

DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

30/10/08

Prof.ssa ROMANO 13° lezione

INFEZIONI APPARATO UROGENITALE

L'apparato urinario è caratterizzato da :

- Reni
- Ureteri (che collegano il rene alla vescica)
- Vescica
- Uretra (che collega la vescica con l'ambiente esterno).

I reni sono costituiti da una corticale e una midollare, e i microrganismi che si ritrovano nella corticale sono diversi rispetto a quelli della midollare. Ciò significa che in ogni tessuto ci sono dei sistemi recettoriali idonei ed adeguati x permettere l'accrescimento dei diversi tipi di microrganismi. Questo è evidente anche x la vescica e in particolar modo x l'uretra.

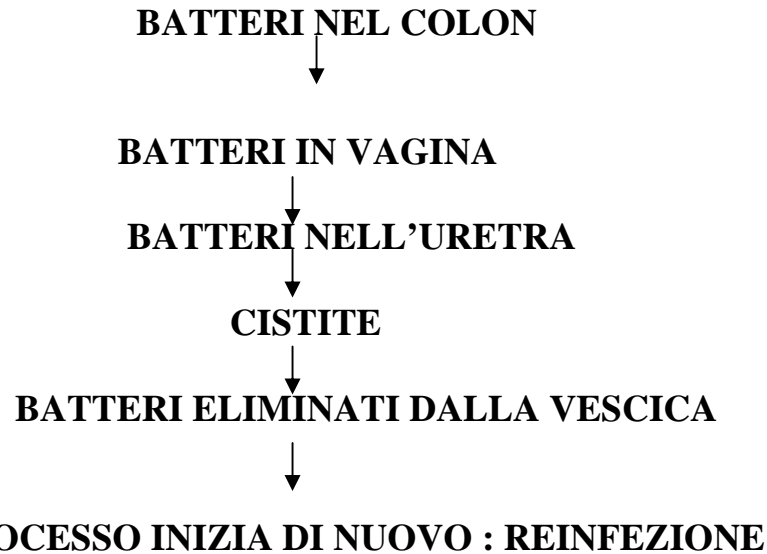
E' importante ricordare, inoltre, che le infezioni dell'uretra partono dall'interno e possono scendere determinando sterilità che è transitoria, ma che se non trattata può diventare permanente.

Vicino all'apparato urinario esiste l'apparato genitale, che si presenta diverso ovviamente, nei maschi e nelle donne. Quello più complesso e sul quale ci focalizzeremo di più è l'apparato genitale femminile. Ciascun punto, sia nell'uomo che nella donna, può essere sede di infezione. Nell'uomo, però, abbiamo soprattutto interessamento del prepuzio e del solco balano prepuziale.

Nella donna invece sono interessate la vagina e la cervice uterina.

Le infezioni dell'apparato genito-urinario non andrebbero divise. Per comodità didattiche, però, cerchiamo di parlare di infezioni dell'apparato urinario e infezioni dell'apparato genitale, niente togliendo però al fatto che i batteri possono passare da una parte all'altra sia x continuità sia x contiguità ed è evidente che poiché questi apparati sono allocati a ridosso della cavità addominale, dove troviamo anche le anse intestinali, ci sarà un rapporto stretto con le anse stesse e quindi con tutto ciò che significa apparato intestinale. I batteri passano da una parte all'altra, non rimangono nella porta di ingresso, e questo passaggio può avvenire sia per continuità, sia per contiguità. [Ciò perchè aumenta la Pressione sia da una parte che dall'altra e quindi provocando il passaggio dall'interno all'esterno e quindi dall'altro lato dall'esterno verso l'interno(?)]. Il tratto intestinale che più è esposto a questo tipo di interazione è il colon, perchè è una struttura piuttosto lunga, con una massa di stazionamento data dai rifiuti e nella quale troviamo anche un'alta microbica. Questi batteri possono passare in vagina e poi anche in uretra quando x esempio troviamo una stipsi ostinata o in caso di massa microbica alterata. Si crea così uno stato infiammatorio (i batteri interagiscono con i tessuti, i quali rispondono con infiammazione) e dall'uretra si può arrivare alla vescica creando una cistite. Quando c'è una cistite, ci sono nelle urine delle sostanze estranee (batteri) che in realtà non dovrebbero esserci perchè l'urina

presente in vescica fisiologicamente è sterile, in quanto scende dal rene. Quindi se c'è carica microbica in vescica, arriva dall'esterno. I batteri vengono inoltre eliminati tramite l'uretra, ma possono riproporsi creando delle cistiti ricorrenti.



Le cistiti, non sono facili da debellare, la difficoltà sta soprattutto nella struttura anatomica dell'uretra ; nella donna , x es., essendo l'uretra molto corta c'è una maggiore frequenza di cistiti ricorrenti. Inoltre è più facile il passaggio di batteri per continuità (intestino - vagina - uretra).

I batteri coinvolti maggiormente, sono quelli localizzati a livello intestinale (enterobatteri), anche cocchi (enterococchi).

E. COLI

- **E' RESPONSABILE DEL 90% DELLE INFEZIONI URINARIE**
- **I CEPPI UROPATOGENI SONO PRESENTI NELLE FECI**
- **I RECETTORI DELL'OSPITE GIOCANO UN RUOLO IMPORTANTE NELLA SUSCETTIBILITA' ALL'INFEZIONE**
- **LA SINTOMATOLOGIA COMPARE DOPO INVASIONE DELLA VESCICA; LE CELLULE MUOIONO E SI VERIFICA INFIAMMAZIONE.**
- **I BATTERI POSSONO OLTREPASSARE GLI URETERI E MOLTIPLICARSI NELLA PELVI E NEL PARENCHIMA RENALE(PIELONEFRITE)**

{N.B. L'invasione e l'infezione da parte del patogeno è responsabile della malattia e quindi della sintomatologia secondo quella formula(già descritta nella lezione precedente) per cui :

$MAL = V \times D/RS$ dove V è la virulenza del patogeno, D è la dose infettante, RS è la resistenza dell'organismo al patogeno }.

E. Coli è uno dei germi che maggiormente determina infezioni urinarie perché presenta dei particolari fattori di virulenza, che possono essere:

-fattori legati alla cell. batterica

- fattori prodotti dalla cellula batterica.

Quelli legati alla cellula batterica sono fattori x es. come il lipopolisaccaride dei gram negativi. Inoltre una cosa importante affinché si verifichi un'infezione da parte dei batteri è che essi si leghino tenacemente alle strutture dell'organismo ospite, altrimenti vengono eliminati con tutti i meccanismi aspecifici che sono presenti nell'ospite. Per es. a livello urinario, se i batteri non sono adesi, vengono eliminati dal flusso renale, se al contrario sono adesi, essi rimangono in situ moltiplicandosi, colonizzando, e producendo prodotti molto tossici che vanno in circolo provocando danno e morte della cellula ospite. Abbiamo una serie numerosa di fattori di adesione come x es. le fimbrie (strutture appendicolari molto piccole) che sono dei sistemi di aggancio alla cellula ospite. Sono delle strutture chimiche che riconoscono il recettore corrispondente sulla cellula ospite e si viene dunque a creare una interazione tra le molecole presenti sulle rispettive cellule.

SPECIFICI FATTORI DI VIRULENZA DI E. COLI

ADESINE

Pili tipo1(ETEC)

CFA/I , CFA/II (ETEC)

Fimbrie GWPQ (EAggEC)

Pili a fasce Blp (EAggEC)

enteroaggregante stabile

Intimina (EAggEC)

calore(EAggEC)

Pili P (uropatogeni)

AFA I, AFAII (uropatogeni)

Adesina Dr (uropatogeni)

ESOTOSSINE

Sta, Stb (ETEC)

LT1, LT2 (ETEC)

SLT-I, SLTII (EHEC)

Tossina

al

Hly a (uropatogeni)

ETEC= E.Coli enteropatogeno

EAggEC= E. coli enteroaggregante

EHEC= enteroemorragici

ETEC= enterotossigeni

ST= tossina termostabile

LT= tossina termolabile

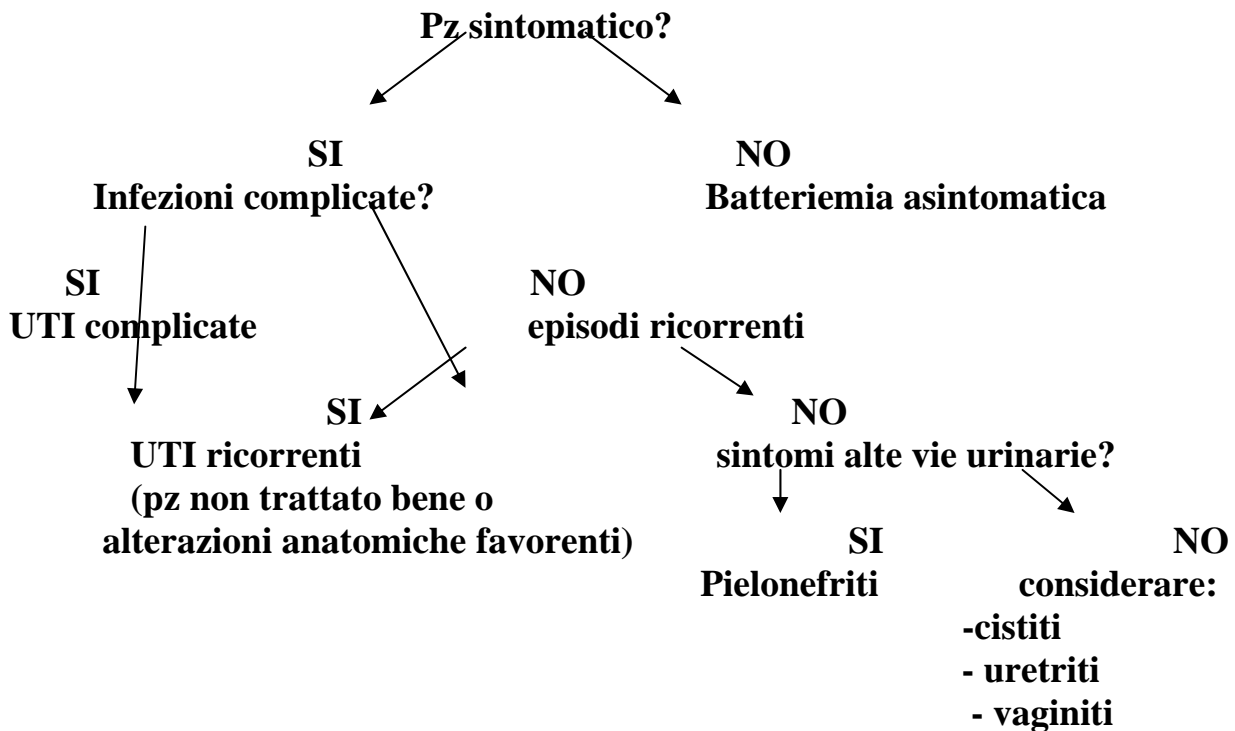
Lo studio delle adesine è importante perché ci permette di capire che ci troviamo di fronte a diversi tipi di Coli che producono diversi tipi di sostanze tossiche.

Dalla tabella possiamo vedere come E. Coli ETEC è in grado di elaborare 2 particolari tipi di enterotossine, Sta e Stb, che sono delle esotossine. Ciò è importante perché dalla microbiologia voi ricorderete che i batteri Gram- normalmente agiscono mediante le endotossine ovvero il LPS. Alcuni tipi di Gram- però, come il Coli, elaborano anche sostanze esotossiche, cioè sostanze di natura proteica che possono essere sia termostabili che termolabili.

I ceppi che si trovano sotto la linea (nella tabella), evidenziati in rosso, sono Coli uropatogeni, diversi dagli altri perché hanno specifico tropismo per l'apparato

urinario, e quindi possiamo identificarli andando a ricercare le loro strutture molecolari tipiche. I ceppi uropatogeni producono inoltre l' emolisina Hly_a che lisa gli eritrociti provocando liberazione di citochine responsabili di un processo infiammatorio che a sua volta provoca danno e sofferenza tissutale.

PZ CON INFEZIONE DEL TRATTO GENITO-URINARIO:



Quando ci ritroviamo di fronte ad un pz che presenta infezioni del tratto GU, come bisogna comportarsi? La 1° cosa è vedere se il sogg è sintomatico o meno, cioè se ha delle manifestazioni come x es bruciore alla minzione(il che significa che i tessuti sono danneggiati) disuria (difficoltà alla minzione) e pollachiuria(aumento della frequenza della minzione senza aumento di volume delle urine). Se il pz è asintomatico, nella maggior parte dei casi non ci sono batteri, ma se trovo batteriuria, certamente sarà in concentrazioni minori rispetto a quella che si rinviene solitamente nelle IVU. Nel sogg sintomatico bisogna verificare se ci si ritrova di fronte ad un pz con infezioni delle vie urinarie ricorrenti, le quali si ripresentano ciclicamente. Perché il microrganismo si ripresenta dopo un certo periodo di tempo? O perché il sogg non è stato trattato in maniera da essere sterilizzato, oppure ci può essere una causa anatomica che facilita la deposizione dei patogeni.

Se ci troviamo di fronte a inf. ricorrenti dobbiamo andare a chiedere l'antibiogramma ,ogni volta! Quando mi trovo di fronte a pz con infezioni ricorrenti, la prima volta si isola il microrganismo e si fa l'antibiogramma, somministrando l'antibiotico + adatto a debellare quel ceppo specifico, dopodiché si fa l'urinocoltura x vedere se il microrganismo è ancora presente; l'urinocoltura va fatta però circa 15 giorni dopo la sospensione dell'antibiotico altrimenti di sicuro non troveremo patogeni. Se dall'urinocoltura ritroviamo di nuovo E. Coli, non è detto che questo sia lo stesso ceppo isolato la prima volta, e quindi va ripetuto l'antibiogramma x evitare che si somministri un farmaco non specifico x il nuovo Coli che si è selezionato. Questo

antibiotico, infatti, certamente farebbe ridurre la carica microbica, però non essendo microbica, non sterilizzerebbe il soggetto; avrebbe quindi quasi un'azione batteriostatica, trasformando i batteri in sferoplasti (sono microrganismi privi di pareti o che mantengono, come nel caso dei gram-, tracce poco evidenti di parete cellulare funzionalmente inefficaci). Se il batterio si trasforma in sferoplasto, una parte della patogenicità si perde, (perché si perde il LPS), e quindi il soggetto non presenta + la sintomatologia, ma solo per un periodo di tempo limitato, in quanto non abbiamo eliminato completamente il patogeno, l'abbiamo rimasto in situ, privo di parete, ma in situ; quindi dopo un po' questo coli può risintetizzare la parete e rideterminare l'infezione. Quindi il medico cosa deve fare in caso di cistite ricorrente? Deve identificare nuovamente il germe, verificando che tipo di E. Coli si è selezionato. La cistite, comunque, è una malattia banale che però va curata perché se lasciamo una carica microbica elevata, questa può risalire attraverso gli ureteri provocando pielonefriti che possono essere responsabili di IR.

La diagnosi di IVU si fa raccogliendo il materiale biologico, ossia l'urina. Le fasi x la raccolta sono:

1. fare una pulizia generale dei genitali esterni.
2. Prelevare l'urina del mitto intermedio perché maggiormente concentrata.
3. Eliminare il 1° mitto perché questo porta fuori tutti i batteri che sono normalmente presenti a livello dell'uretra
4. Mandare il tutto al lab di microbiologia che da una risposta: x es. 100 mila batteri x ml di liquido, ossia UCF (unità formanti colonie) x ml = carica microbica. N.B. Per leggere la carica microbica lo devo fare su terreno solido. Se la carica microbica è = o > a 100 mila ci troviamo di fronte ad un'infezione in atto; se invece va da 10 a 100 mila (quindi inferiore a 100 mila) abbiamo un valore limite, e quindi dobbiamo ripetere l'urinocoltura dopo 5 giorni; se i valori sono inferiori a 10 mila non ne teniamo conto perché potrebbe esserci stata una contaminazione o durante la 2° fase di raccolta o x passaggio attraverso l'uretra.

La raccolta può essere fatta anche per aspirazione sovrapubica (metodica alquanto invasiva) oppure x immissione di catetere che non è del tutto sterile, in quanto si ha comunque trasporto di batteri. Nell'aspirazione sovrapubica dobbiamo tener presente qualsiasi tipo di carica, perché l'urina in vescica è normalmente sterile.

APPARATO GENITALE FEMMINILE

E' costituito da:

ovaie
tube
utero
cervice
vagina

Focalizziamo la nostra attenzione sulla vagina che è la porta di ingresso, ma anche il punto di blocco delle invasioni.

Anatomia vaginale:

- Organo cavo, virtuale(diventa difficilmente distinguibile dalla cervice) e distendibile.
- Caratterizzato da una faccia anteriore e una posteriore, margini laterali, una cupola
- 3 strati: fibroso(esterno)
Muscolare(intermedio)
Mucoso(interno,rivestito da epitelio).

Come tutti gli apparati è dotata di meccanismi protettivi.

ANATOMICI

-Rima vulvare
spesso(squamoso

-Imene

-Muco cervicale(impriglia i batteri)
(lattobacillo)

-Istmo uterino

I meccanismi anatomici(meccanismi passivi) determinano un blocco dei batteri e impediscono il passaggio di questi alle strutture superiori. I fattori biologici(meccanismi protettivi attivi, nel senso che producono una serie di fattori e determinano delle condizioni ambientali che proteggono l'organismo) risentono,invece, di un normale tasso estrogenino.

Il bacillo di *Doderline*. rappresenta il cd microbiota, ossia un insieme di batteri che colonizzano un distretto instaurando un commensalismo .Così il B.D. impedisce la penetrazione di altri tipi di germi perchè l'epitelio risulta coperto da questi batteri,e la donna è protetta da microrganismi esterni.

I fattori biologici, però non sono fattori statici, ma risentono dello stato in cui si trova la donna. Infatti c'è una forte interconnessione tra questi meccanismi e il tasso estrogenino.

ETA

pH vaginale

glicogeno in epitelio

microrganismi

Neonatale
i

acido x le prime

presente nelle prime

presenti

2 settimane

2 sett

lattobacilli

Prepubere

7-8

assente

lattobacilli
assenti,

predominano

i coryneformi

Fertile
i

3,5-5

Presente

predominano

Lattobacilli

**Climaterio
predominano**

alcalino

assente

enterobatteri

ma

spesso la flora è

assente

L'ecosistema, rappresentato dall'epitelio, pH acido e dal bacillo di Doderline, è condizionato dall'età della pz. A seconda dell'età possiamo trovare condizioni ambientali diverse. Le condizioni ambientali che dobbiamo tenere presene, sono:

1. pH , condizionato da quantità di glicogeno nel mezzo.
2. Microrganismi presenti
3. Ormoni, in relazione al metabolismo e alla possibilità di depositare glicogeno. Il glicogeno viene metabolizzato con liberazione di zuccheri e di acido lattico(il quale interferisce con il pH, rendendo acido l'ambiente).

Tutto ciò interferisce ed è in relazione con i lattobacilli. Per esempio:

- nella neonata, durante le prime 2 sett di vita, l'ambiente è acido perché c'è passaggio di ormoni dalla madre; gli ormoni favoriscono il deposito di glicogeno, che a sua volta rende il pH acido, creando così un ambiente adeguato alla crescita del bacillo di Doderline. La neonata, quindi riporta passivamente lo stato vaginale della madre.
- Nella ragazza prepubere, invece il pH è alcalino (7-8); c'è dunque assenza di glicogeno perchè non ci sono ormoni sufficienti x permettere la sua deposizione. Se non c'è glicogeno, non ci sono bacilli(perché muoiono in ambiente non acido) e quindi la microflora sarà diversa rispetto alla neonata e alla donna in età fertile.
- Donna in età fertile: pH acido(3,5-5), ciò significa che c'è glicogeno,quindi ci sono ormoni e ci sono le condizioni ambientali adeguate x accrescimento ed impianto di lattobacilli.

_ Climaterio. L'ambiente torna alcalino(ci sono quasi le stesse condizioni della ragazza prepubere), il glicogeno è assente quindi non ci sono lattobacilli o x lo meno sono ridotti. La flora batterica è diversa: perchè ci sono soprattutto enterobatteri. La flora vaginale,dunque da cosa è costituita? Dipende dall'età. Nella donna in età fertile è formata soprattutto da lattobacilli, ma ci possono essere anche altri batteri come:

Difteroidi, Corynebacterium vaginalis, E.Coli, Streptococchi(spt enterococchi) anaerobi. Però nella donna fertile, il rapporto tra lattobacilli e gli altri batteri, è a favore dei primi, man mano che si alterano le condizioni ambientali però si riducono i bacilli e aumentano gli altri. Tra le cause di modificazione ambientale possiamo evidenziare:

- Fattori traumatici
- Costumi sessuali.

N.B. I lattobacilli sono Gram+ , si colorano in violetto. La loro riduzione può provocare delle condizioni patologiche come vaginiti e vaginosi. La flora presente nella vagina, se prevale in maniera eccessiva rispetto al bacillo di Doderline, può essere trasmessa dalla donna all'uomo durante un rapporto tra i partner. Per cui il

trattamento deve essere a doppio senso. Questo è importante perché una vaginite non curata bene può essere causa di sterilità, che x fortuna nella maggior parte dei casi sono transitorie: basta riconoscerle e trattarle.

MALATTIE VAGINALI

Le infezioni vaginali sono caratterizzate da secreto vaginale o prurito vulvare e irritazione, disuria e può essere presente cattivo odore. Alcune infezioni sono dovute a cause che alterano l'equilibrio di questa mucosa(es. antibiotici, squilibri ormonali, contraccettivi, stress, scarsa igiene ecc.)

VAGINITI: c'è la presenza di infiammazione e i batteri possono essere molteplici.

Classificazione delle vaginiti:

- Vulvo-vaginiti da Candida Albicans (quindi miceti)
- Vulvo-vaginiti da Trichomonas Vaginalis (protozoi)
- Vulvo-vaginiti da virus
- Vaginosi da Gardnerella Vaginalis oppure Mobiluncus (che sono anaerobi)

N.B. Le vaginiti sono diversi dalle vaginosi ,non solo perché i germi sono diversi(vaginiti= germi aerobi o protozoi o miceti; vaginosi = batteri anaerobi), ma anche perché nelle vaginosi manca il segno dell'infiammazione.

Le condizioni che influiscono molto sulla natura e sull'incidenza delle flogosi vaginali sono:

- Costumi sessuali
- Abitudini di contraccettivi(soprattutto dispositivi intrauterini)
- Infezioni polimicrobiche che favoriscono il sovrapporsi di germi opportunisti(questi si presentano in carica piuttosto elevata). Il sovrapporsi di questi si verifica dopo che il germe di base ha provocato il danno e dopo la modificazione dell'ambiente.

Ma come insorgono queste infezioni?

- Per trasmissione attraverso rapporti sessuali
- Per interventi quali parti, aborti o esami diagnostici non correttamente eseguiti.
- Trasmissione ambientale(x es. biancheria contaminata)
- Condizioni biologiche particolari(mestruazioni, gravidanza, deficit immunitari, carenza di estrogeni)
- Dispositivi intrauterini

VAGINOSI BATTERICA.

E' un alterazione dovuta a batteri anaerobi, è una forma non infiammatoria, con flora acidofila ed incremento del pH. Ciò provoca riduzione del bacillo di Doderline che protegge la mucosa vaginale e aumento della proliferazione dei batteri patogeni tra cui anche Gardnerella ed altri anaerobi. Le caratteristiche di vaginosi sono:

-perdite vaginali abbondanti,grigiastre e molto maleodorante (odore di pesce putrefatto)

-assenza di sintomi di vaginiti, cioè manca prurito e bruciore.

L'odore a cosa è legato? Alla presenza di particolari sostanze liberate dal microrganismo nell'ambiente,che sono la "putrescina" e la "cadaverina" le quali sono frutto del metabolismo del batterio,si liberano nell'ambiente e danno questo odore.

Diagnosi di vaginosi batterica.

Si mettono in evidenza i segni di un:

- alterato pH
- assenza o riduzione di lattobacilli
- odore di pesce putrefatto della secrezione (questo si mette in evidenza trattando la secrezione con KOH)
- esame microscopico su materiale biologico. Il clinico, infatti, manda il tampone al laboratorio

sul quale dobbiamo fare un esame diretto x 1. es. microscopico 2. es. colturale.

La cosa importante, però, è che il clinico deve effettuare 2 prelievi, perché un tampone serve x es. microscopico (cioè portare materiale su un vetrino ed osservarlo), un altro serve x es. colturale e per fare poi anche antibiogramma. Nella vaginosi, l'es. microscopico mi fa vedere le "clue cells" cioè cell. di epitelio squamoso che sono coperte da Gardnerella. Quindi facendo questa osservazione all'esame microscopico, + i segni e i sintomi che si accompagnano alla vaginosi, posso comunicare al clinico che ci troviamo di fronte a vaginosi, come sospettato.

N.B. La vaginosi, essendo sostenuta da batteri anaerobi, è difficile da identificare e da trattare.

Per la diagnosi dunque all'esame microscopico bisogna andare a cercare:

1. presenza di lattobacilli
2. presenza di Gardnerella oppure Mobiluncus

Se i lattobacilli non ci sono, ma c'è Gardnerella, e trovo 30 o > 30 UCF di G., posso dare un punteggio di 4; ciò significa vaginosi conclamata. E che la donna deve essere trattata in tempi brevi per evitare eventuali danni dei tessuti sottostanti.

Se l'UCF è < 30 e lattobacilli = 1, il punteggio diminuisce. Quindi a seconda del rapporto tra lattob. e G il punteggio aumenta o diminuisce. QUESTA È LA DIAGNOSI CON INDICE DI NGET(1991).

TERAPIA

- Topica
- Sistemica (se vaginosi recidivante; le recidive si hanno spt se si cura la pz, ma non il partner).

Cosa fare x evitare le recidive:

- Detergere i genitali prima e dopo un rapporto
- Curare pz e partner
- Adoperare profilattico
- Evitare di far ristagnare umidità sui genitali esterni
- Evitare l'uso di indumenti stretti
- Evitare l'uso di assorbenti interni (sono dannosi non solo x le vaginosi, ma anche x il sovrapporsi di un'infezione da *Stafilococcus Aureus* il quale può provocare uno shock tossico; il sangue che ristagna, infatti, rappresenta un ottimo terreno di coltura x questi microrganismi che elaborano una sostanza pericolosissima per l'organismo).
- Il lavaggio dei genitali va fatto dall'avanti all'indietro

- Evitare lavaggi con sostanze antibatteriche. Il modo migliore x l'igiene, infatti, è l'acqua perché si evita di alterare la normale flora batterica e l'ecosistema vaginale.

VAGINITI

Le vulvo vaginiti sono sostenute da vari microrganismi, spt *Candida*. Le caratteristiche proprie sono la presenza di infiammazione, bruciore e prurito. Inoltre c'è un'alta incidenza (>70%) nelle donne sessualmente attive. Distinguiamo 3 forme:

- asintomatica (l'unico segno è rappresentato da rossore dei genitali esterni)
- acuta (bruciore e alta carica microbica)
- cronica e recidivante.

La *Candida* è presente normalmente in forma di lievito, ha una forma ovale e si colora in violetto. Nel caso in cui va incontro a virulentazione, aumenta la patogenicità, cominciando a filamentare e formare ife.

Diagnosi:

- criterio clinico
- isolamento dell'agente patogeno dal tampone
- misurazione del pH vaginale

N.B. Nella vaginite, così come nella vaginosi, c'è sempre un aumento delle secrezioni. Nelle vaginiti da *Candida*, infatti c'è una secrezione che viene detta a "ricotta" (muco abbondante e denso).

Vulvo vaginite da Trichomonas Vaginalis.

Il T. è un protozoo con una forma a pera, a palla se vogliamo. È caratterizzato dalla presenza di un assostilo che si parte da una struttura centrale e che gli permette il movimento. Proprio la sua struttura tipica permette una diagnosi rapida a fresco. Anche nelle vaginiti da T. troviamo aumento delle secrezioni che appaiono grigiastre, schiumose, non odorose. Queste secrezioni devono essere mandate in laboratorio in tempi brevissimi (se possibile anche riscaldate) affinché si possa mettere in evidenza in maniera adeguata il movimento e le strutture tipiche del T. che sono indispensabili per la diagnosi a fresco.