

VIBRIONI e batteri affini: AEROMONAS E PLESIOMONAS, SPIRILLUM, CAMPYLOBACTER ed HELICOBACTER.

VIBRIONI

I vibrioni sono bacilli G-N la cui cellula presenta una curvatura lungo l'asse maggiore. Tutti i vibrioni sono mobili per la presenza di un unico flagello, ad un polo della cellula. Asporigeni, non capsulati, sono aerobi-anaerobi facoltativi. Senza particolari esigenze nutritive, crescono bene nei terreni comuni di coltura e prediligono i terreni a pH alcalino. Fermentano alcuni zuccheri con produzione di acidi, e producono indolo. I vibrioni che interessano la patologia umana sono rappresentati essenzialmente dalla specie *Vibrio cholerae*.

VIBRIO CHOLERAE

Questa specie comprende una notevole varietà di gruppi sierologici definiti in base alle caratteristiche antigeniche dell'antigene O. tutti gli stipti di *V.cholerae* siano produttori di enterotossine, le epidemie e pandemie di colera sono sostenute esclusivamente da stipti appartenenti al sierogruppo O1, i quali, a loro volta, sono suddivisibili, in base ad alcuni altri antigeni in 3 tipi sierologici, e possono presentare caratteri biologici diversi che consentono di definire due diversi biotipi di *V. Cholerae* O1, indicati rispettivamente come biotipo classico e biotipo El Tor. Clinicamente il colera consiste in un'enterite caratterizzata dalla emissione di grandissime quantità di feci acquose, di aspetto plalescente, con un contenuto di potassio elevato. L'abbondante perdite di acqua provoca una rapida disidratazione, seguita da acidosi, squilibrio della bilancia elettrolitica, cui può far seguito uno shock emodinamico. L'enterite colerica fa seguito alla ingestione di cibo o bevande contaminate da materiale fecale di malati o convalescenti, ed ha un breve periodo di incubazione (2-4 giorni).

Caratteri antigeni e biotipizzazione

Sulla base dei caratteri antigeni O la specie *V.cholerae* può essere divisa in numerosi gruppi sierologici, mentre gli antigeni flagellari (antigene H) sono gli stessi in tutti i membri della specie. I vibrioni di gruppo O1, sono suddivisibili in 3 sottogruppi o sierotipi sulla base di altre caratteristiche antigeniche e possono presentarsi in due diversi biotipi, ed in differenti tipi fagici a secondo della sensibilità o meno a differenti batteriofagi specifici.

Meccanismo dell'azione patogena

I vibrioni colerigini si moltiplicano nell'intestino, alla superficie della mucosa, aderendo, senza penetrarvi, alle cellule dell'epitelio intestinale che si mantiene senza evidenti alterazioni istopatologiche. I vibrioni eliminano nell'ambiente alcuni esoenzimi e in particolare una neuraminidasi, ed inoltre il tipo El Tor produce anche una emolisina. La patogenesi è esclusivamente riconducibile alla produzione di una tossina enterotossica cui già è stato descritto il meccanismo di azione.

Metodi di identificazione

I vibrioni colerigini non hanno alcuna tendenza a diffondere oltre la mucosa intestinale e la loro ricerca si esegue esclusivamente sul materiale fecale. La certezza diagnostica si ottiene mediante isolamento colturale. A questo scopo il materiale fecale viene incubato per 10-18 ore in una soluzione di peptoni a pH alcalino, dopo di che si procede all'inseminazione di piastre di agar

addizionato di taurocolato sodico (per inibire i G-P ed escherichia) addizionato di bicarbonato onde avere un pH alcalino, nonché il tellurio di potassio che è ben tollerato dal batterio mentre inibisce gli altri G-N. Le colonie sospette sono esaminate microscopicamente (in coltura i vibroni colerigeni possono assumere una forma decisamente bacillare), identificabile biochimicamente (i v.c. sono catalasi e ossidasi-positivi, producono abbondante indolo e riducono i nitrati, fermentano il saccaroso e la mannite con produzioni di acidi e non di gas) e quindi sottoposte alla identificazione sierologia finale mediante sieri monospecifici. I vibroni El Tor si differenziano per essere emolitici, generalmente positivi alla reazione di Voges-Proskauer che è negativa nei vibroni colerigeni classici, resistenti alla polimixine, e inattaccabili dal fago IV attivi sugli altri vibroni.

Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici

I vibroni colerigeni sono sensibili a molti antibiotici ed ai sulfamidici

Metodi di immunizzazione

I vaccini anticolerici sono allestiti con sospensioni di vibroni colerici uccisi, dei sierotipi Inaba e Ogawa appartenenti sia al biotipo classico che Er Tor, e vengono somministrati per via sottocutanea.

SPIRILLI

Batteri la cui cellula di forma bacillare, presenta 2 o più curvature lungo l'asse principale che le impartiscono una forma a spirale. La cellula è rigida e mobile per la presenza di flagelli con disposizione polare. Una specie può essere patogena per l'uomo: Spirillum minor, ospite abituale del cavo orale dei ratti, topi e alcuni carnivori. L'uomo si infetta per il morso di un animale e l'affezione è caratterizzata dalla formazione di un'ulcera molle nel punto della morsicatura con interessamento linfoghiandolare satellite, esantema maculo-papuloso e febbre ricorrente. La penicillina è efficace nel trattamento dei pazienti.

CAMPYLOBACTER

Bacilli curvi, G-N, e mobili per la presenza di flagelli polari. Si sviluppano da un'elevata temperatura (42°) di incubazione delle colture. I campilobatteri asporigeni e mobili per la presenza di uno o 2 flagelli a collocazione polare, nelle colture in fase stazionaria prevalgono le forme bacillari o coccoidi. Dotati di metabolismo respiratorio, non fermentano alcuno zucchero e sono positivi alla reazione per la ossidasi, per moltiplicarsi necessitano di una diminuita tensione di ossigeno rispetto a quella atmosferica e crescono bene nei comuni terreni di coltura. I campilobatteri che interessano la patologia determinano enteriti caratterizzate da manifestazioni diarroiche, e la frequente esistenza di una batteriemia iniziale e la presenza frequente di sangue e muco nelle feci lascia supporre l'esistenza di meccanismi patologici di tipo invasivo. Per l'isolamento del materiale fecale si usano colture in terreni selettivi (addizionati di alcuni antibiotici cui i campilobatteri sono resistenti) ed arricchiti di sangue o altri materiali nutritivi; le colture sono incubate in condizioni di ridotta conc di ossigeno ed a 42°, ulteriore strumento selettivo. L'identificazione dei campilobatteri si basa sullo studio di varie caratteristiche biochimiche, dello sviluppo in diverse condizioni di coltura e della sensibilità ad alcuni farmaci antibatterici. I campilobatteri sono largamente sensibili ai macrolidi (eritromicina), alle penicilline ad ampio spettro, agli aminoglicosidi, al cloramfenicolo ed alle tetraciline, mentre sono poco o punto sensibili alle cefalosporine, alla penicillina G ed alla vancomicina.

HELICOBACTER PYLORI

Bacillo G-N, ricurvo a spirale, mobile per la presenza di 5-6 flagelli unipolari. Aerobio-anaerobio facoltativo. Ossidasi-positivo, produce catalasi e presenta una assolutamente peculiare ed intensa attività ureasica. La colonizzazione gastrica è associata con la presenza di una gastrite cronica antrale di tipo B e la successiva comparsa di ulcera gastrica e ulcera duodenale. È, inoltre, dimostrato un chiaro nesso eziologico tra la presenza di gastrite cronica da H.p. e la comparsa di ulcera peptidici, nonché un significativo rapporto epidemiologico tra l'evoluzione della patologia in gastrite cronica atrofica ed un più elevato rischio di insorgenza di carcinoma gastrico o linfoma ad insorgenza dai tessuti linfoidi associati alla mucosa.

Meccanismo dell'azione patogena

H.pylori possiede un lipopolisaccaride relativamente poco tossico. La porzione glucidica contiene sequenze di zuccheri identiche agli antigeni Lewis x e Lewis Y, largamente distribuiti alla superficie delle cellule umane e presenti, in particolare, alla superficie delle cellule della mucosa gastrica, che inducono una forte risposta anticorpale autimmuna che può contribuire al danno della mucosa. La localizzazione a livello gastrico e l'azione patogena dipende da una serie di fattori solo in parte definiti, che consentono, al batterio di colonizzare la mucosa gastrica e di moltiplicarsi in un ambiente estremamente acido e normalmente ostile per la maggior parte dei batteri patogeni per l'uomo. Quando il batterio raggiunge la mucosa gastrica, la produzione di ureasi, la motilità batterica garantita dai flagelli ed alcune molecole si superficie con la funzione di adesine, sono tra i fattori principali che condizionano la colonizzazione batterica della mucosa, il primo problema che H.p. deve affrontare, una volta giunto nello stomaco, infatti, è quello di proteggersi dalla estrema acidità dell'ambiente. L'obiettivo viene raggiunto grazie alla presenza nel batterio di una grande quantità di ureasi che, idrolizzano l'urea normalmente presente nella cavità e che il batterio introduce attivamente, producendo ammonio e bicarbonato che neutralizzano il pH nell'ambiente circostante la cellula batterica. Il batterio è quindi libero di penetrare, usando la spina propulsiva dei flagelli unipolari e di aderire alla membrana delle cellule dell'epitelio mucoso, attraverso alcune adesine, presenti alla superficie batterica, che garantiscono un ancoraggio sufficientemente saldo.

La citotossina vacuolante e l'isola di patogenicità "cag"

Nell'ambito di H.p. si distinguono due diverse popolazioni, caratterizzate da un diverso grado di patogenicità. La differenza è associata con un diverso assetto genetico del batterio, che corrisponde ad una diversa presenza di determinanti di patogenicità. Circa il 60% degli stipiti di H.p. possiede la capacità di produrre una particolare citotossina denominata vacuolante A o VacA. È una proteina che viene internalizzata dalle cellule della mucosa gastrica, ed è in grado di provocare la formazioni di canali nella membrana intracellulari, consentendo un anormale flusso di anioni, con il conseguente sbilanciamento osmotico di vari compartimenti a contenuto acido, sarebbero alla base della vacuolizzazione patologica del citoplasma. La tossina agisce provocando la morte delle cellule dell'epitelio gastrico attraverso l'induzione del processo di apoptosi. Il 65% dei batteri, possiede anche un altro gene che codifica, una proteina che rappresenta, una sorta di marker della capacità del batterio di produrre tossina maculante. Di conseguenza il gene stesso è stato definito cagA e CagA è il relativo prodotto proteico. Associato a cagA, i batteri possiedono un segmento di DNA contenete più di 25 distinti geni che rappresenta una sorta i isola di DNA presente solo nei batteri con un maggior grado di patogenicità ed è indicata appunto come isola di patogenicità cag. Le funzioni di CagA e dei prodotti dei geni presenti dell'isola codifica un completo sistema secretorio di tipo IV che consente l'eliminazione all'esterno della tossina vacuolante, e sembra che alcuni prodotti dei geni dell'isola intervengono anche nella stimolazione delle cellule della mucosa

gastrica ad un'intensa produzione di IL-8. CagA sembra sia in grado di perturbare alcune funzioni cellulari interagendo con la tirosino-fosfatasi SHP-2 deregolando la funzione dell'enzima, coinvolto nella regolazione delle cascate di signalling dalla membrana cellulare, i batteri con genotipo vacA+ e cagA+ sono denominati di tipo I e sono quelli dotati di maggiore patogenicità, mentre l'altro comprende i batteri di tipo II.

Il danno della mucosa gastrica e l'estensione delle lesioni al duodeno

Una volta che H.p. di tipo I sia adeso all'epitelio mucoso, inizia il danneggiamento delle cellule ad opera della citotossina vacuolante. Al tempo stesso, le cellule dell'epitelio mucoso sono indotte ad una notevole produzione di IL-8, che è un fattore chemiotattico in grado di convogliare localmente granulociti neutrofili, monoliti e linfociti T, che infiltrano la mucosa, innescandovi un processo infiammatorio. Anche se internalizzato da cellule fagocitarie, H.p. è in grado di sfuggire al Killing intracellulare, con un'elevata produzione di catalasi e superossido-dismutasi, danneggiando al tempo stesso i fagociti per mezzo della tossina vacuolante e la liberazione di ione ammonio come sottoprodotto dell'attività dell'enzima ureasico. L'insieme dei fenomeni portano ad un'altrenata funzionalità della mucosa gastrica che si traduce, tra l'altro, in un'aumentata produzione di gastrina, in un aumento reattivo della massa cellulare della parete gastrica ed in un'aumentata produzione di acido. L'aumentata produzione di acido può indurre, a sua volta, la metaplasma delle cellule della mucosa duodenale, con la possibilità di impianto di batteri di tipo I migrati dalla cavità gastrica e l'estensione delle lesioni alla porzione prossimale del duodeno.

Diagnosi di infezione

La presenza di H.p. può essere dimostrata mediante esame microscopico di campioni biotici di mucosa gastrica o isolamento colturale. Lo stesso materiale biotico può anche essere impiegato, nella ricerca della presenza di attività ureasica. Un'alternativa "test del respiro" si basa sul fatto che l'ureasi di H.p. , produce, nella idrolisi dell'urea, anche acqua e CO₂, e che, quest'ultima, viene assorbita in circolo e quindi eliminata attraverso i polmoni con il respiro. Il test si esegue somministrando per os ai pazienti una piccola quantità di urea contenete C13 o C14 e misurando, dopo 30 m, la presenza di CO₂ radiattivo nel respiro. La ricerca nel siero di anticorpi anti-H.p. , è largamente usata a scopo diagnostico ma i risultati che si ottengono soffrono spesso di modesta specificità, di maggior significato diagnostico sembra invece la ricerca di anticorpi specifici condotti mediante immunoblotting (western blot).

Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici

H.p. è sensibile a numerosi farmaci antibatterici ed ai Sali di bismuto.