

MICOBATTERI

I micobatteri sono bacilli molto sottili, alcune specie sono occasionalmente in grado di produrre forme filamentose da cui, appunto, il nome di micobatteri o batteri fungiformi. Tutti i micobatteri presentano caratteristici involucri esterni e che, pur riflettendo, nella generale strutturazione, quelli dei batteri G-P, sono caratterizzati da una particolare ricchezza in peculiari lipidi situati all'esterno della parete cellulare.

La caratteristica tintoriale della acido-resistenza

La peculiare struttura degli involucri esterni, rende le cellule dei micobatteri, difficilmente penetrabili dai normali coloranti usati in batteriologia che, per raggiungere lo scopo, devono essere usati in soluzioni addizionate di acido fenico a temperature elevate. Una volta colorati, sono difficilmente decolorabili. Questa caratteristica è definita **acido-resistenza**.

Terreni di coltura artificiali

Le strutture periferiche dei micobatteri rendono la cellula impervia ad una serie di sostanze potenzialmente dannose, e conferisce alla cellula stessa una particolare permeabilità selettiva e scambi metabolici con l'ambiente particolarmente rallentata, con un ritmo di moltiplicazione assai lento. I terreni di coltura utilizzabili per la coltivazione dei micobatteri sono di 3 tipi. Terreni a base di torlo d'uovo e terreni a composizione chimica definita, a loro volta solidificati con agar o liquidi. I terreni a base di torlo sono i più utilizzati per l'isolamento primario. Essi consistono in genere di una miscela di soluzione tampone e giallo d'uovo, fatta coagulare in provetta. Questi terreni contengono anche varie concentrazioni di verde di malachite per impedire lo sviluppo di specie microbiche sfuggite ai processi di decontaminazione iniziale, e l'aggiunta di glicerolo o piruvato. I terreni a composizione chimica definita sono rappresentati da una soluzione tampone di base arricchita di acido oleico, albumina bovina, destrosio e catalasi solidificati con agar o mantenuti allo stato liquido, rendendoli selettivi con l'aggiunta di farmaci antibatterici cui i micobatteri sono insensibili. Nei terreni liquidi e nel caso di micobatteri virulenti è ben evidente la tendenza a crescere in formazioni cordali formate da numerosi bacilli allineati in lunghe file parallele, che è in funzione delle proprietà idrofobiche della superficie cellulare per l'alto contenuto di lipidi e, in particolare, della presenza di particolari derivati degli acidi micolici denominati **fattore cordale**.

MICOBATTERI DI INTERESSE MEDICO

Numerose specie di micobatteri sono agenti eziologici di patologie di grande rilievo. I più importanti sono **M. tuberculosis**, agente eziologico della tubercolosi umana, **M. bovis**, agente eziologico della tubercolosi bovina, trasmessa all'uomo in genere per via alimentare. Esistono poi **micobatteri non-tubercolari** che sono in genere contaminanti ambientali o parassiti di varie specie animali, che occasionalmente in grado di infettare la specie umana, richiedendo però, la concomitanza di condizioni favorevoli. Poi c'è **M. leprae** agente eziologico della lebbra.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Possiede essenzialmente due classi di antigeni, rispettivamente di natura polisaccaridica e di natura proteica. I lipidi degli involucri esterni e, le cere formate dagli acidi micolici legati a glicolipidi fenolici, hanno una potente azione adiuvante l'immunogenicità delle porzioni antigeniche polisaccaridiche e proteiche, favorendo il reclutamento di cellule immunocompetenti.

Meccanismo dell'azione patogena

Non produce tossine. Il meccanismo d'azione è oggetto di discussione, ma la capacità del batterio di resistere al killing intracellulari nelle cellule fagocitarie è l'elemento centrale del meccanismo della sua azione patogena. Molti componenti cellulari sono dotati di azione tossica che si estrinseca soprattutto nei confronti dei macrofagi, impedendo la completa uccisione dei micobatteri fagocitati, sia attraverso la inibizione della fusione fagosoma-lisosoma, sia attraverso la inibizione della acidificazione del contenuto del fagolisosoma. Un ruolo importante nella tossicità del batterio sembra sia svolta dal fattore cordale.

Patogenesi dell'infezione tubercolare

L'infezione si contrae di norma per via aerogena. Una volta depositati negli spazi alveolari dei polmoni, si innesca un processo infiammatorio. I bacilli vengono fagocitati dai macrofagi alveolari e in gran parte uccisi, con la conseguente presentazione ai linfociti TH e l'innescamento della risposta immune, alcuni batteri, però, riescono a sopravvivere ed a moltiplicarsi all'interno dei macrofagi, uccidendoli e liberandosi nell'ambiente extracellulare e danneggiando i tessuti circostanti, la comparsa di **macrofagi attivati** e di **linfociti CD8 citotossici specifici**, in conseguenza della risposta immune cellulo-mediata riesce di norma a contenere l'infezione, con l'attivazione di un caratteristico processo infiammatorio di tipo granulomatoso, che si manifesta con un denso infiltrato di **cellule mononucleate**. La lesione, viene in genere circoscritta da un'intensa reazione connettivale ad opera di fibroblasti e la porzione centrale, che va incontro a necrosi. Nel soggetto resistente, il processo infiammatorio rimane localizzato, coinvolgendo al più alcuni linfonodi mediastinici satelliti, con la formazione di quello che prende il nome di complesso primario. La lesione granulomatosa iniziale, si traduce in un'infezione cronica, assolutamente asintomatica, che possono restare per lunghi periodi, anche anni, in letargo metabolico. Una diminuita efficienza del sistema immune possono portare alla riattivazione del complesso primario, con la ripresa della moltiplicazione dei micobatteri, la formazione di lesioni granulomatose multiple che confluiscono e che, in seguito alla necrosi ed alla colliquazione della parte centrale, possono svuotare il loro contenuto in circolo, con la diffusione dell'infezione in altre sedi polmonari o extrapolmonari o nelle cavità bronchiali con la emissione di espettorato bacillifero in grado di diffondere l'infezione ad altri soggetti.

Ricerca microscopica

Il reparto di bacilli acido-resistenti in un preparato microscopico opportunamente colorato, rappresenta una prima presumibile evidenza della presenza di M. tuberculosis in un materiale patologico, in particolare se il materiale in esame è rappresentato da un espettorato, dato che nella popolazione batterica normale del cavo orale e delle vie aeree, non esistono bacilli acido resistenti. Non così, invece, nel caso di esame di un sedimento urinario, dato la possibile contaminazione ad opera di micobatteri saprofiti occasionalmente contaminanti il tratto distale dell'apparato genito-urinario. La certezza diagnostica, si raggiunge comunque, solo con l'isolamento colturale.

Ricerca colturale

La ricerca colturale si allestisce di norma inoculando il materiale patologico su terreni solidi di tuorlo d'uovo e verde di malachite. A causa del lento sviluppo dei micobatteri, esso deve essere preventivamente decontaminato dalla popolazione microbica accessoria, onde evitare che microrganismi a crescita rapida, presenti nel materiale, possano moltiplicarsi esaurendo le disponibilità alimentari. Cio' si ottiene sfruttando la capacità dei micobatteri di sopravvivere alla esposizione a basi forti, a concentrazioni e per periodi di tempo sufficienti ad uccidere gran parte

degli altri microrganismi eventualmente presenti nello stesso materiale. I terreni di isolamento contengono anche variabili concentrazioni di verde di malachite, ben tollerato dai micobatteri, ma in grado di impedire lo sviluppo di microrganismi sfuggiti al trattamento decontaminante preventivo. Le colonie di *M. tuberculosis* sono facilmente riconoscibili per l'aspetto rigoglioso con leggera pigmentazione giallastra.

Intradermorezione con tubercolina

Di notevole utilità ai fini epidemiologici è l'accertamento della presenza di immunità cellulo-mediata specifica per *M. tuberculosis* mediante l'inoculazione intradermica di tubercolina (reazione di Mantoux).

La tubercolina è formata da proteine micobatteriche purificate mediante successive precipitazioni in solfato di ammonio. La tubercolina viene praticata mediante iniezione intradermica di 0.1 ml di un'adeguata concentrazione di PPD (protein purified derivative) nella faccia volare dell'avambraccio. Il trattamento non provoca alcuna reazione nel soggetto indenne da infezione tubercolare. Mentre nei soggetti che abbiano subito un'infezione, si osserva localmente e dopo 24-48 ore dal trattamento, una reazione infiammatoria che si appalesa con la comparsa di una papula eritomatosa. Poiché l'allergia ritardata, nell'infezione tubercolare, una volta instaurata si mantiene per tutta la vita, anche quando le lesioni siano guarite, la positività del test non sta ad indicare un'affezione attiva ma soltanto un precedente contatto con il batterio.

Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici

Il batterio presenta facilmente la comparsa di varianti farmaco-resistenti, dal che discende che, da una parte, è difficile predire a priori l'efficacia di un farmaco antibatterico che infetta il paziente che si deve trattare, e, dall'altra, è assolutamente da evitare il trattamento tubercolare con un solo farmaco, onde evitare la facile selezione di mutanti resistenti.

La profilassi dell'infezione tubercolare

Il vaccino antitubercolare oggi disponibile è costituito da una variante apatogena di *M. bovis*. L'inoculazione si accompagna di norma a modesti segni di reazione locale, con tutt'al più un interessamento transitorio delle linfoghiandole satelliti, ed è seguita dall'instaurarsi di immunità cellulo mediata specifica.

MICOBATTERI NON-TUBEROCLARI

Comprendono numerose specie di micobatteri, diversi per vari caratteri biochimici, antigenici e di patogenicità. Si tratta epr lo più di contaminati ambientali o parassiti di vari specie animali, occasionalmente in grado di infettare l'uomo. I micobatteri non-tubercolari sono riuniti in 4 gruppi principali, distinti, a secondo del ritmo di crescita nelle colture in: a **crescita lenta** o a **crescita rapida** e dalla produzione o meno di un'intensa pigmentazione giallastra nella coltura che, a sua volta, produce solo dopo esposizione ad una forte sorgente luminosa (**batteri fotocromogeni**) o anche in assenza di luce (**batteri scotocromogeni**).

L'identificazione di specie si basa sull'analisi del profilo biochimico del micobatterio o, con maggior rapidità, sull'impiego di sonde molecolari specifiche per il menoma delle singole specie micobatteriche.

