

**UNIVERSIDAD de BUENOS AIRES
FACULTAD de MEDICINA**



**Departamento de Microbiología, Parasitología e
Inmunología**

Microbiología I - General

**Seminario 3
Patogenicidad bacteriana II**

CÁTEDRA 1

OBJETIVO

Reconocer los distintos **factores de patogenicidad** bacterianos que pueden causar daño al huésped durante la infección.

Bacteria

**Liberación de toxinas y exoenzimas
Invasión tanto de células fagocíticas
como no fagocíticas.**



DAÑO



Huésped

**Respuesta inflamatoria producida
por el sistema inmune.**

TOXINAS BACTERIANAS

- DEFINICIÓN :

-Son moléculas que **alteran** el metabolismo, la fisiología o la estructura de las **células** del huésped.

- LOCALIZACIÓN:

- a) Estructurales (ENDOTOXINA).
- b) Secretables y/o exportables (EXOTOXINAS).

Las **exoenzimas**, como la colagenasa o hialuronidasa, que degradan la matriz extracelular, **no se consideran toxinas** porque **no dañan las células** del huésped. Son factores de diseminación.

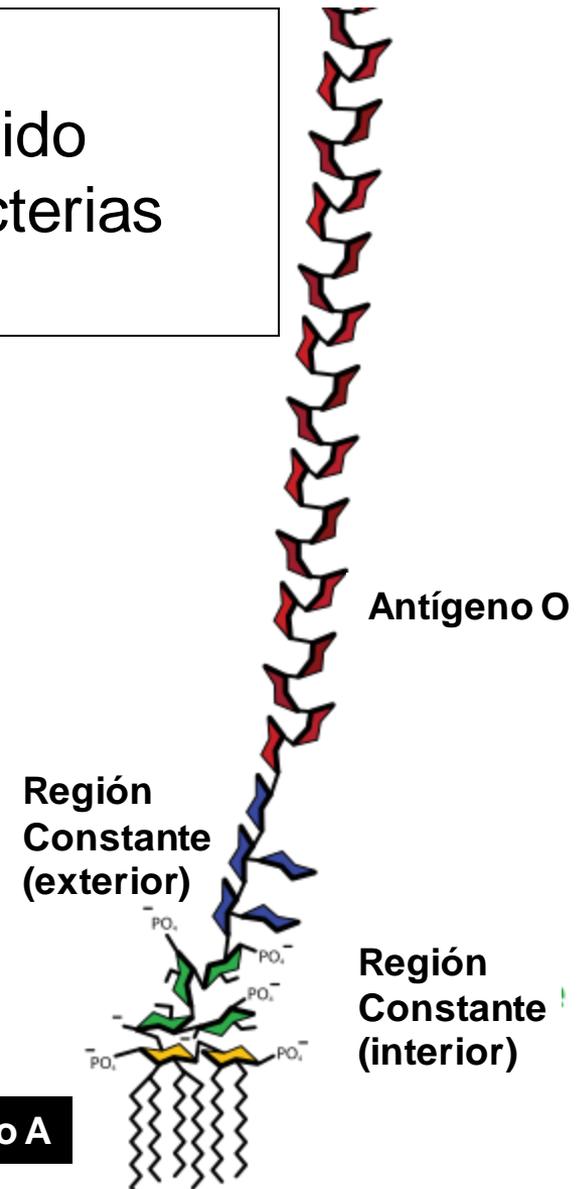
ENDOTOXINA BACTERIANA

Fracción lipídica que forma parte del lipopolisacárido (LPS) y del lipooligosacárido (LOS) de la membrana externa de las bacterias gram-negativas.

- Actúa a nivel de diversas células (especialmente macrófagos)
- Se une al TLR4
- Induce liberación de citoquinas.

Induce respuesta inflamatoria

Potente inductor de sepsis



EXOTOXINAS

Según su sitio de acción se pueden agrupar en:

- **Toxinas que actúan desde la superficie celular alterando la señalización intracelular**

- **Toxinas que afectan la membrana plasmática**

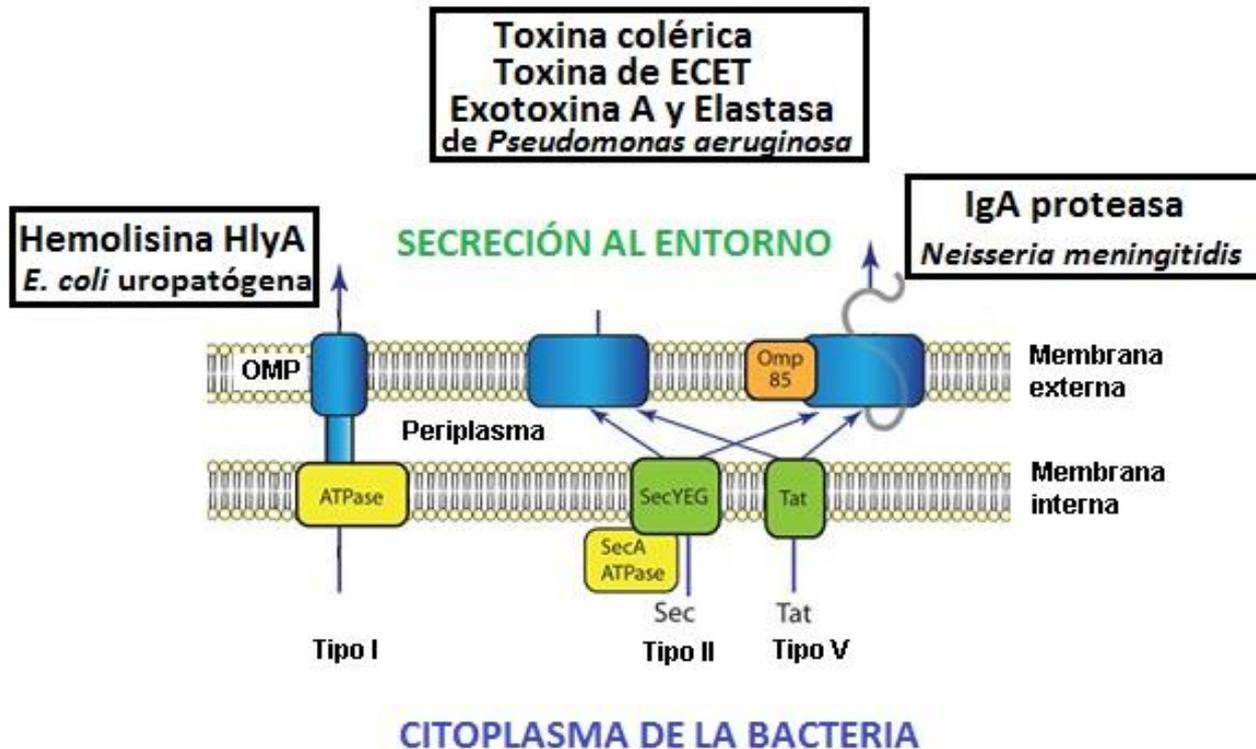
Por destrucción directa de fosfolípidos y otras estructuras.

Por formación de poros

- **Toxinas que requieren internalización o toxinas A/B : el sitio blanco de acción es intracelular**

¿Cómo se secretan las toxinas?

Algunas se liberan directamente al medio externo



¿Cómo se secretan las toxinas?

Algunas son secretadas directamente al interior de la célula eucariota

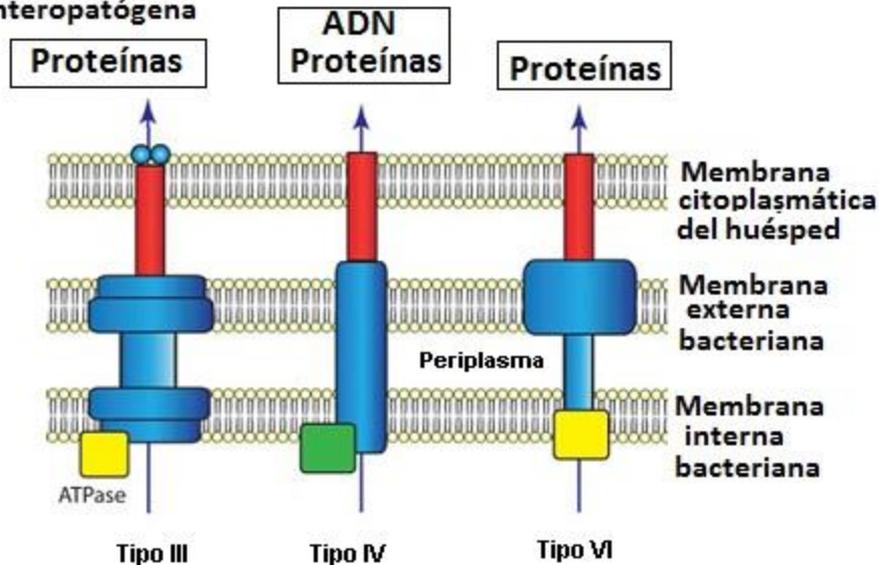
CITOPLASMA DE LA CÉLULA EUCARIOTA

Salmonella spp.

Shigella spp.

E. coli enteropatógena (ECEP)

Otros



CITOPLASMA DE LA BACTERIA

El picnic de fin de año ha tenido muchos problemas!!!

Micaela y sus amigas deciden irse de **picnic** nuevamente para festejar el fin de curso. Allí, Micaela, pisa un **elemento filoso** que le lastima el pie y le produce una **herida cortante** de 7 cm de longitud y aproximadamente 3 cm de profundidad. Sale corriendo asustada y, al estar descalza, **la herida se contamina** con tierra!

¿Puede infectarse esta herida? ¿Qué factores deben considerarse como de riesgo para que se produzca la infección?

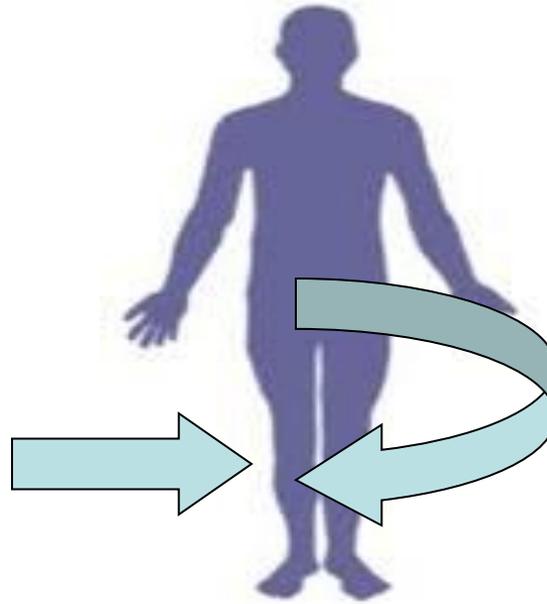
- Ruptura de la barrera cutánea (barrera inmunológica)
- Herida profunda (afecta piel y tejido celular subcutáneo) y sucia (genera condiciones adecuadas para la multiplicación de algunos microorganismos)

¿De dónde podrían provenir las bacterias que infectan esta herida?

Del ambiente: suelo, agua, tierra, etc.: **EXOGENAS**.

Ejemplos:

Pseudomonas aeruginosa
- *Clostridium perfringens*
- *Clostridium tetani*.



De la propia flora normal o colonizantes de la piel:

ENDOGENAS

Ejemplo:

- *Staphylococcus aureus*

¿Cómo podrían causar daño las bacterias que infectan esta herida?

PRODUCIENDO TOXINAS!

Que pueden actuar localmente o a distancia del sitio de la infección

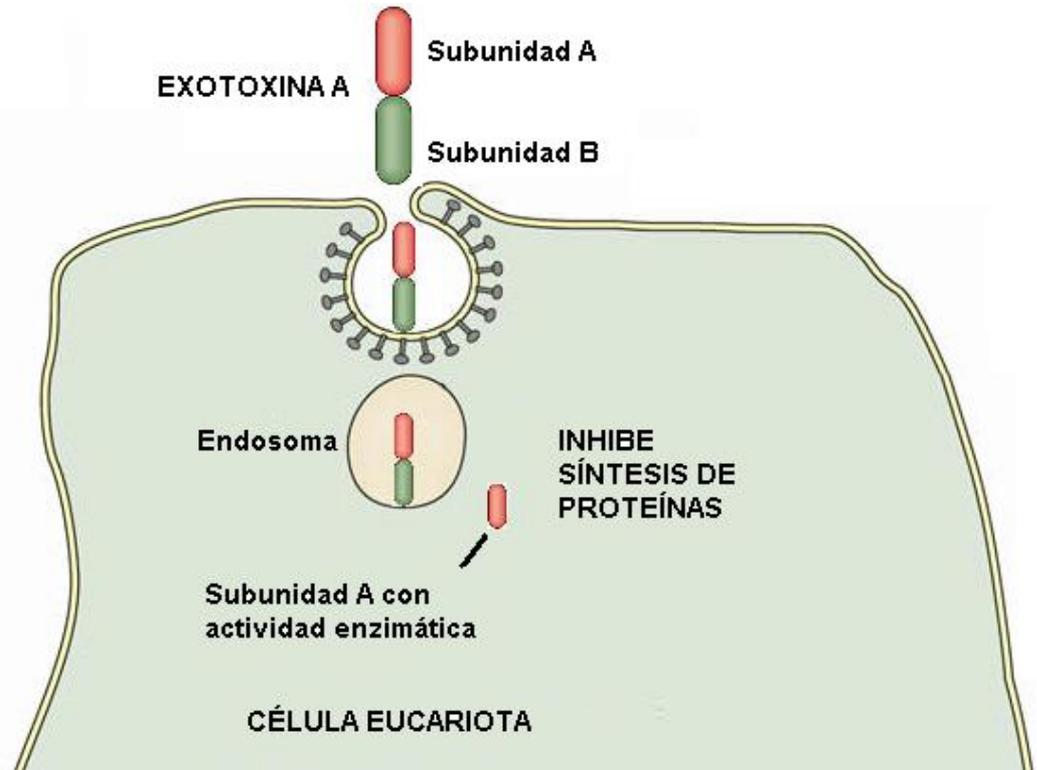
Pseudomonas aeruginosa

(causa infecciones de heridas y en quemados, entre otras patologías)

Exotoxina A: Se libera al entorno mediante un sistema de secreción tipo II

Toxina tipo A/B con función **ADP-ribosilante**.

Actúa sobre el factor de elongación 2 (EF-2) inhibiendo la síntesis de proteínas.



Las toxinas tipo A/B de los distintos patógenos pueden tener diferente número de subunidades B

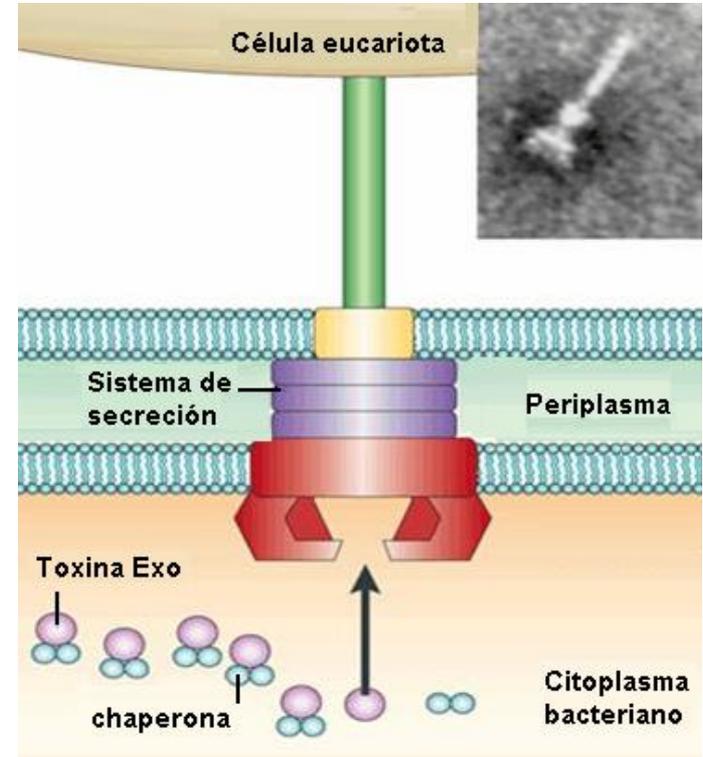
Pseudomonas aeruginosa

(causa infecciones de heridas y en quemados, entre otras patologías)

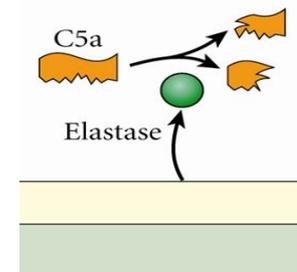
Toxinas Exo :

Son cuatro proteínas con diferentes actividades: ExoU (fosfolipasa), ExoY (adenilato ciclasa), ExoS y ExoT.

No se liberan al entorno, sino que son inyectadas directamente a la célula huésped mediante un sistema de secreción tipo III



Actividad de elastasa: la elastasa se considera UNA EXOENZIMA no daña células
Degrada proteínas del complemento.

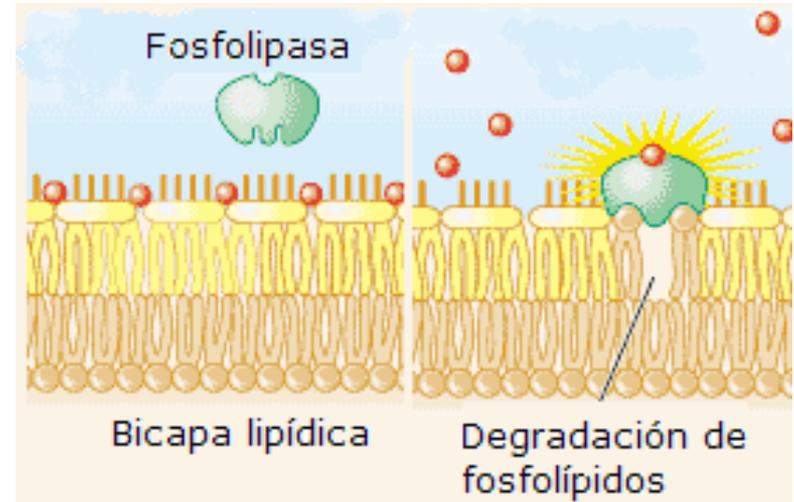


Clostridium perfringens

(causa gangrena gaseosa, entre otras patologías)

-**Toxina α** : tiene múltiples capacidades, entre ellas, actividad de fosfolipasa, destruye los fosfolípidos de la membrana citoplasmática.

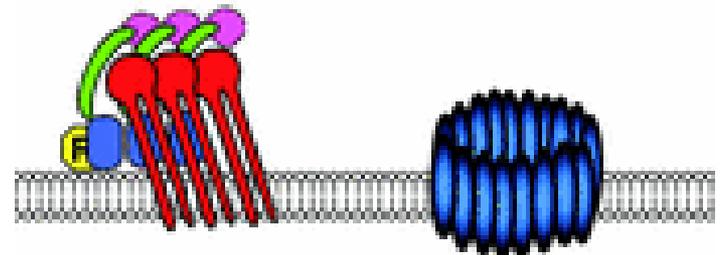
Se liberan al entorno



Acción directa sobre la membrana

-**Perfringolisina O**: es una toxina citolítica, colesterol dependiente, formadora de grandes poros que se secreta al entorno extracelular.

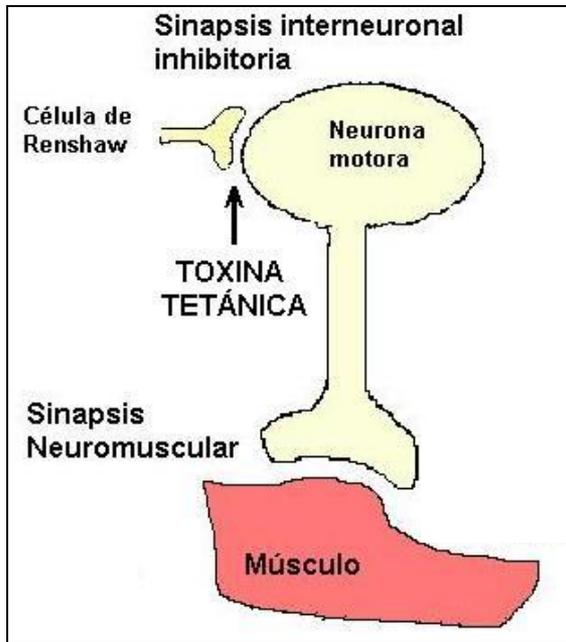
-Se liberan al entorno



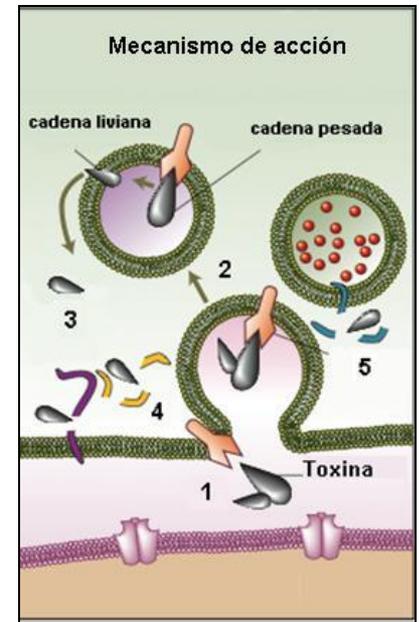
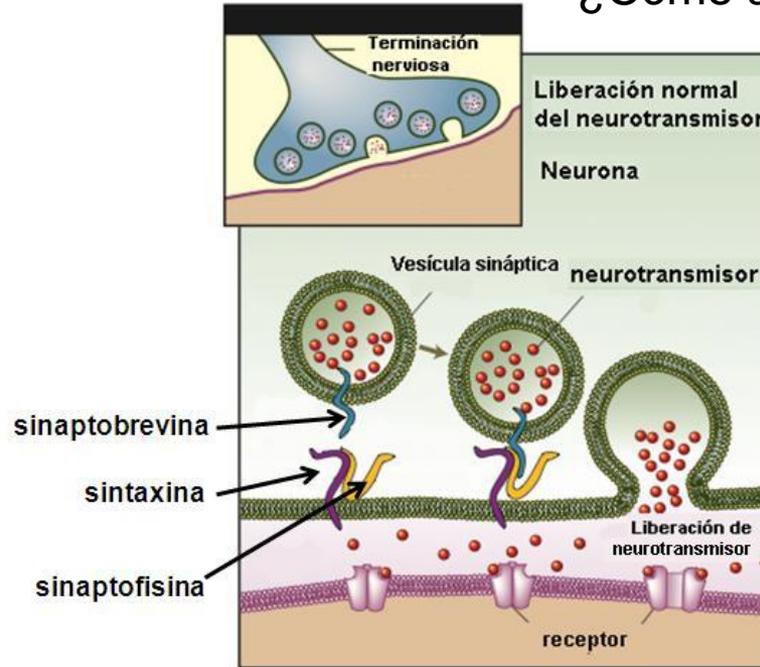
Clostridium tetani

Toxina tetánica (tetanospasmina): Neurotoxina que genera parálisis espástica. Inactiva a las proteínas que intervienen en la liberación de los neurotransmisores a nivel de las células inhibitorias de las neuronas motoras.

¿Dónde actúa la toxina?



¿Cómo actúa la toxina?



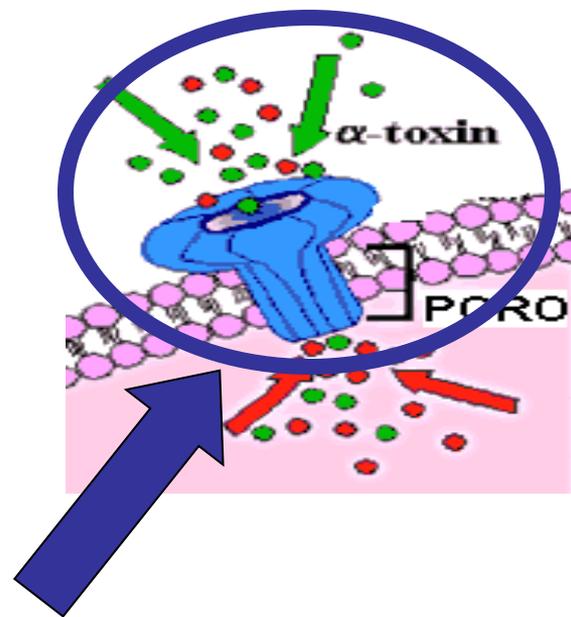
La **herida de Micaela** pudo haberse infectado por bacterias de su propia microbiota (bacterias **endógenas**).

Staphylococcus aureus

(causa infecciones de piel y tejidos blandos, entre otras numerosas patologías)

Alfa-toxina: forma pequeños poros en la membrana de los eritrocitos y otras células eucariotas.

Se libera al entorno



Dos días más tarde, surgieron nuevos problemas. Tres de sus amigas, Rita, Silvina y Sol, comenzaron a sentir un **fuerte malestar gastrointestinal y diarreas**. Entonces, recuerdan que durante el picnic **comieron asado y ensalada**. Como en el lugar donde acampaban había un **aljibe**, utilizaron agua del mismo para lavar la verdura y preparar jugos de fruta.

¿Podría estar relacionado este cuadro con los alimentos consumidos en el picnic? ¿Cuáles son los factores de riesgo?

Obviamente sí. El consumo de alimentos crudos (ensalada) lavados con agua de pozo donde no está garantizada la potabilidad es de alto riesgo. Lo mismo corre para el jugo de frutas. Por último, que sean **tres las personas que compartieron la comida** y poseen el **mismo cuadro** es altamente sospechoso.

¿De dónde podrían provenir las bacterias que producen infecciones en este sitio?

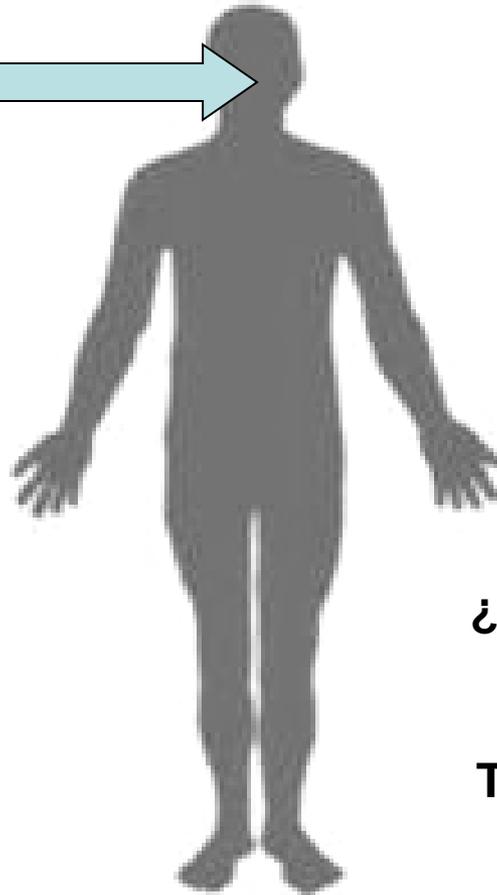
Por vía digestiva: agua y alimentos contaminados

EXOGENAS

(muy posible en este caso)

Ejemplos:

- E. coli* enterotoxigénica
- E. coli* enterohemorrágica
- Shigella dysenteriae*



¿Cómo podrían producir daño?

Nuevamente, produciendo **TOXINAS** que actúan localmente o a distancia

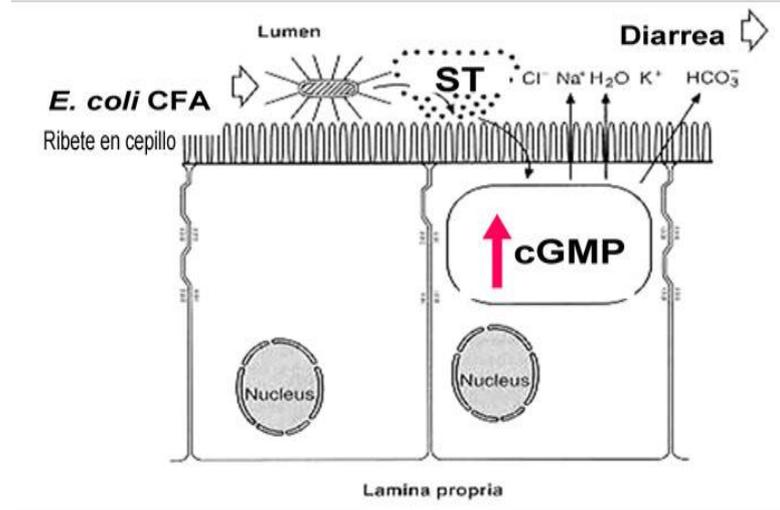
E. coli enterotoxigénica

(causa diarrea del viajero)

-Toxina termoestable (ST) (actúa en la superficie celular)

Se une a la guanilato ciclasa y causa el aumento del cGMP. Induce secreción de líquido y electrolitos: diarrea acuosa.

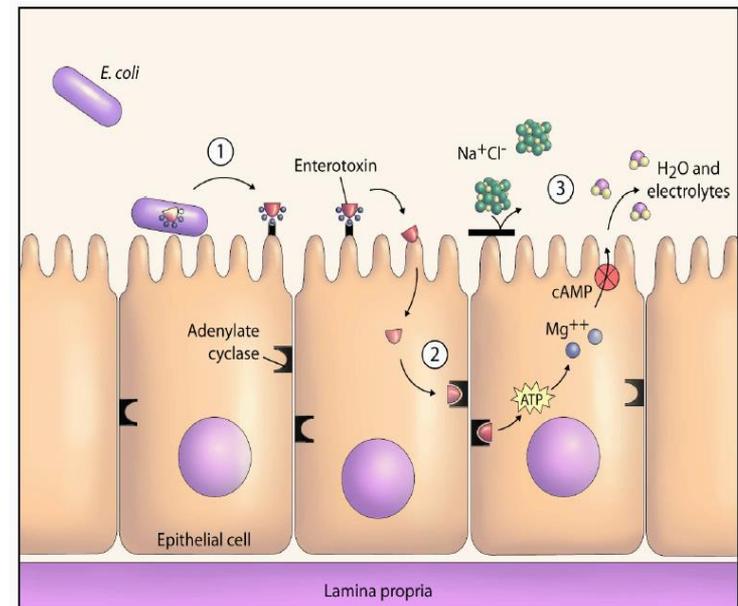
Se libera al entorno



-Toxina termolábil (LT) (toxina A/B)

ADP-ribosila la proteína G (segundo mensajero). Esto produce aumento del AMPc y pérdida de fluidos y electrolitos: diarrea acuosa

Se libera al entorno

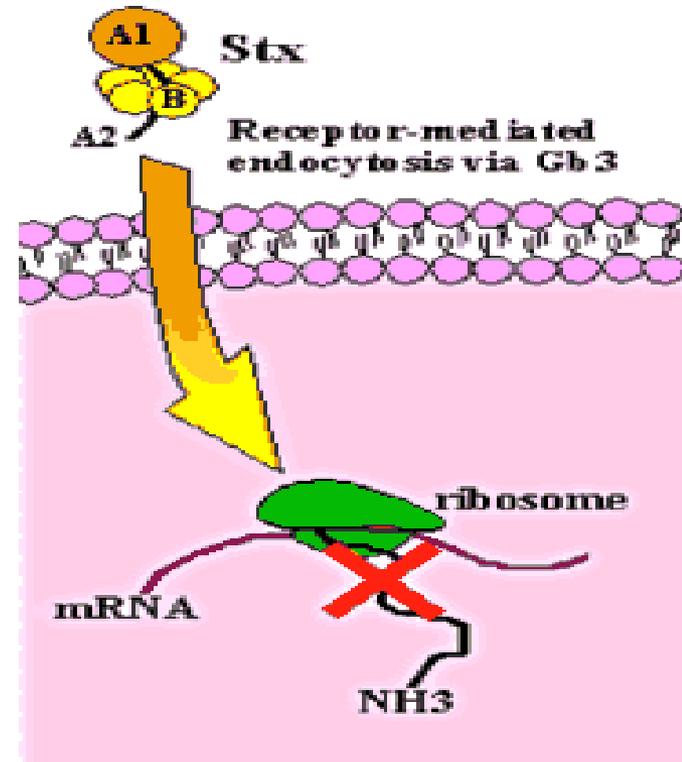


Shigella dysenteriae (causa disentería) y *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) (causa hemorrágica)

Toxina de Shiga y toxinas simil Shiga

Son toxinas tipo A/B que tienen actividad de N-glicosidasa sobre el ARN ribosomal 28S, inhibiendo la síntesis de proteínas

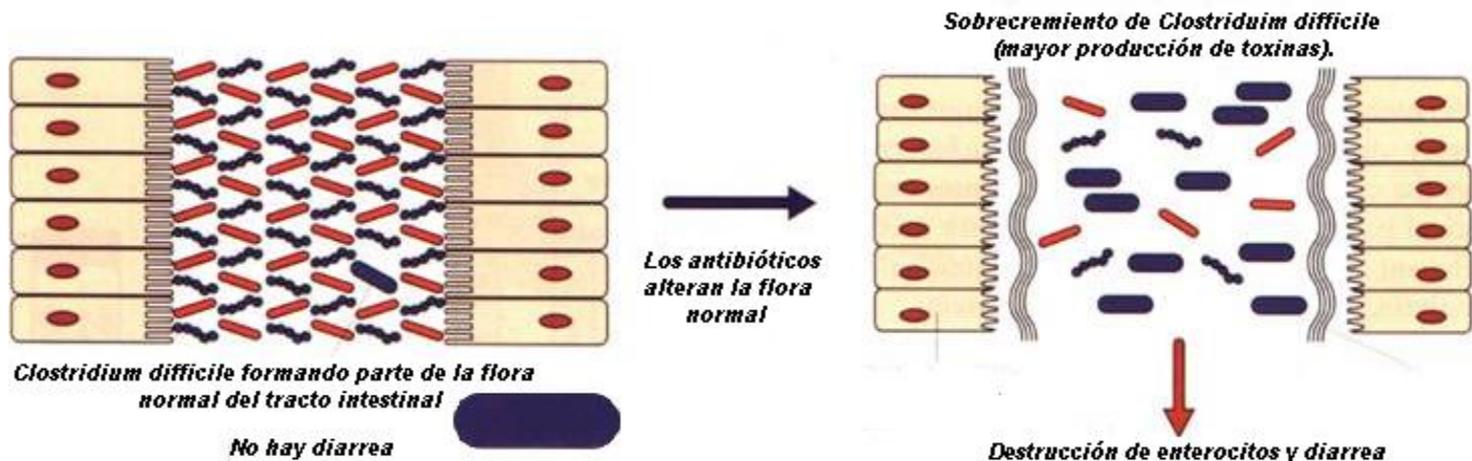
Se liberan al entorno y pasan a circulación.



Dos de las amigas de Micaela se repusieron rápidamente del cuadro diarreico. Sin embargo, **la tercera sufrió un principio de deshidratación** que requirió la internación por 24 horas en el **hospital**. Allí, ella y su madre conversan con un familiar de la paciente que se encuentra en la cama contigua, quien cuenta que está internado por sufrir diarrea con mucha inflamación. Les comenta que le están **administrando antibióticos** desde hace 2 semanas y que los médicos le dijeron que podrían ser la causa de su **diarrea**.

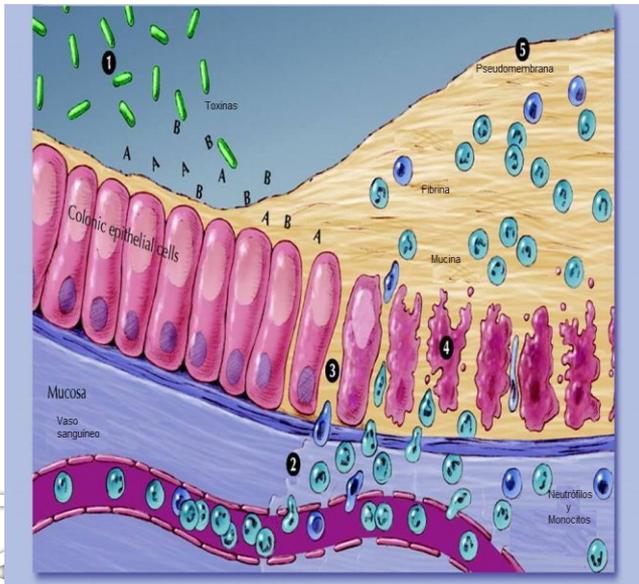
¿Cuál podría ser el microorganismo involucrado y como ingresó al tracto digestivo del paciente?

Probablemente *Clostridium difficile* sea el causante de la patología: infección endógena por el desarreglo de la flora normal que producen los antibióticos.

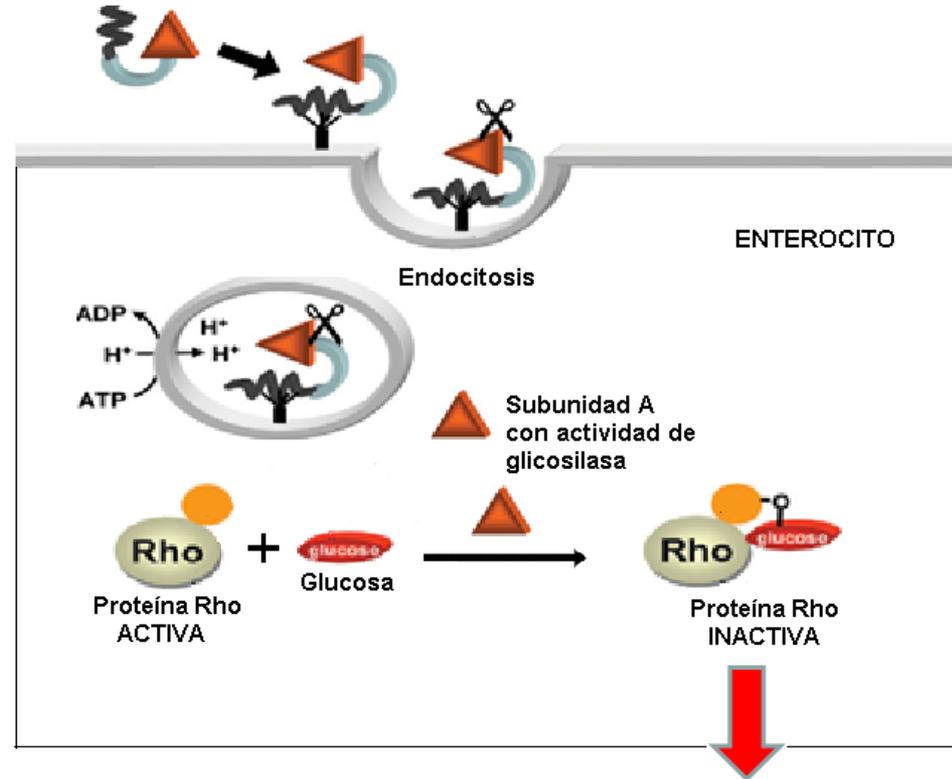


Clostridium difficile tiene dos toxinas: TcdA y TcdB

TcdA y TcdB : son toxinas glicosil-transferasas tipo A/B que ADP-glicosilan proteínas llamadas Rho-GTPasas y las inactivan.



Toxinas tipo A/B



La inactivación de Rho-GTPasas implica múltiples alteraciones en el metabolismo celular. Una de las más importantes es la despolimerización de los filamentos de actina y la disrupción del citoesqueleto, lo que lleva a la muerte celular.

Resumiendo

	MECANISMO DE ACCION ESPECIFICO	EJEMPLOS (VISTOS EN EL SEMINARIO)
TOXINAS QUE ACTUAN SOBRE LA SUPERFICIE CELULAR ALTERANDO LA SEÑALIZACION INTRACELULAR		
	INTERACCION CON CELULAS NO INMUNES	- Toxina ST de ETEC
TOXINAS QUE ACTUAN SOBRE LA MEMBRANA PLASMATICA	DESTRUCCION DIRECTA DE ESTRUCTURAS DE MEMBRANA	- Alfa-toxina (<i>Clostridium perfringens</i>)
	FORMACION DE POROS	-Perfringolisina (<i>Clostridium perfringens</i>) -Alfa-toxina (<i>S. aureus</i>) -
TOXINAS INTERNALIZABLES (TIPO A/B)	CON ACTIVIDAD ADP – RIBOSILANTE SOBRE FACTOR DE ELONGACION-2	-ExoA de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CON ACTIVIDAD ADP-RIBOSILANTE SOBRE SEGUNDOS MENSAJEROS (PROTEINA G)	-Toxina LT de ETEC
	CON ACTIVIDAD n-GLICOSIDASA SOBRE r-RNA	-Toxina Shiga y símil Shiga (EHEC)
	CON ACTIVIDAD DE NEUROTOXINA	-Toxina tetánica
	CON ACTIVIDAD DE DEPOLIMERIZACIÓN	- TcdA y TcdB de <i>Clostridium difficile</i>

Bibliografía recomendada

- Microbiología Médica de Murray y col. 2016. Capítulo 14.
- Bacteriología Médica de Sordelli y col. 2006. Capítulo 6.

Consultas: ccerquetti@yahoo.com.ar

**UNIVERSIDAD de BUENOS AIRES
FACULTAD de MEDICINA**



**Departamento de Microbiología, Parasitología e
Inmunología**

Microbiología I - General

MUCHAS GRACIAS

CÁTEDRA 1

Cuestionario de Autoevaluación

En todas los casos señale la opción **CORRECTA** (puede haber más de una o ninguna).
Justifique cuando una opción es **INCORRECTA**

1. Las toxinas bacterianas pueden actuar sobre la célula eucariota a través de los siguientes mecanismos:

- a) Generando una disrupción del citoesqueleto.
- b) Induciendo la liberación de citoquinas.
- c) Degradando fibrinógeno.
- d) Actuando a nivel del ARN ribosomal.
- e) Induciendo la formación de poros sobre la membrana plasmática.
- f) Disminuyendo los niveles de AMPc intracelular.
- g) Degradando las sinaptobrevinas.
- h) Interactuando con células no inmunes.
- i) Degradando proteínas de complemento.
- j) Degradando moléculas de colágeno.

2. Respecto de las endotoxinas bacterianas:

- a) El lipopolisacárido (LPS) es una endotoxina privativa de las bacterias gramnegativas.
- b) El lipooligosacárido (LOS) no se considera endotoxina verdadera.
- c) LPS y LOS son inductores de sepsis.
- d) Las propiedades tóxicas del LPS están en el lípido A que se une al receptor TLR4.
- e) Las propiedades tóxicas del LOS están en el lípido A que se une al receptor TLR4.
- f) El LOS carece de lípido A.
- g) El LOS carece de antígeno O con la consecuente pérdida de su capacidad tóxica.
- h) El peptidoglicano es una endotoxina.
- i) El LOS se considera un factor de diseminación.
- j) LOS y LPS se consideran toxinas secretables.

3. Respeto de las exotoxinas bacterianas:

- a) Pueden ser secretadas directamente al medio externo.
- b) Pueden ser inyectadas dentro de una célula eucariota mediante sistemas de secreción.
- c) El blanco de acción siempre es una célula del hospedador.
- d) Pueden degradar IgA.
- e) Todas las toxinas actúan localmente (en el sitio de infección).
- f) Algunas toxinas degradan componentes de la matriz extracelular.
- g) Algunas toxinas actúan a distancia del sitio de infección.
- h) Las toxinas pueden ser neutralizadas por anticuerpos específicos.
- i) Algunas toxinas tienen actividad de fosfolipasa.
- j) Pueden actuar de manera sinérgica.

4. Respeto de las toxinas tipo A/B:

- a) Afectan la integridad de la membrana plasmática.
- b) Requieren internalización ya que el sitio blanco de acción es intracelular.
- c) La subunidad A puede actuar desde la superficie celular alterando cascadas de señalización.
- d) La subunidad B de estas toxinas se une a receptores de la célula del hospedador.
- e) La subunidad A es la que tiene actividad tóxica.
- f) Las toxinas A/B pueden producir daño por insertar subunidades proteicas en la membrana celular induciendo la formación de poros.
- g) Una misma especie bacteriana puede secretar toxinas con distintos blanco de acción.
- h) Las toxinas A/B por su tamaño no pueden pasar a circulación y actuar a distancia del sitio de infección.
- i) La Toxina de Shiga es un ejemplo de toxina tipo A/B.
- j) Las toxinas tipo A/B pueden tener diferente número de subunidades B.
- k) La Toxina tetánica es un ejemplo de toxina tipo A/B.

5. Respecto de las exoenzimas:

- a) Son consideradas “factores de diseminación”.
- b) Degradan componentes de la matriz extracelular.
- c) Actúan degradando proteínas citoplasmáticas del hospedador.
- d) Pueden degradar IgA.
- e) Pueden degradar factores del complemento.
- f) Tienen actividad enzimática sobre los fosfolípidos de la membrana citoplasmática.
- g) Facilitan la llegada de la bacteria a sitios distantes del foco de infección.
- h) Alteran el metabolismo de la célula hospedadora.
- i) La hialuronidasa es una exoenzima.

6. Respecto de la toxina tetánica:

- a) Se considera una neurotoxina.
- b) Es liberada por *Clostridium tetani* mientras se multiplica en la herida contaminada.
- c) Viaja por vía axonal retrógrada.
- d) Puede ser liberada por *Clostridium tetani* cuando la bacteria alcanza el sistema nervioso.
- e) La tetanoespasmina inhibe la liberación de neurotransmisores inhibitorios (GABA y glicina) generando parálisis espástica (contracción permanente)
- f) Es una toxina que actúa a distancia del sitio de inoculación.
- g) Inactivan a las proteínas que intervienen en la liberación de los neurotransmisores.
- h) La toxina tetánica se utiliza como vacuna.

7. Acerca de las siguientes asociaciones entre toxinas bacterianas, especies que las producen y su mecanismo de acción (las tres deben coincidir):

- a) Toxina botulínica / *Clostridium botulinum* / inhibición de la síntesis proteica.
- b) Toxina símil-Shiga / *E. coli* entero hemorrágica / inhibición de la síntesis proteica.
- c) TcdA y TcdB / *Clostridium perfringens* / esfingomielinasa.
- d) Alfa-toxina / *Staphylococcus aureus* / formación de poros en la membrana eucariota.
- e) Toxina de Shiga / *Shigella dysenteriae* / Aumento del AMPc intracelular.
- f) Perfringolisina O / *Clostridium perfringens* / Formación de poros.
- g) TcdA / *Clostridium difficile* / Disrupción del citoesqueleto.
- h) LPS / *Escherichia coli* / Alteración de filamentos de actina.
- i) Elastasa / *Pseudomonas aeruginosa* / Degradación de proteínas de complemento.
- j) Exotoxina pirogénica (SpeA) / *Streptococcus pyogenes* / shock tóxico