

STAFILOCOCCI

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- Cocchi Gram positivi disposti a grappolo
- Immobili
- Capsulati (capsula non sempre evidente)
- Asporigeni

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- Aerobi
- Aaerobi-facoltativi

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- Scarsamente esigenti
- Alofili (tollerano elevate concentrazioni saline: NaCl 7,5%)

CLASSIFICAZIONE DEGLI STAFILOCOCCHI

CLASSIFICAZIONE DI BAIRD PARKER 1974

- *S. aureus*
- *S. epidermidis*
- *S. saprophyticus*

CLASSIFICAZIONE DI KLOOS E SCHLEIFER 1975-76

- *S. aureus*
- *S. epidermidis*
- *S. saprophyticus*
- *S. capitis*
- *S. haemolyticus*
- *S. hominis*
- *S. warneri*
- *S. simulans*
- *S. sciuri*
- *S. cohnii*
- *S. xylosus*

CLASSIFICAZIONE IN LIORUPPI (GRUPPO ITALIANO STAFILOCOCCHI 1978-80)

LIORUPPO I STAPHYLOCOCCUS AUREUS

LIORUPPO II STAPHYLOCOCCUS SIMULANS

LIORUPPO III S. CAPITIS E SAPROPHYTICUS

LIORUPPO IV S. COHNII E XYLOSUS

LIORUPPO V S. EPIDERMIDIS

LIORUPPO VI S. HAEMOLYTICUS

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

CARATTERISTICHE:

- Maggior patogeno per l'uomo
- Presente a livello della cute e del naso faringe
- Frequente lo stato di portatore
- Produce nei terreni solidi colonie giallo oro
- Fermenta la mannite

Manifestazioni patologiche sostenute da Staphylococcus aureus

Cute e tessuti molli: foruncoli, favi, impetigine, infezioni di ferite, infezioni di zone ustionate. Necrolisi epidermica acuta (stipiti produttori di tossina epidermolitica)

Apparato scheletrico: osteomielite

Apparato respiratorio: polmonite

Apparato genito-urinario: ascesso renale, infezione delle basse vie

Sistema nervoso centrale: ascessi cerebrali

Batteriemia: con possibilità di ascessi metastatici a distanza

Sindrome da shock tossico: solo gli stipiti produttori delle specifiche tossine

Intossicazione alimentare: gastroenterite e vomito successivi all'ingestione di cibi contaminati

Antigeni di superficie dello Staphylococcus aureus

Antigene capsulare: ac. Glucosaminuronico

Antigeni parietali: antigene A (proteico) e antigeni polisaccaridici denominati: **A e 263** (complesso peptidoglicano-acidi teicoici)

Fattori di virulenza

Nel determinismo dell'azione patogena concorrono numerosi fattori di virulenza quali

Esotossine

- alfa-emolisina
- beta emolisina
- gamma emolisina
- delta emolisina
- leucocidina
- enterotossina
- tossina epidermolitica
- tossine pirogene

Esoenzimi

- coagulasi
- proteasi
- enzimi lipolitici
- DNAsi
- ialuronidasi
- stafilochinasi

Componenti strutturali

- capsula
- coagulasi legata
- catalasi, superossidodismutasi
- proteina A

Metodi di identificazione

- Esame microscopico diretto: (cocchi Gram positivi disposti a grappolo)

- Esame colturale: semina in agar sangue (colonie circondate da un alone di emolisi)

- Semina in MSA agar - colonie giallo oro fermentanti la mannite, circondate da un alone giallo causato dal viraggio dell'indicatore per produzione di acidi ottenuti dalla fermentazione dello zucchero

- Tests biochimici:
 - produzione di catalasi
 - produzione di coagulasi
 - produzione di DNAsi

- Reazioni sierologiche: scarso significato

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO DELLE INFEZIONI STAFILOCOCCICHE

■ Stafilococchi MS:

- penicilline
- cefalosporine
- macrolidi
- fluoroquinoloni

■ Stafilococchi MR

- vancomicina
- teicoplanina eventualmente associata a rifamicina o aminoglicosidi

INFEZIONI COMUNITARIE:

- terapia empirica

INFEZIONI OSPEDALIERE:

- terapia mirata (antibiogramma)

NOTEVOLE DIFFUSIONE DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA

MS= meticillino sensibile

MR= meticillino resistente

STREPTOCOCCI

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- cocchi Gram positivi disposti a catenella
- immobili
- capsulati (capsula ben evidente)
- asporigeni

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- aerobi facoltativi con predilezione per la condizione di anaerobiosi

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- batteri esigenti
- terreni arricchiti con liquidi organici (sangue, siero, liquido ascitico)

CLASSIFICAZIONE DEGLI STREPTOCOCCI

EMOLISI:

- alfa (parziale, alone verdastro attorno alle colonie)
- beta (totale, alone trasparente attorno alle colonie)
- gamma (assenza di emolisi)

DIFFERENZE ANTIGENICHE DEL POLISACCARIDE C:

- 18 tipi da A ad H e da K a T (Lancefield)

Streptococcus pyogenes

- rappresenta lo Streptococco patogeno più importante per l'uomo
- è uno streptococco beta-emolitico di gruppo A (Lancefield)

Manifestazioni patologiche indotte da Streptococcus pyogenes

- Angina (faringotonsillite) streptococcica acuta con possibili localizzazioni a distanza quali: ascessi peritonsillari, otite, mastoidite, meningite, polmonite, endocardite
- Scarlattina (ceppi produttori di tossina eritrogenica)
- Infezioni cutanee (impetigine, erisipela, piodermiti)
- Fascite necrotizzante (ceppi produttori di tossine eritrogeniche)
- Sindrome da shock tossico (ceppi produttori di tossine eritrogeniche)
- Infezioni post-partum (oggi scomparsa)

Sequela non suppurative

- Glomerulonefrite post-streptococcica
- febbre reumatica
- eritema nodoso (alcuni casi)

Antigeni di superficie

- Antigene capsulare (acido ialuronico)
- Antigeni parietali: antigene C specie-specifico
- e antigeni proteici tipo-specifici (M,T,U,W,X,Y)

Fattori di virulenza

L'azione patogena è sostenuta da:

Esotossine

- streptolisina O
- streptolisina S
- tossina eritrogenica (taluni ceppi)

Esoenzimi

- ialuronidasi
- NADasi
- streptochinasi
- DNAsi

Fattori batterici

- capsula
- proteina M
- polisaccaride C
- emolisina intracellulare
- antigeni con reattività crociata con tessuti dell'organismo
- recettori per l'estremo Fc delle IgG

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO DELLE INFEZIONI STREPTOCOCCICHE

TERAPIA CON BETA-LATTAMICI

- per un periodo non inferiore a 10 gg
- sempre efficaci in vitro

TERAPIA CON MACROLIDI:

- possibilità di resistenza

RESISTENZA DOVUTA A:

- produzione di metilasi
- pompa di efflusso

METODI DI IDENTIFICAZIONE DELLO ***Streptococcus pyogenes***

ESAME MICROSCOPICO DIRETTO:

- scarsa utilità, non permette la diagnosi di specie

ESAME CULTURALE:

- agar sangue (colonie di 1-2 mm di diametro, spesso di aspetto mucoso, circondate da un alone di emolisi completa)

IDENTIFICAZIONE DEL POLISACCARIDE C:

- test al lattice di polistirolo

REAZIONI SIEROLOGICHE:

- titolo anti-streptolisinico

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- Cocchi Gram positivi appaiati: diplococchi (le singole cellule hanno forma lanceolata), immobili, capsulati e asporigeni

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- Anaerobi facoltativi, utilizzano un metabolismo di tipo fermentativo con produzione di acido lattico

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- Batteri esigenti, crescono in agar sangue formando colonie piccole di aspetto mucoso, circondate da un alone di alfa emolisi in presenza di ossigeno e di beta emolisi in anaerobiosi.
- Nelle colonie vecchie è frequente l'aspetto a "pedina di dama" con bordi rilevati e centro depresso.

MANIFESTAZIONI PATOLOGICHE:

- Polmoniti, cui possono seguire: otiti, mastoiditi, meningiti, batteriemia, endocarditi e pericarditi.

CARATTERI ANTIGENI:

- Polisaccaridi capsulari: permettono la suddivisione in oltre 90 sierotipi. Nello pneumococco di tipo 3, il polisaccaride è un polimero di acido cellubiuronico.
- Antigene C: si trova a livello della parete, è antigenicamente distinto da quello degli streptococchi beta emolitici, in presenza di calcio precipita con una globulina sierica chiamata proteina-C-reattiva.
- Proteina M: si trova a livello della parete, è simile ma antigenicamente distinta da quella degli altri streptococchi.

MECCANISMO DELL'AZIONE PATOGENA

- **Capsula:** azione antifagocitaria
- **Proteina M:** superantigene
- **Pneumolisina:** simile alla streptolisina **O** di *S. pyogenes*.
Pazienti che abbiano superato una polmonite pneumococcica, tuttavia, non mostrano un rialzo del titolo anti streptolisinico.
- **Neuraminidasi:** enzima in grado di attaccare le glicoproteine e i glicolipidi delle membrane.
Contribuisce all'invasività degli pneumococchi.

METODI DI IDENTIFICAZIONE DELLO ***Streptococcus pneumoniae***

- **Esame microscopico diretto:**
diplococchi lanceolati Gram positivi, provvisti di capsula
- **Esame colturale:**
semina in agar sangue con aggiunta di un dischetto di optochina, al quale lo pneumococco è sensibile, e incubazione in atmosfera al 5% di CO₂. Le colonie sono simili a quelle degli streptococchi viridanti, anch'esse circondate da un alone di alfa emolisi.
- **Sensibilità ai sali biliari:**
in presenza di sali biliari (sodio desossicolato 0.05%) gli pneumococchi si lisano rapidamente.

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO NELLE PATOLOGIE DA *Streptococcus pneumoniae*

EMERGENZA DI ANTIBIOTICO RESISTENZA NEI CONFRONTI DI:

- penicilline
- cefalosporine
- macrolidi
- cloramfenicolo
- tetracicline
- rifampicina
- cotrimoxazolo

MECCANISMI DI RESISTENZA:

- **β-lattamici** modificazione del bersaglio d'azione molecolare "PBP"
- **macrolidi** modificazione del bersaglio, inattivazione enzimatica, pompa di efflusso.
- **cloramfenicolo** produzione di enzimi inattivanti (acetiltransferasi)
- **tetracicline** diminuita affinità per il bersaglio
- **rifampicina** diminuita affinità per il bersaglio
- **cotrimoxazolo** iperproduzione di enzimi inattivanti (diidropteroato-sintetasi), (diidrofolato-reduttasi)

TERAPIA DELLA POLMONITE:

- beta-lattamici (macrolidi nei soggetti allergici)

TERAPIA DELLA MENINGITE:

- cefalosporine di terza generazione (maggiore attività sui ceppi PR e migliori caratteristiche farmacocinetiche)

SETTICEMIE:

- cefalosporine di terza generazione, carbapenemici e glicopeptidi nelle forme contratte in ambiente nosocomiale o sostenute da batteri multiresistenti

NEISSERIE

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- cocchi Gram negativi disposti a coppie (diplococchi). Le singole cellule hanno un aspetto reniforme (chicco di caffè) con le parti piano-concave appaiate. Sono immobili, asporigeni e sovente capsulati.

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- aerobi, anaerobi-facoltativi

CARATTERISTICHE COLTURALI:

- sono batteri esigenti, prediligono per la crescita terreni ricchi come: l'agar sangue o l'agar cioccolato (agar sangue cotto a 60°) e incubazione a 37° in atmosfera di CO₂.

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE:

- catalasi positivi, ossidasi positivi

NB: la reazione della ossidasi o (citocromo-ossidasi) è basata sul fatto che il citocromo C ossidato è, a sua volta, in grado di ossidare alcuni reagenti incolori (dimetil-p-fenilendiamina), trasformandoli in composti colorati.

CLASSIFICAZIONE

- Neisserie apatogene: *Neisseria sicca*
Neisseria subflava
Neisseria flavescens
Neisseria mucosa
- Neisserie patogene: *Neisseria meningitidis*
Neisseria gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

CARATTERISTICHE GENERALI:

- cocchi Gram negativi
- immobili
- asporigeni
- aerobi
- ossidasi positivi
- caratteristicamente disposti a coppie

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

- Meningite acuta purulenta con possibili localizzazioni metastatiche a distanza a carico di organi quali: ossa, articolazioni, polmone, endocardio e seni paranasali.

MODALITÀ DI TRASMISSIONE DELLA MENINGITE:

- via aerea, attraverso goccioline emesse dal malato o dal portatore sano

INCIDENZA:

- mesi invernali e primaverili

POPOLAZIONE COLPITA:

- bambini di età compresa tra i 6 mesi e i 2 anni.
- giovani intorno ai 20 anni che vivono in comunità chiuse

CARATTERISTICHE CLINICHE DELLA MALATTIA:

- rigidità nucale, cefalea, febbre elevata, irritabilità, disturbi mentali, nausea, vomito e frequente presenza di esantema con possibile formazione di petecchie confluenti

CARATTERI ANTIGENI:

- **Antigene O** presente a livello della membrana esterna (componente polisaccaridica dell'LPS)

■ COSTITUENTE CAPSULARE:

- natura polisaccaridica
- fortemente antigene
- permette la suddivisione in 10 gruppi (A;B;C;Y etc.)

FATTORI DI VIRULENZA

CAPSULA	impedisce la fagocitosi
ENDOTOSSINA	attiva il complemento, causa necrosi endoteliale e infiammazione disseminata
PILI	rendono possibile l'adesione alle cellule mucipare dell'epitelio delle prime vie aeree
IGA-PROTEASI	facilita la sopravvivenza e la moltiplicazione sulla superficie delle mucose

METODI DI IDENTIFICAZIONE DELLA ***Neisseria meningitidis***

ESAME MICROSCOPICO DIRETTO:

- permette di evidenziare i diplococchi Gram negativi, tuttavia, dal momento che taluni bacilli Gram negativi possono simulare la morfologia delle Neisserie, tale reperto ha scarso valore diagnostico

IMMUNOFLUORESCENZA:

- direttamente sul campione utilizzando sieri specifici

ESAME CULTURALE:

- semina su piastre di agar sangue cotto a 60°C (agar cioccolato) ed incubazione a 37°C in presenza del 5% di CO₂. Le colonie si presentano rotondeggianti, traslucide e di aspetto mucoso

TESTS BIOCHIMICI:

- catalasi e ossidasi

N.B. Le Neisserie sono estremamente labili al di fuori dell'organismo, di conseguenza è necessario procedere al test culturale con la massima tempestività.

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

- ampicillina
- cefalosporine di terza generazione
(da preferire a causa della maggiore resistenza verso le beta-lattamasi).
- cloramfenicolo
(si potrà usare nei soggetti adulti allergici ai beta-lattamici)

MODALITA' DI PREVENZIONE NEI SOGGETTI A RISCHIO

CHEMIOPROFILASSI:

- rifampicina, minociclina o ciprofloxacina (usata per limitare un'epidemia in comunità chiuse)

PROFILASSI VACCINALE:

- vaccino allestito con polisaccaridi capsulari (utilizzato per popolazioni particolarmente a rischio)

Neisseria gonorrhoeae

- Presenta i medesimi caratteri generali della ***N. meningitidis***
- Presenta analoga labilità nell'ambiente esterno

FATTORI DI VIRULENZA

- **Capsula:** azione antifagocitaria
- **Pili:** permettono l'adesione alle mucose
- **Lipopolisaccaride:** protegge dall'effetto battericida del siero
- **Proteine della membrana esterna:** (OMP) favoriscono la penetrazione e la disseminazione a distanza dei microrganismi
- **IgA-proteasi:** inattivano le IgA a livello delle mucose

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

1) **Gonorrea o blenorragia**

- nell'uomo la gonorrea è altamente sintomatica (secrezione uretrale purulenta associata a dolore)
- nella donna è asintomatica o paucisintomatica (scarsità di secrezioni)

Diffusione dell'infezione :

- nell'uomo: epididimiti, prostatiti, proctiti
- nella donna: pelvipерitonite, ascessi (malattia infiammatoria pelvica), stenosi cicatriziali, con conseguente ipo- o infertilità

2) **Oftalmoblenorragia del neonato**

- contagio per passaggio attraverso il canale del parto infetto (oggi assai rara)

METODI DI IDENTIFICAZIONE DELLA *Neisseria gonorrhoeae*

- **Esame microscopico diretto del campione:**
(presenza dei tipici diplococchi Gram negativi associati a numerosi granulociti)

N.B. L'esame microscopico è meno indicativo nella donna per la concomitanza, nell'apparato genitale femminile, di microrganismi che simulano le neisserie.

- **Esame colturale:**
semina del campione in terreno selettivo di Thayer-Martin incubato a 35° in atmosfera al 5% di CO₂

- **Tests biochimici:**
 - positività al test dell'ossidasi
 - fermentazione differenziata dei carboidrati

- **Tests immunoenzimatici e sonde genetiche:**
(direttamente sul campione)

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

- **Penicillina**
(attualmente il suo uso è limitato dall'aumento dei ceppi β -lattamasi produttori)
- **Cefalosporine di III^a generazione**
(maggiore stabilità alle β -lattamasi; migliori prerogative farmacocinetiche; possibilità di monosomministrazione)
- **Macrolidi**
La Spectinomicina, in particolare, è efficace nei quadri associati con *Chlamydia trachomatis*
- **Tetracicline**

Moraxella catarrhalis

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- Coccobacillo Gram negativo, reniforme, asporigeno, immobile (aspetto simile alle Neisserie)

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- Aerobio, anaerobio facoltativo

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE:

- Catalasi e ossidasi positivo

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- Notevolmente esigente, predilige terreni ricchi (agar sangue o agar cioccolato)

FATTORI DI VIRULENZA

CAPSULA

- impedisce la fagocitosi

PILI

- favoriscono l'adesione alle mucose

LIPOPOLISACCARIDE

- responsabile del processo infiammatorio

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

(massima incidenza nei mesi invernali con l'andamento tipico delle patologie respiratorie)

BAMBINO:

Otite media
Sinusite acuta
Meningite
Sepsi
Endocarditi
Artriti settiche
Cheratiti

ADULTO:

Esacerbazioni in corso di broncopneumopatie cronico ostruttive

ADULTO IMMUNOCOMPROMESSO:

polmoniti, infezioni sistemiche

METODI DI IDENTIFICAZIONE:

- Esame microscopico diretto:
 - coccobacilli Gram negativi

- Esame colturale:
 - semina in agar cioccolato ed incubazione a 35°C in atmosfera di CO₂.
(colonie piccole grigio-biancastre, di aspetto mucoide)

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

- Penicilline + inibitore delle β -lattamasi
(causa l'elevata percentuale di ceppi produttori di β -lattamasi)

- Cefalosporine di IIIa generazione
(vantaggi farmacocinetici)

- Macrolidi
(soggetti allergici a penicilline e cefalosporine)

- Fluorochinoloni
(esclusivamente nell'adulto)

Haemophilus influenzae

Rappresenta la specie più importante per la patologia umana del genere *Haemophilus*

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- bacilli pleomorfi Gram negativi
- Immobili
- capsulati
- asporigeni

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- aerobi facoltativi

CARATTERISTICHE CULTURALI:

Batteri esigenti, necessitano di particolari fattori di crescita (X-V) presenti nei globuli rossi del sangue.

- **fattore X** protoporfirine presenti in emina, ematina etc.
- **fattore V** nicotinamide-adenin-dinucleotide (NAD)

HABITAT

Fa parte della flora batterica delle vie aeree superiori (la condizione di portatore è frequente nei bambini)

CLASSIFICAZIONE

- 6 sierotipi (a-f) in base alla differente composizione dei polisaccaridi capsulari
- 8 biotipi (I-VIII) in base alle differenze biochimiche

FATTORI DI PATOGENICITA'

- capsula polimero costituito da: fosfato e ribitolo legato a un esoso oppure ad un pentoso (ribosio nel sierotipo b)
- lipopolisaccaride: endotossina
- proteasi: enzima extracellulare che degrada le immunoglobuline umane della classe IgA1

MANIFESTAZIONI PATOLOGICHE

- *Haemophilus influenzae* sierotipo b (infezioni pediatriche)
 - meningiti (massima incidenza 2 mesi-3 anni)
 - laringiti ostruttive (epiglottidi)
 - otiti purulente
 - setticemie con possibilità di: polmoniti, artriti e pericarditi
- Altri sierotipi e ceppi acapsulati (infezioni dell'adulto)
 - bronchiti croniche
 - sinusiti
 - congiuntiviti
 - otiti medie
 - esacerbazione di episodi di fibrosi cistica

DIAGNOSI DI LABORATORIO

- **Esame microscopico diretto:**
(sul liquor o su diverso campione) - batteri Gram negativi pleomorfi

- **Esame colturale:**
semina in agar cioccolato ed incubazione in atmosfera di CO₂

- **Tests rapidi** (evidenziano gli antigeni capsulari)
 - agglutinazione al lattice
 - co-agglutinazione
 - controimmuno-elettroforesi
 - test immunoenzimatici

Pseudomonas

CARATTERISTICHE GENERALI:

- Bastoncelli Gram negativi, mobili, asporigeni, ossidasi e catalasi positivi
- Crescono a temperature comprese tra 4 e 42°C

CARATTERISTICHE GENETICHE:

- Eccezionale assetto plasmidico che definisce caratteri fenotipici caratteristici quali:
 - resistenza ai farmaci antibatterici ed ai disinfettanti
 - capacità di degradare composti organici (idrocarburi e derivati)

CLASSIFICAZIONE

Sono note circa 30 specie

Pseudomonas aeruginosa è la specie più importante per la patologia umana.

Pseudomonas aeruginosa

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- Bastoncetto Gram negativo, mobile, asporigeno, acapsulato (è presente, abbondante glicocalice che conferisce alle colonie un tipico aspetto mucoso)

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- Aerobio

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- **cresce nei comuni terreni**
 - la notevole resistenza agli agenti tensioattivi permette la crescita in presenza di disinfettanti come il ceftrimide
- **produzione di pigmenti:**
 - fluoresceina, conferisce alle colonie osservate all'UV un alone verdastro
 - piocianina, conferisce alle colonie una intensa colorazione blu
- Le colonie appaiono grandi sfrangiate con un caratteristico odore di frutta, il terreno di coltura appare modificato per la diffusione dei pigmenti.

HABITAT

- **diffusissimo nell'ambiente:** acque, suolo
- **diffusissimo nell'uomo:** commensale (intestino e cute)

FATTORI DI VIRULENZA

- strati mucosi esterni:
 - azione antifagocitaria
- tossine:
 - esotossina A
 - inibizione della sintesi proteica (azione simile alla tossina difterica)
 - attività necrotizzante

 - esotossina S
 - citotossica aumenta l'invasività dei ceppi nei pazienti ustionati, danneggia il parenchima polmonare nelle infezioni croniche
- enzimi extracellulari:
 - elastasi
 - azione necrotizzante su tessuti e vasi
 - proteasi alcalina
 - azione necrotizzante su tessuti e vasi
 - fosfolipasi C (emolisina termolabile)
 - attività su lipidi e lecitine e sul surfactante polmonare
 - glicolipide (emolisina termostabile)
 - attività su lipidi e lecitine e sul surfactante polmonare
 - pigmenti
 - con la mediazione di radicali tossici liberi svolgono azione distruttiva sugli epitelii ciliati delle vie aeree
 - leucocidina
 - neutralizza l'azione dei leucociti
 - lipopolisaccaride
 - responsabile di: febbre, shock, ipotensione e coagulazione intravasale disseminata

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

- *Pseudomonas aeruginosa* è fundamentalmente un patogeno nosocomiale, sostenendo il 20-40% di tutte le infezioni contratte in tale sede, mentre è responsabile solo del 3-6% delle infezioni comunitarie.
- **infezioni polmonari**
 - frequenti in soggetti compromessi e con alterazioni anatomico-funzionali dei polmoni
- **sovrainfezioni in pazienti affetti da:**
 - bronchiti acute
 - bronchiectasie
 - fibrosi cistica (la produzione di muco vischioso facilita le infezioni ad opera di ceppi che sintetizzano un glicocalice di arginato)
- **complicanza di ustioni**
 - *P. aeruginosa* può contaminare le superfici esposte con conseguente disseminazione sistemica per via ematica
- **infezioni**
 - ferite chirurgiche o ulcere da decubito
- **otiti esterne e otiti medie**
 - fattore predisponente per l'otite esterna è la presenza di acqua nel canale auricolare, pertanto tale affezione è chiamata "otite del nuotatore"
- **setticemia**
 - dovuta sovente a cateterizzazione e temibile in pazienti immunodepressi, oncologici, chirurgici e nei neonati prematuri

■ endocarditi

- nei tossicodipendenti o a seguito di manovre chirurgiche

■ infezioni del SNC

- (meningiti e ascessi cerebrali) per introduzione del microrganismo in seguito a puntura lombare o operazioni neurochirurgiche

■ infezioni oculari

- caratteristica è "l'ulcera corneale" causata da eventi abrasivi o interventi chirurgici

■ infezioni urinarie

- in seguito a misure strumentali eseguite a scopo diagnostico o terapeutico

N.B. La scarsa sensibilità di *P. aeruginosa* ai più comuni antibiotici fa sì che il suo sviluppo venga favorito da qualsiasi trattamento antibatterico che riduca la concorrenza della restante popolazione microbica

Diagnosi di laboratorio

- *P. aeruginosa* cresce nei comuni terreni di coltura formando colonie grandi, sfrangiate, emananti un tipico odore di frutta
- utile l'utilizzo di terreni selettivi a base di ceftrimide (lo *Pseudomonas* cresce in presenza del disinfettante)

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Diffusissimo appare il riscontro di ceppi multiresistenti per la presenza di plasmidi codificanti i caratteri di resistenza verso i farmaci. La terapia è in continua evoluzione.

- **infezioni comunitarie**
 - fluoroquinoloni
 - cefalosporine di terza generazione (ceftazidime, ceftriaxone etc.)
- **infezioni nosocomiali**
 - aztreonam o penicillina anti-*Pseudomonas*+ aminoglicoside (effetto battericida sinergico)
 - carbapenemici (imipenem, meropenem)

MISURE PREVENTIVE

■ a livello ospedaliero

- utile un controllo periodico degli arredi considerata la predilezione del batterio per gli ambienti umidi e lo strumentario

■ a livello epidemiologico

- utile la tipizzazione dei ceppi implicati nelle infezioni ospedaliere per seguirne l'eventuale diffusione

ENTEROBATTERI

Gruppo assai folto di microrganismi a prevalente habitat intestinale

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- bacilli Gram negativi, mobili o immobili, asporigeni, quasi sempre capsulati, provvisti di pili

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- aerobi anaerobi facoltativi
- in anaerobiosi è frequente la produzione di acidi e di gas

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE:

- catalasi positivi ad eccezione della *Shigella dysenteriae* tipo 1
- ossidasi negativi per l'assenza del citocromo C

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- crescita nei tradizionali terreni di coltura. Formazione di colonie: grandi, di aspetto mucoso o tipicamente sciamanti (*Proteus*)

CLASSIFICAZIONE

- **VENGONO SUDDIVISI IN NUMEROSI GENERI IN BASE A:**
 - capacità di utilizzare particolare substrati come fonte di carbonio es. acidi organici o loro sali
 - presenza di alcuni enzimi es. ureasi, lisina e ornitina-decarbossilasi, fenilalanina-deaminasi etc.
 - produzione di specifici prodotti metabolici es. idrogeno solforato, indolo, acetoino etc.
 - capacità di fermentare taluni zuccheri (l'avvenuta fermentazione viene palesata dal viraggio dell'indicatore di pH)

CARATTERI ANTIGENI

- **Antigene O**
 - porzione superficiale del lipopolisaccaride (condiziona la specificità sierologia)
- **Antigene K**
 - posto più superficialmente rispetto all'antigene O è rappresentato dai polisaccaridi acidi che compongono lo strato mucoso
- **Antigene Vi**
 - presente solo nelle salmonella, così chiamato in quanto elaborato solo dagli stipiti più virulenti
- **Antigene H**
 - presente nelle specie mobili, di natura proteica
- **Antigene F**
 - rappresentati dagli antigeni proteici delle fimbrie

FATTORI DI VIRULENZA

- polisaccaridi dello strato mucoso
 - azione antifagocitaria o della capsula
- endotossina
 - azione tossica del lipide A
- fimbrie
 - responsabili dell'adesività specifica
- tossine proteiche
 - azione tossica specifica

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

- Infezioni sistemiche
 - es. febbri enteriche (tifo e paratifo) con possibile diffusione a tutto l'organismo
- Infezioni intestinali
 - es. enteriti e gastro-enteriti
- Infezioni a localizzazione extraintestinale
 - es. infezioni urinarie (cistiti, cisto-pieliti, pieliti)

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

- Esame microscopico
 - presenta scarsa utilità in quanto non permette di distinguere gli enterobatteri dagli altri Gram negativi, né di distinguerli tra loro

■ Esame colturale

- esistono numerosissimi terreni di coltura per l'isolamento degli enterobatteri, i più usati sono:
terreno di **Mac Conkey**,
terreno di **Endo**,
agar **EMB**,
agar **desossicolato-citrato** etc.

Tali terreni contengono sostanze che inibiscono la crescita di altri batteri (Gram positivi o Gram negativi più esigenti) quali: sali biliari cristalvioletto etc.

■ Tests biochimici

- si avvalgono di sistemi miniaturizzati pronti per l'uso i quali premettono la differenziazione sulla base delle differenze metaboliche e biochimiche delle varie specie

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

La sensibilità agli antibiotici è notevolmente variabile nell'ambito dei membri appartenenti alla famiglia delle enterobatteriacee. La terapia dev'essere sempre guidata dall'antibiogramma.

■ Gli antibiotici più attivi sono:

- ureidopenicilline
- cefalosporine di terza generazione (orali o iniettabili)
- monobattami e carbapenemi
- fluorochinoloni

Escherichia coli

- Rappresenta il patogeno opportunisto più frequentemente isolato in laboratorio
- Rappresenta la specie predominante della comunità batterica residente a livello dell'intestino crasso

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE:

- corti bastoncelli, Gram negativi, mobili, capsulati, asporigeni

CARATTERISTICHE METABOLICHE:

- aerobio, anaerobio facoltativo, lattosio fermentante.

CARATTERISTICHE CULTURALI:

- batterio poco esigente cresce nei comuni terreni di coltura, compresi i più semplici.

CARATTERI ANTIGENI

- **Antigene K**
 - riconducibile alla capsula (utile a scopo tassonomico)

- **Antigene O**
 - a livello del lipopolisaccaride (utile a scopo tassonomico)

- **Antigene H**
 - antigene flagellare (utile a scopo tassonomico)

- **Antigene F**
 - riconducibile alle fimbrie, associato a caratteri batterici di entero e uro-patogenicità (le fimbrie P si riscontrano nel 90% degli stipti isolati dalle urine di soggetti con pielonefrite)

FATTORI DI VIRULENZA

- **Capsula**
 - azione antifagocitaria

- **Endotossina**
 - azione tossica esercitata dal lipide A

- **Fimbrie**
 - responsabili dell'adesione specifica alle mucose

- **Esotossine**
 - responsabili delle manifestazioni enteriche

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

■ INFEZIONI DELLE VIE URINARIE

- *E. coli* è responsabile dell'80-90% delle infezioni contratte in ambito comunitario. Si tratta di infezioni a carattere endogeno, (a provenienza intestinale) sostenute da sierotipi provvisti di fimbrie denominate P capaci di garantire l'adesione del batterio a livello delle mucose delle vie urinarie.

Fattori favorenti le infezioni urinarie sono:

- ➔ malformazioni
- ➔ condizioni favorenti il reflusso vescicale
- ➔ urolitiasi
- ➔ ipertrofia prostatica
- ➔ cateterismi
- ➔ tumori

Sintomatologia delle infezioni urinarie:

- ➔ disuria
- ➔ pollachiuria
- ➔ stranguria
- ➔ febbre e dolore in sede lombare (nelle infezione delle alte vie)

■ INFEZIONI ENTERICHE

dovute alla capacità degli stipiti enteritogeni di:

- invadere la mucosa intestinale causando sintomi dissenterici
- produrre enterotossine in grado di provocare sintomi diarroici

CLASSIFICAZIONE DEGLI STIPITI ENTERITOGENI:

-Enteropatogeni (EPEC)

responsabili di diarrea con febbre e leucocitosi nei bambini.

-Enterotossigeni (ETEC)

responsabili di sindromi diarroiche nei bambini e negli adulti che si recano in paesi in via di sviluppo (diarrea del viaggiatore)

Alla patogenesi delle lesioni indotte dagli stipiti ETEC concorreranno:

Fimbrie

responsabili dell'adesione specifica alla mucosa dell'intestino tenue

Enterotossine

- tremolabile (**LT**) meccanismo d'azione simile alla tossina colerica (diarrea per aumento dell'AMPc)
- termostabile (**ST**) meccanismo d'azione simile alla tossina colerica (diarrea per aumento di GMPc)

Enteroinvasivi (EIEC)

colonizzano la mucosa del colon, sono responsabili clinicamente di una forma dissenterica simile a quella causata dalle Shigelle caratterizzata da:

- febbre
- crampi addominali
- malessere
- emissione di feci prima acquose poi mucosanguinolenti, ricche di PMN

Enteroemorragici (EHEC)

producono 2 potenti citotossine una delle quali identica alla neuro-enterotossina di Shiga prodotta da *Shigella dysenteriae*

Manifestazioni cliniche associate agli stipiti EHEC:

- diarrea
- colite emorragica
- sindrome uremica emolitica

Enteroaderenti (EAEC)

si distinguono per la capacità di aderire in vitro a cellule diploidi ed in vivo agli enterociti, provocando diarrea acquosa con tendenza alla cronicizzazione

■ INFEZIONI ADDOMINALI

E. coli può intervenire da solo o in associazione ad altri batteri in infezioni del distretto addominale (vie biliari, appendice ileo-cecale, peritoneo) o in infezioni respiratorie

■ INFEZIONI OPPORTUNISTICHE

in ambiente nosocomiale e nel soggetto immunodepresso *E. coli* può essere causa di: osteomieliti, artriti e sepsi.

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

■ ESAME CULTURALE

- semina del campione in terreno selettivo-differenziale di Mac Conkey. Il terreno contiene sali biliari come sostanze inibenti i Gram positivi, contiene il lattosio ed il rosso neutro come indicatore di pH.
Le colonie di *E. coli*, fermentanti il lattosio e forti produttrici di acido crescono formando colonie rosso scuro circondate da un alone di precipitazione dei sali biliari
- semina del campione in terreno agar eosina blu di metilene: colonie verde scuro
- semina del campione in terreno agar Hectoen: colonie giallo-arancio.

- **PROVE BIOCHIMICHE**

basate sulla capacità di fermentare taluni zuccheri, di utilizzare alcuni acidi organici, di produrre enzimi etc.

- **SONDE MOLECOLARI**

esistono sonde molecolari in grado di dimostrare, direttamente dal campione, la presenza di batteri contenenti geni codificanti le enterotossine (LT o ST) o le tossine Shiga simili

Shigella

La denominazione deriva dal loro scopritore Shiga che le identificò nel 1898

CARATTERISTICHE

Bacilli Gram negativi immobili, asporigeni sovente capsulati, aerobi facoltativi

STRUTTURA ANTIGENICA

- antigene somatico O di natura polisaccaridica (utile per la suddivisione in sierotipi)
- antigene K riferibile alla capsula, tale antigene non è utilizzato per la sierotipizzazione ma è correlato con la virulenza.

FATTORI DI VIRULENZA

- **Capsula**
azione antifagocitaria
- **Endotossina**
componente lipopolisaccaridico della parete

▪ Tossine proteiche:

- **tossina di Shiga** - raggiunge il circolo ematico, si lega ai recettori di superficie delle cellule endoteliali danneggiandole e attraverso la liberazione di citochine induce fenomeni coagulativo-emorragici che interessano il colon (colite emorragica) o attraverso la disseminazione della tossina può raggiungere organi quali: il rene o il sistema nervoso centrale. La complicanza più grave è la sindrome uremico-emolitica.
- **enterotossina** - prodotta da *Shigella flexneri* tipo 2 con azione simile alla enterotossina TS di *E. coli*

CARATTERISTICHE CULTURALI:

Le Shigelle non presentano particolari esigenze colturali

HABITAT

L'uomo è l'ospite naturale, la trasmissione della malattia avviene attraverso il circuito oro-fecale. La fonte d'infezione è rappresentata dalle acque e dai cibi contaminati, anche le mosche possono fungere da agenti vettori

CLASSIFICAZIONE

Sono distinte in 4 generi: ***Shigella dysenteriae***
Shigella flexneri
Shigella boydii
Shigella sonnei

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

➤ **DISSENTERIA BACILLARE**

è una malattia assai comune nei climi caldi e si associa a basse condizioni igienico-sanitarie. Serbatoio principale è l'uomo, fonte di contagio sono le acque e il cibo contaminati.

Il periodo d'incubazione è 2-4 gg, i bacilli, mediante il cibo, penetrano nell'organismo raggiungendo le cellule della mucosa intestinale (porzione terminale del tenue e del colon) e si moltiplicano nella lamina propria in foci d'infezione.

➤ **FORME DISSENTERICHE**

nelle forme sostenute da *Shigella dysenteriae* tipo 1, produttrice della tossina di Shiga, sono possibili tutte le complicanze quali: sintomi di compromissione nervosa centrale, colite emorragica, sindrome uremico-emolitica

➤ **INFEZIONI EXTRAINTESTINALI**

sono piuttosto rare e sono rappresentate da: artriti, batteriemie, congiuntiviti, polmoniti e infezioni urinarie.

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

Le Shigelle sono piuttosto sensibili all'acidità delle feci, pertanto è importante inviare il campione quanto prima in laboratorio dove verranno eseguiti tests colturali e biochimici

Klebsiella

CARATTERISTICHE

Bacilli Gram negativi, immobili, capsulati, aerobi facoltativi (fermentanti)

CARATTERISTICHE COLTURALI:

Le Klebsielle crescono nei comuni terreni, formando colonie grandi, tipicamente mucose debolmente fermentanti il lattosio

HABITAT

Si ritrovano frequentemente nelle acque, nel suolo, nei cereali. Come commensali si rinvencono a livello del tratto intestinale umano e a livello faringeo. In questa sede la loro frequenza aumenta nei soggetti alcolisti, fino al 40%.

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE:

Antigene somatico O

componente della parete

Antigene K

capsulare permette la suddivisione in 82 sierotipi diversi

CLASSIFICAZIONE:

- ***Klebsiella pneumoniae***
- ***Klebsiella aerogenes***
- ***Klebsiella oxytoca***
- ***Klebsiella ornithinolytica***

Klebsiella pneumoniae

Si tratta di un patogeno opportunista capace di dar luogo a molteplici infezioni.

Negli ultimi anni si è assistito ad un rapido incremento di poliantibiotico-resistenza soprattutto in reparti di urologia, neonatologia e terapia intensiva. Il veicolo di trasmissione principale sembra rappresentato dalle mani del personale di assistenza.

■ **MANIFESTAZIONI CLINICHE:**

➤ **Infezioni respiratorie**

frequenti nei soggetti immunocompromessi, elevato è il rischio di danno polmonare residuo derivante dalla formazione di cavità e ascessi, elevata è la mortalità.

➤ **Infezioni urinarie**

cistiti, cistopieliti, pielonefriti, spesso acquisite in ospedale

➤ **Enterite acuta del neonato**

ceppi produttori di enterotossina

➤ **Infezioni otorinolaringoiatriche**

otiti, mastoiditi, sinusiti

➤ **Meningiti**

secondarie ad episodi setticemici

➤ **Infezioni varie**

artriti, osteomieliti, ascessi epatici, endocarditi etc.

■ IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

ESAME MICROSCOPICO

di scarsa utilità

ESAME CULTURALE

utili risultano i terreni selettivi-differenziali quali l'agar di MacConkey contenente il lattosio.

Le Klebsielle le quali producono debolmente acido dal lattosio, crescono formando colonie color rosa chiaro o biancastro alla periferia con il centro colorato in rosa di aspetto mucoso.

IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA

viene effettuata mediante sistemi miniaturizzati pronti per l'uso i quali sfruttano caratteristiche metaboliche e biochimiche di ogni singola specie.

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Infezioni domiciliari

- cefalosporine di terza generazione
- aminoglicosidi
- carbapenemici
- piperacillina-tazobactam
- fluorochinoloni

N.B. Le Klebsielle risultano resistenti all'ampicillina e quasi sempre alla carbenicillina

Infezioni ospedaliere

fondamentale il ricorso all'antibiogramma per il riscontro di ceppi sovente poliantibiotico resistenti.

Proteus

CARATTERISTICHE

Bacilli pleomorfi (da forme coccoidi a filamentose) Gram negativi, mobili, aerobi facoltativi, acapsulati

CLASSIFICAZIONE:

Proteus rettgeri

oggi costituisce il genere *Providencia* che include varie specie, spesso causa di infezioni urinarie in soggetti ospedalizzati sottoposti a cateterizzazione.

Proteus morganii

oggi costituisce il genere *Morganella* agente eziologico di infezioni urinarie (prettamente ospedaliere), di batteriemie, di infezioni respiratorie, nonché di complicanze di ferite.

Proteus mirabilis

solitamente indolo-negativo, è la specie più diffusa del genere *Proteus* e la più frequente nelle infezioni urinarie non nosocomiali.

Proteus vulgaris

solitamente indolo-positivo è la specie più comune nelle infezioni nosocomiali, responsabile di infezioni urinarie, sepsi, polmoniti, complicanze di ferite e di ustioni.

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE:

antigene somatico O (LPS).

Gli antigeni somatici di 3 ceppi di *P. vulgaris* (X19, X2 e X-K) sono utilizzati nella reazione di Weil-Felix per evidenziare anticorpi contro alcune rickettsie.

antigene H flagellare

FATTORI DI VIRULENZA

- **Endotossina**
- **Flagelli**
responsabili della motilità, permettono la risalita lungo gli ureteri nelle infezioni urinarie.
- **Pili**
favoriscono l'adesione agli epiteli
- **Attività ureasica**
determina alcalinizzazione delle urine con formazione di calcoli di composti di fosfato ammonio magnesiaci esaidrati.

CARATTERISTICHE CULTURALI:

Crescono facilmente nei terreni di coltura, si isolano utilizzando i terreni selettivi per le Enterobatteriacee.

Presentano il fenomeno dello "sciamaggio" (le colonie non rimangono circoscritte, ma si forma una pellicola diffusa di crescita), tale fenomeno rende difficile l'isolamento da materiale polimicrobico.

HABITAT

Sono largamente diffusi in natura, nell'uomo si ritrovano come commensali a livello intestinale

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

Si procede analogamente alle altre Enterobatteriacee mediante identificazione colturale ed impiego di sistemi miniaturizzati pronti.

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

➤ **Infezioni delle vie urinarie**

rappresentano la seconda causa, dopo *E. coli* di infezioni urinarie. L'uropatogenicità è dovuta a:

1. Produzione di ureasi che trasforma l'urea in idrossido d'ammonio determinando innalzamento del pH e formazione di calcoli.
2. Presenza di fimbrie che aumentano la capacità di aderire alle mucose, colonizzandole
3. Presenza di flagelli che favoriscono la diffusione e la risalita lungo le vie urinarie

➤ **Ascessi**

➤ **Meningiti**

➤ **Setticemie**

➤ **Complicanze di ferite e ustioni**

➤ **Otiti congiuntiviti**

➤ **Peritoniti, polmoniti e pleuriti**

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Esiste una correlazione tra produzione di indolo (prodotto di degradazione del triptofano) e resistenza agli antibiotici.

Specie indolo-negative

ampicillina cefalosporine

Specie indolo-positive

aminoglicosidi, cefalosporine di terza generazione, carbapenemici, monobattami, ureidopenicilline

Salmonella

CARATTERISTICHE

Bacilli Gram negativi, mobili, capsulati, aerobi facoltativi, generalmente fermentanti

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE:

- Antigene Vi (virulenza)
 - correlato alla capsula, di natura polisaccaridica

- Antigene somatico O
 - legato al lipopolisaccaride

- Antigene H flagellare,
 - può assumere due forme (antigene bifasico), denominate 1 (antigene specifico) e 2 (antigene meno specifico)

FATTORI DI VIRULENZA

Capsula

responsabile della capacità di aderire alle cellule dell'ospite e di sopravvivere all'interno dei fagociti

endotossina

azione tossica del lipide A e delle catene laterali

enterotossine

prodotte da specie responsabili di manifestazioni enteriche, ad azione ADP-ribosilante

CARATTERISTICHE CULTURALI:

Crescono nei comuni terreni di coltura

L'isolamento dal materiale polimicrobico viene effettuato con:

Agar Mac Conkey (cristal violetto e sali biliari)

Agar desossicolato-citrato (desossicolato)

Agar Salmonella Shigella (verde brillante e sali biliari)

Agar Hektoen (desossicolato come agente selettivo)

N.B. Se le Salmonella debbono essere isolate da un materiale contenente un'alta percentuale di altri enterobatteri è bene procedere ad un arricchimento selettivo in terreno liquido per aumentarne la quantità.

HABITAT

Le Salmonella sono soprattutto parassiti intestinali dell'uomo e degli animali

CLASSIFICAZIONE:

La tassonomia del genere Salmonella è assai complessa e sottoposta a numerose revisioni.

La distinzione delle diverse Salmonella si basa sulla configurazione antigenica (antigene Vi, antigene O e antigene H nelle due fasi) e su caratteristiche biochimiche.

Le diverse Salmonella sono distinte oggi in "serovar" più che in specie, le principali sono:

- **Salmonella typhi**
- **Salmonella paratyphi A**
- **Salmonella paratyphi B**
- **Salmonella paratyphi C**
- **Salmonella typhimurium** , **Salmonella enteritidis**

MANIFESTAZIONI CLINICHE:

Manifestazioni sistemiche:

Tifo

causato da *S. typhi*, l'infezione si contrae per ingestione di alimenti contaminati da malati o portatori.

Paratifo

causato da *S. paratyphi A* o *B* caratterizzato da sintomatologia più lieve

Gastroenteriti

sono causate da ceppi diffusi in animali di allevamento, la sintomatologia, pur estremamente variabile, è dominata da: cefalea, brividi, dolori addominali che precedono la comparsa di nausea vomito, diarrea e stato febbrile. Il periodo di incubazione è breve (12-24 ore).

L'azione patogenetica è sostenuta dalla produzione di una enterotossina con meccanismo simile alla tossina colerica.

COMPLICANZE ASSOCIATE ALLA FEBBRE TIFOIDE E PARATIFOIDE

apparato digerente:	perforazioni intestinali, peritoniti, colecistiti
apparato respiratorio:	ulcere laringee, polmoniti, pleuriti
apparato cardiovascolare:	miocarditi, flebiti
sistema nervoso:	encefaliti meningiti
apparato urinario:	cistiti, pielonefriti
apparato scheletrico:	osteiti, osteomieliti
infezioni extraintestinali:	rare, possono coinvolgere tutti gli organi

IDENTIFICAZIONE DI LABORATORIO:

Si procede come per gli altri enterobatteri mediante tests colturali, che prevedono la semina in terreni di coltura selettivi o identificazione tramite sistemi miniaturizzati pronti, che sfruttano le proprietà biochimiche e metaboliche del genere.

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Terapia delle infezioni sistemiche (tifo e paratifo)

cloramfenicolo (da solo o in associazione)

ampicillina

co-trimoxazolo

Terapia delle manifestazioni enteriche

non necessitano di terapia antibiotica (terapia sintomatica)

Terapia delle infezioni sistemiche gravi

è consigliabile l'antibiogramma per la possibilità che l'infezione sia sostenuta da stipti resistenti.

Trattamento dei portatori

Ampicillina (il cloramfenicolo non è indicato)

MICOBATTERI

CARATTERISTICHE

- 1) Bacilli pleomorfi, Gram positivi, immobili, asporigeni, aerobi obbligati (qualche specie è microaerofila)
- 2) Presentano un elevato contenuto di lipidi a livello della parete, che comporta: a) difficoltà di colorare questi batteri con il metodo di Gram b) alcool-resistenza cioè capacità di legare un colorante rosso la fuxina e di resistere all'azione decolorante di un acido minerale forte e dell'alcool
- 3) Presentano un componente di natura glicolipidica detto "fattore cordale" tale componente conferisce la tendenza ai bacilli a crescere in ammassi cordonali, serpentiformi nei terreni liquidi
- 4) Presentano un ritmo di crescita eccezionalmente lento legato alla presenza di lipidi

I lipidi dei micobatteri sono di 2 tipi:

- 1) **Grassi**: esteri di acidi grassi con trealosio (il dimicoli-trealosio costituisce il "fattore cordale")
- 2) **cere**: esteri di acidi grassi superiori con alcoli superiori o con polisaccaridi

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE

Antigeni polisaccaridici :

costituiti da arabinogalattano non sono immunogeni

Antigeni proteici

debolmente immunogeni, la loro attività viene potenziata dalle cere della classe D sono responsabili dell'ipersensibilità ritardata svelata dal test della tubercolina

TEST DELLA TUBERCOLINA

Dimostra la reattività immunologica alla tubercolosi

Si inietta sotto cute un materiale proteico estratto dal micobatterio

Una reazione positiva indica un'immunità cellulare nei confronti dei bacilli tubercolari

La positività è svelata da una papula eritematosa nel punto di inoculo che si manifesta dopo 1-3 gg.

Il test rivela una ipersensibilità ritardata, non la malattia attiva, è pertanto utile nello screening di massa identificando i soggetti da sottoporre a vaccinazione (**tuberculino-negativi**)

CARATTERISTICHE COLTURALI:

Il genere include specie che differiscono per le esigenze colturali. Le specie maggiormente patogene necessitano di terreni arricchiti con sostanze quali: uova, glicerina, fecola di patata

I terreni principali per l'isolamento dei micobatteri sono:

a) Terreno di **Lowenstein-Jensen** (asparagina, uovo, fecola, glicerolo e verde malachite che inibisce la flora concomitante)

b) Terreno di **Petragnani** rispetto al terreno precedente, presenta estratto pancreatico e maggiore quantità di verde malachite

HABITAT

I micobatteri sono diffusi nel suolo, nelle acque e negli animali. La diffusione nell'ambiente è dovuta alla resistenza all'essiccamento e ai disinfettanti, imputabile all'alto contenuto di lipidi.

CLASSIFICAZIONE:

Esistono diversi sistemi di classificazione basati: sul ritmo di crescita o sulla presenza di pigmentazione.

Woods e Washington hanno proposto una classificazione basata sulla velocità di crescita correlata con le possibili malattie associate, tale classificazione prevede 4 categorie.

- Specie potenzialmente patogene per l'uomo
- Specie saprofite raramente causa di malattie nell'uomo
- Specie con velocità intermedia di crescita
- Specie a rapida crescita

Mycobacterium tuberculosis

E' l'agente eziologico della **tubercolosi** nell'uomo
(unico serbatoio)

La natura e il decorso della malattia variano da forme benigne fino ad un'infezione progressiva e letale

Si possono distinguere 4 stadi:

1° stadio si sviluppa il **complesso primario**, che consiste in lesioni nel punto d'ingresso dell'agente patogeno e nei linfonodi regionali

2° stadio possono verificarsi gravi forme disseminative della malattia, quali la **tubercolosi miliare** e la **tubercolosi meningea**

3° stadio può verificarsi un interessamento pleurico

4° stadio questo stadio perdura finchè non risolve il complesso primario, evento che, nel caso di infezione non progressiva senza trattamento antibiotico, si verifica dopo 3 anni. In questo periodo possono comparire le forme croniche della tubercolosi miliare come: le localizzazioni ossee, articolari e urogenitali.

La forma di tubercolosi più diffusa è quella **polmonare** caratterizzata da:

- una lesione iniziale detta **tubercolo** che appare come un nodulo granulomatoso nel parenchima polmonare, che poi si estende ai linfonodi satelliti che subiscono analoga degenerazione (complesso primario)
- necrosi caseosa il centro del tubercolo va incontro ad un processo necrotico che poi evolve in fibrosi, calcificazione o fluidificazione con riversamento del materiale necrotico in un bronco. Ogni lesione lascia una cavità nel parenchima polmonare dalla quale l'infezione può diffondersi
- colonizzazione delle cavità (caverne) da parte di batteri opportunisti
- erosione dei vasi sanguigni e disseminazione metastatica dei micobatteri (ossa, articolazioni, meningi etc) attraverso la circolazione sanguigna o linfatica

N.B. La predilezione da parte del *Mycobacterium tuberculosis* per il tessuto polmonare sembra direttamente correlata alla necessità di ossigeno molecolare per la sua crescita, cioè al fatto di essere aerobio obbligato

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Per l'isolamento dell'agente eziologico della tubercolosi si utilizza l'escreato o il liquido di lavaggio gastrico.

E' inoltre necessario raccogliere più campioni in quanto il numero di bacilli escreti può essere esiguo.

Esame microscopico diretto

reperto di bacilli acido-alcool resistenti (valore presuntivo)

Esame colturale

semina del campione in terreni specifici quali il terreno di Petraghani, previo trattamento con una soluzione di NaOH al 4% che ha lo scopo di fluidificare il materiale e di inibire lo sviluppo degli altri microrganismi presenti. Le colonie di micobatteri si sviluppano lentamente (10gg) presentano un aspetto rigoglioso, una debole colorazione gialla e una superficie secca rugosa

Prova biologica

inoculazione del campione in una cavia e morte dell'animale per tubercolosi disseminata

Metodi radiometrici

permettono di apprezzare lo sviluppo in tempi più brevi

Tecniche di biologia molecolare (di futuro impiego) quali la P.C.R. in grado di amplificare e rilevare sequenze significative del genoma batterico direttamente dal materiale patologico

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Sono considerati farmaci di 1° scelta: Streptomina
Isoniazide
Rifampicina
Etambutolo
Pirazinamide

Sono considerati farmaci di 2° scelta: ac. p. aminosalicilico
Etionamide
Capreomicina
Cicloserina
Viomicina

N.B. La maggior parte dei casi di tubercolosi è trattata con 2 o più dei farmaci di 1° scelta. L'associazione si rende necessaria per diminuire la possibilità di insorgenza di mutanti resistenti assai frequente in corso di trattamento

ALTRI MICOBATTERI PATOGENI PER L'UOMO

Complesso *Mycobacterium avium-intracellulare* o MAC
Negli ultimi anni i membri del complesso MAC vengono sempre più isolati da ospiti immunocompromessi, essi sono infatti causa di infezioni disseminate nel 15-20% dei pazienti affetti da AIDS

La diffusione di microrganismi del complesso MAC appare in aumento anche nei soggetti immunocompetenti, in effetti le infezioni polmonari da essi causate appaiono diffuse quanto la tubercolosi

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Le infezioni sostenute dal complesso MAC sono difficili da curare a causa dell'elevata resistenza a molti farmaci antitubercolari

Le setticemie possono essere risolte con una combinazione tra:

amikacina

etambutolo

rifampicina

ciprofloxacina

MYCOBACTERIUM LEPRAE

CARATTERISTICHE

- Presenta particolare e ancora sconosciute esigenze di crescita.
- Attualmente non può essere coltivato in vitro.
- Parassita intracellulare dell'uomo

■ MANIFESTAZIONI CLINICHE:

E' l'agente eziologico della **lebbra** (o morbo di Hansen) affezione caratterizzata da:

- periodo di incubazione variabile, ma solitamente assai lungo
- decorso cronico a lenta evoluzione
- comparsa di lesioni deturpanti e mutilanti a carico delle superfici cutanee esposte
- localizzazione nervosa periferica con conseguente anestesia
- bassa contagiosità (contrariamente a quanto si crede) il contagio interumano deve essere diretto e prolungato

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Il farmaco più efficace è il diaminodifenilsolfone o dapsona e i suoi derivati (sulfoxone, acedapsona). Usata è la clofazimina attiva nei riguardi dei ceppi resistenti ai solfoni
Tra gli antitubercolari efficace risulta la rifampicina

RICKETTSSIA

CARATTERISTICHE

Microrganismi pleomorfi, immobili, acapsulati, caratterizzati da uno spiccato parassitismo endocellulare obbligato. Contrariamente ai virus, mostrano una organizzazione cellulare **procariotica**. Le Rickettsie infatti:

- 1) possiedono ambedue gli acidi nucleici (DNA e RNA)
- 2) presentano una parete cellulare tipicamente batterica
- 3) contengono nel citoplasma la maggior parte degli enzimi del ciclo di Krebs e citocromi respiratori
- 4) si riproducono per scissione binaria
- 5) sono sensibili a molti antibiotici a largo spettro

N.B. La resistenza di questi microrganismi agli agenti fisici e chimici è varia, tuttavia al di fuori delle cellule infettate perdono il potere infettante, pertanto l'uomo può essere infettato solo per inoculazione da parte di un artropode vettore attraverso il morso cioè di zecche, pulci e pidocchi.

CARATTERISTICHE CULTURALI:

Per la coltivazione, le Rickettsie necessitano di substrati cellulari quali: embrioni di pollo, linfoblasti di topo, cellule renali di scimmia oppure uovo embrionato di gallina. Il tempo di generazione è lungo (8-16h)

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE

- antigeni gruppo-specifici solubili
- antigeni tipo-specifici insolubili
- (lipopolisaccaridi della membrana esterna)

AZIONE PATOGENA

Alla base del meccanismo patogenetico vi è la produzione di sostanze simili alle tossine capaci di causare:

- danneggiamento degli endoteli
- aumentata permeabilità capillare
- emoconcentrazione
- collasso circolatorio
- morte entro 1-8 gg.

PRINCIPALI PATOLOGIE

Le manifestazioni patologiche sono dette "rickettsiosi" e sono caratterizzate da:

- febbre
- cefalea
- mialgie
- eruzione esantematica

N.B. Le Rickettsie mostrano uno spiccato tropismo per gli endoteli vasali, in cui penetrano attivamente e si riproducono. Segue la distruzione delle cellule endoteliali per effetto dei prodotti ad azione tossino-simile. Si verifica, infine, accumulo di cellule infiammatorie, emorragia e trombosi disseminata.

CLASSIFICAZIONE:

Sono divise in 5 gruppi principali:

1) gruppo del tifo.

- Tifo esantematico: *Rickettsia prowazekii*
- Tifo murino: *Rickettsia typhi*

2) gruppo della febbre maculosa

- Febbre purpurica delle Montagne Rocciose: *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia canada*
- Febbre da zecche del Nord Asia: *Rickettsia sibirica*
- Febbre africana da morso di zecche: *Rickettsia africae*

3) gruppo dello tsutsugamushi:

- Tsutsugamushi: *Orientia tsutsugamushi*

4) gruppo della febbre Q

- Febbre Q:
Coxiella burnetii

5) gruppo della febbre delle trincee

- Febbre delle trincee
Bartonella quintana

DIAGNOSI DI LABORATORIO

L'accertamento diagnostico delle rickettsiosi può essere effettuato:

- Isolamento diretto dell'agente eziologico
- Ricerca di anticorpi specifici

La dimostrazione diretta dell'agente eziologico viene effettuata mediante coltivazione del campione in substrati cellulari o inoculazione in animali da laboratorio (entro 30'dalla raccolta)

La ricerca di anticorpi può essere effettuata con varie metodiche:

- fissazione del complemento
- agglutinazione con antigeni specifici
- reazione di agglutinazione di Weil-Felix

N.B. La reazione di Weil-Felix sfrutta il principio che alcuni antigeni O ottenuti da particolari ceppi di *Proteus vulgaris* (X19, X2) sono correlati ad alcuni determinanti antigenici delle Rickettsie (gli antigeni del *Proteus* sono più facilmente disponibili).

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Le Rickettsie sono **sensibili** a cloramfenicolo e tetracicline

Resistenti ai sulfamidici e poco sensibili a: eritromicina, aminoglicosidi e penicillina

CLAMIDIA

CARATTERISTICHE

Microrganismi coccoidi Gram negativi, non crescono nei terreni di coltura, ma richiedono cellule viventi per moltiplicarsi, pur essendo parassiti obbligati non sono considerati virus poiché:

- 1) possiedono ambedue gli acidi nucleici (DNA-RNA)
- 2) possiedono parete cellulare con composizione simile a quella dei Gram negativi
- 3) possiedono un certo numero di enzimi glicolitici
- 4) si moltiplicano per scissione binaria
- 5) sono sensibili a molti antibiotici a largo spettro

Le Clamidiose sono pertanto un gruppo a sé stante poiché:

- presentano morfologia sferoidale
- hanno un antigene gruppo-specifico comune
- si moltiplicano nel citoplasma delle cellule ospiti con un ciclo di sviluppo caratteristico con formazione di particolari inclusioni citoplasmatiche evidenziabili al microscopio.

CICLO DI SVILUPPO

Le Clamidiose presentano 2 distinte forme biologiche denominate:

Corpi elementari dimensioni minori, altamente infettanti, costituiscono la forma extracellulare

Corpi iniziali o reticolari dimensioni maggiori, poco infettanti, costituiscono la forma intracellulare

Il corpo elementare, adattato alla vita extracellulare, si lega a specifici recettori della cellula eucariotica penetrando tramite un processo di fagocitosi.

All'interno della cellula ospite le Clamidiose rimangono confinate in un vacuolo.

In questa sede, il corpo elementare ingrandendosi e riorganizzandosi si trasforma in corpo iniziale adattato alla vita intracellulare. I corpi iniziali si moltiplicano attivamente e successivamente si rimpiccioliscono trasformandosi in corpi elementari che si liberano nell'ambiente esterno, per rottura della cellula infetta, e sono pronti a iniziare un nuovo ciclo.

CARATTERISTICHE ANTIGENICHE

Le Clamidiose presentano:

- un antigene di **gruppo** (genere specifico) di natura polisaccaridica,
- antigeni **specie specifici** e **tipo specifici**,
- un antigene responsabile dell'ipersensibilità ritardata

N.B. L'antigene di gruppo è strutturalmente simile al core del lipopolisaccaride delle Enterobacteriaceae, supportando l'ipotesi di derivazione evolutiva delle Clamidiose dagli enterobatteri.

CLASSIFICAZIONE:

Le specie più importanti sono: *Chlamydia psittaci*, *pneumoniae* e *trachomatis*

CARATTERISTICHE COLTURALI:

Le Clamidiose si possono coltivare nel sacco del tuorlo dell'uovo embrionato oppure in colture di cellule.

In laboratorio, i microrganismi possono essere evidenziati con vari metodi di colorazione: Giemsa, Machiavello, Gimenez, oppure possono essere osservati a fresco nel citoplasma delle cellule infette mediante microscopia a contrasto di fase.

MANIFESTAZIONI PATOLOGICHE

Le Clamidio sono causa per l'uomo di: malattie oculari, urogenitali e respiratorie

Nei mammiferi causano: malattie respiratorie, placentari, artritiche ed enteriche.

INFEZIONI UMANE DA CLAMIDIE

Chlamydia psittaci:

- psittacosi: occasionalmente l'infezione può trasmettersi dall'animale all'uomo (zoonosi) causando pneumopatia acuta febbrile, accompagnata da elevata mortalità.

Chlamydia trachomatis:

- tracoma: congiuntivite, tipica dei paesi a basso tenore socio-economico
- congiuntivite da inclusi: si contrae per contatto con secrezioni genitali infette (nel neonato), nell'adulto per contagio con secrezioni dello stesso soggetto.
- Uretrite non gonococcica: malattia venerea assai diffusa nei paesi sviluppati

APPROCCIO CHEMIOTERAPICO

Farmaci di I° scelta: tetracicline o cloramfenicolo

Farmaci di II° scelta: eritromicina o rifampicina

Risultano inefficaci gli aminoglicosidi per l'impossibilità di agire in ambiente intracellulare.