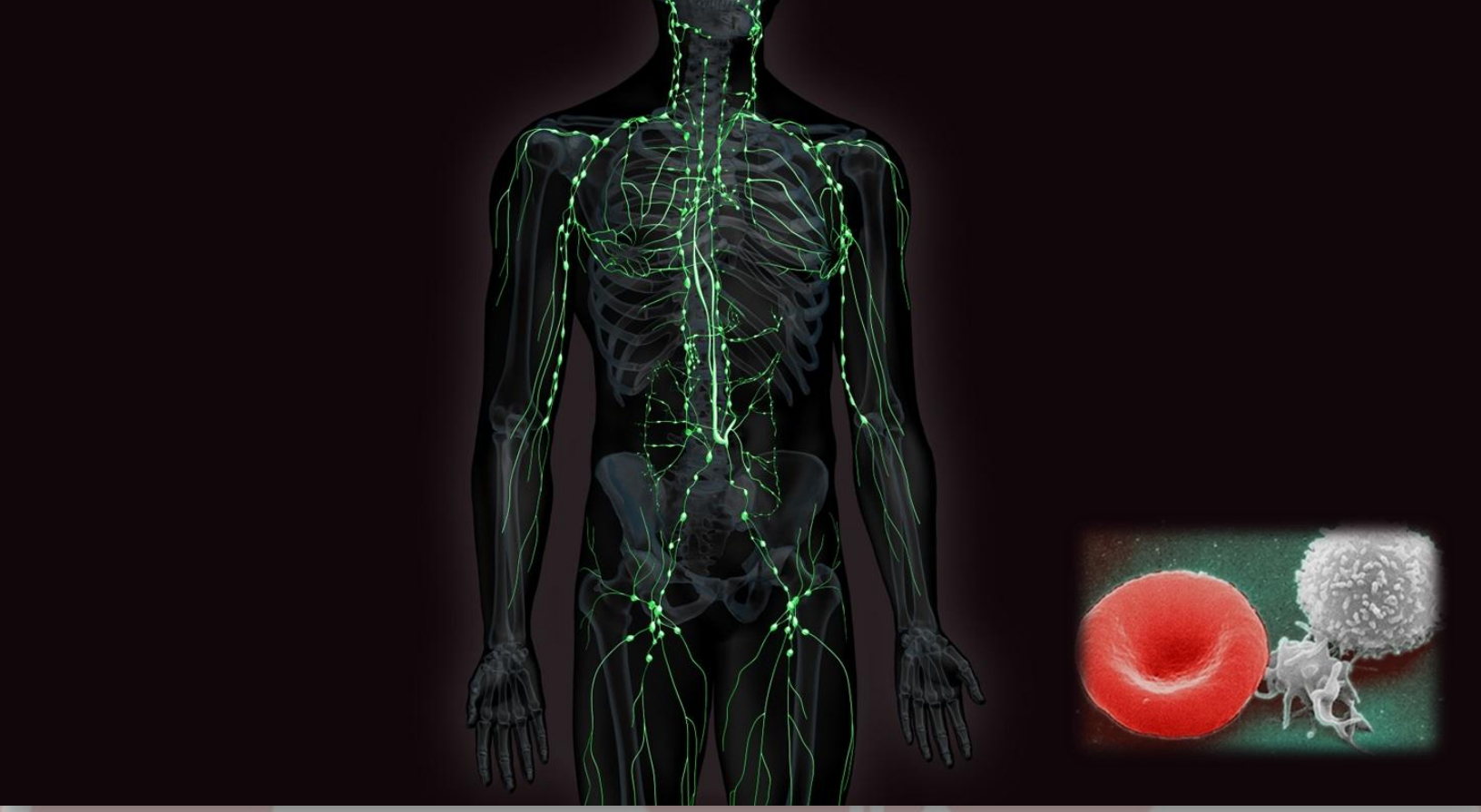


Hemolymphatic system

Microbiology

Lecture 1: Salmonella and Brucella

Done By:

Shahd Abuhazeem

Salmonella and Brucella

First: Salmonella Typhi and Enteric Fever (typhoid fever) which is its disease

Characteristics

- Gram-negative

كل ال gram negative عندهم lipid a او endotoxin فبكونو اشرس

- Coliform bacilli (enteric rods)

يعني بتعملcolonies بالGIT، طيب شو دخل ال GI بالHLS؟ هي بعد ما تصيب الGI بتنتقل للHLS

- Motile by peritrichous flagella

هاي الكلمة معناها انه ال flagella متوزعة عالسطح مش متركزة بمكان معين

- Facultative anaerobes

بتحتاج كمية قليلة من الاكسجين عشان تعيش

- Can ferment glucose but are non-lactose fermenter

هاي النقطة بتساعدنا نميزها عن باقي الenteric، بنحطها بMacConkey agar اللي بيحتوي على لاكتوز بالتالي بتنقسم البكتيريا لنوعين، قسم بقدر يعمل fermentation متل E.coli وقسم ما بقدر متل السالمونيلا

- Usually produce H2S

بعطينا distinctive black coloring of colonies يعني لما نيجي نزرع سالمونيلا بطلع معنا لون اسود مميز.

- Resistant to bile salts

بتعيش فيbile salts اللي بالgall bladder وهاد الاشي بهمنا لانهم غالباً اللي بكون حامل للمرض بتكون البكتيريا موجودة هناك

- Contain 3 main antigens: O (somatic antigen (capsule)), H(flagellar antigen) and Vi (surface antigen)
- Important species:
    1. *Salmonella typhi* اشهر اشي
    2. *Salmonella paratyphi* (same clinical presentation but milder)

Epidemiology

- Typhoid fever is still an important cause of morbidity and mortality worldwide (16–33 million cases of typhoid fever occur annually)

ما زالت موجودة بالعالم وممكن تسبب وفاة وحتى موجود بالأردن بس أخف من زمان

- Typhoid is a strictly human disease

مش zoonotic يعني بس human-to-human disease

- Transmission:
- Person to person spread through fecal-oral rout by ingestion of contaminated food or water

هي enteric يعني منطقي انها تنتقل عن طريق الfecal-oral route

- If a patient with typhoid has not travelled to an endemic area, the source must be a visitor or someone else who prepared food

هي نادرة في الدول المتقدمة لكن ممكن الشخص ينعدي ادا سافر لمنطقة endemic و برضو ممكن العكس، ادا اجا شخص من منطقة endemic، وخاصة ادا كان بشتغل في مجال الطعام متل اللي بشتغلو بالمطاعم او العاملة في البيت ممكن ينقل العدوى للناس اللي بتعامل معهم.

- The pathogen can be transmitted in the water supply when sewage from carriers contaminate drinking water

ادا وصلت البكتيريا لمياه الشرب ممكن تنتقل لعدد كبير من الناس وهون لازم نتدكر انه الاشخاص اللي حاملين المرض بدون اعراض بتطلع البكتيريا منهم عن طريق الstool وبتروح لنظام المجاري وادا صار خلل وتلوثت مياه الشرب بمياه المجاري بنتقل المرض وبكون mass infection يعني بصيب منطقة كاملة.

- Chronic carriers (5%) are the primary reservoir through chronic infection of the gallbladder and the biliary tract

وهون وزارة الصحة لازم تعمل continuous screening and identification of chronic carriers للي بشتغلو بالمطاعم يعني المطعم بخلي الموظفين عنده يعملو شوية فحوصات بالصحة ومن ضمنهم هاد الفحص، وادا طلع positive بحكيلو يقعد بالدار أسبوعين لحتى نتأكد انه شفي تماماً.

Virulence

It is attributable to:

- Invasiveness

قدرة البكتيريا على الinvasion of tissue

- Intracellular survival & multiplication

ممكن تدخل جوا الخلية وتتكاثر

- Endotoxin

كل ال gram negative عندهم منه وهاد بزيد الvirulence

- Exotoxins:
    1. Enterotoxins

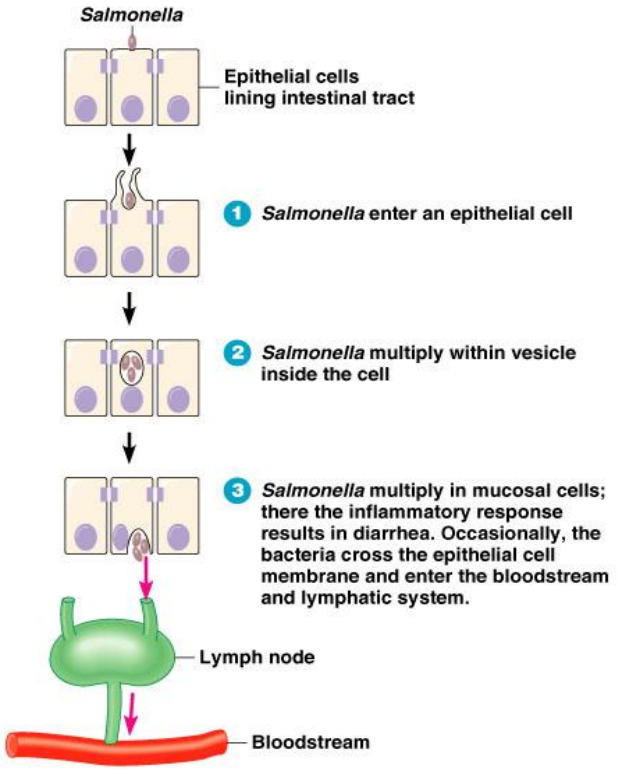
هو المسؤول عن الاعراض بالجهاز الهضمي

    2. cytotoxin

هاد اللي بعمل invasion and destruction of tissue

Pathogenesis

1. the bacteria enter with food
2. it starts to invade the epithelial cells of GIT by engulfment and intracellular uptake
3. it can multiply inside the cell
4. after it causes the GIT symptoms, **some of them** will continue and spread to blood stream and lymphatic system which causes a transmission of the disease from being a GI infection to be a hematopoietic infection



- In the intestinal submucosa, the Vi antigen retards polymorphonuclear neutrophil (PMN) phagocytosis.

هاد ال antigen بمنع انه يصيرلها phagocytosis

- This may favor uptake by macrophages. The typhoid bacteria remain within a membrane-bound vacuole and replicate, leading to macrophage death (prolonged intracellular survival in macrophages)

حتى لو تعرفت عليها الmacrophage بتروح بتعمل حولين حالها غشاء وبتتكاثر جوا وهي اللي بتقتل الmacrophage بدل ما يصير العكس.

- As the bacteria proliferate in macrophages, they are carried through the lymphatic circulation to the mesenteric nodes, spleen, liver and bone marrow

وهي هيك بتخلي الmacrophage تصير transmission tool وعن طريقها بتروح للاعضاء التانية وهيك جهاز المناعة ما بقدر يتعرف عليها لانها متخبية جوا الmacrophage

- Bacteria begin to spill into the bloodstream. This seeding of Gram-negative bacteria and their LPS endotoxin starts the fever, which increases and persists with the continuing of bacteremia

بتبلش تطلع عالدم من الخلايا وهاد اللي بسببلنا الfever اللي هي الhallmark of the disease

وكل ما زاد عدد الخلايا المتفجرة وزادت البكتيريا بالدم ببلش الجسم يحاول يتعامل مع الموضوع وهاد بسبب high grade fever وبصير bacteremia

Clinical Presentations

1. Gastroenteritis (enteritis): وهاي المجموعة الأكبر من المرضى

- High infectious dose, transmitted by poultry and eggs

عن طريق اللحوم والبيض اللي بكون مش مطبوخ منيح

- 6-48h incubation period (generally short)

وهاد بساعدنا بالهيستوري، انه نسأل المريض ادا أكل وجبة ممكن نشك فيها انها هي اللي نقلت اله المرض

- Nausea, vomiting, diarrhea, fever, cramps, headache

قد يكون فيه fever بس بتكون low grade يعني خفيفة

2. Enteric fever

- Typhoid fever caused by *S. typhi* and less severe paratyphoid fever caused by *S. paratyphi*

ادا قدرت البكتيريا توصل للدم بتصير هاي المرحلة، بتقل أعراض الجهاز الهضمي بس بتزيد الحرارة وبتصيرhigh grade وممكن المريض يتطمن انه الاعراض هديك راحت وبس ضلت الحرارة بس هاي bad sign لانه هيك بنعرف انه البكتيريا وصلت للدم.

3. Septicemia

- Particularly *S. typhi,* and *S. paratyphi*
- bacteremia and systemic dissemination to other organs
- Some books differentiate between bacteremia and septicemia that the first is bacteria confined and multiplicate in the blood only but the second means that the bacteria is disseminating to other organs

4. Asymptomatic carriage

- Gall bladder is the reservoir for *S. Typhi*

هاد في المرضى اللي ما بتلقو علاج، الجهاز المناعي بقضي عالمرض لكن بتروح بعض البكتيريا بتقعد في الgall bladder

Enteric or Typhoid Fever

- Enteric fever is a multiorgan systemic infection characterized by prolonged fever, sustained bacteremia, and profound involvement of the RES, particularly the mesenteric lymph nodes (the closest lymph nodes to the GIT), liver, and spleen
- The mean incubation period is 13 days

الفترة اللي حكينا عنها قبل وكانت قصيرة هي فترة وصولها للجهاز الهضمي وبتبدأ الأعراض هناك لكن بتطول شوي لحتى توصل لمرحلة ال fever يعني بتقعد حوالي 13 يوم

لما نسأل المريض ممكن يحكيلنا انه قبل أسبوع او عشر أيام اكل اشي وبعدها صار عنده اعراض متل الاسهال و وجع في البطن وحرارة خفيفة ولكن من يومين راحت كل الاعراض وضلت بس الحرارة العالية هيك بنعرف انها هاي اعراض الtyphoid fever

- The first sign is fever associated with a headache. The fever rises in a stepwise fashion for 72 hours.

بتزيد بشكل تدريجي وشوي شوي على مدى 72 ساعة

- A relatively slow pulse is characteristic.

عادة مع الحرارة بزيد نبض القلب كتير لكن هون زيادته ما بتتناسب مع الحرارة العالية، شو يعني؟ يعني بالحرارة العادية لو مثلا كانت 38 بزيد نبض القلب من 60 ل 80 وكل ما زادت الحرارة شوي بزيد النبض اكتر بس بهاد المرض الحرارة بتكون عالية بس نبض القلب مرتفع شوية صغيرة يا دوب، بحيث ممكن تكون الحرارة 40 فأنا بتوقع يكون النبض 120 بس هو بكون 90.

- In untreated patients, the elevated temperature persists for weeks.
- The fever rises to a high plateau, and the spleen and liver become enlarged. Rose spots (faint rash) on the skin of the abdomen or chest, are seen briefly in rare cases.

الحرارة بتضل ترتفع بعدين بتثبت، من الأعراض تضخم الspleen and liver وبطلع طفح جلدي.

- Diarrhea may occur once or twice but is not a consistent feature
- The chief complications are intestinal hemorrhage and perforation

لما البكتيريا بتحفر في الخلايا اللي في الأمعاء ممكن تسبب نزيف أو حتى تعمل ثقب في الأمعاء

- rarely bacteremia may lead to dissemination to other organs

عادة بعتمد على مناعة المريض

Typhoid Fever Course

- Untreated typhoid fever has 4 stages:
  1. First week: the temperature rises slowly with fluctuation, general weakness, and cough
  2. Second week: high fever in plateau around 40 °C, possible delirium, tender hepatosplenomegaly, and rose spots
- involvement of HLS
  3. Third week: complication start to appear, death can occur up to 30% if untreated
  4. Fourth week: fever might start to subside and the patient become a chronic carrier

هاد ادا المريض ضل عايش بعد الاسبوع التالت وقدر الجهاز المناعي يتغلب على البكتيريا بصير الانسان carrier

Note: If we start treatment in any stage, we can stop the cycle (other stages won't happen)

Laboratory Diagnosis

هون عن طريق الهيستوري بشوف ادا المريض ممكن يكون اكل او شرب اشي ملوث او تعامل مع حدا مريض وبرضو بقدر اعرف عن طريق ال progression تبع الاعراض وهاد كله بخليني اتنبأ بهاد المرض وبتأكد عن طريق الفحوصات التالية:

- Blood:
- CBC → Leucopenia

في الinfections بالعادة بزيد عدد خلايا الدم البيضاء بس بالسالمونيلا خصوصاً بقل العدد، ليش؟ لانه البكتيريا بتقتل الmacrophages

- LFT (liver function test) → elevated transaminases

بصير injury بالكبد لذلك بترتفع انزيمات الكبد

- Specimens:
- Blood
- Stool

هاي اهم اشي ولكنها ما بتحكيلنا ادا وصلت البكتيريا للدم لذلك باخد عينة دم معها

- duodenal drainage
- Gram stain: gram-negative rods
- Culture:

1. Differential media: MacConkey agar for rapid detection of lactose non-fermenting enterobacteria with inhibition of gram-positive bacteria
2. Selective media: Salmonella-shigella agar (SS agar) which favor growth of *Salmonella* and *Shigella* over other Enterobacteriaceae

وعشان اميز هي salmonella او shigella بعمل motility test او antibody test

3. Enrichment culture: enriched broth media that allow growth of Salmonella and inhibit normal intestinal flora

يعني اني ازرع البكتيريا عدة مرات قبل ما احطها عال MacConkey agar، ليش؟ حتى ازيد من positive outcome

- Incubation for 24 hours in ambient air at 35-37 °C, produce colorless colony

- Biochemical test:
  - Oxidase-negative
  - Catalase-positive
  - Glucose fermentation positive while lactose fermentation is negative
  - Reduce nitrates to nitrites

- Serological tests:

بدل ما ادور عالبكتيريا بشكل مباشر ممكن ادور عالantibodies اللي بتعملهم

1. Agglutination test: Known sera (Salmonella specific antibodies) and unknown culture are mixed on a slide and observed for clumping

ادا الss agar طلعت positive يعني البكتيريا اما salmonella او shigella وحتى اعرف إياها بجيب specific antibodies للسالمونيلا وادا صار clumping بعرف انها سالمونيلا

2. The dilution agglutination test (Widal test):

باخد عينة من المريض وبخلطها مع antigens خاصة بالسالمونيلا وادا صار interaction بعرف انه هاد المريض عنده Antibodies للسالمونيلا

- To detect formation of specific anti-Salmonella antibodies in patients serum

- Serial dilutions of serum are tested against known salmonella antigens (O and H antigens)
- Positive with titer with O antigen >1:320, titer with H antigen >1:640

الدكتور هون حكا انه لازم تكون كمية ال antibodies مقنعة وكل ما كانت اكتر بكون الtest مؤكد انه positive (الدكتور حكا الارقام)

- or rise in antibody titer in 2 specimens obtains with 7-10 days interval

او ممكن اخد عينة من المريض وبحكيله روح أسبوع وارجع وبرجع باخد عينة تانية ، ادا العينة الاولى كانت 1 على 1000 معناته كمية الantibodies قليلة وبالاسبوع التاني صارت 1 على 500 يعني زادت او تضاعفت فهذا يعتبر positive

- The test is usually positive after 1-2 weeks of infection, and false-positive and false-negative results occur.

هاد التست بطلنا نعتمد عليه، ليش؟

لانه بطيء بحيث فترة تكوين الantibodies بجسمنا بتاخد لحد أسبوعين وتخيلو لو بدي استنى أسبوعين لحتى اعرف النتيجة بكون المريض دخل بالاسبوع التالت واللي هو اخطر أسبوع

وبرضو ممكن يكون المريض عنده سالمونيلا بس ما بين عندي انه عنده antibodies وخاصة ادا كانت مناعته ضعيفة شوي لذلك انا بفكره مش مصاب مع انه بكون مصاب وهاد اسمه false negative

او بكون دخل عنا بكتيريا تانية بتشبه السالمونيلا والمريض كوّن antibodies الها واحنا فكرناها سالمونيلا فهاد اسمه false positive

- The test is not useful in diagnosis of enteric fevers caused by salmonella other than Salmonella Typhi

حتى انه بعطي negative للpara-typhi

لعاد شو استخدم؟ culture خلال يومين تلاتة بالكتير بتكون اعطتنا النتيجة.

Treatment

Enteritis:

ادا ما في أي اعراض بتدل انها وصلت الدم وكانت الblood culture negative

Fluid and electrolyte replacement بلاش يصير عنده جفاف

- Control of nausea and vomiting
- Antibiotics not recommended for enteritis because it prolong disease duration

Enteric fever

ادا صارت الblood culture positive

- Antibiotics
  - chloramphenicol

    من جديد بطلنا نعطيه لانه اله side effect بالbone marrow (بعمللله suppression) مع انه كتير قوي ضد السالمونيلا
  - ceftriaxone في المستشفى
  - ciprofloxacin

    بكون مش كتير تعبان المريض ومش داخل المستشفى بعطيه هاد وبكون oral
- With proper antimicrobial therapy, patients feel better in 24 to 48 hours, their temperature returns to normal in 3 to 5 days, and they are generally well in 10 to 14 days

Prevention

- Control by proper preparation of food "Boil it, cook it, peel it, or forget it"

  يا بتغليه او بتطبخه منيح او بتقشره وادا كان ما بتقدر تعمله ولا اشي من هدول لا تاكله
- The provision of clean water supplies
- Hygiene and sanitation with emphasis on proper hand washing
- Vaccination can reduce risk of disease for travelers in endemic areas (vaccination is available and is 50-70% effective) effective for 2 years

  أي حد بتعرض للمرض لأول مرة بتكون الاعراض عنده كتير قوية وممكن يتوفى لكن اللي بكونو عايشين بالدولة اللي فيها endemic عادي بكونو متعودين بتكون دخلت على جسمهم وهم صغار وعملت اعراض ولكن لما تصير تدخل بعدها بتخف الاعراض كل مرة لحتى تبطل تعمل أي اشي
- Identify & treat carriers of *S. typhi* & *S. paratyphi*

Second: *Brucella and Brucellosis*

Introduction

- It has several names:
  - Brucellosis
  - Malta fever ظهرت في مالطا لأول اشي
  - Mediterranean Fever منتشرة في منطقة البحر المتوسط
  - Undulant fever لانه الحرارة مش ثابتة، بتضل تزيد وتخف وتزيد وتخف
- David Bruce (1855-1931) sent to Malta to provide medical care to the troops. 1887 isolated "micrococcus" from spleens of 4 soldiers died of the disease

راح مع الجيش على مالطا عشان يعتني بالجنود ومات عنده اربع جنود بأعراض غريبة فلما عمللهم تشريح لقى نوع بكتيريا بالspleen وسماها micrococcus

- Zoonotic disease
- Six species
  - *B. abortus* - mainly cattle
  - *B. melitensis* - sheep & goats
  - *B. suis* - pigs

اول تلاتة بنتقلو من الحيوان للإنسان

  - *B. canis* – dogs احتمال صغير انه ينتقل للإنسان
  - *B. ovis* - sheep (not human pathogen)
  - *B. neotomae* - desert wood rat (not human pathogen)

اخر تنتين ما بهمونا لانهم ما بنتقلو من الحيوان للإنسان

General Characteristics

- Gram - ve cocci, coccobacilli, bacilli
- Very small

- Non fermenters
- Strict aerobic
- Non motile (don't have flagella)
- Non spore forming
- Grow in regular media -prolonged incubation > 4 weeks

كتير بطيء نموها

- Two major antigenic variants (A and M)
- True pathogens: isolation always associated with disease, always clinically significant (not a normal flora)

Epidemiology

- 500,000 human cases per year worldwide
- The disease is common in Mediterranean and Arabic area
- Animals are natural reservoir mainly domestic animals
- Brucellosis is a genitourinary infection of sheep, cattle, pigs, and other animals

بكون موجود في الجهاز البولي للماشية وممكن ينتقل للحليب، ولما يجي الانسان يشرب الحليب بنتقل اله المرض

- Concentrated in animal milk, urine, genital organs
- Route of transmission:
    - Oral: unpasteurized milk & products of raw milk or meet

غلي الحليب مفيد بنسبة 80 ل 90 بالمية بس البسترة هي اكتر اشي فعال

شو الفرق؟ الغلي هو رفع درجة حرارة الحليب ل 100 وبس، أما البسترة بنرفع درجة الحرارة ل73 وبنخليها ثابتة لفترة بعدين بننزل درجة الحرارة فجأة.

    - Skin: accidental penetration or abrasion; at risk farmers & veterinarians

مزارع او لحام او طبيب بيطري جرح حاله بايده ممكن البكتيريا تدخل من الجرح

    - Other routes: conjunctival, blood transfusion, and transplacental (rare)

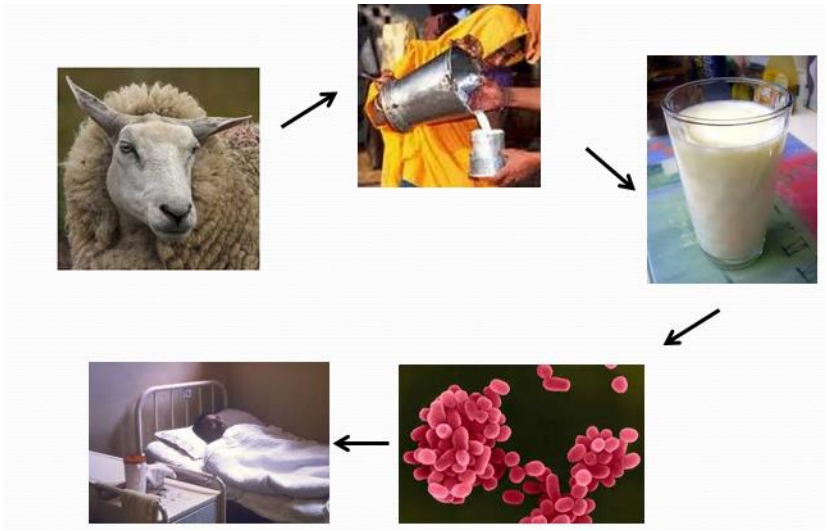
People at risk:

1. Farmers
2. Abattoir employees, government meat inspectors, and others who handle livestock or meat products

اللحامين او اللي بشتغلو بالمسالخ او الناس اللي شغلهم بتضمن فحص اللحمة

3. Veterinarians الطبيب البيطري
4. Laboratory workers

- An outbreak of *B. melitensis* in Texas was traced to unpasteurized goat cheese brought in from Mexico



Pathology and Virulence

- Facultative intracellular pathogens of mononuclear-phagocyte system

ما بتموت جوا الmacrophage

1. Bacteria are phagocytosed by macrophage or polymorphonuclear leukocyte
2. Survive intracellularly by inhibiting killing
3. Carried to spleen, liver, bone marrow, lymph nodes
4. Form granulomas {it is the hallmark} (mass of granulation tissue produced in response to chronic infections, inflammation, or foreign bodies) and cause destructive tissue damage

Granuloma: Condensation of the microorganism and around it there are macrophages trying to kill the bacteria

5. Release of bacteria from granuloma into the systemic circulation responsible for the recurrent chills and fever of the clinical illness

بتتخبى البكتيريا جوا ال granuloma وبتبلش تتكاثر وبصير الgranuloma يكبر شوي شوي بعدين بفتح ويتنتشر البكتيريا وبتوصل للدم وبتطلع الاعراض، بيجي جهاز المناعة بده يحاربها بترجع تحبس حالها جوا granuloma بتروح تختفي الاعراض لمدة شهرين بترد تطلع البكتيريا وبتنتشر بعدين بترد تختفي وعلى هالحالة، خلو هاي الشغلة ببالكم لانها أساس هاد المرض رح نحكي عنها كمان شوي.

Clinical Presentation

- Acute disease often develops with initial nonspecific symptoms of malaise, chills, fatigue, weakness, myalgias (muscles), weight loss, arthralgias, and cough

هاي بتصير ببداية المرض اول ما تدخل البكتيريا عالجسم

- Chronic disease and recurrence are common because it can survive in phagocytic cells and multiply to high concentrations:
    1. Fever with sweating in the evening (periodic fever)
    2. Headache, anorexia, body aches and weight loss
    3. Lymphadenopathy, hepatomegaly, and splenomegaly
- Complications:
    - Arthritis
    - epididymo-orchitis (inflammation of the epididymis and/or testicle)
    - spondylitis (inflammation of the vertebra)

- neurobrucellosis (it reaches the CNS)
- liver abscess
- **endocarditis** (the latter potentially fatal)

- Brucellosis starts with malaise, chills, and fever 7 to 21 days after infection. Drenching sweats in the late afternoon or evening are common, as are temperatures in the range of 39.4 to 40° C. The pattern of periodic nocturnal fever (undulant fever) typically continues for weeks, months, or even 1 to 2 years

حرارة عالية/ تعرق/ بكون حاس حاله بردان وبرجف / بتصير بالليل وبتكون شديدة كتير بعدين بطلع النهار ما بكون ماله اشي بعدين بس يجي الليل برد يتعب كتير وعلى هالحالة وهاد هو معنى nocturnal undulant fever

- Patients become chronically ill with associated body aches, headache, and anorexia. Weight loss of up to 20 kg may occur during prolonged illness
- Less than 25% of patients show detectable enlargement of the reticuloendothelial organs, the primary site of infection. Of such findings, **splenomegaly is most common**, followed by lymphadenopathy and hepatomegaly

Laboratory Diagnosis

أول اشي هستوري بعدين بعمل الفحوصات التالية

1. **Specimen:** blood, biopsy tissue from lymph nodes, bone marrow
2. **Gram stain:** small gram-negative coccobacilli
3. **Culture:**
    - Grow on commonly used media, including chocolate and blood agar
    - Brucella agar medium is highly enriched selective media that grow *Brucella* species bacteria very well (it is a selective media)

- All cultures should be incubated in 8–10% CO_2 at 35–37°C and should be observed for 3 weeks before being discarded as negative
- Colonies: small, convex, smooth colonies appear on enriched media in 2–5 days

4. Biochemical tests:

- Catalse positive
- Oxidase positive
- Urease positive

5. Serology:

هاد بكون مفيد لانه المرض chronic فحتى لو تأخر عادي

- Plate agglutination test (Brucella ring test)
  1. Drop of serum mixed with drop of Brucella antigen
  2. Clumping indicates infection
  3. If the mixture remains clear, the result is negative

  → ما شرحهم

- Antibodies that agglutinate suspensions of heat-killed organisms typically reach titers of 1: 640 or more in acute disease

6. ELISA: detects specific IgG (long term infection) and IgM (acute infection) antibodies

Treatment and Prevention

ما اله cure لانه المضاد الحيوي ما بقتل البكتيريا المتخبية جوا الgranuloma ، ممكن يقتلها لما تطلع للدم بس.

- Treated with combination of tetracycline and doxycycline
- Prevention:
  1. Serology & confirmatory bacterial culture to identify infected animals

2. Positive animals are destroyed

3. Vaccination is available but is not a 100% effective and is costly to cattle ranchers

المطعوم للحيوان عشان نحمي الانسان بس مش للإنسان مباشرة

4. Milk, milk products and meat need to be boiled or cooked properly

Difficult roads often lead to beautiful destinations