capsula ostacola la fagocitosi, tanto più è grande tanto più si esprime questo ostacolo

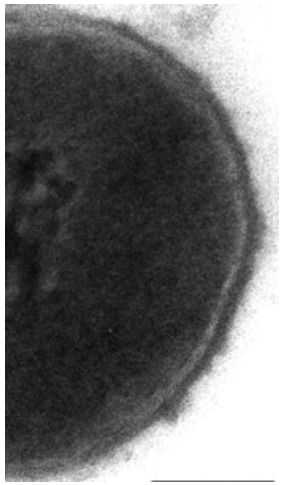


Esempio pneumococco sierotipo 3

Fattori di virulenza

capsula

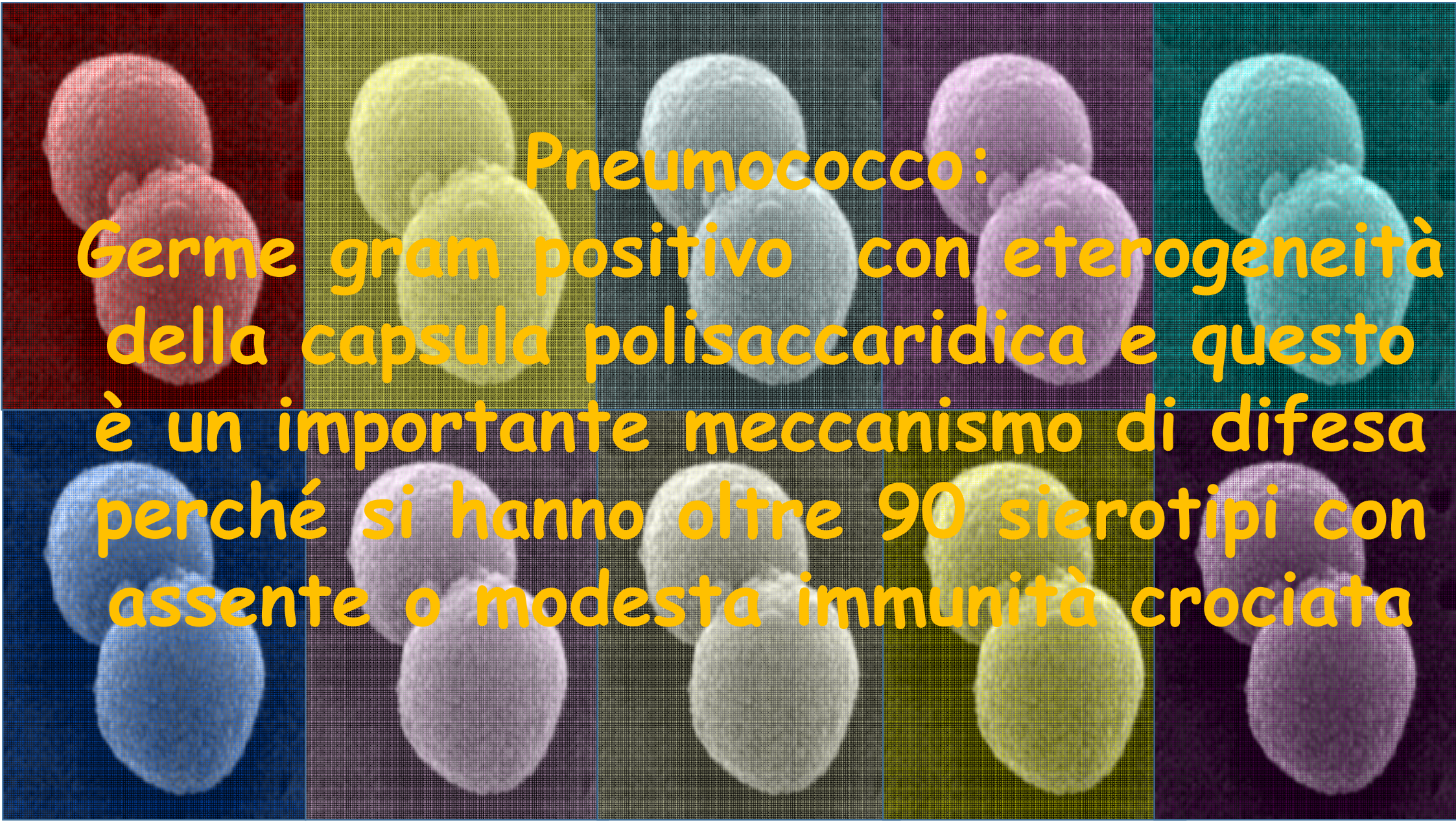




Capsula sierotipo 3 Capsula sierotipo 6A

severity of meningitis in an infant rat meningitis model does depend on the capsule type and that a capsule is necessary to establish meningitis.

Streptococcus pneumoniae capsule determines disease severity in experimental pneumococcal meningitis Open Biology Published 23 March 2016


Pneumococco:
Germe gram positivo con eterogeneità della capsula polisaccaridica e questo è un importante meccanismo di difesa perché si hanno oltre 90 sierotipi con assente o modesta immunità crociata

- **Produzione di esoenzimi:**

Ialuronidasi

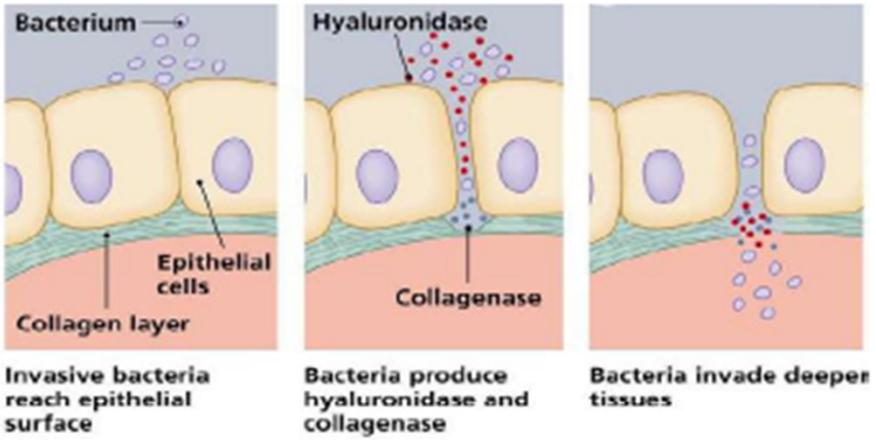
Coagulasi e Streptokinasi

Collagenasi

Proteasi

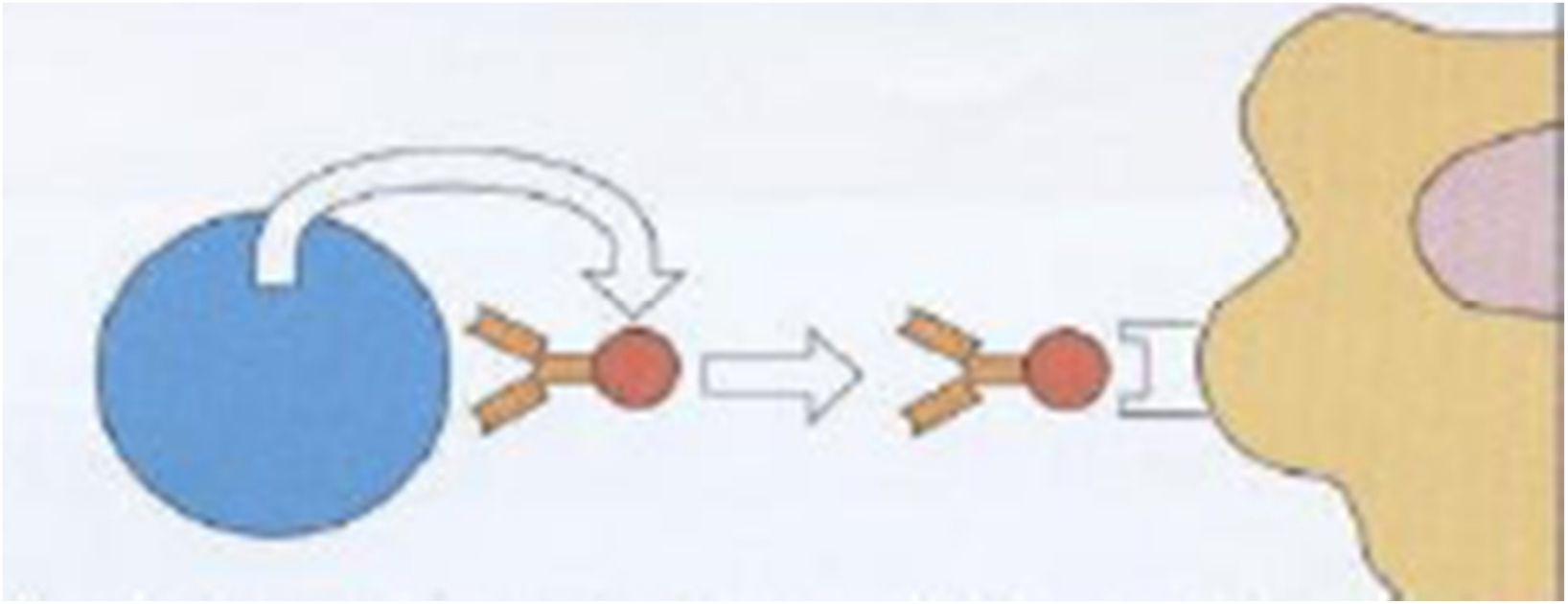
DNAsi

Lipasi



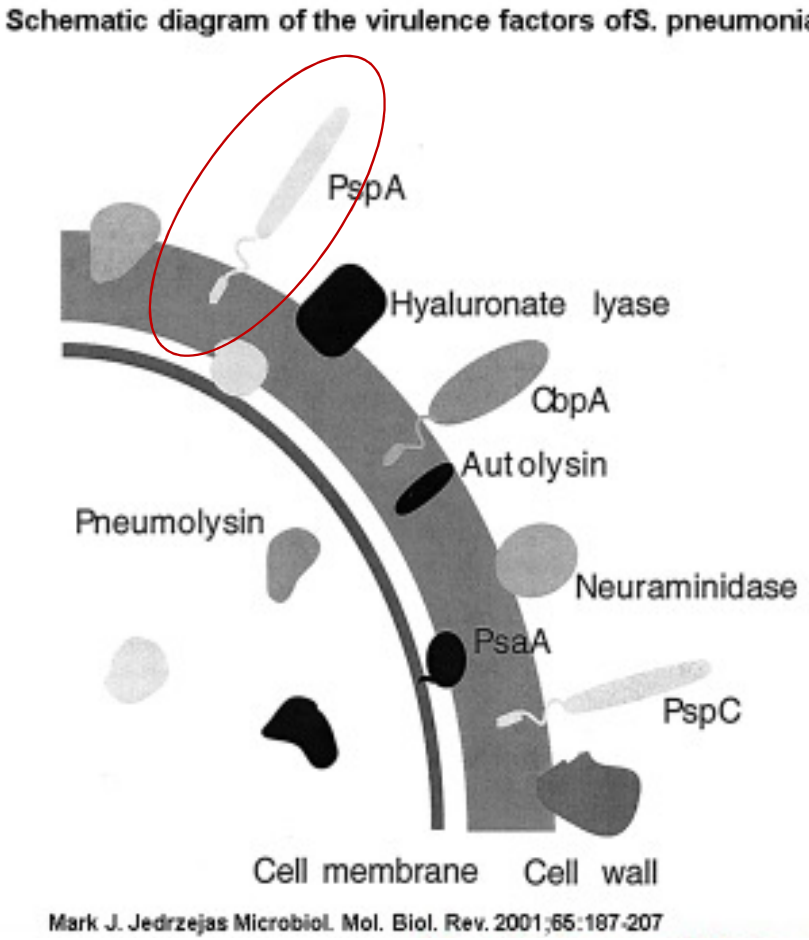
Tutti questi enzimi sono in grado di favorire l'apertura di varchi nei tessuti, che consentono la diffusione dei batteri che li producono.

Alcuni «cocchi» producono la proteina A che impedisce l'opsonizzazione degli anticorpi e quindi la fagocitosi



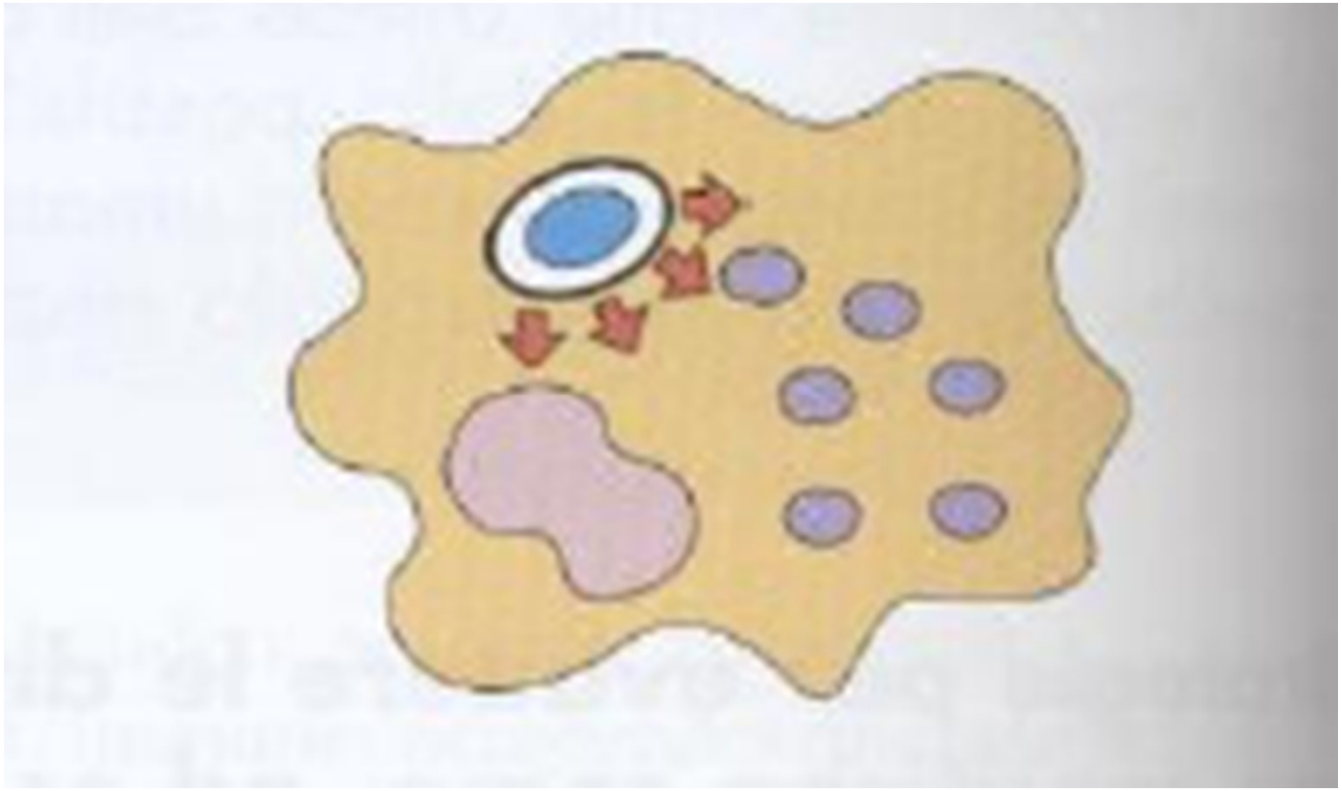
PNEUMOCOCCAL SURFACE ANTIGEN A

Proteina di membrana
Trasportatore di Mn2+ Zn2+



PspA: riduce l'attività del complemento e inibisce la fagocitosi dei neutrofili. Sistema di protezione contro il Sistema del complemento dell'ospite

Il microorganismo una volta fagocitato resiste al killing producendo antiossidanti

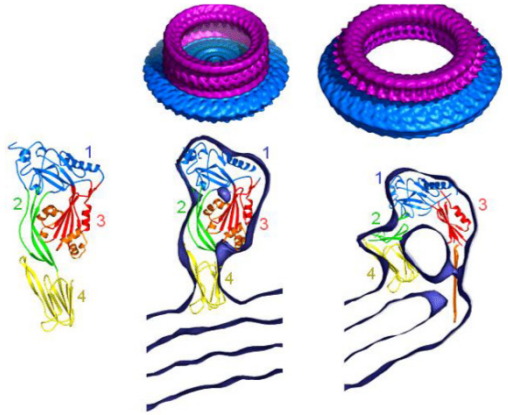


Esempio catalasi stafilococco

Fattori di virulenza: **tossine**

Pneumolisina

- Citolisina colesterol-dependente
- Rilasciata durante la lisi degli pneumococchi



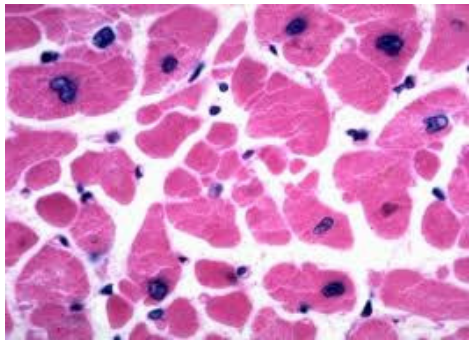
35–47 monomeri

DNA damage rottura doppia elica
Morte cellulare

Danno alla barriera tra alveoli e capillari

Danno al tessuto cardiaco

Attiva il processo pro-infiammatorio e la produzione di composti tossici di O2 e N che danneggiano I tessuti



Antibiotici beta lattamici bloccano la sintesi della parete

↓

morte del batterio rilascio pneumolisina

↓

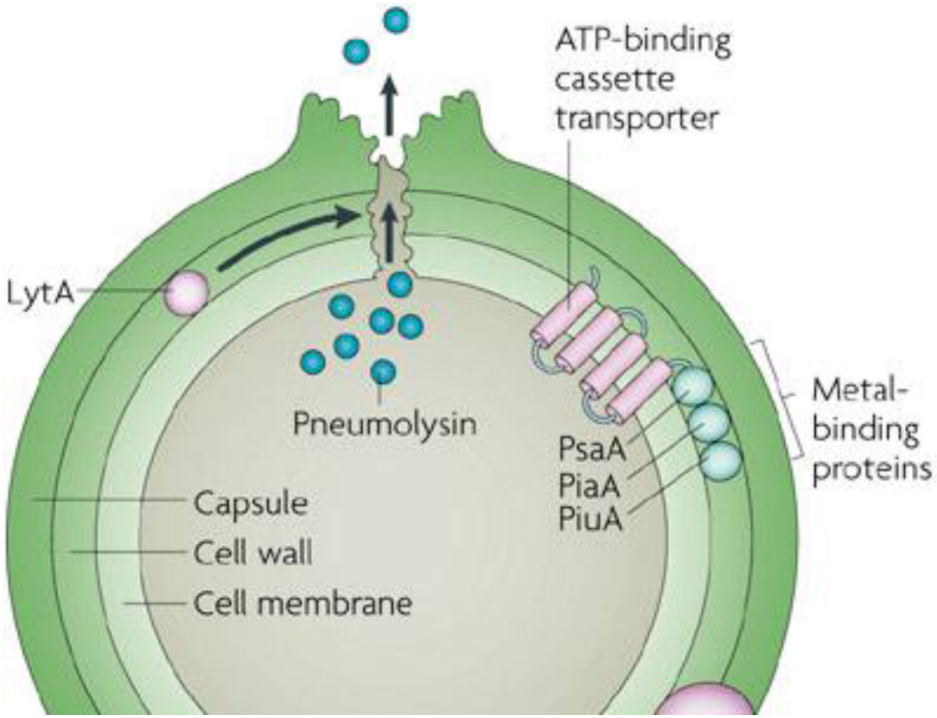
danno tissutale e apoptosi

↓

gli pneumococchi sopravvissuti per dosi insufficienti di farmaco trovano il danno tissutale e quindi possono causare infezioni più diffusive

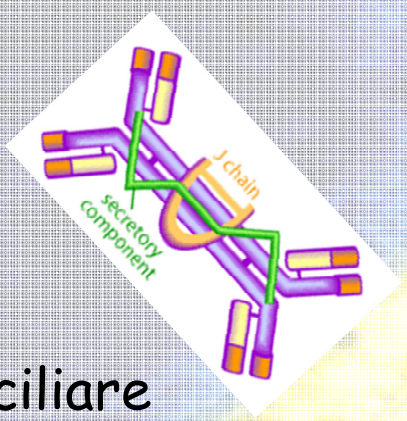
Antibioticoterapia a dosi inadeguate:

« do un po' di antibiotico… «



Come fa il meningococco a causare infezione?

1. Possiede proteine di adesione all'epitelio (anche pili)
2. Ha IgA proteasi che distruggono le IgA
3. Possiede fattori che inibiscono l'attività ciliare
4. Ha capsula polisaccaridica che impedisce la fagocitosi
5. Produce endotossine



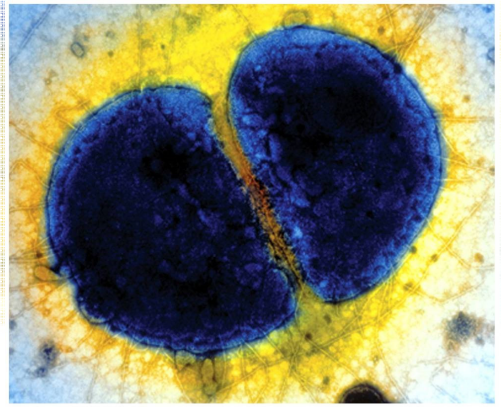
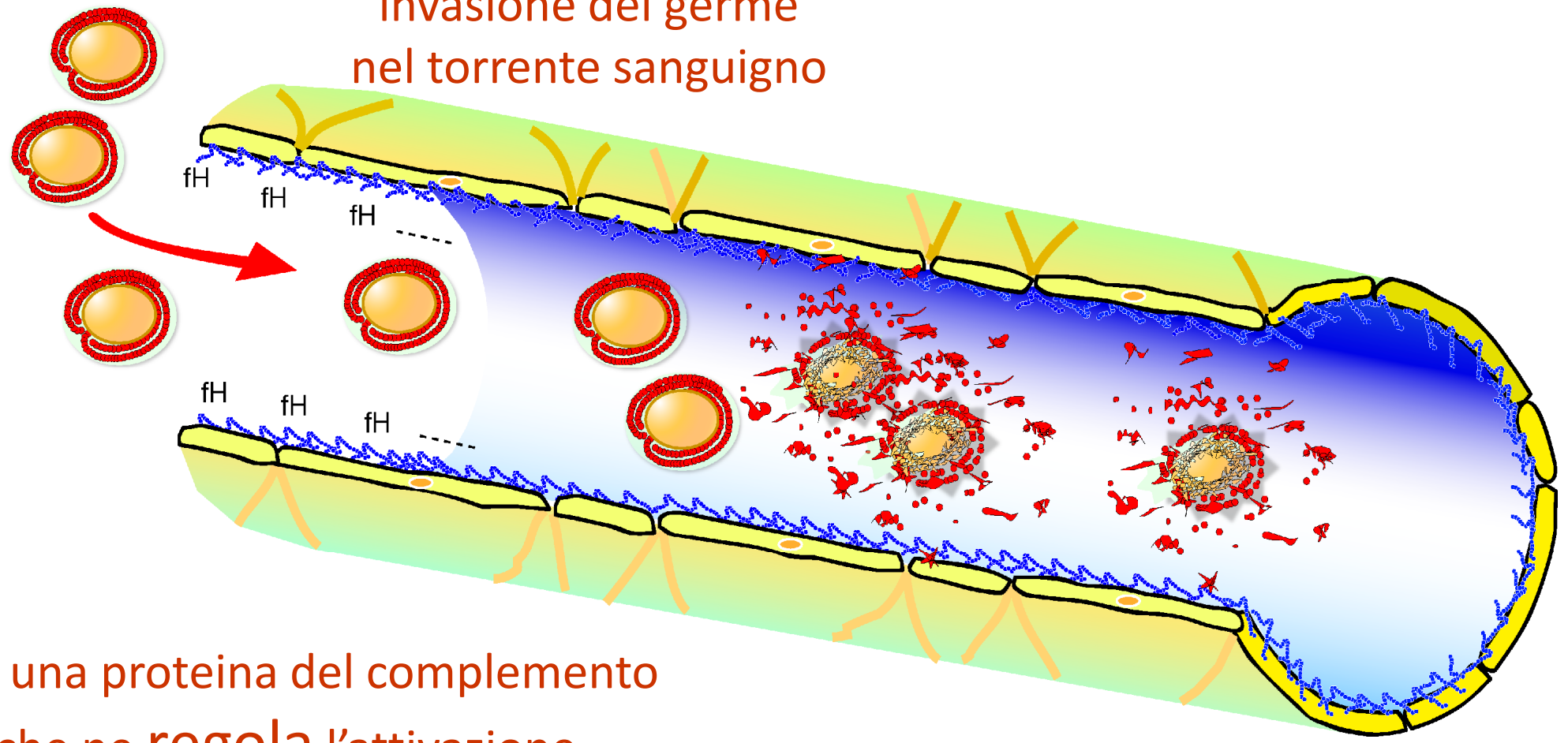


Figure 4-2a part 2a Microbiology, 6/e
© 2005 John Wiley & Sons

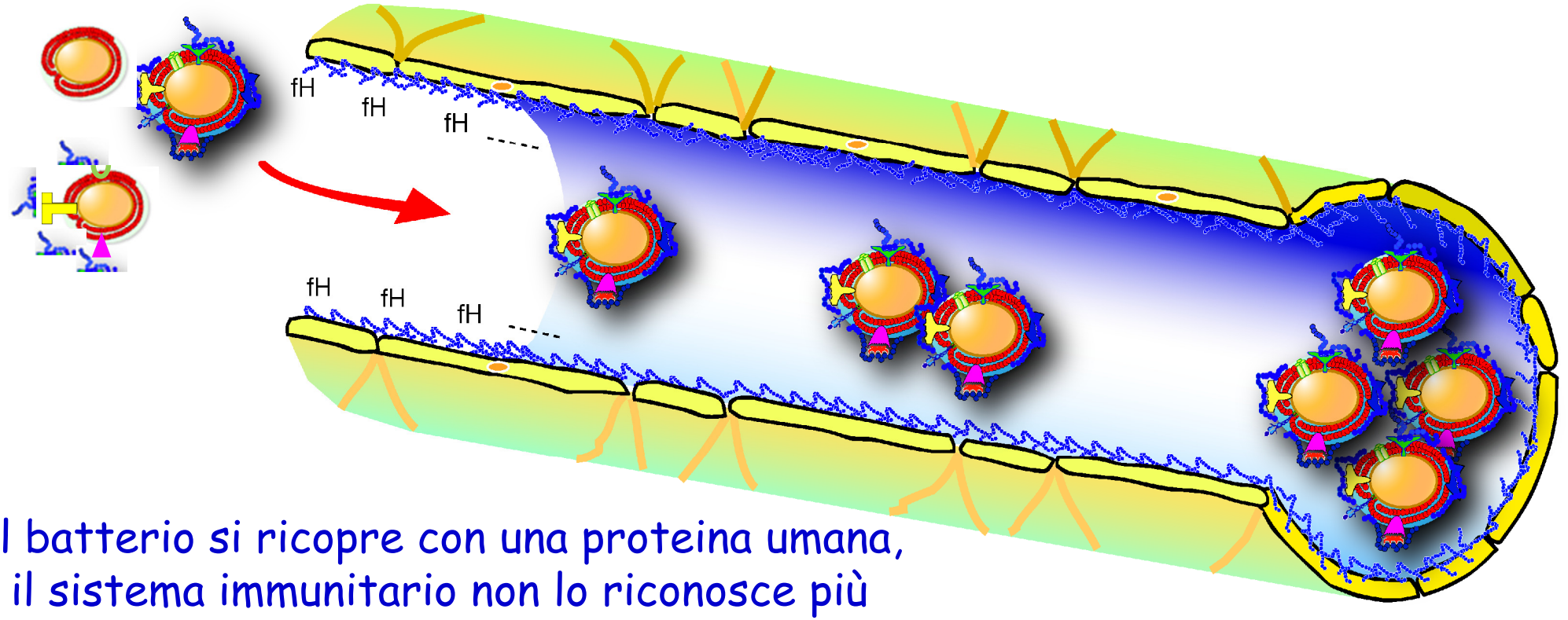
invasione del germe
nel torrente sanguigno



fH è una proteina del complemento
che ne regola l'attivazione

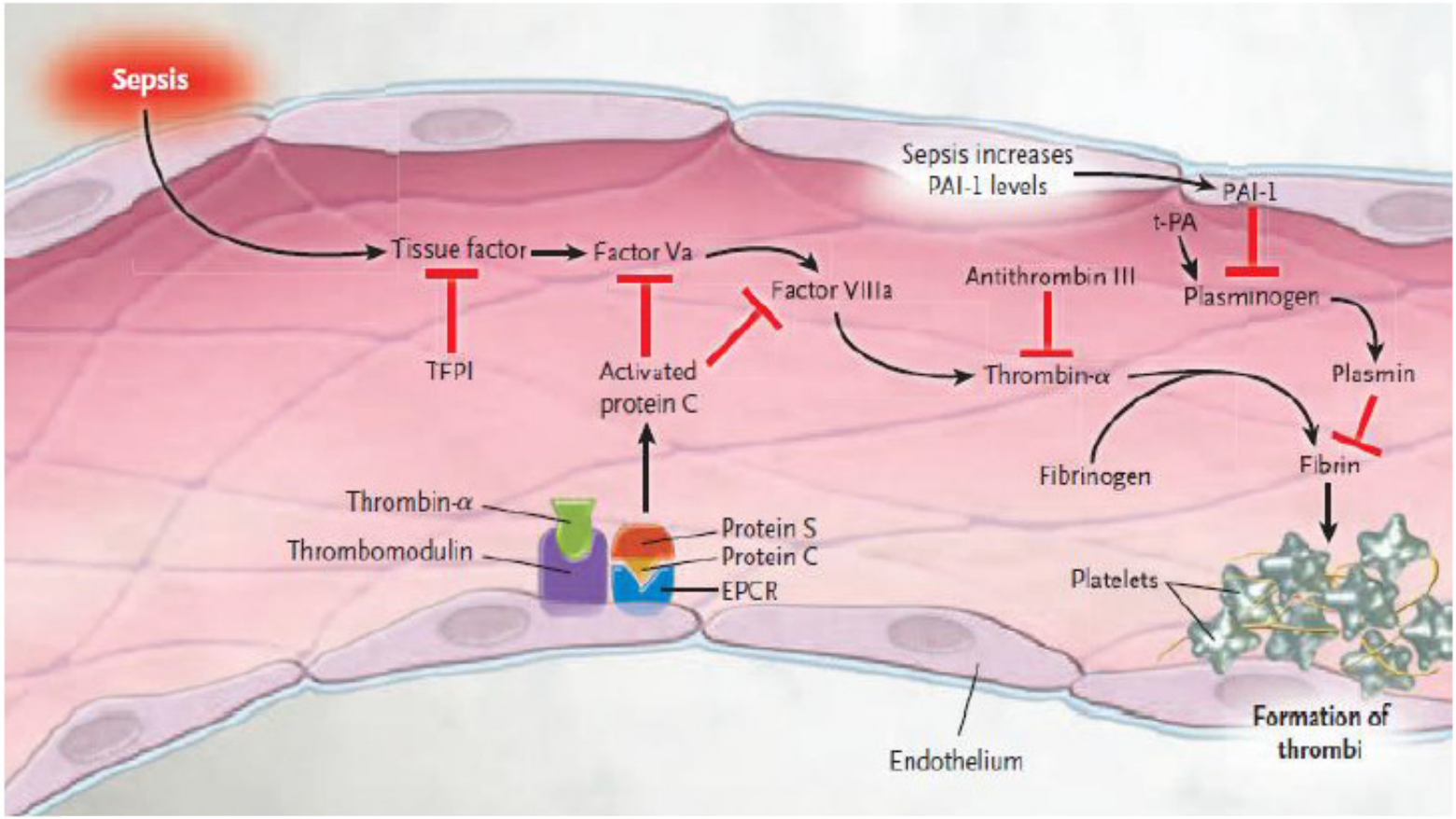
Lisi Complemento Mediata

Il Meningococco B ha una proteina **fHbp** che può legarsi al fattore H umano



Il batterio si ricopre con una proteina umana,
il sistema immunitario non lo riconosce più

fHbp lega solo il fattore H umano.
Per questo l'infezione da Meningococco è specie-specifica!



la risposta immune alla sepsi meningococcica causa una attivazione generalizzata delle vie dell'infiammazione e una coagulazione intravascolare disseminata che è la principale causa di morte

Correlazione tra carica batterica ed evoluzione

	CT liquor		CT sangue	
Pneumococco Decessi	16,5	100 volte + alta	24	1000 volte + alta
Pneumococco Esiti	17,8		26,3	
Pneumococco Non esiti	24		34	
Meningococco Decessi	27,5	ndn	19	> 1000 volte + alta
Meningococco esiti			23	
Meningococco Non esiti	25,6		33	

Neisseria meningitidis: la virulenza, non solo capsula

Multilocus Sequence Typing

This Article | Info for Authors | Subscribe | About
PNAS
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Mar 17; 95(6): 3140–3145.
Microbiology
PMCID: PMC19708

tecnica tipizzazione molecolare
basata sulla PCR e l'analisi delle sequenze nucleotidiche utile per l'analisi di cluster dei focolai epidemici (quindi sia per la diagnostica che per la sorveglianza delle meningiti da *N. meningitidis)*.

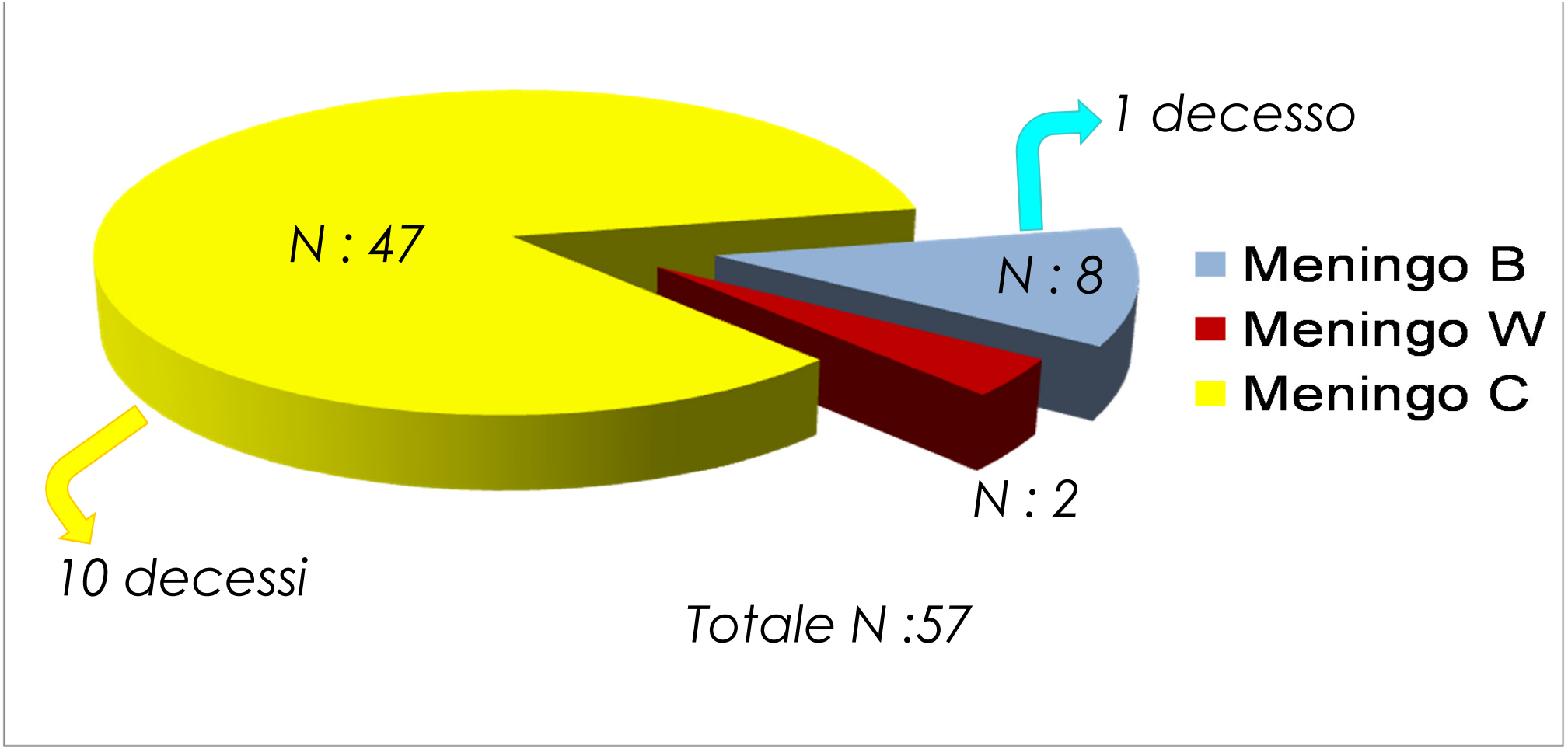
La sequenza di 7 precisi geni correla con la virulenza che è sierotipo indipendente

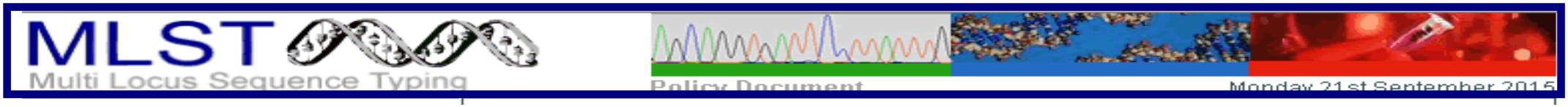
Il genotipo ST11

è marcatamente virulento:

Meningiti Meningococciche in Toscana gennaio 2015- 2016

(aggiornate al 10 giugno 2016)





Multilocus Sequence Typing

tecnica tipizzazione molecolare basata sulla PCR e l'analisi delle sequenze nucleotidiche.

Sequence Typing Complex (ST)

- abcZ
- adk
- aroE
- fumC
- gdh
- pdhC
- pgm

Sono stati identificati 7 "housekeeping genes" (geni costitutivi indispensabili alla sopravvivenza del batterio), nei quali il polimorfismo di alcuni nucleotidi determina variazioni che si traducono in determinati fenotipi che hanno un diverso potenziale patologico e variabile virulenza

Ognuno di questi geni può avere centinaia di mutazioni

Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Mar 17; 95(6): 3140–3145.
Microbiology

PMCID

Outbreak meningococco 2015- 2016

aggiornato al 13.4.2016

Regione Toscana

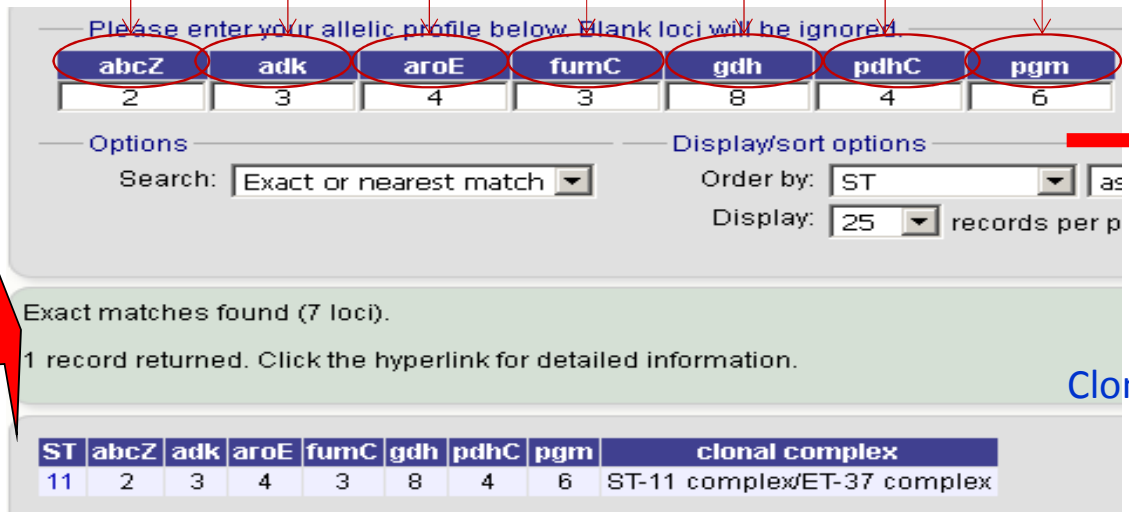
Maggiore virulenza: Clonal Complex ST11

57 casi **Solo 17 positivi in coltura**

8 meningococco B 1dx

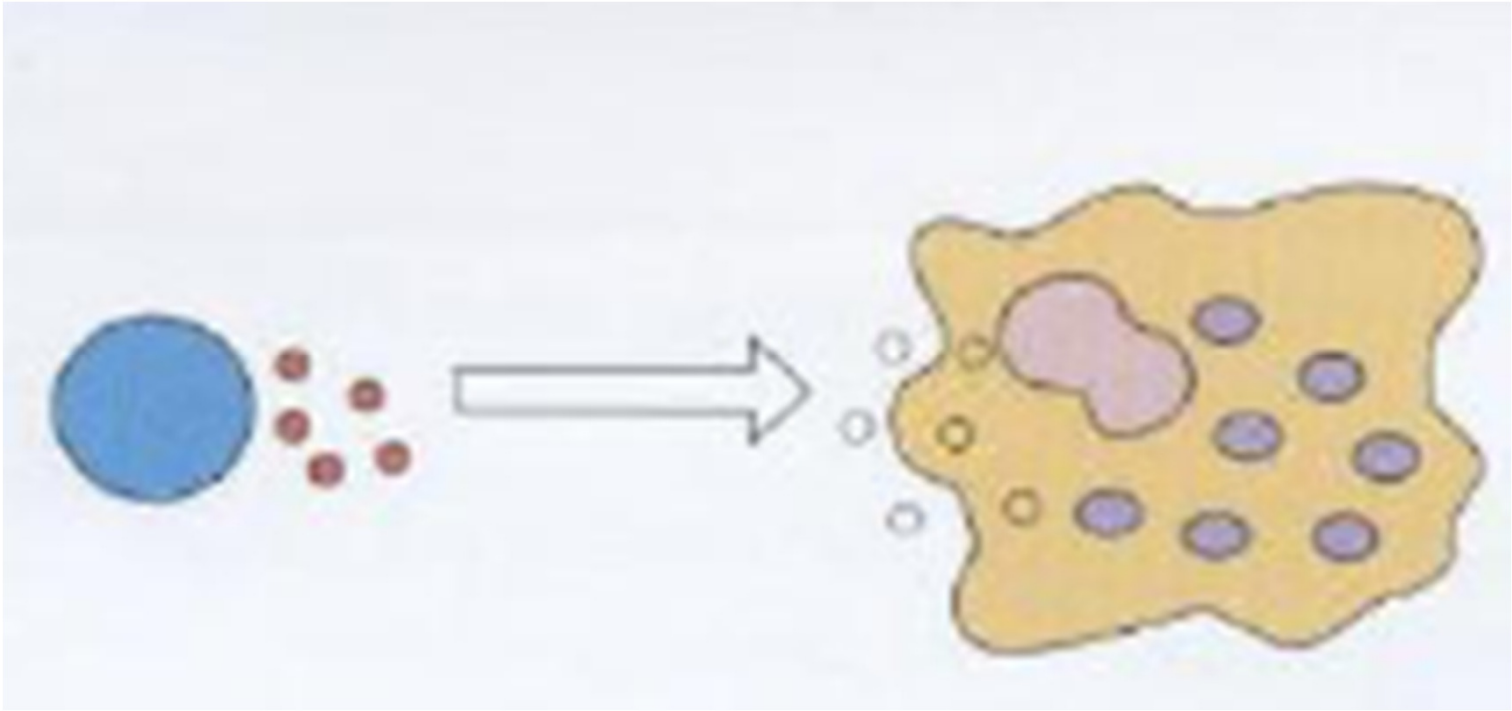
2 meningococco W

47 meningococco C 10 dx



abcZ	2	2
adk	3	3
aroE	4	4
fumC	3	4
gdh	8	8
pdhC	4	4
pgm	6	6
	Sequence Tiping 11	Sequence Tiping 2780
N° casi 45	43	2
Clonal Complex ST	**molto virulento**	**poco virulento**

I microrganismi rilasciano tossine che uccidono il fagocita



Esempio la leucocidina dello stafilococco aureo

Martina 2 mesi

An fam: un fratello adolescente con acne pustolosa.
An fisio: ndn

7 aprile

rinite , disappetenza

irrequietezza

Medico curante: faringite

lavaggi nasali e tachipirina

8 aprile

febbre, disappetenza, irrequietezza

PS: Confermata terapia in atto

10 aprile

rinite , disappetenza

irrequietezza, calo ponderale
Torcicollo

Medico curante: Confermata terapia in atto

ma sospetta S. Sandifer: Ranitidina

Martina 2 mesi

10 aprile ore 14

Grave scadimento delle condizioni generali

Iperpiressia anoressia con calo ponderale

Ricovero c/o Ospedale

Esami ematici

GB 33900/µL, N 84%,

PCR 34.5 mg/dl

Faringotonsillite: inizia Terapia con Ceftriaxone

Il giorno dopo 11 aprile

Aggravamento delle condizioni generali, dispnea ingravescente grave torcicollo

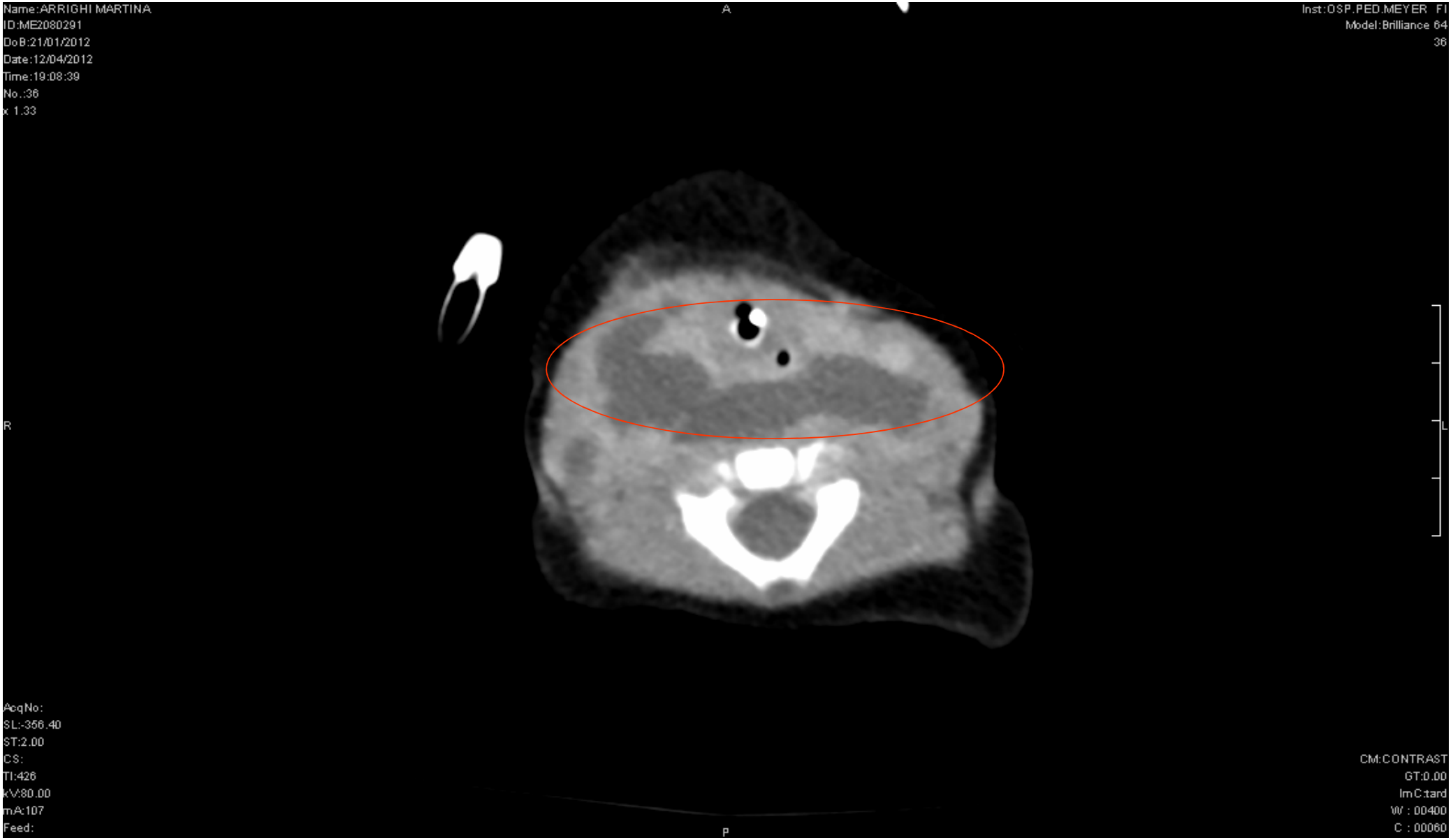
Martina 2 mesi

RX torace : nella norma, Ecografia transfontanellare: ndn

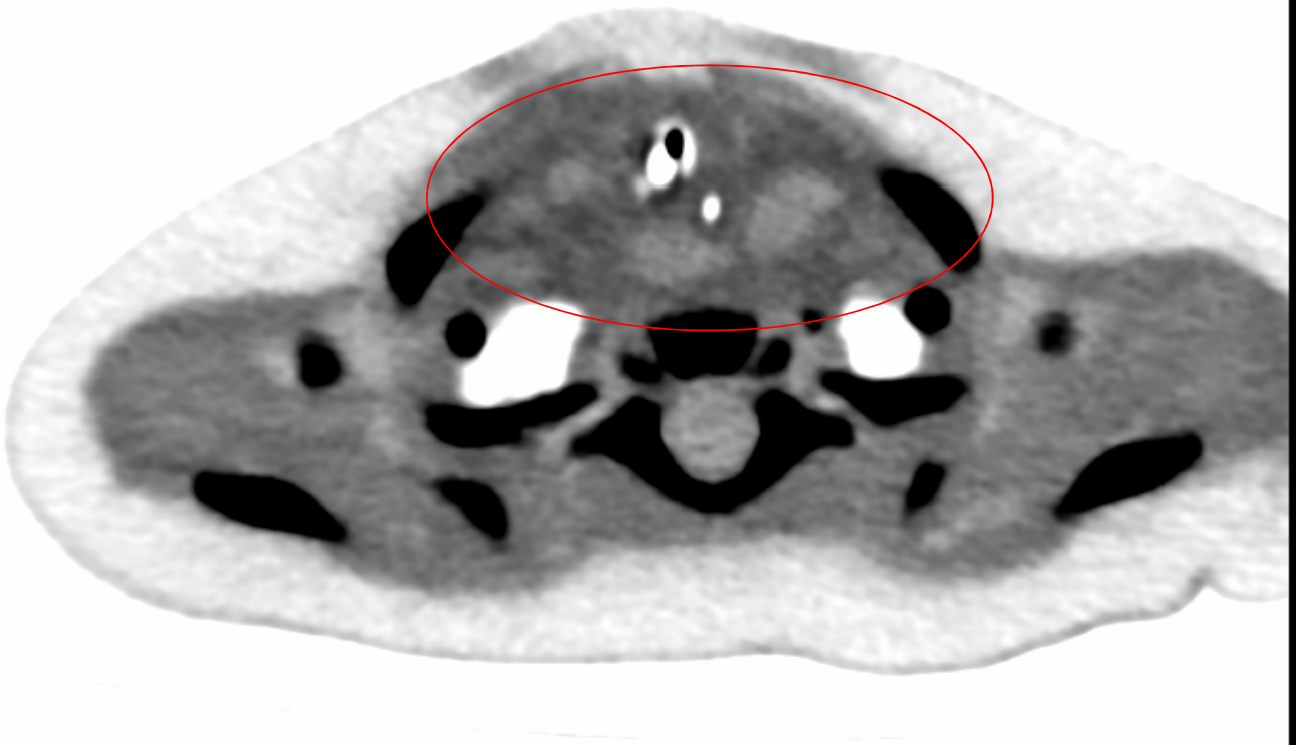
Rachicentesi: liquor limpido, esame batterioscopico e colturale negativo

Tc del collo con mdc : estesa componente fluida ad epicentro nello **spazio retrofaringeo** ad estensione nello **spazio cervicale anteriore, nel compartimento prevertebrale anteriore, in sede laterocervicale e sovraclaveare fino a presentare la sua estremità più caudale nel mediastino anterosuperiore**. Morfologia polilobulata costituita da varie componenti confluenti. **Effetto massa** rispetto alle strutture circostanti ed in particolare la colonna aerea che **dall'ipofaringe alla trachea appare ridotta di calibro**. Deviate le strutture vascolari del collo

Name:ARRIGHI MARTINA
ID:ME2080291
DoB:21/01/2012
Date:12/04/2012
Time:19:05:52
No.:23
x 1.33
Inst:OSP.PED.MEYER FI
Model:Brilliance 64
23
4.85 cm
H
A
P
F
AcqNo:
SL:44.00
ST:2.00
CS:
TI:426
kV:80.00
mA:114
Feed:
CM:
GT:0.00
ImC:SAG
W : 00399
C : 00082


Name:ARRIGHI MARTINA
ID:ME2080291
DoB:21/01/2012
Date:12/04/2012
Time:19:08:39
No.:36
x 1.33
A
Inst:OSP.PED.MEYER FI
Model:Brilliance 64
36
R
L
AcqNo:
SL:-356.40
ST:2.00
CS:
TI:426
kV:80.00
mA:107
Feed:
P
CM:CONTRAST
GT:0.00
ImC:tard
W : 00400
C : 00060

Mediastinite



Martina aveva un ascesso retrofaringeo con linfoadenopatia necrotico colliquativa trasformato in ampia colliquazione e mediastinite

Martina 2 mesi

13 aprile

incisione della fascia bucco-faringea, **fuoriuscita di abbondante pus**

esame colturale materiale purulento di drenaggio → **POSITIVO per *Stafilococco aureus***

Esame colturale aerobi

POSITIVO

N.B. In questo materiale si ricercano, in assenza di richiesta specifica, batteri aerobi e miceti a rapida crescita.

POSITIVO

	Microorganismo	*Carica*
1	Staphylococcus aureus	>100000 UFC/ ml

Antibiogramma

ANTIBIOTICI	1	
Clindamicina	S	<=0.25
Daptomicina	S	0.25
Eritromicina	S	<=0.25
Fosfomicina	S	<=8
Acido Fusidico	S	<=0,5
Gentamicina	S	<=0,5
Levofloxacin	S	<=0.12
Linezolid	S	1
Nitrofurantoina	S	<=16
Rifampicina	S	<=0,5
Teicoplanina	S	<=0,5
Tetraciclina	S	<=1
Tigeciclina	S	<=0.12
Trimetoprim/Sulfam.	S	<=10
Vancomicina	S	<=0,5
Penicillina G	R	>=0,5
Oxacillina	S	<=0.25

Stafilococco aureus MRSA

Esame colturale aerobi

POSITIVO

N.B. In questo materiale si ricercano, in assenza di richiesta specifica, batteri aerobi e miceti a rapida crescita.

POSITIVO

	Microorganismo	*Carica*
1	Staphylococcus aureus	>100000 UFC/ ml

IDENTIFICAZIONE BATTERICA MOLECOLARE

PCR Specie-Specifica

L'ISOLATO E' RISULTATO POSITIVO AL TEST MOLECOLARE PER LA RICERCA DI GENI PER LA PRODUZIONE DI LEUCOCIDINA DI PANTON-VALENTINE.

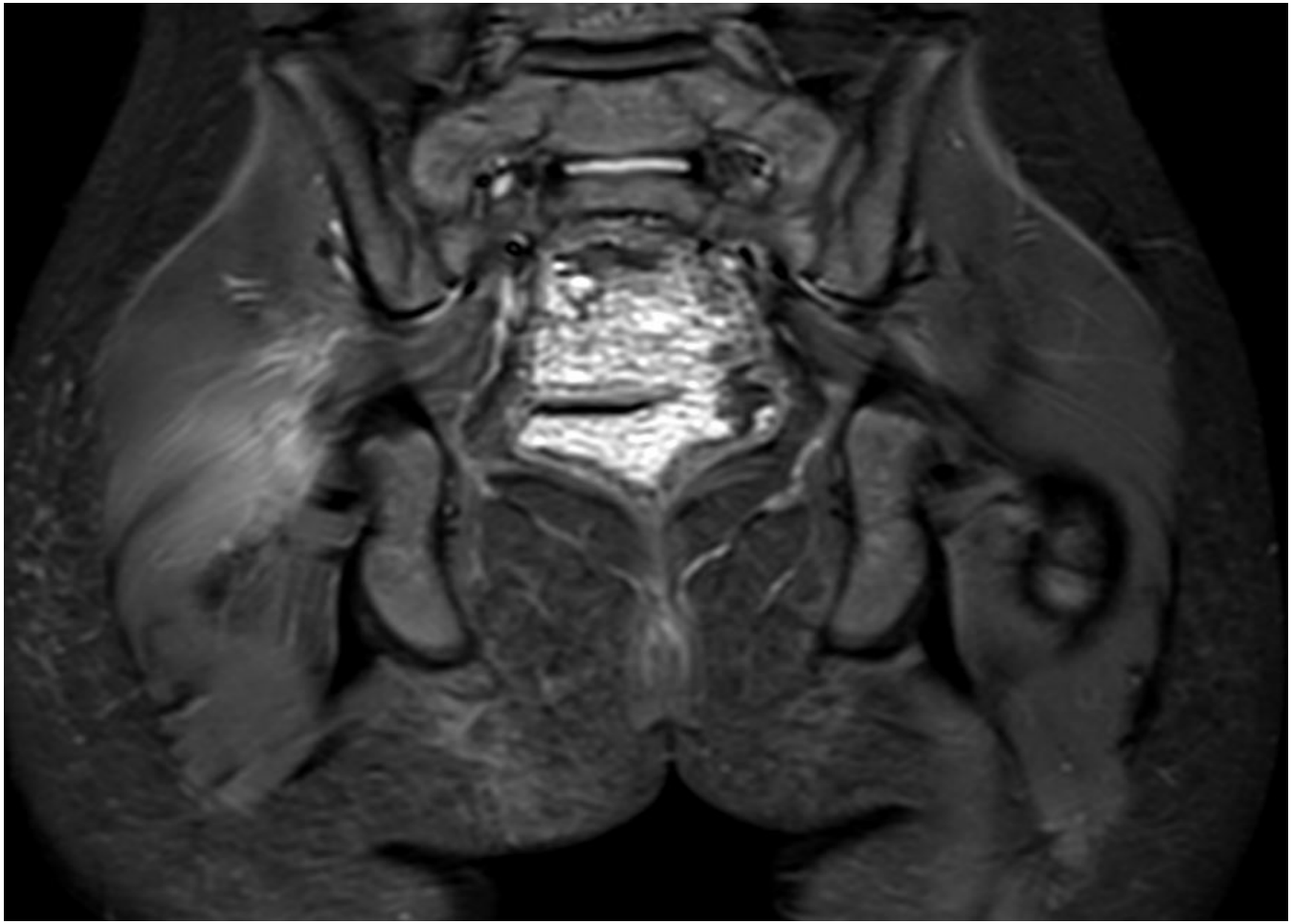
Barbara 4 a

Foruncolosi agli arti

Presentazione clinica: febbre e rifiuto della deambulazione

RMN: PIOMIOSITE GLUTEA DESTRA

RT-PCR: Stafilococco MR PVL +



Samuele, 19 mesi

Padre con storia di foruncolosi ricorrente

Presentazione clinica: stipsi, successiva comparsa di zoppia con andatura anserina e rifiuto alla flessione del rachide
Febbre elevata leucocitosi e PCR++

RMN: SPONDILODISCITE L3-L4

RT-PCR: Stafilococco MR PVL +

stafilococco aureo

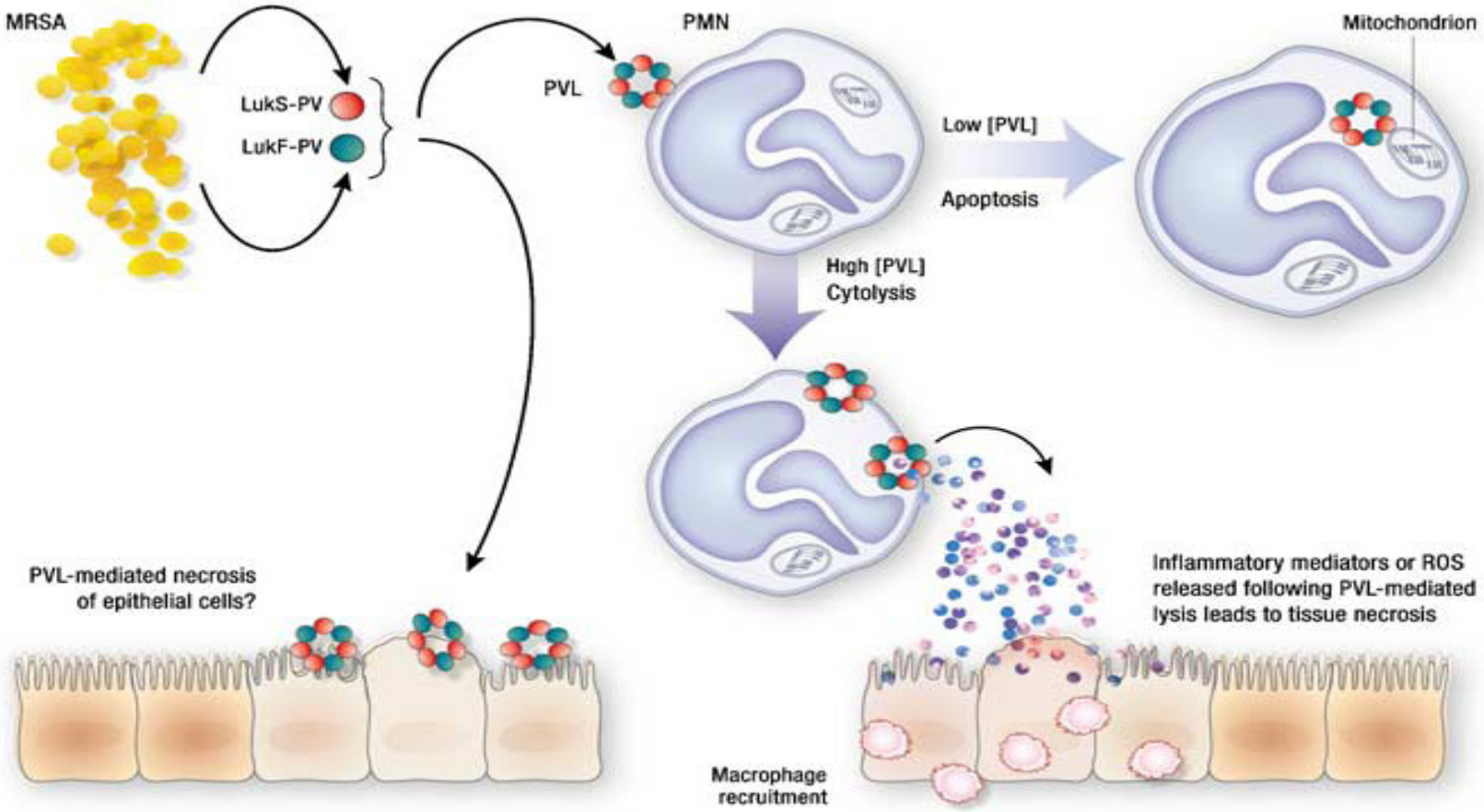
Fattori di virulenza:

Esotossine
- Emolisine α, β, γ
- Leucocidine (Panton- Valentine)
- Enterotossine
- Tossina dello shock tossico (TSS-1)
- Tossine pirogene

Esoenzimi
- Coagulasi
- Stafilochinasi
- Ialuronidasi
- Proteasi
- Enzimi lipolitici
- DNAsi

Proteine
- Capsula
- Proteina A
- Catalasi
- Superossido dismutasi

Fattori di virulenza:
Leucocidina di Panton-Valentine (PVL)



Boyle-Vavra S, Daum R, Laboratory Investigation 2007.

più frequenti negli stafilococchi acquisiti in comunità

stafilococco: la resistenza agli antibiotici e virulenza

acquisiti in comunità

acquisiti in ospedale

assente	pressione selettiva da antibiotici : acquisizione e scambio di resistenze	forte
vuoto	zainetto contenente elementi genetici mobili	pieno
molto	spazio libero per acquisire fattori di virulenza	poco

Tutti questi bambini hanno infezione da stafilococco aureo PVL+ , ma all'anamnesi cosa hanno in comune ?

Martina 2 mesi fratello adolescente con acne pustolosa

Barbara 4 a foruncolosi agli arti

Samuele, 19 mesi padre con storia di foruncolosi ricorrente

La presenza di ***foruncolosi ricorrente*** in famiglia o nel piccolo paziente correla con la probabilità di una infezione da **Stafilococco Panton Valentine Positivo**

fimp Federazione Italiana Medici Pediatri

VACCINI E VACCINAZIONI

massimo resti

NAPOLI
11 giugno 2016

Sessione sui "cocchi"

Conoscere per combattere: su questo ci giochiamo la partita

Conoscere le strategie dei "cocchi" per farci ammalare e applicare le strategie degli umani per non farsi invadere dai "cocchi"

...grazie per la vostra attenzione

Vaccinando su e giù per lo stivale

2ª edizione