

## MICROBIOLOGIA

Lezione 14 - 28/4

## CAP 13 - INFEZIONI MICROBICHE DELL'APPARATO RESPIRATORIO

L'apparato respiratorio è caratterizzato da un tratto respiratorio superiore e uno inferiore.  
Nel tratto respiratorio superiore troviamo:

- cavità nasale
- Cavità orale
- Faringe
- Laringe

Nel tratto respiratorio inferiore troviamo:

- Bronco primario
- Bronco secondario
- Alveoli
- Alveoli polmonari
- Dotti alveolari
- Bronchioli respiratori
- Bronco terminale

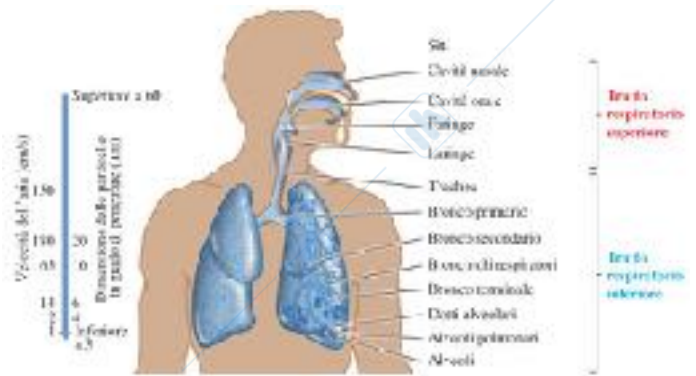


Figura 13.1  
L'apparato respiratorio dell'uomo.

Microrganismi diversi raggiungono diversi livelli dell'apparato respiratorio → nei tratti respiratori superiore ed inferiore si manifestano differenti infezioni.

Tratto respiratorio superiore:

- Faringite-laringite
- Otite media acuta
- Sinusite
- Epiglottite

Tratto respiratorio inferiore

- Bronchite acuta
- Polmonite acuta
- Polmonite cronica
- Ascesso polmonare

## BATTERI PATOGENI PRINCIPALI

**Alto tratto respiratorio**

- Staphylococcus aureus
- Streptococcus pyogenes
- Streptococcus pneumoniae
- Corynebacterium diphtheriae
- Bordetella pertussis
- Haemophilus influenzae
- Pseudomonas aeruginosa
- Klebsiella pneumoniae

**Basso tratto respiratorio**

- Mycobacterium tuberculosis
- Legionella pneumophila
- Bacillus anthracis

Batteri atipici:

- Mycoplasma pneumoniae
- Chlamydia trachomatis

Le *malattie batteriche dell'apparato respiratorio superiore* sono trasmesse attraverso l'emissione di particelle di secrezione respiratoria (goccioline di Flugge) mediante uno starnuto o un colpo di tosse incorporato.

## STAFILOCOCCI

Tra i batteri più comuni che causano malattie nel tratto respiratorio superiore troviamo gli stafilococchi.

Sono cocchi Gram +, disposti a grappolo, immobili, aerobi-anaerobi facoltativi, tutti catalasi positivi (enzimi necessari per sopravvivere in presenza di ossigeno perchè vanno a degradare i composti nocivi derivanti dall'utilizzo dell'ossigeno), alofili (7.5-10% NaCl) quindi sopravvivono ad una condizione elevata di NaCl, asporigeni, in grado di crescere fra 18 e 40°C.

Sono batteri ubiquitari sia come flora normale (pelle, mucose) che su oggetti. Sono resistenti a calore ed essiccamento (es. 50°C 30') → oggetti e materiali = importante sorgente di infezione.

Comprendono molte specie, alcune comunemente associate a malattie dell'uomo. Il patogeno umano più importante è lo *Stafilococcus aureus* (catalasi+ coagulasi+).

Le malattie variano da lievi a fatali. Soprattutto le infezioni nosocomiali sono difficili da trattare, per la facile acquisizione di resistenze (ceppi MRSA).

## S.aureus

Fattori di patogenicità dello *S.aureus* risiedono nella capacità di formare una capsula che ne facilita l'adesione e causa una resistenza alla fagocitosi. La presenza di acidi teicoici che favoriscono l'adesione del patogeno alle cellule epiteliali del tratto respiratorio. La produzione di esoenzimi come la coagulasi che forma dei coaguli, imbrigliando il batterio all'interno della fibrina e quindi proteggendolo dal sistema immunitario. La catalasi che trasforma il perossido di idrogeno in acqua e ossigeno. Produzione di tossine come la tossina esfoliativa che è una esotossina che agisce sullo stato granuloso dell'epidermide. La leucocidina che è una esotossina che forma pori sulla membrana dei neutrofili. La TSST che è una esotossina pirogenica e le enterotossine responsabili di tossinfezioni alimentari.

Tabella 9.1 Fattori di patogenicità dello *S. aureus*.

Fattori strutturali	Funzione
Capsula	Adesione; Causa resistenza alla fagocitosi
Proteina A	Vanifica la risposta anticorpale (lega la porzione Fc delle IgG)
Acidi teicoici	Permettono l'adesione alle cellule epiteliali
<b>Enzimi</b>	
Coagulasi	Forma coaguli (trasformando il fibrinogeno in fibrina)
Catalasi	Trasforma $H_2O_2$ in $H_2O + O_2$
Lipasi	Idrolizza i lipidi
DNasi	Depolimerizza gli acidi nucleici
Stafilocinasi	Converte il plasminogeno in plasmina
<b>Tossine</b>	
Tossina esfoliativa	Esotossina che agisce sullo stato granuloso dell'epidermide
Leucocidina	Esotossina che forma pori sulla membrana dei neutrofili
Tossina dello Sindrome dello Shock Tossico (TSST)	Esotossina pirogenica
Enterotossine (A, B, C, D, E ...)	Esotossine responsabili di tossinfezioni alimentari

### Identificazione di laboratorio

*S. aureus* non ha particolari esigenze nutritive. Cresce molto bene in agar sangue e viene evidenziato grazie alla presenza di aloni di emolisi: colonie grandi, lisce, gialle (produce un pigmento); emolitiche. Anche alcuni *S. non aurei* possono dare emolisi.

Tutti gli Stafilococchi sono Catalasi+ (sviluppo di bolle in presenza di perossido di idrogeno), *S. aureus* è anche coagulasi+ (capace di creare coaguli su uno strato di eritrociti).

Cresce in terreni col 7.5% di sale (inibiti gli altri batteri); *S. aureus* fermenta il mannitolo. Terreno di Chapman: agar + NaCl + mannitolo + indicatore di pH: colonie circondate da alone giallo (dovuto alla fermentazione dello zucchero). Molti *S. non aurei* non fermentano il mannitolo.

In caso di batteriemia, non basta fare una Gram sul sangue, perché ci possono essere pochi batteri (anche 1/ml), necessaria l'emocoltura.

Nota:

MRSA = methicillin resistant staphylococcus aureus:

Col tempo, gli *S.* hanno acquisito resistenza alle penicilline, anche a quelle sintetiche (metilcillina). Fino a poco tempo fa, MRSA si trovavano implicati in infezioni nosocomiali, ma recentemente si sono verificate diverse gravi infezioni extranosocomiali. L'antibiotico di scelta per il trattamento di MRSA è la vancomicina, ma stanno comparando ceppi resistenti.

### Epidemiologia

L'habitat normale di *S.aureus* sono le narici anteriori. Il 10-30% della popolazione sana è colonizzata (personale ospedaliero e pazienti ancora di più). Dal naso i batteri possono arrivare alla pelle, ed essere trasmessi anche mediante abiti. La diffusione aumenta toccandosi spesso faccia/naso, ed è facilitata dalle scarse condizioni igieniche. Attraverso peli e traumi *S. aureus* può invadere i tessuti profondi.

### Patogenesi

Le proteine che si legano alla fibronectina permettono allo *S.aureus* di ancorarsi ai tessuti e produrre l'a-tossina ed altre citolisine. Successivamente clumping factor, coagulasi e proteina A inibiscono la fagocitosi da parte del sistema immunitario. Il destino della lesione dipende dalla capacità dell'ospite di mantenere localizzato il processo.

## STREPTOCOCCHI

Oltre allo *S.aureus* si hanno anche altri batteri associati alle infezioni del tratto respiratorio superiore come per esempio lo *Streptococcus pyogenes*.

Le caratteristiche generali degli streptococchi sono:

- Cocchi gram+
- Catalasi negativi
- Aerobi-anaerobi facoltativi
- Disposti in catenelle

La classificazione delle diverse specie si basa su:

- Raggruppamento sierologico del carboidrato C della parete batterica: antigene di Lancefield (che caratterizza dei gruppi da A-H; e da K-V)
- Tipo di emolisi:
  - Emolisi beta: completa
  - Emolisi alfa: incompleta
  - Emolisi gamma: assente

### **Streptococcus pyogenes**

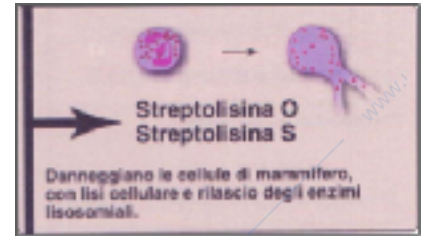
- Cocco gram+
- Beta-emolitico
- gruppo A di Lancefield
- Sensibile alla bacitracina
- L'uomo è il solo ospite naturale

È comune la colonizzazione dell'orofaringe senza dare malattia (stato di portatore). Si trovano spesso anche in intestino, vagina, cute. In genere la malattia si verifica quando *S.* di gruppo A recentemente acquisiti instaurano infezione prima che vengano sviluppati anticorpi specifici o proliferino microrganismi competitivi. Trasmissione interumana attraverso aerosol respiratorio, specie in ambienti affollati o attraverso lesioni della pelle dopo contatto diretto.

Principali Determinanti di patogenicità:

- Capsula di acido ialuronico: attività antifagocitaria
- Adesine: che caratterizzano la capsula, Acido lipoteicoico, Proteina F (lega la fibronectina), **Proteina M**: oltre che adesina, funziona anche come fattore antifagocitario, degrada C3b
- Enzimi che garantiscono una rapida diffusione nei tessuti (streptochinasi, ialuronidasi, DNasi → pus prodotto nelle infezioni non è denso)
- C5a peptidasi: inattiva la componente C5a del complemento, eliminandone l'azione chemiotattica positiva verso i fagociti ed i neutrofili

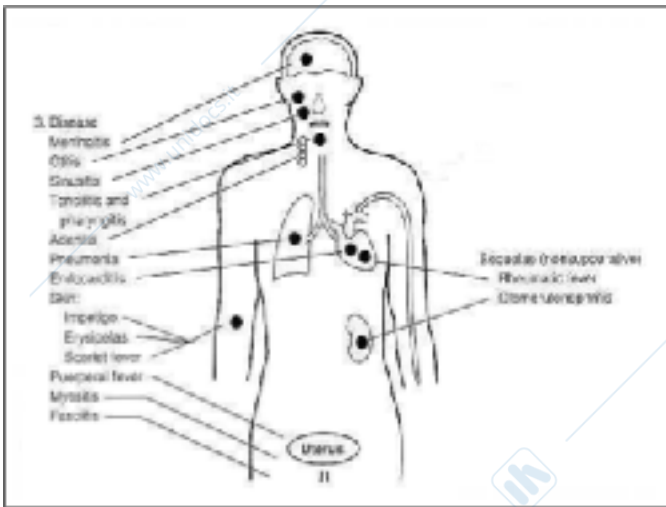
Tossine: Streptolisine S e O (lisi di leucociti, piastrine, eritrociti; inducono il rilascio di enzimi lisosomiali).



Esotossine Pirogene (SPE: Streptococcal Pyrogenic Exotoxin): agiscono da superantigeni. Causano numerosi effetti, fra cui shock emodinamico e collasso.

La SPE-A (tossina eritrogenica, codificata da un fago lisogeno), è responsabile dell'eritema della scarlattina.

La SPE-B, associata spesso a gravi lesioni acute da *S. pyogenes* (fascite necrotizzante), potenzia i processi infiammatori e lo shock.



Lo *S. pyogenes* è responsabile di diverse malattie infiammatorie acute **piogeniche**, cui possono seguire, a distanza di settimane, sequele **non suppurative**.

Forme infiammatorie acute: Faringite (angina streptococcica), tonsillite, polmonite, otite, scarlattina (che si manifesta in concomitanza con l'angina streptococcica), sindrome da shock tossico, sepsi, cellulite, erisipela, meningite.

Sequele non-suppurative: febbre reumatica acuta, glomerulonefrite.

### Identificazione

*S. pyogenes* viene ricercato nell'essudato faringeo e in prelievi da cute infettata. Semina in agar sangue, le colonie si presentano con mucose opalescenti con emolisi completa. Gli *S.* di gruppo A vengono identificati:

1. Per la sensibilità alla bacitracina.
2. test di agglutinazione (identificazione sierologica di Lancefield del polisaccaride C di gruppo A);
3. Immunofluorescenza contro polisaccaride C di tipo A.



**Figura 14.5.** Streptococchi di gruppo A dopo contatto con siero immune contenente anticorpi anti-polisaccaride C di gruppo A, coniugati con isotiocianato di fluorescina, osservati al microscopio a luce ultravioletta.



**Tipizzazione sierologica degli Streptococchi:** Particelle di lattice sono ricoperte con anticorpi (ATC) che riconoscono i diversi gruppi sierologici di streptococco. Successivamente vengono mescolate con una colonia di streptococchi di gruppo sconosciuto. Si ha l'agglutinazione delle particelle di lattice se l'antigene ignoto riconosce l'ATC legato sul lattice. In figura è rappresentata una reazione di agglutinazione positiva per uno streptococco di gruppo A, raffigurato in A, mentre B e C sono negativi.

Tutti i ceppi di *S. pyogenes* producono Streptolisina O; titoli antistreptolisinici (anticorpi verso la tossina) elevati forniscono indicazione di infezione recente. Usato soprattutto nella diagnosi di sequele non suppurative. Quindi per esempio quando ho una febbre reumatica se la voglio associare ad una precedente infezione da *S. pyogenes* lo possono fare andando a ricercare streptococchi contro la streptolisina.

## Streptococcus pneumoniae

- Cocco gram +
- Aerobio-Anaerobio facoltativo
- Disposizione a coppie (diplococco)
- Sensibile alla optochina e resistente all'acido nalidixico

Patologie associate a *S. pneumoniae*: Polmonite, meningite sinusite, otite media, batteriemia.

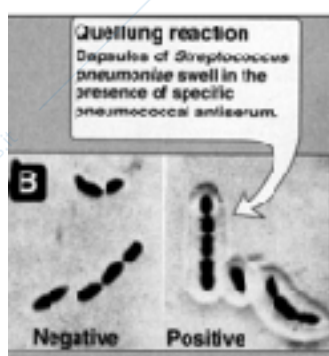
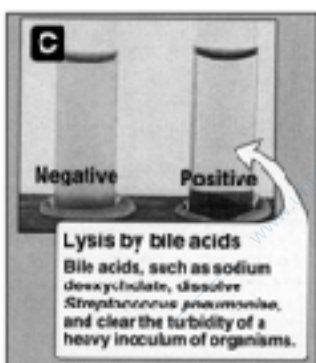
Esiste un vaccino caratterizzato dai polisaccaridi della capsula.

Determinanti principali di patogenicità:

- Capsula: fattore antifagocitario
- Sostanza C (acido teicoico + fosforilcolina) della parete cellulare: reagisce con la proteina C reattiva (globulina non anticorpale presente nel siero della maggior parte delle persone) → attivazione della cascata del complemento e liberazione di mediatori di infiammazione
- Autolisina: normalmente inattiva, ma può essere attivata (es betalattamici, invecchiamento batterico, ecc.) lisando i batteri con conseguente rilascio della pneumolisina
- Pneumolisina: è una citolisina che legandosi al colesterolo delle membrane le manda in lisi per la creazione di pori.
- Jaluronidasi, favorisce la diffusione dell'infezione ai tessuti sottostanti

## Identificazione

- Esame colturale: cresce solo su terreni ricchi (tryptic soy agar, brain heart infusion), addizionati con emoderivati. E' resistente all'acido nalidixico (utilizzo per colture pure).
- Attivazione delle autolisine mediante trattamento con basse concentrazioni di Sali biliari
- Reazione di Quellung (rigonfiamento causato dal legame con ATC specifici anti capsula)
- Sensibilità all'optochina consente di differenziare pneumococco (sensibile) da altri streptococchi (resistenti)



**Attivazione delle autolisine dopo esposizione alla bile:** aggiungendo basse concentrazioni (0.05%) di sali biliari (desossicolato), *S. pneumoniae* viene lisato, ma non altri *S. alfa-emolitici*.

L'identificazione può essere confermata dalla **reazione di Quellung** (rigonfiamento) mediante ATC specifici anticapsulari.

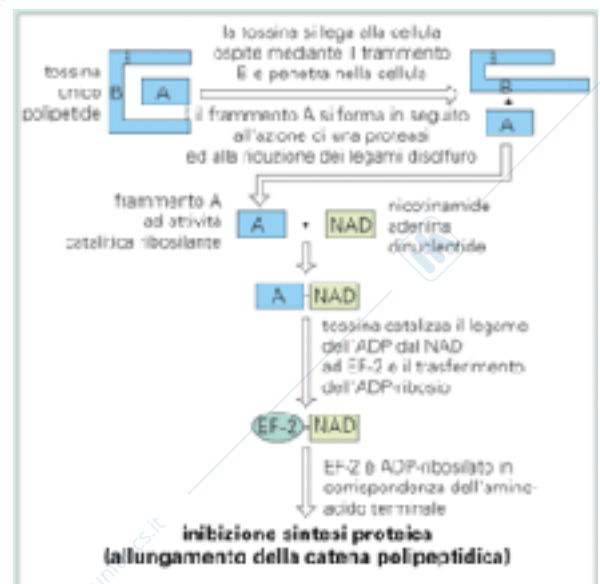
## CORINEBATTERI

- Piccoli bacilli pleiomorfi,
- Gram+ o Gram/variabili,
- non sporigeni,
- immobili,
- acapsulati,
- aerobi (o anaerobi facoltativi).
- Ubiquitari di piante ed animali, colonizzano pelle, tratto respiratorio superiore, tratto GI, urogenitale. Diverse specie infettano l'uomo come opportunisti. Il patogeno più importante è *C. diptheriae*.

### **Corynebacterium diptheriae**

Causa della difterite, malattia grave nel passato, praticamente scomparsa nei paesi occidentali, e ancora grave in paesi poveri e con scarsa copertura vaccinale: il batterio si trova sia in malati che in portatori sani e viene trasmesso per via respiratoria. Il potere patogeno è dovuto essenzialmente alla esotossina, codificata da un fago lisogeno. L'inattivazione di EF-2 impedisce lo scorrimento della catena peptidica nascente a livello ribosomiale. Il turnover di EF-2 è molto lento, per cui una sola molecola di esotossina può inattivare tutte le EF-2 di una cellula. La sintesi della tossina è regolata da un repressore - a livello cromosomico - che viene inibito a basse concentrazioni di ferro. Quindi basse concentrazioni intracellulari di Fe attivano l'espressione della tossina.

Nella foto—> Meccanismo di azione della tossina difterica. (ADP, Adenosina difosfato; EF-2 fattore di allungamento.)



**Difterite respiratoria:** Infezione locale, i batteri si moltiplicano sulle cellule epiteliali, e la tossina provoca prima un danno localizzato. Si forma uno spesso essudato grigio, aderente (pseudomembrana) formato da epitelio necrotico inglobato in fibrina e materiale infiammatorio, che può ostruire completamente le vie aeree. La tossina che diffonde per via ematica può provocare danni a distanza, soprattutto a livello nervoso e cardiaco. La tossina difterica è immunogena, ed il vaccino utilizzato è basato sull'uso dell'anatossina. Nei casi di malattia, si somministra l'antitossina.

La diagnosi va sempre confermata mediante esame colturale. Per l'isolamento si utilizzano terreni selettivi (con tellurito di potassio, che inibisce gli altri batteri presenti nelle vie respiratorie ma non gli stafilococchi), o il terreno di Löffler (con siero di vitello) in cui il *Corynebacterium* cresce molto più rapidamente (4-8 ore) degli altri batteri. Bisogna verificare la produzione di tossina (molti *C. commensali* normali). Oppure utilizzare tecniche molecolari (es. PCR) per l'identificazione del gene tox.

## BORDETELLE

Piccoli cocco-bacilli Gram-, aerobi obbligati, sono molto fragili fuori dall'organismo umano, quindi la diffusione è abbastanza limitata. *B. pertussis* è responsabile della pertosse (tosse canina), ed è a circolazione esclusivamente interumana.

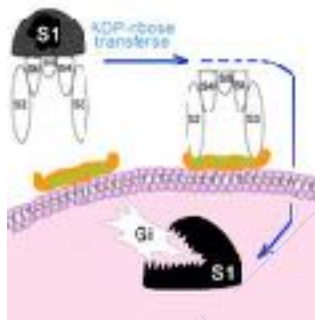
Il meccanismo dell'azione patogena è complesso ed intervengono numerosi fattori, causa sia danni tissutali localizzati che effetti tossici a livello sistemico. Il batterio ha sopravvivenza intracellulare.

Due adesine: emoagglutinina filamentosa e tossina della pertosse, si legano a cellule ciliate del tratto respiratorio ed ai macrofagi.

Il legame della tossina ai macrofagi li stimola a produrre CR3, che è il recettore dell'emo- agglutinina, per cui aumenta l'adesione e la fagocitosi. La sopravvivenza intracellulare di Bordetella. la protegge dalla risposta immune e consente lo stato di portatore.

TABELLA 33-2. Fattori di virulenza associati a *B. pertussis*

FATTORI DI VIRULENZA	EFFETTI BIOLOGICI
<b>Adesine</b>	
Emoagglutinina filamentosa	Si lega ai glicolipidi solfati sulle membrane delle cellule ciliate; lega il CR3 sulla superficie dei leucociti polimorfocellulari e dà inizio alla fagocitosi.
Tossina della pertosse	La subunità S2 si lega ai glicolipidi sulle superficie delle cellule ciliate dell'epitelio respiratorio; la subunità S3 si lega ai gangliosidi sulla superficie dei fagociti.
Pili	Si legano alle cellule di mammifero. Ruolo ignoto nella malattia.
<b>Resistenza</b>	
Tossina della pertosse	La subunità S1 ADP-ribosila la proteina Gi delle cellule dell'apice, causando una mancanza di regolazione dell'adenilato ciclico; la tossina inibisce il killing dei fagociti e la migrazione dei monociti.
Tossina adenilato ciclica	Aumenta il livello intracellulare di adenilato ciclico e inibisce il killing dei fagociti e la migrazione dei monociti.
Tossina demonecrotica	Causa lesioni cutanee dose-dipendenti reazioni fatali negli animali da laboratorio. Il ruolo nella malattia non è conosciuto.
Citotossina tracheale	Un frammento di peptidoglicano che uccide le cellule ciliate dell'epitelio respiratorio e stimola il rilascio dell'interleuchina-1 (febbre).
Lipopolisaccaride	Due distinte molecole di lipopolisaccaride coniugate con il lipide A o il lipide X; attiva la via alternativa del complemento e stimola il rilascio di citochine. Il ruolo nella malattia non è noto.

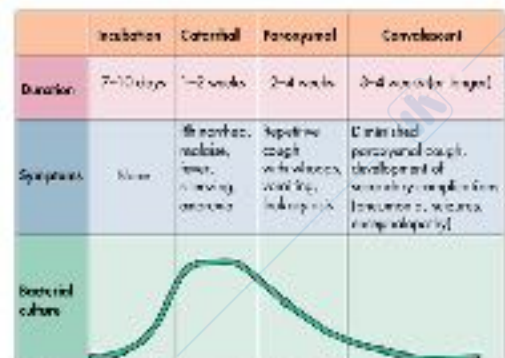


La tossina della pertosse è una classica tossina con 1 subunità tossica e 5 subunità di legame, che si legano a diversi recettori e mediano l'internalizzazione della parte tossica. La regione tossica ribosila le proteine Gi, che normalmente hanno la funzione di regolare i livelli intracellulari di cAMP. Ciò causa l'aumento di cAMP, con la conseguenza di un persistente stato di attivazione cellulare.

**PERTOSSE:** Infezione contratta per aerosol respiratorio, il batterio aderisce all'epitelio ciliato, e dopo 7-10 giorni di incubazione si sviluppa la malattia, in 3 stadi.

Lo stadio catarrale è simile ad un raffreddore, con malessere e febbre modesta. Mancando sintomi specifici, è la fase di maggior contagio. Nello stadio parossistico le cellule epiteliali vengono distrutte e si hanno i sintomi caratteristici (colpi di tosse ripetuti seguiti da un urlo respiratorio, spesso con vomito e sfinimento), con oltre 40 attacchi al giorno e marcata linfocitosi. Nella convalescenza gli episodi parossistici diminuiscono, ma possono presentarsi complicazioni (polmoniti, encefalopatie).

Negli anni recenti, si sta assistendo ad un aumento di casi di pertosse (USA: 2000 nel 1975, >8.000 nel 2003, 13 morti), soprattutto in bambini non vaccinati (troppo giovani). Inoltre, forse stanno cominciando a girare ceppi non sempre riconosciuti dal vaccino.



From: McCracken and Tarr, eds. Copyright © 2003 by Elsevier Inc.

## Haemophilus influenzae (N.B non causa influenza)

Bacilli Gram-, pleiomorfi, a volte capsulati, parassiti obbligati di uomo ed animali. La capsula è importante per la virulenza. Componente normale della flora respiratoria umana, può colonizzare anche congiuntiva e tratto genitale. Per molti batteri la presenza di sangue nel mezzo di coltura serve per un arricchimento nutrizionale, o evidenziare tossine emolitiche. Per coltivazione di *Haemophilus* invece serve fornire due sostanze che non è in grado di sintetizzare: fattore X (gruppo eme) necessario per la sintesi di enzimi e fattore V (NAD) necessario per il trasferimento di protoni nei processi bioenergetici.

Trasmesso per aerosol respiratorio. Produce una proteasi che degrada le IgA (presenti nelle secrezioni), facilitando la colonizzazione delle mucose. La capsula di *H. influenzae* di tipo b ha attività antifagocitica. Mediante diffusione contigua (associata a ceppi acapsulati) può causare otite, sinusite, broncopneumite. Mediante disseminazione ematica (associata a ceppi capsulati di tipo b) causa meningite, artrite settica, cellulite.

*H. influenzae* è la causa più comune di otite e di sinusite acute e croniche, insieme a *S. pneumoniae*. *H. influenzae* era la causa più comune di meningiti pediatriche, ma la disponibilità di un vaccino ha cambiato la situazione, ma NON nei Paesi in via di sviluppo. Il vaccino è allestito con PRP purificato, coniugato ad un vettore proteico, anch'esso usato a scopo vaccinale (anatoxina tetanica e difterica). PRP = poliribitol-fosfato, polisaccaride fondamentale della capsula.

## PSEUDOMONAS

Saprofiti ambientali, che possono dare infezioni opportuniste. Gram-, mobili, anaerobi facoltativi, la specie più importante è *Pseudomonas aeruginosa*. Possiede molti fattori di virulenza, fra cui tossine ed enzimi.

TABELLA 32-1. Fattori di virulenza associati a *Pseudomonas aeruginosa*

FATTORI DI VIRULENZA	EFFETTI BIOLOGICI
<b>Componenti strutturali</b>	
Capsula	Exopolisaccaride mucoso; adesina; inibisce l'uccisione da parte di antibiotici (es. aminoglicosidi); sopprime l'attività dei neutrofili e dei linfociti
Pili	Adesina
Lipopolisaccaride (LPS)	Attività endotossina
Piocianina	Danneggia la funzione ciliare; stimola la risposta infiammatoria; media il danno tissutale attraverso produzione di radicali di ossigeno tossici (cioè, acqua ossigenata, superossido, radicali idrossilici)
<b>Tossine ed enzimi</b>	
Esotossina A	Inibitore della sintesi proteica; produce danno ai tessuti (quali, pelle, cornea); immunosoppressiva
Esotossina S	Inibisce la sintesi proteica; immunosoppressiva
Citotossina (leucocidina)	Citotossica per membrane eucariotiche (ad es., impedisce ai leucociti di svolgere la propria funzione, produce lesioni microvascolari polmonari)
Elastasi	Distruzione dei tessuti contenenti elastina (quali, piastrine, tessuto polmonare, pelle), collagene, immunoglobuline e fattori del complemento
Proteasi alcalina	Distruzione dei tessuti, inattivazione di interferone e del fattore di necrosi tumorale $\alpha$
Fosfolipasi C	Emolisina labile al calore; media il danno ai tessuti, stimola la risposta infiammatoria
Ramnlipide	Emolisina stabile al calore; distrugge i tessuti contenenti lecitina; inibisce l'attività ciliare polmonare
Resistenza agli antibiotici	Crea difficoltà nella terapia

Considerando la loro diffusione, capacità di crescita (alcuni anche in acqua distillata in presenza di tracce di nutrienti!), virulenza, ci si attenderebbe un loro ruolo patogeno importante nell'uomo. Invece, causa soprattutto infezioni opportuniste in pazienti già debilitati.

Infezioni polmonari, gravi in pazienti già compromessi (malattie polmonari croniche, fibrosi cistica, infezioni cutanee in pazienti con gravi ustioni).

Endocardite in soggetti che usano droghe per via endovenosa. Spesso agenti di infezioni

nosocomiali. Infezioni urinarie in pazienti con catetere. *Pseudomonas* ha esigenze nutrizionali limitate, e può crescere fra 4° e 42°C, è resistente a molti antibiotici e disinfettanti. La presenza di *Pseudomonas* nell'ambiente, anche ospedaliero, non è di per sé significativo, a meno che non ci siano evidenze di focolai di infezione.

ANTIBIOTICO	MECCANISMI DI RESISTENZA
Beta-lattamici	Idrolasi dell'anello beta-lattamico; diminuzione della permeabilità; alterazione della proteina di legame
Aminoglicosidi	Idrolasi enzimatica mediante acetilazione, acrilazione o fosforilazione; diminuzione della permeabilità; alterazione del bersaglio ribosomiale
Cloramfenicolo	Idrolasi enzimatica mediante acetilazione; diminuzione della permeabilità
Fluorochinoloni	Alterazione del bersaglio (DNA girasi); diminuzione della permeabilità

### Klebsiella pneumoniae

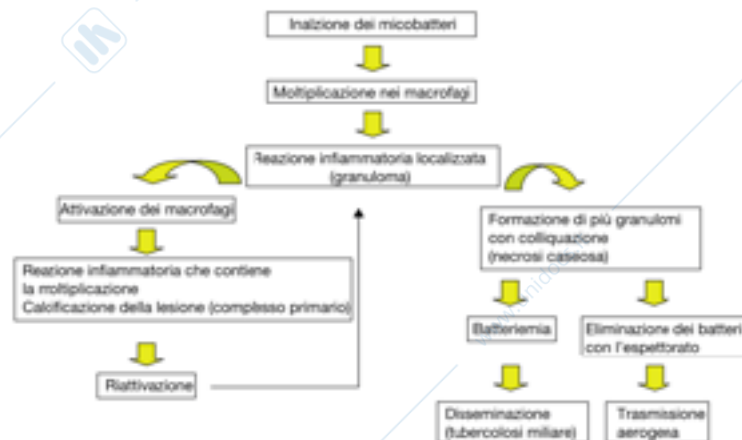
Bacillo Gram – appartenente alle Enterobacteriaceae, fermenta glucosio e lattosio, immobile, ureasi +. Commensale del tratto respiratorio, si può trovare anche nelle feci. Associato spesso ad infezioni opportunistiche e nosocomiali. Stanno circolando tra la popolazione ospedalizzata ceppi produttori di carbapenemasi (ceppi New Delhi).

Causa una polmonite lobare necrotizzante in individui debilitati da alcolismo, diabete o polmonite cronica ostruttiva (necrosi degli spazi alveolari, formazione di cavità, escreato striato di sangue). Ha una capsula prominente, codificata da un plasmide, che inibisce la fagocitosi.

**Diagnosi:** isolamento colturale e identificazione mediante test biochimici (API).

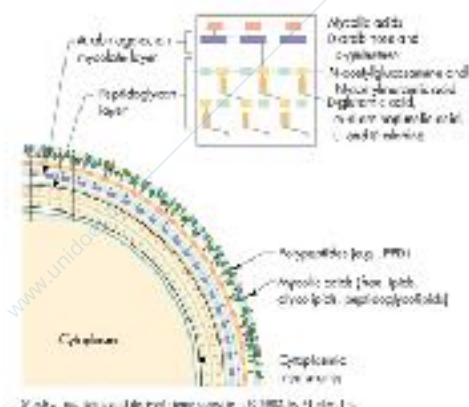
## MALATTIE BATTERICHE APPARATO RESPIRATORIO INFERIORE

Figura 13.11  
Patogenesi dell'infezione da *Mycobacterium tuberculosis*.



## MICOBATTERI

Bacilli aerobi, immobili, asporigeni, acido-resistenti, causano infezioni intracellulari. Parete cellulare ricca di cere e lipidi, che conferiscono al micobatterio le particolari caratteristiche (acido-resistenza, crescita lenta, resistenza a detergenti e alcuni antibiotici, ecc.). Parete formata da spesso strato di peptidoglicano (simile ai Gram+) legato a polisaccaridi esterificati con acidi micolici. Le catene peptidiche dello strato esterno sono importanti antigeni (PPD, derivati proteici purificati). Più esternamente ci sono polipeptidi, acidi micolici e lipidi liberi glicolipidi, ecc.



Agenti causali dell'infezione tubercolare sono alcune specie di micobatteri raggruppati sotto la denominazione di *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC). Appartengono a questo gruppo le specie: *M. tuberculosis*; *M. bovis*; *M. africanum*; *M. canettii*; *M. microti*; *M. caprae*; *M. pinnipedii*. *M. Avium* è responsabile delle malattie da micobatterio più comuni in pazienti AIDS in paesi occidentali.

Le infezioni da Micobatteri non tubercolari (NTM). Sono patogeni opportunisti ampiamente diffusi in natura. La loro diffusione ne favorisce la colonizzazione di mucose e secrezioni dell'organismo, nonché la contaminazione di apparecchi diagnostici e campioni biologici. I NTM hanno assunto in questi ultimi anni un ruolo importante come causa di malattia soprattutto in relazione all'aumentata frequenza di fattori di rischio connessi a condizioni di immunodepressione. In questi casi, le infezioni provocate dai NTM sono spesso gravi e talvolta mortali per cui una rapida rilevazione ed una corretta identificazione del ceppo sono fattori essenziali per un tempestivo approccio terapeutico.

Si stima che il 30% della popolazione mondiale sia infettata, con 13 milioni di casi di malattia, con 2 milioni di morti all'anno. Nei Paesi occidentali, dopo decenni di diminuzione di casi, attualmente si assiste ad un aumento dei casi (immigrazione, immunodeficienza, sviluppo di ceppi antibiotico-resistenti) = patologia riemergente. Italia: 4000+casi (2008), circa 400 morti (2006).

### **Mycobacterium tuberculosis**

Il meccanismo centrale dell'azione patogena è rappresentato dalla resistenza alla lisi intracellulare nei fagociti. L'infezione si contrae per inalazione di aerosol infetto. I micobatteri penetrano nei macrofagi non attivati presenti negli alveoli polmonari ed inibiscono la fusione fra fagosoma e lisosoma. Non vengono distrutti e replicano all'interno del macrofago. L'infezione richiama linfociti, si innesca un processo infiammatorio con accumulo di macrofagi attivati (granuloma), che controllano l'infezione e distruggono i macrofagi infetti.

La lesione che si forma viene chiamata Tubercolo, è circondata da cellule giganti multinucleate, formate dalla fusione di macrofagi (cellule di Langhans). Il tubercolo viene rivestito di fibrina (proteggendo i micobatteri dal killing macrofagico), necrotizza (necrosi caseosa), e successivamente precipitano sali di calcio. Questo processo infiammatorio localizzato e risolto si chiama Complesso Primario.

Non sempre il complesso primario viene completamente "sterilizzato". A volte si instaura una infezione cronica paucibacillare asintomatica, in cui i micobatteri rimangono vitali anche per molti anni, anche se in letargo metabolico. Occasionalmente il complesso primario si riattiva, i micobatteri proliferano e si formano lesioni granulomatose multiple che confluiscono, necrotizzano e possono diffondere anche a sedi extrapolmonari (tubercolosi miliare, meningea, renale, ossea). Spesso l'esito del processo dipende dalla carica batterica. Se ci sono pochi batteri, vengono facilmente eliminati dai macrofagi, con minimo danno tissutale. Se ci sono tanti batteri, l'intensa risposta immune cellulare causa estesa necrosi tissutale.

L'infezione stimola l'immunità cellulo-mediata, che contribuisce sia all'immunità che alla patologia. Infatti le lesioni tissutali sono dovute alla risposta infiammatoria conseguente la risposta cellulo-mediata.

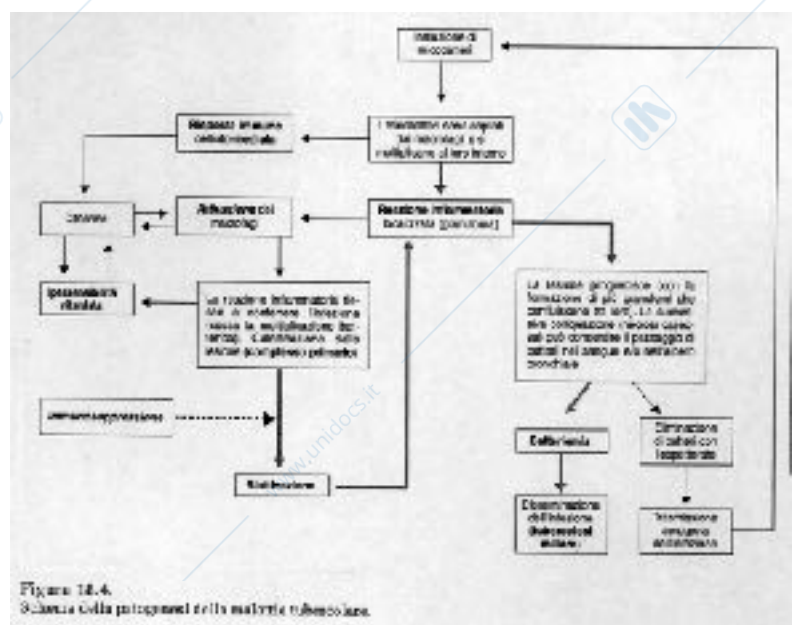


Figura 14.4. Scenari della patogenesi della malattia tubercolare.

Quindi, nel soggetto infettato si possono verificare due situazioni:

- **la malattia tubercolare**, generata dal prevalere dei fattori aggressivi, cioè la carica microbica e la sua virulenza, su quelli difensivi rappresentati dal sistema immunitario dell'ospite. Dati epidemiologici indicano che circa il 10% dei soggetti infettati sviluppa una tubercolosi, metà entro due anni dall'infezione e metà in un momento successivo della vita.
- **l'infezione tubercolare latente (ITBL)**, condizione che risulta dalla capacità del sistema immunitario dell'ospite di opporsi all'evolversi dell'infezione in malattia. Questa condizione può durare per tutta la vita, ma l'equilibrio può rompersi per il verificarsi di stati di deficienza immunitaria, anche transitoria.

### Laboratorio e Terapia

Colorazione di Ziehl-Neelsen direttamente sul materiale patologico, in quanto nella flora microbica normale non ci sono bacilli acidoresistenti.

Emulsione del materiale in NaOH al 3% (uccide tutti i non-micobatteri), e isolamento su terreni selettivi (es. Petraghani, con verde malachite batteriostatico) e tuorlo d'uovo (per fornire i lipidi). Risultati dopo 3-4 settimane (crescita lenta).

Con le tecniche molecolari si hanno risposte molto più veloci. Di solito si esegue la coltura e su di essa, dopo pochi giorni, si rilevano metaboliti specifici o si esegue la PCR.

La coltura è sempre necessaria per determinare la sensibilità agli antibiotici. Infatti, anche se i micobatteri generalmente sono sensibili a streptomina, rifampicina, isoniazide, compaiono facilmente varianti resistenti. La terapia viene eseguita con associazioni di antibiotici diversi, e con diversi trattamenti sequenziali prolungati, Ceppi MDR (multidrug resistant) sono resistenti sia a isoniazide che a rifampicina, ma ci sono ceppi XDR (extensively drug resistant), che sono resistenti anche a fluorochinoloni, kanamicina, ecc.

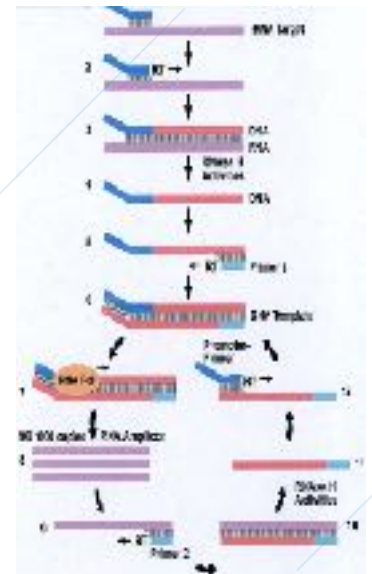
**TMA** (Transcription Mediated Amplification) utilizzata per la diagnostica dei Micobatteri.

L'rRNA è presente nei batteri in diverse migliaia di copie

1. Promotore-primer 1 si lega al rRNA bersaglio
2. RT sintetizza cDNA
3. Formazione di un ibrido DNA-RNA
4. Attività RNAsica di RT degrada rRNA
5. Primer 2 si lega al DNA
6. RT ha anche attività DNApol
7. RNA pol si lega al promotore e trascrive
8. produzione di 100-1000 copie di ampliconi RNA
9. Primer 2 lega l'amplicone
10. L'attività RNAsi degrada l'rRNA
11. Primer e promotore legano il DNA di neosintesi, ripetendo tutto il ciclo

Vantaggio rispetto alla PCR:

Un batterio contiene una copia di DNA, e migliaia di molecole di rRNA.



### Vaccinazione

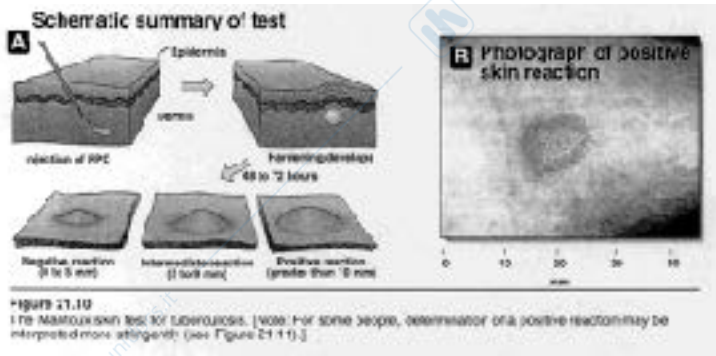
Il vaccino anti-TBC è costituito da un ceppo apatogeno di *M. bovis* (BCG, bacillo di Calmette-Guerin). Il vaccino viene somministrato per via intradermica.

La vaccinazione con BCG non è in grado di prevenire l'infezione tubercolare, di conseguenza la capacità di riduzione dell'incidenza e della trasmissione della malattia nella popolazione generale è limitata. Gli studi condotti a livello mondiale e le loro metanalisi confermano:

- l'efficacia superiore all'80% nel prevenire la malattia grave nei bambini (forme disseminate – meningea)
- l'enorme variazione nella stima dell'efficacia verso le forme polmonari, che va da 0 a 80%

## Reazione della tubercolina

Inoculazione intradermica di PPD (reazione di Mantoux), utile per accertare la presenza di immunità cellulare specifica verso *M. tuberculosis*. Dopo 48-72h nei soggetti che hanno subito infezione si sviluppa una reazione infiammatoria (ipersensibilità ritardata). La positività non indica malattia in atto, ma infezione pregressa (non ha valore diagnostico, anche se di solito dà reazioni più intense in soggetti con infezione attiva).



<p><b>An induration of <math>&gt;5</math> mm is interpreted as positive in the following populations:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Persons who have had contact with infectious individuals</li> <li>• Persons with an abnormal chest X-ray</li> <li>• HIV-infected and other immunosuppressed persons</li> </ul>
<p><b>An induration of <math>&gt;10</math> mm is interpreted as positive in the following populations:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Foreign-born persons from high-prevalence countries</li> <li>• Residents of prisons, nursing homes, and other institutions</li> <li>• Health care workers</li> <li>• Persons with other medical risk factors</li> </ul>
<p><b>An induration of <math>&gt;15</math> mm is interpreted as positive in the following populations:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Persons with no risk factors</li> </ul>

**Figure 21.11**  
Interpretations of the Mantoux skin test for tuberculosis.



