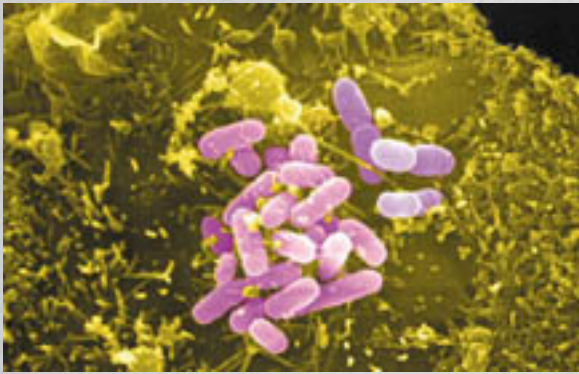


# “Specijalna mikrobiologija”



# Trougao infekcije

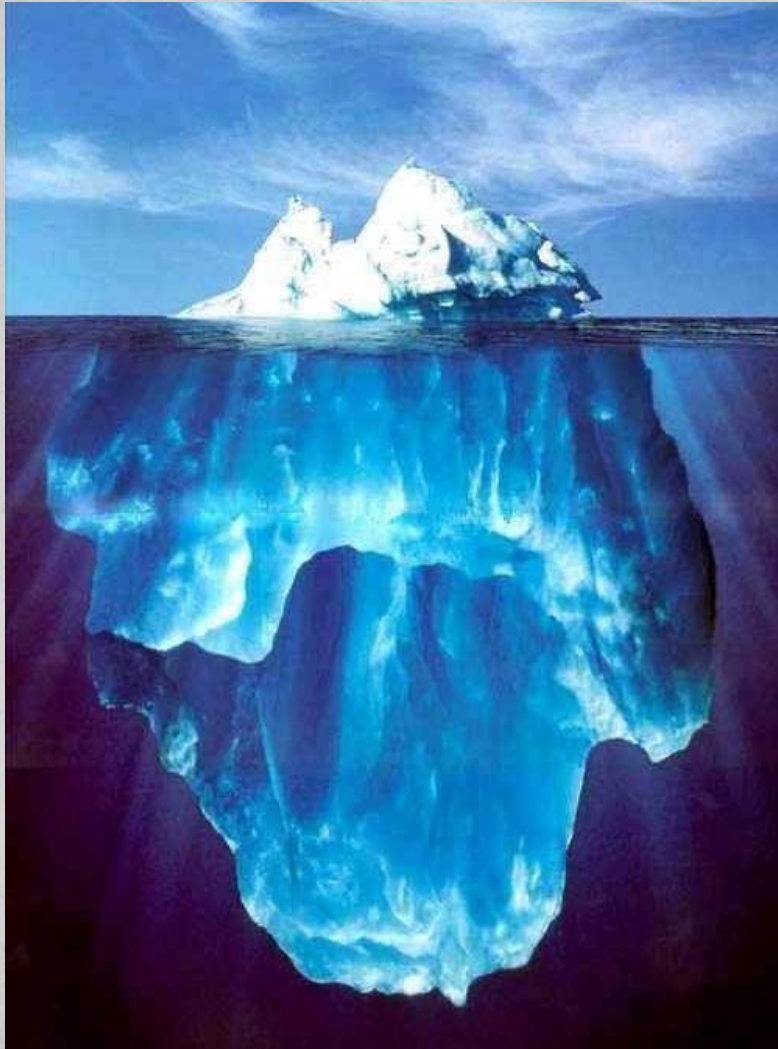
**Agens**



**Domaćin**

**Spoljašnja sredina**

# Klinička manifestacija oboljenja



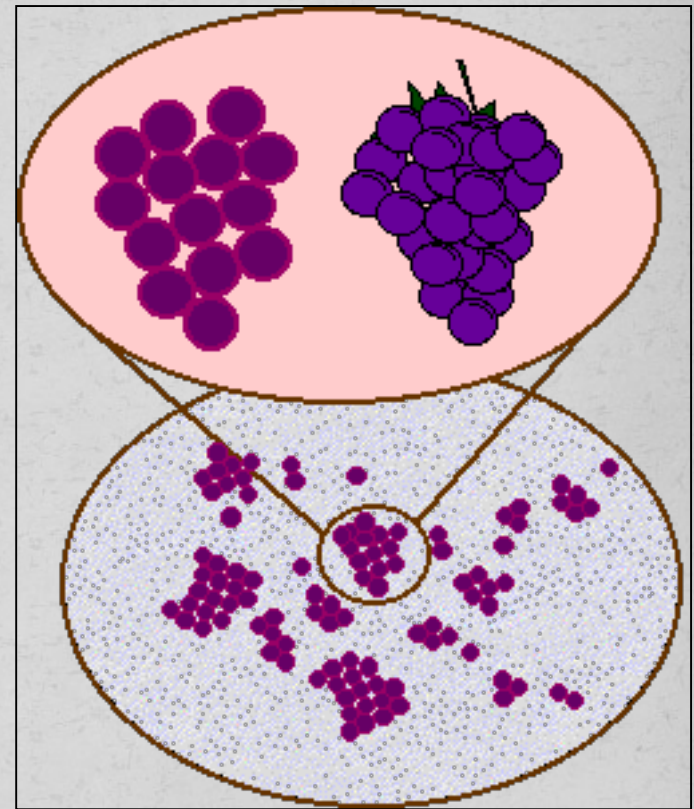
**Ispoljena**

**Inaparentna**

**Infekcija**

## *Staphylococcus* vrste

- **Gram pozitivne bakterije sferičnog oblika**
- veličine od 0,5-1,5  $\mu\text{m}$
- deobe u više ravni - na preparatu se uočavaju u vidu nepravilnih gomilica



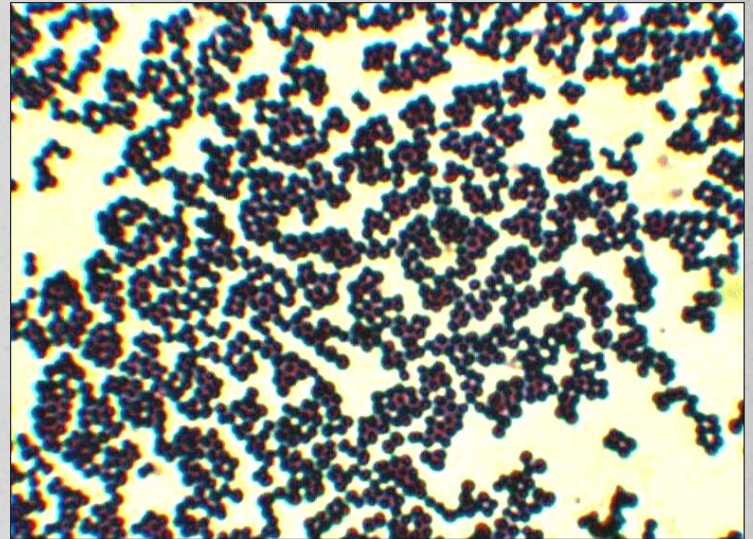
## *Staphylococcus* spp rasprostranjenost u prirodi

Široko rasprostranjene kao komensalni mikroorganizmi na koži, sluznicama respiratornog, digestivnog i urogenitalnog trakta



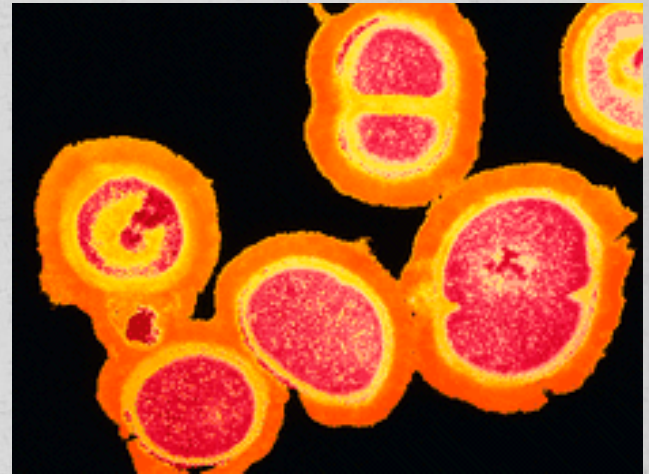
## Rod *Staphylococcus* obuhvata 30 vrsta

- fakultativno anaerobne
- katalaza pozitivne
- nepokretne
- oksidaza negativne
- nesporogene bakterije



## Diferentovanje od drugih Gram pozitivnih bakterija sferičnog oblika

- *Micrococcus* spp. striktni aerobi
- *Streptococcus* spp. katalaza negativne

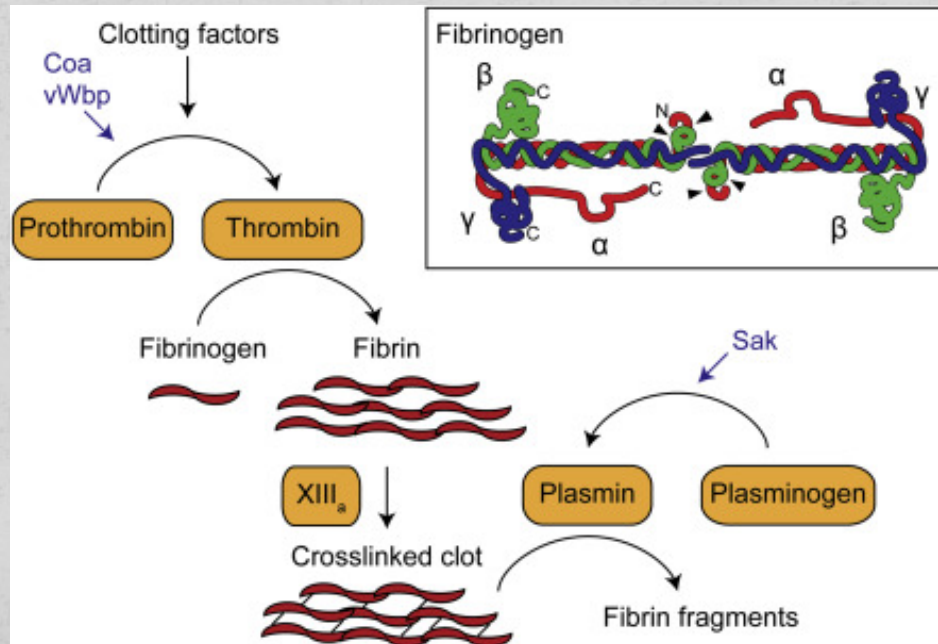


## Oboljenja koja uzrokuje *Staphylococcus*

- U zavisnosti od vrste i virulencije soja *Staphylococcus* kao i predispozicije domaćina kod domaćih životinja i ljudi prouzrokuju:
  - **Gnojna i septikemična oboljenja**
  - **Gnojne procese na koži, potkožnom tkivu i sluznicama, apscese**
  - **Mastitise – infekciju mlečne žlezde**
  - **Sistemske infekcije.**

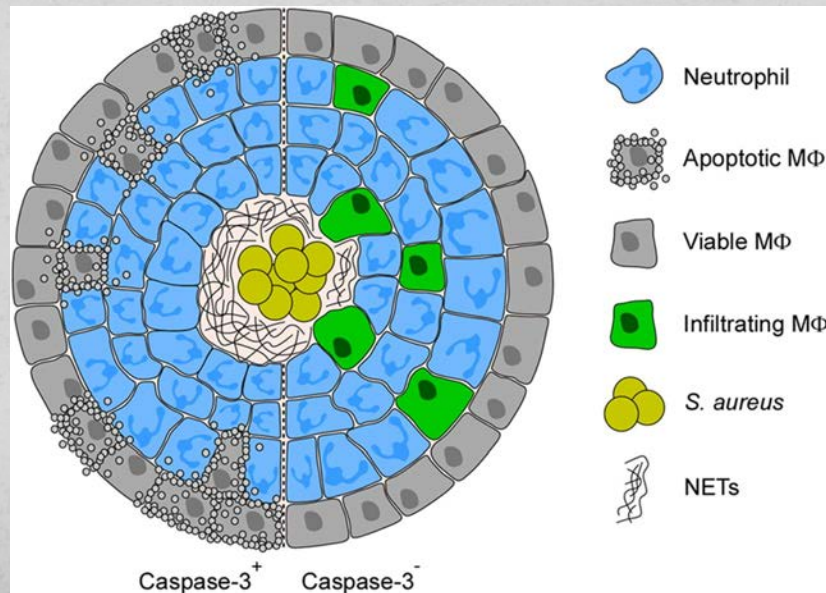
# Faktori virulencije - koagulaza

- enzim – ekstracelularni protein
- vezuje za trombin i nakon stvaranja kompleksa stafilotrombina dolazi do konverzije fibrinogena u fibrin



# Faktori virulencije - koagulaza

- Formiranje fibrinskog omotača oko bakterije.
- Štiti bakterije od fagocitoze.
- Otežava delovanje i drugih efektora imunog sistema.
- Omogućava formiranje apscesa.
- Pomaže lokalizaciji infekcije.



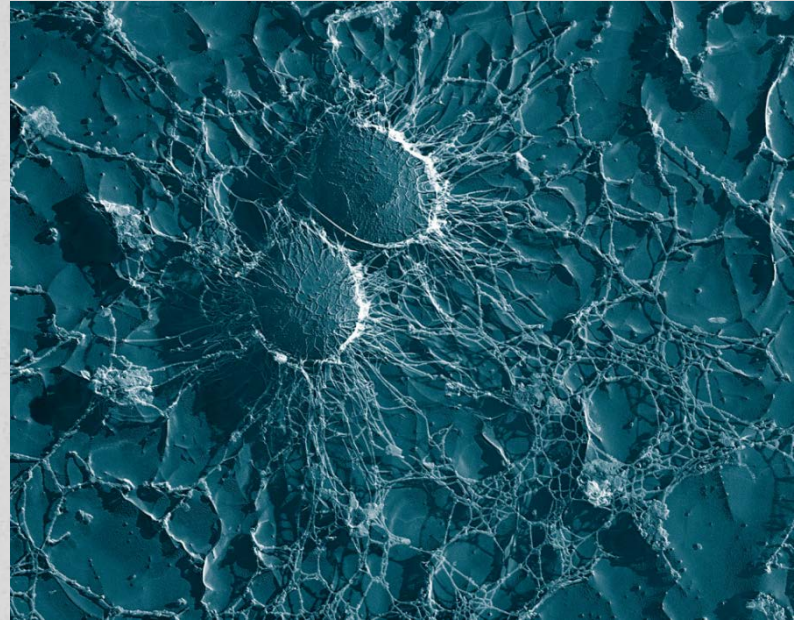
## Faktori virulencije - koagulaza

- koagulaza test u epruveti – pozitivna (gore) i negativna reakcija (dole) – slobodna koagulaza
- u donjoj epruveti nema fibrinskog ugruška



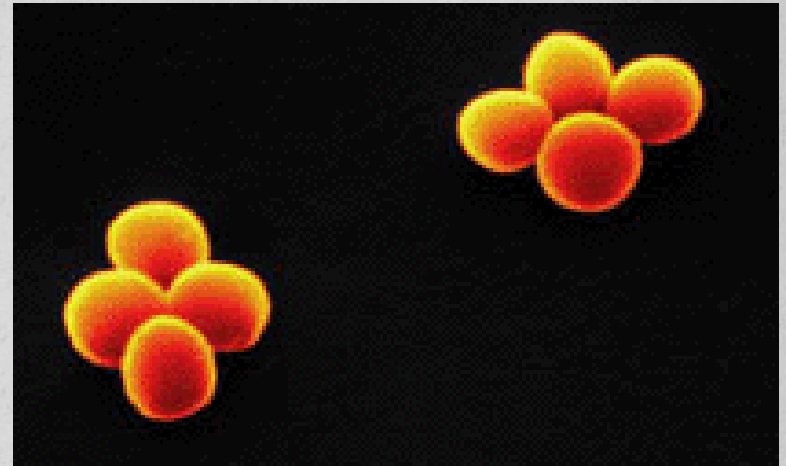
# Faktori virulencije - koagulaza

- visoka korelacija sa patogenošću *Staphylococcus* spp

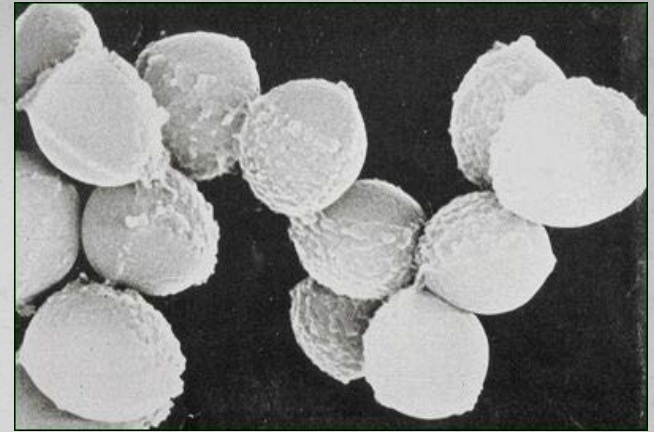


# Koagulaza pozitivne vrste

- *S. aureus*
- *S. hyicus*
- *S. pseudintermedius*
- *S. intermedius*
- *S. schleiferi* subsp. *coagulans*
- *S. lutrae*
- *S. delphini*



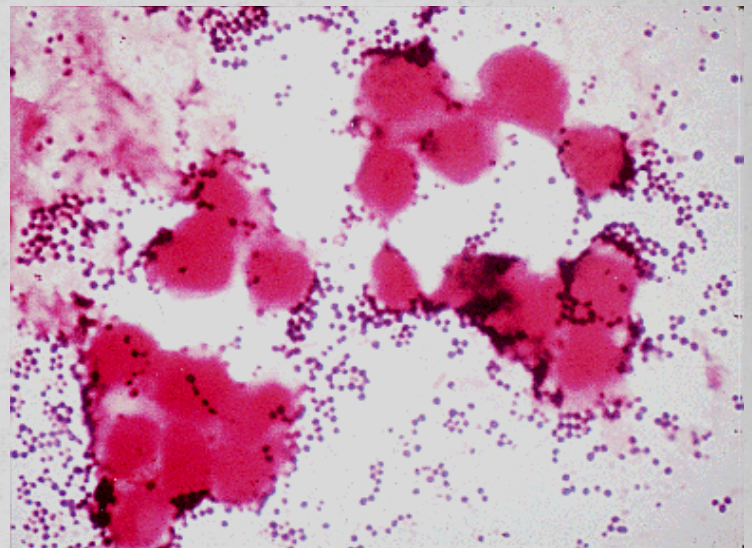
## *Staphylococcus aureus*



- **krave** - **mastitis**, impetigo - dermatitis
- **ovce** - mastitis, pijemija, folikulitis, dermatitis
- **koze** - mastitis, dermatitis
- **svinje** - botriomikoza -mlečna žlezda, impetigo
- **konji** - botriomikoza- kod kastracije, mastitis

## *Staphylococcus aureus*

- **psi, mačke** - gnojne infekcije
- **živina** - artritis i septikemija  
ćuraka, bumblefoot, omfalitis
- **kod svih vrsta** - neonatala  
septikemija i infekcije rana



## *Staphylococcus pseudintermedius*

- **psi** – piodermija, endometritis, cistitis, otitis eksterna i drugi gnojni procesi
- **mačke** – razna gnojni procesi



## Druge koagulaza pozitivne vrste

- *S. hyicus* - svinje – eksudativni epidermitis, artritis
- *S. schleiferi* subsp. *coagulans* - psi – otitis externa

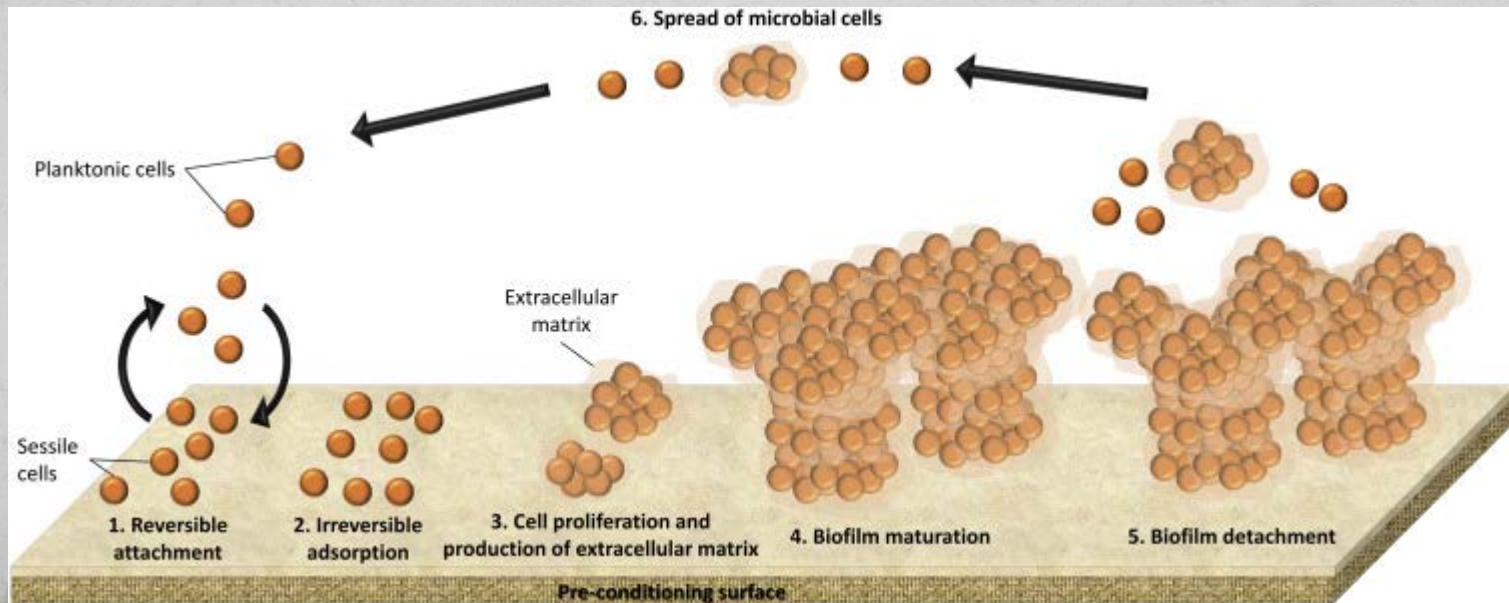


## Koagulaza negativne vrste

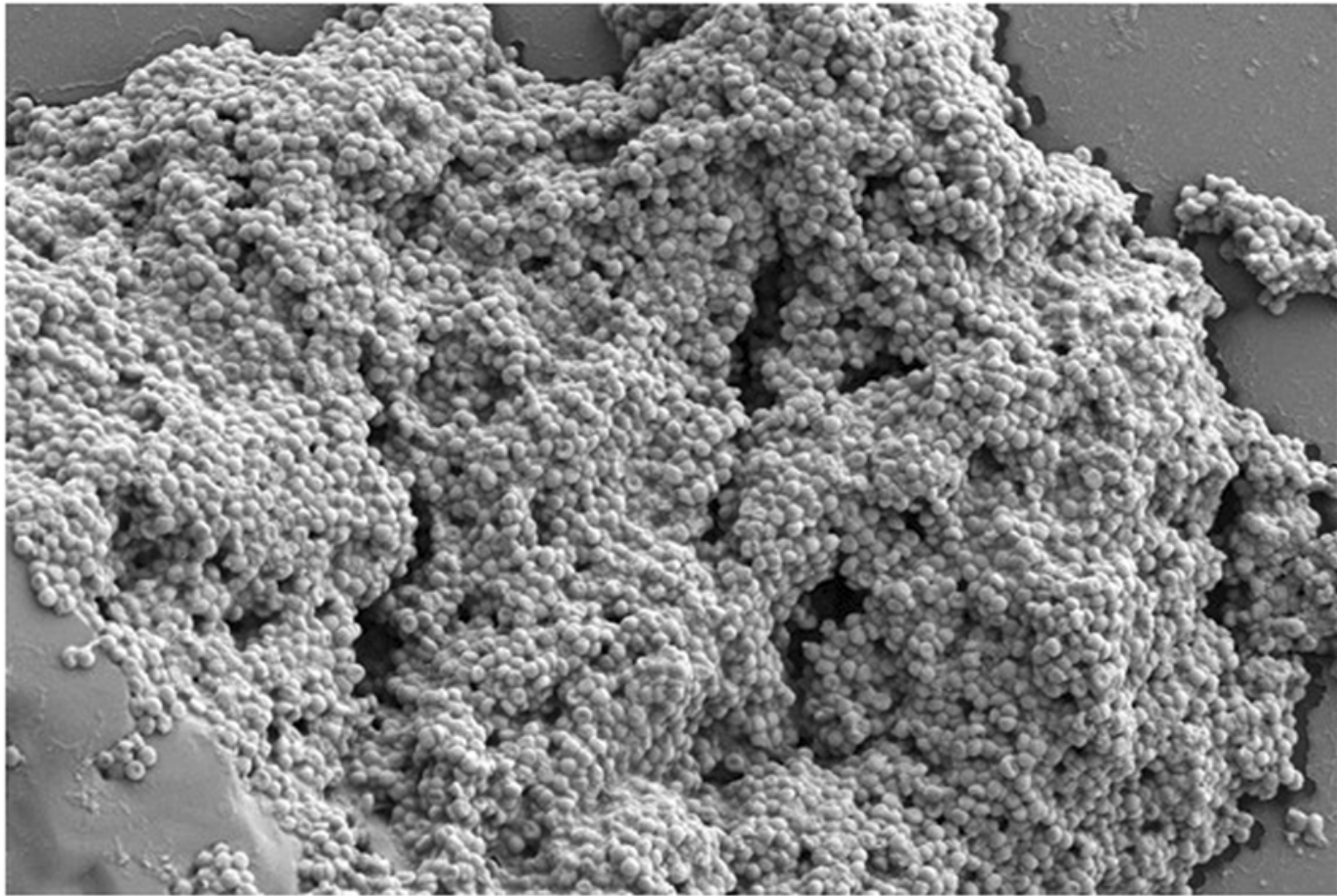
- *S. epidermidis* – krave- mastitis  
psi, konji- infekcije rana
- *S. haemolyticum* – krave – mastitis
- *S. chromogenes*, *S. conhii*, *S. simulans*, *S. warneri*,  
*S. xylosus* - krave – mastitis
- *S. gallinarum* – živina – infekcije kože
- *S. sciuri* – mačke i druge vrste životinja – infekcije  
kože

# Biofilm

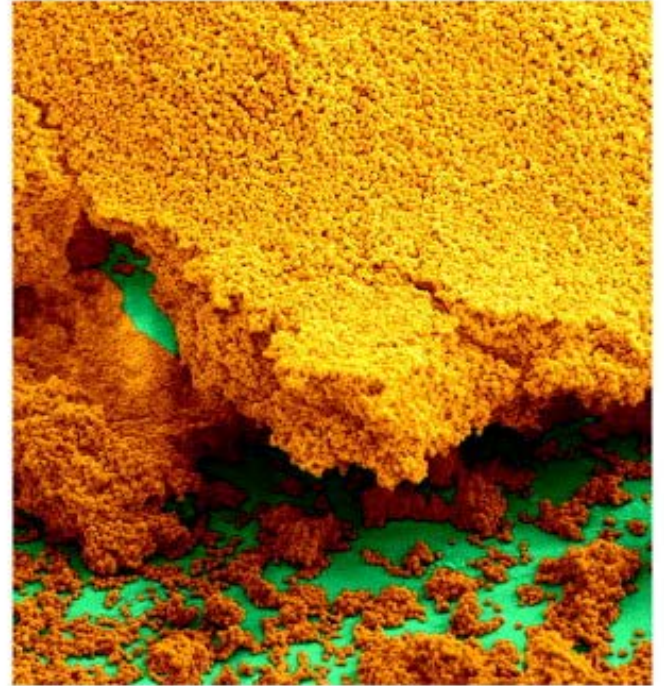
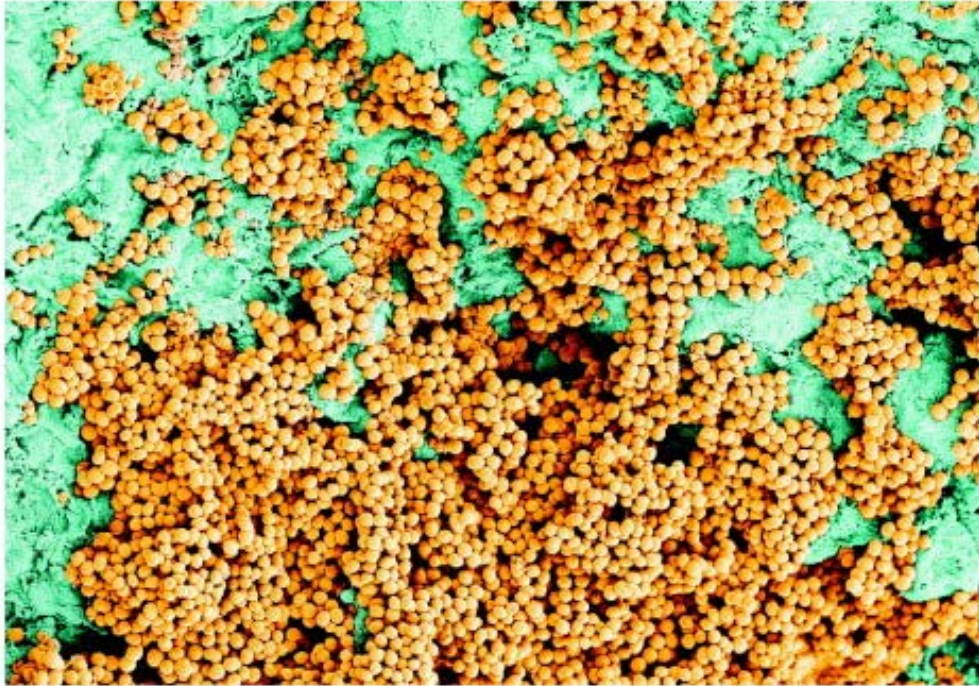
- Biofilmovi se opisuju kao mikroorganizmi koji su zatvoreni u specifičnom ekstraćelijskom omotaču sa mogućnošću da prijanjaju na različite površine stvarajući dinamičko okruženje u kome pojedinačni mikroorganizmi postižu homeostazu, optimalno raspoređeni da iskoriste sve raspoložive hranjive materije.



# Biofilm

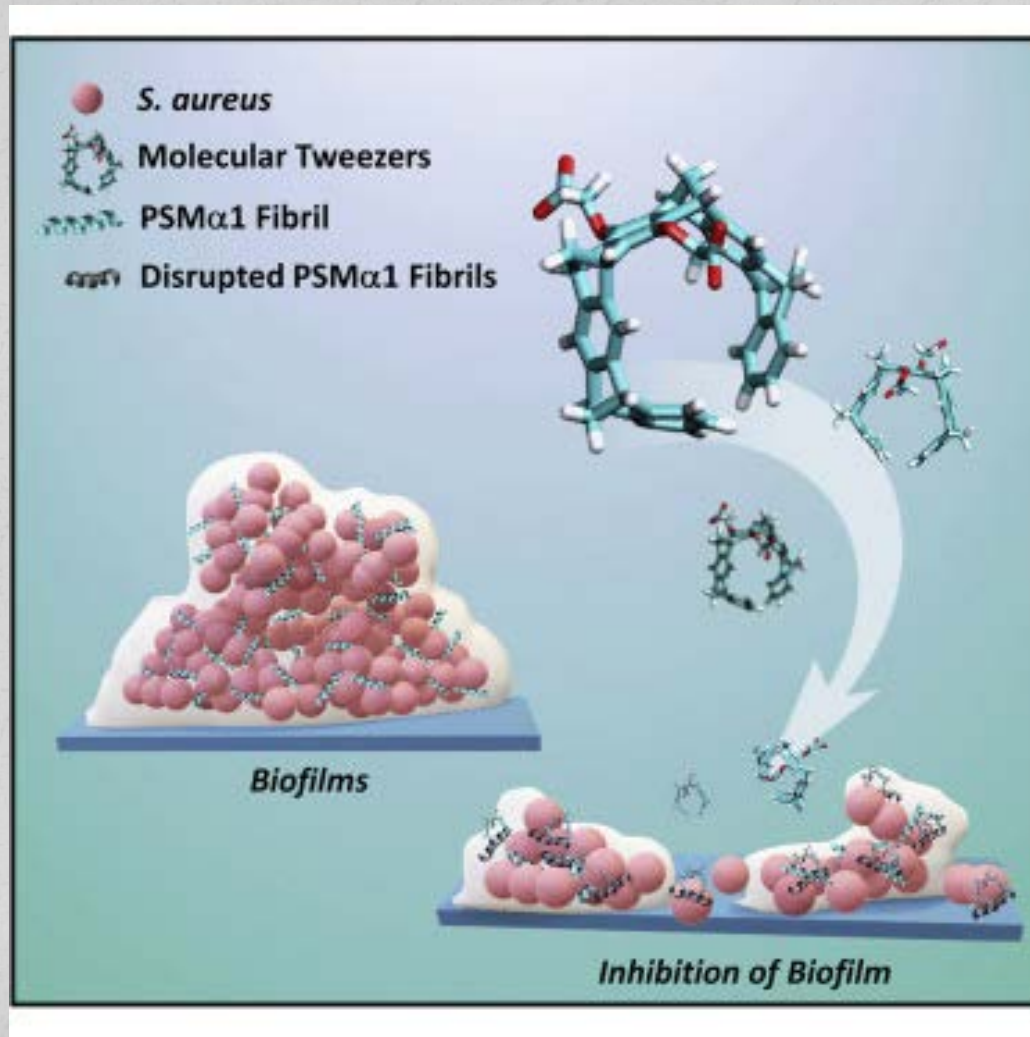


# Biofilm

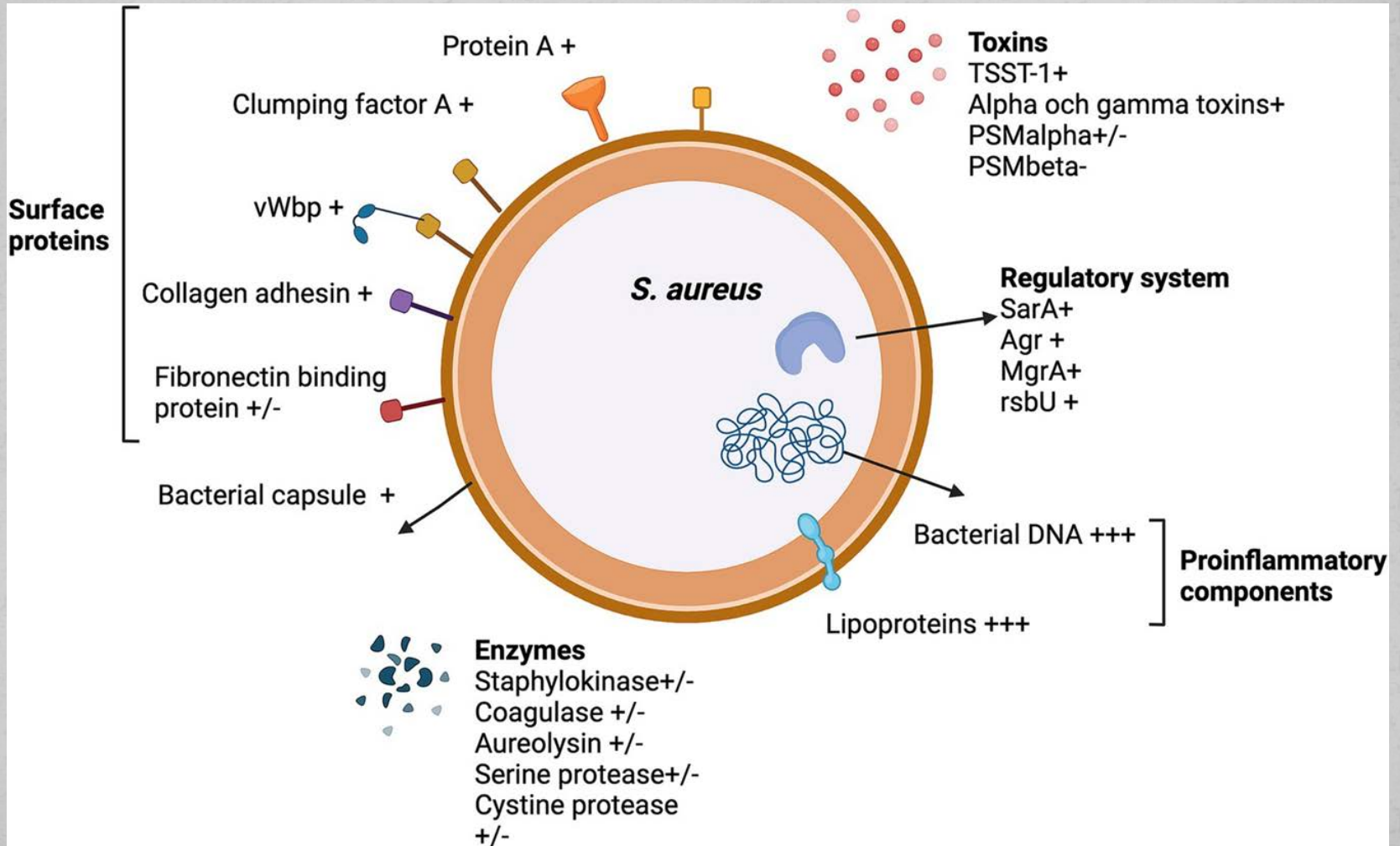


*TRENDS in Microbiology*

# Biofilm

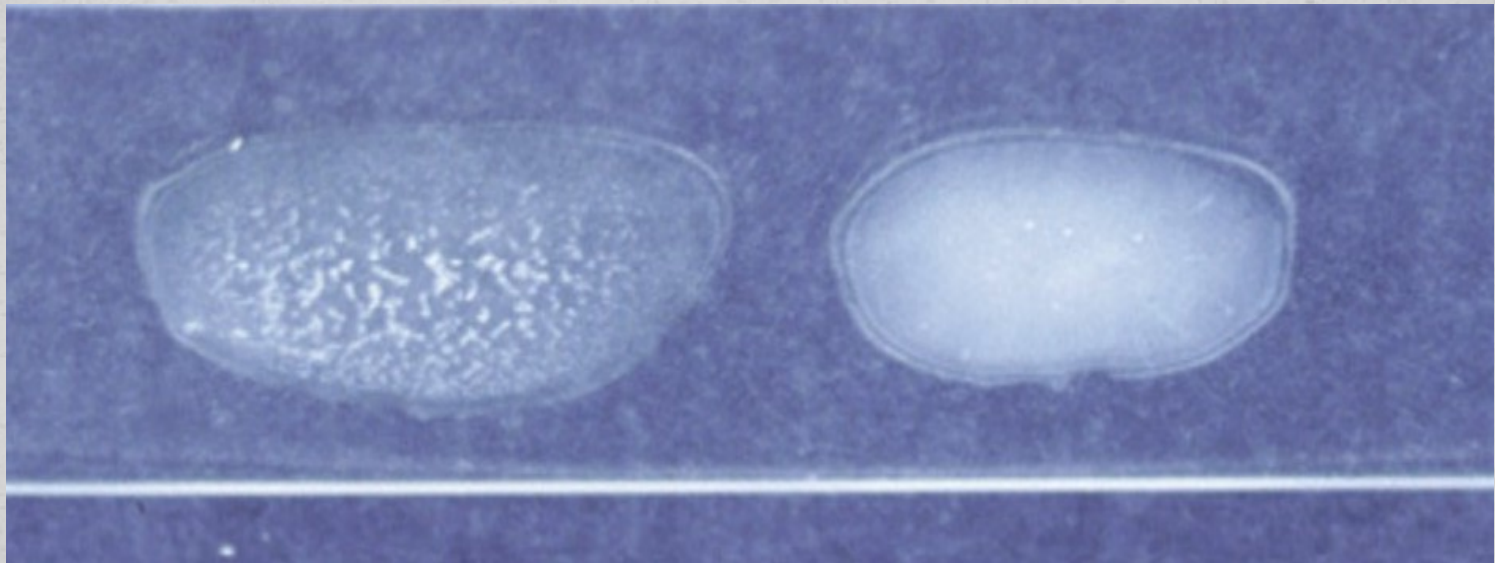


# Površinski proteini, enzimi i toksini



## Clumping faktor *Staphylococcus* spp.

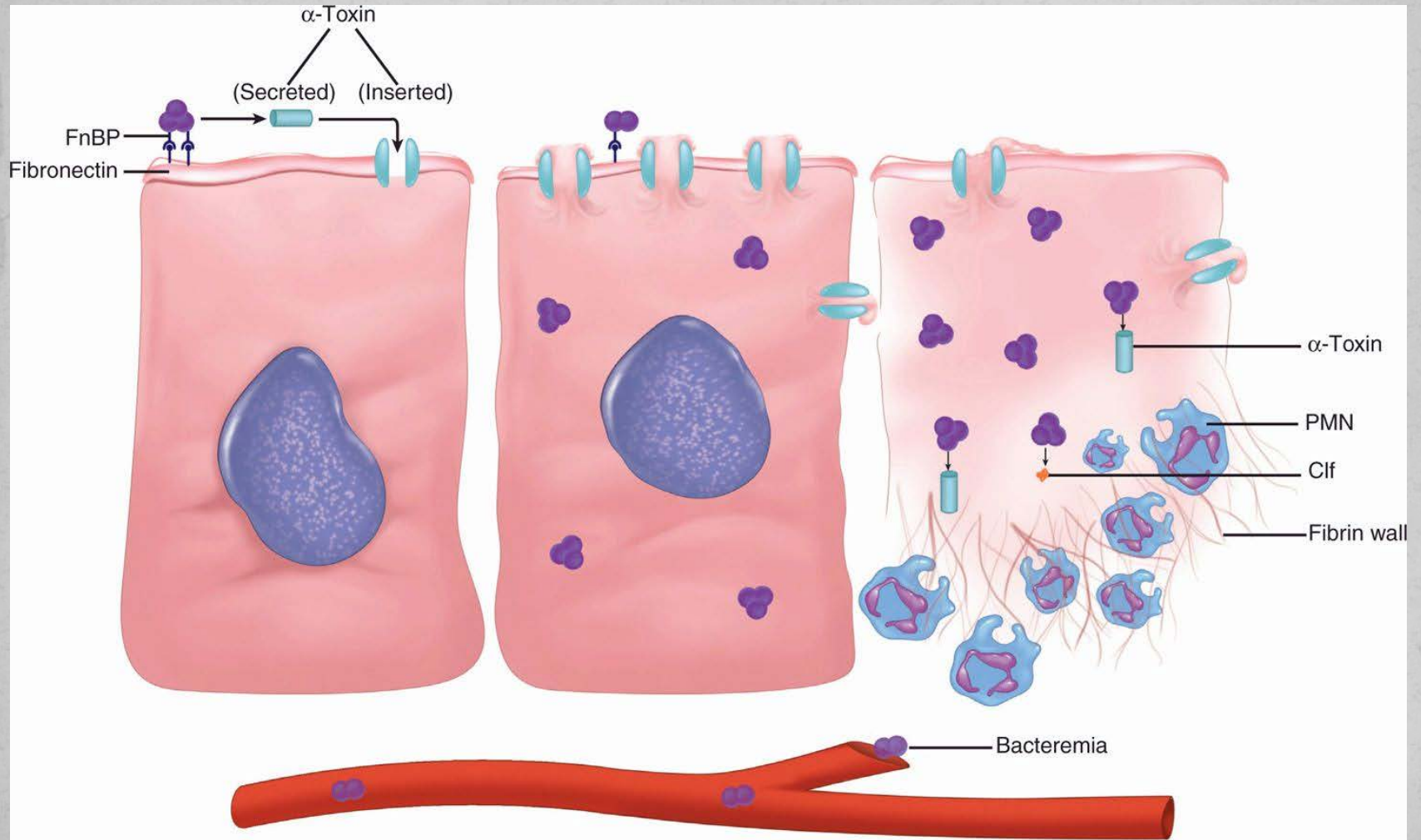
- **vezana koagulaza** faktor zgrušavanja clumping faktor – protein koji vezuje fibrinogen ali koji i obezbeđuje adherenciju za površinu ćelija domaćina



## Fibronektin-vezujući proteini

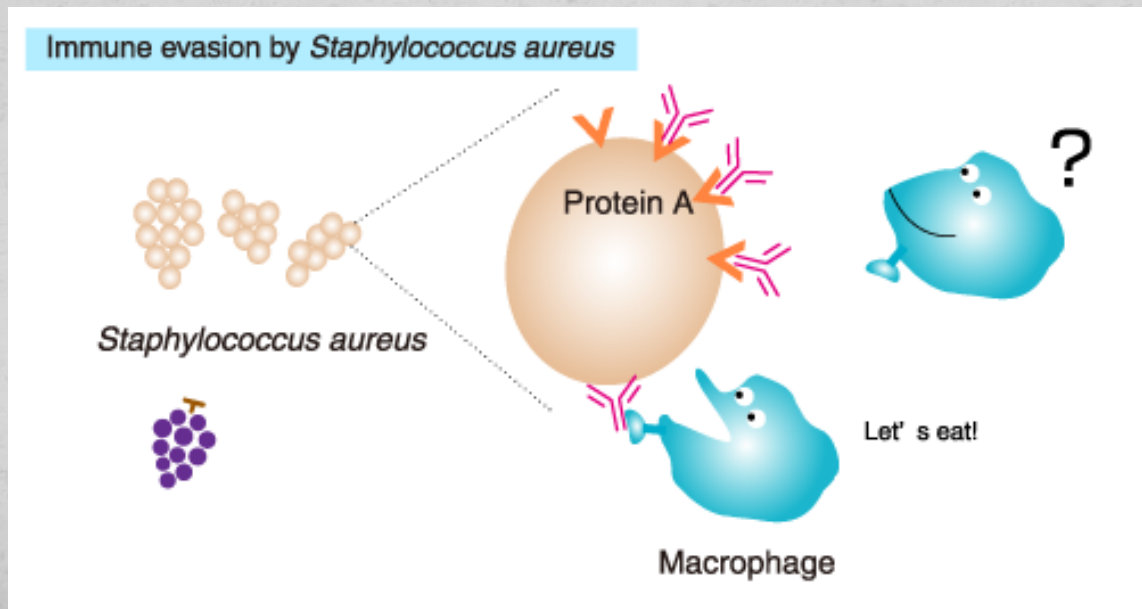
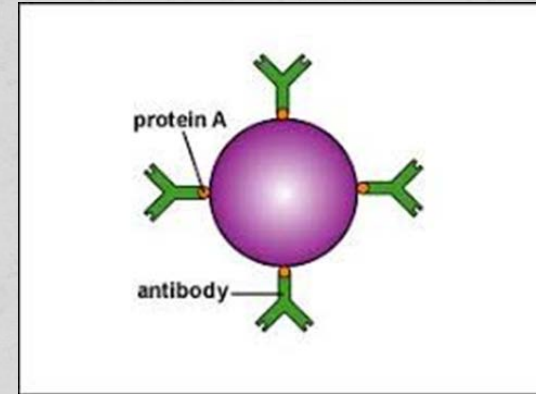
- **FnBPA i FnBPB** - površinski proteini ćelijskog zida
- Omogućavaju vezivanje bakterije za epitelne ćelije, endotelne ćelije i oštećeno tkivo
- Internalizacije bakterije u ćeliju što omogućava *S. aureus* da postane intracelularan i izbegne imuni sistem

# Fibronektin-vezujući proteini



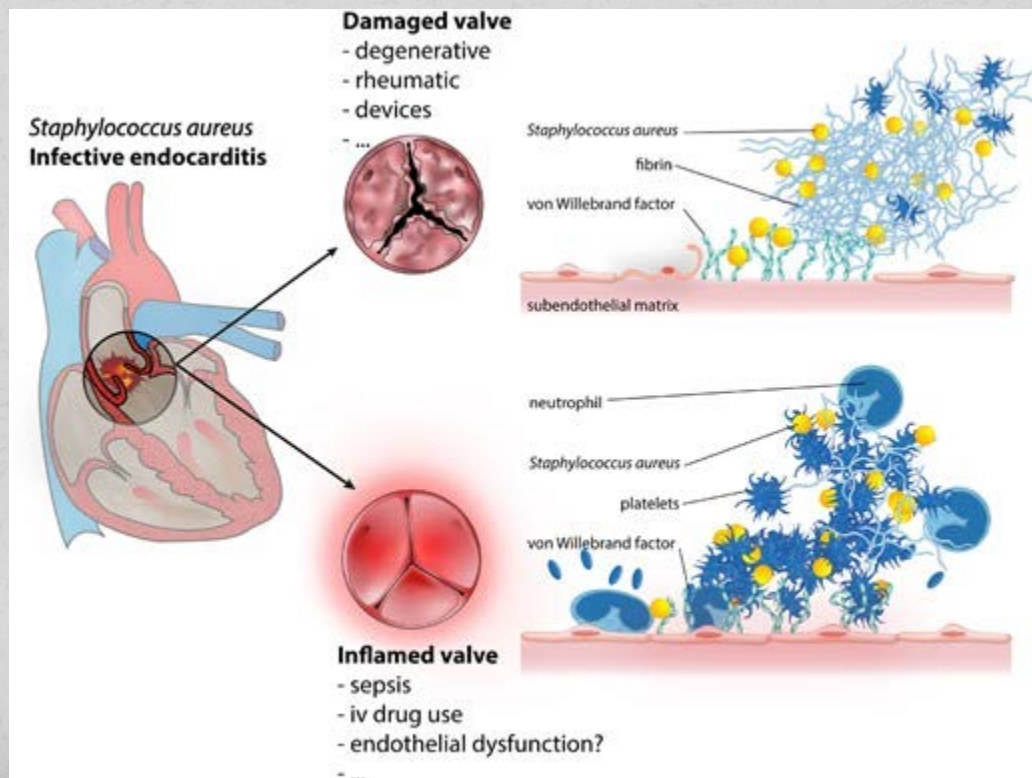
# Karakteristike *Staphylococcus* spp.

- **protein A** – vezuje Fc fragment imunoglobulina i sprečava opsonizaciju i posledično fagocitozu



## vWbp - von Willebrand faktor vezujući protein

- Vezivanje za oštećeni endotel, kolonizaciju krvnih sudova i ulogu u endokarditisu
- Sličan koagulazi - stvaranja fibrinskog omotača oko bakterije zaštite od fagocitoze i stvaranja mikroapscesa



# Enzimi i toksini

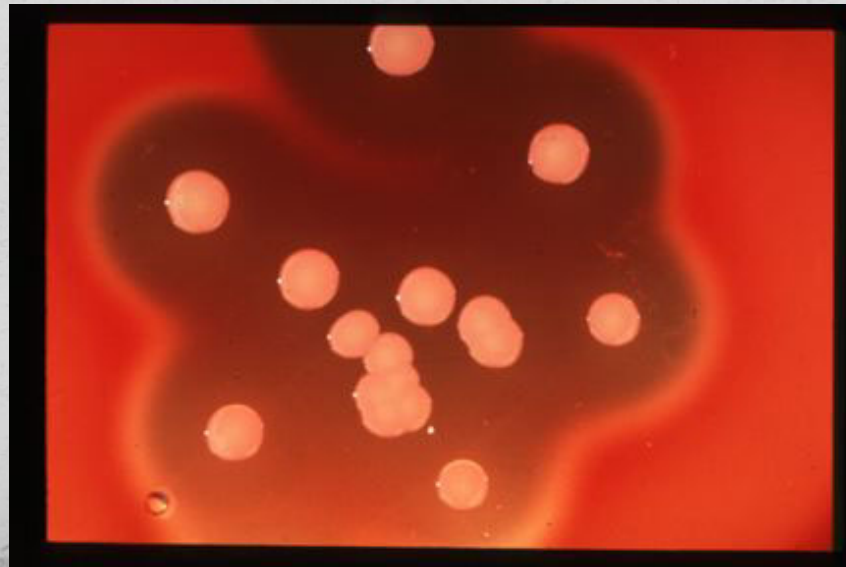
- **Enzimi**
- **Fibrinolizin** (stafilokinaza) - razgrađuje fibrin, omogućava bakteriji da „izađe“ iz lokalizovanog apscesa, olakšava širenje infekcije kroz tkiva, suprotno delovanje od koagulaze
- Lipaza - omogućava preživljavanje na koži – lojne žlezde
- Esteraza - učestvuje u kolonizaciji i invaziji kože
- Deoksiribonukleaza - razgrađuje DNK iz razorenih ćelija u gnoju, smanjuje viskoznost gnoja, omogućava lakše širenje kroz tkivo
- **Hialuronidaza** - razgrađuje hijaluronsku kiselinu u vezivnom tkivu, Omogućava prolazak bakterije kroz intercelularni matriks
- Fosfolipaza - oštećuje ćelijske membrane, doprinosi citotoksičnosti

# Toksini

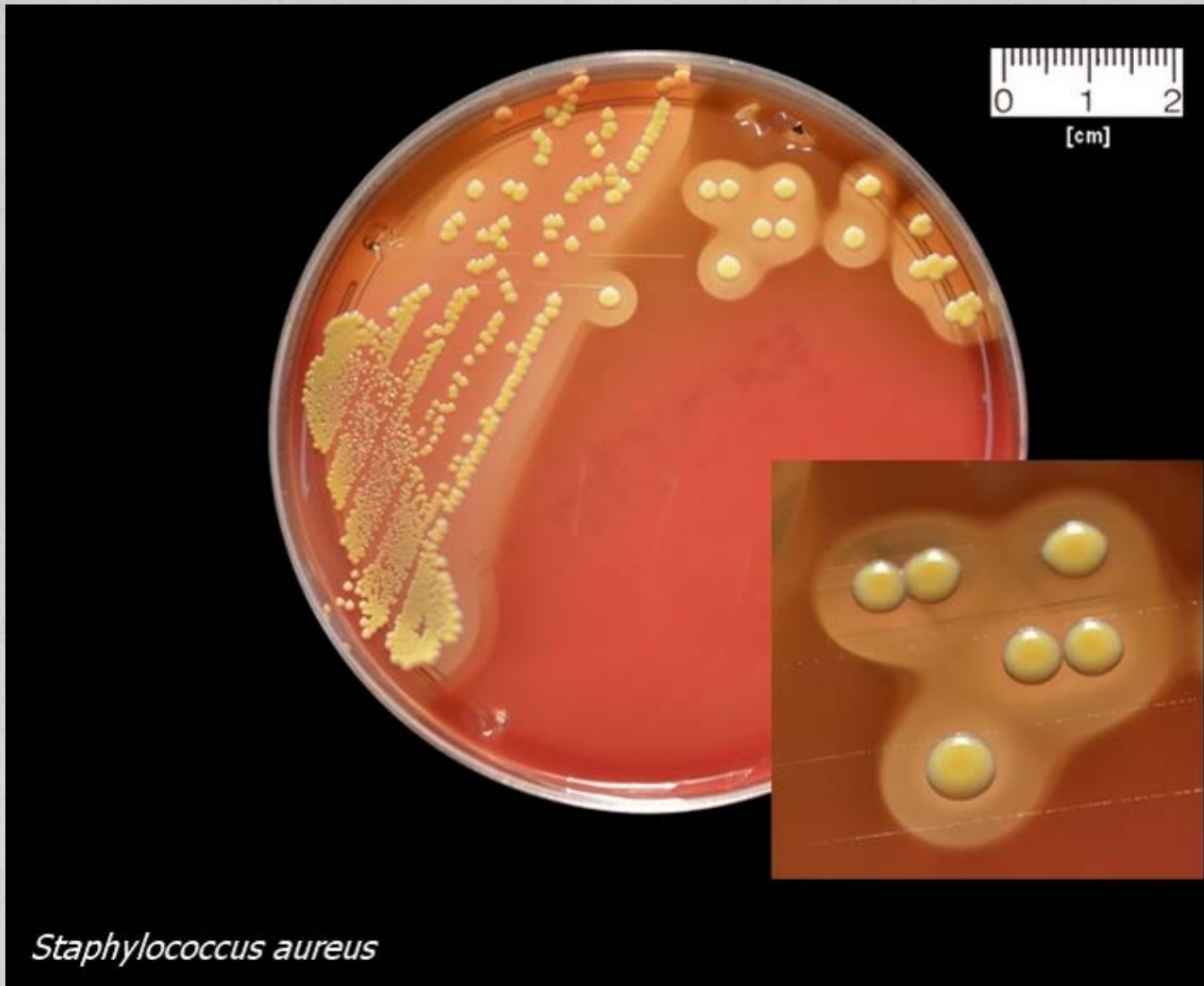
- **hemolitični toksini –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$**

- $\alpha$  toksin – potpuna hemoliza
- $\beta$  toksin – sfingomijelinaza - nepotpuna hemoliza - toplo-hladna hemoliza

**Funkcija razaraju eritrocite, oslobađaju gvožđe, oštećuju imunske ćelije, doprinose invazivnosti i virulenciji bakterije**



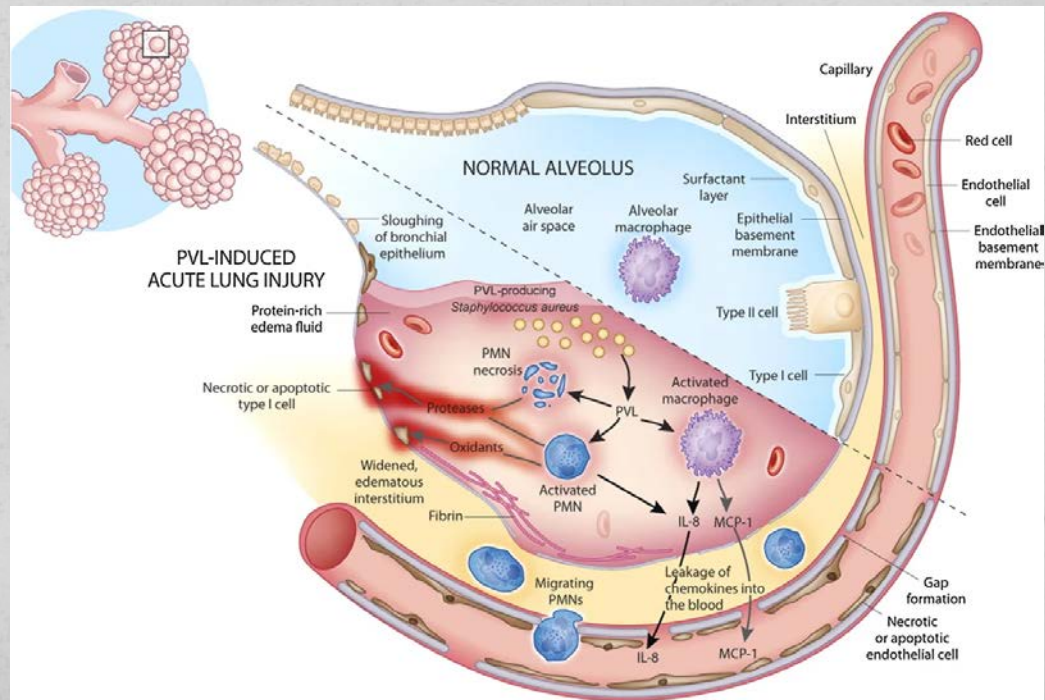
*S. aureus*



*Staphylococcus aureus*

# Toksini i drugi faktori virulencije

- **stafiloferin B** – siderora hvata gvožđe iz okoline i transportuje ga nazad u bakteriju.
- **leukocidin** – najpoznatiji: Panton–Valentine leukocidin (PVL) - uništava neutrofile i makrofage određenih vrsta životinja



# Toksini

- **Enterotoksin** – trovanje ljudi hranom
  - 6 imunotipova A-F, superantigeni
  - Termostabilni
  - direktno aktiviraju T-limfocite - masivno oslobađanje citokina - naglo povraćanje i dijareja, intoksikacija, nije infekcija
- **Toksični šok sindrom toksin TSST-1** – raniji naziv enterotoksin F
  - Superantigen, masivna aktivacija T-ćelija, citokinska oluja, visoka temperatura, hipotenzija, osip, multiorgansko oštećenje, često povezan sa tamponima, postoperativnim infekcijama

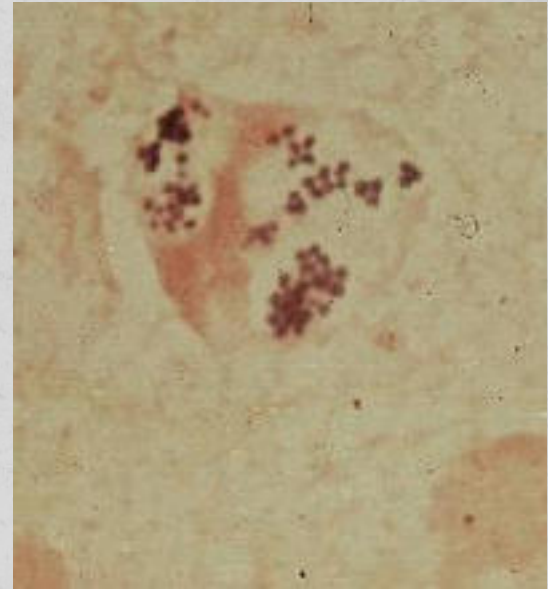
# Toksini



- **Eksfolijadni toksin – dermonektrotični toksin - *S. aureus* i *S. hyicus***
- Proteaza - Ceba desmoglein-1 -protein u epidermis
- Odvajanje gornjih slojeva kože, deluje na epidermis bez duboke nekroze.
- *S. aureus* - Stafilokokni sindrom oparene kože beba i dece
- *S. hyicus* – Eksudativni epidermitis svinja

# Patogeneza

- gnojni procesi
- **leukocidin,  $\alpha$  i  $\beta$  toksin**
- antifagocitna uloga – **kapsula i pseudokapsula**
- **stvaranje biofilma**
- inflamacija – stvaranje gnoja - leukociti
- apscesi, fibrozna kapsula, hronična forma -botriomikoza



# Superantigeni

- **Poliklonska aktivacija T limfocita**
- Superantigeni stimulišu i do 10% T limfocita dok normalno antigeni stimulišu 0.001 – 0.01 %
- *Staphylococcus* enterotoksin i toksični šok sindrom toksin
- *Streptococcus* pirogeni egzotoksini A i B
- Retrovirus – virus mlečne žlezde miševa
- Direktno se vezuju za molekule MHC klase II
- Oslobađaju se citokini npr. IL-2 i TNF-alpha
- Toksični šok sindrom – Povišena temperatura, povraćanje, proliv, osip, hipotenzija

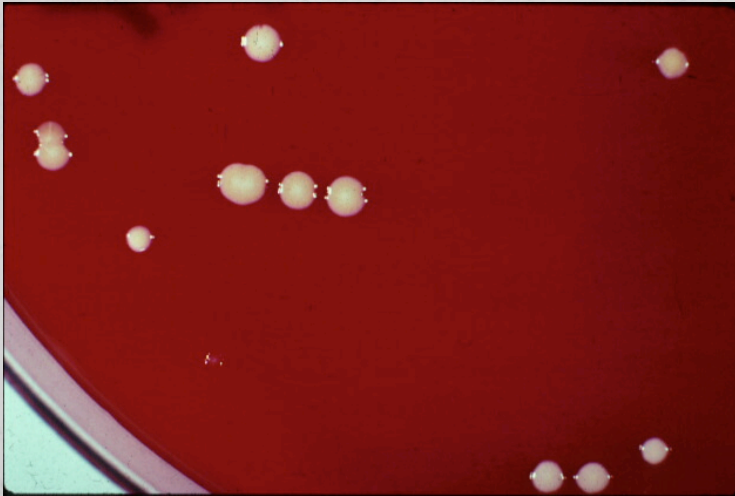
# Laboratorijska dijagnostika

- uzorci
- direktni mikroskopski preparat iz materijala
- izolacija i identifikacija



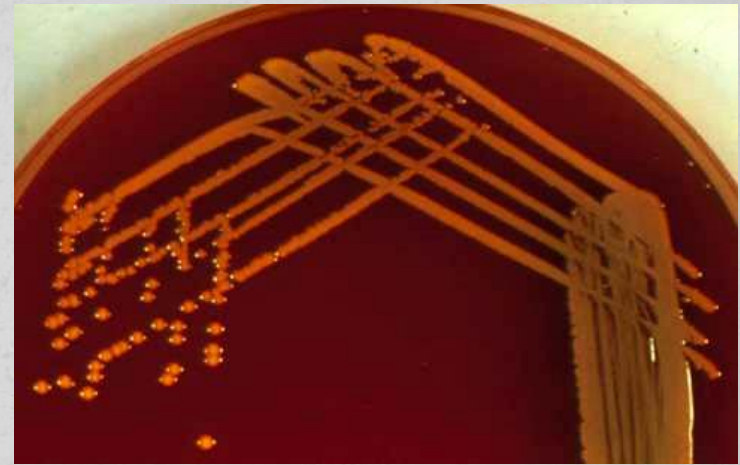
## Kulturelne osobine

- dobro rastu na standardnim hranljivim podlogama
- formiraju nakon 18 – 24 časa okrugle, konveksne, glatke, sjajne i neprozirne kolonije veličine oko 1-2 mm



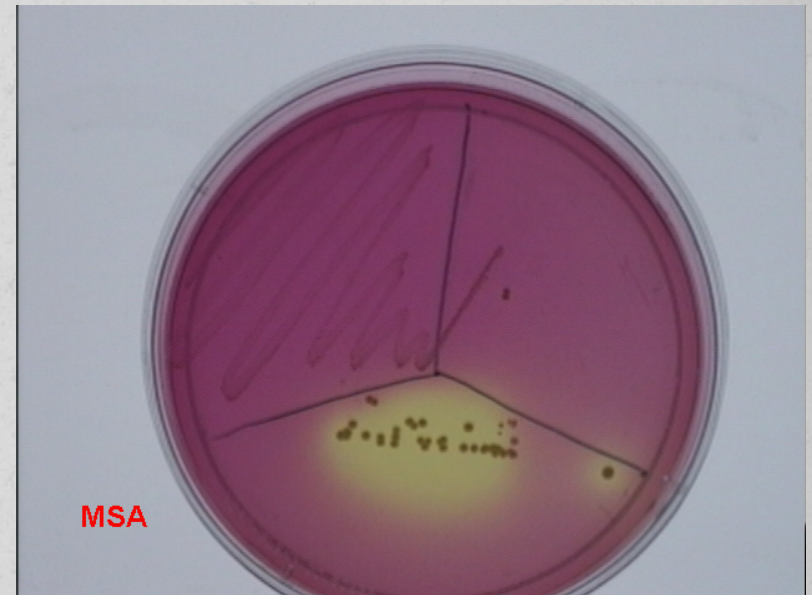
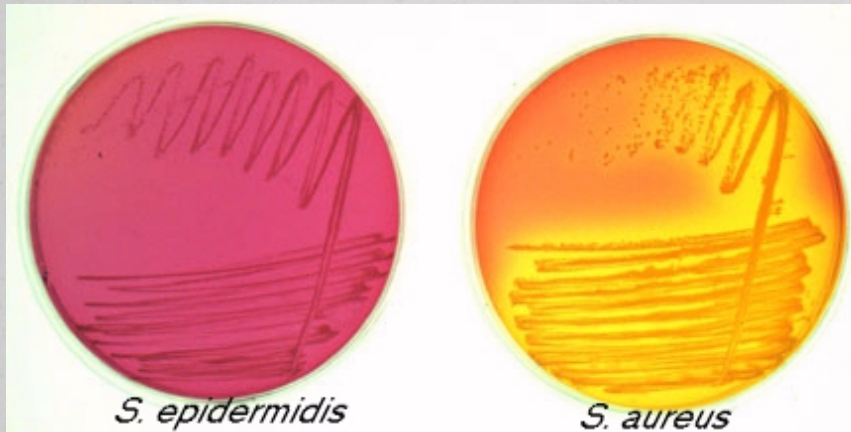
# Karetenoidni pigment

- Pigment - zlatno žuta boja *S. aureus*
- pseudokapsula - određeni sojevi *S. aureus*



# Kulturelne osobine

- Agar sa manitolom i NaCl



## Selektivne podloge - Baird Parker agar

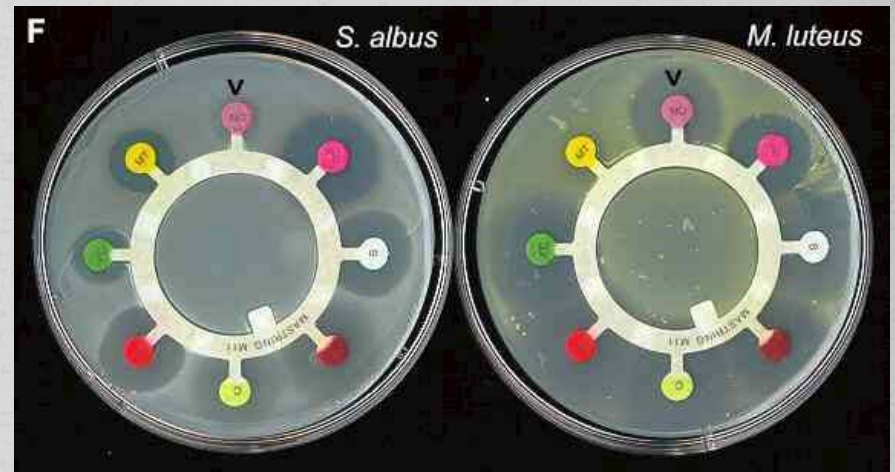


## Identifikacija vrste

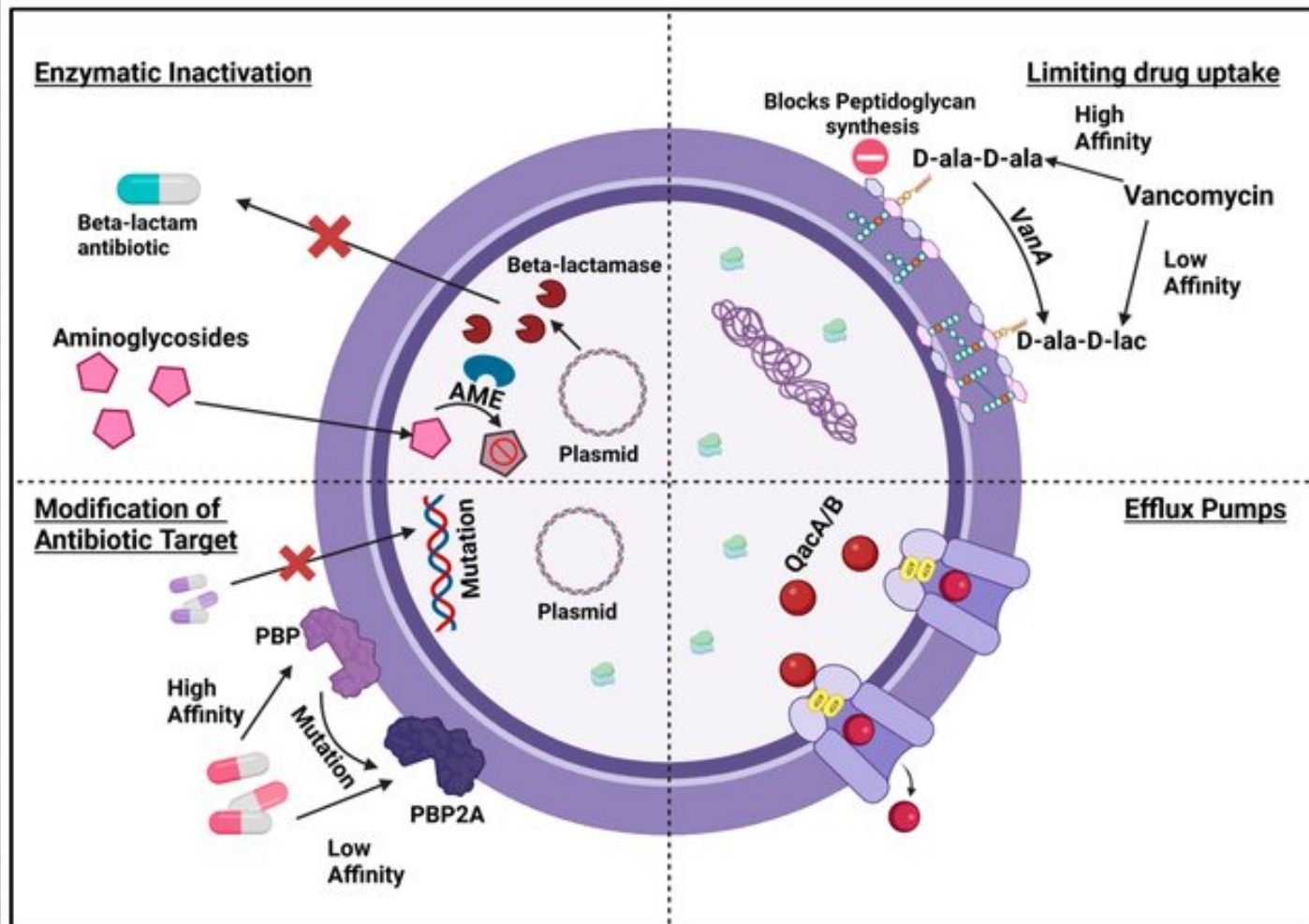
- **izgled kolonije** – boja obično bela, izuzetak sojevi *S. aureus* od goveda i ljudi
- **prisustvo i vrsta hemolize** – agar sa dodatkom defibrinisane krvi ovna ili goveda
- **koagulaza test i clumping test**
- **biohemijske karakteristike**
  - VP reakcija

# Imunski aspekti i terapija

- preboljenje ne obezbeđuje zaštitu
- vakcinacija ?
- antibiotska terapija – rezistencija
- Produkcija  $\beta$  -laktamaza
- **MRSA – metacilin rezistentni *S.aureus***



# Antimikrobna rezistencija *Staphylococcus* spp.



# Najznačajnija oboljenja

- **Mastitis kod krava** – *S.aureus*

supklinički, akutni, gnojni, gangrenozni, hronični



## Adekvatni sistemi za mužu



# Adekvatna higijena mlečne žlezde



# Neadekvatna higijena



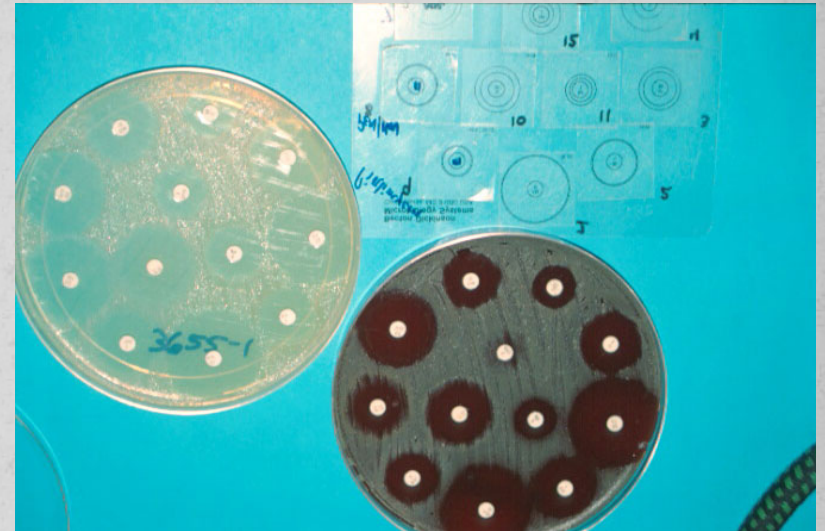
# Milk robot



# Milk robot



# Ne nagađaj pošalji uzorak u laboratoriju !



## Najznačajnija oboljenja

- **Pijemija** jadjadi nakon ujeda krpelja
- **Botriomikoza** – vime krmače, kobile, krave i konji nakon kastracije
- **Eksudativni epidermidis "čađavost"** prasadi tri meseca starosti



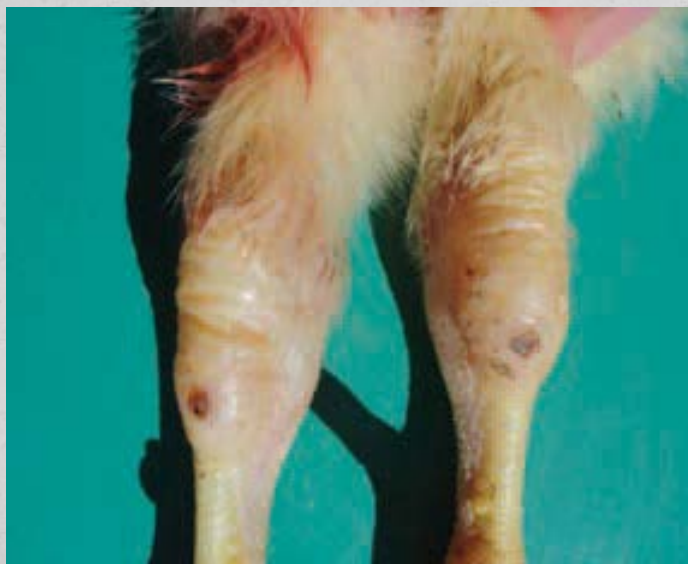
# Najznačajnija oboljenja

- Piodermija pasa



## Najznačajnija oboljenja

- **Razne gnojne infekcije domaćih životinja**
- **Bumblefoot živina** hronični gnojno granulomatozni proces supkutanog tkiva noge sa otokom zglobova
- **Urolitijaza pasa**



# Zoonoza

## Pet owners at risk for superbugs

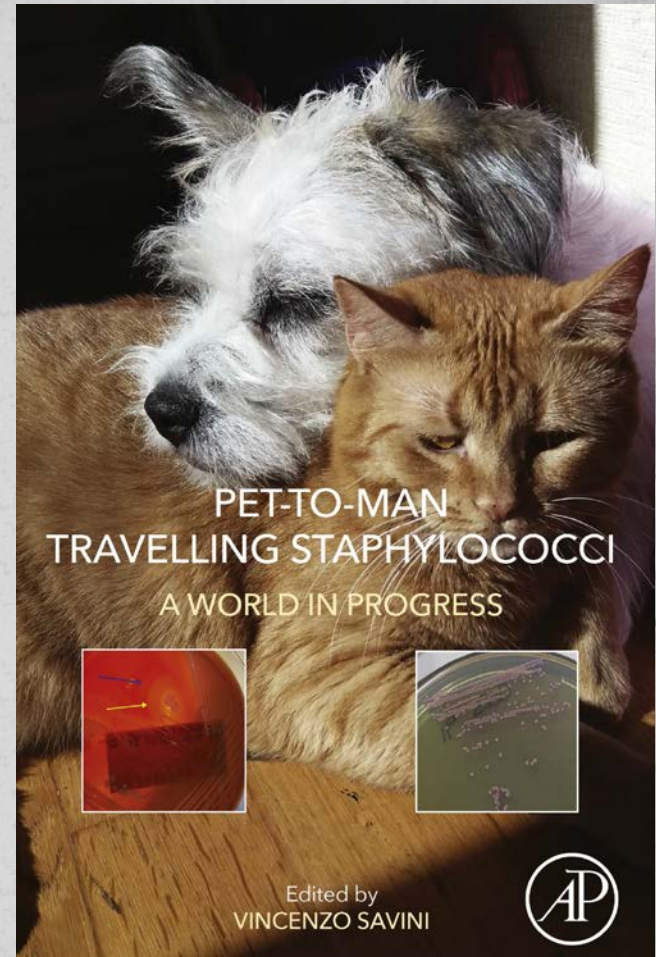
**Judith Lavoie**

The Victoria Times-Colonist

*Monday, January 08, 2007*

VICTORIA - Horse and pet owners face a greater risk of contracting an infectious superbug spreading across the country than the rest of the population, a leading veterinarian-researcher says.

Dr. Scott Weese, associate professor at Ontario Veterinary College, University of Guelph, started looking at community-associated methicillin-resistant staphylococcus (CA-MRSA) after a cluster of cases was found in horses in Ontario.



# Furunkuli, karbunkuli, celulitis, trovanje hranom



# Calvin Coolidge – predsednik USA 1923-1929. godine

