

Batteriologia speciale

Staphylococcus

Gli stafilococchi sono cocchi gram +, anaerobi facoltativi, catalasi-positivi, immobili, che crescono a grappoli. Sono molto diffusi. Il più importante è *S. aureus*. Un altro stafilococco di una certa rilevanza è *S. epidermidis* (in proporzione, rappresenta il 99% degli altri stafilococchi).

S. aureus

Essendo un stafilococco, cresce a grappoli (\Rightarrow quando si riproduce, rimane unito alle cellule vicine) formati da elementi rotondeggianti. È un patogeno molto versatile, dati gli svariati fattori di virulenza, e causa patologie di diversa natura. Anche se perde qualche fattore di virulenza, il fenotipo clinico non cambia quasi per niente.

I vari stafilococchi hanno fattori di virulenza diversi \Rightarrow diverse patologie.

S. aureus è l'unico stafilococco coagulasi-positivo. Gli altri stafilococchi sono coagulasi-negativi. Il test della coagulasi risulta perciò utile a distinguere *S. aureus* dagli altri stafilococchi.

Fattori di virulenza

- Capsula \Rightarrow spesso non viene prodotta in vitro. Riconosce l'ambiente esterno, difende il batterio dalla fagocitosi e facilita l'adsorbimento di questo su cateteri, protesi, ecc.
- Proteina A \Rightarrow è ancorata al peptidoglicano. Lega ad alta affinità l'Fc delle IgG \Rightarrow inattivazione IgG; inoltre, in questo modo il batterio si mimetizza: il sistema immunitario lo scambia per self (visto che è ricoperto da IgG).
- Peptidoglicano \Rightarrow attiva i pirogeni endogeni e il complemento (\Rightarrow infiammazione).
- Coagulasi \Rightarrow ce ne sono due tipi: di membrana e secreta. Catalizza la conversione del fibrinogeno in fibrina. Il coagulo di fibrina maschera il batterio, proteggendolo dal sistema immunitario, e facilita la sua aggregazione coi batteri vicini.
- Catalasi \Rightarrow catalizza la conversione del perossido di idrogeno (H_2O_2) in H_2O e O_2 . È presente in tutti i batteri aerobi, ma non negli aerotolleranti (es.: streptococco) e negli anaerobi obbligati.
- Ialuronidasi \Rightarrow idrolizza l'acido ialuronico della matrice extracellulare dell'ospite \Rightarrow danni tissutali e penetrazione nel tessuto.
- Fibrinolisinasi (stafilochinasi) \Rightarrow scioglie i coaguli di fibrina (ha azione opposta a quella della coagulasi: ci sono momenti in cui il batterio si vuole nascondere dal sistema immunitario dell'ospite e usa la coagulasi; e momenti in cui il batterio vuole uscire allo scoperto per produrre infezione, dopo essersi riprodotto abbondantemente, e usa la fibrinolisinasi).
- Lipasi \Rightarrow degradano i lipidi. Sono importanti per la sopravvivenza dei batteri in zone sebacee (alcuni lipidi sono tossici; i grassi possono essere usati come fonte di carbonio).

Tossine

Gli stafilococchi (soprattutto *S. aureus*) producono molte tossine:

- Tossina α \Rightarrow media la citolisi, creando pori nella membrana della cellula bersaglio. Provoca necrosi, se iniettata sottocute.
- Tossina β (sfingomielinasi C) \Rightarrow idrolizza fosfolipidi di membrana.
- Tossina γ \Rightarrow lisi eritrociti e linfoblasti.
- Tossina δ \Rightarrow è una grande proteina idrofobica che agisce come detergente, provocando la lisi delle cellule.

- Leucocidina \Rightarrow uccide i leucociti.
- Tossina 1 della sindrome da shock tossico (TSST-1) \Rightarrow è un superantigene. I superantigeni si legano all'MHC-II dei macrofagi e alla porzione variabile del TCR dei linfociti T helper, provocando un'attivazione aspecifica dei linfociti T \Rightarrow risposta immunitaria spropositata \Rightarrow shock tossico (molte volte è mortale). Siccome il superantigene non richiede la presenza di un antigene per legarsi all'MHC-II e al TCR \Rightarrow attivazione generalizzata di tutti i linfociti che incontrano il superantigene.
- Tossina esfoliativa \Rightarrow è una serina-proteasi che distrugge i desmosomi che tengono unite le cellule che formano l'epidermide \Rightarrow dermatite esfoliativa. È un superantigene (\Rightarrow attivazione aspecifica del sistema immunitario).
- Enterotossine (A-E) \Rightarrow ogni stafilococco ne produce qualcuna. Sono termostabili (\Rightarrow anche riscaldando il cibo, non si distrugge la tossina) e resistenti agli enzimi idrolitici dello stomaco e del duodeno. Agiscono da superantigeni. Provocano intossicazione alimentare.

Regolazione della virulenza

I batteri hanno sistemi *quorum sensing*, per sapere quanti sono nell'ambiente. Secernono a questo scopo una proteina detta "autoinduttore" ed esprimono sulla propria membrana l'apposito recettore. Se i batteri sono pochi, la [autoinduttore] è bassa e quindi esso difficilmente verrà legato; se, viceversa, è sono molti, la [autoinduttore] è alta e quindi esso si legherà facilmente: a seconda della quantità di autoinduttore legata, il batterio capisce quanti altri suoi simili ci sono nell'ambiente.

Il sistema *quorum sensing* ha svariati usi: *Streptococcus pneumoniae* lo usa per decidere se praticare la trasformazione batterica; gli stafilococchi lo usano per la virulenza.

Il risultato finale è la trascrizione di RNA:

- Quando la [autoinduttore] è bassa (fase iniziale dell'infezione) \Rightarrow pochi batteri \Rightarrow tentativo di nascondersi dal sistema immunitario \Rightarrow sintesi adesine e coagulasi.
- Quando la [autoinduttore] è alta (fase avanzata dell'infezione) \Rightarrow tanti batteri \Rightarrow diffusione dell'infezione \Rightarrow sintesi tossine ed enzimi per degradazione dei tessuti.

Epidemiologia

S. aureus è ubiquitario e resistente agli agenti atmosferici. È presente soprattutto sulla superficie di oggetti e nelle pieghe della pelle.

Circa il 15% degli adulti sono portatori persistenti di *S. aureus* nel nasofaringe. L'incidenza dei portatori è maggiore negli ospedali. Siccome questo batterio è presente sulla pelle e nel nasofaringe, la sua diffusione è facile, soprattutto in ambienti chiusi come ospedali e scuole.

Molti dei casi di intossicazione alimentare sono dovuti alla trasmissione da portatori asintomatici nel nasofaringe: ad es., tramite uno starnuto, i batteri vanno nel cibo \Rightarrow tossine termostabili \Rightarrow infezione cibo (anche se cotto).

La disinfezione dei portatori asintomatici è difficile: può accadere che dopo un periodo i batteri ricolonizzino l'ospite.

Cateteri, protesi, ecc. facilitano l'adesione e l'infezione degli stafilococchi.

Sindromi cliniche

S. aureus provoca patologie mediante due modalità:

1. Produzione di tossine
2. Invasione e distruzione dei tessuti

Malattie dovute alla produzione di tossine:

- Sindrome stafilococcica della cute scottata (SSSS) \Rightarrow dovuta alla tossina esfoliativa, che rompe i desmosomi dell'epidermide \Rightarrow desquamazione dell'epidermide. Colpisce soprattutto i neonati.
- Sindrome da shock tossico (TSS) \Rightarrow dovuta alla produzione della TSST-1. È spesso mortale. Era diffusa negli USA negli anni '80. In quel frangente era causata dall'intensa colonizzazione localizzata (nella vagina) da parte di *S. aureus*. Colpì soprattutto donne in età mestruale, a causa dell'intensivo uso di tamponi iperassorbenti, che favoriscono l'annidamento di batteri. Colpisce anche i bambini. Dà sintomi sistemici ed eruzione cutanea diffusa.
- Avvelenamento alimentare \Rightarrow dovuta alle 5 enterotossine. Riguarda carne lavorata, crema e gelato.

Malattie dovute all'invasione e alla distruzione dei tessuti:

- Infezioni cutanee
- Setticemia ed endocardite \Rightarrow l'endocardite è un'infezione del tessuto cardiaco. È provocata da tutti gli stafilococchi e dagli streptococchi viridanti. La genesi di questa patologia è incompresa. I sintomi sono poco evidenti. I batteri formano un biofilm \Rightarrow resistenza al trattamento farmacologico \Rightarrow la cura è difficile.
- Polmonite
- Ostiomielite

Trattamento

Solo il 10% dei ceppi di *S. aureus* è oggi sensibile alla penicillina (resistenza plasmidica \Rightarrow beta lattamasi). Oggi il 30-40% dei ceppi di *S. aureus* e quasi tutti gli stafilococchi coagulasi-negativi sono resistenti anche alla meticillina (MRS) (resistenza cromosomica \Rightarrow alterazioni delle PBP).

I ceppi MRS sono trattati con la vancomicina.

Streptococcus

Gli streptococchi sono cocchi gram +, anaerobi facoltativi, catalasi-negativi, che si dispongono in catenelle. Quando gli streptococchi crescono su agar sangue, lisano in modo caratteristico i globuli rossi:

- α emolitici \Rightarrow emolisi incompleta: l'alone intorno alla colonia è verdastro (a causa dell'emoglobina degradata dai globuli rossi lisati)
- β emolitici \Rightarrow emolisi completa: l'alone intorno alla colonia è trasparente
- γ emolitici \Rightarrow no emolisi: non c'è alone intorno alla colonia

Possono essere classificati in vari gruppi, a seconda del più diffuso antigene di superficie (carboidrato):

- gruppo A (*S. pyogenes*) \Rightarrow beta emolitici
- gruppo B (*S. agalactiae*) \Rightarrow beta emolitici
- gruppo D (enterococchi) \Rightarrow alfa emolitici, talvolta gamma emolitici
- streptococchi viridanti \Rightarrow alfa emolitici, talvolta gamma emolitici
- *S. pneumoniae* \Rightarrow alfa emolitici

Gruppo A (*S. pyogenes*)

È beta emolitico.

Ha un carboidrato gruppo-specifico, che costituisce il 10% del peso secco della cellula ed è composto da NacGlc-ramnosio.

Fattori di virulenza

- Capsula \Rightarrow composta esclusivamente da acido ialuronico uguale a quello dell'ospite \Rightarrow mascheramento (appare come self) \Rightarrow funzione antifagocitaria.
- Proteina M \Rightarrow proteina di superficie particolare di tipo fibrillare. Ha una struttura a coiled coil (2 α eliche arrotolate). È ancorata alla parete del batterio. È un superantigene che lega il fibrinogeno e il fattore H (inibitore dell'opsonizzazione) \Rightarrow così appare come self. Inibisce l'opsonizzazione. Contiene alcune ripetizioni: durante la replicazione, si un'alta frequenza di ricombinazione \Rightarrow molte varianti (100 sierotipi diversi).
- Proteine M-simili \Rightarrow sono circa 10 ed hanno struttura analoga alla proteina M (struttura a coiled coil, ripetizioni, ecc.). Alcune di esse legano l'Fc di IgA e IgG (come la proteina A di *S. aureus*) \Rightarrow le Ig vengono inattivate e il batterio viene ricoperto di Ig, apparendo perciò come self. Si legano inoltre alla α 2-microglobulina (inibitore delle proteasi) \Rightarrow protezione dalle proteasi rilasciate dai fagociti.
- Proteina F \Rightarrow adesina che si lega alla fibronectina (proteina della matrice extracellulare degli eucarioti) \Rightarrow adesione all'epitelio della faringe e della pelle.
- Ialuronidasi \Rightarrow idrolizza l'acido ialuronico \Rightarrow distrugge sia la propria capsula, che il connettivo di tessuti. È utilizzata quando il batterio vuole uscire allo scoperto per attaccare i tessuti.

S. pyogenes, grazie alla capsula di acido ialuronico, la proteina M legante il fibrinogeno e il fattore H, le proteine M-simili leganti l'Fc di IgA e IgG, è riconosciuto come self.

Tossine

- Esotossine pirogene \Rightarrow agiscono da superantigeni: causano shock e collasso, attivando aspecificamente il sistema immunitario. Sono codificate da un fago lisogeno. Ne esistono 3 sierotipi diversi.
- Streptolisine S ed O \Rightarrow lisano eritrociti, leucociti, piastrine \Rightarrow responsabili della beta emolisi di *S. pyogenes*.

Epidemiologia

S. pyogenes colonizza normalmente la cavità orofaringea di almeno il 15-20% dei bambini e dei giovani adulti. Questo batterio viene perciò trasmesso per via respiratoria.

Sindromi cliniche

Dati gli svariati fattori di virulenza di *S. pyogenes*, sono molte le patologie provocate da questo batterio.

Malattie suppurative:

- Faringite \Rightarrow la più comune patologia causata da questo batterio. È difficilmente distinguibile dalla forma virale. Si cura bene con antibiotici.
- Scarlattina \Rightarrow complicazione della faringite, dovuta all'esotossina pirogena (solo alcuni ceppi di *S. pyogenes* ce l'hanno).
- Piodermite \Rightarrow infezione purulenta della pelle
- Erisipela \Rightarrow infezione acuta della pelle
- Cellulite \Rightarrow infezione dei tessuti sottocutanei
- Fascite necrotizzante \Rightarrow infezione profonda dei tessuti sottocutanei ("batteri che mangiano la carne"), dovuta per esempio a penetrazione tramite ferita. Comporta un'estesa distruzione dei tessuti, dovuta all'azione dell'esotossina pirogena. È applicabile il trattamento chirurgico (oltre

a quello antibiotico, che, però, uccide i batteri, senza contrastare gli effetti dannosi della tossina) ⇒ amputazione dei tessuti infetti.

- Sindrome da shock tossico ⇒ simile all'analoga sindrome provocata da *S. aureus*, ma il rilascio di esotossina pirogena (superantigene) avviene nel sangue (non nel tessuto).
- Febbre puerperale ⇒ spesso mortale nell'Ottocento; ormai scomparsa. È una setticemia. Parte dall'infezione vaginale: invade le mucose (ad es., con ialuronidasi) e passa quindi nel circolo sanguigno.

Malattie non suppurative:

- Febbre reumatica ⇒ malattia cronica associata alla faringite: innanzitutto si contrae la faringite, che – se trascurata – porta in seguito a una reazione autoimmunitaria verso il tessuto cardiaco, le articolazioni e i vasi sanguigni. C'è la possibilità di danni cardiaci permanenti. Il meccanismo fisiopatologico di questa malattia è sconosciuto; forse *S. pyogenes* ha delle molecole (proteina M?) che mimano le proteine del tessuto endocardico.
- Glomerulonefrite acuta ⇒ complicazione della faringite. È un'inflammazione acuta dei glomeruli renali.

Trattamento

Il trattamento d'elezione è la penicillina.

Gruppo B (*S. agalactiae*)

È beta emolitico.

È simile a *S. pyogenes*.

Epidemiologia

Colonizza normalmente la vagina del 15-30% delle donne. Viene trasmesso a circa il 60% dei nuovi nati, provocando in essi gravi infezioni nell'1-2% dei casi.

Sindromi cliniche

- Infezione neonatale ad esordio precoce (< 7 giorni) ⇒ setticemia, polmonite, meningite.
- Infezione neonatale ad esordio tardivo (tra 7 giorni e 3 mesi) ⇒ meningite.

Queste due patologie sono gravi e comportano – se eventualmente guarite – complicanze neurologiche permanenti.

- Infezioni delle vie urinarie in donne gravide ⇒ sono facilmente curabili.

Per prevenire le infezioni neonatali, si esamina la futura madre prima del parto ed eventualmente la si sottopone a un trattamento prima e dopo il parto (penicillina). Questo procedimento è da applicarsi a tutte le madri che hanno già avuto figli infettati da *S. agalactiae*, anche se apparentemente il nuovo nato è sano (quest'ultimo, in seguito, può sviluppare un'infezione ad esordio tardivo).

Trattamento

Si può utilizzare la penicillina, ma questo batterio è molto più resistente ad essa, rispetto a *S. pyogenes*, per motivi strutturali, quindi si abbina sempre vancomicina.

S. pneumoniae (pneumococco)

È alfa emolitico.

I ceppi patogeni sono capsulati. È esigente dal punto di vista nutrizionale.

Provoca soprattutto polmoniti negli adulti e infezioni localizzate (soprattutto nei bambini).

A differenza di *S. pyogenes*, ha un solo fattore di patogenicità: la capsula. Le patologie causate da *S. pneumoniae* sono provocate dalla forte risposta infiammatoria dell'ospite all'infezione, piuttosto che da fattori tossici specifici (questo batterio non ha infatti tossine).

Ci sono 90 sierotipi capsulari ⇒ possibilità di reinfezione (dopo essere guariti la prima volta, si sviluppa immunità solo contro uno dei 90 tipi capsulari). Oggi è però disponibile un vaccino contro i 4 sierotipi più diffusi (90-95% dei ceppi).

Fattori di virulenza

- Capsula ⇒ ha natura polisaccaridica ed è legata alla parete. Ha funzione antifagocitaria. È l'unico vero fattore di virulenza.
- Adesina ⇒ fa aderire il batterio all'epitelio del nasofaringe.
- Sostanza C ⇒ composta da acido teicoico contenente colina. Viene legata dalla proteina sierica C reattiva ⇒ attivazione del complemento ⇒ infiammazione. Non è una tossina o un superantigene.
- sIgA proteasi ⇒ proteolizza le sIgA ⇒ colonizzazione delle mucose (le sIgA intrappolano i microbi nel muco, legandosi a ponte tra la mucina e il batterio).
- Pneumolisina ⇒ è l'unica tossina prodotta da *S. pneumoniae*. Non ha un ruolo importante nella patogenicità. Provoca la lisi nelle cellule epiteliali ciliate.
- Fosforilcolina ⇒ è presente nella membrana del batterio. Media l'internalizzazione in cellule endoteliali, leucociti e piastrine. *S. pneumoniae* forse poi sopravvive nei macrofagi (grazie alla capsula), ma ciò è poco importante nella patogenesi.

Epidemiologia

S. pneumoniae è un colonizzatore naturale della cavità nasofaringea, soprattutto negli anziani e nei bambini, che hanno un sistema immunitario meno efficiente nell'attaccare il polisaccaride della capsula. Se migra verso i polmoni (o verso l'orecchio medio, o verso i seni paranasali) ⇒ infezione (ruolo della pneumolisina) ⇒ infiammazione e danni tissutali (⇒ talvolta, in questo modo, penetra nella circolazione sanguigna e dà setticemia o meningite).

S. pneumoniae viene trasmesso per via aerea (come colonizzatore). Sono poi gli stessi *S. pneumoniae* endogeni a passare dalla cavità nasofaringea ai polmoni, causando l'effettiva infezione. Per questo motivo, non ci sono mai epidemie di polmonite da *S. pneumoniae*: l'infezione è dovuta a un precedente indebolimento del sistema immunitario che ha permesso al batterio di diffondere ai polmoni.

La colonizzazione e l'infezione sono più frequenti nelle stagioni fredde, perché il sistema immunitario può essere indebolito soprattutto in quei periodi.

Sindromi cliniche

- Polmonite ⇒ 5% di mortalità. Consiste in un'infezione dello spazio alveolare. Si riconoscono 4 zone caratteristiche; dall'esterno all'interno:
 1. Zona esterna di edema ⇒ qui la malattia è in fase acuta (il liquido edematoso contiene nutrimenti per i batteri)
 2. Zona di consolidamento iniziale ⇒ qui incomincia a riassorbirsi l'edema
 3. Zona di consolidamento avanzato ⇒ qui l'edema si è quasi del tutto riassorbito

4. Zona di risoluzione \Rightarrow qui l'infezione è scomparsa

L'infezione si espande per cerchi concentrici.

Quando l'infezione si risolve, il polmone ritorna come prima (a differenza del *Mycobacterium tuberculosis*, che lascia danni irreversibili).

- Sinusite e otite media \Rightarrow normalmente precedute da infezioni virali al tratto respiratorio superiore (come per la polmonite, è necessario un indebolimento del sistema immunitario, affinché *S. pneumoniae* si riproduca e la patologia si sviluppi).
- Setticemia \Rightarrow colpisce il 25-30% dei pazienti già affetti da polmonite.
- Meningite \Rightarrow complicazione delle suddette infezioni (soprattutto della sinusite e dell'otite). È la patologia più grave.

Diagnosi di laboratorio

Esame microscopico:

- Colorazione di gram sull'escreato \Rightarrow *S. pneumoniae* è un diplococco, quindi si dispone in catene di due batteri. È un metodo rapido.
- Reazione di *quellung* (rigonfiamento capsulare) \Rightarrow si trattano i batteri con un antisiero per *S. pneumoniae* \Rightarrow se si tratta effettivamente di questo batterio (e di quello specifico ceppo) (ce ne sono 90 diversi), la capsula si rigonfia. Questa reazione dà risultati inequivocabili ed è di veloce compimento.
- Ricerca di antigeni capsulari solubili (soprattutto nel liquor, durante la meningite) \Rightarrow metodo rapido.
- Esame colturale \Rightarrow richiede qualche giorno

Trattamento

S. pneumoniae presenta poche resistenze agli antibiotici, ma il paziente va trattato subito (soprattutto in caso di setticemia o di meningite).

La terapia in passato prevedeva la penicillina (oggi, a seconda della regione geografica, ci sono resistenze più o meno spiccate (soprattutto in Spagna)). Oggi si utilizzano cefalosporine, eritromicina (ultimamente sono state sviluppate resistenze ad essa), cloramfenicolo (ma è tossico).

Enterococcus

Gli enterococchi sono cocchi gram +, anaerobi facoltativi, disposti in catenelle.

Fino a poco tempo fa, venivano classificati come streptococchi di gruppo D, in quanto sono simili a streptococchi: cocchi gram +, catalasi negativi, ecc.

I più importanti per l'uomo sono *E. faecalis* ed *E. faecium*. Colonizzano l'intestino (\Rightarrow commensali).

Crescono in terreni molto salati (NaCl 6,5%); sono resistenti ai sali biliari (visto che colonizzano l'intestino); idrolizzano l'esculina (sono gli unici a farlo \Rightarrow utile per l'identificazione).

Esprimono molte adesine.

Infettano soprattutto le vie urinarie e il torrente circolatorio.

Sono patogeni ~ esclusivamente nosocomiali \Rightarrow infettano pazienti cateterizzati e ospedalizzati per lunghi periodi e trattati con antibiotici ad ampio spettro \Rightarrow si tratta (molto probabilmente) di soggetti immunodepressi a causa del lungo trattamento antibiotico, che ha indebolito la flora

batterica endogena, che normalmente competerebbe con altri potenziali patogeni. In questa situazione, gli enterococchi prevalgono, rompendo l'equilibrio.

Gli enterococchi sono infatti molto resistenti agli antibiotici, perché attuano frequenti scambi genici (\Rightarrow vengono in possesso di molti geni per la resistenza) e perché sono intrinsecamente robusti (\Rightarrow richiedono pochi nutrienti, sono poco permeabili, ecc.).

Si trattano con combinazioni di antibiotici. Sono resistenti alla vancomicina (perché è stata largamente impiegata contro di essi).

Per fortuna, pur essendo resistenti a molti antibiotici, hanno bassa patogenicità \Rightarrow il sistema immunitario, se aiutato, riesce a debellarli.

Lysteria monocytogenes

È l'unico batterio del genere *Lysteria* che ha una certa importanza per quanto riguarda le patologie causate nell'uomo.

È un bacillo gram +, asporigeno, anaerobio facoltativo. È un parassita intracellulare.

È ubiquitario, a differenza di altri bacilli. Non è un colonizzatore naturale dell'uomo.

Cresce a bassa temperatura (4°C) \Rightarrow caratteristica particolare.

Dà luogo a infezioni di origine alimentare (latte, formaggio, carne poco cotta, verdure crude) \Rightarrow vive bene nel frigo (\Rightarrow bassa temperatura), ambiente in cui si riproduce facilmente.

Patogenesi

Lysteria monocytogenes è ingerito col cibo contaminato. Invade i macrofagi e le cellule epiteliali. L'infezione consta di varie fasi:

1. Lì il fagosoma con listeriolisina O (unico fattore di virulenza del batterio; si attiva al pH acido del fagosoma) \Rightarrow il batterio diventa libero nel citoplasma.
2. Si muove grazie al sistema di filamenti di actina dell'ospite: per muoversi, lascia scie di actina \Rightarrow ad un'estremità ha proteine che catalizzano la polimerizzazione di actina.
3. Passa da una cellula all'altra creando protrusioni nel citoplasma della cellula appena invasa, che vengono inglobate da cellule vicine. In questo modo, il batterio non è esposto alle difese dell'ospite (visto che non entra in contatto con lo spazio extracellulare).

Solo *Lysteria* e *Shigella* si muovono grazie a filamenti di actina.

Epidemiologia

Dà infezioni ~ solo negli immunodepressi (es.: cancro, AIDS) e nei bambini/anziani.

L'infezione può essere asintomatica \Rightarrow pericolo per le madri.

Lysteria monocytogenes è molto invasiva \Rightarrow può passare attraverso i tessuti.

Sindromi cliniche

- Malattia neonatale ad esordio precoce \Rightarrow formazione di ascessi e granulomi in vari organi; trasmessa per via transplacentare.
- Malattia neonatale ad esordio tardivo \Rightarrow meningite; trasmessa di solito attraverso il latte materno.
- Meningite \Rightarrow rari casi
- Batteriemia \Rightarrow rari casi

Trattamento

Sono usate penicillina e ampicillina, da sole o congiuntamente a gentamicina.

Lysteria è resistente a trimethoprim e tetracicline.

Clostridium

Il genere *Clostridium* comprende bacilli gram +, anaerobi obbligati, sporigeni.

Sono ubiquitari nell'ambiente: sono presenti soprattutto nel suolo e nell'acqua; fanno anche parte della normale flora batterica intestinale animale ed umana.

Sono responsabili di patologie diverse: colite pseudomembranosa, botulismo, cancrena gassosa, tetano.

In condizioni avverse, possono dar luogo a spore, rimanendo così nell'ambiente per lunghi periodi. Escluso *C. difficile*, questi batteri penetrano e infettano l'organismo sotto forma di spore.

La patogenicità di *Clostridium* è dovuta esclusivamente alle spore (\Rightarrow resistenti a condizioni ambientali avverse) ed alle tossine. È tipico dei batteri sporigeni produrre tossine, per difendersi in un ambiente ostile.

I quattro batteri del genere *Clostridium* più importanti per la patologia umana sono:

1. *C. perfringens*
2. *C. tetani*
3. *C. botulinum*
4. *C. difficile*

Clostridium perfringens

Colonizza comunemente il tratto intestinale (perché è anaerobio) di alcuni animali e dell'uomo. Si tratta però di una colonizzazione blanda, in quanto sono presenti solo pochi batteri.

Le feci degli animali diffondono il batterio nel terreno, ambiente in cui le sue spore sono diffusissime.

Ci sono vari tipi di *C. perfringens*. Il tipo A è il più comune e potente.

Produce 12 tossine, delle quali 4 (α , β , ϵ , ι) sono letali.

Epidemiologia

Il batterio penetra attraverso ferite sporche di terra (sotto forma di spora).

Le spore germinano in ambiente anaerobio, quale è quello che si trova nelle ferite (tessuti necrotici)

\Rightarrow crescita del batterio e rilascio di tossine \Rightarrow danni tissutali.

Sindromi cliniche

C. perfringens provoca due tipi di patologie:

- Intossicazione alimentare \Rightarrow poco importante; è provocata dall'enterotossina.
- Infezione di ferite \Rightarrow distruzione di tessuti; in passato, durante le guerre, c'erano molti morti per cancrena gassosa:

- Cancrena gassosa ⇒ la più pericolosa delle tre; colpisce i tessuti muscolari; è detta così perché il metabolismo dei batteri produce gas. L'edema prodotto dalla putrefazione del distretto colpito può comprimere dei vasi ⇒ mancata perfusione dei distretti a valle.
- Cellulite
- Fascite necrotizzante

Trattamento

Il trattamento delle infezioni delle ferite è prevalentemente chirurgico, abbinato ad alte dosi di penicillina. Ciò si rende necessario in quanto gli antibiotici uccidono solo i batteri, ma non rimuovono le tossine, che sono l'agente eziologico delle patologie suddette. I risultati sono comunque scarsi, perché il batterio si dissemina molto velocemente, diffondendo l'infezione.

Clostridium tetani

Colonizza comunemente il tratto intestinale (perché è anaerobio) di alcuni animali e dell'uomo. Si tratta però di una colonizzazione blanda, in quanto sono presenti solo pochi batteri.

Le feci degli animali diffondono il batterio nel terreno, ambiente in cui le sue spore sono diffusissime.

Produce due tossine:

1. Tetanospasmina ⇒ è una neurotossina: inattiva le sinapsi inibitorie e deregola le sinapsi eccitatorie ⇒ paralisi spastica ⇒ morte per paralisi cardio-circolatoria.
2. Tetanolisina ⇒ funzione sconosciuta

Epidemiologia

Il batterio penetra attraverso ferite sporche di terra (sotto forma di spora), come *C. perfringens*. *C. perfringens* cresce abbondantemente nel luogo di infezione e produce tossine ad azione locale che lisano le cellule e distruggono i tessuti; *C. tetani* cresce minimamente nel luogo di infezione, ma produce una tossina molto potente ad azione generalizzata che interferisce pesantemente col sistema nervoso periferico.

Sindromi cliniche

C. tetani è l'agente eziologico delle varie forme di tetano.

Trattamento

Il trattamento (con metronidazolo ⇒ attivo contro gli anaerobi) è necessario per non far proliferare il batterio, ma comunque bisogna inattivare la tossina, che è l'agente eziologico del tetano. Il miglior metodo di cura è la profilassi (vaccino).

Clostridium botulinum

Le spore di questo batterio sono ubiquitarie (suolo + intestino) ⇒ come prima.

La fonte di infezione sono le spore, che possono germinare in cibi inscatolati male (⇒ anaerobiosi) (es.: conserve fatte in casa) o in pesce surgelato. Le spore sono termoresistenti ⇒ anche se si cuoce il cibo, non sono distrutte.

C. botulinum produce la tossina botulinica, la più potente tossina conosciuta: ne basta pochissima per uccidere una persona. È simile alla tossina tetanica (zincoproteasi), ma ha un differente bersaglio: le sinapsi colinergiche (impedisce il rilascio di acetilcolina) ⇒ paralisi flaccida. La tossina botulinica è relativamente termosensibile: se si scalda il cibo, una parte di molecole si inattivano, ma non è un metodo sicuro per distruggerla del tutto.

Sindromi cliniche

Le sindromi cliniche associate a *C. botulinum* sono provocate dalla tossina botulinica.

- Botulismo alimentare ⇒ il batterio di per sé non è in grado di infettare l'uomo: l'infezione è possibile solo tramite il rilascio della tossina in ambiente ad esso favorevole (cibi inscatolati).
- Botulismo infantile ⇒ i neonati hanno un sistema immunitario debole; quindi *C. botulinum* può germinare (eccezione a quanto detto per il botulismo alimentare). La penetrazione avviene tramite terra e, soprattutto, ingestione di miele.
- Botulismo delle ferite ⇒ raro; entra nella ferita tramite terra infetta.

Trattamento

Si somministra metronidazolo o penicillina, congiuntamente ad un supporto ventilatorio. I bambini piccoli non dovrebbero assumere miele.

Clostridium difficile

A differenza dei tre batteri precedenti, *C. difficile* è un membro stabile della flora microbica intestinale del 3% degli adulti.

La percentuale di colonizzazione sale tra i pazienti ospedalizzati, perché le spore di questo batterio possono sopravvivere più facilmente in ospedale.

La trasmissione avviene per via oro-fecale.

C. difficile produce due tossine:

1. Tossina A (enterotossina)
2. Tossina B (citotossina)

Queste due tossine sono tra le tossine più grandi conosciute. Non se ne conosce il meccanismo d'azione. Uccidono le cellule epiteliali dell'intestino (enterociti).

C. difficile diventa patogeno solo in seguito a terapia antibiotica che indebolisce la flora batterica intestinale ⇒ ciò avviene soprattutto negli ospedali.

Sindromi cliniche

- Diarrea
- Colite pseudomembranosa ⇒ più grave; comporta la produzione di pseudomembrane ⇒ infiammazione del colon ⇒ eventualmente morte

L'indebolimento della flora microbica intestinale (a causa di un trattamento con antibiotici) permette la sovracrescita di *C. difficile* ⇒ alterazione dell'equilibrio (mancano i suoi competitori). *C. difficile* si riproduce e prevale, perché è resistente a molti antibiotici (resistenza strutturale + scarsa riproduzione).

Probabilmente, le tossine – in condizioni normali – sono prodotte comunque da questo batterio; tuttavia, normalmente i batteri sono pochi e non si hanno effetti. In caso di diarrea, l'indebolimento

della flora è medio \Rightarrow media riproduzione di *C. difficile* \Rightarrow media produzione di tossina; in caso di colite pseudomembranosa, questi fenomeni sono amplificati.

Diagnosi di laboratorio

Si isolano le feci e si contano i batteri \Rightarrow se l'individuo è sano, i batteri sono pochissimi; in caso di patologia essi sono numerosi.

La ricerca delle tossine avviene secondo due modalità:

- Saggio di citotossicità \Rightarrow citotossina
- Saggio immunoenzimatico \Rightarrow enterotossina

Logicamente, questi esami danno risultati solo se c'è infezione.

Trattamento

Diarrea \Rightarrow passa da sola (è una patologia poco grave).

Colite pseudomembranosa \Rightarrow metronidazolo o vancomicina.

Actinomiceti

Sono bacilli gram +, aerobi facoltativi, catalasi-positivi (come tutti gli aerobi). Sono però classificati più correttamente come batteri "acido-alcol resistenti", in virtù delle proprietà della loro parete, molto diversa da quella dei gram + normali.

Sono presenti nel suolo, nella vegetazione in decadimento, in sistemi di ventilazione. Alcuni batteri possono colonizzare uomo e animali.

Alcuni batteri possono formare ife simili a quelle fungine (*Streptomyces*).

Si dividono in due classi:

1. Producenti acidi micolici
2. Non produttori acidi micolici \Rightarrow il più importante tra questi è *Streptomyces* (produttore di antibiotici).

Si dividono in tre famiglie, che si distinguono per la dimensione degli acidi micolici; in ordine crescente di lunghezza:

1. **Corynebacteriaceae**
2. **Nocardiaceae**
3. **Mycobacteriaceae**

Mycobacteriaceae

Questa famiglia è costituita da un solo genere: *Mycobacterium*.

Mycobacterium si riproduce lentamente. Si divide in due gruppi di batteri:

1. A replicazione veloce \Rightarrow *M. smegmatis* (il micobatterio non patogeno più comune) impiega 2,5 h per replicarsi e 3 giorni per formare una colonia visibile.
2. A replicazione lenta \Rightarrow *M. tuberculosis* \Rightarrow 18-20 h, 3 settimane; *M. leprae* \Rightarrow 14 giorni, non cresce in vitro (si fa crescere inoculandolo in un armadillo, che è l'unico animale che lo alberga con una certa frequenza).

N.B. = Altri batteri (es.: *E. coli*) impiegano 30-45 min per replicarsi e 8-9 h per formare colonie.

I micobatteri a replicazione lenta danno problemi in diagnostica (esame colturale), in quanto bisogna aspettare tanto per avere i risultati degli esami.

N.B. = quando ci si riferisce a *Mycobacterium tuberculosis*, ci si riferisce in realtà a un complesso ("complex") di batteri: *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. ulcerans*.

M. tuberculosis infetta molto più facilmente l'uomo che i bovini. Per *M. bovis* è il contrario. Le patologie causate dai due batteri sono molto simili (il secondo è utilizzato per fare il vaccino contro il primo). Essi hanno un genoma molto simile.

I micobatteri hanno un genoma molto stabile. Le differenze nella sequenza primaria sono dovute a ricombinazione (es.: duplicazione, delezione, presenza di fagi). Per il resto, i genomi dei membri di questo genere sono molto simili. Esistono due motivi per questa situazione:

- *Mycobacterium* è un genere recente.
- *Mycobacterium* si riproduce lentamente \Rightarrow poche ricombinazioni.

Qualche anno fa c'è stata un'epidemia di micobatteri non tubercolari tra i malati di AIDS: soprattutto *M. avium* e *M. intracellulare*. Questi batteri per gli immunocompetenti sono quasi assolutamente innocui, ma per gli immunodepressi sono pericolosi. Oggi i malati di AIDS sono curati meglio e sono perciò meno immunodepressi \Rightarrow sono meno esposti all'infezione da parte di questi batteri.

Parete dei micobatteri

Dall'interno all'esterno:

- Membrana plasmatica
- Parete di peptidoglicano
- Arabinogalattano \Rightarrow polimero di arabinosio e galattosio, legato covalentemente al peptidoglicano. È immunogeno.
- Acidi micolici \Rightarrow molto lunghi (C₆₀-C₈₀) e ramificati. Sono legati all'estremità distale dell'arabinogalattano. Non sono immunogeni. Ce ne sono molti tipi diversi. Sono idrofobici \Rightarrow i micobatteri sono molto idrofobici (a differenza degli altri batteri) \Rightarrow in coltura (in acqua) si aggregano in ammassi di 10-100 batteri.
- Lipoarabinomannano (LAM) \Rightarrow miscela di lipopolisaccaridi fosforilati, ancorati (tramite forti legami idrofobici) alla membrana plasmatica; si estendono per tutto lo spessore della parete, fino alla superficie esterna.
- Cere \Rightarrow glicolipidi. Sono posti all'esterno di tutto. Sono legati con interazioni deboli agli acidi micolici.
- Capsula \Rightarrow legata labilmente (al contrario di quella di *S. pneumoniae*, che è legata covalentemente) \Rightarrow può staccarsi facilmente nella manipolazione del batterio. Non se ne sa la funzione nella patogenesi.

La zona tra la membrana citoplasmatica da un lato, e gli acidi micolici e le cere dall'altro (cioè lo strato intorno all'arabinogalattano e al peptidoglicano), potrebbe essere funzionalmente equivalente allo spazio periplasmatico dei batteri gram -.

La permeabilità della parete dei micobatteri è molto bassa \Rightarrow barriera per gli antimicrobici. L'acqua e le altre sostanze necessarie al metabolismo del batterio vengono introdotte tramite pompe, perché altrimenti non passerebbero.

Diagnosi di laboratorio

Per identificare i micobatteri, si utilizza la colorazione acid-fast (di Ziehl-Neelsen), una colorazione differenziale specifica per questi batteri. Essa si basa sugli stessi principi della colorazione di Gram, solo che si usano coloranti e decoloranti più aggressivi. Alcuni micobatteri non si colorano con questa tecnica, ma sono casi rari. Essa consta delle seguenti fasi:

1. I batteri (sia micobatteri, che altri batteri) vengono trattati a caldo con una soluzione fenolica contenente il colorante. Il fenolo denatura, distrugge la parete, per far penetrare nel batterio il colorante.
2. In questo modo, tutti i batteri sono colorati. Tuttavia, quando sono trattati con decolorante (etanolo + HCl), solo i micobatteri (batteri acido-alcol resistenti) trattengono il colorante.
3. Il campione è poi colorato con un colorante di contrasto, per evidenziare eventuali altri batteri non acid-fast.

Mycobacterium tuberculosis**Cenni storici sulla tubercolosi**

La tubercolosi è una malattia molto antica (\Rightarrow resti scheletrici con tubercolosi ossea risalenti all'età della pietra; mummie egiziane).

Nel 227 A.C. Ippocrate descrive la tubercolosi come una malattia ereditaria non contagiosa, influenzata dall'ambiente malsano (in effetti, le epidemie sono molto lente a diffondersi).

Nel 1802 Laennec inventa lo stetoscopio e lo usa per la diagnosi della tubercolosi.

Nel 1860 c'è un picco di tubercolosi in Europa (a causa del forte aumento demografico e della malsanità delle case e dei luoghi di lavoro). Ogni anno 1 persona su 200 muore di tubercolosi.

In seguito, la tubercolosi incomincia a declinare, per il miglioramento delle condizioni di vita e della nutrizione. La tubercolosi si sviluppa solo in persone geneticamente predisposte, immunodepresse, malnutrite o viventi in condizioni malsane.

Nel 1882 Robert Koch scopre il *M. tuberculosis*, attraverso osservazione al microscopio (colorazione acid fast). È il primo batterio che viene riconosciuto come agente eziologico di una malattia. Koch dimostra che questo batterio è resistente all'essiccamento e può essere trasmesso attraverso l'aria. Nelle sue osservazioni di *M. tuberculosis*, Koch stende i famosi postulati di Koch, secondo i quali, per provare che la tubercolosi è causata dall'invasione e dalla crescita dei microrganismi, bisogna:

1. Isolare i microrganismi dal corpo
2. Crescerli in coltura pura
3. Riprodurre la stessa malattia inoculandoli in animali da esperimento

Questi postulati si sono dimostrati validi per lo studio di molti batteri, ma non di tutti: ad es., *M. leprae* non cresce in coltura. Questi postulati hanno ormai un valore esclusivamente teorico/storico.

PPD

Koch scoprì la reazione di ipersensibilità ritardata \Rightarrow causata dal PPD (*Purified Protein Derivative*, tubercolina), ciò che rimane sul terreno di coltura, dopo che una colonia di *M. tuberculosis* è stata fatta crescere e poi asportata (proteine, acidi micolici, carboidrati, batteri morti, ecc. \Rightarrow molti antigeni batterici). Koch cercò di usare il PPD come vaccino, non raccogliendo però risultati.

Il PPD è però oggi utilizzato come metodo diagnostico: lo si inietta sottocute e si aspettano 2-3 giorni per vedere se c'è reazione di ipersensibilità. Nel sottocutaneo, il PPD è processato dalle APC locali (macrofagi). Esse presentano poi l'antigene su MHC-II. I linfociti T helper – qualora abbiano già sviluppato in precedenza una risposta immunitaria contro *M. tuberculosis* – si attivano,

rilasciando citochine. Ciò provoca il richiamo di altri macrofagi e, conseguentemente, una infiammazione, che diventa visibile dopo 24-72 ore, negli individui che.

M. tuberculosis non produce tossine: la sua patogenicità è dovuta alla capacità di scatenare una potente risposta infiammatoria.

Tuttavia, il PPD non è completamente specifico: l'esame dà risultato positivo anche se il soggetto è stato vaccinato con BCG (vaccino peraltro non molto efficace), oppure se il soggetto ha avuto in precedenza una risposta immunitaria contro alcune altre specie di micobatteri (\Rightarrow cross-reattività; rari casi in Europa, più frequenti in altri continenti, come ad es. l'Asia). Inoltre, individui PPD-positivi immunodepressi risultano talvolta PPD-negativi, in quanto anergici (non riescono a sviluppare una risposta immunitaria).

BCG (*Bacillo di Calmette-Guérin*)

È un vaccino vivo attenuato (mediante vari cicli di crescita su terreno sintetico \Rightarrow perde fattori di virulenza per deriva genetica: non gli servono più per vivere e quindi li perde \Rightarrow 8-9 grandi delezioni), basato su *M. bovis* (appartenente al *Mycobacterium* complex). Dà un'infezione asintomatica nei soggetti sani.

È il vaccino più usato al mondo.

Un tempo veniva somministrato oralmente; oggi per via intradermica.

Negli immunodepressi (es.: malati di AIDS) scatena la malattia.

Anche se è stato scoperto nell'800, ci sono dati controversi sul livello di protezione \Rightarrow varia da popolazione a popolazione (inoltre, l'epidemiologia della tubercolosi è molto lenta \Rightarrow difficoltà a condurre studi lunghi molti anni). Sembra che questo vaccino protegga soprattutto i bambini da tubercolosi sistemica (tubercolosi miliare e meningite).

Gli individui vaccinati divengono PPD-positivi \Rightarrow interferenza con test per verificare ipersensibilità.

Fattori che possono influenzare il livello di protezione:

- Differenze tra i vari ceppi vaccinali \Rightarrow ogni laboratorio ottiene un suo ceppo: in ogni continente si vaccina con un ceppo diverso (alcuni sono vaccini più efficienti, altri meno).
- Differenze genetiche nelle popolazioni \Rightarrow non si sa esattamente quale gene predisponga alla tubercolosi; dev'essere un gene dei macrofagi.
- Differenze nella virulenza dei vari ceppi di *M. tuberculosis* \Rightarrow varia da continente a continente: il vaccino funziona bene in un continente, meno bene in un altro.
- Interferenza con infezione da altri micobatteri \Rightarrow soprattutto in Asia, a causa di malsanità dovuta alle condizioni socio-economiche. Questi micobatteri danno un livello di protezione ~ uguale a quello ottenuto con BCG.
- Condizioni socio-economiche della popolazione \Rightarrow nutrizione, condizioni di vita, ecc.

Importanza della tubercolosi (dati del 1997):

- 7,96 milioni di nuovi casi
- 16,2 milioni di casi totali
- 1,87 milioni di morti
- 1,86 miliardi di persone positive (\Rightarrow 32% della popolazione mondiale)

Qualche decennio fa si pensava che per il 2000 si sarebbe debellata la tubercolosi dal pianeta. Negli anni '80, tuttavia, c'è stato un nuovo aumento dei casi, perché si era abbassata la guardia e perché non si aiutava abbastanza il Terzo Mondo, fornendo medicinali e prodotti per la profilassi. Inoltre, i malati di AIDS, il cui numero è andato sempre più crescendo, sono immunodepressi e, quindi, più esposti a sviluppare tubercolosi. A New York, negli anni '80, c'è stata un'epidemia di tubercolosi tra gli HIV-positivi e i barboni (negli ospizi). Oggi c'è un'epidemia in Russia (nelle carceri). Nel 2002 la tubercolosi non è stata debellata, ma il numero di casi sta diminuendo, perché si sono prese contromisure più efficaci (in Africa e in Asia, tuttavia, la diffusione della malattia è ancora alta).

Diffusione e progressione della tubercolosi

M. tuberculosis viene immesso nell'ambiente tramite l'aerosol prodotto con la tosse da individui affetti. È molto resistente all'essiccamento. Diventa parte delle particelle di polvere, come risultato dell'essiccamento dell'aerosol.

L'acquisizione del batterio avviene tramite la respirazione di aerosol infetto o di particelle di polvere da esso derivate. L'uomo è l'unico serbatoio della tubercolosi.

Le particelle di *M. tuberculosis* infettanti sono piccole, in quanto quelle grandi sono bloccate dall'epitelio ciliato dell'albero respiratorio.

L'infezione può rimanere asintomatica e quiescente per anni, per svilupparsi attivamente quando le difese del sistema immunitario si abbassano.

L'infezione consiste nell'arrivo di *M. tuberculosis* negli alveoli polmonari e nella successiva entrata nei macrofagi (⇒ è un parassita intracellulare). Il batterio blocca la maturazione del fagosoma: impedisce l'acidificazione e la fusione del fagosoma col lisosoma ⇒ il micobatterio può quindi stare in un ambiente ideale, replicandosi. È da notare che *M. tuberculosis* cresce meglio nei macrofagi che nel terreno di coltura.

Ci sono due forme di tubercolosi:

- primaria ⇒ poco infettiva
- secondaria ⇒ molto infettiva

Fasi dell'infezione da parte di *M. tuberculosis*:

1. Infezione tramite aerosol
2. Arrivo negli alveoli
3. Penetrazione nei macrofagi
4. Moltiplicazione del batterio nei macrofagi non attivati

A questo punto sono possibili due evoluzioni successive:

- | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I. Mancanza di sviluppo di ipersensibilità ritardata (i macrofagi non si attivano) (tubercolina-negatività) | I. Sviluppo di ipersensibilità ritardata e di una risposta immunitaria cellulo-mediata (i macrofagi si attivano) (tubercolina-positività) |
| II. Malattia sistemica progressiva ⇒ tubercolosi miliare ⇒ infetta i bambini, dando effetti visibili su tutto il corpo (granulomi) | II. La malattia è contenuta: i batteri sopravvivono, ma non riescono a replicarsi. |
| III. Morte | III. Si formano <u>granulomi</u> (corpi sferici in cui i batteri sono isolati; alla fine calcificano), presenti per anni senza dare sintomi (tubercolosi latente). |

3 esiti possibili:

- (a) No malattia (91%)
 - (b) Tubercolosi secondaria (6%)
 - (c) Malattia simile alla tubercolosi primaria (malattia sistemica progressiva) (3%)
- Sono soprattutto gli anziani e gli immunodepressi (es.: AIDS) a essere vittima degli ultimi due esiti.

I tubercolina-positivi possono – in un qualsiasi stadio della propria vita – essere infettati dai *M. tuberculosis* che albergano.

Tubercolosi primaria

I batteri arrivano agli alveoli polmonari e lì vengono fagocitati dai macrofagi.

Non sempre i macrofagi riescono a eliminare *Mycobacterium tuberculosis*. Se alcuni dei batteri sopravvivono, iniziano a replicarsi all'interno del macrofago, fino a che questo non muore, rilasciando la progenie batterica all'esterno.

I batteri vengono così fagocitati un'altra volta da altri macrofagi alveolari e da altri macrofagi non attivati (derivati da monociti circolanti), che – nel frattempo – sono arrivati nel luogo dell'infezione.

M. tuberculosis si riproduce all'interno di macrofagi non attivati ⇒ inizio della formazione del granuloma. Nel frattempo, alcuni macrofagi attivati, contenenti batteri, migrano nei linfonodi ⇒ inizio della risposta immunitaria e contemporanea diffusione dei batteri (e quindi della malattia) ad altri distretti dell'organismo.

Dopo ~ 3 settimane dall'inizio dell'infezione, incominciano a svilupparsi l'ipersensibilità ritardata e la risposta immunitaria cellulo-mediata ⇒ uccisione dei macrofagi infettati (caseificazione del granuloma) e presenza di macrofagi attivati e linfociti intorno alla zona caseificata (costituita dai prodotti di degradazione dei macrofagi lisati).

N.B. = *Mycobacterium tuberculosis* non è capace di replicarsi all'interno di macrofagi attivati.

Non è inoltre capace di replicarsi nel tessuto caseificato, ma riesce a sopravviverci.

L'infezione può quindi prendere due strade:

- (a) Risposta cellulo-mediata insufficiente (non ci sono abbastanza macrofagi attivati) ⇒ il granuloma continua ad espandersi. Si sviluppa una *tubercolosi extra-polmonare* o una forma sistemica della malattia (*tubercolosi miliare* ⇒ granulomi disseminati in tutto il corpo).
- (b) Risposta cellulo-mediata sufficiente (ci sono abbastanza macrofagi attivati) ⇒ i batteri sono contenuti all'interno della zona caseificata; la lesione regredisce e calcifica. Si ha una *tubercolosi latente*.

Si può essere affetti dalla tubercolosi latente per anni senza accorgersene (infezione asintomatica). Se e quando le difese del sistema immunitario si abbassano, i batteri si riattivano e si sviluppa la tubercolosi secondaria.

Tubercolosi secondaria

La tubercolosi secondaria è causata dalla riattivazione di una tubercolosi latente, a causa di immunodepressione (es.: età, trattamento con corticosteroidi, AIDS, chemioterapia).

Le lesioni divengono attive di nuovo e necrotizzano, fino a coalescere.

Col tempo, l'interno del granuloma può liquefarsi ⇒ reinizio della crescita batterica.

Si formano delle cavità, a causa dello svuotamento dei granulomi.

I granulomi possono arrivare a un alveolo sano, riversandovi il contenuto ⇒ sangue negli alveoli ⇒ si tossisce sangue.

Il tossire materiale liquefatto dei granulomi provoca la diffusione della malattia nell'aerosol (⇒ fase infettiva).

Diagnosi di laboratorio

- Test della tubercolina (PPD) ⇒ si inocula il sopranatante di una coltura di *Mycobacterium tuberculosis*, per vedere se si sviluppa reazione di ipersensibilità ritardata (cioè se il paziente ha già incontrato questo batterio). Tuttavia, individui vaccinati o che hanno già incontrato un micobatterio simile sono PPD-positivi (⇒ cross-reattività). Inoltre, non sa se i PPD positivi sono già guariti oppure se sono affetti in forma latente.
- Microscopia ⇒ ritrovamento di batteri acid-fast in campioni clinici ⇒ tecnica rapida, ma non permettere di distinguere i batteri patogeni dai batteri non patogeni.
- Esame colturale ⇒ metodo sicuro, ma più lento (perché i micobatteri si riproducono lentamente); di difficile applicazione nei pazienti con tubercolosi extra-polmonare.
- Metodiche molecolari
- Diagnosi radiologica ⇒ solo per le forme avanzate (⇒ bisogna poter vedere i granulomi).

In un primo tempo si compie un test di microscopia; poi – se questo dà esito positivo – si fa l'esame colturale ed eventualmente anche l'analisi molecolare.

Trattamento

M. tuberculosis dev'essere trattato per lunghi periodi (6-9 mesi) con antibiotici, perché i batteri per qualche tempo non si replicano e, quindi, non sono trattabili.

Il non completamento della terapia può causare l'insorgenza di ceppi resistenti (⇒ bisogna seguire i pazienti).

Questo batterio è resistente a molti antibiotici.

Nel 1990, a New York, ci fu un'epidemia di tubercolosi dovuta a *M. tuberculosis* resistenti a molti antibiotici (soprattutto isoniazide e rifampicina).

Per debellare i ceppi resistenti e per evitare l'insorgenza di resistenze, si esegue una terapia multipla e si richiede che il paziente sia seguito mentre è sotto trattamento.

Vaccinazione ⇒ si compie a tutti gli individui solo nei Paesi in cui la tubercolosi è endemica. In Europa si tende a non farla a nessuno.

Di solito la terapia antibiotica è efficace. Raramente il ceppo è resistente e si rende quindi necessaria l'asportazione chirurgica.

Farmaci antitubercolari:

- Rifampicina ⇒ si lega all'RNA polimerasi; ha azione battericida
- Isoniazide ⇒ attiva contro la sintesi degli acidi micolici
- Streptomina ⇒ è un aminoglicoside; veniva usata in passato; oggi ci sono delle resistenze
- Acido para-amino-salicilico (PAS)
- Etambutolo ⇒ attivo contro la sintesi degli arabinogalattani; farmaco di seconda linea

- Pirazinamide ⇒ attivo contro la sintesi degli acidi micolici; farmaco di seconda linea

L'isoniazide è un'idrazide dell'acido isonicotinico. Viene attivata all'interno della cellula. Probabilmente ha più bersagli. I ceppi resistenti hanno perso un gene codificante per la catalasi.

Meccanismi di resistenza ⇒ mancata attivazione del farmaco (dovuta alla perdita del gene della catalasi), mutazione del bersaglio (ma ciò si verifica più che altro su ceppi creati in laboratorio, piuttosto che in vivo).

Uso in terapia ⇒ insieme alla rifampicina, è il farmaco di prima linea nel trattamento della tubercolosi.

DOT (*Direct Observation Therapy*)

1. Primi due mesi ⇒ rifampicina, isoniazide, pirazinamide; anche etambutolo e streptomina, se il paziente viene da una comunità in cui sono presenti ceppi MDR (Multi-Drug Resistance).
2. Successivi quattro mesi ⇒ rifampicina e isoniazide (se i batteri non sono resistenti).

Negli immunodepressi (es.: AIDS), il trattamento è più lungo (9 mesi).

Enterobacteriaceae

Ne esistono 30 generi diversi, per un totale di più di 120 specie.

Sono bacilli gram -, asporigeni, anaerobi facoltativi (in quanto devono poter sopravvivere nell'intestino), catalasi-positivi, ossidasi-negativi. Alcuni sono mobili, altri no.

Sono semplici da crescere (hanno richieste nutrizionali molto semplici).

Danno infezioni di ~ tutti i distretti corporei.

Salmonella e *Shigella* spp. sono resistenti ai sali biliari.

Sono microrganismi ubiquitari (es.: acque stagnanti, piante, terreno, ecc.).

Sono responsabili di:

- 30-35% dei casi di setticemia (soprattutto infezioni ospedaliere)
- 70% delle infezioni delle vie urinarie (di solito si tratta di infezioni ascendenti che partono dall'uretra) ⇒ comuni in pazienti cateterizzati
- Infezioni intestinali

Le setticemie e le infezioni delle vie urinarie sono infezioni endogene: derivano da batteri della flora intestinale che diffondono in altri distretti.

Le infezioni intestinali di solito sono infezioni esogene (es.: *Salmonella* spp.), perché le *Enterobacteriaceae* normali della flora endogena non fanno danni in questo distretto.

Patogeni obbligati ⇒ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia pestis*.

Patogeni opportunisti ⇒ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella* spp., ecc.

Cinque ceppi di *E. coli* non fanno parte della normale flora batterica intestinale ⇒ danno infezioni dell'intestino.

Classificazione sierologica:

- Antigene somatico O
- Antigene flagellare H ⇒ solo ceppi mobili
- Antigene capsulare K ⇒ tutte le *Enterobacteriaceae* hanno la capsula

Per distinguere i vari ceppi, si usano le tre lettere seguite ciascuna da un numero, che identifica il tipo di struttura.

Fattori di virulenza

- Endotossina (lipide A dell'LPS) ⇒ attivazione del complemento, rilascio di citochine, coagulazione intravasale disseminata, febbre, shock, morte.
- Capsula ⇒ essendo idrofilica, respinge la superficie cellulare idrofobica del fagocita.
- Variazione di fase ⇒ variando gli antigeni K e H, il batterio non è più riconosciuto dagli anticorpi dell'ospite.
- Sequestro di fattori di crescita ⇒ i fattori di crescita sono necessari, insieme ai nutrienti, per la crescita dei batteri nell'ospite.
- Sieroresistenza ⇒ resistenza al "killing" sierico; è mediata dalla capsula e da altri fattori poco definiti.
- Resistenza agli antibiotici ⇒ con l'introduzione di nuovi antibiotici, i batteri possono rapidamente sviluppare resistenza (⇒ trasmissione tramite plasmidi).

Escherichia coli

Fa parte della flora batterica normale.

Alcuni ceppi (5) sono patogeni obbligati.

Causa varie patologie:

- Setticemia
- Infezione delle vie urinarie ⇒ tramite adesione all'epitelio
- Meningite neonatale
- Gastroenterite

La setticemia e l'infezione delle vie urinarie sono causate da ceppi patogeni opportunisti.

La meningite neonatale e la gastroenterite sono causate da ceppi patogeni obbligati.

I vari ceppi di *E. coli* hanno vari fattori di patogenicità ⇒ sistemi che impediscono la lisi indotta dal complemento, adesine (per l'adesione all'epitelio urinario), ecc.

5 ceppi patogeni obbligati (provocano gastroenteriti):

- Entero-tossigenici (ETEC)
- Entero-invasivi (EIEC)
- Entero-patogeni (EPEC)
- Entero-emorragici (EHEC)
- Entero-aggreganti (EAggEC)

E. coli entero-tossigenico (ETEC) provoca una gastroenterite causata da due tossine acquisite, insieme a due adesine, tramite un plasmide:

1. Tossina ST ⇒ termostabile
2. Tossina LT ⇒ termolabile

La tossina LT è praticamente identica alla tossina colerica. Mentre *E. coli* ETEC dà la "diarrea del viaggiatore", *Vibrio cholerae* dà il colera ⇒ la tossina è ~ la stessa, ma ETEC è molto più facilmente eliminato dal sistema immunitario, rispetto a *Vibrio cholerae*.

E. coli entero-patogeno (EPEC) è una delle più comuni cause di diarrea nei bambini nei Paesi del Terzo Mondo (nel quale essa è una frequente causa di morte).

Viene assunto per via orale.

Il suo rapporto con l'ospite si articola in tre fasi:

1. Adesione iniziale \Rightarrow labile
2. Trasduzione del segnale \Rightarrow la cellula batterica trasduce il segnale (\Rightarrow iniezione di proteine) in una cellula eucariotica
3. Adesione forte \Rightarrow ~ irreversibile

A questo punto inizia la diarrea.

L'aderenza iniziale è mediata da *pili di tipo IV*, codificati da un plasmide.

La trasduzione del segnale è mediata da un sistema di secrezione di tipo III, i cui geni sono localizzati su un'*isola di patogenicità*. Le isole di patogenicità sono presenti soprattutto nei gram - e sono frammenti particolari di genoma (lunghe alcune kB) che portano 20-30 geni per la patogenicità; hanno ripetizioni invertite alle estremità (\Rightarrow sono dei trasposoni); spesso il loro DNA ha un contenuto in G-C diverso da quello del batterio in cui sono inserite (ogni batterio ha una sua caratteristica % di G-C: ad es., *M. tuberculosis* = 70%, *S. pneumoniae* = 30%, *E. coli* = 50%) \Rightarrow probabilmente questi frammenti provengono da un altro batterio; l'acquisizione è avvenuta da poco (col tempo, la % di G-C si uniforma a quella del resto del genoma).

La trasduzione del segnale comporta la perdita dei microvilli e l'inizio della riorganizzazione dell'actina.

Il sistema di secrezione di tipo III deriva filogenicamente dai pili (\Rightarrow stesso sistema di assemblaggio) (il tipo IV deriva dai flagelli).

Meccanismo dell'adesione forte \Rightarrow c'è una proteina (*tir*) che va a inserirsi nella membrana eucariotica. Essa funge da recettore ad alta affinità per un'adesina batterica (*intimina*) \Rightarrow stretto legame tir-intimina. Questo è l'unico caso in cui un batterio secerne il proprio recettore. Le altre proteine secrete dal batterio fanno sì che l'actina eucariotica polimerizzi \Rightarrow si costituisce un "piedistallo" (ciò avviene anche in *Helicobacter pylori*) \Rightarrow funzione sconosciuta, ma importante (se il batterio ne viene privato, perde la patogenicità).

E. coli entero-emorragico (EHEC) (O157:H7) \Rightarrow tra i ceppi patogeni obbligati di *E. coli*, è quello più importante nelle nazioni ricche. Viene assunto col cibo contaminato (carne). Il suo meccanismo di adesione è simile a quello di EPEC.

Secerne due tossine simili alla tossina di Shiga (\Rightarrow *Shigella*), codificate da batteriofagi lisogeni. Si tratta di una tossina A-B (\Rightarrow formata da due componenti: A \Rightarrow tossina vera e propria; B \Rightarrow recettore). La componente tossica si lega all'rRNA 28S delle cellule eucariotiche, interrompendo la sintesi proteica \Rightarrow necrosi cellulare \Rightarrow sanguinamento diffuso causato da danno all'epitelio \Rightarrow favorisce anche eventuale entrata di altri ceppi di *E. coli* nel sangue (\Rightarrow setticemia).

Provoca infiammazione. Nel 5% dei casi \Rightarrow complicazioni dovute al danneggiamento dei vasi sanguigni renali \Rightarrow si rende necessaria la dialisi.

Salmonella

È un patogeno obbligato (in altri animali esistono *Salmonellae* commensali).

Esiste una sola specie (*Salmonella enterica*), con oltre 2300 sierotipi.

Basandosi sulla struttura del DNA si è compiuta una suddivisione in 8 sottospecie.

La maggior parte dei ceppi isolati nell'uomo appartengono alla sottospecie I:

- *Salmonella typhi*
- *Salmonella typhimurium*
- *Salmonella choleraesuis*

Salmonella ha un genoma ~ identico a quello di Escherichia coli, ma possiede in più alcune isole di patogenicità (⇒ sistemi di secrezione di tipo III) ⇒ sopravvive ai macrofagi e li uccide (usa due sistemi di secrezione di tipo III ⇒ secerne nel macrofago prima da fuori, poi da dentro).

Raffling ⇒ è un tipo particolare di fagocitosi indotto da Salmonella ⇒ fa uso di un sistema di secrezione di tipo III. Contrariamente dal solito (invaginazioni della membrana), il batterio è fagocitato tramite estroflessioni della membrana delle cellule dell'intestino, che sono rese disponibili dall'abbondanza di superficie offerta dai microvilli ⇒ i microvilli scompaiono ⇒ danni all'epitelio intestinale.

Salmonella typhimurium ⇒ provoca gastroenteriti. Viene ingerita col cibo (pollame e uova) o con acqua contaminata.

Il pollame è il serbatoio naturale di questo batterio.

Provoca un'infezione limitata all'epitelio intestinale e alla tonaca propria. Si ha una diarrea dovuta alla reazione infiammatoria.

Innanzitutto, il batterio penetra nella mucina, poi entra nelle cellule M delle placche di Peyer. Viene quindi da esse passato ai macrofagi. Il batterio uccide il macrofago, provocandone la lisi, per poi uscire, infettando quindi la lamina propria (⇒ infiammazione).

Se la lisi di alcuni macrofagi è ritardata, S. typhimurium diffonde e dà infezione in altri distretti (infezione sistemica). Quest'ultimo fenomeno è raro per S. typhimurium, comune per S. typhi.

Salmonella typhi ⇒ provoca la febbre tifoide. Viene ingerita col cibo o con acqua contaminata.

La dose infettante è abbastanza alta (10-100 milioni di organismi).

Infetta solo l'uomo (⇒ trasmessa da portatori asintomatici).

Invade le cellule dell'epitelio intestinale, le attraversa e viene rilasciata nella lamina propria. Qui il batterio viene fagocitato da mononucleati nei linfonodi regionali ⇒ prima batteriemia (asintomatica). Il batterio viene quindi portato al fegato e alla milza.

Salmonella typhi si replica all'interno dei macrofagi nei linfonodi, nel fegato e nella milza.

I macrofagi muoiono, rilasciando batteri ⇒ seconda batteriemia (sintomatica) ⇒ 4-8 settimane.

I batteri raggiungono i reni, la cistifellea e la mucosa intestinale. Questa è la fase più pericolosa della malattia.

In alcuni pazienti, i batteri persistono molto a lungo nella cistifellea (e quindi nelle feci) ⇒ portatori.

Mentre S. typhimurium arriva e rimane nella tonaca propria, S. typhi arriva nella tonaca propria per poi diffondere.

S. typhimurium è più diffusa di S. typhi nei Paesi sviluppati. I pochi casi di febbre tifoide sono presenti soprattutto negli USA.

Helicobacter pylori

È un batterio gram - a forma di spirale, microaerofilo (⇒ non ama l'ossigeno: cresce in terreni con poco o niente ossigeno). È stato scoperto da poco.

È molto mobile (⇒ flagellato).

Colonizza lo stomaco (⇒ l'unico batterio che riesce a farlo).

Provoca gastriti, ulcere e adenocarcinoma gastrico (⇒ è l'unico batterio associato a tumore).

Fattori di virulenza

- Ureasi \Rightarrow scinde l'urea in NH_3 \Rightarrow aumento del pH
- Proteina acido-inibitoria \Rightarrow inibisce la secrezione di HCl da parte della cellule parietali \Rightarrow inibizione della diminuzione del pH
- Mucinasi \Rightarrow degrada la mucosa gastrica
- Superossido dismutasi \Rightarrow previene l'uccisione nel fagosoma
- Catalasi \Rightarrow previene l'uccisione nel fagosoma

L'infezione è lenta:

1. Colonizzazione dello stomaco
2. Gastrite cronica superficiale (settimane/mesi dopo la colonizzazione)
3. 3 esiti possibili (anni/decenni dopo la colonizzazione):
 - (a) ulcera peptica
 - (b) malattie linfo-proliferative
 - (c) gastrite cronica atrofica \Rightarrow adenocarcinoma gastrico

Nella gastrite cronica atrofica, vengono distrutte alcune ghiandole gastriche (tramite mucinasi) \Rightarrow vengono prodotti meno succhi gastrici \Rightarrow viene favorita l'insorgenza del tumore.

Strategia per sopravvivere nello stomaco

Nello stomaco il pH è molto acido (1-2).

D'altronde, *H. pylori* è acido-sensibile in vitro.

1. *Helicobacter pylori* produce ureasi e la proteina acido-inibitoria \Rightarrow scissione dell'urea in NH_3 e inibizione della secrezione di HCl da parte della cellule parietali \Rightarrow basificazione dell'ambiente.
2. Colonizzazione della mucina \Rightarrow dopo essere sopravvissuto al pH acido (con l'ureasi), il batterio penetra nella mucina (pH neutro), dove è protetto e può riprodursi.
3. Adesione alle cellule della mucosa gastrica \Rightarrow con un sistema di secrezione di tipo IV induce fenomeni infiammatori, iniettando proteine nella cellula (\Rightarrow formazione del piedistallo \Rightarrow esso fa aderire *H. pylori* alla mucosa gastrica e lo protegge dal sistema immunitario (non si sa come)).

Tossine

- Cag A \Rightarrow tossina che uccide le cellule
- Vac A \Rightarrow tossina che induce la formazione di vapori nelle cellule

I ceppi di *H. pylori* possono essere divisi in due classi, a seconda della loro patogenicità. I ceppi a patogenicità maggiore hanno un'isola di patogenicità (cag).

LPS \Rightarrow meno efficiente nell'indurre infiammazione

H. pylori induce una risposta infiammatoria nell'ospite, in modo da procurarsi nutrienti (infatti, nella mucina non arrivano nutrienti derivanti dal cibo, che – una volta digerito – passa direttamente nell'intestino): le cellule in cui provoca necrosi liberano sostanze nutrienti che il batterio metabolizza.

H. pylori è un batterio evoluto: provoca un'infezione cronica (vedi LPS meno potente), non acuta \Rightarrow è più durevole (anni) e meno combattuta dal sistema immunitario. Questo batterio è in grado di modulare l'infiammazione.

Tutti gli individui infetti sviluppano una gastrite cronica superficiale (spesso asintomatica).

Se monta una reazione infiammatoria, si formano ulcere oppure una gastrite atrofica (⇒ fattore di rischio per lo sviluppo di adenocarcinoma gastrico) ⇒ dipende dal ceppo di *H. pylori* e dall'ospite.

Epidemiologia

H. pylori infetta fino al 45% degli adulti (negli USA).

Nelle classi povere e nei Paesi del Terzo Mondo, l'infezione compare in età più giovanile.

Questo batterio si ritrova nel 70-100% dei pazienti con gastriti, ulcere gastriche e duodenali.

La via di trasmissione è sconosciuta. L'uomo è l'unico serbatoio conosciuto.

Diagnosi di laboratorio

- Test dell'ureasi ⇒ rapido; il paziente beve urea radioattiva e viene poi analizzato il respiro: si cerca ammoniaca radiattiva (⇒ se c'è: il paziente è infetto da *H. pylori*).
- Biopsie gastriche ⇒ ne viene poi fatta una coltura o un'analisi del preparato istologico.
- PCR da biopsie gastriche o da feci

Trattamento

Si compie una settimana di terapia con due antibiotici (claritromicina e metronidazolo) e con un inibitore delle pompe protoniche (es.: omeprazolo ⇒ aumenta il pH; forse agisce anche direttamente sul batterio).

Il batterio può facilmente sviluppare resistenze a certi farmaci ⇒ bisogna fare antibiogrammi.

Oggi si sta sviluppando un vaccino.

Neisseriae

Sono cocchi gram -, aerobi, che normalmente si dispongono a coppie (⇒ "chicco di caffè").

I ceppi patogeni sono di solito capsulati.

I ceppi patogeni per l'uomo sono:

- *Neisseria gonorrhoeae* (gonococco)
- *Neisseria meningitidis* (meningococco)

La differenza tra i due batteri è costituita dal sito di infezione.

N. gonorrhoeae

Provoca la gonorrea:

- Malattia infiammatoria pelvica nella femmina
- Uretrite nel maschio

Sia le donne che gli uomini possono fungere da portatori asintomatici.

Può causare infezioni disseminate (infezioni del sangue); tuttavia, questa caratteristica compete più strettamente a *N. meningitidis*.

Molti ceppi sono resistenti alla penicillina.

Fattori di virulenza

- Capsula ⇒ attività antifagocitaria
- Pili ⇒ adesione; variazione antigenica
- Por ⇒ sopravvivenza ai neutrofili
- Opa ⇒ adesione e invasione delle cellule epiteliali
- Rmp ⇒ resistenza all'azione battericida del siero
- Tbp1, tbp2, lbp ⇒ assorbimento del ferro
- IgA proteasi ⇒ colonizzazione delle mucose

- Beta lattamasi \Rightarrow resistenza ai beta lattamici
- LOS (lipo-oligo-saccaride) \Rightarrow è più corto dell'LPS; non è molto variabile; è un'endotossina

La variazione degli antigeni di superficie costituisce il modo più efficace per *N. gonorrhoeae* di difendersi dal sistema immunitario:

- Variazione antigenica \Rightarrow cambio degli antigeni di superficie; avviene anche nel corso dell'infezione: il sistema immunitario riesce a rispondere solo ai batteri iniziali; quelli con gli antigeni variati resistono.
- Variazione di fase \Rightarrow presenza o assenza di un antigene: dipende dal momento.

La variazione antigenica è un fenomeno che interessa soprattutto i pili.

Il gene per la pilina consta di una zona conservata e di una zona variabile. C'è un locus nel genoma che possiede molti segmenti genici alternativi tra cui scegliere per la zona variabile \Rightarrow ricombinazione \Rightarrow si crea un tipo di pili sempre nuovo. Inoltre, la ricombinazione può interessare un pezzo di un segmento genico α e un pezzo di segmento genico β , per esempio \Rightarrow la parte variabile del pilus è ancora più variabile (sono molte le combinazioni possibili tra i vari pezzi).

Ciò rende impossibile creare vaccini contro *N. gonorrhoeae* (\Rightarrow sono troppi gli antigeni possibili).

La variazione di fase consta nell'accensione/spengimento di alcuni geni. Ad es.: geni Opa \Rightarrow per internalizzazione nelle cellule epiteliali. Se il gene è espresso, il batterio viene internalizzato, altrimenti no. Il fenomeno si basa sulla presenza di alcune ripetizioni (6; ciascuna è lunga 5 bp) all'inizio del gene \Rightarrow frequenza di ricombinazione alta: la ricombinazione porta all'inserzione o alla delezione di alcune ripetizioni \Rightarrow frame shift \Rightarrow si genera precocemente un codone di stop \Rightarrow gene spento.

In un'infezione da *N. gonorrhoeae* si notano alcuni batteri sulla superficie dell'epitelio (hanno i geni Opa spenti) e altri nelle cellule epiteliali (hanno i geni Opa accesi). I batteri con i geni Opa spenti possono talvolta accenderli e penetrare nell'epitelio.

Fasi dell'infezione

1. Adesione alle cellule colonnari dell'epitelio dell'uretra (nel maschio) o della cervice (nella femmina) (\Rightarrow pili)
2. Internalizzazione e moltiplicazione nelle cellule epiteliali (\Rightarrow Opa) (se i geni Opa sono accesi; altrimenti: colonizzazione dell'esterno dell'epitelio)
3. Il vacuolo contenente batteri viene trasportato alla base della cellula
4. Rilascio dei batteri nel tessuto connettivo
5. Infiammazione (LOS \Rightarrow endotossina)
6. Possibilità di infezioni sistemiche (molto più facile nel caso di *N. meningitidis*)

Questo discorso vale anche per *N. meningitidis*; cambia solo il sito di infezione.

N. gonorrhoeae e *N. meningitidis* infettano le cellule non ciliate, ma provocano in seguito l'estrusione dall'epitelio delle cellule ciliate.

Epidemiologia

La gonorrea ha circolazione esclusivamente umana: non esistono serbatoi animali o ambientali. Il maggior serbatoio è rappresentato dalle persone infettate asintomaticamente.

La malattia è trasmessa per via sessuale (eccezione: trasmissione madre-figlio).

50% delle donne infettate non ha sintomi.

5% degli uomini infettati non ha sintomi.

Si vede quindi che lo stato di portatore asintomatico è molto più comune per le donne che per gli uomini.

Sindromi cliniche

Nell'uomo ⇒ infezione normalmente limitata all'uretra (uretriti). Il 95% degli uomini infettati presenta sintomi acuti (2-5 giorni di incubazione). Il 5% dei casi non è curato, in quanto comprende infezioni trascurate o infezioni sub-acute non notate ⇒ possono divenire ascendenti e diffondere ad altri distretti ⇒ complicazioni:

- Epididimiti
- Prostatiti
- Ascessi peri-uretrali

Nella donna, il sito primario di infezione è la cervice (cervicite). Si hanno infezioni ascendenti nel 10-20% dei casi ⇒ complicazioni:

- Salpingiti
- Ascessi tubo-ovarici
- Malattia infiammatoria pelvica

Nell'1-3% dei casi si ha infezione disseminata con setticemia e infezione della pelle e delle articolazioni.

La trasmissione madre-figlio porta allo sviluppo nel neonato di oftalmia neonatale (come nella *Chlamydia*).

Diagnosi di laboratorio

- Esame microscopico (colorazione di Gram) ⇒ es.: tampone della cervice. Le uniche *Neisseriae* presenti nell'apparato riproduttivo sono *N. gonorrhoeae*. Nel cavo orofaringeo, invece, non c'è solo *N. meningitidis*, ma anche altre *Neisseriae* apatogene ⇒ confondono le analisi per la ricerca del meningococco.
- Esame colturale ⇒ *Neisseria* è molto sensibile all'essiccamento e alle basse temperature ⇒ coltura difficile. Si pratica la semina sia su terreni selettivi (Thayer-Martin), che su terreni non selettivi (agar cioccolato ⇒ sangue cotto ⇒ le *Neisseriae* hanno bisogno di fattori presenti nel sangue).
- Sonde molecolari

Trattamento

N. gonorrhoeae ha sviluppato resistenza alla penicillina, tramite:

- plasmide coniugativo che porta una beta lattamasi
- trasformazione naturale (diffusione di alleli resistenti delle PBP)

Vengono perciò utilizzati fluorochinoloni (farmaci d'elezione; molto usati nelle infezioni delle vie urinarie), cloramfenicolo e cefalosporine.

N. meningitidis

È responsabile di setticemia e meningite.

Produce una grande capsula antifagocitaria (molto più grande di quella di *N. gonorrhoeae*) e un'emolisina.

Può disseminarsi attraverso la corrente sanguigna, dopo essere penetrata nell'orofaringe.

Provoca coagulazione intravasale disseminata (⇒ LOS: endotossina) ⇒ eventualmente morte.

La vaccinazione è efficiente, con l'eccezione che contro il gruppo B (il gruppo dipende dalla capsula; i gruppi più comuni sono 4-5). Questo gruppo, infatti, ha una capsula composta di acido sialico \Rightarrow l'acido sialico fa parte del self e non è quindi riconosciuto dal sistema immunitario; una vaccinazione avrebbe effetti deleteri.

Le fasi dell'infezione di *N. meningitidis* sono uguali a quelle di *N. gonorrhoeae*.

Epidemiologia

Il 90% delle infezioni è dovuto a 4 sierogruppi.

La trasmissione avviene per via respiratoria (aerosol).

Spesso la trasmissione avviene all'interno di una comunità (caserma, scuole, ospedali, famiglie) \Rightarrow stretto contatto, in quanto – a differenza di *Mycobacterium tuberculosis* – *N. meningitidis* non sopravvive all'essiccamento e, quindi, non può stare nell'aria o nella polvere per più di qualche momento.

Sindromi cliniche

- Setticemia \Rightarrow può essere il presupposto allo sviluppo di meningite, oppure insorgere da sola. Porta a una coagulazione intravasale disseminata (\Rightarrow endotossina): trombosi nei piccoli vasi e formazione di lesioni petecchiali. Questi batteri si riproducono molto velocemente \Rightarrow molta endotossina. Inoltre, mentre gli altri batteri gram - devono lisare per rilasciare l'endotossina (\Rightarrow LPS della membrana esterna), *N. meningitidis* ha eccessi di membrana che sono periodicamente rilasciati nell'ambiente.
- Meningite \Rightarrow è una complicazione della setticemia che insorge dopo che i batteri passano la barriera emato-encefalica. Mortalità: 100% se non trattata; < 10% se trattata tempestivamente. Se viene curata in ritardo (quando cioè i batteri sono già molti), la lisi dei batteri rilascia ancora più endotossina. Sono quindi essenziali una diagnosi e una cura tempestive \Rightarrow ore, non giorni.

Diagnosi di laboratorio

- Esame colturale su sangue e liquido cerebrospinale \Rightarrow normalmente sterili; richiede un giorno.
- Esame microscopico \Rightarrow più rapido. *N. meningitidis* può raggiungere titoli altissimi nel liquido cerebrospinale ($10^7/\text{ml}$).

Trattamento

La penicillina è ancora utilizzabile su *N. meningitidis*. Ma esistono in certi casi resistenze: in questi casi si ricorre a cloramfenicolo e cefalosporine.

Mollicutes

Sono i più piccoli microrganismi capaci di crescita autonoma (\Rightarrow passano attraverso i filtri da sterilizzazione ($0,22 \mu\text{m}$); non si vedono col microscopio ottico). Si colorano come gram -, pur avendo caratteristiche molto diverse da essi. Sono anaerobi facoltativi (eccezione: *M. pneumoniae* \Rightarrow aerobio obbligato).

Mancano di parete e di membrana esterna.

Richiedono steroli per la crescita (hanno una membrana particolare \Rightarrow contiene steroli, come quella delle cellule eucariotiche). Crescono lentamente.

Patogeni per l'uomo sono:

1. *Mycoplasma pneumoniae*
2. *Mycoplasma hominis*
3. *Mycoplasma genitalium*
4. *Ureaplasma urealyticum*

Non si conoscono le caratteristiche della filogenesi di questi batteri; probabilmente avevano la parete, poi l'hanno persa.

Non avendo parete, sono resistenti ai beta lattamici e alla vancomicina.

Assumono forme particolari \Rightarrow sferica, oblunga.

Possono o riprodursi per scissione binaria (come gli altri batteri), oppure allungarsi formando un lungo filamento (che può biforcarsi), nel quale – dopo un po' – sorgono dei setti che lo dividono in vari batteri figli.

I *Mollicutes* formano colonie "a uovo fritto" \Rightarrow nella zona centrale creano un incavo nell'agar, in cui possono disporsi in uno spessore maggiore \Rightarrow zona più scura (ci sono più batteri).

Si distinguono due gruppi di *Mollicutes*:

1. *M. pneumoniae* \Rightarrow faringite, bronco-polmonite, polmonite lobare (o atipica) \Rightarrow ingresso dalla cavità orale
2. *M. genitalium*, *U. urealyticum*, ecc. \Rightarrow infezioni del tratto genito-urinario (uretriti non gonococciche)

Mycoplasma pneumoniae

Sindromi cliniche

- Polmonite atipica o migrante \Rightarrow chiamata così perché le cellule del sistema immunitario migrano nel corso dell'infezione. Dall'esame istologico sembra che l'infezione sia molto più estesa di com'è in realtà. I pazienti non richiedono ospedalizzazione. L'infezione è molto diffusa \Rightarrow spesso non viene neanche riconosciuta (negli adulti); nei bambini i sintomi sono un po' più gravi.
- Anemia emolitica \Rightarrow la polmonite – nel 65% dei casi – fa produrre anticorpi che cross-reagiscono con i globuli rossi. Il test dell'emolisi può essere utilizzato nella diagnosi della polmonite: si prende il sangue del paziente e lo si fa incubare nel ghiaccio per qualche minuto \Rightarrow se ci sono anticorpi, si formano degli agglutinati (agglutinine fredde). Logicamente, questo esame non può dare certezza assoluta (\Rightarrow 35% dei pazienti non hanno questi anticorpi, pur avendo la polmonite da *M. pneumoniae*).
- Affezioni delle vie respiratorie superiori \Rightarrow un po' meno comuni della polmonite.

Epidemiologia

M. pneumoniae è sempre presente nella popolazione.

Ogni 6-8 anni ci sono epidemie.

Gli individui infetti sono soprattutto bambini (5-15 anni), ma possono essere infettati anche adulti e anziani (nei quali, però, gli anticorpi contro questo batterio sono molto probabilmente già presenti).

È necessario uno stretto contatto per avere trasmissione.

La trasmissione avviene tramite secrezioni nasali.

Diagnosi di laboratorio

- Test sierologici \Rightarrow il tempo necessario per creare una coltura è troppo lungo (2 settimane) \Rightarrow si fanno perciò sierodiagnosi. Tuttavia, il più delle volte, si scoprono gli anticorpi quando l'infezione è già passata; se si trovano IgM, l'infezione è in atto (ma le IgM sono difficili da evidenziare). Oggi si può anche compiere una diagnosi diretta, tramite la ricerca di acidi nucleici (metodo sicuro, ma costoso).
- Diagnosi clinica

Trattamento

Il trattamento prevede eritromicina o tetracicline.

M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum

Ureaplasma urealyticum idrolizza urea.

Epidemiologia

Vengono trasmessi tramite contatto sessuale e verticalmente (madre-figlio).

Sindromi cliniche

Causano uretriti non gonococciche (negli uomini), malattia infiammatoria pelvica e febbre post-partum (nelle donne).

Sono infezioni non troppo gravi (molto meno pericolose di quelle causate da *Neisseria gonorrhoeae*), ma – se trascurate – possono portare alcuni danni non trascurabili (es.: la malattia infiammatoria pelvica porta sterilità).

Questi batteri sono stati isolati dal SNC dei neonati (non si sa se danno patologia).

Patogenesi

Non è ancora stata compresa.

Si è comunque scoperto che i batteri si legano fortemente agli epiteli. Ad es., *M. pneumoniae* utilizza a questo scopo un “organello di adesione”: normalmente, il batterio è sferico, ma quando infetta la mucosa diventa oblungo; all'estremità ha una struttura proteica particolare che crea un'adesione forte con l'epitelio; forse si inserisce nella mucosa \Rightarrow canale simile a un sistema di secrezione di tipo III o IV.

Si ha la produzione di una “sostanza tossica” (H_2O_2 ?).

I *Mollicutes* e gli altri batteri sono organismi antagonisti: i primi possono contaminare irreversibilmente colture dei secondi. Ad es., può avvenire che il siero usato per nutrire i batteri sia contaminato da *Mollicutes*; oppure il procedimento per isolare la tripsina usata in laboratorio può farla contaminare con *Mollicutes*; può addirittura esserci un'epidemia nel laboratorio da *Mollicutes* (si attaccano ad oggetti, entrano a far parte dell'aerosol, ecc.).

Spirochete

Sono bacilli gram -, sottili, elicoidali.

Sono flagellati. I flagelli, però, corrono lungo tutta la lunghezza della cellula, tra membrana plasmatica e membrana esterna, essendo localizzati in precise regioni dello spazio periplasmatico.

Questi batteri possono muoversi come un'elica (girando su se stessi) ⇒ il movimento del flagello è elicoidale.

Sono patogeni per l'uomo:

- Treponemi
- Borrelie
- Leptospire

Le infezioni causate da questi tre generi di batteri hanno caratteristiche simili.

Treponema pallidum ⇒ agente eziologico della sifilide. È storicamente il più importante di questo gruppo di batteri, in quanto nel passato erano molto frequenti epidemie da sifilide. Oggi sono pochi i casi (soprattutto negli USA).

Leptospire ⇒ provocano la leptospirosi. Di solito sono diffuse nei Paesi tropicali.

Borrelie ⇒ sono il genere più importante nei Paesi industrializzati.

Borrelie

Si trasmettono tramite morso di pidocchi o zecche infette (vettori zoogeni).

- *Borrelia recurrentis* ⇒ febbre ricorrente epidemica (⇒ a ondate; altre borrelie danno febbre ricorrente endemica (trasmessa tramite zecche), cioè sempre presente nella popolazione ⇒ soprattutto nel Sud America)
- *Borrelia burgdorferi* ⇒ morbo di Lyme

B. recurrentis viene trasmesso tramite pidocchi solamente all'uomo ⇒ questo batterio è quindi presente in ambienti molto poco igienici. Le borrelie possono cambiare gli antigeni di superficie (variazione antigenica). *B. recurrentis*, ad es., entra nel sito dell'inoculo e si diffonde quindi per via ematica ⇒ setticemia. L'ospite monta una risposta immunitaria contro questo batterio e inizia a rispondere efficacemente ⇒ la febbre passa. Più tardi, però, la selezione avrà favorito un nuovo ceppo con struttura antigenica diversa ⇒ ricorrenza della malattia. Se la malattia viene trascurata ⇒ shock (endotossina).

Nella cura di *B. recurrentis* vengono usate tetracicline.

Morbo di Lyme ⇒ è una malattia scoperta di recente. Viene trasmessa da zecche (che di solito si trovano in cervidi ⇒ non solo nell'uomo, come invece *B. recurrentis*). È diffusa nei parchi naturali, in campagna (soprattutto negli USA).

Se viene curata ⇒ no danni; altrimenti ⇒ danni per tutta la vita.

Consta di tre fasi:

1. Fase acuta, locale ⇒ eritema migrante che parte dalla puntura. Dopo qualche giorno sparisce ⇒ può essere ignorato, visto che apparentemente sembra poco grave.
2. Fase disseminata ⇒ interessa il SNC, la pelle e il cuore. Raramente porta alla morte. In alcuni casi è asintomatica. Inizia dopo giorni/mesi dall'iniziale infezione ⇒ difficilmente si ricollega la patologia all'evento eziologico reale.
3. Fase cronica ⇒ atalgie, artriti, complicazioni neurologiche (perdita di memoria), affaticamento cronico. In questa fase non sono più utilizzabili gli antibiotici, in quanto i batteri – che sono pochi o addirittura assenti – sono diventati resistenti agli antibiotici.

Nella cura del morbo di Lyme vengono usate tetracicline.

Chlamydia

È un genere particolare: ha uno stile di vita diverso da quello di altri batteri, simile a quello delle *Rickettsie*.

È un parassita intracellulare obbligato (a differenza di *Shigella*, *Lysteria*, *Mycobacterium tuberculosis*, che sono parassiti intracellulari facoltativi). Possono replicarsi solo nelle cellule.

Non è facilmente coltivabile: bisogna farle infettare altre cellule in coltura.

Sono batteri molto piccoli (come i *Mollicutes*, passano attraverso i filtri da sterilizzazione).

Non sono mobili.

Sono tre le specie patogene per l'uomo:

1. *Chlamydia trachomatis* ⇒ la più importante:
 - Infezioni del tratto genitale
 - Infezioni oculari
2. *Chlamydia pneumoniae*:
 - Infezioni respiratorie ⇒ polmonite simile a quella indotta da *Mycoplasma pneumoniae*
3. *Chlamydia psittaci* ⇒ parassita degli uccelli (zoogeno):
 - Psittacosi

Essendo parassiti intracellulari obbligati, le clamidie non possono produrre energia (ATP) ⇒ prendono l'ATP prodotto dalla cellula ospite, per replicarsi.

Non producono peptidoglicano ⇒ non hanno una parete. Hanno una membrana esterna e una membrana plasmatica, come i gram -, ma sono privi di peptidoglicano. Hanno però geni simili a quelli deputati alla sintesi del peptidoglicano ⇒ sintetizzano un composto simile: infatti, in condizioni particolari, la penicillina e gli altri antibiotici che agiscono bloccando la sintesi del peptidoglicano hanno un effetto dannoso su questi batteri: li fanno entrare in una fase di latenza, in cui non si riproducono.

Evocano una risposta immunitaria sia umorale che cellulare (quest'ultima più ingente).

Le manifestazioni cliniche sono dovute alla distruzione delle cellule infettate e alla risposta infiammatoria indotta nell'ospite (⇒ non producono tossine; infatti, in vitro creano danni molto minori, in quanto manca la risposta del sistema immunitario e si ravvisa solo la distruzione delle cellule da parte delle clamidie).

Le clamidie devono essere trattate con farmaci capaci di entrare nelle cellule dell'ospite, visto che esse non hanno attività biologica (cioè non sono attaccabili) all'esterno delle cellule.

Ciclo vitale delle clamidie

Consta di due stadi:

1. Corpo elementare (CE)
2. Corpo reticolato (CR) ⇒ chiamato così a causa di ribosomi che sembrano liberi

Il CE è una forma silente (come le spore): non ha attività biologica, ha una superficie rigida (⇒ ponti disolfuro), è impermeabile, ecc. Il CE è la forma della clamidia a livello extracellulare; è la forma infettante. Il CE è in grado di indurre la fagocitosi nelle cellule dell'ospite ⇒ vacuoli (*inclusioni*) nelle cellule ospiti ⇒ il CE si trasforma in CR, che è la forma attiva ⇒ si replica nell'inclusione, che perciò aumenta di volume. Quando raggiungono un certa quantità, i CR tornano CE ⇒ i vacuoli si fondono con la membrana plasmatica ⇒ esocitosi (+ eventualmente morte della cellula ospite).

A seconda di dove avviene il rilascio \Rightarrow ci sono clamidie non invasive (il vacuolo è rilasciato sul lato luminale dell'epitelio) e clamidie invasive (il vacuolo è rilasciato sul lato basale dell'epitelio \Rightarrow infezione dei tessuti sottostanti).

L'IFN- γ o la penicillina – se somministrati durante la replicazione delle clamidie – portano a un blocco della replicazione, che permane finché queste sostanze non vengono rimosse.

Nei CE si notano delle protuberanze che sporgono sulla superficie della cellula, disposte in cerchi concentrici \Rightarrow fungono da recettori per la fagocitosi (\Rightarrow adesione). Quando il CE diventa CR, rimangono attaccate alla membrana plasmatica e fungono da canali in cui la clamidia succhia l'ATP dalla cellula ospite (\Rightarrow nutrimento).

Le clamidie sono gli unici batteri che tuttoggi non si riesce a manipolare geneticamente, in quanto nel CE il genoma non è accessibile e il CR muore subito in coltura.

C. trachomatis

Esistono tre biovar (gruppi di sierotipi):

1. Tracoma \Rightarrow questo gruppo comprende ceppi che provocano cecità (tracoma) e ceppi che danno infezioni genitali. I ceppi che danno tracoma sono endemici in Nord Africa, Medio Oriente e India, dove i bambini sono il principale serbatoio (all'inizio possono essere portatori asintomatici). Questi ceppi hanno recettori per le cellule epiteliali ciliate della congiuntiva, dell'apparato respiratorio e dell'apparato uro-genitale.
2. LGV (linfogranuloma venereo)
3. Agente della polmonite murina

Tracoma:

- Infezioni genitali \Rightarrow uretriti post-gonococciche: compaiono dopo infezioni di *N. gonorrhoeae*. In realtà, si tratta di una doppia infezione contemporanea, ma i sintomi di *C. trachomatis* si manifestano dopo e, quindi, sono curati inizialmente solo quelli di *N. gonorrhoeae*.
- Infezioni oculari

Il tracoma si trasmette tramite lacrime, indumenti contaminati, mosche e mani infettate.

LGV \Rightarrow infezione genitale da *C. trachomatis* invasive (penetrano attraverso piccole lacerazioni, infettano l'epitelio e poi diffondono a distretti sottocutanei) \Rightarrow raggiungono i linfonodi inguinali \Rightarrow rigonfiamento (eventualmente scoppiano). La trasmissione è quindi sessuale.

Sindromi cliniche

- Tracoma \Rightarrow congiuntivite cronica
- Congiuntivite \Rightarrow trasmissione sessuale
- Congiuntivite neonatale \Rightarrow trasmissione madre-figlio da un ceppo che ha dato nella madre infezioni genitali
- Polmonite neonatale \Rightarrow rara
- Infezioni uro-genitali:
 - Uretriti
 - Uretriti post-gonococciche
- LGV

I ceppi che danno infezioni oculari, uro-genitali e LGV sono diversi.

Diagnosi di laboratorio

- Esame citologico ⇒ colorazione di Giemsa
- Esame colturale ⇒ lento e difficile (perché bisogna che le clamidie infettino colture cellulari)
- Ricerca di antigeni ⇒ immunofluorescenza in campo oscuro ⇒ ricerca di CE su tamponi; è la tecnica più usata
- Sonde molecolari
- Esame sierologico

Trattamento

Si utilizzano farmaci capaci di entrare nelle cellule dell'ospite:

- Doxiciclina (tetraciclina)
- Azitromicina (macrolide)
- Ofloxacina (chinolone)

C. pneumoniae

Causa bronchiti e pneumoniti ⇒ poco gravi, spesso quasi asintomatiche nell'80% della popolazione (come quelle da *Mycoplasma pneumoniae*).

Causa sinusiti.

È stato ritrovato frequentemente nelle placche aterosclerotiche ⇒ non si sa ancora se ne è la causa o se vi si annida quando esse sono già formate. L'infezione avviene a livello dell'endotelio e della tonaca muscolare.

Questo batterio dà spesso infezioni sub-cliniche.

La trasmissione avviene tramite aerosol.

Il trattamento prevede tetraciclina ed eritromicina.