

Lezione del 02042009:

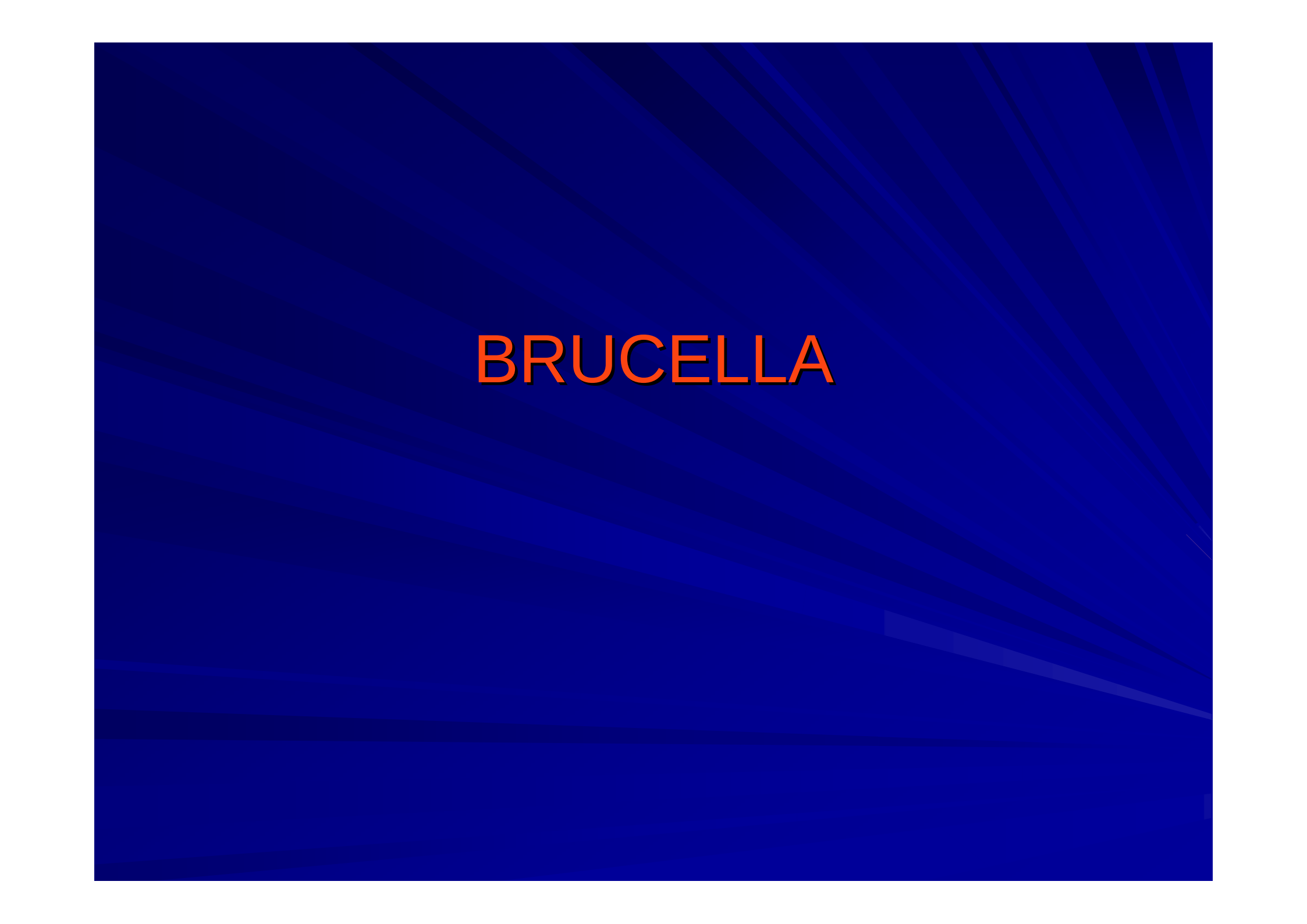
Genere Brucella

Genere Francisella

Genere Yersinia

Genere Helicobacter

Genere Mycobacterium



BRUCELLA

Brucella

Coccobacilli, gram negativi

In coltura disposti singolarmente o in piccoli gruppi, nei preparati da tessuti sono in grossi ammassi.

Non possiede flagelli

Brucella

Zoonosi che colpisce gli animali d'allevamento (bovini, ovini, caprini, occasionalmente l'uomo)

Brucellosi: infezione dell'uomo dovuta a batteri del genere brucella

Ubiquitaria nel mondo, bacino del mediterraneo prevalenza è più alta.

Controllo e l'eradicazione della malattia negli animali sono gli strumenti principali per il controllo della malattia nell'uomo.

Genere Brucella

Gruppo omogeneo, non correlato ad altri

6 specie:

*B melitensis, B abortus, B suis,
B ovis, B neotomae, B canis.*

Genere Brucella

La differenziazione delle 6 specie si basa su caratteristiche:

- 1) colturali e biochimiche
- 2) antigeniche

1) Caratteristiche colturali e biochimiche

Crescita lenta ad un primo isolamento

Temperatura 6 a 42°C (37°C optimum), pH da 4.5 a 8.8 (pH 7.3 optimum)

B. ovis, *B. abortus* richiedono 10% di CO₂

B. abortus, *B. suis*, *B. neotomae* producono H₂S

Molti ceppi necessitano di terreni addizionati (sangue, siero...)

In coltura: fase Liscia (L), rugosa (R) o mucoide (M) a seconda dell'antigene O dell'LPS della parete cellulare

Caratteristiche di resistenza

Resistenza nell'ambiente è influenzata da

fattori fisico-chimici quali raggi solari, essiccamento, pH;
fattori ambientali (temperatura, umidità)

Le brucelle possono resistere per c.a 30 giorni all'essiccamento ed alla putrefazione, la luce solare le inattiva in pochi minuti e il calore umido (>55°C) le uccide rapidamente

La sopravvivenza è legata alla carica batterica e al materiale in cui è contenuto il batterio

Il batterio è rapidamente inattivato da comuni disinfettanti

Resistenza nella carne

B abortus può rimanere infettante nelle carni bovine per c.a 2 settimane (T 3-5°C) e per c.a 18 mesi a T< 20°C.

Nelle carni salate o affumicate fino ad 11 settimane

Negli insaccati fino a 58 giorni

Tuttavia la carne non rappresenta una via di trasmissione importante dato che la carica batterica nei muscoli degli animali è bassa.

Molti Paesi Europei, tra cui l'Italia, permettono la vendita di carcasse di animali infettati purché al macello gli organi e le viscere vengano asportati e distrutti

Resistenza nel latte

- La sopravvivenza varia in funzione della temperatura di conservazione della tecnologia di produzione
- L'inattivazione nel latte dipende da combinazione *temperatura-tempo*:
 - Pasterizzazione 71.7°C per almeno 15 secondi
 - Trattamento UHT 135°C per almeno un secondo

Epidemiologia

La distinzione tra le varie sp. di *Brucella* è basata sui serbatoi animali di provenienza:

Specie	Ospite d'elezione (serbatoio)
<i>B melitensis</i>	Capra, pecora
<i>B abortus</i>	Bovini
<i>B suis</i>	Suini
<i>B canis</i>	Cane
<i>B neotomae</i>	Ratto
<i>B ovis</i>	ovini

ad eccezione delle ultime due, tutte le sp. sono in grado di infettare l'uomo, ospite a fondo cieco
infezione interumana rara

Epidemiologia

Agenti eziologici più importanti per l'uomo:

B melitensis e ***B suis***

Infezione nell'uomo da *B abortus* e da *B canis* è di lieve entità, sub clinica e rara (dal 1960 40 casi di infezione da *B canis* dovuti ad incidenti di laboratorio o a carico di personale veterinario)

Epidemiologia

Distribuzione geografica in Italia

- Brucellosi umana: 1.9 casi/100000 abitanti (2000)
- Maggiore diffusione nelle regioni meridionali (alta densità di popolazione di ovini e caprini)
- L'incidenza della malattia nell'uomo correlata con la presenza di greggi infette

Epidemiologia

Si ritiene che la maggiore fonte di infezione per l'uomo sia quella alimentare:

andamento stagionale (aprile – giugno, novembre- gennaio) corrisponde al periodo di macellazione degli agnelli e alla produzione di formaggio ovino fresco.

Patogenesi

Penetra attraverso le mucose, infetta le cellule reticoloendoteliali (milza, fegato, midollo osseo, linfonodi) e negli animali, gli organi riproduttori.

Parassita endocellulare facoltativo, catturato da macrofagi nei quali si moltiplica e grazie ai quali viene disseminato nell'organismo.

Patogenesi

Diffusione negli animali varia con lo stato di maturazione sessuale:
infezione contratta prima della maturità si autoestingue, altrimenti animale resta cronicamente infetto.

Si localizza nei linfonodi sopramammari, nella mammella nell'utero (in gravidanza), nelle vescichette seminali e nei testicoli.

Infezione determina aborti ripetuti

Patogenesi

La localizzazione e le vie di eliminazione della brucella negli animali spiegano perché le fonti più importanti di contaminazione per l'uomo siano consumo di latte e derivati contaminati o il contatto (professionale) con tessuti e organi di animali infetti.

Trasmissione all'uomo

- Via congiuntivale
- Per ingestione
- Per inalazione
- Via cutanea attraverso piccole abrasioni

La malattia nell'uomo

- Incubazione 2-3 settimane,
- Aspetti polimorfi della malattia:

1) Brucellosi acuta

- astenia, forte sudorazione, dolori muscolari, febbre (continua, intermittente, anche per mesi)
- splenomegalia, epatomegalia, linfadenomegalia

La malattia nell'uomo

2) Brucellosi cronica

- soggetti esposti permanentemente al rischio di brucellosi, “malessere brucellosico”, ipersensibilità nei confronti di antigeni brucellari
- sintomi manifesti per più di un anno, febbre ricorrente, astenia...

3) Brucellosi acuta maligna

- febbre alta e continua, cefalea, ipotensione
- in assenza di adeguata terapia morte

Diagnosi nei animali

diagnosi diretta o indiretta

Diretta

- Esame microscopico, da placenta, tamponi vaginali, da reperti del feto...
- Esami colturali, da placenta, tamponi vaginali, da reperti del feto, da latte, da colostro
- PCR

Diagnosi nei animali

Indiretta

- SAR, Sieroagglutinazione rapida rosa al bengala
- FdC, Fissazione del complemento (IgG1, IgM)
- ELISA indiretta sul siero e sul latte
- Prova dell'anello sul latte bovino (IgGM, IgGA)

Diagnosi negli alimenti

Isolamento su terreni selettivi (in presenza di antibiotici) così da avere un'identificazione certa

Carica batterica nel formaggio e nel latte è bassa, si ricorre all'arricchimento del campione mediante centrifugazione ed eliminazione della fase liquida

Diagnosi nell'uomo

- 1) **Isolamento** da sangue periferico o midollare
campioni bioptici
- 2) **Esame colturale** su terreni selettivi per lungo
tempo (alcuni ceppi presentano una crescita lenta)
- 3) **Ricerca degli anticorpi circolanti**
(sieroagglutinazione)
- 4) **PCR**

Reazioni crociate con *Yersinia enterocolitica* e con
Francisella tularensis e con *Vibrio cholerae* (nel caso
di vaccinazione anticolerica recente)

Prognosi nell'uomo e terapia

- Favorevole anche in assenza di terapia nella maggioranza dei casi
- Recidive legate ad un uso inappropriato degli antibiotici
- Solo pochi antibiotici si dimostrano efficaci nella terapia della brucellosi nell'uomo (Tetraciclina, rifampicina, streptamicina; nel caso di localizzazioni nel SNC sono necessari farmaci che superino la barriera emato-encefalica: rifampicina)
- Inefficacia di molti antibiotici è dovuta allo spiccato tropismo intracellulare del batterio che è quindi protetto da tutti quei farmaci che non sono in grado di entrare nella cellula.

Profilassi

Esame sierologico delle greggi, abbattimento dei capi positivi

Pastorizzazione del latte, bollitura

Utilizzo di guanti per gli operatori a rischio (allevatori, veterinari); per il personale di laboratorio norme di biosicurezza di livello 3

Principale misura di profilassi dell'infezione umana è il controllo e l'eradicazione negli animali

Vaccino

*Non ancora disponibile per l'uomo,
vietato per le popolazioni animali
a meno di deroghe della Comunità Europea
(nel caso di elevati livelli di infezione)*

The background is a solid dark blue color. It features a series of diagonal lines in a lighter shade of blue, creating a sense of movement and depth. The lines are more prominent on the right side and fade towards the left.

FRANCISELLA

Francisella

Scoperta nel 1912 quale agente eziologico di un' *affezione simil-pestosa* nello scoiattolo californiano (Tularemia)

Inserito inizialmente nel genere *Pasteurella* poi in quello *Brucella*, nel 1947 viene proposto un nuovo genere

Nota come rabbit fever, lemming fever....

Francisella

Coccobacilli, pleomorfi, molto piccoli, Gram negativi

Immobili, non sporigeni, capsulati

Parete esterna spessa

Molto resistenti (diverse settimane nel fango, nelle carcasse di animali)

Sopravvivono e si replicano all'interno di amebe (come la *Legionella*)

Alta capacità infettante

Fattori di virulenza

Patogeno intracellulare facoltativo, penetra e si replica nei macrofagi.

Identificati pochi fattori di virulenza:

- MglAB necessario per la crescita del batterio nei macrofagi,
- AcpA necessario per la sopravvivenza del batterio nel tratto respiratorio,
- min D ? ruolo nella replicazione batterica.

Epidemiologia

Malattia ubiquitaria nell'emisfero settentrionale

In grado di infettare un numero molto grande di specie diverse:
145 sp. Vertebrati (in particolare mammiferi quali roditori e lagomorfi) e 111 sp. di invertebrati

Serbatoi di infezione tra una epidemia e l'altra sono:

le zecche (Fam. Ixodidi),

lagomorfi e roditori poco sensibili all'infezione (portatori)

Trasmissione all'uomo

Zoonosi, malattia tipica di habitat rurali (cacciatori)

Modalità di trasmissione all'uomo

- 1) contatto con animali/carcasse infette,
- 2) morso di zecche,
- 3) carne (batterio sopravvive nella carne congelata) o acqua contaminata da urine o da carcasse
- 4) morso di animali infetti (rara).

Contaminazione dell'acqua può essere dovuta alla capacità del batterio di sopravvivere nelle amebe

Trasmissione all'uomo

Malattia può avere un andamento stagionale dovuto alla modalità di trasmissione:

- Periodo estivo (trasmissione da insetti ematofagi)
- Periodo invernale (trasmissione da animali uccisi, attività venatoria)

In Italia è stata evidenziata in relazione alla presenza di acqua contaminata.

La carica batterica necessaria all'infezione dell'uomo è notevolmente più alta rispetto agli animali

Manifestazioni clinica nell'uomo

- Incubazione breve, 3-5 giorni
- Febbre, brividi, cefalea, mialgia
- Forma clinica dipende dalla modalità di trasmissione:
 -
 - Forma ulceroghiandolare più frequente, morso della zecca. Linfoadenite
 - Forma ghiandolare contagio da acqua o da puntura di zecca
 - Forma oculo-ghiandolare, contaminazione attraverso dita contaminate, congiuntivite
 - Forma setticemica, febbre elevata, personale di laboratorio
 - Forma faringotonsillare, polmonite, rare

Diagnosi

Diagnosi è difficile

Manifestazioni cliniche sono spesso di difficile interpretazione

Esami colturali difficili perché batterio tende a scomparire rapidamente dal sito di infezione. Da materiale della lesione cutanea o del linfonodo

Test immunoenzimatici per la ricerca di antigeni batterici nei liquidi biologici

Sieroagglutinazione (più utilizzato)

PCR

Terapia

Aminoglicosidi quali gentamicina e streptamicina

- Nel caso di meningite

streptamicina + cloramfenicolo (passa la barriera ematoencefalica)

Prevenzione

- In ambito veterinario: particolare attenzione agli animali provenienti da aree endemiche (importazione di animali per ripopolamento)
- Evitare il contatto a mani nude con animali morti
- Uso di repellenti e di vestiario adeguato per evitare morsi di zecche

Prevenzione

- Clorazione dell'acqua
- Consumo di selvaggina ben cotta
- Vaccini con batteri vivi e attenuati danno buona immunità; vaccinazione è raccomandata per personale a rischio
- Non può essere trasmessa da uomo ad uomo, non è necessario isolamento di pazienti con tularemia.

F. Tularensis come arma biologica

- Bassa carica infettante, facilità di disseminazione
- Nella classe del vaiolo, antrace, peste, botulismo, ebola...
per il *Center for Disease Control* (Stati Uniti).

*Epidemie di Tularemia dei soldati tedeschi e sovietici durante
la II Guerra Mondiale potrebbero essere dovute
ad una disseminazione intenzionale del batterio*

- Sono stati prodotti mutanti resistenti a cloramfenicolo e streptamicina tramite ingegneria genetica

YERSINIA

Yersinia enterocolitica

- Bastoncelli, Gram negativi
- Aerobi o anaerobi facoltativi
- Mobili a 25 °C, rallentati a 37°C
- Psicotropi tollerano bene temperature basse
- Catalasi positivi, ossidasi negativi
- Temperatura minima: 0.5°C*
- pH: 4.4-9.5*
- *NaCl: 5-8%*

Genere *Yersinia*

SPECIE	PATOLOGIA	TRASMISSIONE
<i>Y. pestis</i>	Peste	zoonotica
<i>Y. enterocolitica</i>	gastroenterite dolore addominale	oro-fecale
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	febbre	oro-fecale

Genere *Yersinia*

Contaminazione da:

- *Animali selvatici*, sia sani che ammalati (*Y. pseudotuberculosis*)
- *Animali domestici cani e gatti* (*Y. Enterocolitica*)
- *Animali di allevamento*, maiali (*Y. Enterocolitica*)
- Acque superficiali: *Saprofita ambientale* (*Y. Kristensenii*.....)
- *Alimenti di origine animale*

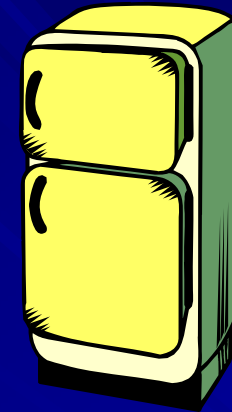
Yersinia enterocolitica

-Infezione nell'uomo è rara ed insolita, dose infettante alta

-Bambini talassemici politrasfusi sono categoria a rischio (uno dei fattori di virulenza del batterio è un sideroforo).

Yersinia enterocolitica

L'apparire delle infezioni umane da *Y. enterocolitica*, (sconosciute fino agli anni '60) è stato collegato al diffondersi della refrigerazione domestica



Che ha permesso di conservare alimenti freschi, potenzialmente contaminati, per tempi sufficienti a favorire l'aumento della carica microbica di *Yersinia*, in grado di moltiplicarsi anche a basse temperature

Yersinia enterocolitica

-Vie di trasmissione

- da uomo ad uomo (rara)***
- tramite cibi contaminati (latte non pastorizzato, acqua, carne di maiale poco o mal cotta)***

Yersinia enterocolitica

-Isolamento:

Campioni fecali in modo diretto o per arricchimento in terreni specifici contenenti anche inibitori della crescita della flora contaminante

-Terreni :

Agar CIN produce colonie rosse con bordi bianchi (“occhio di bue”)

Agar McConkey produce colonie lattosio negative lisce , rosa pallido

Fattori di virulenza di *Y. enterocolotica*

Sono codificati da

cromosoma batterico:

1. adesina
2. sideroforo “yersiniabattina” (maggiore incidenza nei pazienti talassemici in terapia con chelanti del ferro)

da geni plasmidici:

1. Adesine-invasine
2. Proteine antifagocitiche escrete
3. Proteine regolatrici
4. Proteine esterne correlate alla processazione ed escrezione

Manifestazioni cliniche Y. enterocolitica

- *Diarrea non specifica autolimitante* a cui possono seguire complicanze suppurative e autoimmuni, dovute a fattori di rischio dell'ospite (età, stato immune)
- *Enterite* che varia da una forma non grave ad una severa con setticemia
- L'affinità di Y. Enterocolitica per il tessuto linfoide intestinale è responsabile di una infiammazione di tale tessuto con *linfadenite mesenterica* che può mimare una appendicite
- *Faringite* si presenta spesso nei pazienti neutropenici, nei quali il batterio può essere isolato anche in sede faringea

Terapia

- Le infezioni non gravi sono solitamente autolimitanti
- Molecole di primo impiego sono cotrimoxazolo o doxiclina
- Nelle forme più gravi si utilizza gentamicina e cefalotonina in combinazione, oppure chinoloni

Prevenzione

La migliore difesa è la prevenzione attraverso il controllo delle acque e la pastorizzazione del latte.

HELICOBACTER PYLORI

Helicobacter pylori

Nel 1982, ricercatori australiani dimostrano che un microrganismo Gram-negativo è la causa dell'ulcera peptica



La scoperta di un batterio stanziato nello stomaco (un distretto considerato “impossibile” da colonizzare) ha suscitato un notevole interesse verso i meccanismi che permettono questa particolare infezione.

**Inizialmente classificato nel genere *campylobacter*
Solo nel 1989 è stata creato un genere autonomo per varie
peculiarità di tipo ultrastrutturale, biochimico genomico.**

- Elicoidale e/o vibroide, nella forma di resistenza è coccoide mentre in coltura pleiomorfo
- Gram negativo
- da 2 a 7 flagelli terminanti a clava o a bulbo (elevata mobilità)
- Strato di glicocalice riveste tutto il soma ed i flagelli
- Microaerofilo, si moltiplica meglio in presenza di tracce di ossigeno
- *catalasi, ureasi e ossidasi positivo*

Venti specie identificate

-Nello stomaco dell'uomo *H. Pylori* ed *H. Heilmannii* (*Grastrosipirillum hominis*) quest'ultimo associato al carcinoma gastrico

-Altre specie colonizzano il retto e provocano rettocolite acuta, batteremia, cellulite ed artrite in pazienti immunodepressi

-Alcune specie sono state isolate in topi di laboratorio, cani, gatti, scimmie....

EPIDEMIOLOGIA DELL'INFEZIONE

-Infezione è diffusa in tutto il mondo

-Variabile in rapporto ad

età,

condizione socio economica

abitudini alimentari

prevalenza più elevata nei Paesi in via di sviluppo

EPIDEMIOLOGIA DELL'INFEZIONE

-Stati Uniti

la popolazione ispanica e nera 80%

popolazione caucasica 30%

*differenza è da mettere in relazione con diverse
condizioni igieniche nell'infanzia*

EPIDEMIOLOGIA DELL'INFEZIONE

-Europa

la popolazione adulta è la più colpita,

nessuna differenza in relazione al sesso, al gruppo sanguigno, all'abitudine al fumo.....

TRASMISSIONE DELL'INFEZIONE

- Una delle infezioni più diffuse a mondo
- L'uomo è una riserva primaria del batterio che ha la sua nicchia nello stomaco
- HP parassita ben adattato all'ambiente gastrico:
 - produce elevate concentrazioni di ureasi, che gli permettono di tamponare il pH acido dello stomaco attraverso la formazione di ammoniaca
 - possiede flagelli polari e rivestiti da una guaina di difesa
 - possiede adesine, fissazione su recettori cellulari specifici

TRASMISSIONE DELL'INFEZIONE

-Trasmissione

- 1. Oro-fecale**
- 2. Oro-orale**
- 3. Attraverso materiali sanitari**
- 4. Zoonosi**

1.Trasmissione oro-fecale

- preferenziale per i batteri gastroenterici (HP viene eliminato attraverso le feci)
- scarsa igiene ambientale e carenza di acqua
- permanenza nell'ambiente di forme coccoidi, non coltivabili ma che mantengano inalterata la virulenza
- contaminazione dell'acqua potabile, latte crudo e pastorizzato (mucca, pecora)
- consumo di verdure crude (?)

2. Trasmissione oro-orale

- A partire dal succo gastrico HP può contaminare cavità orale (reflusso gastro-esofageo, rigurgito, vomito)
- Dimostrata la presenza di HP nella placca dentaria e nella saliva

Reservoir naturale di HP orale? Forse transitorio

3. Trasmissione attraverso materiali sanitari

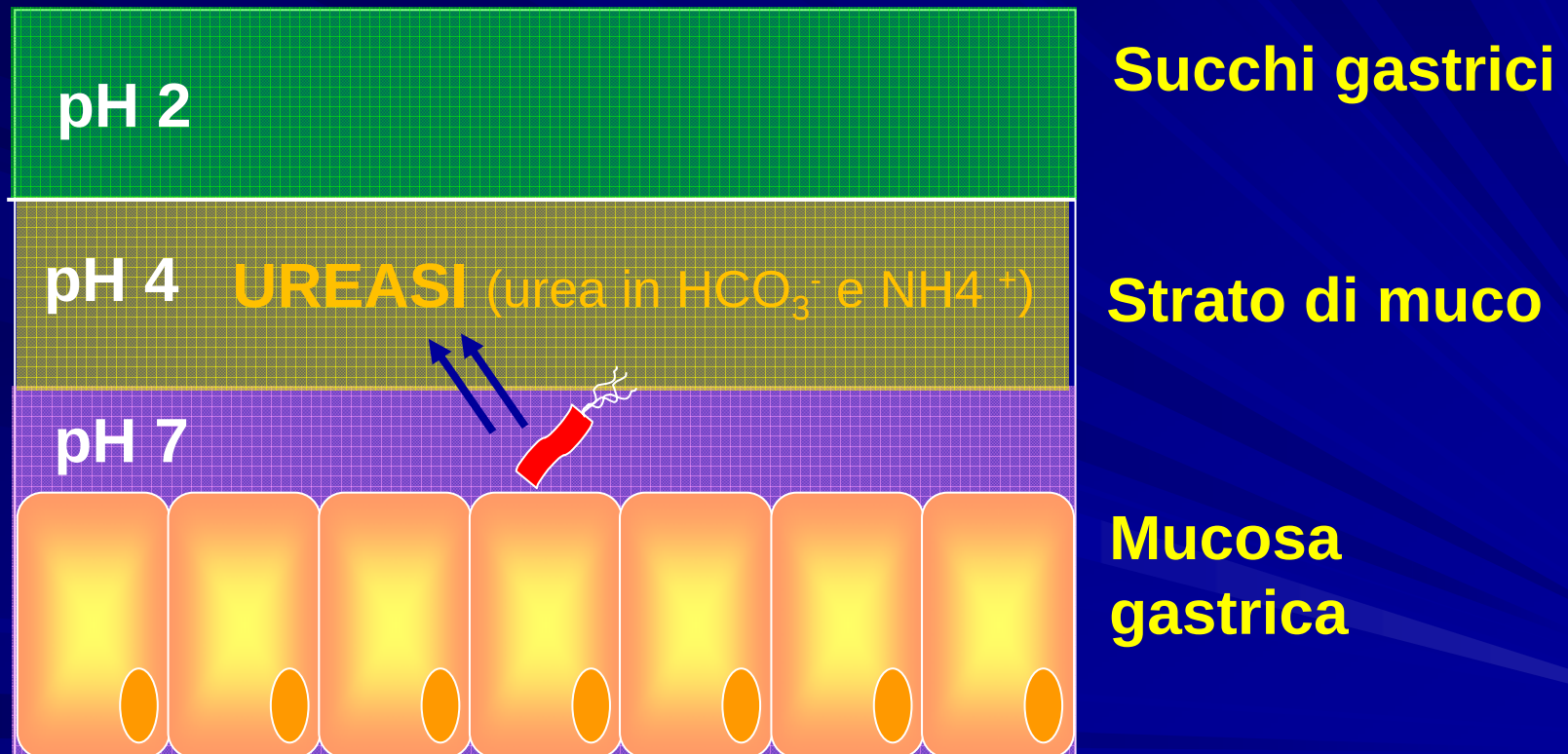
- Medici e infermieri sono personale a rischio
- Uso di endoscopi e di sondini naso gastrici
- Disinfezione e uso di materiali mono-uso riduce al minimo il rischio di infezione

4. Zoonosi

- *H. Heilmannii* o *Grastrospirillum homini* nello stomaco di gatti, cani, scimmie e maiali
- prevalenza dell'infezione è alta nel personale dei mattatoi, veterinari e i pastori
- durante la macellazione batterio potrebbe contaminare la carne ed essere quindi presente nelle preparazioni crude (salsiccia, salame,) e quindi infettare l'uomo.

PATOGENESI

HP penetra nel lume gastrico grazie ai flagelli e alla ureasi



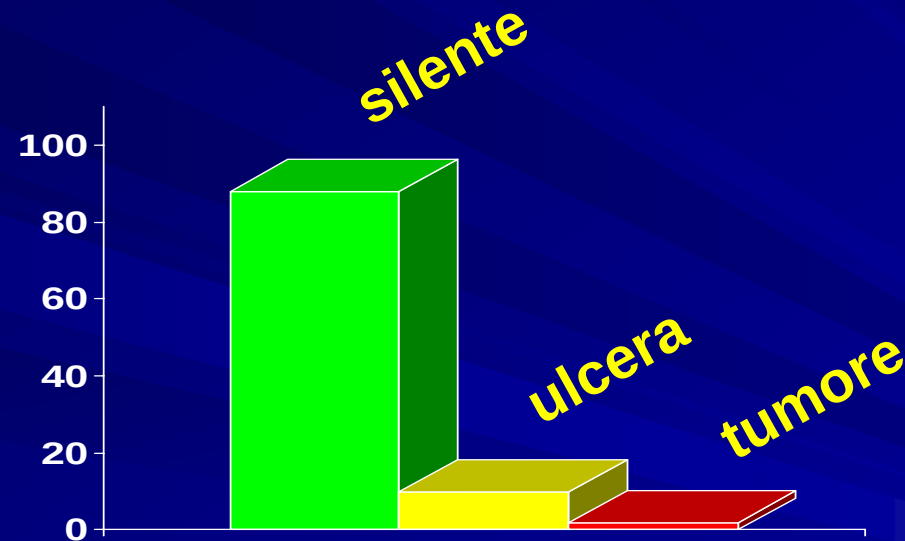
Ureasi tampona il pH acido (*neutralizzazione dell'acidità gastrica*)

-Adesione determina esposizione delle cellule della mucosa ai cataboliti

-Lipopolisaccaride (LPS) dell'HP induce la risposta infiammatoria dell'ospite

- Risposta infiammatoria non determina eradicazione di HP (HP produce superossido dismutasi e catalasi per proteggersi dalla fagocitosi dei neutrofili)

HP è uno dei patogeni più diffusi al mondo: si stima che $2 \cdot 10^9$ individui siano HP positivi. La maggior parte però non sviluppa sintomi clinici



In circa 2% dei pazienti HP positivi si sviluppa un'ulcera peptica e nel 1% un carcinoma o un linfoma

Questi dati suscitano due domande :

- 1. Perché questa infezione è nella maggioranza degli individui HP positivi asintomatica?**
- 2. Cosa succede in quei pochi casi in cui l'infezione si fa evidente e l'infiammazione pericolosa?**

La risposta alla prima domanda sta nella natura dell'LPS di *H.pylori* la cui frazione polisaccaridica ha una forte somiglianza con l'antigene di Lewis presente sulle cellule umane

***H.pylori* “mima” le cellule umane e quindi, contrariamente ad altri batteri Gram-negativi, non evoca una risposta infiammatoria importante.**

Questo adattamento all'ospite spiega come nella maggior parte delle persone colonizzate non si arrivi allo sviluppo patologie sintomatiche

Per la seconda domanda sono state proposte diverse ipotesi legate alla rottura dell'equilibrio ospite-batterio che potrebbe essere causata, in modo sinergico, da più fattori sia del batterio che dell'ospite



predisposizione dell'ospite



fattori batterici

a) predisposizione dell'ospite:

le persone che si ammalano reagirebbero in maniera anomala all'LPS di *H.pylori*, nonostante la sua somiglianza all'antigene di Lewis

b) fattori batterici:

**ceppi particolarmente virulenti:
producono “Vac-A” una tossina vacuolizzante
che uccide le cellule gastriche**

c) fattori batterici:

numero dei microrganismi

quando è in alte concentrazioni, anche l'LPS di *H.pylori* potrebbe evocare una risposta importante da parte dell'ospite

è possibile che i ceppi che provocano l'ulcera siano capaci di riprodursi più velocemente degli altri.

PATOGENESI

- un sistema di secrezione (simile al pilo coniugativo F di *E.coli*) permette a *H.pylori* di inserire i suoi prodotti nelle cellule epiteliali dell'ospite.

- Tra i prodotti traslocati c'è Cag-A che determina il rilascio da parte delle cellule della mucosa di sostanze che provocano vasodilatazione e richiamano i polimorfonucleati (PMN).

- I PMN tentano di uccidere i batteri rilasciando nell'ambiente enzimi lisosomiali e danneggiando le cellule mucipare che muoiono e non producono più il muco necessario a proteggere lo stomaco

- Le pareti dello stomaco, prive di muco e mucosa, vengono attaccate dai succhi gastrici e si forma l'ulcera

DIAGNOSI

1. Endoscopia digestiva

- a) Esame istologico presenza di HP e stato della mucosa**
- b) Test dell'ureasi**
- c) Test colturale (non raccomandabile come routine di diagnosi)**
- d) Test per PCR, non ancora disponibile per la pratica clinica**

2. Metodi diagnostici non invasivi (quando non è necessaria endoscopia)

- a) Test del respiro (Breath test) con urea marcata con carbonio radioattivo($^{13/14}\text{C}$)**
- b) Ricerca dell'antigene di HP (HpSA) nelle feci**
- c) Ricerca di IgG specifiche nel siero del paziente**

Breath test: emissione di CO_2 marcata dopo somministrazione di un pasto contenente urea marcata con C^{14}



TERAPIA

Regimi multipli sono stati messi a punto per la terapia delle infezioni da *H.Pylori*.

La terapia con tetraciclina, metrodinazolo, bismuto ed omoprazolo per due settimane si è dimostrata molto efficace.

La profilassi di individui colonizzati non è utile e può avere effetti collaterali importanti quali la predisposizione dei pazienti all'adenocarcinoma del basso esofageo.

Per l'uomo allo stato attuale non ci sono dei vaccini.

MYCOBACTERIUM

CARATTERISTICHE GENERALI

- circa 40 specie
- parassite obbligate o saprofite
- bacilli pleiomorfi che crescono a forma di filamenti ramificati
- aerobi obbligati o microaerofili, asporigini, immobili
- parete peculiare

Mycobacterium tuberculosis complex

SPECIE RESPONSABILI DELLA TUBERCOLOSI NEI MAMMIFERI

<i>M. tuberculosis</i>	(uomo)
<i>M. bovis</i>	(bovini, ruminanti domestici e selvatici, raramente suini, equini, bovini)
<i>M. africanum</i>	(uomo - Africa tropicale, isolato in scimmie e bovini)
<i>M. microti</i>	(arvicola, isolato in gatto, suino, lama)
<i>M. canettii</i>	(variante rara, Africa)
<i>M. bovis</i> (ceppo vaccinale)	(uomo)

Mycobacterium avium complex

SPECIE RESPONSABILI DELLA TUBERCOLOSI IN VOLATILI E UOMO (raro)

M. avium
M. intracellulare

PARETE BATTERICA

- parete cellulare ricca di lipidi (40% peso secco)
→ colonie ruvide e idrofobe
- alta resistenza: all'essiccamento, al calore umido fino a 60°C, ai disinfettanti a base di sali di ammonio quaternari, agli alcali, agli acidi → ACIDO-ALCOOL RESISTENTI
- sono sensibili invece a formaldeide, fenoli
- fattore cordale: sostanza lipidica che determina la formazione di ammassi cordali a serpentina quando crescono in terreno liquidi (importante per identificazione)

Colorazione per identificazione

Si colorano male con il Gram e per metterli in evidenza bisogna usare una colorazione apposita

Ziehl Neelsen

Dopo aver strisciato e fissato il materiale al calore il preparato viene colorato con fucsina fenicata a caldo. Quindi si lava con alcool e acido diluito e si colora a contrasto (blu di metilene).

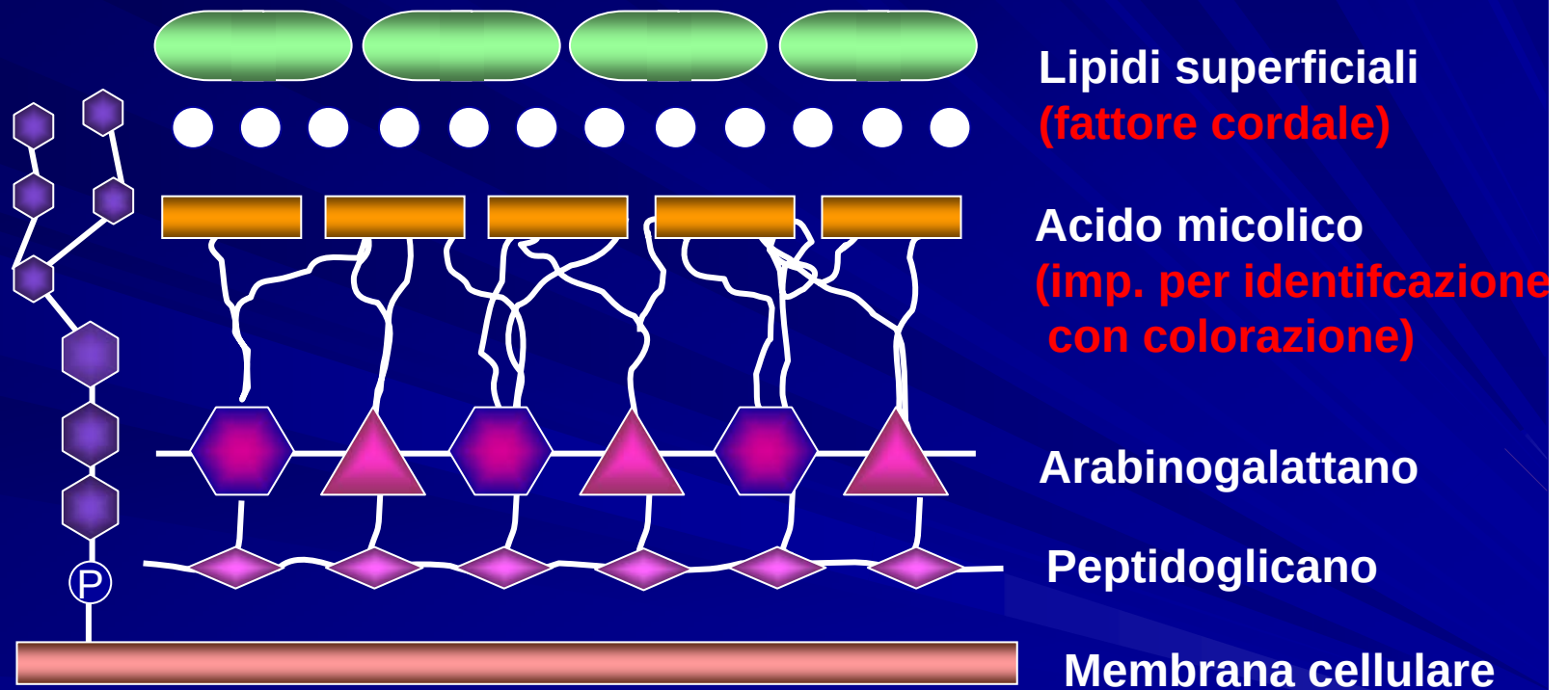
Colorazione per identificazione

*Con la colorazione di Ziehl Neelsen i **micobatteri** appaiono **rossi** e tutto il resto del materiale strisciato (cellule, muco, altri batteri) si colora in blu.*



La resistenza alla decolorazione è dovuta a complessi che si formano tra gli acidi micolici e la fucsina fenicata, ed è il motivo per cui i micobatteri vengono definiti “alcol-acido-resistenti”

La complessa parete dei micobatteri



Mycobacterium bovis

Agente infettivo della tubercolosi bovina

DISTRIBUZIONE:

- Eradicata in molti paesi del Nord Europa
- Discreta prevalenza in Spagna e Irlanda, più rara in Germania, Francia, Portogallo e Grecia
- Bassa prevalenza nei bovini in Italia.

CASI DI TUBERCOLOSI in animali:

In Italia sono stati segnalati in allevamenti intensivi di suini,
e in cinghiali allo stato libero

In carnivori domestici che avevano ingerito carne infetta

Tubercolosi umana da *M. bovis*

Diminuita nei paesi più sviluppati

- pratiche di bonifica
- eliminazione di capi positivi alla intradermoreazione alla tubercolina

- Casi nell'uomo a livello mondiale da *M. bovis*:

- 3,1% dei casi di tubercolosi (1954-1970)
- 1-3 % dei casi di tubercolosi negli Stati Uniti e Paesi Europei (dati recenti)
- Irlanda rurale (6% dei casi di tubercolosi)
- Paesi in via di sviluppo (10-40%)

Fattori di rischio

- igiene
- no-profilassi negli animali
- contatto diretto (coabitazione)
- prevalentemente nei giovani per ingestione di latte crudo.

Trasmissione all'uomo di M. bovis

1) per via alimentare

- latte non pastorizzato, derivati
- *carne* improbabile, gli animali infetti sono distrutti, la cottura inattiva i micobatteri presenti

2) contatto con animali/carcasse infette

Dermatite verrucosa, ingresso e moltiplicazione a livello cutaneo (malattia professionale)

3) uomo-uomo ipotizzata

Profilassi della tubercolosi umana

Controllo e eradicazione della tubercolosi bovina

In Italia è effettuato controllo sistematico della popolazione bovina viva e sulle carcasse da macello

Pastorizzazione del latte

Gestione dell'infezione umana da M. bovis

A carico di personale addetto al bestiame

Ricerca degli animali infetti

L'uomo infetto viene isolato e trattato con antibiotici

L'iter della malattia viene seguito per almeno un anno fino alla stabilizzazione clinica.

Manifestazione della malattia da *M. bovis* sovrapponibile a *M. tuberculosis*

Quella da *M. tuberculosis* rappresenta una delle malattie infettive più importanti a livello mondiale (più importante causa di morte sostenuta da un singolo batterio nella popolazione adulta)

Malattia cronica debilitante, caratterizzata da lesioni nodulari granulomatose (in polmoni, linfonodi, pleura, intestino, fegato, milza e peritoneo)

Una patologia riemergente tornata ad essere un notevole rischio per via dei flussi migratori da aree endemiche, delle nuove sacche di povertà in paesi industrializzati, e come infezione opportunistica in pazienti HIV positivi affetti da AIDS

L'infezione si propaga attraverso l' inalazione di micobatteri virulenti trasmessi da individui infetti attraverso le goccioline di saliva.

Negli alveoli polmonari, i batteri vengono fagocitati dai macrofagi nei quali si moltiplicano uccidendoli.

Si innesca una reazione infiammatoria che si manifesta con la formazione del "tubercolo" necrotico (lesione granulomatosa) circondato cellule epiteliodi (monociti trasformati) e cellule giganti mononucleate (cellule di Langhans)

Nell'analisi bioptica è possibile distinguere le cellule batteriche all'interno della lesione granulomatosa (complesso primario)

Il complesso primario cicatrizzato può essere tanto piccolo da sfuggire ai raggi X, ma la lesione può continuare ad albergare batteri vivi anche per l'intera vita del paziente.

In situazioni di compromissione del sistema immunitario, il focolaio primitivo si può riattivare con insorgenza di tubercolosi.

Normalmente, il decorso del complesso primario è **auto-limitante**,
Il focolaio si riduce e va incontro a fibrosi e calcificazione,
(complesso di Ghon).

A volte il **materiale necrotico si fluidifica e si versa nel lume di un bronchiolo o di un bronco**, diffondendo l'infezione:
TUBERCOLOSI MILIARE.

Se il **materiale necrotico si versa in un vaso sanguigno**
l'infezione diffonde rapidamente: **TUBERCOLOSI
EXTRAPOLMONARE.** Le localizzazioni più frequenti sono:

- linfonodi,
- tratto digerente,
- pericardio
- cervello (meningite tubercolare)
- vie genito-urinarie (tubercolosi renale)
- ossa ed articolazioni (tubercolosi ossea)

Diagnosi di laboratorio

TEST CUTANEO (reazione alla tuberculina)

Da espettorato o broncoaspirato

MICROSCOPIA: colorazione acido-resistente
(carbofucsina, fluorocromi, sonde molecolari)

COLTURA: terreni solidi a base agar o uovo, terreni liquidi

IDENTIFICAZIONE: proprietà morfologiche, biochimiche, analisi dei lipidi di membrana, sonde molecolari, sequenziamento acidi nucleici

DIAGNOSI DIFFERENZIALE: neoplasie polmonari, patologie della pleura o in immunocompromessi patogeni diversi dai Micobatteri possono dare sintomatologie simili alla tubercolosi extrapolmonare.

PROGNOSI: buona con terapia appropriata

I PPD vengono usati per determinare lo stato dell'immunità di un individuo nei confronti di M.tuberculosis (intradermoreazione)



PPD: protein purified derivatives
Reazione di ipersensibilità da immunità cellulo-mediata

M. tuberculosis può essere coltivato su terreni a base di uovo (es. Lowenstein Jensen) o sintetici (con acido oleico).
M. Bovis su Lowenstein Jensen senza glicerolo

I micobatteri crescono comunque molto lentamente

Oggi le tecniche di biologia molecolare come la PCR possono accelerare la diagnosi



Terapia della tubercolosi

Associazione di diversi antibiotici per evitare insorgenza di resistenze:

Isoniazide terapia standard (associata a resistenze)

Rifamicina agisce sui batteri sia intra- che extra-cellulari

Streptomycin attiva su popolazione extra-cellulare

Pirazinamide attiva su popolazione intra-cellulare ma non attiva su *M bovis*

VACCINO per TUBERCOLOSI UMANA

Il vaccino attualmente a disposizione deriva da un ceppo di *M.bovis*, svirulentato.

Il ceppo si chiama BCG (Bacille Calmette- Guerin) dal nome degli scopritori.

Ha dato buoni risultati in Europa ma un tentativo di applicazione su larga scala in aree depresse (India) è stato deludente.

Si stanno sperimentando vaccini ottenuti con metodiche di ingegneria genetica