

[Premessa: Il Prof consiglia di approfondire gli argomenti non trattati a lezione (per brevità di tempo) dalle sue slides che trovate sul file di sunhope]

LE INFEZIONI DELL'APPARATO RESPIRATORIO

Le infezioni dell'apparato respiratorio colpiscono principalmente le basse vie respiratorie.

Fattori predisponenti sono: età, stagionalità (soprattutto autunno ed inverno), ambiente familiare, presenza dell'ambiente patogeno nell'ambiente, comorbilità (infezioni già esistenti nel paziente), compromissione dello stato del paziente (es. immunodeficienza, asplenia), difetti congeniti, edema polmonare, tabagismo, neoplasie.

Suddivisione polmoniti: 1) Acute; 2) Croniche

Acute: a loro volta si suddividono in: **comunitarie (CAP):** si contraggono nelle collettività chiuse; sono dovute principalmente a batteri gram positivi e raramente a batteri gram negativi) e **nosocomiali** (vengono contratte non prima delle 48 ore; inoltre sono dovute principalmente a batteri gram negativi tipici).

Come si evince dalla tabella lo **Streptococcus pneumoniae** (batterio tipico) è l'agente etiologico più frequente nelle CAP, mentre tra i batteri atipici il più frequente nelle infezioni nosocomiali è la **Legionella**.

AGENTE PATOGENO	CAP	Polmonite nosocomiale
BATTERI TIPICI	70-80%	>90%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	60-75%	3-9.5%
<i>Haemophilus influenzae</i>	10-15%	?
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1-5%	?
<i>Staphylococcus aureus</i>	2-10%	10-20%
Bacilli Gram-negativi	Raramente	>50%
Anaerobi	Raramente	10%
BATTERI ATIPICI	10-20%	Raramente
<i>Legionella spp.</i>	2-5%	0-25%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	5-18%	
<i>Chlamydia psittaci</i>	2-3%	
<i>C. pneumoniae</i>	10%	
VIRUS	10-20%	Raramente
Influenza virus	8%	
Altri virus	2-8%	

Streptococcus pneumoniae:

è un **diplococco** capsulato lanceolato, asporigeno, immobile, **gram negativo**, causa del 50% delle CAP. Negli ultimi anni questi batteri stanno sviluppando resistenza ai

farmaci beta-lattamici e macrolidi. Rispetto agli altri streptococchi non può essere tipizzato secondo la **classificazione di Lancefield** (in quanto non possiede l'**antigene C polisaccaridico/antigene di Lancefield**), è **alfa-emolitico** (in piastre agar-sangue); lo ritroviamo come causa frequente di **polmoniti, meningiti, otite media, endocarditi**.

I microbiologi mediante il **test di Neufeld** (test di rigonfiamento capsulare) hanno individuato **90 tipi sierologici di S.pneumoniae** in base al tipo di **Antigene capsulare C**, di cui **23 sierotipi** sono patogeni per l'uomo.

L'**Antigene C** si trova a livello della parete, è antigenicamente distinto da quello degli streptococchi beta-emolitici, in presenza di calcio precipita con una globulina sierica chiamata Proteina C Reattiva; inoltre tali batteri presentano anche la **Proteina M** che si trova sempre a livello della parete, è simile ma antigenicamente distinta da quella degli altri streptococchi.

Tra le **caratteristiche colturali** è stato dimostrato che:

1) Essi sono **alfa-emolitici in aerobiosi e beta-emolitici in anaerobiosi** per la produzione di **Pneumolisina** ed **emolisina ossigeno-labile**.

2) La loro **crescita è inibita dall'optochina e dai sali biliari**.

Come **fattori di virulenza** lo *S.pneumoniae* presenta:

1) **Adesine** (N-acetilesosammina-galattosio) che servono a colonizzare i tessuti dell'ospite;

2) **Capsula e Proteina M** hanno attività antifagocitaria

3) **IgA proteasi** che degradando le IgA limita l'immunità mucosale

4) **Neuraminidasi** che attacca glicoproteine e glicolipidi di membrana favorendo l'invasività batterica

5) **Pneumolisina**, che è una citotossina che va a recare danno all'ospite

È possibile che sia capace di "resistere" a determinati farmaci, tra cui cefalosporine e penicillina (beta-lattamici) tuttavia la terapia standard prevede proprio l'utilizzo di questi farmaci.

Legionella pneumophila: È un **bacillo Gram negativo**, colpisce prevalentemente i fumatori, soggetti anziani, nefro-pazienti e trapiantati; talvolta è contratta anche da soggetti giovani, in casi sporadici limitati alle comunità, ed è un batterio che **preferisce vivere in ambienti caldo-umidi** (ad esempio le terme: habitat ideale per la loro crescita, visto che **sopravvive tra i 20 e i 50 gradi**; per cui per contrastare la sua crescita la temperatura delle acque deve essere o maggiore di 50 gradi o minore di 20 gradi).

Diagnosi di infezioni respiratorie:

È innanzitutto importante che il paziente collabori e che venga istruito correttamente:

1) Bisogna che **l'espettorato venga prelevato al mattino** (possibilmente al risveglio) perché maggiormente concentrato;

2) Dopo aver lavato i denti, bisogna **effettuare i gargarismi con l'acqua semplice** (senza sostanze antibatteriche: es Listerine)

3) **Trasporto rapido al laboratorio.**

Se il paziente non è collaborativo, si può effettuare o un *broncoaspirato* oppure un *BAL*(broncoaspirato liquido)

Inoltre è possibile utilizzare l'**indice di Bartlett**: tale test serve a stabilire l'adeguatezza di un campione di escreato, valutando il numero di neutrofili, la quantità di muco e di cellule epiteliali.

La presenza di una certa quantità di neutrofili e di muco fanno assumere all'indice un punteggio positivo, mentre la presenza di cellule epiteliali fa assumere un punteggio negativo. Pertanto un campione con indice >0 verrà ritenuto un campione valido(positivo) come si evince dalla figura:

tipo cellulare e numero	cellule /c.m.	punteggio
Neutrofili	< 10	0
	10-25	+1
	> 25	+2
Presenza di muco		+1
Cellule epiteliali	10-25	-1
	> 25	-2

> 0 → campione accettabile

Bartlett et al., 1978; Murray et al., 1995

[A questo punto il prof passa alla lezione sulle Enteriti]

Le infezioni delle vie intestinali: le enteriti

Le **enteriti** sono infezioni dell'apparato intestinale, sindromi cliniche caratterizzate da emissioni di feci liquide(*diarrea*) maggiore o uguale a 3 scariche al giorno, talvolta accompagnate da vomito e altra sintomatologia(disturbi gastrici(*gastroenteriti*) o del tratto distale(*enterocoliti*)).

Queste enteriti sono dovute generalmente a zoonosi di origine alimentare(o per ingestione di carni di animali infetti oppure per ingestioni di alimenti contaminati da escrementi di animali infetti).

L'**etiologia delle enteriti** è molto vasta in quanto può essere causata da diversi patogeni:

1) **Batteri**(*Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *E.coli*, *Listeria*)

2) **Tossine batteriche prodotte negli alimenti** da: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium Perfringens*, *Clostridium Botulinum*, *Bacillus cereus*

3) **Miceti**(*Candida albicans*, *Aspergillus* spp)

4) **Protozoi**(*Entamoeba Histolyca*, *Giardia lamblia*)

5) **Virus**(*Rotavirus*, *Adenovirus*)

Patogenesi della diarrea batterica:

Si ha ingestione di una sufficiente carica batterica, tale da superare la barriera gastrica e capace di colonizzare l'ambiente intestinale. Si possono instaurare 2 vie patogeniche:

1) Moltiplicazione dei batteri nel lume, produzione di enterotossine citototomiche oppure danneggiamento della superficie assorbente--->tutto ciò porta ad una **diarrea acquosa**(caratterizzata dalla presenza di epitelioцити ed è legata a difetti di assorbimento generalmente su base enzimatica).

2) Produzione di citotossina o penetrazione nelle cellule intestinali--->**diarrea infiammatoria**(caratterizzata dalla presenza di granulociti)

Per avere un **primo indizio diagnostico** è necessario un esame microscopico delle feci per la ricerca di leucociti (la non presenza di leucociti depone per un processo non infiammatorio da tossine,virus,parassiti)

elementi	valori normali	Valori anomali
cellule epiteliali	numerose	si hanno alterazioni nel tifo o nelle enteriti
eritrociti	scarsi o assenti	se presenti, c'è sangue occulto o evidente rettorragia
leucociti	scarsi o assenti	si ha un aumento nella colite ulcerosa e nelle gastroenteriti

Campylobacter:

E' un **bacillo gram negativo**, ha dimensioni molto piccole(è circa la metà di *E.coli*, dunque è 0,3 micron), è estremamente mobile ed è pleomorfo(coccobacillo in colture vecchie, coccoide in aerobiosi), presentano flagelli monotrichi o anfimotrichi;come metabolismo sono ossidasi e catalasi positivi.

Esistono diverse specie di Campylobacter, tra cui le più importanti sono:

Campylobacter		
I gruppo di omologia rRNA		
da: On S.L.W. (1996). Clin. Microbiol. Rev 9:405-522		
Unità tassonomica	serbatoio	patologia umana
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> termotollerante	pollame, maiale, coniglio, visone, toro, cane, gatto, uccelli, insetti, acqua	gastroenterite, setticemia, meningite, aborto, proctite, S. Guillan-Barré
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i> termotollerante	uomo	gastroenterite, gastrite, setticemia
<i>C. coli</i> termotollerante	maiale, pollame, toro, pecora, uccelli	gastroenterite, enterite, setticemia, meningite, aborto

Dati italiani		
Periodo 1997-2001 - A.O. Bergamo		
Vailati, 2002		
anno	Salmonella	Campylobacter
1997	123	70
1998	193	91
1999	215	112
2000	201	112
2001	157	140

Epidemiologia:

In passato si pensava che la salmonellosi fosse la causa più comune di enteriti, ma adottando delle misure di controllo alimentare è stato possibile ridurre i casi di salmonellosi, per cui la campylobatteriosi è diventata la causa più comune di enteriti. In Italia (a Parma) con la nascita dell'EFSA (=Ente di sicurezza alimentare) si sta avendo un maggiore controllo alimentare e dunque a partire dal 2012 anche i casi di enteriti causate da Campylobacter stanno diminuendo.

Nonostante ciò in Europa ci sono 320.000 casi l'anno di enteriti.

In particolare negli USA è stato creato un registro (dal 1982 in poi) che tiene conto degli agenti etiologici delle enteriti e si è visto che c'erano circa 2.000.000 di casi all'anno di tale patologia, dovuta principalmente al Campylobacter (e molti meno casi dovuti alla salmonellosi rispetto ad esso) e che va a colpire soggetti prevalentemente giovani (di età compresa tra i 10 e i 29 anni).

Invece come studi italiani ricordiamo quello effettuato a Perugia nel 2002 da Crotti che testò circa 3000 campioni fecali in pazienti con enterite e notò che circa il 7,5% delle infezioni erano causate dai Campylobacter (prevalentemente dal jejuni).

Certamente lo studio epidemiologico italiano più interessante è stato quello effettuato da Vailati a Bergamo nel 2002, poichè questo ricercatore constatò che verso gli anni 1997-98 i casi di enterite in Italia erano prevalentemente causati dalla Salmonella (e in minor misura dal Campylobacter), ma verso gli anni 2000-2001 i casi patologici causati dal Campylobacter erano aumentati talmente tanto da raggiungere quasi i casi di salmonellosi (157 contro 140) come si evince dalla tabella:

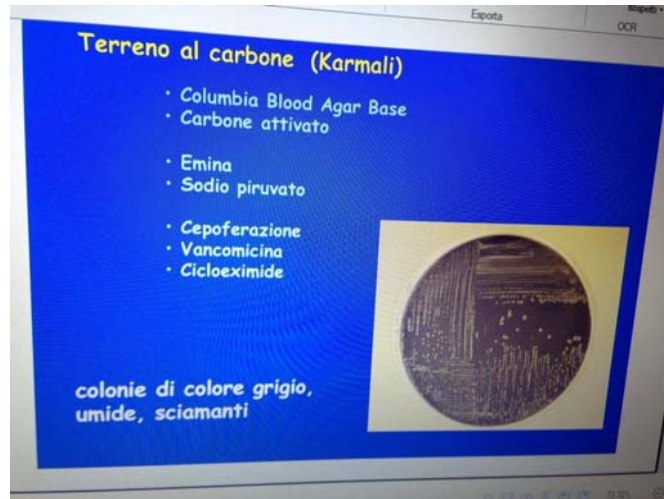
Protocollo diagnostico per Campylobacter:

1) Campionamento: Si utilizzano feci liquide o non formate, con enterite in atto; alternativamente sono accettabili anche feci formate con enterite pregressa o protratta oppure in soggetti sani (nel caso di controlli di gravidanza o per studi epidemiologici). L'importante è **non utilizzare feci non formate con enterite pregressa o protratta!**

2) Esame macroscopico: consente di determinare: qualità (es. feci sanguinolente), consistenza, odore delle feci.

3) Esame colturale ed identificazione:

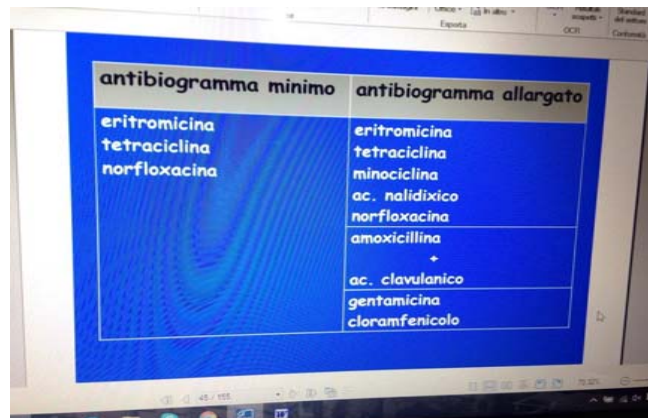
Si spalma il campione su di una membrana filtrante a porosità 0.5 micron (in modo da far passare solamente il campylobacter che ha ridotte dimensioni rispetto ad eventuali contaminanti); poi si leva la membrana e si effettua l'esame colturale vero e proprio incubando a T=42 gradi (poichè a tale temperatura i campylobacter patogeni sono termotolleranti---> altro elemento selettivo nei confronti di altri batteri contaminanti) ed in microaerobiosi in un Terreno al carbone (di Karmali):



In particolare le salmonelle le suddividiamo in *specie*, *subspecie*(*sottospecie*) e *sierotipi*; la salmonella di *interesse medico* appartiene alla *specie enterica sottospecie enterica* :

specie	sottospecie (subsp)	sierotipi (serovar)
S. enterica	enterica	1.454
	salamae	489
	arizonae	94
	diarizonae	324
	houtenae	70
	indica	12
S. bongori		20
TOTALE		2.463

Infine si effettua l'*antibiogramma*:



Antigeni della Salmonella:

Distinguiamo: un **antigene O**(che essendo un gram negativo è rappresentato dall'*LPS*); un **antigene H**(=flagellina, in quanto è dotato di mobilità; è presente in tutti i sierotipi ad eccezione di *S.gallinarum ed S.pullorum*); un **antigene Vi**(sta per *virulenza*, è sotto il controllo di 3 loci genici: *ViaA, ViaB, ompB*).

Classificazione di Kauffmann e White:

gruppo	serovar	Antigeni O	Antigeni H	
			Fase 1	Fase 2
A	<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	-
B	<i>S. paratyphi B</i>	1, 4, 5, 12	b	1, 2
	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, 5, 12	i	1, 2
C	<i>S. paratyphi C</i>	6, 7, Vi	c	1, 5
	<i>S. cholerae suis</i>	6, 7	c	1, 5
D	<i>S. typhi</i>	9, 12, Vi	d	-
	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	-
E	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6
	<i>S. cambridge</i>	3, 15	e, h	1, w

[Il Prof passa alla trattazione della Salmonella]

Salmonella:

Sono dei *bacilli gram negativi, mobili per ciglia peritriche*, appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, se ne conoscono circa *2500* sierotipi.

Come vedete Kauffman suddivide le Salmonelle in *gruppi* (in base all'*antigene somatico O*) e in base all'*antigene O* esistono ben *67* gruppi di *Salmonella enterica*

subspecie enterica. Da questa immagine deduciamo che ad esempio il gruppo A possiede 2 antigeni O, il gruppo B ne possiede 4 e 5, il gruppo C 6 e 7. Ma allora cosa differenzia i sierotipi (S.paratyphi B e S.typhimurium) del gruppo B? La risposta è *gli antigeni H(b,i)*. I gruppi A,B,C,D sono le cosiddette "salmonelle maggiori", cioè le salmonelle epidemiologicamente più significative (nel senso che sono quelle *maggiormente patogene*). Seppur dettagliata, al giorno d'oggi la classificazione di Kauffman non è molto utilizzata, ma si preferisce denominare le salmonelle o *mediante gli antigeni O ed H* oppure denominando *specie,subspecie e serovar(sierotipo)* (quest'ultima denominazione trivalente è la *più moderna*).

Forme cliniche di salmonellosi

La forma più comune *Daserovar Ubiquitari* compare dopo l'ingestione di acqua o cibo contaminato, sintomatologia non specifica.

Febbre tifoide: andamento clinico che va' per settimane.

- **Prima settimana:** durante l'incubazione il batterio supera la barriera gastrica, raggiunge l'intestino e va' a sensibilizzare gli organi linfatici come le placche di Peyer; il batterio passa attraverso la linfa, va' nel circolo e qui si stabilisce una batteremia (fenomeno *transeunte*). Stadio stuporoso del paziente, senso di astenia totale, malattia tifoaddominale.
- **Seconda settimana:** il batterio ritorna nei vari organi anche nell'intestino dove trova le placche di Peyer sensibilizzate.
- **Terza settimana:** cistifellea contaminata.
- **Quarta settimana:** eliminazione della salmonella con le feci.

Infezione contratta da animali: i serbatoi di infezione che causano salmonellosi sono animali come topo, pollo e gatto.

Trasmissione crociata pulcino-insetti, trasmissione orizzontale animali-animali, trasmissione verticale uova-pulcino.

Molti alimenti possono essere contaminati: aglio, peperoncini, pomodori; tuttavia quelli più pericolosi sono uova e carcasse di animali.

Contaminazioni domestiche: frigoriferi.

Salmonellosi, seconda causa di infezione, seconda alla *Campylobacteriosi*.

Si sono registrati 50.000 casi all'anno di salmonellosi.

Come si effettua l'analisi

Nella prima settimana in cui si ha batteremia si effettua un'analisi del sangue (emocoltura).

Nella seconda settimana vengono cercati gli anticorpi con la reazione di Vidal e, siccome possiamo iniziare a trovare la salmonella nelle feci, si può effettuare la coprocoltura.

Il Regolamento della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari tende a ridurre i casi di infezione da salmonella e lo si fa andando a controllare ogni 16 settimana gli allevamenti e raccogliendo i liquami degli animali e le polveri ambientali.

Escherichia coli

Bacillo Gram negativo mobile della normale flora intestinale umana poche ore dopo la nascita.

La nicchia di e. coli è la mucosa del colon in relazione alla capacità di utilizzare il gluconato più efficientemente di altre specie.

Questi ceppi commensali raramente causano malattie, eccetto in pazienti compromessi o quando è compromessa l'integrità anatomica delle mucose (es. peritonite).

Sono occasionalmente patogeni per le vie intestinali, per le meningi o per le vie urinarie.

L'evoluzione del genoma avviene per:

- Mutazioni puntiformi e conversione genica, riarrangiamenti (es. inversione o traslocazione), delezione e inserzione di nuovo DNA (es. integrazione di plasmidi, trasposizione);

- Scambi orizzontali di elementi genici mobili quali plasmidi coniugativi, batteriofagi, elementi di inserzione, isole genomiche e meccanismi di ricombinazione.

Fattori di virulenza batterica

Adesine: consentono il legame di un organismo ai tessuti dell'ospite.

Invasine: rendono il microrganismo capace di invadere cellule o tessuti dell'ospite.

Impedine: permettono al microrganismo di evadere uno o più meccanismi di difesa dell'ospite.

Aggressine: causano danno diretto all'ospite (enzimi, esotossine).

Moduline: provocano danni indiretti all'ospite modulando la rete delle citochine; es. LPS (lipopolisaccaride), porine, LTA (acidolipotecoico), TA (acido teicoico), peptidoglicano.

Escherichia coli (enteropatotipi)

Batteri enteropatogenici (E.P.E.C.): questi sono responsabili di diarrea acquosa (enterotossicosi alimentare) e colpiscono i bambini o i viaggiatori; capacità di aderire alla membrana (adesine).

Batteri enterotossinogenici: rilasciano la tossina termolabile e termostabile.

Batteri enteroemorragici (E.H.E.C.): questi causano la sindrome emolitica uremica, piastrinopenia, diarrea infiammatoria legata alla presenza di leucociti e sangue; producono invasività. Nel protocollo diagnostico viene utilizzato Sorbitol Mac Conche OENKEY Agar Gar.

Batteri enteroemorragici citotossici: producono la derocitotossina che ha effetti sulla parete cellulare e sono detti pure *Cytotoxic E-Coli* e generano le tossine di VT1 e VT2. La produzione di queste tossine è caratteristica di alcuni ceppi: O157, H7, O26.

Tre, quattro anni fa ci fu un focolaio epidermico legato al ceppo E4.

Cryptosporidium

Causa infezione da protozoo che viene contratta in piscine frequentate da soggetti malati o da persone incontinenti che possono avere scariche diarroiche compromesse che vanno a infettare le acque.

Diagnosi diretta: esami delle feci per le oocisti, raramente bile e liquido di lavaggio bronco-alveolare.

Gli agenti virali più frequenti sono i rotavirus.

Diagnosi semplice: viene fatta in laboratorio con un campioncino di feci e si effettua un test al lattice o immunoenzimatica.